

ラット脂肪組織の脂質合成におよぼす正常人血清および血清中添加インスリンの影響

岡山大学医学部第一内科学教室（主任：小坂淳夫教授）

高野俊男

〔昭和42年12月28日受稿〕

I 緒言

最近約15年間にわたり、*in vitro* においてラット副睪丸脂肪組織における脂質代謝を、放射性同位元素で標識した前駆物質を使用して検討した報告は多数存在する^{1)~5)}。著者⁶⁾らもすでにラット副睪丸脂肪組織における *in vitro* の実験において、^{1-¹⁴C} acetate および ^{1-¹⁴C} glucose からの ¹⁴C のとりこみを指標とした脂質合成、なかんずく脂肪酸合成を *buffer* 中において検討し、またそれに対するインスリンの影響についての検討を行ない、インスリンの脂質合成への促進作用が、脂質成分中脂肪酸の生成において最も著明に現われ、また個々の脂肪酸に関しては、パルミチン酸の生成すなわち、マロニール CoA 経路に特異的であることを報告した。今回、著者は *in vitro* におけるラット脂肪組織の脂質合成に対するインスリンの作用が、*medium* 側の条件としてまず正常人血清によりいかなる影響を受けるかを検討し、同時に血清希釈ならびに透析血清による影響についても調べ、さらに動物側の条件として、絶食ラットの脂肪組織における脂質合成におよぼすインスリンの作用についても比較検討した。

II 実験方法

240~260 g の非絶食 Wistar 系ラットを使用し、頭部を殴打し、断頭後すばやく開腹して副睪丸脂肪組織を摘出し、37°C に保温した Krebs bicarbonate *buffer* に浮遊させ、30~40mg の小片に切断した。同一実験の各 *incubation bottle* 内の脂肪組織片が同一条件になるように、異なつた3匹のラットからとり出した一片ずつの組織片3個を濾紙上で脱水したのち、*medium* として2 ml の Krebs bicarbonate *buffer* または血清を入れた各々の *incubation bottle* に移し、その前後の *bottle* の重量差から脂肪組織片の重量を算出した。*medium* には、異なつた濃度の

インスリンのほか、*buffer* の場合300mg%の *glucose* および200mg%の *gelatin* を加え、使用時 pH を7.4に補正した。血清は健常で糖尿病の家族歴のない者から当日採血した新鮮血清を用い、使用前に血清 *glucose* 量を *Autoanalyzer* で測定し、*glucose* 含有量を *buffer* 同様300mg%に補正した。これらに1 μ C の ^{1-¹⁴C} *glucose* または、^{1-¹⁴C} *acetate* を加え、*Dubnoff metabolic incubator* を用いて37°C、2時間95%O₂+5%CO₂ 気相の中で、70サイクルの *shaking* で *incubate* した。使用した *tracer* の比放射能は *glucose* 3mC/mM、*acetate* 22.3mC/mM であり、インスリンは Lilly Co. の豚インスリン結晶を使用した。

incubation 終了後 Folch の方法を改良した Hennes 等⁷⁾ の方法により *medium* をも含めて脂質を抽出、水洗し、Bjorntorp⁸⁾ の方法に従って KOH とともに4時間100°C の水浴上でけん化した。けん化物と不けん化物の分画を別々に石油エーテルにて抽出し、それぞれ1/5をカウント用バイアルに移し、*liquid scintillation spectrometer* で計測した。残りの脂肪酸は Metcalfe and Schmitz⁹⁾ の方法でメチル化し、ガスクロマトグラフィーにより *chromosorb P* に20%の *diethylene glycol succinate* を *coating* したカラムを通して個々の脂肪酸に分離した。各々のピークにおいて流出する各脂肪酸メチルエステルを、脱脂後シリコン処理をしたフィルターに集め¹⁰⁾、その放射能をも測定した。流出脂肪酸は既知標準脂肪酸の保持時間から同定した。また、とりこまれた ¹⁴C は脂肪組織単位湿重量当りの d. p. m. として表現した。

