

妊娠後期ラットの単離脂肪細胞におけるグルコース酸化作用およびインスリン受容体の検討

豊田 長康

要約：妊娠時の糖代謝の特徴の1つとして、インスリンに対する抵抗性の増大があげられるが、その機序を解明する目的で、妊娠後期ラットより調製した単離脂肪細胞を用いて、インスリンのグルコース酸化促進作用およびインスリン受容体について検討した。インスリンのグルコース酸化促進作用は、37°C 60分間に(1-¹⁴C) グルコースより発生する ¹⁴CO₂ の量を、インスリン受容体は、37°C 60分間または24°C 90分間に結合する ¹²⁵I-インスリン量を、それぞれ各種濃度のインスリン存在下で測定することにより求めた。単位脂肪細胞数あたりのグルコース酸化作用は、インスリン非存在下および存在下とも妊娠ラットのほうが非妊娠ラットに比し有意に低下していた。¹²⁵I-インスリン結合率については37°C および24°C の両条件下とも各種濃度のインスリン存在下で両ラットの間に有意差は認められなかった。結合率測定中のインスリンの分解率についても両ラットの間に有意差は認められなかった。

以上の成績により、妊娠後期ラットの単離脂肪細胞ではグルコース酸化作用に関してインスリン抵抗性が認められるが、それは主としてインスリンに対する responsiveness の低下によるものであり、しかも、インスリン受容体の数および親和性に有意の変化が認められず、妊娠時のインスリン抵抗性がインスリン受容体以後 (postreceptor) の過程の変化により生じていることが示唆された。

Key words: ① グルコース酸化作用, ② インスリン受容体, ③ 脂肪細胞, ④ 妊娠ラット

[糖尿病 26(8): 861~868, 1983]

はじめに

妊娠時の糖代謝の特徴の1つとして、インスリン抵抗性の増大することがあげられる¹⁾²⁾。このインスリン抵抗性の増大は妊娠時にしばしば認められる糖代謝異常と深い関係があると考えられる。例えば、妊娠糖尿病の発症や糖尿病合併妊婦における糖忍容力の低下などは、インスリン抵抗性の増大がその原因の一部をなすと考えられている³⁾。しかし、妊娠時のインスリン抵抗性増大の機序に関しては、現在まで明確な解答は得られていない。

本研究では、妊娠時のインスリン抵抗性増大の機序を明らかにする目的で、妊娠後期ラットの単離脂肪細胞を用いて、インスリンのグルコース酸化促進作用およびインスリン受容体の解析を行い、特に、妊娠時のインスリン抵抗性が脂肪細胞でも認められるかどうか、そして、それがインスリン受容体の変化にもとづ

くものかどうかという点を中心に検討を行った。

対 象

ウィスター系雌ラットを5~7週令にて交配し、交尾を腹腔内の精子の存在により確認した。市販ラット用固型飼料(日本クレア, CE-2)を自由に摂取させ、妊娠後期(妊娠17~20日)に実験に用いた。同一週令の非妊娠ラットを同時に平行させて実験を行い、グルコース酸化作用の検討に7対、インスリン受容体の検討に13対のラットを用いた。

研究方法

単離脂肪細胞のグルコース酸化作用は、Rodbell⁴⁾に準じ、(1-¹⁴C) グルコースより発生する ¹⁴CO₂ を測定することにより評価し、インスリン受容体は、Glimann^ら⁵⁾に準じ、¹²⁵I-インスリンの脂肪細胞への結合率を求めることにより評価した。

午前8～10時の間にラットの後頭部を一撃した後断頭し、子宮および卵巣周囲の脂肪組織より、Rodbell⁴⁾の方法にしたがい、コラゲナーゼ (タイプII, Worthington 社) を用いて単離脂肪細胞を調製した。

buffer は、NaCl 1.35, KCl 2.2, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.25, Na₂HPO₄ 2.17, KH₂PO₄ 0.45, Hepes 10, D-glucose 2 (mMol) の組成のものを使用し、コラゲナーゼ処理の場合はウシ血清アルブミン (Fraction V, Armour 社, 以下BSA) を4%添加し、それ以後の実験にはBSAを2%, bacitracin (Sigma 社) を0.05%添加した。pHは5規定のNaOH溶液を用いて、37°Cにおいて7.4に調整した。

