

자라에 있어서 Catecholamine 이 遊離脂酸代謝에 미치는 影響

全南大學校 醫科大學 藥理學教室

(指導 曹 圭 瓚 教授)

金 炳 燭

=Abstract=

Influence of catecholamines on the free fatty acid metabolism in the tortoise

Byong Joo Kim

Department of Pharmacology, Chonnam University Medical School

(Director: Prof. Kyu Chan Cho, M.D.)

1. In the tortoise, *Amyda japonica*, a cold-blooded animal readily available in this country, the role of catecholamines in the regulation of free fatty acids(FFA) metabolism was investigated in both *in vivo* and *in vitro* studies.
2. Norepinephrine elevated both FFA and glucose levels in plasma.
3. When 50 μ g/kg of Epinephrine, Norepinephrine and Isopropylarterenol were administered intravenously, the relative effectiveness of mobilizing FFA was in the descending order of potency—Epinephrine, Norepinephrine and Isopropylarterenol.
4. In order to exclude the "tonic influence of the endogenous catecholamines", reserpine was given to some animals. Two days after the reserpine-treatment, glucose showed a significant increase over the solely vehicle treated controls, FFA but an insignificant one. Excised auricles from those animals showed a diminished response to tyramine. Seven days after the treatment, however, when the depletion of catecholamines from the tissue stores seemed to be complete, judged from the absence of the response of isolated auricles to tyramine, both FFA and glucose levels were definitely lowered.
5. In *in vitro* experiments Epinephrine enhanced the FFA-release from the adipose tissue. The effect increased proportionately with the concentration until a maximal effect was attained at a concentration of 1×10^{-5} g/mL.
6. The order of potency in releasing FFA from adipose tissue *in vitro* was the same as *in vivo*, i.e., Epinephrine, Norepinephrine and Isopropylarterenol, but the differences were much less marked.
7. Ergotamine exerted no lipolytic action, but inhibited the lipolytic effect of Epinephrine significantly.
8. Nethalide showed a slight lipolytic effect *per se* but inhibited the Epinephrine-induced lipolysis significantly.
9. Catecholamines play an important role in regulating FFA metabolism in the cold-blooded animal, just as in the warm-blooded animals, and the tortoise, *Amyda japonica*, may be used in the studies of fat metabolism as well as the rat.

緒 論

最近 Dole¹⁾ 그리고 Gordon 등²⁾에 의하여 血漿內遊離脂酸(Free fatty acids, Nonesterified fatty acids 以下 FFA 라 略함)의 生理的 役割이 밝혀짐에 따라 그 調節 機構에 關하여 많은 研究가 行하여졌다.

FFA의 "Turn-over-rate"는 至極히 빨라서 그 半減期가 1~3 分이며(Bierman 등³⁾ Fredrickson 등⁴⁾ 그리고 Laurell⁵⁾ 心筋(Scott 등⁶⁾ Hirsche 등⁷⁾ 腎臟(Gold 등⁸⁾ 骨骼筋(Spitzer 등⁹⁾ 그 外 여러 末梢組織(Friedberg 등¹⁰⁾)에서 直接酸化되어 energy 源으로서 glucose 에 못지 않게 重要한 役割을 하고 있음이 알려졌다. 또한 이 血漿內 FFA는 여러가지 因子 특히 營養狀態와 內分泌系의 調節을 받고 있으며(Goodman 及 Knobil¹¹⁾, Olson 及 Vester¹²⁾) 脂肪組織으로부터의 FFA의 遊離動員에 있어서 "Sympathoadrenal system"이 特히 重要한 役割을 하고 있다. (Dole¹⁾, Klein 등¹³⁾, Nestel¹⁴⁾) 또 "Sympathomimetic amines"의 FFA 動員作用은 剔出脂肪組織에 있어서도 屢次 證明되었다. (Gordon 등¹⁵⁾, White 등¹⁶⁾ Rudman 등¹⁷⁾ Hagen 등¹⁸⁾). 또 이 Catecholamine의 脂肪分解作用은 여러 抑制劑의 影響을 받는다는 것이 알려졌다며 Love 등¹⁹⁾, Brooker 등²⁰⁾, Riggilo 등²¹⁾)은 "Adrenergic β -receptor"의 遮斷劑에 依해서 그 作用이 抑制된다고 報告하였다.

한편 흰쥐에 있어서 寒冷에 馴化時에 脂肪組織으로부터의 FFA의 遊離가 增加되고 (Mitchell 등²²⁾) 또 그와 같은 때에 Norepinephrine에 對한 血漿內 FFA의 增加 反應이 커지고(Rimmer 등²³⁾) 또 Norepinephrine이 脂酸의 代謝를 亢進시켜 熱의 產出을 增加시킨다는 것이 報告되어 있다(Hannon 등²⁴⁾). 그리고 흰쥐에 있어서 褐色脂肪組織이 熱產出에 있어 重要한 役割을 하고 있고 (Donhoffer 등²⁵⁾) 冬眠으로부터의 覺醒時에 不可缺少한 要素임이 밝혀졌다(Joel 등²⁶⁾).

이와같은 모든 實驗結果는 흰쥐, 개 등 哺乳動物과 人間에 있어서 얻어진 것이며 鳥類에 關해서는 最近 Carlson 등²⁷⁾尹²⁸⁾이 닭에서는 Catecholamine이 脂酸의 動員에 아무런 影響도 미치지 못한다고 報告하여 動物의 種類에 따라 調節機構이 다를수 있음을 보여 주었다.

冷血動物에 있어서는 아직 그와같은 觀察이 報告된바 없고 또한 그들은 寒冷한 環境에서도 견디어 낼수 있고 冬眠時에는 여러가지 機能上의 變化가 오고 따라서 代謝上의 特異性 및 變化를 期待할 수 있기 때문에 손쉽게 求得할 수 있는 冷血動物인 자라에 있어서 그 脂質代謝의 重要性 및 그 調節에 있어서의 Catecholamine의 役割을 究明코져 하였으며 더 나아가서 Catecholamine의

脂質代謝에 미치는 作用과 "Adrenergic receptor" (Ah-lquist²⁹⁾)와의 關係를 究明코져 하였다.

