

綜 説

脂肪酸合成速度測定法について

宮 沢 昌 子 桜 井 武 彦 橋 本 隆

信州大学医学部生化学教室

DETERMINATION OF RATE OF FATTY ACID
SYNTHESIS *IN VIVO* AND *IN VITRO*Shoko MIYAZAWA, Takehiko SAKURAI and
Takashi HASHIMOTODepartment of Biochemistry, Faculty of Medicine,
Shinshu UniversityKey words: 脂肪酸合成 (fatty acid synthesis), 食物摂取 (food intake), ^{14}C , T 標識物質
(^{14}C -, T-labeled precursor), トリチウム水 (tritiated water)

動物体内の脂肪酸は絶えず生成されかつ分解されていることを初めて示したのは, Scheoneimer と Rittenberg である¹⁾。高糖質・低脂肪食で飼育しているマウスに重水 (D_2O) を注射し, さらに飲水中にも D_2O を加えることによってマウス体液の重水素 (D) 量を一定に保持しておきマウス全個体の脂肪酸への D のとりこみを調べたところ, ほぼ 6 日間で脂肪酸中の D はある一定値 (平衡状態) になることが明らかにされた。この脂肪酸にとりこまれた D は, 脂肪のケン化の条件では溶媒の H^+ (protium) と交換しないこと (強酸性では交換が認められる²⁾), 脂肪を合成しないと考えられる chick embryo では脂肪酸への D のとりこみが全く認められないことから彼等はこの D は単なる交換反応でとりこまれたのではなく, 脂肪酸がある precursor から生合成される時にとりこまれたものであることを示した。また, D で標識した脂肪酸を投与して体の脂肪酸を標識し, その分解速度を追跡したところ, 分解の速度は合成の速度と同程度であることもわかった。彼等は, 食物として摂取した糖は, ごく一部はグリコーゲンとして蓄えられるが, 大部分は脂肪になることから, 脂肪酸の代謝の役割を次のように考えた。

"The fat tissue can therefore be regarded as an energy buffer. During absorption it takes

up in the form of fatty acids excess of food material not immediately used for the energy requirements. Conversely, during the postabsorptive period it supplies fatty acids to make up the energy deficit."

I 実験動物

このように脂肪酸生合成の研究の最初から食餌には無(低)脂肪高糖質食が用いられてきた。絶食や高脂肪食投与の場合には, 体脂肪の分解が盛んとなり生合成はほとんど認められなくなってしまいが, 逆に高糖質・低(無)脂肪食の投与, また特に絶食後の高糖質食投与によって生合成が著明に昂進する³⁾。ラットやマウスは夜間食物をとる習慣 (nocturnal feeding) をもっている⁴⁾ (Fig. 1.)。また, ラットを明所で 10 日以上飼育するとこの習性がくずれ, 1 日中食物を摂取するようになるが再び明暗の区別をすれば暗時間帯に食物をとる習性をとり戻す。このような習性の変化には幼若なものほど適応性があると考えられている。脂肪酸合成速度は, 食事条件によって大きく変化することから, 飼育法が問題となる。肥満症ラットは, コントロールに比し多食である。このとき pair-feeding をおこなうと肥満症ラットは 1 日分の食物を 1 時間以内に摂取してしまう。このことを契機にし Tep-

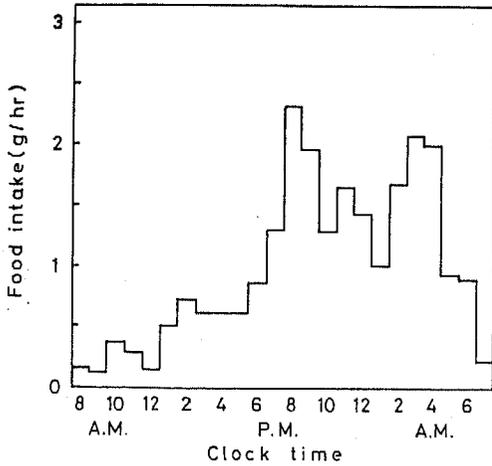


Fig. 1. Food-intake cycle of the rat maintained *ad libitum* under normal dark-light conditions⁴⁾

perman らは、1日分の食物を1時間~3時間で摂取できるようにラットを訓練した。このラットは、コントロールのラットに比べ、高RQ値、脂肪酸合成昂進を示し、肝臓の glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, malic enzyme, citrate cleavage enzyme の活性が高い。彼等はこのような脂肪酸合成速度の昂進を adaptive hyperlipogenesis と称した⁵⁾⁻⁷⁾。また、他の研究者によって次のようなことが明らかにされた。即ち、絶食によって脂肪酸合成速度が著明に低下することから絶食という nonsteady-state の解析をより明確にしらるるため、1日の食事時間を1時間ずつ2度とすると⁸⁾⁹⁾、また脳下垂体別出ラット¹⁰⁾やピオチン欠乏ラット¹¹⁾¹²⁾の食事量が少ないことのためコントロールラットの食事量を制限すること (pair-feeding, pair-weighing, trained-feeding) などによって食事摂取方式が *ad libitum* のものと異なり (nibbler から gorging への変化) その結果、lipogenesis が昂進する。ラットの食物摂取の習性や代謝パターンは短時日で変えられるものではない¹³⁾¹⁴⁾。Tepperman らは体重 200~300g (140g 以下では不可) のラットを用い、肝臓粉末を強化した飼料を1日1回短時間の投与をつづけることによってラットを馴化させた。最初の1週間ほどは、食事量、体重増加は少ないが、2週間以後はコントロール (*ad libitum*) のラットと同じになる。このような食餌投与法を meal-feeding¹⁵⁾¹⁶⁾ とか、scheduled diet 法¹⁷⁾ とかいう。このように訓練

したラットの hyperlipogenesis は肝スライスとか epididymal fat pad を用いた *in vitro* の実験でも認められる⁹⁾¹⁸⁾⁻²⁰⁾。*in vivo* における脂肪酸合成速度が食餌摂取と密接な関係を有し (Fig. 2, 3), 著明な oscillation を示すことは当然予想されることであるが、別出した肝臓や脂肪組織での *in vitro* の実験においてもそのときの動物の食餌条件の影響が著明に認められることは興味深い⁵⁾⁹⁾²¹⁾ (Fig. 3)。