グルコース酸化作用は、単離脂肪細胞5～15万個と(1-¹⁴C) グルコース (New England Nuclear 社) 0.2 μ Ci および各種濃度のインスリン (終濃度0, 0.03, 1, 5, 25 ng/ml) を混じ (総量2 ml), 37°Cで60分間に発生する¹⁴CO₂をhyamine (半井化学薬品) に吸収させ、その放射能を液体シンチレーションカウンターで測定することにより検討した。

¹²⁵I-インスリンは Freychet ら⁶⁾の方法に準じ、Chloramine T (半井化学薬品), Na ¹²⁵I (New England Nuclear 社) および pure pork insulin (清水製薬) を用いて作製し、その specific activity は60～120 μ Ci/ μ g の範囲にあった。

¹²⁵I-インスリン結合実験は、単離脂肪細胞10～20万個と¹²⁵I-インスリン (終濃度0.2 ng/ml) および非標識インスリン (終濃度0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 ng/ml) を混じ (総量1 ml), 37°Cで60分間または24°Cで90分間のインキュベーションの後に、シリコンオイル (信越化学, 比重0.97) を用いた遠心により脂肪細胞をbufferより分離し、脂肪細胞の放射能をウェル型シンチレーションカウンターで測定することにより行

った。非標識インスリン 100 μ g/ml 存在下での¹²⁵I-インスリンの脂肪細胞への結合値を非特異結合値とし、それを各インスリン濃度下における¹²⁵I-インスリンの結合値より差し引き、以下の解析に用いた。また、インキュベーション中の¹²⁵I-インスリンの分解率はトリクロル酢酸による沈澱法⁵⁾により求めた。

細胞数の算定は、脂肪細胞を2%オスミウム酸溶液 (Merk 社) で固定した後に生理食塩水で100倍に希釈し、ゆるやかに攪拌しつつ50 μ l を採取し、その中に含まれる脂肪細胞の数をスライドグラス上で計数することにより行った。また、細胞の直径をDynascope® (Vision Eng. Ltd) を装着した顕微鏡により計測し、50～100個の直径の平均値を求めた。

断頭時に採取した血清の immunoreactive insulin (以下 IRI と略す) およびグルコースは、それぞれ radioimmunoassay kit (シオノギ製薬) および mutarotase-glucose oxidase 法による kit (和光純薬) を用いて測定した。

統計学的検討は Student's t test によった。

結 果

1. 実験に使用したラットの性状

妊娠ラットは非妊娠ラットに比し、体重および摂食量が大きく、血清グルコース値は有意に低値を示した。しかし、脂肪細胞の直径および血清 IRI 値については、両者の間に有意差は認められなかった (Table 1)。

2. 単離脂肪細胞のグルコース酸化作用

妊娠ラットおよび非妊娠ラットとも、インスリンの添加により (1-¹⁴C) グルコースの酸化が促進され、無添加時に比しインスリン 25 ng/ml 添加時には妊娠ラットで5.71倍、非妊娠ラットで5.65倍と、ほぼ同程

Table 1 Characteristics of the subjects

	nonpregnant		pregnant	
	n = 7	n = 13	n = 7	n = 13
body weight (g)	191.0 \pm 12.5	195.3 \pm 12.0	267.9 \pm 20.2**	278.0 \pm 24.1**
food intake (g/day)	22.9 \pm 4.6	21.5 \pm 4.3	25.7 \pm 4.1N.S.	25.1 \pm 3.7*
cell diameter (μ)	77.1 \pm 9.6	78.1 \pm 8.0	75.1 \pm 6.8N.S.	75.8 \pm 8.6N.S.
glucose (mg/dl)	140.0 \pm 11.2	139.5 \pm 19.2	104.6 \pm 17.3**	93.4 \pm 18.3**
insulin (μ U/ml)	28.0 \pm 14.7	32.9 \pm 13.9	26.8 \pm 13.8N.S.	31.6 \pm 19.4N.S.