實驗方法

자라는 光州地方產의 것으로서 雌雄 區別없이 *in vivo* 實驗에서는 約 200g 內外의 것을 使用하였고 *in vitro* 實驗에서는 많은 脂肪切片을 얻기 爲하여 約 600g 內外의 것을 使用하였다.

a) *in vivo* 實驗

자라를 背位로 固定하여 頸部를 切開하여 頸靜脈에 가는 polyethylene 管을 插入하여 두고 30 分以上 靜置한 後 이 管을 通하여 藥物을 0.6% 食鹽水에 녹혀 0.1ml/100g의 容量으로 하여 投與하였다. 藥物投與後 一定時間 經過後에 斷頭하여 頸部에서 나오는 血液을 미리 準備하여 둔 氷冷의 Heparin 加遠沈管에 받아서 지체없이 遠心하여 血漿을 分離하였다.

이 血漿內에서 Glucose와 FFA를 測定하였다. Glucose는 Keilin & Hartree³⁰⁾에 依한 Glucose oxidase 方法을 利用하였고 FFA는 Dole¹⁾의 方法에 따라 Rehberg burette 로써 微量測定하였다.

剔出心房實驗에서는 心房을 剔出하여 Frog Ringer 液에다 懸垂하여 그 運動을 煤煙紙에 描記하고 藥物을 Ringer 溶液에다 添加하였다.

b) *in vitro* 實驗

斷頭한 即時 股間脂肪組織을 剔出하여 Frog-Ringer 液에다 씻은後 濾紙로 除濕하여 約 200mg의 小片으로 나누고 50ml의 三角 flask에다 4ml의 培養溶液에 넣어 25°C에서 3時間동안 120/min의 速度로 振盪하여 그 溶液中의 FFA를 測定하였다.

培養溶液은 Glucose를 加하지 않은 Frog-Ringer에다 遊離된 FFA의 "acceptor"로서 Albumin을 加하였으며 (Campbell 등³¹⁾) 1L中 NaCl 6.4g, KCl 0.3g CaCl₂ 0.18g 牛血清 Albumin 40g의 組成을 갖고 있다. 各 flask內의 FFA總量에서 blank(切片을 加하지 않은 培養溶液)의 含量을 減한 後 切片 g當 遊離된 量을 計算한 다음 藥物을 加하지 않은 Control(對照片)의 遊離와의 差異를 附加한 藥物의 效果로 看做하였다.

in vitro 實驗에서는 遊離된 FFA量에 있어 個體差가 甚하기 때문에 한가지의 實驗에 되도록이면 한마리의 자라에서 左右 各 12~15의 脂肪組織小片을 얻어 同時에 incubate하여 個體差를 可及 避하도록 하였다.

使用된 藥物은 Epinephrine bitartrate (E Merck), Norepinephrine hydrogen tartrate (Fluka AG), Isoprenalolol hydrochloride (K & K Lab), Tyramine

hydrochloride (K & K Lab), Reserpine phosphate (CIBA), Ergotamine tartrate (Carl Roth), Nethalide (I.C.I)이며 用量은 모두 base로 換算하여 表示하였다. 牛血清 Albumin은 Cohn's Fraction V로서 Sigma 會社의 것을 使用하였다.

實驗 結果

A) in vivo 實驗

(1) **Norepinephrine**의 效果: 이 實驗은 9~10월에 施行하였다. 血漿內 FFA의 濃度는 血糖量과 密接한 關係를 갖고 있음으로 *in vivo* 實驗에 있어서는 血漿內 FFA와 同時에 Glucose를 測定하였다. 第一表에 나타난 바와 같이 아무런 處理도 하지않은 正常자라에 있어서의 血漿內 Glucose 値는 平均 142mg%이고 FFA는 544 μ Eq/l이다.

(Table 1) Effect of Norepinephrine on plasma glucose and free fatty acid concentrations in the tortoise.

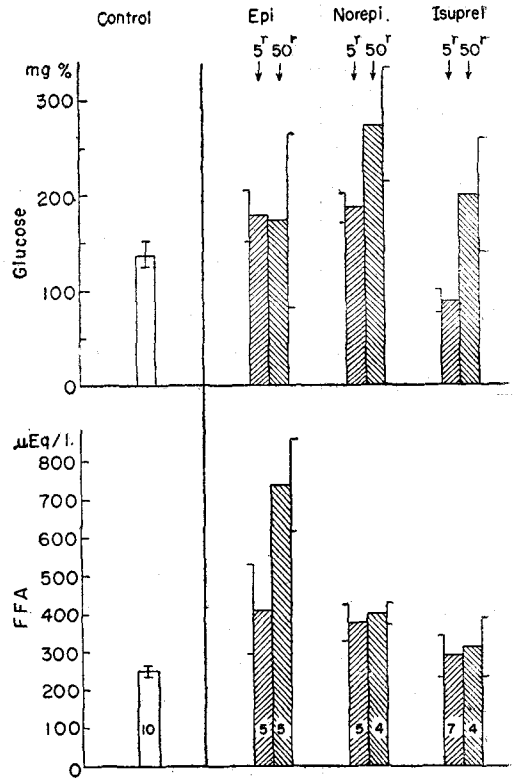
Dose (μ g/kg)	Time (min)	n	Glucose (mg%)	FFA (μ Eq/L)
0	0	6	142 \pm 11.1	544 \pm 45
5	15	5	177 \pm 12.6	636 \pm 34
5	30	4	134 \pm 12.3	686 \pm 30*
50	15	6	233 \pm 29.1*	822 \pm 114*
50	30	8	177 \pm 8.4*	854 \pm 71**
50	60	5	154 \pm 26.0	633 \pm 106

Mean \pm S.E. of the mean. n=Number of experiments. *= P <0.05, **= P <0.01.