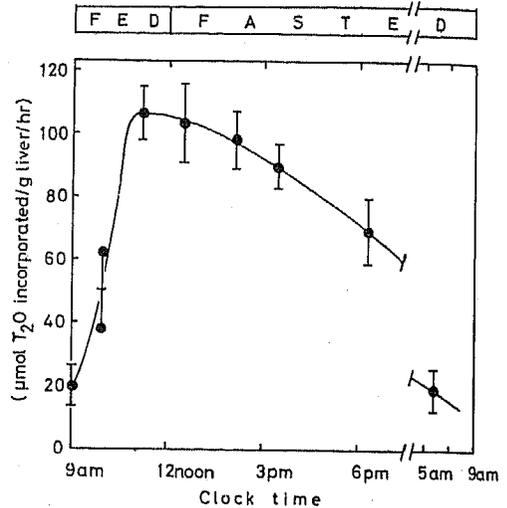


Fig. 2. Fatty acid synthesis by rat liver *in vivo* in relation to the start of feeding¹⁷⁾

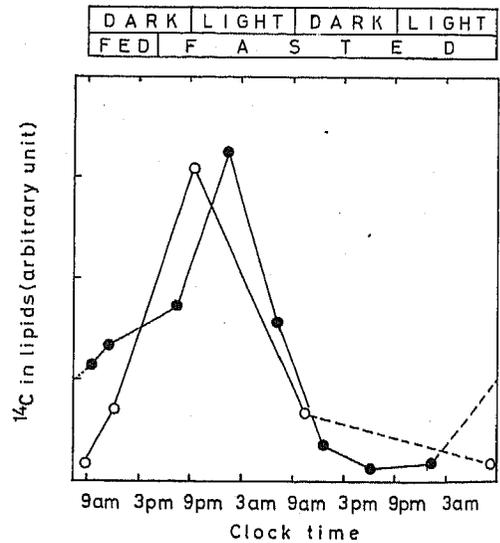


Fig. 3. Incorporation of ¹⁴C-acetate into rat liver fat *in vivo* (●) and *in vitro* (○)²¹⁾

一般に我々は昼間実験をするが、この時間は通常の方法で飼育したラットにとっては、食事をしない時間帯である²²⁾²³⁾。そこで餌投与を午前中に固定することによって、食事時間前後の代謝パターンの解析が容易になる¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。もちろん、この場合には動物舎内の照明、騒音という因子を考えなければならない。また、アイソトープを使用するということから、技術的に小さなケージを使用したり、複数の動物を同一ケージに入れて飼育せざるを得ないことが生ずるが、これらのことが動物にどのような影響をもつかということにも注意する必要がある。実験の目的によっては動物の飼育法、特に食物成分、食餌投与方法²⁴⁾のみならず circadian rhythm²⁵⁾²⁶⁾についても配慮する必要がある。

ラジオアイソトープを利用する場合、実験はアイソトープ実験室でおこなわなければならないし、また特定の容器で動物を飼育する必要がある。アイソトープ実験室は、動物実験に適したような設計になっていない場合が多いのでこの点も留意する必要がある。少量のアイソトープを使用する場合にはドラフト内に動物ケージを設置し実験をおこなうこともできるが、飼育条件(場所、室温、脂肪酸代謝の神経支配、寒冷の影響)が変るのでその場所に馴化させてから(例えば2日間)実験をおこなう²⁷⁾。また排泄された揮発性アイソトープを捕捉する必要があるときには metabolism cage (respiratory chamber など特別な設計のもの²⁷⁾またはデシケーター利用など)を使用するが、この場合には飼育環境がかなり違ってすることに注意する。マウスにラジオアイソトープを投与し、metabolism cage に入れると最初の1時間は激しく動き、その後睡眠をとるといふ。このとき呼気中のCO₂は、初めの運動時の50%に低下するという²⁸⁾。

II Metabolic Fraction — アイソトープ標識化合物の種類

アイソトープのとりこみ速度を測定することによって脂肪酸の生合成速度を求めるとき、第1の問題点は metabolic fraction であり、第2はとりこみの kinetics である。ここでは metabolic fraction を中心にトリチウム水 (tritiated water, T₂O) と他のアイソトープ標識化合物の利用の長所と短所を簡単に比較することにする。

脂肪酸合成酵素反応の段階で H⁺ が脂肪酸にとりこまれるので、D₂O や T₂O を利用して脂肪酸合成速

度を測定できる。¹⁴C-glucose や ¹⁴C-acetate を使用する場合、最も問題となるのは脂肪酸合成の直接の precursor である acetyl-CoA の比放射能が不明であるということである。¹⁴C-glucose を用いた場合、少なくとも血糖の比放射能は測定できるが、実験動物における脂肪酸合成材料の何%が血糖に由来しているのか不明である。同様のことは ¹⁴C-acetate についてもいえることである (Table 1, 2)。しかし、H⁺ が脂肪酸合成酵素反応の段階でとりこまれることは acetyl-CoA の由来 (metabolic fraction) が何であっても D または T のとりこみ量は脂肪酸の合成量と一定の比になると判定してよい。D₂O や T₂O を動物に注射 (皮下、腹腔内、血管内) した場合、これらは容易に体の水分と平衡状態になり、かつ長時間体液中の D₂O や T₂O 濃度は一定に保たれる (体液の D₂O の半減期は3.6日である。注射後さらに飲水中に D₂O や T₂O を加えれば、数日から十数日にわたり体内のアイソトープ量を一定にできる。D₂O の利用には長期実験¹⁾²⁾³¹⁾⁻³⁸⁾がおこなわれたが T₂O の場合はもっと短時間であり、長くても3日程度である。例えば飲水中に T₂O を加えた場合には72時間の実験でも体内内 T₂O 濃度の偏差は2%以内にとどめることができるといふ²⁹⁾³⁰⁾。T₂O を使用した場合、数時間単位の実験が可能でその場合には1回の注射だけで precursor の比放射能はほぼ一定と考えてよく、また必要に応じて容易に体液の放射能が測定できるので他の標識化合物、例えば ¹⁴C-glucose や ¹⁴C-acetate の利用に比べはるかに利点がある。

