

Streptozotocin によるインスリン欠乏ラットにおける 脂質ならびに脂肪酸に関する研究

第 2 編

肝スライスおよび全血細胞による 1-¹⁴C-acetate Na の取り込みによる検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (主任: 木村郁郎教授)

三 宅 寛 治

(昭和63年2月22日受稿)

Key words : streptozotocin, 肝スライス, 全血細胞, ¹⁴C の取り込み

緒 言

インスリンは脂肪酸合成に関する酵素を誘導したり¹⁾, ホルモン感受性リパーゼを抑制して血中脂肪酸の上昇を防いでおり²⁾, 脂質代謝と深い関連がある。そしてインスリンと糖および脂質代謝との関連は glucose-fatty acid cycle³⁾として理解されている。脂質代謝の中心的な器官である肝臓では、インスリン欠乏状態による脂肪酸代謝がよく研究されている。一方血液細胞による脂質合成の事実については Pastore⁴⁾らの報告があり、教室における研究業績^{5)~10)}においても血液細胞が acetate を基質として脂質合成を行なっていることが知られている。人間では体重の7~11%, 4,000~6,000mlと言われている血液中で血液細胞が行なう脂質合成の事実は、一個体の脂質代謝を考える上では可成り重要であると考えられる。そして教室木畑ら¹¹⁾は肥満マウス肝を用いての研究から、肝で行なわれる代謝のパターンが血液細胞でもみられると報告しており、血液細胞が行なう脂質合成能は肝での脂質の動態と密接な関連があると考えられる。また血液細胞の脂質代謝と肝のそれを対比検討した報告は少ない¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾。そこで著者は一つには成長段階のラットを用いインスリン欠乏発症後、時期の差による脂質代謝の変化を検討することを目的として、Streptozotocin を用いてインス

リン欠乏状態を作成し、発症1週間、1ヵ月、3ヵ月の各時期において、肝および全血細胞による1-¹⁴C-acetate Na の脂質への取り込みを観察した。

実験動物ならびに実験方法

1. 実験動物

実験には Wistar 系雄性ラットで体重150~170gのものを、2群に分けた。即ち先ず1群には streptozotocin (以下 STZ と略す) によるインスリン欠乏状態を生じさせる為に、0.05 M citrate buffer, pH4.5 を使用直前に作成し直ちに STZ を75mg/kg当たりを buffer 約2.0mlに溶解し、尾静脈より1回静注した。他の1群は無処置の対照群(以下 CON と略す)とした。STZ 投与前は14時間~16時間程1夜絶食とし、投与後より一週間後、1ヵ月後、3ヵ月後にそれぞれ実験に供した。ラットは金属ゲージに1匹ずつ収容し飼料は普通のオリエンタル固型飼料と水で自由摂食とした。STZ 投与群の空腹時血糖300mg/dl以上のものを STZ 群とした。

2. 実験方法

14時間~16時間の1夜絶食後ネブタール麻酔を施し、開腹、開胸しヘパリン加シリコン処理した注射器にて心穿刺を行い採血し、直ちに右頸動脈より脱血した。その後生理食塩水にて門脈より肝かん流を行なった後肝を取り出し、

スライサーにて厚さ0.4mmの肝スライスを直ちに作成し500mgを秤量した。それを100mℓの Erlenmyer フラスコ中にて, Krebs-Ringer bicarbonate buffer (pH7.4) 5mℓ, $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate Na 5 μci とともに, 95% O_2 + 5% CO_2 の気相で 37°C 4 時間 incubate した。全血は 5mℓ のヘパリン加血を上記と同様に100mℓ Erlenmyer フラスコ中に $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate Na 5 μci とともに, 95% O_2 + 5% CO_2 の気相で37°C 4 時間 incubate した。すべてのガラス器具はシリコン処理を行った。

3. 脂質抽出および ^{14}C 測定法

全血及び肝スライスともに Folch¹⁴⁾の方法により総脂質を抽出し, さらに0.73%食塩水で3回水洗した。つぎに総脂質の一部を Björntorp¹⁵⁾の方法によりけん化抽出を行ない, 非けん化脂質を別にし, けん化分画を1.5 N HCl で酸性にした後石油エーテルで抽出し総脂肪酸(以下 TFA と略す)とした。得られた総脂肪酸を, Metcalfe および Schmitz¹⁶⁾の方法によりメチル化した。総脂質の一部をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにて燐脂質(以下 PL と略す), 遊離コレステロール(以下 FC と略す), 遊離脂肪酸(以下 FFA と略す), 中性脂肪(以下 TG と略す), エステル型コレステロール(以下 EC と略す)に分離抽

出し放射能活性を測定した。脂肪酸の分析はガスクロマトグラフィーにより行ない, chromosorp P を担体とし20% diethylene glycolsuccinate を液相とし内径3mm長さ3mのカラムにパッキングして島津 GC-2 Cにて行った。各ピークにおいて流出する各脂肪酸メチルを脱脂後, シリコン処理したタバコフィルターで trap し, その放射能活性を測定した。総脂質, 総脂肪酸, 非けん化分画, 主要脂質分画および各脂肪酸メチルの ^{14}C 放射活性を, 液体シンチレーションカウンターにより POPOP (1-4-bis-2-(5-phenyloxazolyl)-benzen), PPO (2-5-diphenyl oxazole), トルエン系シンチレーターを用いて測定した。

4. 血清脂質の測定法

総脂質(以下 TL と略す)の測定は Bragdon 法¹⁷⁾, 総コレステロール(以下 CH と略す)の測定は Zurkowski 法¹⁸⁾, 中性脂肪の測定は Van-Handel 変法¹⁹⁾, 燐脂質の測定は Fiske-Subbarow 法²⁰⁾を用いて測定した。

実験成績

1. 実験動物の体重, 血糖および血清脂質値

STZ 群と対照群間には表1にみられる如く各

表1 1週間, 1ヵ月, 3ヵ月後の空腹時血糖・体重・血清脂質値

		FBS	BW	TG	CH	PL	TL
1 W	CON (5)	94	186	73	56	98	257
		± 20	± 6	± 12	± 9	± 35	± 53
	STZ (5)	377△ :	152▼ :	144△ :	60	87	370△
		± 64	± 16	± 38	± 9	± 9	± 80
1 M	CON (5)	159	376	80	47	96	301
		± 40	± 15	± 10	± 9	± 12	± 36
	STZ (5)	494△ :	162▼ :	113△	53	98	348
		± 40	± 16	± 22	± 7	± 21	± 66
3 M	CON (5)	121	430	80	44	120	294
		± 20	± 40	± 12	± 4	± 14	± 15
	STZ (5)	459△ :	170▼ :	142△ :	52	143△	490△ :
		± 95	± 11	± 20	± 9	± 13	± 75