mean \pm S.D.

n=7 : used for glucose oxidation, n=13 : used for insulin binding

** : significantly different from nonpregnant (p<0.01)

* : significantly different from nonpregnant (p<0.05)

N.S. : not significant

度の促進が認められた。また、インスリン 1 ng/ml の添加により、両者ともほぼ最大に近い促進効果が認められた。しかし、インスリン無添加時および各種濃度のインスリン添加時とも、妊娠ラットの方が常に有意に低い値を示した (Fig. 1)。

この ($1\text{-}^{14}\text{C}$) グルコースの酸化作用に対するインスリンの促進効果を、その最大効果に対する割合で検討したところ、妊娠ラットと非妊娠ラットの間に有意

差は認められなかった (Fig. 2)。

3. 単離脂肪細胞への ^{125}I -インスリン結合

各種濃度のインスリン存在下における ^{125}I -インスリンの単離脂肪細胞への結合率は、 37°C 60分間および 24°C 90分間の両インキュベーション条件下とも、妊娠ラットと非妊娠ラットの間に有意差を示さなかった。また、 37°C の場合のほうが 24°C の場合に比し、特にインスリン低濃度域で低い結合率を示した (Fig. 3)。

この ^{125}I -インスリン結合実験の結果を Scatchard 解析⁷⁾にて検討したところ (Fig. 4), 37°C および 24°C の両条件下とも、妊娠ラットと非妊娠ラットの間に

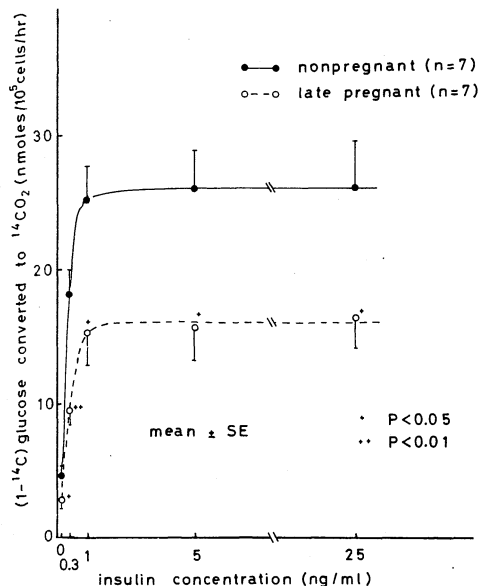


Fig. 1 Insulin stimulation of ($1\text{-}^{14}\text{C}$) glucose oxidation in adipocytes from late pregnant rats

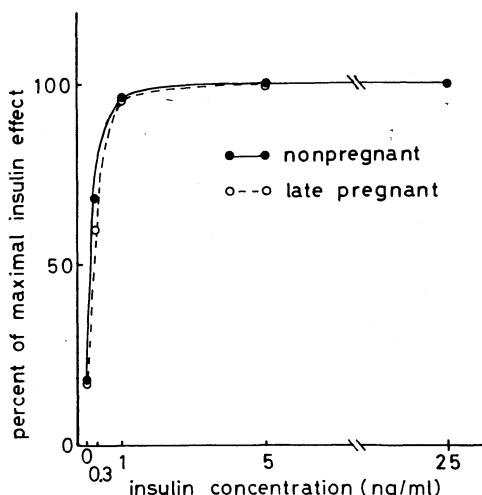


Fig. 2 Percent of maximal insulin effect on ($1\text{-}^{14}\text{C}$) glucose oxidation in adipocytes from late pregnant rats