¹⁴C-glucose をマウスやラットに投与した場合、投与方法や投与量によって異なるが、約1時間で投与量の30%程度の ¹⁴C が CO₂ として呼気に排泄される²⁷⁾²⁸⁾⁴⁰⁾⁻⁴⁴⁾のみならず、他の物質に変化し血糖の放射能が急激に減少する。注射では少量しか glucose を投与できないが、経口投与の場合には多量の糖を投与することができることと、腸管からの吸収という過程が関与するので多量の糖を与えても血糖値の変動は少なく、かつ投与後20分ですでに血糖の比放射能はほぼ一定になりかつその値はかなり長時間保持される²⁸⁾。それ故 stomach tube を利用して経口的に多量の ¹⁴C-glucose を投与する方法²⁷⁾が、しばしば利用される。この場合には、多量の糖を投与したための影響が起る。例えば、絶食動物に stomach tube で多量の ¹⁴C-glucose を与えた場合には、注射によって、トレース量の ¹⁴C-glucose を投与した場合の10倍以上も放射能が脂肪酸

Table 1. ¹⁴C incorporation into fatty acids (FA) in rat liver slices²⁹⁾

Rat no.	U- ¹⁴ C-glucose			U- ¹⁴ C-fructose			U- ¹⁴ C-acetate		
	Glucose mg%	% ¹⁴ C inFA	¹⁴ C μmol/g/3hr	Fructose mg%	% ¹⁴ C inFA	¹⁴ C μmol/g/3hr	Addition 0.02M	% ¹⁴ C inFA	¹⁴ C μmol/g/3hr
1	396	0.54	1.2	374	0.90	1.6	Glucose	21.5	0.65
							Fructose	18.3	0.55
2	396	0.72	1.6	374	0.98	2.0	Glucose	45.5	1.36
							Fructose	41.3	1.24
3	380	0.30	0.64	360	0.50	1.0	—	12.9	0.39
4	370	0.45	0.95	400	0.81	1.8	—	17.9	0.54

Table 2. Comparison of lipogenesis from 1-¹⁴C-acetate and U-¹⁴C-glucose in rats³⁰⁾

	U- ¹⁴ C-glucose (10 μCi) 1g meal fed	1- ¹⁴ C-acetate (10 μCi) trace, subcutaneously
liver	total radioactivity (cpm)	
fatty acid	3490	48400
cholesterol	937	20500
carcass		
fatty acid	70500	1660000
cholesterol	1880	58000

にとりこまれる²⁸⁾³⁰⁾。この差異は、短時間餌を除去する方法でも著明にあらわれる⁴⁵⁾ (Fig. 4.)。

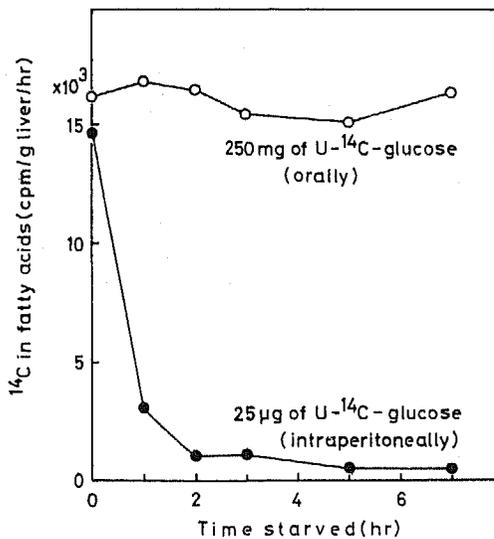


Fig. 4. Effects of administration methods on fatty acid synthesis by mouse liver⁴⁵⁾

¹⁴C-acetate は、まず C-2 単位が連結して脂肪酸が生成することを証明する実験に多用された⁴⁶⁾⁻⁵⁴⁾。ラットに ¹⁴C-acetate を腹腔内注射した場合、2~4 時間は脂肪酸への ¹⁴C のとりこみ速度は変わらないという⁵⁵⁾⁻⁵⁷⁾が実験動物の栄養状態によってこの時間がもっと短い場合がある。例えば、絶食(24時間)ラットでは、肝又は小腸の脂肪酸への ¹⁴C のとりこみは、注射後10分ですでに最高で以後徐々に減少する傾向がみられる。また30分で投与量の30%が CO₂ として呼吸に排泄される⁵⁸⁾ (Fig. 5.)。

中性脂肪の合成には ¹⁴C-glycerol も使用される⁵⁹⁾。[1-T, 1-¹⁴C] glucose, [6-T, 6-¹⁴C] glucose, L-[3-T, 3-¹⁴C] lactate, [2-T, 2-¹⁴C] acetate⁶⁰⁾, ¹⁴C-glutamate⁶¹⁾, 1, 5-¹⁴C₂- citrate, 4-¹⁴C-aspartate, 2-T-acetate⁶²⁾, 1-T-glucose, 6-T-glucose, 1-¹⁴C-glycerol, 2-T-glycerol⁶³⁾ などを動物実験に使用している例もあるが、これらは特定の目的に用いられており、脂肪酸生成速度を測定するためには利用されていない。

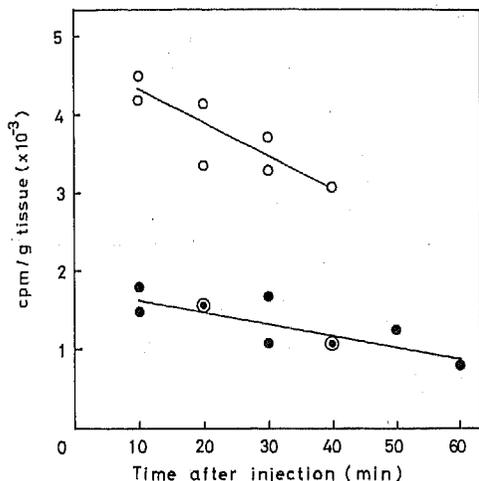


Fig. 5. Radioactivities of fatty acids of rat liver (●) and small intestine (○) after ^{14}C -acetate injection⁶⁸⁾