FBS, TG, CH, PL, TL mg/dl

BW gm

△ p<0.05, △・ p<0.02, △ : p<0.005, △ : p<0.001

▼ p<0.05, ▼・ p<0.02, ▼ : p<0.005, ▼ : p<0.001

Mean±SD

表2 肝スライスでの総脂質・非鹸化脂質・総脂肪酸への¹⁴Cの取り込み

	Total Lipid	Unesterified Fraction	Total Fatty Acid
CON (4)	248426	153433	24287
1 W STZ (4)	± 87006 57340▼ : ± 36871	± 54128 21906▼ : ± 22743	± 10001 10545▼ : ± 5377
CON (4)	172100	97305	22107
1 M STZ (5)	± 65028 57883▼ ± 22835	± 54118 17940▼ ± 12763	± 4324 11003▼ : ± 5012
CON (5)	87095	29333	16075
3 M STZ (4)	± 26922 61075 ± 11864	± 9246 15870 ± 9455	± 9107 13265 ± 1823

cpm/500mg liver

▼ p<0.05, ▼ : p<0.005

Mean±SD

表3 全血細胞での総脂質・非鹸化脂質・総脂肪酸への¹⁴Cの取り込み

	Total Lipid	Unesterified Fraction	Total Fatty Acid
CON (4)	1833	121	1444
1 W STZ (4)	± 347 1445 ± 45	± 20 100 ± 2	± 319 1173 ± 63
CON (4)	1987	87	1577
1 M STZ (5)	± 211 1632 ± 531	± 25 88 ± 18	± 211 1174 ± 348
CON (5)	1484	92	1113
3 M STZ (4)	± 750 608 ± 190	± 30 23▼ : ± 8	± 656 510 ± 169

cpm/10⁶ WBC

▼ : p<0.01

Mean±SD

時期において空腹時血糖、体重共に著しい差を認めた。すなわち STZ 群では対照群に比べ著しい高血糖と低体重を認め、体重増加は少なく 3 ヶ月後においても体重は 170 g 前後にしかならなかった。血清脂質値では、STZ 群で中性脂肪が 1 週間後に 144±38mg/dl、1 ヶ月後に 113±22mg/dl、3 ヶ月後に 142±20mg/dl と対照群に比べ有意の増加を認めた。総コレステロール値は両群間に差は認められなかったが、燐脂質値は 3 ヶ月後に STZ 群で 143±13mg/dl と対照群に比べ有意の増加を認めた。

2. 総脂質・非けん化脂質・総脂肪酸への¹⁴Cの取り込み

1-¹⁴C acetate Na からの総脂質・非けん化脂質・総脂肪酸への¹⁴Cの取り込み絶対量については、肝組織は 500mg 湿重量当りの net count で表 2 に示し、全血細胞については白血球 10⁶ 個当りの net count で表 3 に示した。

肝スライスについては表 2 に示した如くであり総脂質への取り込みは、1 週間後に対照群の 248,426±87,006 cpm/500mg liver に対し STZ 群は 57,340±36,871 cpm/500mg liver となり有意の取り込み低下を認めた。1 ヶ月後の対照群の 172,100±65,028 cpm/500mg liver に対し STZ 群は 57,883±22,835 cpm/500mg liver となり有意の低下を示した。3 ヶ月後には STZ 群に取り込み低下傾向が認められた。STZ 群間では

1 週間後・1 ヶ月後・3 ヶ月後の総脂質値の間に有意の差は認められず、STZ 投与 1 週間後より総脂質への一定した取り込み低下を認めた。非けん化脂質への取り込みは、1 週間後に対照群の 153,433±54,128 cpm/500mg liver に対し STZ 群は 21,906±22,743 cpm/500mg liver となり有意の取り込み低下を認めた。1 ヶ月後では対照群の 97,305±54,118 cpm/500mg liver に対し STZ 群は 17,940±12,763 cpm/500mg liver となり有意の低下を示した。3 ヶ月後は STZ 群に取り込み低下傾向を認めた。総脂肪酸への取り込みは、1 週間後対照群の 24,287±10,001 cpm/500mg liver に対し STZ 群は 10,545±5,377 cpm/500mg liver となり有意の取り込み低下を認めた。1 ヶ月後に対照群の 22,107±4,324 cpm/500mg liver に対して STZ 群は 11,003±5,012 cpm/500mg liver となり有意の低下を認めた。3 ヶ月後には STZ 群に取り込み低下傾向が認められた。肝スライスでは総脂質・非けん化脂質・総脂肪酸すべてにおいて STZ 群に早期より合成低下を認めた。

全血細胞の合成については表 3 に示した如くであり、総脂質、非けん化脂質、総脂肪酸への¹⁴Cの取り込みは対照群と STZ 群の間には 1 週間後、1 ヶ月後、ともに有意の差を認めなかった。3 ヶ月後において非けん化脂質への取り込みは対照群の 92±30 cpm/10⁶ WBC に対し STZ

表4 肝スライスでの主要脂質への $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetateの取り込み

			PL	FC	FFA	TG	EC
1 W	percent	CON (4)	3.71 ± 1.26	79.38 ± 4.73	1.92 ± 1.14	9.81 ± 3.58	5.16 ± 1.27
		STZ (4)	29.31 Δ : ± 12.31	49.93 ∇ : ± 15.21	3.51 ± 1.31	18.50 Δ ± 7.33	4.74 ± 1.69
	net count cpm/mg	CON (4)	17.1 ± 4.5	376.1 ± 145.6	9.1 ± 3.1	46.6 ± 0.6	28.0 ± 16.1
		STZ (4)	28.0 ± 11.7	61.4 ∇ · ± 64.0	3.4 ∇ · ± 1.0	19.6 ∇ · ± 11.1	6.5 ± 7.0
1 M	percent	CON (4)	5.16 ± 3.92	71.60 ± 15.09	3.13 ± 1.61	15.30 ± 10.27	4.80 ± 0.51
		STZ (5)	19.67 Δ : ± 3.07	51.00 ∇ ± 6.84	1.81 ± 0.57	22.49 ± 9.28	5.02 ± 2.15
	net count cpm/mg	CON (4)	12.1 ± 7.1	270.0 ± 143.3	8.9 ± 2.5	35.2 ± 13.9	17.2 ± 7.7
		STZ (5)	26.9 Δ ± 8.4	73.2 ∇ ± 33.1	2.1 ∇ · ± 0.4	29.4 ± 9.3	7.0 ± 3.7
3 M	percent	CON (5)	11.84 ± 6.14	58.55 ± 7.05	5.98 ± 1.39	18.42 ± 8.19	5.18 ± 2.26
		STZ (4)	27.95 Δ ± 5.81	28.96 ∇ · ± 7.96	6.57 ± 2.15	32.55 ± 10.32	3.95 ± 1.43
	net count cpm/mg	CON (5)	17.6 ± 7.8	101.4 ± 42.2	8.7 ± 3.5	28.8 ± 4.5	10.8 ± 6.5
		STZ (4)	32.5 Δ ± 9.1	34.5 ∇ ± 14.8	7.4 ± 1.5	36.3 ± 6.3	4.7 ± 2.2