Norepinephrine(以下 NE라 略함) 5 μ g/kg을 頸靜脈에 投與한 後 glucose는 15분에 177mg%(25%)로 增加의 傾向을 나타내나 (P >0.05) 30분에는 다시 正常値로 回復되고 FFA는 15분에 636 μ Eq/l 30분에는 686 μ Eq/l로서(26%의 增加) 統計學的으로 有意義한 增加를 보이고 있다(P <0.05). 量을 10倍로 올려서 50 μ g/kg를 投與한 群에서는 glucose는 15분에 233mg%(+63%)로서 絶頂을 이루고 減少하기 始作하여 30분에는 177mg%(+25%)로 增加를 나타내며 FFA는 15분에 822(+51%) 30분에 854(+55%) μ Eq/l로 增加하며 (P <0.01) Glucose 보다 늦게 最高値에 到達함을 볼 수 있다. 60分後에는 Glucose나 FFA나 모두 正常値로 돌

아감을 볼 수 있다. 即 NE는 자라에 있어서 Glucose 뿐만아니라 FFA를 動員시키는 作用이 있음을 알 수 있다. 그리고 이와같은 作用은 投與量에 比例하여 增加함을 볼 수 있다.

(2) **Epinephrine, Norepinephrine** 그리고 **Isopropylarterenol**의 作用의 比較: 3種의 代表的인 Catecholamine 即 Epinephrine (Epi로 略함) NE 그리고 Isopropylarterenol (Isuprel)의 脂酸遊離作用을 比較檢討하여 Ahlquist가 主張한 α -, β - receptor와의 關係를 究明코저 하였다. 이 實驗은 外界溫度가 零度에 가까운 1~2월에 施行하였다. 此外에는 第一項에 있어서의 實驗條件과 같았으나 第二表에서와 같이 對照値에 差異가 있음을 볼 수 있다.



(Fig. 1) Comparison of the hyperglycemic and lipolytic effects of Epinephrine, Norepinephrine and Isopropylarterenol (Isuprel) in the tortoise.

Animals were decapitated 30 min after intravenous administration of saline, 5 or 50 μ g/kg of the three catecholamines. Glucose and FFA were determined in the blood plasma. The numbers in the lower columns denote the numbers of animals. Mean values with S.E. of the mean are indicated.

(Table 2) Seasonal variations of plasma glucose and free fatty acid levels in the tortoise.

	n	Glucose(mg%)	FFA(μ Eq/l)
August-October	6	142.0 \pm 11.1	544 \pm 45.0
January-March	10	137.4 \pm 15.5	251 \pm 14.3

Mean S.E. of the mean. n=Number of animals.

即 Glucose 는 有意義한 變動이 없으나 FFA 는 겨울 것에 있어서 顯著하게 減少되어 있었다. 이는 冬眠時에 脂肪을 消耗하여 生命을 延長하였기 때문에 脂肪의 含量이 甚히 減少된 것으로 推測된다.

Epi, NE, Isuprel 의 効果는 Glucose 는 NE 가 가장 顯著하게 增加시키나 FFA 는 Epi 에 가장 銳敏하게 反應함을 볼 수 있고 10 倍의 增量으로써 가장 큰 反應을 보여주나 NE 또는 Isuprel 에는 그다지 큰 變動을 볼 수 없으며 兩者의 差는 別로 볼 수 없다.

(3) Reserpine 의 影響: 다음 Endogenous Catecholamine 의 影響을 알기 爲하여 Reserpine 으로 處理하였다. Reserpine 處理는 Reserpine phosphate 를 20% ascorbic acid 에 녹혀 必要量을 0.5ml 의 容量으로 하여 腹腔內로 投與하였다. Reserpine 處理자라는 甚한 鎮靜 및 無慾 狀態로 되고 食物을 攝取하지 않고 많은 數에 있어서 死亡하는 것을 볼 수 있었다.

(Table 3) Effect of reserpine on plasma glucose and free fatty acid concentrations in the tortoise.

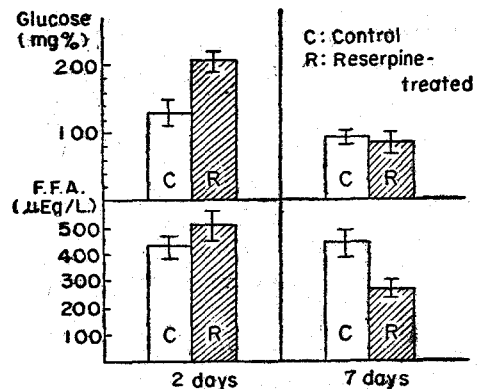
Treatment		days after treatment	
		2	7
Reserpine	Glucose (mg%)	204.8 \pm 13.2 (12)	86.8 \pm 15.6 (5)
	FFA(μ Eq/L)	510 \pm 50	274 \pm 35
Vehicle	Glucose	128.9 \pm 7.8 (7)	93.5 \pm 11.4 (4)
	FFA	425 \pm 45	447 \pm 49

Mean \pm S.E. of the mean. In parentheses are the number of experiments.

第三表는 Reserpine 處理자라에 있어서의 血中 Glucose 및 FFA 의 값이다. 對照群으로는 Reserpine 溶媒를 同量投與하여 絶食시키고 같은 條件下에서 放置하여둔 群이다.

對照群은 FFA 는 別變動이 없으나 Glucose 는 2日後에 129, 7日後에는 94mg%로 減少함을 볼 수 있다. 이

는 아마 飢餓로 인한 減少인듯 하다. 이에 反해서 Reserpine 으로 處理한 群에 있어서는 2日後에 Glucose 는 205mg%로 顯著히 增加하고 FFA 는 510 μ Eq/l 로 對照群보다 높은 傾向을 나타내나 7日後에는 Glucose 가 87 mg% FFA 는 274 μ Eq/l 로 兩者 다 같이 減少함을 볼 수 있다. 即 第二圖에서 더 뚜렷이 볼 수 있드시 Reserpine 投與群에서는 2日後에 對照群보다 Glucose 의 顯著한 增加(p<0.05)를 보이고 7日後에는 Glucose 는 兩者 다 減少하여 別差異를 볼 수 없으나 FFA 는 對照群

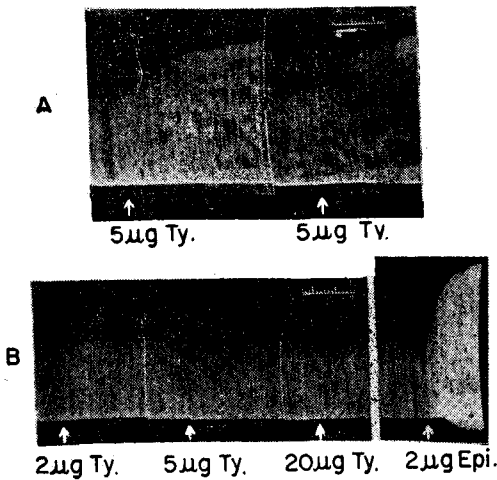


(Fig. 2) Plasma glucose and free fatty acid levels after reserpine treatment in the tortoise.