Ⅲ アイソトープとりこみの Kinetics

— T_2O の利用

上述したように、 T_2O のとりこみは、他の標識化合物のそれに比し脂肪酸生成量とよく対応する。ここでは第2の問題点であるとりこみの kinetics を中心に T_2O 利用について考察を進めよう。

A) 脂肪中の T の分布

1. Intermolecular distribution

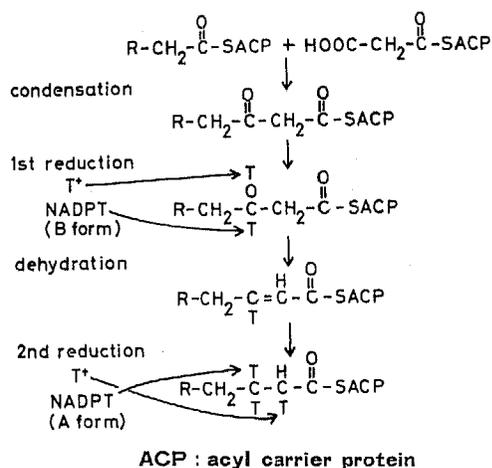
総脂肪中にとりこまれた T の大部分は、脂肪酸に存在し、いわゆる nonsaponifiable fraction には 5% 以内しかとりこまれていない¹⁷⁾³²⁾⁶¹⁾。また生成された脂肪酸は大部分が palmitate で、例えば脂肪組織においては 80% が palmitate、8% が myristate、12% が stearate で平均炭素数は 16 である⁶⁵⁾。不飽和数 1 つの脂肪酸には ^{14}C なり T がとりこまれますが、全脂肪酸中の放射能の 20% ほどであり⁶⁶⁾、不飽和数 2 乃至 3 のものには全くとりこみが認められない⁶⁶⁾⁶⁷⁾。

2. Intramolecular distribution (Fig. 6.)

飽和脂肪酸の水素は H^+ と NADPH に由来し、 NADPH の水素は理論的には奇数炭素にとりこまれる⁶⁸⁾⁻⁷¹⁾。それ故、 T_2O を投与した実験では、 T_2O と NADPT の量によって脂肪酸へ T のとりこみが決定される。肪組織においては glucose-6-phosphate dehydrogenase と 6-phosphogluconate dehydrogenase 両反応で生成される NADPH の量は脂肪酸生

合成に必要な量の半分ではない⁷²⁾⁷³⁾。それ故この不足分は transhydrogenase 反応 ($\text{NADH} \rightarrow \text{NADPH}$) その他によってまかなわれると考えられる⁷⁰⁾。

肝臓のスライス実験では、pentose phosphate cycle で生成される NADPH 量で充分であるという。しかし肝臓では glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 反応で glyceraldehyde-3-phosphate の C-1 の H と NADH とがかなり proton exchange をうけるのでこの反応で生じた NADT から NADPT が生じそのため奇数炭素に T がとりこまれる。このことは逆に脂肪酸合成にどの程度 NADH が関与しているかを示すものである⁷⁰⁾。一方偶数炭素の水素は proton (T^+) と malonyl-Co A のメチレン水素に由来する。今、glucose から脂肪酸が合成される場合を想定すると、かなりの malonyl-Co A のメチレン水素が proton (T^+) から由来していると考えなければならない⁷⁰⁾⁷⁴⁾。このことは $[6-^{14}\text{C}, 6\text{-T}]$ glucose から lactate までの反応ですべて lactate の T/ ^{14}C 値が減少していることから推定できよう⁷⁰⁾。即ち、もしこの基質の水素が全く交換しないとすれば生成された palmitate の T/ ^{14}C の比は出発時の glucose のその 0.427⁶⁾ となるはずであるが、実際に脂肪組織を用いた実験では 0.257⁶⁾ になる。このことは T が、複雑な経過を経て脂肪酸にとりこまれることを示す。しかし、脂肪組織を用い、ほとんど大部分の脂肪酸が glucose 由来となる条件下で ^{14}C -glucose と T_2O からの放射能のとりこみをみたところ、 α 位の T/ ^{14}C のモル比は、1.8、 β 位では 0.87 であったし、また glycerol に



ACP : acyl carrier protein

Fig. 6. Tritium incorporation into fatty acid

ついては T/¹⁴C のモル比は 1.10 であった⁶⁵⁾。また脂肪酸への T のとりこみ実験では、脂肪酸の相互転換をも考慮に入れる必要がある⁷⁷⁾。

B) Isotope 効果

T は H に比し質量が大きい点に留意する必要がある。今、投与 T₂O が体液 H₂O と平衡になった場合を考えても、malonyl-Co A のメチレン水素の T、NADPT の生成速度および脂肪酸合成酵素反応段階でのこれら T の反応速度はその T の質量によって影響をうける。そこでこの T の isotope 効果を予測する必要がある。反応系が非常に複雑なため単にある単独の反応(例えば脂肪酸合成酵素反応)についてだけ isotope 効果を調べただけでは不十分であり、従っていくつかの方法でこの isotope 効果が調べられている。

まず、D₂O を投与した古典的実験の場合、平衡状態になったときの脂肪酸中の D 量を体液中の D 量と比較した場合、マウス脂肪酸で 14.5%¹⁾, 43%²⁾, 45%³²⁾, ラットで 37%³⁴⁾ という値が得られている。今これを単純に処理すればこの値は protium (H⁺) と deuterium (D⁺) の反応速度の比をあらわすと考えられる。ところが、これらの実験期間は数日乃至十数日であって、この期間内で H⁺ と D⁺ とが完全に平衡になっていたかどうか問題がある。むしろ一部の飽和脂肪酸(プールの問題)は不飽和脂肪酸と同程度の速度で代謝される可能性もあり、実際の D の isotope 効果はこれらの結果よりもっと小さい可能性が考えられる。授乳中のラットに D₂O と T₂O を投与した場合、乳腺脂肪酸中の T 量は D 量の 80% であり³⁸⁾、また肝脂肪酸の場合には 85% であった³⁹⁾。それ故 D₂O を利用したこれら古典的な実験結果と、この D₂O と T₂O を同時に使用した実験結果とを組み合わせ、T の isotope 効果を推定できよう。