III 研究成績

- 1) 血清中において *acetate* および *glucose* からラット脂肪組織成分へとりこまれた ¹⁴C の *buffer* 中でのそれに対する比率

Table 1 Effect of normal human serum on the incorporation of ^{14}C from 1- ^{14}C glucose and 1- ^{14}C acetate into lipid fractions (value in buffer=100)

	insulin conc.	N	1- ^{14}C glucose	1- ^{14}C acetate
fatty acids	$\mu\text{U}/\text{ml}$ 0	8	476 \pm 210%	171 \pm 31%
	50	10	194 \pm 78	103 \pm 13
	800	10	80 \pm 18	81 \pm 10
non-saponifiable lipids	0	8	248 \pm 109	222 \pm 64
	50	10	161 \pm 62	187 \pm 95
	800	10	78 \pm 29	355 \pm 320
glyceride-glycerol	0	8	437 \pm 231	107 \pm 59
	50	10	420 \pm 180	41 \pm 16
	800	10	265 \pm 172	218 \pm 215

a) 総脂肪酸へのとりこみ: glucose からのとりこみは, 表1に示すように, インスリン非添加時476 \pm 210% (算術平均 \pm 標準偏差), 50 $\mu\text{U}/\text{ml}$ 添加時194 \pm 78%, 800 $\mu\text{U}/\text{ml}$ 添加時80 \pm 18%, acetate からのとりこみは, それぞれ171 \pm 31%, 103 \pm 13%, 81 \pm 10%の値を示した。

b) 不けん化脂質へのとりこみ: 表1にみるように glucose からはインスリン非添加時248 \pm 109%, 50 $\mu\text{U}/\text{ml}$ 添加時161 \pm 62%, 800 $\mu\text{U}/\text{ml}$ 添加時78 \pm 29%, acetate からはそれぞれ222 \pm 64%, 187 \pm 95%, 355 \pm 320%であった。

c) Glyceride-glycerol へのとりこみ: glucose からは上記インスリン濃度においてそれぞれ437 \pm 231%, 420 \pm 180%, 265 \pm 172%, acetate からはそれぞれ107 \pm 59%, 41 \pm 16%, 218 \pm 215%であった。

以上の成績は, 脂肪酸および不けん化脂質への ^{14}C のとりこみが, 血清中においては, インスリン非添加時ならびに50 $\mu\text{U}/\text{ml}$ の濃度を添加した時はともにbuffer中での値より著しく大きく, 800 $\mu\text{U}/\text{ml}$ 添加時には逆に約20%の抑制をうけることを示している。しかし, glycerol へのとりこみはインスリン作用に非特異的であると考えられる。

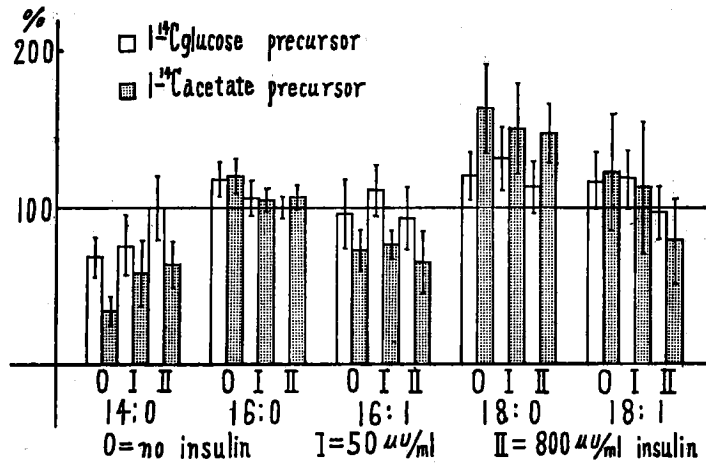
2) 血清中において glucose および acetate から個々の脂肪酸へのとりこまれた ^{14}C のbuffer中でのそれに対する比率

a) ^{14}C とりこみの絶対量における比率: 表2に示すように, ミリスチン酸(14:0), パルミチン酸(16:0), パルミトオレイン酸(16:1), ステアリン酸(18:0), オレイン酸(18:1)の何れにおいても, glucose- ^{14}C のとりこみはbufferでの値