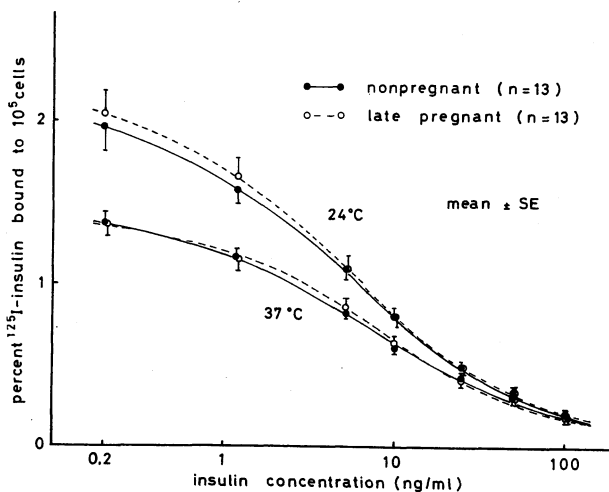


Fig. 3 ^{125}I -insulin binding to adipocytes from late pregnant rats

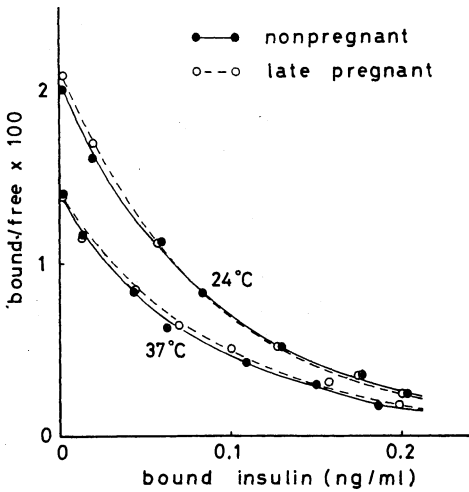


Fig. 4 Scatchard plot of ^{125}I -insulin binding to adipocytes from late pregnant rats

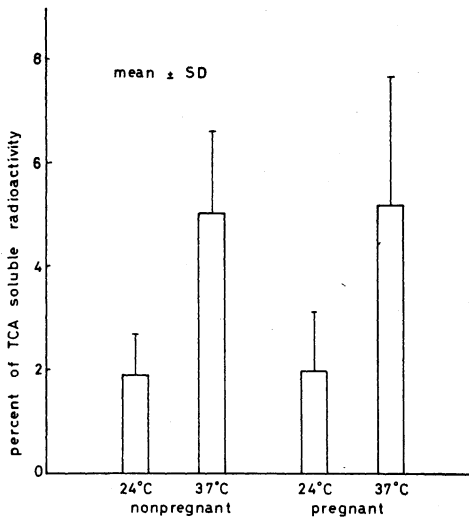


Fig. 5 Degradation of ^{125}I -insulin during the incubation for the binding study

に、曲線の傾きおよび延長線と x 軸との交点に関して差違は認められなかった。また、 37°C の場合のほうが 24°C の場合に比し、曲線の傾きが緩やかであると判断された。

なお、 ^{125}I -インスリン結合実験中の ^{125}I -インスリンの分解率は、 37°C および 24°C の両インキュベーション条件下とも、妊娠ラットおよび非妊娠ラットの間に有意差を示さなかった (Fig. 5)。

考 察

妊娠時にインスリン抵抗性が増大することは従来よ

り諸家¹⁾²⁾ により報告されているが、その機序に関しては不明な点が少ない。本研究はラットをモデルとし、インスリンの標的細胞の1つで、妊娠時の糖脂質代謝に重要な役割を荷っていると考えられる脂肪細胞を用いて、妊娠時のインスリン抵抗性増大の機序を明らかにしようとしたものである。ラットを実験動物として選択した1つの理由は、この動物において妊娠時のインスリン抵抗性の増大⁸⁾ が報告されているからである。

近年、インスリンの作用機構に関する研究が進歩し、インスリン抵抗性を示す種々の病態が⁹⁾⁻¹¹⁾ インスリン受容体あるいはインスリン作用の面より解析されつつある。妊娠時のインスリン抵抗性増大の機序に関しても、この方面よりの検討が試みられているが、その成績は必ずしも一致していないように思われる。

妊娠時のインスリン受容体に関しては、ヒト単核球または赤血球で、 ^{125}I -インスリンの結合率が低下するとする報告¹²⁾ と低下しないとする報告¹³⁾⁻¹⁷⁾ がある。ヒト脂肪細胞については、妊娠時に ^{125}I -インスリン結合率が低下する¹⁸⁾ と報告されている。実験動物については、ラット脂肪細胞¹⁹⁾ および肝細胞²⁰⁾ で ^{125}I -インスリン結合率が上昇するという報告があるが、ラット肝細胞膜²¹⁾ やマウス乳腺細胞²²⁾ で低下するという報告も見られる。