∇ $p < 0.05$, ∇ · $p < 0.02$, ∇ : $p < 0.005$

Δ $p < 0.05$, Δ · $p < 0.02$, Δ : $p < 0.005$

Mean \pm SD

群は 23 ± 8 cpm/ 10^6 WBC となり有意の取り込み低下を示した。総脂質と総脂肪酸への取り込みは STZ 群に取り込み低下傾向を認めた。全血細胞では STZ 投与後かなりの時期が経過した後に脂質の合成低下が認められた。

以上の結果より肝組織では STZ 投与早期より脂質合成が低下するが、全血細胞ではかなり時期が経過した後に脂質合成が低下することが示された。

3. 主要脂質分画への ^{14}C の取り込み

薄層クロマトグラフィーで分離した主要脂質への ^{14}C の取り込みの百分率および net count は表4、表5に示した。肝スライスでは500mgを用いて実験しているが、表に記載する時には1mg湿重量当りのcpmで表示し、全血細胞では白血球 10^6 個当りのcpmで表示した。

肝スライスについては表4に示した如くであり磷脂質への取り込みは、1週間後に百分率で対照群の $3.71 \pm 1.26\%$ に対してSTZ群は $29.31 \pm 12.31\%$ となり有意の取り込み増加を示した。net countではSTZ群に取り込み増加傾向を認めた。1ヶ月後にnet countは対照群の 12.1 ± 7.1 cpm/mgに対しSTZ群は 26.9 ± 8.4 cpm/mgとなり有意の取り込み増加を示した。百分率でも同様なことが認められた。3ヵ月後にnet countは対照群の 17.6 ± 7.8 cpm/mgに対しSTZ群は 32.5 ± 9.1 cpm/mgとなり有意の取り込み増加を示し、百分率でも同様なことが認められた。STZ群において磷脂質へのエステル化の亢進が早期より認められた。

遊離コレステロールへの取り込みは、1週間後にnet countは対照群の 376.1 ± 145.6 cpm/mg

表5 全血細胞での主要脂質への $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Acetate の取り込み

			PL	FC	FFA	TG	EC
1 W	percent	CON (4)	19.57 ± 5.53	14.59 ± 2.34	61.92 ± 6.07	3.22 ± 0.58	0.68 ± 0.24
		STZ (4)	21.90 ± 4.58	8.19 ∇ : ± 1.31	65.60 ± 7.06	3.51 ± 1.06	0.79 ± 0.29
	net count cpm/ 10^6 WBC	CON (4)	367 ± 165	266 ± 82	1101 ± 154	59 ± 20	11 ± 4
		STZ (4)	310 ± 53	117 ∇ ± 16	950 ± 131	50 ± 13	11 ± 4
1 M	percent	CON (4)	20.00 ± 8.24	15.76 ± 2.52	57.94 ± 4.50	4.73 ± 3.38	1.54 ± 1.16
		STZ (5)	21.70 ± 15.19	6.20 ∇ : ± 2.41	68.31 ± 13.10	2.91 ± 0.65	1.07 ± 0.57
	net count cpm/ 10^6 WBC	CON (4)	393 ± 113	324 ± 86	1181 ± 194	100 ± 79	33 ± 37
		STZ (5)	305 ± 138	108 ∇ ± 33.1	1154 ± 532	49 ± 26	17 ± 11
3 M	percent	CON (5)	27.03 ± 11.55	5.85 ± 3.96	65.35 ± 6.74	1.55 ± 0.89	0.30 ± 0.19
		STZ (4)	24.07 ± 2.52	6.61 ± 2.74	67.58 ± 6.37	3.65 ± 1.99	1.75 ± 1.01
	net count cpm/ 10^6 WBC	CON (5)	247 ± 123	116 ± 60	1064 ± 610	45 ± 40	13 ± 16
		STZ (4)	134 ± 34	29 ∇ ± 12	380 ± 154	23 ± 20	8 ± 8

 Δ $p < 0.05$, $\Delta \cdot$ $p < 0.02$, $\Delta :$ $p < 0.01$, $\Delta :$ $p < 0.005$ ∇ $p < 0.05$, $\nabla \cdot$ $p < 0.02$, $\nabla :$ $p < 0.01$, $\nabla :$ $p < 0.005$ Mean \pm SD

に対し STZ 群は 61.4 ± 64.0 cpm/mg となり有意の取り込み低下を認め、百分率でも同様なことが認められた。1 ヶ月後に net count は対照群の 270.0 ± 143.3 cpm/mg に対し STZ 群は 73.2 ± 33.1 cpm/mg となり有意の取り込み低下を認め、百分率でも同様なことが認められた。3 ヶ月後に net count は対照群の 101.4 ± 42.2 cpm/mg に対して STZ 群は 34.5 ± 14.8 cpm/mg となり有意の取り込み低下を認め、百分率でも同様なことが認められた。遊離コレステロールの合成は STZ 群において早期より合成低下が認められた。

遊離脂肪酸への取り込みは、1 週間後に net count は対照群の 9.1 ± 3.1 cpm/mg に対し STZ 群は 3.4 ± 1.0 cpm/mg となり有意の取り込み低下を認めた。1 ヶ月後に net count は対照群の 8.9 ± 2.5 cpm/mg に対し STZ 群は 2.1 ± 0.4 cpm/mg と

なり有意の取り込み低下を認めた。3 ヶ月後には両群間に差は認めなかった。遊離脂肪酸の合成も STZ 群において早期より合成低下が認められた。

中性脂肪への取り込みは、1 週間後では net count は対照群の 46.6 ± 0.6 cpm/mg に対し STZ 群は 19.6 ± 11.1 cpm/mg となり有意の取り込み低下を認めた。1 ヶ月後・3 ヶ月後に両群間に有意の差は認めなかった。中性脂肪へのエステル化は STZ 群において早期にのみ低下を認めた。