Table 2 Shift of radioactivity and percentage of recovered cpm in individual fatty acids by serum (values in buffer=100)

Insulin conc. ($\mu\text{U}/\text{ml}$)	14:0			16:0			16:1			18:0			18:1			
	0	50	800	0	50	800	0	50	800	0	50	800	0	50	800	
Glucose- ^{14}C	Shift of dpm /mg tissue	202	146	67	331	218	69	305	225	64	363	269	79	382	236	68
		\pm 72	\pm 62	\pm 11	\pm 119	\pm 116	\pm 16	\pm 170	\pm 117	\pm 22	\pm 153	\pm 146	\pm 25	\pm 222	\pm 113	\pm 26
		70	75	100	112	106	100	96	111	93	120	131	113	116	119	97
Acetate- ^{14}C	Shift of dpm /mg tissue	60	54	61	226	126	81	143	83	52	176	113	280	280	130	63
		\pm 7	\pm 7	\pm 23	\pm 42	\pm 26	\pm 12	\pm 15	\pm 25	\pm 19	\pm 46	\pm 22	\pm 32	\pm 32	\pm 68	\pm 27
		34	58	64	121	105	107	72	76	65	163	150	147	122	114	79
Acetate- ^{14}C	Shift of %	\pm 9	\pm 21	\pm 15	\pm 11	\pm 7	\pm 8	\pm 13	\pm 9	\pm 20	\pm 29	\pm 19	\pm 38	\pm 42	\pm 27	
		70	75	100	112	106	100	96	111	93	120	131	113	116	119	97
		34	58	64	121	105	107	72	76	65	163	150	147	122	114	79

Fig 1. Effect of normal human serum on the shift of the percent incorporation of ^{14}C from $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucose and $1\text{-}^{14}\text{C}$ acetate into individual fatty acids by rat fat pad (percentage in buffer=100)



に対し、インスリン非添加時、14:0が $202 \pm 72\%$ のほかは何れも平均値で300%以上の増加を示し、 $50\mu\text{U/ml}$ の追加インスリン存在下では平均 $150 \sim 250\%$ にまで低下し、 $800\mu\text{U/ml}$ 追加のもとでは $65 \sim 80\%$ で、bufferでの値に比し、 $20 \sim 30\%$ の抑制をみた。これを acetate- ^{14}C からの ^{14}C のとりこみについてみても、表2にみるように、14:0において、インスリン添加の有無にかかわらず $50 \sim 60\%$ に抑制されているほかは、追加インスリン量の増加につれ、bufferでの ^{14}C とりこみに比し、血清中でのとりこみが減少してくる点で、glucoseからの場合と同様の結果である。

b) 血清中で各脂肪酸にとりこまれた ^{14}C が総脂肪酸の ^{14}C に対して占める比率のbuffer中でのそれに対する比率:表2, 図1に示すように、14:0, 16:1ではbufferでの値より減少しており、16:0, 18:0では増加している。すなわち、インスリン非添加血清中において、変化の大きい acetate precursorの場合をのべると、14:0, $34 \pm 9\%$, 16:1, $72 \pm 13\%$, 16:0, $121 \pm 11\%$, 18:0, $163 \pm 29\%$ であった。また、18:1では $122 \pm 38\%$ であり、血清中ではbuffer中における各脂肪酸の占め