보다 有意義하게 (p<0.05) 減少함을 볼 수 있다.

(4) 剔出心房에 있어서의 實驗: 여기에 있어서 Reserpine 處理 2日後의 Glucose 및 FFA 의 增加가 무엇에 基因한지 또 7日後의 FFA 의 減少가 果然 Reserpine 에 依한 Catecholamine 의 "depletion"과 關係가 있는 것인지 알기 爲하여 剔出心房에 있어서 Catecholamine 을 遊離시켜서 作用하는 Tyramine 의 効果를 봄으로써 Reserpine 處理의 完全如何를 檢討하였다.

第三圖 A는 正常자라의 剔出心房標本의 Tyramine 에 對한 反應이다. 即 5 μ g/ml Tyramine 에 反應하여 顯著히 그 振幅이 增加됨을 볼 수 있으나 Reserpine 處理後 7日된 標本에 있어서는 (第三圖 B) 心房收縮의 振幅도 正常群보다 작을 뿐더러 Tyramine 20 μ g/ml 의 높은 濃度에서도 反應하지 않았다. 그러나 Epi 를 加하면 振幅이 顯著히 增加함을 볼 수 있었다. Reserpine 處理後 2日된 것에 있어서는 5 μ g/ml 에 對하여 約半數에 있어서 反應하나 量을 增加하여 20 μ g/ml 의 Tyramine 을 加하



(Fig. 3) Effects of Tyramine and Epinephrine on the isolated auricles from normal and reserpinized tortoises.

A: Auricle from a normal tortoise, B: from a reserpinized animal. Ty=Tyramine, Epi=Epinephrine. At arrow marks the drugs are added to the bathing fluid in a concentration of ug/ml. Time: Big marks=1min.

면 例外없이 反應함을 볼 수 있었다. 卽 Reserpine 處理後 2 日에는 아직도 心房組織으로부터 Catecholamine 의 "Depletion"이 完全히 일어나지 않았으나 第 7 日에는 完全함을 볼 수 있음으로 各組織에서도 亦是 完全히 Catecholamine 의 "Depletion"이 일어났음을 짐작할 수 있다.

B) in vitro 實驗

1) 剔出脂肪片에 있어서의 **Epinephrine** 의 效果: *in vivo* 實驗에 있어서 Catecholamine 이 血漿內 FFA 를 增加시킴을 알 수 있으나 그와 같은 作用이 果然 脂肪組織으로부터의 遊離의 增加에 依한 것인지를 알기 爲하여 剔出した 脂肪組織을 incubate 하여 遊離되는 脂酸을 測定하였다, 第四表에 있어서는 Epi 를 加한 片에서 遊離된 脂酸量과 對照로서 아무 藥物도 加하지 않는 組織片에서 遊離된 量과의 差異를 組織 gram 當으로 換算한 것이다. 卽 對照群에서는 $0.280 \pm 0.001 \mu\text{Eq/g}$ 의 遊離를 이트켰으나 Epi 1×10^{-8} 卽 $0.01 \mu\text{g/ml}$ 의 濃度에서 벌써 顯著한 遊離의 增加를 보이고 增量에 따라 遊離量도 增加하여 1×10^{-5} 卽 $10 \mu\text{g/ml}$ 의 濃度에서 最大의 反應을 보이고 다음 10 倍 增量하여 $100 \mu\text{g/ml}$ 의 濃度에서도 더 以上の 反應의 增加를 招來하지 않았다.

(Table 4) FFA-release by Epinephrine from adipose tissue of the tortoise *in vitro*.

Conc. of Epinephrine in incubation media	n	FFA release ($\mu\text{Eq/g}$) (Increment over control)
1×10^{-8}	4	$+0.14 \pm 0.056$
1×10^{-7}	4	$+0.36 \pm 0.039$
1×10^{-6}	4	$+0.43 \pm 0.005$
1×10^{-5}	4	$+0.56 \pm 0.008$
1×10^{-4}	4	$+0.55 \pm 0.141$
Control	3	0.28 ± 0.001

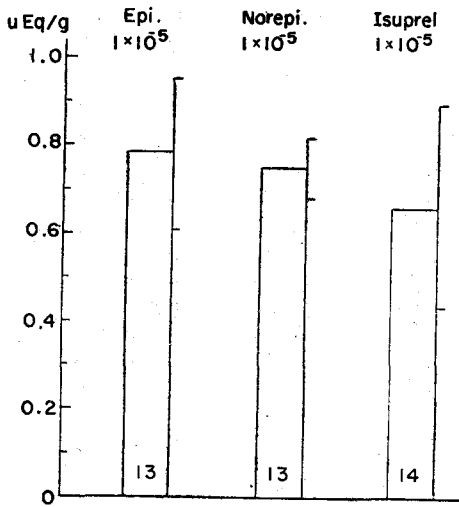
Mean \pm S.E. of the mean. n=Number of slices. Slices of inguinal adipose tissues from a 600g, male tortoise, weighing about 200mg each, were incubated in Frog-Ringer-Albumin media for 3 hours at 25°C , with shaking at the speed of 120/min.

卽 Epi 는 *in vitro* 에서도 자라의 脂肪組織에서 FFA 를 遊離시키는 作用을 나타내며 1×10^{-5} 의 濃度에서 最大의 效果를 나타낸다. 따라서 다음 諸 *in vitro* 實驗에 있어서 Epi 의 標準濃度로서 1×10^{-5} 을 擇하였다.