また一方、脂肪組織を用いた試験管実験で反応液 H₂O を D₂O に置き換えた場合の T のとりこみ速度を比較する方法もある⁶⁵⁾。即ち H₂O 中では ¹⁴C-glucose と T₂O の両者の脂肪酸へのとりこみのモル比 T/¹⁴C は 0.87 であったのに対し、D₂O 中の場合には 1.28 になった。それ故 $\left(\frac{k_H}{k_T}\right) = \left(\frac{k_H}{k_D}\right) 1.442$ なる関係⁷⁸⁾ を利用すれば isotope 効果と同時に、もし isotope 効果がない場合の T のとりこみ総量とが計算できる。水素とりこみ総量を計算すると palmitate 1 分子当り 23 原子であった。なおこの 23 原子というとりこみは D₂O 中で生成させた palmitate の methylester を質量分析計で分析したしかめられた⁶⁵⁾。isotope 効果は

単なる化学反応、例えば脂肪酸合成反応からのみ推定するよりも、tritium の代謝経路自身も考えあわせなければならない。その意味で現在のところ脂肪組織で得られた T/¹⁴C=0.87 なる値が確実で、この値は肝、その他の組織にも適用できよう⁷⁹⁾。これによると、*in vivo* 実験において、ラット肝の脂肪酸への T のとりこみは約 15 μmol/g 肝/hr であり⁷⁰⁾、これを ¹⁴C-acetate からのとりこみ量に換算すると約 17 μmol/g 肝/hr となる。

C) Turnover について

臓器の種類、臓器間相互の関係、脂肪の種類、同一脂肪でも代謝プールの問題等、配慮しなければならない問題が多くある。栄養状態やホルモン条件の変化によって最も大きな影響をうける臓器は肝臓、脂肪組織であり、脂肪の中では中性脂肪の生合成である。高糖質無脂肪食を摂取しているラットの血漿中性脂肪は、肝に由来している⁸⁰⁾⁸¹⁾。しかも血漿中の中性脂肪の放射能は、肝臓のそれよりもやや高いことから、肝で新しく合成されたものが比較的容易に血漿中に放出され他臓器に移動されると考えられる⁶⁴⁾⁸²⁾⁻⁸¹⁾。さらにこのことは肝臓の中性脂肪には異った代謝プールが存在することも示唆する⁶⁴⁾。なお肝臓リン脂質の放出はその生合成とは無関係であるという⁸⁴⁾。これらのことから脂肪酸合成速度を解析する場合には、これら多くの複雑な因子に配慮しなければならない。しかし脂肪酸への T のとりこみの時間経過を調べることによって少なくとも理論的には、これら疑問点に関する解答が得られよう。

D) 表現法について

上述したように T のとりこみ量から脂肪酸合成量を正確に推定することはできないので多くの場合、脂肪酸中の T 量は体液中 T₂O 量との比較で表現する。D₂O 利用の場合には、脂肪酸中 D を atom per cent で示したり、またこの atom per cent を体液のそれと比較(即ち、% of body water D)して表現している。特に D のとりこみの速さは、 $\ln \frac{i_{\max}}{i_{\max}-i} = kt$ (但し i = 時間 t における isotope 濃度、 i_{\max} = 無限時間での i 、 k = とりこみ速度定数; $t_{1/2} = 1.386/k$ 、半減期)なる関係で解析できる⁸⁵⁾。T₂O 利用の場合には、relative specific activity 例えば (cpm/mmol fatty acid) ÷ (cpm/mmol body water) で表現するが、この場合小数となるので便宜上この値を 1000 倍して使用したり⁸²⁾⁸⁶⁾⁸⁸⁾、(cpm/μmol lipid) ÷ (cpm/μg atom water hydrogen)²³⁾²⁶⁾ で表わす。な

Table 3. Summary of rate of fatty acid synthesis in rat liver

Fatty acid synthesis ($\mu\text{mol T}_2\text{O}$ into total fatty acids/g liver/hr)	Reference
<i>in vivo</i> experiment	
20 - 100	17)
11 - 16	79)
50	82)
>5	83)
6 - 15	87)
perfusion experiment	
50	64)
11 - 110	84)

お Jungas⁶⁵⁾によれば、 $T/^{14}C$ のモル比が 0.87 であることから $\mu\text{mol T}_2\text{O}$ incorporated なる値を 0.87 で割れば acetyl group のとりこみ量となる¹⁷⁾。さて、 D_2O や T_2O 利用の場合、計算の基準は体液中のこれらの濃度である。 D_2O を用いた古い実験では、血液と組織の水分を冷却トラップを付けて蒸溜して集め測定していたが、 T_2O 利用の場合には、血漿や血清、時に血液を使用する。血液の場合水分は 85%、血清では 93% と仮定する。なお液体シンチレーションスペクトロメーター使用の場合、シンチレーターの種類によっては除タンパクの必要があろうし、またその必要がなくても、血液を用いるとか、溶血が著明な血清等の場合には、ヘモグロビンのクエンチングが著しいので $Ba(OH)_2-ZnSO_4$ 系で除蛋白してから放射能測定にまわす⁸²⁾⁸⁷⁾。

T_2O を用いて測定したラット肝臓の脂肪酸合成速度を次の表 (Table 3.) にまとめておく。なお、Spencer et al⁸⁸⁾は、ラット肝を single pool model 処理し、 $1.1\sim 1.8 \mu\text{mol fatty acid/g liver/hr}$ と計算しているが、multicompartmental model で計算すれば、 $5.7 \mu\text{mol fatty acid in triglyceride/g liver/hr}$ となる⁸⁹⁾。

文 献

- 1) Schoenheimer, R. and Rittenberg, D.: Deuterium as an indicator in the study of intermediary metabolism VI. Synthesis and destruction of fatty acids in the organism, *J. Biol. Chem.*, 114: 381-396, 1936
- 2) Rittenberg, D. and Schoenheimer, R.: Deu-

terium as an indicator in the study of intermediary metabolism XI. Further studies on biological uptake of deuterium into organic substances, with special reference to fat and cholesterol formation, *J. Biol. Chem.*, 121: 235-253, 1937