る ^{14}C の構成比とは異つた構成比を示すことがわかる。しかし、この比率を追加インスリンの影響という面からみると16:1では影響がみられず、16:0と18:0では $800\mu\text{U/ml}$ 追加インスリン存在下でやや低下傾向を示している。しかし、インスリン濃度を増加することにより、この比率が最も大きく低下するのは18:1であり、 $800\mu\text{U/ml}$ 追加インスリン存在下では $79 \pm 27\%$ と抑制されている。14:0はこの比率が $800\mu\text{U/ml}$ のインスリン添加時に増加することから、18:1とは逆の変化をすること

がわかる。これらの変化は glucose- ^{14}C の場合もほぼ同様の傾化であった。

以上の質的な比率の面での成績から、血中インスリンの作用に最も特異的に反応するのは18:1と考えられる。

3) 血清中の低濃度追加インスリンの作用

表1における $50\mu\text{U/ml}$ 追加インスリンによる脂肪酸への ^{14}C のとりこみ増大を、血清中の内因性インスリンの影響から除外するため、6例の正常人血清につき $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucoseからの脂肪酸合成をパラメーターとして血清ILAを測定した。そのILAによる ^{14}C のとりこみを除外しても、表3に示すように、血清中において、 $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucoseから脂肪酸への ^{14}C のとりこみはbuffer中におけるより多く、 $50\mu\text{U/ml}$ の追加インスリン存在下で $157 \pm 35\%$ 、 $100\mu\text{U/ml}$ では $127 \pm 53\%$ と、インスリン作用増強を示す成績をえた。

4) 追加インスリンの作用に対する希釈血清の影響

ラット脂肪組織における $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucoseからの脂肪酸合成を、 $500\mu\text{U/ml}$ のインスリン追加のもとに、4倍および16倍希釈血清中で調べると、図2に示す

Table 3 Effect of exogenous added insulin on the incorporation of ^{14}C from $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucose into fatty acids in serum (values in buffer=100)

added insulin conc. $\mu\text{U/ml}$	25	50	100	200	400	600
shift of radioactivity of values in buffer (%)	175 ± 86	157 ± 35	127 ± 53	107 ± 19	79 ± 4	68 ± 10

Fig 2. Effect of diluted normal human serum on the incorporation of ^{14}C from 1- ^{14}C glucose into various fatty acids (values in buffer=100)

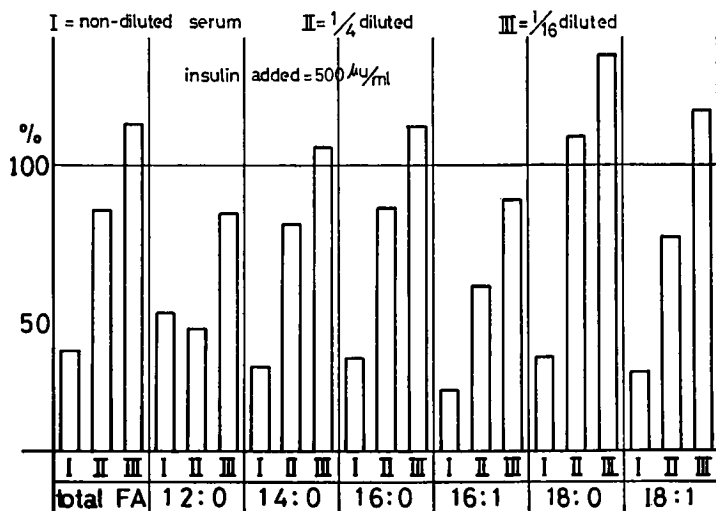


Fig 3. Effect of dialyzed serum on the incorporation of ^{14}C from 1- ^{14}C glucose into discrete fatty acids (value in non-dialyzed serum=100) I=no insulin added II=200 $\mu\text{U}/\text{ml}$ of insulin added