エステル型コレステロールへの取り込みは、1 週間後・1 ヶ月後・3 ヶ月後共に net count で対照群に比べ STZ 群に取り込み低下傾向を認めた。

全血細胞については表 5 に示した如くであり、磷脂質への取り込みは 1 週間後、1 ヶ月後、3

表6 肝スライス各脂肪酸への¹⁴Cの取り込み百分率

		1 W		1 M		3 M	
		STZ (4)	CON (4)	STZ (4)	CON (5)	STZ (5)	CON (4)
C14 : 0		2.83	2.92	1.07	0.65	0.72	2.40
>		±2.94	±1.91	±0.63	±0.23	±0.26	±1.78
C14 : 0		3.11▼	4.21	3.67	6.11	4.54	6.85
		±0.55	±0.46	±1.90	±1.78	±2.11	±1.62
C16 : 0		28.62	40.52	34.42▼・	44.11	47.74	44.05
≥		±2.25	±10.80	±4.87	±3.62	±7.69	±5.88
C16 : 0		22.68	33.38	29.67▼	37.35	42.47	34.86
		±2.78	±8.58	±5.42	±1.89	±9.42	±5.49
C16 : 1		2.31	1.85	0.74▼ :	2.95	1.72	2.83
		±1.46	±0.75	±0.31	±0.50	±0.61	±1.10
C18 : 0		15.35	14.10	11.18	10.09	15.04	12.32
		±2.87	±2.20	±2.37	±2.94	±5.33	±4.08
C18 : 1		4.23	3.83	1.23▼ :	4.90	1.33▼・	2.94
		±1.47	±2.39	±0.10	±3.56	±0.81	±0.62
C20 : 0		49.75△	39.71	52.43△・	37.95	34.17	37.87
≤		±2.62	±7.50	±6.76	±5.97	±12.17	±4.77

▼ p<0.05, ▼・ p<0.02, ▼ : p<0.01

△ p<0.05, △・ p<0.02, △ : p<0.01

Mean±SD

ヵ月後共に, net count および百分率に両群間で有意の差を認めなかった。

遊離コレステロールへの取り込みは, 1 週間後に net count は対照群の266±82cpm/10⁶ WBC に対し STZ 群は117±16cpm/10⁶ WBC となり有意の取り込み低下を認め, 百分率でも同様なことが認められた。1 ヶ月後に net count は対照群の324±86cpm/10⁶ WBC に対し STZ 群は108±33.1cpm/10⁶ WBC となり有意の取り込み低下を認め, 百分率でも同様なことが認められた。3 ヶ月後に net count は対照群の116±60cpm/10⁶ WBC に対し STZ 群は29±12cpm/10⁶ WBC となり有意の取り込み低下を認めた。遊離コレステロールの合成は肝スライスで認められたのと同じく, STZ 群において早期より合成低下していることが認められた。

遊離脂肪酸への取り込みは, 1 週間後, 1 ヶ月後共に net count および百分率における両群間に有意の差を認めなかった。3 ヶ月後は net count で STZ 群に取り込み低下傾向を認めた。

中性脂肪およびエステル型コレステロールへ

の取り込みはいずれの時期においても両群間に有意の差は認めなかった。

以上全血細胞での合成では遊離コレステロールのみが STZ 投与早期より合成低下を示した。

4. 1-¹⁴C-acetate Na から各脂肪酸への¹⁴Cの取り込み百分率

各脂肪酸への¹⁴Cの取込み百分率は表6, 表7に示した。脂肪酸の鎖長がパルミチン酸(C16:0)までは malonyl CoA 経路を主とすることが知られているので²¹⁾ C14:0 >あるいは C16:0 ≥と一括して示した。またアラキジン酸(C20:0)以上の長鎖脂肪酸への取り込みも一括して示した。

肝スライスについては表6に示した如くであり, ミリスチン酸(C14:0)への取り込み百分率は, 1 週間後に対照群の4.21±0.46%に対し STZ 群は3.11±0.55%となり有意の取り込み低下を認めた。1 ヶ月後, 3 ヶ月後には STZ 群に取り込み低下傾向を認めたが有意の差はなかった。パルミチン酸(C16:0)への取り込みは1 ヶ月後に対照群の37.35±1.89%に対し

表7 全血細胞各脂肪酸への¹⁴Cの取り込み百分率

		1 W		1 M		3 M	
		STZ (4)	CON (4)	STZ (4)	CON (5)	STZ (5)	CON (4)
C14 : 0		6.09	5.29	3.80	1.76	3.36	2.01
	>	±0.93	±1.82	±1.91	±0.51	±0.75	±1.42
C14 : 0		16.71	17.10	15.63	12.83	14.49	12.10
		±0.56	±3.26	±1.19	±1.35	±5.19	±0.70
C16 : 0		45.15	45.82	43.50	42.73	44.04	48.11
	≥	±2.21	±6.17	±5.88	±4.65	±11.05	±9.85
C16 : 0		22.35	23.43	24.07	28.15	26.20	34.00
		±3.35	±3.58	±5.59	±3.43	±6.34	±10.56
C16 : 1		1.13	1.15	2.78	2.15	0.76	1.01
		±0.27	±0.34	±2.14	±0.87	±0.37	±0.34
C18 : 0		9.94	9.78	6.71 ▼ :	13.70	9.00	12.82
		±1.04	±2.09	±1.77	±2.79	±2.62	±4.19
C18 : 1		4.24	6.08	2.09 ▼ ·	5.09	0.92 ▼ ·	3.54
		±1.57	±1.34	±0.60	±1.61	±0.44	±1.35
C20 : 0		39.53	37.18	44.94	36.32	45.28	34.52
	≤	±4.16	±6.14	±7.17	±5.44	±12.88	±7.18