2) *in vitro* 實驗에 있어서의 **Epi, NE, Isuprel** 의 效果의 比較: *in vitro* 에 있어서 代表的인 3 Catecholamine 의 脂肪分解作用은 第四圖에서 보는 바와 같다. 이때 incubation media 에는 各 藥品을 1×10^{-5} 의 濃度로 加하고 25°C 에서 3 時間 incubation 하여 遊離된 FFA 를 아무것도 加하지 않은 對照片보다 增加한 量을 表示하였다. 對照群은 $0.48 \pm 0.15 \mu\text{Eq/g}$ 의 遊離가 일어났으며 Epi 는 對照보다 $0.78 \pm 0.17 \mu\text{Eq/g}$, NE 는 $0.75 \pm 0.07 \mu\text{Eq/g}$ Isuprel 은 $0.66 \pm 0.23 \mu\text{Eq/g}$ 더 遊離를 일으켰으며 作用의 強度는 $E > NE > I$ 의 順序임을 볼 수 있다.

이 順序는 大略 *in vivo* 에서의 順序와 一致한 것을 볼 수 있다.

3) **Epinephrine** 의 脂肪分解作用에 미치는 **Ergotamine** 의 影響: 이와 같은 Catecholamine 의 效果가 자라에 있어서도 果然 receptor 의 種類와 關係가 있다 보기 爲하여 于先 α -receptor 의 遮斷劑인 Ergotamine 의 影響을 보았다. 먼저 Ergotamine 自體만의 作用을 보면 第五表에서와 같이 Ergotamine $1 \times 10^{-6} \sim 10^{-4}$ 의 濃度에 있어서 何等의 遊離의 增加를 보이지 않고 오히려 uptake (negative value)의 傾向을 나타내고 있을 뿐이다. 卽 Ergotamine 自體로는 여기에 使用한 範圍內로는 何等의 脂肪遊離作用이 없음을 알 수 있다. 다음 Epi 1×10^{-5} 의 效果와 그에 미치는 Ergotamine 1×10^{-4} 의 影響을 보면 Epi 만으로는 對照群보다 $+0.47 \pm 0.066 \mu\text{Eq/g}$ 더



(Fig. 4) Lipolytic effects of Epinephrine, Norepinephrine and Isopropylarterenol (Isuprel) in the tortoise adipose tissue *in vitro*.

Slices of inguinal adipose tissues weighing about 200mg each, from a 600g, male tortoise, were incubated in Frog-Ringer-Albumin media for 3 hours at 25°C, with shaking at the speed of 120 strokes per minute. Drugs were added to the media in a concentration of 1×10^{-5} . After incubation the FFA in the media were determined, and the increments of FFA-release over control slices were calculated as $\mu\text{Eq/g}$ tissue. Mean values with the S.E. were indicated in the figure. Numbers in the columns are those of the slices.

(Table 5) Effect of Ergotamine on the FFA release of adipose tissue of the tortoise.

Conc. of Ergotamine in incubation media	n	FFA release ($\mu\text{Eq/g}$) (Increment over control)
1×10^{-6}	3	-0.03 ± 0.210
1×10^{-5}	4	-0.17 ± 0.060
1×10^{-4}	4	-0.09 ± 0.153
Control	4	1.35 ± 0.260

Mean S.E. of the mean. n = Number of slices. Legend as in the Tab. 4.

遊離되나 Ergotamine 10^{-4} 과 같이 가한 것은 $+0.16 \pm 0.121 \mu\text{Eq/g}$ 로 약 1/3로 줄어들었으며 이 差異는 統計學的으로 有意義함을 알 수 있었다. 卽 Ergotamine을 가하면 Epi의 作用이 完全히 抑制되지는 않으나 顯著하게 抑制되는 것을 볼 수 있다.

(4) Epinephrine이 脂肪遊離作用에 미치는 Nethalide의 影響: 다음 β -receptor의 遮斷劑로써 알려진 Nethalide의 影響을 觀察하였는데 Nethalide 自體만으로는 若干의 增加의 傾向을 보일 뿐 有意義한 脂肪分解作用을 보이지 않는다.

(Table 6) Influence of Ergotamine on the lipolytic action of Epinephrine in the adipose tissue of the tortoise.

Agents added	n	FFA release ($\mu\text{Eq/g}$) (Increment over control)
Epinephrine 1×10^{-5}	8	$+0.47 \pm 0.066$
Epinephrine 1×10^{-5} + Ergotamine 1×10^{-4}	8	$+0.16 \pm 0.121$
- (Control) -	4	1.58 ± 0.074

Mean \pm S.E. of the mean. N = Number of slices.

(Table 7) Effect of Nethalide on FFA release and on the lipolytic action of Epinephrine in the adipose tissue of the tortoise *in vitro*.

Agents added	n	FFA release ($\mu\text{Eq/g}$) (Increment over control)
- Epinephrine 1×10^{-5} + Nethalide 1×10^{-6}	4	$+0.05 \pm 0.116$
- Epinephrine 1×10^{-5} + Nethalide 1×10^{-5}	4	$+0.26 \pm 0.100$
- Epinephrine 1×10^{-5} + Nethalide 1×10^{-4}	4	$+0.18 \pm 0.228$
Epinephrine 1×10^{-5}	8	$+0.98 \pm 0.136$
Epinephrine 1×10^{-5} + Nethalide 1×10^{-4}	8	$+0.42 \pm 0.065$
- (Control) -	6	1.06 ± 0.222

Mean \pm S.E. of the mean. n = Number of slices.

그러나 Epi 1×10^{-5} 만으로는 對照보다 $+0.98 \pm 0.136 \mu\text{Eq/g}$ 의 增加를 보이는데 Epi 1×10^{-5} 에다 1×10^{-4} 의 Nethalide를 가한 群에서는 對照보다 $+0.42 \pm 0.065 \mu\text{Eq/g}$ 만의 增加를 볼 수 있다. 이 差異는 統計學的으로 高度로 有意義함을 볼 수 있다. 卽 β 遮斷劑인 Nethalide도 Epi의 效果를 完全히 除去하지는 못하지만 強力한 抑制作用을 나타낼 수 있다.