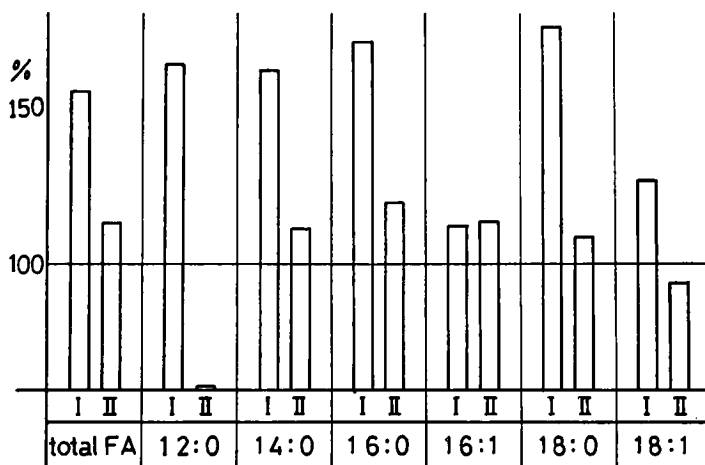


Table 4 Effect of insulin on the incorporation of ^{14}C from 1- ^{14}C glucose into three lipid fractions by adipose tissue of fasted rats (dpm/mg tissue)

insulin conc. $\mu\text{U}/\text{ml}$	fatty acids			non-saponifiable lipids			glyceride glycerol		
	0	200	600	0	200	600	0	200	600
fed rats (6)	97 \pm 19	595 \pm 106	844 \pm 195	2.21 \pm 0.9	4.0 \pm 1.5	5.4 \pm 3.8	76 \pm 32	98 \pm 11	117 \pm 28
16 hours fasted rats (6)	73 \pm 41	263 \pm 17	348 \pm 63	1.4 \pm 0.7	4.1 \pm 2.3	6.9 \pm 5.2	234 \pm 67	176 \pm 26	262 \pm 20
P value	NS	P<0.001	P<0.005	NS	NS	NS	P<0.005	P<0.005	P<0.001

NS=not significant

ように、16倍希釈において14:0, 16:0, 18:0, 18:1の生成がともに、buffer中での値よりも5~35%の増加を示した。

5) 透析血清の添加インスリン作用への影響

buffer中で24時間透析した血清中での、脂肪組織脂肪酸へのglucoseからの ^{14}C のとりこみは、図3に示すように、もとの血清中での値に比し、インスリン非添加では12:0, 14:0, 16:0, 18:0において60~75%の増加をみたが、16:1, 18:1では増加度が少く(10~25%)、また、200 $\mu\text{U}/\text{ml}$ のインスリン添加時は14:0, 16:0, 16:1, 18:0において10~20%の増加にとどまり、18:1では6%の抑制がみられた。

6) ラット脂肪組織の脂質合成に対するインスリン作用への絶食の影響

表4に示すごとく、200および600 $\mu\text{U}/\text{ml}$ のインスリン含有buffer中において、16時間絶食ラット群では非絶食群に比し、脂肪酸への1- ^{14}C glucoseのとりこみは有意に低下し、逆にglycerolへのとりこみは有意の増加を示したが、不けん化脂質においては有意差を認めなかった。