▼ p<0.05, ▼ · p<0.02, ▼ : p<0.01, ▼ : p<0.005

△ p<0.05, △ · p<0.02, △ : p<0.01, △ : p<0.005

Mean±SD

STZ 群は29.67±5.42%となり有意の取り込み低下を認めた。1週間後にはSTZ 群に取り込み低下傾向を認めた。同様にパルミチン酸より短い鎖長の脂肪酸への取り込み百分率は(C16:0 ≥) 1週間後に対照群の40.52±10.80%に対しSTZ 群は28.62±2.25%となり取り込み低下傾向を認め、1ヵ月後に対照群の44.11±3.62%に対しSTZ 群は34.42±4.87%と有意の取り込み低下を認めた。パルミトオレイン酸(C16:1)への取り込み百分率は1ヵ月後に対照群の2.95±0.50%に対しSTZ 群は0.74±0.31%となり有意の取り込み低下を認めた。オレイン酸(C18:1)への取り込み百分率は1ヵ月後に対照群の4.90±3.56%に対してSTZ 群は1.23±0.10%となり有意の取り込み低下を認めた。同様に3ヵ月後に対照群の2.94±0.62%に対してSTZ 群は1.33±0.81%となり有意の取り込み低下を認めた。次にアラキジン酸(C20:0)以上の長鎖脂肪酸への取り込みについては、GLCにおいて6時間以上を分取したものであり、1週間後に対照群の39.71±7.50%に対しSTZ 群は

49.75±2.62%となり有意の取り込み増加を認めた。1ヵ月後に対照群の37.95±5.97%に対しSTZ 群は52.43±6.76%となり有意の増加を認めた。

全血細胞については表7に示した如くであり、ミリスチン酸(C14:0)、パルミチン酸(C16:0)への¹⁴Cの取り込みはいずれの時期でも両群間に有意の差を認めなかった。パルミトオレイン酸(C16:1)への取り込みも、両群間に有意の差は認めなかった。オレイン酸(C18:1)への取り込み百分率は1ヵ月後に対照群の5.09±1.61%に対しSTZ 群は2.09±0.60%となり有意の取り込み低下を認めた。同様に3ヵ月後に対照群の3.54±1.35%に対しSTZ 群は0.92±0.44%となり有意の取り込み低下を認めた。アラキジン酸(C20:0)以上の長鎖脂肪酸への取り込み百分率は、1ヵ月後に対照群の36.32±5.44%に対しSTZ 群は44.94±7.17%となり取り込み増加傾向を認め、3ヵ月後に対照群の34.52±7.18%に対しSTZ 群は45.28±12.88%となり取り込み増加傾向を認めた。

考 案

実験糖尿病ラットの代謝を検討する時には以下のことに留意しなければならない。1つはインスリン欠乏状態の程度の差であり、また発症してから実験に供したまでの時期の違いであり、ケトン血症の重症の度合いであり、与えられた食事の内容の違いなどによって、脂質代謝は変えられてくる。そこでJunod²²⁾らの報告を参考にし第1編と同様に、成長段階のラットを選び、STZを75mg/kg投与した。従って今回の実験でも重症のケトーシスを伴わないインスリン欠乏状態での変化をみていることになる。

さて血清脂質の変化をみると、中性脂肪がすべての時期にSTZ群で上昇を認め、このことは多くの研究で指摘されている。この採血は絶食14~16時間後に行なっているので直接的な外因性脂質の影響はなく、臓器による合成の亢進か、または血清中より脂質の除去の障害の結果としての蓄積によるものであろう。今回の結果では表4に示す如く中性脂肪の合成亢進は認められず、除去の障害が原因と思われる。Reaven and Reaven²³⁾は、STZ投与24時間後の急性期では両者の作用のためだが、7日後の状態ではVLDL-TG分泌は増加していないので、Lipoproteinの除去の障害のためだと推測した。他にもBasso²⁴⁾ Bagdade²⁵⁾ Redgrave²⁶⁾などが、VLDL-リポ蛋白除去の低下があると報告している。さて組織のLipoprotein Lipase活性(以下LPL活性と略す)については、Chen Y. I.²⁷⁾は脂肪組織でのLPL活性は低下しているが、筋肉のLPL活性は低下してないと述べ、高中性脂肪血症は単なるLPL活性低下のためだけでないと推測した。Bar-on²⁸⁾らはVLDLのアポ蛋白Eの欠乏を認めTGを運搬する蛋白の質に問題があるのではないかと言及している。さらにインスリン欠乏状態が軽症の場合の高中性脂肪血症においては、VLDL分泌が増加しているとの報告があり²⁹⁾、インスリン欠乏の程度とその発症時期によって原因が種々異なることが考えられる。

次に非けん化脂質、遊離コレステロールへの¹⁴Cの取り込みをみると、表2、表4に示す如く肝スライスではSTZ投与早期より¹⁴Cの取り込

み低下を認めコレステロール合成低下を示している。この合成についてはDietschy³⁰⁾³¹⁾によるとネズミは肝で57%、消化管で32%のコレステロール合成を行なっており、HMG-CoAからメバロン酸へ転換を進める酵素であるHMG-CoA reductaseは、肝と小腸でのこの合成の割合を調節する酵素であると述べている。中山³²⁾らは糖尿病動物でHMG-CoA reductase活性は肝で極めて減少し小腸で著しく増加すると述べ、同様なことは他の研究者によっても述べられている³³⁾³⁴⁾。今回の肝スライスでの遊離コレステロール合成低下もHMG-CoA reductase活性低下の反映と思われる。表5に示す如く全血細胞では、遊離コレステロールのみがSTZ投与後早期より合成低下を認めた。ところが肝スライスでは早期より磷脂質の合成の増加や総脂肪酸の合成低下が認められたが、全血細胞ではこのような傾向は時期が経過した後に認められた。遊離コレステロール合成のみが早期より低下したことは、HMG-CoA reductase活性低下が血液細胞においてもインスリン欠乏早期より生じていることを示唆しており、このような報告は極めて少ないので大変興味深い事実と考える。

次に中性脂肪分画への¹⁴Cの取り込みをみると、肝スライスでは両群間に一定の傾向を認めなかった。Murthy³⁵⁾らは中性脂肪合成のKey enzymeであるPhosphatidic acidより1:2 Diglycerideを生じさせるPhosphatidate phosphohydrolaseと、また1:2 DiglycerideよりTriglycerideを生じさせるDiglyceride acyltransferaseの両酵素活性が、STZ110mg/kg投与した重症ケトーシス糖尿病ラットにおいて増加しており、肝臓での中性脂肪含量の増加を認めている。Meier³⁶⁾らはアロキサン糖尿病ラットの肝で、中性脂肪合成亢進状態の出現に先立ってケトーシスが生じていることを述べている。この様に重症ケトーシスの場合に中性脂肪の合成は亢進すると思われる。またWoodside and Heimberg³⁷⁾らは肝臓での中性脂肪合成の割合は、血清中かかん流液中の遊離脂肪酸の濃度によって決定されることを述べている。従って今回の実験では重症のケトアチドーシスではなく、肝で中性脂肪の合成増加が認められないことが