妊娠時の組織に対するインスリン作用については、ラット横隔膜および脂肪細胞で糖の酸化または糖の取り込みがインスリン非存在下および存在下で低下しているという報告²³⁾、ラット筋灌流実験で糖の取り込みに対するインスリンの促進作用が低下しているという報告²⁴⁾ があるが、一方、ラット脂肪組織²⁵⁾ や筋肉²⁶⁾ で明瞭な差違を見い出せなかったとする報告もある。

このように、妊娠時のインスリン受容体およびインスリン作用に関しては諸家の成績の一致を見ず、また、本研究のようにインスリン受容体とインスリン作用の関連を解析した報告は少ないと思われる。

本研究においては、まず、単離脂肪細胞のグルコース酸化作用が、インスリン非添加時および各種濃度のインスリン添加時とも、常に妊娠ラットで低下していることを明らかにした (Fig. 1)。(1- ^{14}C) グルコースより発生する $^{14}\text{CO}_2$ は、(1- ^{14}C) グルコースが細胞膜を透過して後、ペントース回路を通過して代謝されることにより生じるものとされている²⁷⁾。したがって、この成績は、妊娠ラットの脂肪細胞ではグルコースの膜透過あるいはその後のペントース回路の機能が低下しており、それらに対するインスリンの作用も低下していることを意味するものと考えられる。

Kahn²⁸⁾によれば、インスリンの生物学的効果とインスリンとの間の容量-反応曲線の型により、インスリン抵抗性はresponsiveness(反応性)の低下とsensitivity(感受性)の低下という2つの要素に分けて考えることができる。responsivenessはインスリンによる最大効果の程度により、sensitivityは最大効果に至るまでに必要なインスリン濃度によって評価される。そして、脂肪細胞のような“spare receptor”(脂肪細胞ではインスリンがインスリン受容体のたかだか10%に結合すればほぼ最大の効果が得られ、残り90%のインスリン受容体は“spare receptor”と呼ばれている)を有する細胞では、インスリン結合能の変化はsensitivityの変化に対応するとされている。

今回得られた、インスリンと(1-¹⁴C)グルコース酸化作用との間の容量-反応曲線(Fig. 1)のパターンにより、まず、妊娠ラットの脂肪細胞ではインスリンに対するresponsivenessの低下があると判断される。さらに、sensitivityの低下も伴っているかどうかを調べるために、容量-反応曲線をインスリンの最大効果に対する割合で表示したところ(Fig. 2)、妊娠および非妊娠ラットの間に有意の差は認められなかった。したがって、妊娠ラットの脂肪細胞におけるインスリン抵抗性はsensitivityの低下によるものではなく、主としてresponsivenessの低下によるものと考えられる。

次に妊娠ラットの脂肪細胞においてインスリン受容体に何らかの変化が生じているかどうかを明らかにするために、¹²⁵I-インスリンの脂肪細胞への結合率を検討した(Fig. 3)。最近、インスリン受容体測定時のインキュベーションの温度により結果に相違の出る可能性が指摘されたので²⁹⁾、本研究では37°と24°Cの両方の温度でインキュベーションを行い、妊娠および非妊娠ラットの脂肪細胞への¹²⁵I-インスリン結合率を比較した。しかし、両インキュベーション条件下とも、妊娠ラットと非妊娠ラットの間に有意差を見出すことはできなかった。

¹²⁵I-インスリンの結合実験の成績をScatchard plotで表示した場合も、妊娠および非妊娠ラットの間に、曲線の傾きおよび曲線の延長線とx軸との交点に関して差は認められなかった(Fig. 4)。曲線の傾きがインスリン受容体の親和性を、曲線の延長線とx軸との交点が受容体数を表すとされているので、この成績は妊娠および非妊娠ラットの間にインスリン受容体の親和性および受容体数に関して、特に変化のないことを示すものと考えられる。また、インキュベーション温度の違いによるScatchard plotの変化は、主として曲線の傾きの変化によると判断され、37°Cでは24°C