IV 総括ならびに考按

すでに、著者ら⁶⁾は *in vitro* におけるラット副腎丸脂肪組織における実験から、 $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucose および $1\text{-}^{14}\text{C}$ acetate を precursor とした時の ^{14}C の各脂質成分ならびに、個々の脂肪酸へのとりこみ、およびそれらに対するインスリンの効果を、buffer を medium として検討し、その作用はパルミチン酸生成に最も特異的であり、chain lengthening によつて生成されるステアリン酸、オレイン酸はパルミチン酸生成増加のための二次的増加であることを報告した。今回の成績から、著者は、ラット脂肪組織において glucose および acetate から脂質成分ならびに個々の脂肪酸への ^{14}C のとりこみにおける、正常人血清中添加インスリンの作用を、buffer 中でのそれと比較検討し、脂肪酸および不けん化脂質では血清中の内因性インスリンによる ^{14}C とりこみを除外しても、なお $50\ \mu\text{U/ml}$ の血清中添加インスリンでは作用の増強がおこり、 $800\ \mu\text{U/ml}$ 添加時には約20%の作用の抑制がみられた。しかし、血清中での glyceride-glycerol へのとりこみは、 $800\ \mu\text{U/ml}$ インスリン存在下でも増加を示した。ついで、個々の脂肪酸合成の血清中添加インスリンへの反応態度を、各脂肪酸へとりこまれた ^{14}C の占める比率の、buffer 中でのそれと比較すると、 $14:0$ 、 $16:1$ は低下、 $16:0$ 、 $18:0$ は増加しているが、添加インスリン量により最も大きく変動するのは $18:1$ の生成であり、この $18:1$ 生成が血清中でのインスリンの作用に最も特異的と考えられた。また、透析血清中では希釈血清中よりも $18:1$ 生成に対するインスリン作用の抑制を強く残していた。一方また、16時間絶食ラットの脂肪組織では、脂肪酸生成に対するインスリンの作用は有意の低下を示した。ところで、人間の血清中におけるインスリンの作用発現には種々の複雑な因子が作用するものと推定される¹¹⁾⁻¹⁴⁾。Miller¹⁵⁾ によれば、bicarbonate、アミノ酸、oxalacetate、succinate などの脂質合成促進物質が含まれるが、その大部分は血中インスリンによると考えられる。1963年以来 Power¹¹⁾ は、ラット脂肪組織における $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucose から、総脂質への ^{14}C のとりこみを指標とした血清中インスリン作用の検討から、人血清を希釈することにより、10倍希釈を頂点として、著しい添加インスリンの活性増強を認め、インスリンに対する augmentation effect として報告したが、著者の成績でも、 $500\ \mu\text{U/ml}$ の添加イン

スリン存在下において、16倍希釈血清を用いることにより、buffer 中における値をこす脂肪酸の生成を認めた点で一致する。Power¹²⁾ らはまた、 $210\ \mu\text{U/ml}$ のインスリン添加のもとに、正常人血清グロブリン分画に添加インスリン作用の著明な augmentation を認め、Alp¹⁴⁾ からも放射性 glucose からの脂肪酸生成と C^{14}O_2 の産生において、正常人および糖尿病血清のアルブミン分画にインスリンを加えて、ラット脂肪組織を incubate した場合に、同様インスリン作用の増強を認めたが、この場合のインスリン添加量は $25\sim 125\ \mu\text{U/ml}$ の濃度であり、かかる低濃度のインスリン濃度下では、著者の血清自体の成績でも同様作用増強の傾向を認めた。しかるに、脂肪組織において高濃度インスリン添加のもとで、インスリン作用抑制のおこる事実は、これまで報告がなく、特異な所見である。このようなインスリン作用を抑制する血清中の因子には、内分泌物質、電解質をはじめケトン体などの代謝産物、Cystein や glutathione などが関与すると考えられ¹³⁾、また、血清中遊離脂肪酸も重要と思われる¹⁶⁾¹⁷⁾。さらに、24時間透析血清においては、もとの血清に比し、脂肪酸生成が増加することから、インスリン作用抑制に関し水溶性物質の関与も考えられる。しかし、後に述べるように、血清の脂肪酸合成への影響は $18:1$ に最も特異的であるが、この透析血清中では、他の脂肪酸に比し、 $18:1$ の生成抑制が消失しがたい点について、さらに検討を要する。すなわち、透析血清にみるインスリン作用増強は、血清そのものによる作用増強や、希釈血清による場合とは、 $18:1$ 生成に対する態度が異なることから推して、異質のものとも考えうる。1964年 Hennes¹⁸⁾ らはラット脂肪組織における *in vitro* の実験において、 $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucose から個々の脂肪酸への ^{14}C のとりこみを、正常人と糖尿病者の血清中において比較し、高血糖糖尿病者の血清中では $18:1$ 生成の少いこと、また総脂質合成の増加が $18:1$ の比率の増加とよく相関することから、血清中のインスリンが $18:1$ 生成に特異的に作用することを報告した。著者の成績でも、血清中の添加インスリンの作用に最も特異的に反応するのは $18:1$ の生成であり、血清中のインスリン濃度に応じて、低濃度では生成促進、高濃度では抑制をうけると考えられる。同時にまた、Hennes らの成績によれば、 $18:1$ の生成は mitochondria の酸化と密接に関係しているので、この生成促進がインスリンの $18:1$ に対する直接作用か、mitochondria 内の基質利用の増