考 按

血中 遊離脂酸이 葡萄糖에 못지 않게 重要한 Energy 源임이 알려진지 얼마 안되어서 FFA代謝에 關한 많은 研究가 行하여졌으며 특히 여러가지 生理的調節機轉中에서도 사람 및 흔히 쓰이는 實驗動物에 있어서는 Sympathoadrenal system이 가장 重要한 役割을 하고 있음

이 여러 學者에 의해 여러 方向으로 證明되었다.^{1,12,15,19,2)} 그러나 最近 Carlson 等²⁷⁾ 및 尹²⁸⁾은 답에 있어서는 Catecholamine 이 FFA 의 動員을 일으키지 못함을 觀察報告하여 動物의 種에 따라 다를을 示唆하였다. 本實驗에 있어서는 여러 代謝面의 特徵에도 不拘하고 冷血動物인 자라에 있어서 哺乳類와 같이 FFA 의 代謝에 Catecholamines 가 密接한 關係를 갖고 있음을 처음으로 보여주고 있다.

먼저 *in vivo* 實驗에 있어서 Norepinephrine 은 哺乳動物에서는 生理的이라고 看做할 수 있는 5 μ g/kg 의 少量으로서도 甚한 個體差에도 不拘하고 벌써 30 分後에 有意義한 增加를 招來함을 보여주었고 또 이 効果는 10 倍의 增量으로 더욱 顯著함을 보여준다(第一表).

다음 Reserpine 處理로써 Endogenous Catecholamine 을 除去하여 “Tonic effect of Catecholamine”을 除外하였을 때 血中 FFA 및 Glucose 의 變動을 觀察한 實驗에 있어서 Reserpine 投與後 2 日에는 FFA 의 若干의 增加와 Glucose 의 顯著한 增加를 보여준다. 이때 剔出心房標本에 對한 Tyramine 의 効果는 若干 減弱되었지만 恒常 나타나는 點으로 보아 組織內에 貯藏된 Catecholamine 의 遊離가 完全히 없으며 오히려 一時的인 奔出로 因하여 血中の Catecholamine 의 濃도가 높아짐으로 因하지 않는가 짐작된다.

이點을 뒷받침하는 事實로는 剔出心房標本에 있어서 Tyramine 効果에 規準을 두어서 Endogenous Catecholamine 이 거의 完全히 消失됐다고 斷定할 수 있는 第 7 日에는 若干의 Glucose 의 減少 및 FFA 의 有意義한 減少를 招來하였다는 點이다. 卽 FFA 의 動員에 있어서 Endogenous Catecholamine 의 役割이 큰을 立證하고 있다. 이때에 있어서 Reserpine 處理後에 거의 絶食狀態에 있었으므로 絶食에 依한 葡萄糖 및 脂肪의 貯藏의 減少도 考慮하지 않을 수 없겠으나 같은 條件下에서 絶食시킨 對照群에 있어서는 7 日間에 葡萄糖의 若干의 減少는 오지만 FFA 는 何等 變化가 없었다는 것으로 보아 絶食만으로는 그와 같은 FFA 의 甚한 減少가 오지 않음을 보여 주고 있다.

이와 같이 Catecholamine 이 血中葡萄糖과 함께 FFA 의 上昇을 招來하는 機轉은 어떠한가? Randle 等³²⁾은 葡萄糖과 FFA 間의 密接한 關係를 “Glucose-Fatty acid cycle”로서 要約하고 있는데, 그에 依하면 脂肪細胞로 들어가는 葡萄糖의 量이 줄어들면 L-glycerol-3-phosphate 의 供給이 줄어들어서 Triglyceride 로의 再合成이 減少되므로 Glycerol 및 FFA 가 血中으로 流出되어 나온다고 한다. 一方 Wiechmann³³⁾ 以來 Epinephrine 이 末梢組織에서의 葡萄糖의 利用을 減少시킨다는 諸 報告가 있

다(Ellis³⁴⁾ 參照). 本研究의 結果는 葡萄糖值의 上昇이 FFA 值의 上昇에 先行하고 또 葡萄糖의 下降과 때를 같이 하여 FFA 가 最高值에 達함을 보여준다. 따라서 NE 의 FFA 上昇作用이 葡萄糖의 利用減少에 따르는 二次的인 것인지도 모른다. 實際로 *in vivo* 實驗만으로는 이와같은 可能性을 否定할 수 없다. 그러나 Catecholamine 의 作用이 二次的인 것이 아니라, 오히려 直接的으로 脂肪組織에서 FFA 의 遊離를 促進시킴으로써 血中濃度を 增加시킨다는 直接的인 證據는 *in vitro* 實驗이 提示하여 준다. 卽 葡萄糖을 添加하지 아니한 浴液에 있어서 Epi 를 加한 小片에서 對照片보다 훨씬 많은 FFA 의 遊離를 일으키며 그 効果는 1×10^{-5} 에서 最大에 到達할 때까지 Dose Response 關係를 나타내고 있다.

이와같은 脂肪分解效果는 따라서 環쥐에 있어서와 같이 Epinephrine 이 脂肪組織內의 lipase 의 活性을 增加시킴으로써 이루어진 것이라고 推測할 수 있다.

다음 Ahlquist²⁹⁾ 가 分類한 “ α -receptor”에 主要作用하는 NE, “ β -receptor”에 作用하는 Isuprel, 그리고 兩者 같이 作用하는 Epi, 三者의 代謝效果를 *in vivo* 및 *in vitro* 에서 比較하여 보았다. *in vivo* 實驗에 있어서 作用의 크기의 順序는 Epi>NE>Isuprel 이나 Epi 의 作用이 越等히 크고 NE, Isuprel 兩者의 作用의 和에 該當한만큼 하였으나, *in vitro* 實驗에서는 그 順序는 大略一致하나 差異는 크지 않았다.