に比し受容体の親和性が低下しているものと考えられる。

¹²⁵I-インスリンの結合実験中の¹²⁵I-インスリン分解率は妊娠および非妊娠ラットの間に有意差なく(Fig. 5)、分解率の相違が結合実験の成績に影響をおよぼした可能性はないと考えられる。

インスリン受容体の数を調節している因子の1つとしてインスリン自身があり、肥満などの高インスリン血症を呈する病態ではインスリン受容体数の減少³⁰⁾³¹⁾が観察されている(down regulation)。妊娠時には一般に高インスリン血症を来す³²⁾³³⁾とされているので、このdown regulationによりインスリン受容体数が減少することが期待される。しかし、今回の検討では妊娠時にインスリン受容体数が減少するという成績は得られなかった。その1つの原因は、今回使用した妊娠および非妊娠ラットの間に、血清IRI値に有意差が認められなかったことによると思われる(Table 1)。もし仮に高インスリン血症の著明な対象を用いるならば、インスリン受容体数が減少するという成績が得られる可能性は十分にあり、その場合には、インスリン作用においてsensitivityの低下も観察されるものと思われる。

今回の成績において、妊娠および非妊娠ラットの間に、グルコース酸化に対するインスリン作用に関してsensitivityの差が認められなかったことは、¹²⁵I-インスリン結合率に差が認められなかったことと理論的に矛盾しない。そして、妊娠ラットにおいてresponsivenessの低下を主体とするインスリン抵抗性が認められたことは、妊娠時のインスリン抵抗性が主としてインスリン受容体以後(postreceptor)の過程の変化に基づくことを示唆していると思われる。

このような妊娠時のインスリン抵抗性を引き起こす要因については、現時点では、まだ完全に明らかにされていない。脂肪細胞において同様なインスリン抵抗性が報告されている病態として、肥満³⁴⁾や飢餓³⁵⁾があげられるが、今回用いたラットでは脂肪細胞の直径が妊娠および非妊娠ラットの間に有意差がなく(Table 1)、また¹²⁵I-インスリンの結合率にも差の認められないことなどより、妊娠時のインスリン抵抗性の主たる原因を、肥満や飢餓による二次的な結果に帰すことは難しいと思われる。おそらく、妊娠時に増加する各種のホルモン、たとえば性ステロイドホルモン、HPL、コルチゾールなどが複雑に働いて妊娠時のインスリン抵抗性増大の原因をなしているのであろうと推察されるが、この点に関しては、さらに検討を要するところである。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った杉山陽一教授、直接の御指導を賜った村田和平講師、実験法の御教示を賜った滋賀医科大学第三内科、小林正先生に、心より深謝いたします。