加を介するものかは不明である。すなわち、18:0から18:1の生成にはTPNHが必要であり¹⁹⁾、この反応はmitochondriaのTPNHの再酸化に役立つ。したがって、TPNHが著明に増加すれば、その再酸化のため18:1の生成が亢進することもありうるからである。14:0は血清中では、buffer中におけるより比率は低いままながら、インスリンによりbuffer中での値に対する比率が増加を来すことは、他の脂肪酸とは逆の所見であり、理由は不明であるが、高インスリン下で16:0生成が低下傾向を示すため、その前段階の14:0が増加して抑制が緩和されることも考えられる。一方、組織自体の条件についても、Benjamin²⁰⁾らは、alloxan糖尿ラット脂肪組織では18:0から18:1の生成が他の脂肪酸とは不均衡に低下し、in vitroのインスリンには不応であることを報告しており、また著者の検討した絶食の影響からみても、mediumのみならず、使用する動物自体の条件によるインスリン作用への影響も大きいと考えられる。このことについてはItzhaki²¹⁾の報告やMasoro²²⁾の綜説に詳しい。

したがって、このような組織の条件とか、あるいは血清中の各種のインスリン作用修飾因子、また直接脂肪酸合成に働く物質などが作用して、その結果血清中でのインスリン作用に特異的に反応しやすいオレイン酸の生成が影響をうけ、同時にまた、他の脂肪酸にも一定の変化をもたらすものと考えられる。

V 結 論

ラットの副睪丸脂肪組織の脂質合成を $1-^{14}\text{C}$ glucose

文 献

- 1) Winegrade, A. I. and Renold, A. E.: J. Biol. Chem., 233: 267, 1958
- 2) Leonards, J. R., Landau, B. R. and Bartsch, G.: J. Lab. Clin. Med. 60: 552, 1962
- 3) Jeanrenaud, B. and Renold, A. E.: J. Biol. Chem. 234: 3082, 1959
- 4) Rose, G. and Shappiro, B.: Biochem. Biophys. Acta. 18: 504, 1955
- 5) Feller, D. D.: J. Biol. Chem. 206: 171, 1954
- 6) Takano, T., Hennes, A. R. and Power, L.: Metabolism, 16: 933, 1967
- 7) Awai, K., Hammarstrand, K. and Hennes, A. R.: Metabolism, 13: 328, 1964
- 8) Bjorntorp, P.: Göteborg, 1960

および $1-^{14}\text{C}$ acetateからの ^{14}C のとりこみを指標としたin vitroの実験において、bufferならびに正常人血清中における各脂質成分および、個々の脂肪酸の生成を対比検討し、またそれに対する $50\mu\text{U}/\text{ml}$ の低および $800\mu\text{U}/\text{ml}$ の高濃度インスリン添加の影響について検討し、次の結論がえられた。

1) 血清は生理的に近い低濃度インスリン存在下では、ラット脂肪組織における脂肪酸合成を著明に促進し、逆に $800\mu\text{U}/\text{ml}$ の高濃度インスリン添加時には約20%の抑制を示した。