- 3) Boxer, G. E. and Stetten, D., Jr.: Studies in carbohydrate metabolism II. The glycolytic response to glucose and lactate in the previously fasted rat, *J. Biol. Chem.*, 155: 237-242, 1944
- 4) Siegal, P. S.: Food intake in the rat in relation to the dark-light cycle, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 54: 294-301, 1961
- 5) Tepperman, J. and Tepperman, H. M.: Effects of antecedent food intake pattern on hepatic lipogenesis, *Am. J. Physiol.*, 193: 55-64, 1958
- 6) Tepperman, H. M., Tepperman, J., Pownall, J. D. and Branch, A.: On the response of hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase activity to changes in diet composition and food intake pattern, *Adv. Enzym. Regul.*, 1: 121-136, 1963
- 7) Tepperman, H. M. and Tepperman, J.: Adaptive hyperlipogenesis, *Fed. Proc.*, 23: 73-75, 1964
- 8) Cockburn, R. M. and Van Bruggen, J. T.: Acetate metabolism *in vivo*: Effect of refeeding, *J. Biol. Chem.*, 234: 431-434, 1959

- 9) Emerson, R. J., Bernards, W. C. and Van Bruggen, J. T. : Acetate metabolism *in vitro* : Effect of refeeding, *J. Biol. Chem.*, 234 : 435-437, 1959
- 10) Hausberger, F. X. : Effect of feeding pattern on *in vitro* lipogenesis, *Anat. Record*, 133 : 389-390, 1959
- 11) Patel, M. S. and Mistry, S. P. : Effect of food restriction on systematic oscillations in "control animals" used in studies on biotin-deficient rats, *J. Nutr.*, 97 : 496-504, 1969
- 12) Patel, M. S. and Mistry, S. P. : Effect of food restriction on metabolic alterations in "control animals" used in studies on biotin-deficient rats, *J. Nutr.*, 98 : 235-240, 1969
- 13) Haus, E. and Halberg, F. : Persisting circadian rhythm in hepatic glycogen of mice during inanition and dehydration, *Experientia*, 22 : 113-114, 1966
- 14) Tove, S. B., Andrews, J. S., Jr., and Lucas, H. L. : Turnover of palmitic, stearic and unsaturated fatty acids in rat liver, *J. Biol. Chem.*, 218 : 275-281, 1956
- 15) Leveille, G. A. : Influence of dietary fat level on the enzymatic and lipogenic adaptations in adipose tissue of meal-fed rats, *J. Nutr.*, 91 : 267-274, 1967
- 16) Leveille, G. A. and Hanson, R. W. : Adaptive changes in enzyme activity and metabolic pathways in adipose tissue from meal-fed rats, *J. Lipid Res.*, 7 : 46-55, 1966
- 17) Lowenstein, J. M. : Effect of (-)-hydroxycitrate on fatty acid synthesis by rat liver *in vivo*, *J. Biol. Chem.*, 246 : 629-632, 1971
- 18) Whitney, J. E. and Roberts, S. : Influence of previous diet on hepatic glycogenesis and lipogenesis, *Am. J. Physiol.*, 181 : 446-450, 1955
- 19) Leveille, G. A. : Control of lipogenesis in adipose tissue of fasted and fed meal-eating rats, *J. Nutr.*, 92 : 460-466, 1967
- 20) Fábry, P. and Braun, T. : Adaptation to the pattern of food intake : Some mechanisms and consequences, *Proc. Nutr. Soc.*, 26 : 144-152, 1967
- 21) Scott, D. F. and Potter, V. R. : Metabolic oscillations in lipid metabolism in rats on controlled feeding schedules, *Fed. Proc.*, 29 : 1553-1559, 1970
- 22) Lyon, I., Masri, M. S., and Chaikoff, I. L. : Fasting and hepatic lipogenesis from C¹⁴ acetate, *J. Biol. Chem.*, 199 : 25-32, 1952
- 23) Windmueller, H. G. : An orotic acid-induced, adenine-reversed inhibition of hepatic lipoprotein secretion in the rat, *J. Biol. Chem.*, 239 : 530-537, 1964
- 24) Greenfield, H. and Briggs, G. M. : Nutritional methodology in metabolic research with rats, *Ann. Rev. Biochem.*, 40 : 549-572, 1971
- 25) 中川八郎 : 生体リズム, 代謝, 8 : 2-11, 1971
- 26) 渡辺民朗 : 酵素パターンと代謝リズム, 代謝, 8 : 12-21, 1971
- 27) Lequin, H. C. and Steyn-Parvé, E. P. : Some aspects of glucose metabolism in normal and alloxan-diabetic rats, *Biochim. Biophys. Acta*, 58 : 439-448, 1962
- 28) Jansen, G. R., Hutchison, C. F. and Zanetti, M. E. : Studies on lipogenesis *in vivo*. Effect of dietary fat or starvation on conversion of [¹⁴C] glucose into fat and turnover of newly synthesized fat, *Biochem. J.*, 99 : 323-332, 1966
- 29) Chernick, S. S. and Chaikoff, I. L. : Two blocks in carbohydrate utilization in the liver of the diabetic rat, *J. Biol. Chem.*, 188 : 389-396, 1951
- 30) Jansen, G. R., Zanetti, M. E., and Hutchison, C. F. : Studies on lipogenesis *in vivo*. Effects of starvation and re-feeding, and studies on cholesterol synthesis, *Biochem. J.*, 99 : 333-340, 1966
- 31) Popják, G., French, T. H., and Folley, S. J. : Utilization of acetate for milk-fat synthesis in the lactating goat, *Biochem. J.*, 48 : 411-416, 1951
- 32) Bernhard, K. and Schoenheimer, R. : The rate of formation of stearic and palmitic acids in normal mice, *J. Biol. Chem.*, 133 : 713-