参考文献

- 1) Burt, R.L.: Peripheral utilization of glucose in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 7: 658-664 (1956)
- 2) Spellacy, W.N.: Maternal and fetal metabolic interrelationships. "Carbohydrate metabolism in pregnancy and the newborn." Sutherland, H.W., Stowers, J.M. ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York, (1957) p 42-57
- 3) Metzger, B.E., Freinkel, N.: Effects of diabetes mellitus on endocrinologic and metabolic adaptation of gestation. "The diabetic pregnancy: A perinatal perspective." Merkatz, I.R., Adam, P.A.J. ed. Grune and Stratton Inc. New York, (1979) p 23-33
- 4) Rodbell, M.: Metabolism of isolated fat cells. I.: Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J. Biol. Chem.* 239: 375-380 (1964)
- 5) Gammeltoft, S., Gliemann, J.: Binding and degradation of 125 I-labeled insulin by isolated rat fat cells. *Biochem. Biophys. Acta* 320: 16-32 (1973)
- 6) Freychet, P., Roth, J., Neville, D.M., Jr.: Moniodoinsulin: Demonstration of its biological activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43: 400-408 (1971)
- 7) Scatchard, G.: The attractions of protein for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 51: 660-672 (1949)
- 8) Leturque, A., Ferre, P., Satabin, P., Kervran, A., Girard, J.: *In vivo* insulin resistance during pregnancy in the rat. *Diabetologia* 19: 521-528 (1980)
- 9) Kahn, C.R., Flier, J.S., Bar, R.S., Archer, J.A., Gorden, R., Martin, M.M., Roth, J.: The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. *N. Engl. J. Med.* 294: 739-745 (1976)
- 10) Kobayashi, M., Olefsky, J.M., Elders, J., Mako, M.E., Given, B.D., Schedwie, H.K., Fiser, R.H., Hintz, R.L., Horner, J.A., Rubenstein, A.H.: Insulin resistance due to a defect distal to the insulin receptor: Demonstration in a patient with leprechaunism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75: 3469-3437 (1978)
- 11) Olefsky, J.M., Reaven, G.M.: Insulin binding in diabetes: Relationship with plasma insulin levels and insulin sensitivity. *Diabetes* 16: 680-688 (1977)
- 12) Beck-Nielsen, H., Kuhl, C., Pedersen, O., Bjerre-Christensen, C., Nielsen, T.T., Klebe, J.G.: Decreased insulin binding to monocytes from normal pregnant women. *J. Clin.-Endocrinol. Metab.* 49: 810-814 (1979)
- 13) Gratacos, J.A., Neufeld, N., Kumar, D., Artal, R., Paul, R.H., Mestan, J.: Monocyte insulin binding studies in normal and diabetic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141: 611-616 (1981)
- 14) Moore, P. Kolterman, O., Weyant, J., Olefsky, J.M.: Insulin binding in human pregnancy: Comparisons to the postpartum, luteal and follicular states. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 52: 937-941 (1981)
- 15) Puavilai, G., Drobny, E.C., Domont, L.A., Baumann, G.: Insulin receptors and insulin resistance in human pregnancy: Evidence for a postreceptor defect in insulin action. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54: 247-253 (1982)
- 16) Toyoda, N.: Insulin receptors on erythrocytes in normal and obese pregnant women: Comparisons to those in nonpregnant women during the follicular and luteal phases. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 144: 679-682 (1982)
- 17) Tsibris, J.C.M., Raynor, L.O., Buhi, W.C., Buggie, T., Spellacy, W.N.: Insulin receptors in circulating erythrocytes and monocytes from women on oral contraceptives or pregnant women near term. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 711-717 (1980)
- 18) Pagano, G., Cassader, M., Massobrio, M., Bozzo, C., Trossarelli, G.F., Menato, G., Lenti, G.: Insulin binding to human adipocytes during late pregnancy in healthy, obese and diabetic state. *Horm. Metab. Res.* 12: 177-181 (1980)
- 19) Flint, D.J., Sinnet-Smith, P.A., Clegg, R.A., Vernon, R.G.: Role of insulin receptors in the changing metabolism of adipose tissue during pregnancy and lactation in the rat. *Biochem. J.* 182: 421-427 (1979)