確認された。また全血細胞についても同様の結果をえた。

次に各脂肪酸への $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetateの取り込み百分率について検討してみると、肝スライスはSTZ群においてパルミトオレイン酸(C16:1)およびオレイン酸(C18:1)への取り込みの低下が認められた。これは $\Delta 9$ モノ不飽和化反応が低下していることの反映である。さて Benjamin and Gellhorn³⁸⁾は重症のアロキサン糖尿病ラットの副辜丸脂肪組織で $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetate, $1\text{-}^{14}\text{C}$ -stearic acidを用いて検討した成績よりステアリン酸よりオレイン酸へのモノ不飽和化は著しく低下し、インスリン投与により回復したことを述べ、Mercuri³⁹⁾ Brenner⁴⁰⁾らも肝マイクロソームで同様のことを認めている。即ちインスリンはこの不飽和化酵素を調節し⁴¹⁾⁴²⁾インスリン欠乏状態ではこの不飽和化能が低下するのであり今回の実験でもこれと一致した。また全血細胞の培養でも1ヵ月と3ヵ月後にオレイン酸への ^{14}C の取り込み低下がSTZ群に認められており、肝臓と同様であった。

さてステアリン酸がモノ不飽和化してオレイン酸を生ずる過程にはNADPHが必要であり、糖尿病ではHexose-Monophosphate shuntその他より供給されるNADPHが充分でない⁴³⁾と言われているのも不飽和化反応低下の一因と思われる。一方栗井ら⁴⁴⁾⁴⁵⁾は昏睡糖尿病患者の全血培養でオレイン酸の生成増加を認め、正常人全血に α -Ketobutyric acidの如き分子内CO基を有する物質を添加することによって、de novo合成の阻害とともにオレイン酸の生成増加を指摘している。また木畑ら⁶⁾は高脂血症患者の全血培養でオレイン酸の生成増加を認めており、高野ら¹³⁾は肝硬変患者の例でも同様の変化を認めている。このように血液細胞によるオレイン酸の生成には、血中インスリン作用のみならず種々の体液因子の変動、細胞自身の代謝状態と密接に関係する。また北島¹²⁾のアロキサンを200mg/kg家兎に投与し糖尿病にした報告では、肝および全血でパルミトオレイン酸、オレイン酸の変動は認められていない。一方著者の今回の実験ではSTZ 75mg/kg投与であり重症のケトアシドーシス状態ではない点の特記すべき所である。また

馬場ら⁴⁶⁾はアロキサンによる催糖尿病作用は毒性が多く問題があるが、STZはアロキサンとは作用機序が少し異なっており、その代謝様相はヒト糖尿病と類似していると述べている。このような点より今回の実験は、前述したような報告とは少し異なった代謝状態であり、よりインスリン欠乏状態での代謝の変化を忠実に反映しているのではないかと思われる。

ところでネズミ肝での脂質合成については、非粒子分画、マイクロソームおよびミトコンドリアで各々独特の方法で脂肪酸を合成していることが知られている。非粒子分画ではmalonyl CoA経路によるC16:0までに至る各脂肪酸合成が主であり²¹⁾この反応に関与する酵素が脂肪酸合成酵素であり糖尿病では活性が減少している¹⁾。一方炭素数20以上の長鎖脂肪酸は、内因性脂肪酸からの鎖長の延長によって作られミトコンドリア⁴⁷⁾およびマイクロソーム⁴⁸⁾で行なわれる。そして今回の肝スライスの実験ではSTZ群においてmalonyl CoA経路の生成低下を認めた。さらにアラキジン酸より長い鎖長を持つ脂肪酸への ^{14}C の取り込み増加を認めた。全血細胞の培養ではmalonyl CoA経路の脂肪酸生成は両群間に有意差はなく、アラキジン酸以上の長鎖脂肪酸への ^{14}C の取り込みはSTZ群に増加傾向を認めた。肝での結果は栗井ら⁴⁴⁾が非ケトン性インスリン依存性糖尿病患者の全血培養において述べている所と同じ結果となった。しかし著者の全血細胞の培養の結果は栗井らの結果とは違っていた。この理由は今回の実験で肝スライスでの脂質代謝の変動はSTZ投与早期より認められることだが、全血細胞での脂質代謝の変化は、遊離コレステロール合成の低下を除いては、時間的な経過を経た後に認められる様である。従ってさらに長期間の変動を観察すれば、栗井らの報告と一致するかも知れない。あるいはインスリン欠乏の重症度の違いが影響していることも考えられる。

さて著者は第1編では肝臓内の各脂質量を測定し、また本編では $1\text{-}^{14}\text{C}$ -acetateを使用した肝スライスの培養実験で各脂質の合成を検討した。そこで生体内で合成され代謝を受けた結果としての組織の脂質含有量と、in vitroの実験での脂

表 8 肝臓での¹⁴Cの取り込みおよび脂質含有量の比較

		1W		3M		STZ		CON	
		STZ	CON	STZ	CON	1W	3M	1W	3M
¹⁴ C の 取 り 込 み	PL	~		Δ		~		~	
	FC	▼		▼		~		Δ	
	TG	▼		~		▼		Δ	
	EC	~		~		~		~	
脂 質 含 有 量	PL	▼		~		~		Δ	
	CH	▼		~		~		Δ	
	TG	▼		▼		Δ		Δ	
	TL	▼		~		~		~	

~すべて有為差なし

Δ p<0.05, Δ・ p<0.02, Δ: p<0.01,

▼ p<0.05, ▼・ p<0.02, ▼: p<0.01,

Δ: p<0.005, Δ・: p<0.001

▼: p<0.005, ▼・: p<0.001

質合成の結果を併せて検討することは脂質代謝を理解するうえで意義のあることと思われるので、特にコレステロールの変動に焦点を絞って、改めて総括的に考察を加える。(表 8)

第 1 編で測定した肝内コレステロール含有量は 1 週間後に STZ 群に有意の減少を認めたが、3 ヶ月後には両群間に有意の差を認めなかった。一方この第 2 編で行なった遊離コレステロール合成をみると、STZ 群で 1 週間 3 ヶ月後ともに合成低下を認める。即ち肝でのコレステロール代謝状態は STZ 群で 1 週間後には合成が低下し、そのために組織含有量も減少したと思われる、3 ヶ月後も合成は低下しているので組織含有量も減少していると思われたが、対照群との間に差が認められない結果となった。3 ヶ月後に両群間の肝内コレステロール値に差を認めなかったことについて著者は以下の如く考えている。一つには貞広ら⁴⁹⁾が糖尿病ラットではコレステロールより胆汁酸への代謝障害の存在を指摘している、これは 3 ヶ月後に STZ 群ラットにはコレステロールの異化の低下が存在し、そのため組織内含有量の減少が低下している可能性が考えられることである。他の一つには Shefer⁵⁰⁾が肝の HMG-CoA reductase 活性能力は実験動物の年齢と性差によって変わるが、小腸のそれは変わらないと述べている様な理由によることも考えられる。すなわち著者は成長段階にある