- 720, 1940
- 33) Waelsch, H., Sperry, W. M., and Stoyanoff, V. A. : A study of synthesis and deposition of lipids in brain and other tissues with deuterium as an indicator, *J. Biol. Chem.*, 135 : 291-296, 1940
 - 34) Boxer, G. E. and Stetten, D., Jr. : The role of thiamine in the synthesis of fatty acids from carbohydrate precursors. *J. Biol. Chem.*, 153 : 607-616, 1944
 - 35) Stetten, D., Jr. and Boxer, G. E. : Studies in carbohydrate metabolism I. The rate of turnover of liver and carcass glycogen, studied with the aid of deuterium, *J. Biol. Chem.*, 155 : 231-236, 1944
 - 36) Stetten, D., Jr. and Salcedo, J., Jr. : The source of the extra liver fat in various types of fatty liver, *J. Biol. Chem.*, 156 : 27-32, 1944
 - 37) Goldwater, W. H. and Stetten, D., Jr. : Studies in fetal metabolism, *J. Biol. Chem.*, 169 : 723-738, 1947
 - 38) Glascock, R. F. and Dunscombe, W. G. : Biochemical fractionation of hydrogen isotopes in mammary gland and other tissues, *Biochem. J.*, 51 : XL, 1952
 - 39) Eidinoff, M. L., Perri, G. C., Knoll, J. E., Marano, B. J., and Arnheim, J. : The fractionation of hydrogen isotopes in biological systems, *J. Am. Chem. Soc.*, 75 : 248-249, 1953
 - 40) Zilversmit, D. B., Chaikoff, I. L., Feller, D. D., and Masoro, E. J. : Oxidation of glucose labeled with radioactive carbon by normal and alloxan-diabetic rats, *J. Biol. Chem.*, 176 : 389-400, 1948
 - 41) Masoro, E. J., Chaikoff, I. L. and Dauben, W. G. : Lipogenesis from glucose in the normal and liverless animal as studied with C^{14} labeled glucose, *J. Biol. Chem.*, 179 : 1117-1125, 1949
 - 42) Feller, D. D., Strisower, E. H., and Chaikoff, I. L. : Turnover and oxidation of body glucose in normal and alloxan-diabetic rats, *J. Biol. Chem.*, 187 : 571-588, 1950
 - 43) Stadie, W. C. : Current concepts of the action of insulin, *Physiol. Rev.*, 34 : 52-100, 1954
 - 44) Vrba, R. : Effects of insulin-induced hypoglycemia on the fate of glucose carbon atoms in the mouse, *Biochem. J.*, 99 : 367-380, 1966
 - 45) Jansen, G. R., Zanetti, M. E., and Hutchison, C. F. : Studies in lipogenesis *in vivo* Fatty acid and cholesterol synthesis during starvation and refeeding, *Biochem. J.*, 101 : 811-818, 1966
 - 46) Stetten, D., Jr. and Schoenheimer, R. : The conversion of palmitic acid into stearic and palmitoleic acids in rats, *J. Biol. Chem.*, 133 : 329-345, 1940
 - 47) Rittenberg, D. and Bloch, K. : The utilization of acetic acid for the synthesis of fatty acids, *J. Biol. Chem.*, 160 : 417-424, 1945
 - 48) Brady, R. O. and Gurin, S. : The biosynthesis of radioactive fatty acid and cholesterol, *J. Biol. Chem.*, 186 : 461-469, 1950
 - 49) Zabin, I. : On the conversion of palmitic acid to stearic acid in animal tissues, *J. Biol. Chem.*, 189 : 355-359, 1951
 - 50) Popják, G., French, T. H., Hunter, G. D., and Martin, A. T. P. : Mode of formation of milk fatty acids from acetate in the goat, *Biochem. J.*, 48 : 612-618, 1951
 - 51) Hunter, G. D. and Popják, G. : A new method for chemical degradation of n-fatty acids, *Biochem. J.*, 48 : v, 1951
 - 52) Anker, H. S. : On the mechanism of fatty acid synthesis *in vivo*, *J. Biol. Chem.*, 194 : 177-182, 1952
 - 53) Hotta, S. and Chaikoff, I. L. : Cholesterol synthesis from acetate in the diabetic liver, *J. Biol. Chem.*, 198 : 895-899, 1952
 - 54) Dauben, W. G., Hoerger, E., and Perterson, J. W. : Distribution of acetic acid carbon in high fatty acids synthesized from acetic acid by the intact mouse, *J. Am. Chem. Soc.*, 75 : 2347-2351, 1953