2) 個々の脂肪酸の生成について観察すると、血清中では各脂肪酸にとりこまれた ^{14}C の構成比が、buffer中のそれとは異なり、14:0, 16:1は減少し、18:0, 16:0は増加している。しかし、血清中の添加インスリンに最も特異的に影響されるのは18:1の生成であり、この18:1の生成がインスリン濃度の変化による脂肪酸生成の増減を最も強く反映する。

3) 血清中添加インスリンはラット脂肪組織での不けん化脂質の生成に対しても脂肪酸と類似の効果を有するが、glycerolの生成には特異性が少ない。

4) 18:1の生成は、透析血清に $200\mu\text{U}/\text{ml}$ のインスリン添加時にもやはり抑制がみられるので、その他の飽和脂肪酸の生成とは異質のもの存在が考えられる。

(本論文要旨は第10回日本糖尿病学会総会において発表した)

- 9) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A.: Anal. Chem. 33: 363, 1961
- 10) 栗井弘二: 総合臨床, 17: 549, 1968
- 11) Power, L., Lucas, C. and Conn, J. W.: Diabetes, 14: 10, 1965
- 12) Power, L., Lucas, C. and Conn, J. W.: Metabolism, 14: 104, 1964
- 13) Segal, B. M.: Metabolism 13: 753, 1964
- 14) Alp, H. and Recant, L.: Metabolism, 13: 609, 1964
- 15) Miller, J. P. and Cooper, J. A. D.: Biochem. et Biophys. Acta, 33: 436, 1959
- 16) Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N. and Newsholme, E. A.: Lancet, I: 785, 1963

- 17) Levy, H. R. : *Biolog. Biophys. Res. Commun.* **13**: 267, 1963
- 18) Hennes, A. R., Awai, K. and Power, L. : *Nature*, **204**: 943, 1964
- 19) Brenner, R. R. and Peluffo, R. O. : *J. Biol. Chem.* **241**: 5213, 1966
- 20) Benjamin, W. and Gellhorn, A., : *J. Biol. Chem.* **239**: 64, 1964
- 21) Itzhaki, S. and Wertheimer, E. : *Endocrinol.* **61**: 72, 1957
- 22) Massoro, E. J. : *J. of Lipid Res.* **3**: 149, 1962

Effect of Normal Human Serum on the Lipogenesis of Rat Adipose Tissue in the Presence and Absence of Added Insulin

By

Toshio Takano

The First Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

Rat epididymal adipose tissue was incubated in the normal human serum in the presence and absence of insulin, and the incorporation of labeled glucose and acetate into major lipid fractions and individual fatty acids was compared as these in Kreb's bicarbonate buffer.

The results were as follows:

1) The incorporation of ^{14}C from $1\text{-}^{14}\text{C}$ glucose or $1\text{-}^{14}\text{C}$ acetate into fatty acids of adipose tissue was increased by the serum containing $50\mu\text{U/ml}$ of added insulin, but the incorporation was inhibited about 20% by serum with $800\mu\text{U/ml}$ of added insulin.

2) The percentage of recovered cpm incorporated into various fatty acids showed some difference in the serum as compared to the values in buffer. Although the percentage of 14:0 and 16:1 was decreased and 16:0 and 18:0 was increased by the serum, the changes found in these fatty acids were less sensitive to the effect of added insulin. The formation of 18:1 was most sensitive to added insulin in serum and the change of synthesis of this fatty acid reflects most specifically the stimulatory or inhibitory effect of insulin on the formation of total fatty acids in serum.

3) The effect of insulin as was found in fatty acid formation in serum was also appeared in the formation of non-saponifiable fraction in serum, but the glycerol formation was almost independent on insulin effect.

4) Dialyzed serum with $200\mu\text{U/ml}$ of added insulin stimulated the formation of total fatty acids remarkably, but the formation of 18:1 was also depressed in this condition, then, it is conceivable that the formation of 18:1 has some difference in nature as compared to others.