ラットを使用しているので、1 週間後と 3 ヶ月後とは肝の酵素活性はかなり違っているのではないと思われる。そこで遊離コレステロールの合成を対照群間について検討すると、1 週間後に対し 3 ヶ月後の合成は有意に低下していることが認められた。即ち対照群では 3 ヶ月後に酵素活性低下のために合成が低下している事実があり、従って組織内含有量も 1 週間後に対し 3 ヶ月後は著明に減少している。一方 STZ 群ではコレステロールの異化の低下のために組織内含有量の減少が低下していることが考えられ、この両者の結果として両群間に組織コレステロール含有量の差が認められなかったと思われる。このことは成長段階にある個体のコレステロール代謝を検討する上では、生理的な変化として合成の低下があり、病的な変化として合成の低下と、異化の低下が認められ、代謝の結果としての計測値を考える上では充分注意が必要であることを認識させられ、このことはヒトの高コレステロール血症の解明にも極めて意義深い点と考える。

結 論

インスリン欠乏状態での肝スライスと全血細胞の脂質代謝を比較検討する目的で、ラットにストレプトゾトシンを投与し、1 週間、1 ヶ月、3 ヶ月後と成長段階の時期を追ひ、1-¹⁴C-acetate Na からの ¹⁴C の取り込みを指標とし検討を行ない次の様な結果を得た。

1. 総脂質、総脂肪酸への ¹⁴C の取り込みは肝でインスリン欠乏発症時期より低下を認めたが、全血細胞では発症 3 ヶ月後に取り込み低下傾向を認めた。このことは全血細胞での脂質代謝の変化は、肝よりも時期が遅れて認められるものとする。

2. 各脂質への ¹⁴C の取り込み net count では肝においてインスリン欠乏早期より遊離コレステロールの低下、磷脂質の増加を認めた。一方全血細胞は早期より遊離コレステロールのみの低下を認めた。すなわち血球細胞内での HMG-CoA reductase 活性低下が早期に生じていることを示唆している。

3. 脂肪酸合成に関しては STZ 群の全血細胞

において肝と同様にオレイン酸の相対的生成低下を認めた。肝では1ヵ月後にパルミトオレイン酸の相対的生成低下を認めた。これはインスリン欠乏状態での Δ^9 不飽和化能の低下を示すものと考えられた。さらに肝で1週間後と1ヵ月後に malonyl CoA 経路の相対的抑制及び鎖長延長経路の相対的増加を認めた。

稿を終えるにあたり、本研究を御指導、御校閲賜わった恩師、木村郁郎教授、木畑正義講師に深甚なる謝意を表します。

尚、本研究は第18回日本老年医学会総会においてその要旨を発表した。

文 献

- 1) Burton DN, Collin JM, Kennan AL and Porter JW : The effects of nutritional and hormonal factors on the fatty acid synthetase level of rat liver. *J Biol Chem* (1969) **244**, 4510—4516.
- 2) Mahler R, Stafford WS, Tarrant ME and Ashmore J : The effect of insulin on lipolysis. *Diabetes* (1964) **13**, 297—302.
- 3) Randle PJ, Garland PB, Hales CN and Newsholme EA : The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* (1963) **1**, 785—789.
- 4) Pastor EJ and Lionetti FJ : Incorporation of acetate into lipids of human leukocytes. *Fed Proc* (1958) **17**, 287.
- 5) 木畑正義, 岩崎一郎, 尾崎幸成, 藤井靖久, 水川士郎, 平木 潔 : ^{14}C -acetate の全細胞への取り込みよりみた脂質代謝の研究. *日老医会誌* (1967) **4**, 177—189.
- 6) 木畑正義, 出崎幸成, 水川士郎, 藤井靖久, 平木 潔 : 血液細胞による脂質合成について. *高齢医学* (1969) **7**, 43—55.
- 7) 木畑正義, 水川士郎, 藤井靖久, 藤沢義人 : 血小板の脂質代謝. *血と脈管* (1970) **1**, 61—67.
- 8) 木畑正義 : 血液細胞による代謝面より. *日老医会誌* (1971) **8**, 256—259.
- 9) 清水能人 : 血液細胞の脂質代謝に関する研究. *岡山医誌* (1976) **88**, 345—362.
- 10) 河内光男 : 血液細胞と肝の脂質代謝の比較に関する実験的研究. *岡山医誌* (1974) **86**, 107—125.
- 11) 木畑正義, 水川士郎, 尾崎幸成, 藤井靖久, 巻幡博之, 岩崎一郎, 平木 潔 : 第10回日本老年医学会(1986) 札幌
- 12) 北島美則 : 糖尿病素質に関する研究. *体質医研報* (1971) **21**, 275—287.
- 13) 高野俊男, 有 道德, 三好康夫, 山吹隆寛, 小坂淳夫 : 糖尿病および肝硬変患者の血液細胞における ^{14}C acetate を precursor とした脂質合成の比較. *糖尿病* (1973) **16**, 385—396.
- 14) Folch J, Lee M and Sloane Stanley GH : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* (1957) **226**, 497—509.
- 15) Björntorp P : Polyunsaturated fatty acids in man. *Scand J Clin Lab Invest* (1960) **12** (Suppl. 52), 1—147.
- 16) Metcalf LD and Schmitz AA : The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* (1961) **33**, 363—364.
- 17) Bragdon JH : Colorimetric determination of blood lipids. *J Biol Chem* (1951) **190**, 513—517.
- 18) 柴田 進, 佐々木匠秀 : 日常臨床化学—超微量定量法 1 版, 金芳堂, 東京—京都 (1966) p 134—141.
- 19) 川出真坂 : 血清トリグリセリドの微量定量法, *日臨* (1962) **20**, 2127.
- 20) Fiske CH and Subbarow Y : The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* (1925) **66**, 375—400.
- 21) Wakil SJ : Mechanism of fatty acid synthesis. *J Lipid Res* (1961) **2**, 1—24.