- 55) Van Bruggen J. T., Hutchens, T. T., Claycomb, C. K. and West, E. S.: Time course of lipide labeling in the intact mouse and rat, *J. Biol. Chem.*, 200: 31-37, 1953
- 56) Van Bruggen, J. T., Yamada, P., Hutchens, T. T., and West, E. S.: Lipogenesis of the intact alloxan-diabetic rat, *J. Biol. Chem.*, 209: 635-640, 1954
- 57) Kritchevsky, D and Rabinowitz, J. L.: The influence of dietary fat on fatty acid biosynthesis in the rat, *Biochim. Biophys. Acta*, 116: 185-188, 1966
- 58) 桜井武彦, 宮沢昌子, 橋本 隆: トリプトファン投与による脂肪酸合成昂進に関する解析, *脂質生化学研究*, 15: 13-16, 1973
- 59) Liberti, J. P. and Jezyk, P. F.: Lipid biosynthesis in rat-liver slices: Effects of ions, ATP and substrate concentration on glycerol incorporation, *Biochim. Biophys. Acta*, 210: 221-229, 1970
- 60) Bartley, J., Abraham, S., and Chaikoff, I. L.: Concerning the form in which acetyl units produced in mitochondria are transferred to the site of *de novo* fatty acid synthesis in the cell, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 19: 770-776, 1965
- 61) Kopelovich, L. and McGrath, H.: Pathways of fatty acid biosynthesis: Effect of glucose and insulin on the conversion of glutamate carbon to fatty acid carbon via citrate by prelactating tissues and hyperplastic alveolar nodule outgrowths, *Biochim. Biophys. Acta*, 218: 18-28, 1970
- 62) Arbex, R., Rous, S., and Favarger, P.: Incorporation du $[1, 5-^{14}C_2]$ citrate dans les differents acides gras de la souris vivante, *Biochim. Biophys. Acta*, 218: 11-17, 1970
- 63) Abelin, G., Rous, S., and Favarger, P.: Incorporation du $[1-^{14}C]$ -, $[6-^{14}C]$ -, $[1-^3H]$ - et $[6-^3H]$ glucose et du $[1-^{14}C]$ - et $[2-^3H]$ glycerol dans differents acides gras chez las souris intacte, *Biochim. Biophys. Acta*, 125: 237-243, 1966
- 64) Windmueller, H. G. and Spaeth, A. E.: Perfusion *in situ* with tritium oxide to measure hepatic lipogenesis and lipid secretion. Normal and orotic acid-fed rats, *J. Biol. Chem.*, 241: 2891-2899, 1966
- 65) Jungas, R. L.: Fatty acid synthesis in adipose tissue incubated in tritiated water, *Biochemistry*, 7: 3708-3717, 1968
- 66) Bernhard, K., Steinhäuser, H., and Bullet, F.: Fettstoffwechsel-Untersuchungen mit Hilfe von Deuterium als Indikator. I. Zur Frage der lebensnotwendigen Fettsäuren, *Helv. Chim. Acta*, 25: 1313-1318, 1942
- 67) Gliemann, J. and Dole, V. P.: Incorporation of formate into lipids of adipose tissue, *J. Biol. Chem.*, 239: 4062-4065, 1964
- 68) Brady, R. O., Bradley, R. M. and Trams, E. G.: Biosynthesis of fatty acids I. Studies with enzymes from liver, *J. Biol. Chem.*, 235: 3093-3098, 1960
- 69) Foster, D. W. and Bloom, B.: The synthesis of fatty acids by rat liver slices in tritiated water, *J. Biol. Chem.*, 238: 888-892, 1963
- 70) Foster, D. W. and Katz, J.: The distribution of tritium in fatty acids synthesized from tritiated glucose and tritiated water by rat adipose tissue, *Biochim. Biophys. Acta*, 125: 422-427, 1966
- 71) Dugan, R. E., Slakey, L. L., and Porter, J. W.: Stereospecificity of the transfer of hydrogen from reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate to acyl chain in the dehydrogenase-catalyzed reactions of fatty acid synthesis, *J. Biol. Chem.*, 245: 6312-6316, 1970
- 72) Flatt, J. P. and Ball, E. G.: Studies on the metabolism of adipose tissue XI. An evaluation of the major pathways of glucose catabolism as influenced by insulin and epinephrine, *J. Biol. Chem.*, 239: 675-685, 1964
- 73) Katz, J., Landau, B. R., and Bartsch, G. E.: The pentose cycle, triose phosphate isomerization, and lipogenesis in rat adipose tissue, *J. Biol. Chem.*, 241: 727-740, 1966
- 74) Foster, D. W. and Bloom, B.: Labilization of

- carbon-bound hydrogens during fatty acid synthesis from [2-³H, ¹⁴C] acetate, *Biochim. Biophys. Acta*, 60 : 189-190, 1962
- 75) Abraham, S., Katz, J., Bartley, J., and Chalkoff, I. L. : The origin of hydrogen in fatty acids formed by lactating rat mammary gland, *Biochim. Biophys. Acta*, 70 : 690-693, 1963
- 76) Katz, J. and Rognstad, R. : The metabolism of tritiated glucose by rat adipose tissue, *J. Biol. Chem.*, 241 : 3600-3610, 1966
- 77) Schoenheimer, R. and Rittenberg, D. : Deuterium as an indicator in study of intermediary metabolism IX. The conversion of stearic acid into palmitic acid in the organism. *J. Biol. Chem.*, 120 : 155-165, 1937
- 78) Swain, C. G., Stivers, E. C., Reuwer, J. F., Jr., and Schaad, L. J. : Use of hydrogen isotope effects to identify the attacking nucleophile in the enolization of ketones catalysed by acetic acid, *J. Am. Chem. Soc.*, 80 : 5885-5893, 1958
- 79) 橋本 隆, 辻 哲男, 佐野 進, 沼 正作 : 肝臓における脂肪酸生合成に対するトリプトファン投与の影響, *脂質生化学研究*, 14 : 107-110, 1972
- 80) Stein, Y. and Shapiro, B. : Assimilation and dissimilation of fatty acids by the rat liver, *Am. J. Physiol.*, 196 : 1238-1241, 1959
- 81) Byers, S. O. and Friedman, M. : Site of origin of plasma triglyceride, *Am. J. Physiol.*, 198 : 629-631, 1960
- 82) Fain, J. N. and Scow, R. O. : Fatty acid synthesis *in vivo* in maternal and fetal tissues in the rat, *Am. J. Physiol.*, 210 : 19-25, 1966
- 83) Fredrickson, D. S. and Gordon, R. S. : Transport fatty acid, *Physiol. Rev.*, 38 : 585-630, 1958
- 84) Windmueller, H. G. and Spaeth, A. E. : *De novo* synthesis of fatty acid in perfused rat liver as a determinant of plasma lipoprotein production, *Arch. Biochem. Biophys.*, 122 : 362-369, 1967
- 85) Boxer, G. E. and Stetten, D., Jr. : The effect of dietary choline upon the rate of turnover of phosphatide choline, *J. Biol. Chem.*, 153 : 617-625, 1944
- 86) Fain, J. N. and Wilhelmi, A. E. : Effects of adrenalectomy, hypophysectomy, growth hormone and thyroxine on fatty acid synthesis *in vivo*, *Endocrinology*, 71 : 541-548, 1962
- 37) Fain, J. N., Scow, R. O., Urgoiti, E. J., and Chernick, S. S. : Effect of insulin on fatty acid synthesis *in vivo* and *in vitro* in pancreatectomized rats, *Endocrinology*, 77 : 137-149, 1965
- 88) Spencer, A., Corman, L., and Lowenstein J. M. : Citrate and the conversion of carbohydrate into fat. A comparison of citrate and acetate incorporation into fatty acids, *Biochem. J.*, 93 : 378-388, 1964
- 89) Baker, N. and Schotz, M. C. : Use of multi-compartmental models to measure rates of triglyceride metabolism in rats, *J. Lipid Res.*, 5 : 188-197, 1964

(1973. 7. 18 受稿)