“adrenergic receptor”의 遮斷劑를 使用한 實驗에 있어서는 먼저 α -receptor 를 遮斷하는 Ergotamine 自體는 全히 遊離의 增加를 볼 수 없었다. 그러나 Epi 의 最大效果를 나타낼 수 있는 1×10^{-5} 의 作用을 顯著하게 抑制하였다. 이와 같은 點은 環쥐에 있어 觀察한 Schotz & Page³⁵⁾, Goodman & Knobil¹¹⁾ 그리고 Mc Elroy & Spitzer³⁶⁾ 의 結果와 一致함을 볼 수 있다. 그러나 그들은 卽 “ α -receptor” 遮斷劑인 Phenoxybenzamine 과 Dibenzamine 은 그와 같은 效果를 볼 수 없음을 報告하였다. 한편 Love 等¹⁹⁾은 Dichloroisoproterenol 로써 Epi 의 效果를 遮斷할 수 있다고 하고 Pilkington 等³⁷⁾은 Nethalide 로써 完全히 抑制할 수 있음을 報告하고 Schusterova 等³⁸⁾은 Dichloroisoproterenol 의 效果와 Nethalide 의 效果가 같다고 報告하고 있다. 이들 모두 環쥐에 있어서의 結果와 자라에 있어서의 本實驗結果는 잘 一致됨을 볼 수 있다.

卽 Nethalide 自體로 若干의 交感神經類似效果가 있으나 Epi 의 效果를 顯著히 抑制함을 볼 수 있다. 卽 Epi 의 效果는 Ergotamine 및 Nethalide 에 依하여 完全히 遮斷되지는 않으나 顯著하게 抑制됨을 볼 수 있었다.

以上 adrenergic receptor 의遮斷劑의實驗成績 및 3種 Catecholamine 의 效果를 綜合檢討컨데 脂肪組織에 있어서 FFA 의 動員과 關聯된 receptor 는 Ahlquist 가 分類한바 α, β -receptor 어느 한가지에 屬한다고 생각하기 어려우며 다만 脂肪組織에 있어서는 receptor 의 分化가 일어나지 않았거나 FFA 動員에 있어서 兩 receptor 가 모두 關聯되었거나 함을 推測할 수 있다. 如何間 溫血動物인 흰쥐의 脂肪組織이나 冷血動物인 脂肪組織이나 生理 및 藥理學의 特徵이 같으며 여러가지 脂質代謝의 研究에 있어서 韓國에서 손쉽게 求할 수 있는 자라가 흰쥐 못지 않는 實驗動物로써 使用될 수 있음을 알 수 있다.

자라의 血中 FFA 濃도가 Glucose 濃도와는 달리 冬眠前後 卽 가을과 겨울에 따라 顯著하게 差異가 있음을 觀察하였다. 이點은 飢餓時에는 血中 FFA 의 減少보다는 오히려 Glucose 의 減少를 招來한다는 事實(第二圖)과 比較하여 볼 때 興味있는 일이다. 또한 이러한 事實은 寒冷에 馴화된 動物에 있어서의 熱産出에 脂肪代謝가 重大한 意義를 갖고 있고²²⁾²³⁾²⁴⁾ 또 冬眠으로부터 覺醒時에 褐色脂肪組織이 特異한 生理的인 役割을 하고 있다는 報告와 아울러 생각할때 冬眠時에 FFA 의 代謝가 生命의 維持에 不可欠한 要素를 이루고 있음을 알 수 있다.

總 括

자라에 있어서 *in vivo* 및 *in vitro* 實驗으로써 Catecholamine 와 脂酸代謝와의 關係를 究明한바 다음과 같은 結果를 얻었다.

- 1) NE 는 血糖量 및 血中 FFA 量을 增加시키며
- 2) *in vivo* 로 Epi, NE, Isuprel 을 50 μ g/kg 靜脈內로 注射한後 30分에 血糖 및 FFA 를 測定한 結果 FFA 遊離作用은 Epi>NE>Isuprel 의 順序이었다.
- 3) Reserpine 으로 處理한 자라에 있어서는 2日後에는 血糖值의 上昇을 보이나, 剔出心房標本에 있어 Tyramine 에 對한 反應이 完全히 消失되는 第7日에는 FFA 의 顯著한 減少를 보였다.
- 4) *in vitro* 實驗에 있어서 Epi 은 脂肪組織서 FFA 의 遊離를 增加시키며 그 效果는 濃도에 比例하여 增大하며 1×10^{-5} g/ml 의 濃度에서 最大效果를 나타낸다.
- 5) *in vitro* 에서 3種의 Catecholamine 의 FFA 遊離作用을 比較하면 Epi>NE>Isuprel 의 順序이나 큰 差異는 없었다.
- 6) Ergotamine 은 脂肪分解作用을 갖고 있지 않으나 Epi 의 脂肪分解作用을 抑制한다.
- 7) Nethalide 는 그 自體로 若干의 脂肪分解作用이 있

으나 Epi 의 脂肪分解作用을 抑制한다.

8) Catecholamine 은 溫血動物에서와 같이 冷血動物에 있어서도 脂酸代謝의 調節에 있어 重大한 役割을 하고 있으며, 자라는 脂肪代謝의 研究에 있어서 흰쥐 못지 않게 使用될 수 있음을 알 수 있다.

References

1. Dole, V.P. : A relation between non-esterified fatty acids in plasma and metabolism of glucose. J. Clin. Invest. **35** : 150, 1956.
2. Gordon, R.S. Jr. and Cherkas, A. : Unesterified fatty acid in human blood plasma. J. Clin. Invest. **35** : 203, 1956.
3. Bierman, E.L., Schwartz, I.L. and Dole, V.P. : Action of insulin on release of fatty acids from tissue stores. Am. J. Physiol. **191** : 359, 1957.
4. Fredrickson, D.S. and Gordon, R.S. Jr. : Metabolism of albumin-labeled fatty acids in man. J. Clin. Invest. **36** : 890, 1957.
5. Laurell, S. : Turnover rate of unesterified fatty acids in human plasma. Acta. physiol. scandinav. **41** : 158, 1957.
6. Scott, J.C., Finkelstein, L.J. and Spitzer, J.J. : Myocardial removal of free fatty acids under normal and pathological conditions. Am. J. physiol. **203** : 482, 1962.
7. Hirsche, H.J., and Koike, S. : Hemmung der Aufnahme und des Abbaues der Glucose im Herzmuskel narkotisierter Hunde durch die freien Fettsäuren. Pfl. Arch. ges. Physiol. **280** : 158, 1964.
8. Gold, M. and Spitzer, J.J. : Metabolism of free fatty acids by myocardium and kidney. Am. J. Physiol. **206** : 153, 1964.
9. Spitzer, J.J. and Gold, M. : Free fatty acid metabolism by skeletal muscle. Am. J. Physiol. **206** : 159, 1964.
10. Friedberg, S.J. and Estes, E.H. Jr. : Direct evidence for the oxidation of free fatty acids by peripheral tissues. J. Clin. Invest. **41** : 677, 1962.
11. Goodman, H.M. and Knobil, E. : Some endocrine factors in regulation of fatty acid mobilization during fasting. Am. J. Physiol. **201** : 1, 1961.
12. Olson, R.E. and Vester, J.W. : Nutrition-endocrine interrelationships in the control of fat transport in man. Physiol. Rev. **40** : 677, 1960.