- 22) Junod A, Lambert AE, Stauffacher W and Renold AE : Diabetogenic action of streptozotocin : Relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest* (1969) **48**, 2129—2139.
- 23) Reaven EP and Reaven GM : Mechanisms for development of diabetic hyper-triglyceridemia in streptozotocin-treated rats. *J Clin Invest* (1974) **54**, 1167—1178.
- 24) Basso LV and Havel RJ : Hepatic metabolism of free fatty acids in normal and diabetic dogs. *J Clin Invest* (1970) **49**, 537—547.
- 25) Bagdade JD, Porte D and Bierman EL : Acute insulin withdrawal and the regulation of plasma triglyceride removal in diabetic subjects. *Diabetes* (1968) **17**, 127—138.
- 26) Redgrave TG and Snibson DA : Cleavage of chylomicron triacylglycerol and cholesteryl ester from the plasma of streptozotocin-induced diabetic and hypercholesterolemic hypothyroid rats. *Metabolism* (1977) **26**, 493—503.
- 27) Chen YI, Howard J, Huang V, Kraemer FB and Reaven GM : Dissociation between plasma triglyceride concentration and tissue lipoprotein lipase deficiency in insulin-deficient rats. *Diabetes* (1980) **29**, 643—647.
- 28) Bar-on H, Levy E, Oschry Y, Ziv E and Shafir E : Removal defect of very-low-density lipoproteins from diabetic rats. *Biochim Biophys Acta* (1984) **793**, 115—118.
- 29) Weiland D, Mondon CE and Reaven GM : Evidence of multiple causality in the development of diabetic hypertriglyceridaemia. *Diabetologia* (1980) **18**, 335—340.
- 30) Dietschy JM and Siperstein MD : Effect of cholesterol feeding and fasting on sterol synthesis in seventeen tissues of the rat. *J Lipid Res* (1967) **8**, 97—104.
- 31) Dietschy JM : The role of bile salts in controlling the rate of intestinal cholesterologenesis. *J Clin Invest* (1968) **47**, 286—300.
- 32) Nakayama H and Nakagawa S : Influence of streptozotocin diabetes on intestinal 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase activity in the rat. *Diabetes* (1977) **26**, 439—444.
- 33) Goodman MW, Michels LD and Keane WF : Intestinal and hepatic cholesterol synthesis in the alloxan diabetic rat. *Proc Soc Exp Biol Med* (1982) **170**, 286—290.
- 34) Young NL, Saudek CD and Crawford SA : Total hydroxymethylglutaryl CoA reductase activity in small intestine and liver of insulin-deficient rats. *J Lipid Res* (1982) **23**, 266—275.
- 35) Murthy VK and Shipp JC : Synthesis and accumulation of triglycerides in liver of diabetic rats. *Diabetes* (1979) **28**, 472—478.
- 36) Meier JM, McGarry JD, Faloona GR, Unger RH and Foster DW : Studies of the development of diabetic ketosis in the rat. *J Lipid Res* (1972) **13**, 228—233.
- 37) Woodside WF and Heinberg M : The metabolism of oleic acid by the perfused rat liver in experimental diabetes induced by antiinsulin serum. *Metabolism* (1978) **27**, 1763—1777.
- 38) Benjamin W and Gellhorn A : The effect of diabetes and insulin on the biosynthesis of individual fatty acids in adipose tissue. *J Biol Chem* (1964) **239**, 64—69.
- 39) Mercuri O, Peluffo RO and Brenner RR : Depression of microsomal desaturation of linoleic to γ -linoleic acid in the alloxan-diabetic rat. *Biochim Biophys Acta* (1966) **116**, 409—411.
- 40) Brenner RR, Peluffo RO, Mercuri O and Restelli MA : Effect of arachidonic acid in the alloxan-diabetic rat. *Amer J Physiol* (1968) **215**, 63—70.
- 41) Gellhorn A and Benjamin W : The intracellular localization of an enzymatic defect of lipid metabolism in diabetic rats. *Biochim Biophys Acta* (1964) **84**, 167—175.
- 42) Gellhorn A and Benjamin W : Insulin action in alloxan diabetes modified by Actinomycin D. *Science*

- (1964) **146**, 1166—1168.
- 43) Siperstein MD : Glycolytic pathway. Their relation to the synthetic of cholesterol and fatty acids. *Diabetes* (1958) **7**, 181—188.
 - 44) Hennes AR and Awai K : Studies of incorporation of radioactivity into lipids by human blood. *Metabolism* (1965) **14**, 487—499.
 - 45) 栗井弘二 : 糖尿病の脂肪酸代謝異常. *総合臨* (1968) **17**, 549—564.
 - 46) 馬場茂明, 金子滋夫 : ストレプトゾトシン糖尿病. *糖尿病* (1972) **15**, 434—438.
 - 47) Quagliariello E, Landriscina C and Coratelli P : Fatty acid synthesis by chain elongation in rat-liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta* (1968) **164**, 12—24.
 - 48) Landriscina C, Gnoni GV and Quagliariello E : Mechanisms of fatty acid synthesis in rat-liver microsomes. *Biochim Biophys Acta* (1970) **202**, 405—414.
 - 49) Sadahiro R, Takeuchi N, Kumagai A and Yamamura Y : Studies on cholesterol metabolism in experimental diabetic rat. *Endocrinol Japon* (1970) **17**, 225—232.
 - 50) Shefer S, Hauser S, Lapar V and Mosbach EH : HMG-CoA reductase of intestinal mucosa and liver of the rat. *J Lipid Res* (1972) **13**, 402—412.

Studies on lipids and fatty acids in rats with streptozotocin-induced insulin deficiency

II. Incorporation of 1-¹⁴C-sodium acetate into lipids and fatty acids of liver slices and whole blood cells

Kanji MIYAKE

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : prof. I. Kimura)

In order to study the lipid and fatty acid metabolism in the insulin deficient state, the in vitro incorporation of 1-¹⁴C-sodium acetate into major lipid fractions and fatty acids of liver slices and whole blood cells was determined. Rats were studied one week, one month and three months after insulin deficiency was induced by administration of streptozotocin.

The net incorporation of ¹⁴C into lipid fractions and total fatty acids of liver slices significantly decreased after one week. On the other hand the net incorporation of ¹⁴C into the lipid fractions and total fatty acids of whole blood cells showed a tendency to decrease after three months.

The net ¹⁴C incorporation into free cholesterol decreased significantly and that into phospholipids increased significantly in liver slices after one week. The net ¹⁴C incorporation into free cholesterol of whole blood cells decreased significantly on the same day.

A significant decrease in the percent incorporation of ¹⁴C into oleic acid was observed in both liver slices and whole blood cells after one month and three months.