- 20) Flint, D.J.: Changes in the number of insulin receptors of isolated rat hepatocytes during pregnancy and lactation. *Biochem. Biophys. Acta* 628: 322-327 (1980)
- 21) Baumann, G., Puavilai, G., Freinkel, N., Domont, L.A., Metzger, B.E., Levine, H.B.: Hepatic insulin and glucagon receptors in pregnancy: Their role in the enhanced catabolism during fasting. *Endocrinology* 108: 1979-1986 (1981)
- 22) Inagaki, Y., Kohmoto, K.: Changes in Scatchard plots for insulin binding to mammary epithelial cells from cycling, pregnant, and lactating mice. *Endocrinology* 110: 176-182 (1982)
- 23) Sutter-Dub, M-Th., Dazey, B., Vergnaud, M-Th., Madec, A.M.: Insulin-resistance during pregnancy and progesterone treatment in the rat. *Horm. Metab. Res.* 13:182(1981)
- 24) Rushakoff, R.J., Kalkhoff, R.K.: Effects of pregnancy and sex steroid administration on skeletal muscle metabolism in the rat. *Diabetes* 30: 545-550 (1981)
- 25) Knopp, R.H., Herrera, E., Freikel, N.: Carbohydrate metabolism in pregnancy. VIII.: Metabolism of adipose tissue isolated from fed and fasted pregnant rats during late gestation. *J. Clin. Invest.* 49: 1438-1446 (1970)
- 26) Leturque, A., Satabin, P., Ferre, P., Girard, J.R.: Evidence that stimulation of glucose metabolism by insulin is not altered in isolated soleus muscle of pregnant rats. *Biochem. J.* 200: 181-184 (1981)
- 27) Leonards, J.R., Landau, B.R.: A study on the equivalence of metabolic patterns in rat adipose tissue: Insulin versus glucose concentration. *Arch. Biochem. Biophys.* 91: 194-200 (1960)
- 28) Kahn, C.R.: Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness.: A necessary distinction. *Metabolism* 27 Suppl. 2: 1893-1902 (1978)
- 29) Andersen, O., Gliemann, J., Gammeltoft, S.: Receptor binding and biological effect of insulin in human adipocytes. *Diabetologia* 13: 589-593 (1977)
- 30) Bar, R.S., Gorden, P., Roth, J., Kahn, C.R., De Meyts, P.: Fluctuations in the affinity and concentration of insulin receptors on circulating monocytes of obese patients. *J. Clin. Invest.* 58: 1123-1135 (1976)
- 31) Olefsky, J.M.: Decreased insulin binding to adipocytes and circulating monocytes from obese subjects. *J. Clin. Invest.* 57: 1165-1172 (1976)
- 32) Sugiyama, Y., Kozuka, Y., Tamura, H.: The studies of pregnant women with diabetes mellitus or gestational diabetes. *Acta Obstet. Gynaec. Jap.* 21: 127-134 (1974)
- 33) 村田和平：妊娠時の糖代謝に関する内分泌学的検討——とくに Insulin および C-peptide について——*日内分泌誌* 55: 927-943 (1979)
- 34) Olefsky, J.M.: The effects of spontaneous obesity on insulin binding, glucose transport, and glucose oxidation of isolated rat adipocytes. *J. Clin. Invest.* 57: 842-851 (1976)
- 35) Olefsky, J.M.: aEffects of fasting on insulin binding, glucose transport, and glucose oxidation in isolated adipocytes: Relationships between insulin receptors and insulin action. *J. Clin. Invest.* 58: 1450-1460 (1976)

Abstract

**Glucose Oxidation and Insulin Receptors in Isolated
Adipocytes from Late Pregnant Rats**

Nagayasu Toyoda

Department of Obstetrics and Gynecology, Mie
University School of Medicine, Tsu, Mie, Japan

Increased insulin resistance is one of the characteristics of metabolism during pregnancy. We studied the action of insulin on glucose oxidation and the insulin receptors using isolated adipocytes prepared from late pregnant rats in order to clarify the mechanism of the insulin resistance. The insulin action on glucose oxidation was estimated by measuring the amount of $^{14}\text{CO}_2$ converted by adipocytes from (1- ^{14}C) glucose during 60 min at 37°C. The insulin receptors were assessed by measuring the ^{125}I -insulin bound to the adipocytes during 60 min at 37°C or during 90 min at 24°C. The glucose oxidation was significantly decreased in the pregnant rat adipocytes with or without insulin. The amount of $^{14}\text{CO}_2$ converted from (1- ^{14}C) glucose by adipocytes from pregnant and nonpregnant rats was 2.81 ± 0.49 and 4.62 ± 0.54 without insulin, and 16.04 ± 2.10 and 26.1 ± 3.43 ($n=7$, mean \pm SEM) with 25 ng/ml insulin, respectively. There was no significant difference in the ^{125}I -insulin binding at each insulin concentration between the pregnant and nonpregnant rats. There was also no significant difference in the degradation of ^{125}I -insulin during the incubation time.

These results suggest that isolated adipocytes from late pregnant rats are resistant to insulin on glucose oxidation and that this insulin resistance is due to certain changes at the postreceptor sites.