13. Klein, R.E., Estes, E.H. Jr. and Bogdonoff, M. D. : Effect of norepinephrine on plasma free fatty acid level in man. *J. appl. Physiol.* **16** : 342, 1961.
14. Nestel, P.J. : Plasma triglyceride concentration and plasma free fatty acid changes in response to norepinephrine in man. *J. Clin. Invest.* **43** : 77, 1964.
15. Gordon, R.S., Jr. and Cherkes, A. : Production of unesterified fatty acids from isolated rat adipose tissue incubated *in vitro*. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **97** : 150, 1958.
16. White, J.E. and Engel, F.L. : A lipolytic action of epinephrine and norepinephrine on rat adipose tissue *in vitro*. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **99** : 375, 1958.
17. Rüdman, D., Brown, S.J. and Malkin, M.F. : Adipokinetic actions of adrenocorticotropin, thyroid-stimulating hormone, Vasopressin, α - and β -melanocyte stimulating hormones, Fraction H, Epinephrine and Norpinephrine in the rabbit, guinea pig, hamster, rat, pig and dog. *Endocrinol.* **72** : 527, 1963.
18. Hagen, J.H. and Ball, E.G. : Studies on the metabolism of adipose tissue. IV. The effect of insulin and adrenaline on glucose utilization, lactate production and net gas exchange. *J. Biol. Chem.* **235** : 1545, 1960.
19. Love, W.C., Carr, L. and Ashmore, J. : Lipolysis in adipose tissue : effects of dl-3,4-Dichloroisoproterenol and related compounds. *J. Pharmacol. exp. Therap.* **140** : 287, 1963.
20. Brooker, W.D. and Calvert, D.N. : Comparative effects of adrenergic blocking agents upon catecholamine stimulated release of free fatty acids. *Fed. proc.* **23** : 541, 1964.
21. Riggilo, D.A. and Kvam, D.C. : Inhibition of catecholamine-induced increases in blood glucose and free fatty acids by beta-adrenergic blocking. *Fed. Proc.* **23** : 124, 1964.
22. Mitchell, C.E. and Longwell, B.B. : Effect of fasting on release of free fatty acid by the adipose tissue of the cold-acclimated rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **117** : 593, 1964.
23. Rimmer, A.D., Schönbaum, E. and Sellers, E.A. : Effects of norepinephrine on blood glucose and free fatty acids in cold-adapted rats. *Am. J. Physiol.* **203** : 95, 1962.
24. Hannon, J.P. and Larson, A.M. : Fatty acid metabolism during norepinephrine-induced thermogenesis in the cold-acclimatized rat. *Am.J. Physiol.* **203** : 1055, 1962.
25. Donhoffer, Sz., Sárdy, F. and Szegvári, Gy. : Brown adipose tissue and thermoregulatory heat production in the rat. *Nature* **203** : 765, 1964.
26. Joel, C.D., Treble, D.H. and Ball, E.C. : On a major role for brown adipose tissue in heat production during arousal from hibernation. *Fed. Proc.* **23** : 271, 1964.
27. Carlson, L.A., Liljedahl, S.O., Verdy, M. and Wirsén, C. : Unresponsiveness to the lipid mobilizing action of catecholamines *in vivo* and *in vitro* in the domestic fowl. *Metab. clin. and exptl.* **13** : 227, 1964.
28. 尹圭玉 : 全南醫大雜誌 第2卷 第1號 印刷中
29. Ahlquist, R.P. : A study of the adrenotropic receptors. *Am. J. Physiol.* **153** : 586, 1948.
30. Keilin, D. and Hartree, E.P. : The use of glucose oxidase (Notatin) for the determination of glucose in biological material and for the study of glucose producing systems by manometric methods. *Biochem. J.* **42** : 230, 1948.
31. Campbell, J., Martucci, A.D. and Green, G.R. : Plasma albumin as an acceptor of free fatty acids. *Biochem. J.* **93** : 183, 1964.
32. Randle, P.J., Garland, P.B., Hales, C.N. and Newsholme, E.A. : The glucose fatty-acid cycle. *Lancet.* **I** : 785, 1963.
33. Wiechmann, E. : über die Glucosepermeabilität der peripheren Gewebe beim Adrenalindiabetes. *Dtsch. Arch. Klin. Med.* **154** : 296, 1927.
34. Ellis, S. : The metabolic effects of epinephrine and related amines. *Pharmacol. Rev.* **8** : 485, 1956.
35. Schotz, M.C. and page, I.H. : Effect of adrenergic blocking agents on the release of free fatty acids from rat adipose tissue. *J. lipid Res.* **1** : 466, 1960.
36. McElroy, W.T. Jr. and Spitzer, J.J. : Effects of adrenergic blocking agents on plasma free fatty acid concentrations. *Am J. Physiol.* **200** : 318, 1961.

37. Pilkington, T.R.E., Lowe, R.D., Robinson, B.F. and Titterington, E. : Effect of adrenergic blockade on glucose and fatty acid mobilization in man. *Lancet* II : 316, 1962.
38. Schusterova, D., Kreikove, D., Muhlbachova, E., Hynie, S. and Wenke, M. Influence of some new beta-sympathotropic agents on lipid mobilization *in vitro*. *International J. Pharmacol.* 3 : 129, 1964.

***** (祝) 創 刊 *****

大韓藥理學雜誌

韓逸藥品株式會社

社長 禹 大 奎

◆ (祝) 創 刊 ◆

大韓藥理學雜誌

東亞製藥株式會社

社長 姜 重 熙

◆