

高炭水化物食または高脂肪食の長期摂取が ラットの肝臓薬物代謝に及ぼす影響

佐藤厚子・下村吉治・鈴木正成

Effects of a long-term feeding of a high-carbohydrate diet or a high-fat diet on hepatic drug metabolism in rats

Atsuko SATOH, Yoshiharu SHIMOMURA, and Masashige SUZUKI

We examined the effects of a high-carbohydrate (CHO) diet or a high-fat (FAT) diet feeding for approximately 700 days on hepatic drug metabolism in rats (male; 46 rats, female; 42 rats). Hepatic drug metabolism was evaluated by pentobarbital induced sleeping time. Rats were injected pentobarbital (3% solution, 1ml/kg b.w.) intra-peritoneally for successive 4 days. On the final day, after pentobarbital administration, 7-8 animals of each dietary group were sacrificed. Serum pentobarbital concentrations, and liver microsomal protein, cytochrome p-450 and NADPH-cytochrome c reductase activity were determined. The rest of rats of each dietary group were subjected to a pentobarbital disappearance test. Plasma pentobarbital levels were measured at 15, 30, 60, and 120 minutes after injection, and a half-life of plasma pentobarbital was determined. In female rats, both of the sleeping time and the half-life of plasma pentobarbital after pentobarbital injection were shorter in the animals fed the FAT-diet than in those fed the CHO-diet. Liver microsomal cytochrome P-450 content and NADPH-cytochrome c reductase activity on the 4th day of the treatment were higher in the animals fed the FAT-diet than in those fed the CHO-diet. In male rats, however, both of the pentobarbital-induced sleeping time and the half-life period of plasma pentobarbital after injection were shorter in the animals fed the CHO-diet than in those fed the FAT-diet on the 1st day of the treatment, but those were not observed on the 4th day. These results suggest that a long-term feeding of the FAT-diet as compared with the CHO-diet increases the activity of hepatic drug metabolism in female rats, but not in male rats.

Key words : High-fat diet, High-carbohydrate diet, Liver, Drug metabolism,

目 的

著者らは、高炭水化物食あるいは高脂肪食でラットを授乳期から約23か月間飼育する過程で、高炭水化物食群よりも高脂肪食群で死亡率が高いことを観察した(690日齢における死亡率：高炭水化物食群；7.6% (5/65), 高脂肪食；15% (9/60))。また、23か月齢のラットでは、高炭水化物食に比べて高脂肪食群では肝臓の過酸化脂質含量が高かった¹⁾。これらの事実は、高脂肪食の長期摂

取が各種肝機能の変化をもたらし、これが寿命の短縮を促している可能性を示唆している。

そこで本研究では、重要な肝機能の一つである薬物代謝機能の食餌による違いを比較・検討した。

方 法

雌雄の4週齢のSprague-Dawley系ラットを、約4週間、高炭水化物食または高脂肪食 (Table 1) を20-08時に給餌する方法で飼育した後、同

Table 1 Composition of experimental diets.

component	High-carbohydrate diet	High-fat diet
	(g/100gdiet)	
CE-2*	43.76	73.30
Casein	12.14	15.93
Starch	43.48	—
Soybean	—	9.98
Mineral mixture*	0.29	0.35
Vitamin mixture*	0.33	0.43

	(% of calorie)	
Carbohydrate	70	35
Protein	25	25
Fat	5	40

*Purchased from CLEA Japan Inc., Tokyo.

一食餌群内で交配させた。その仔ラット (各群 44~45頭) を離乳直後より親ラットと同一飼育条件で690日齢または770日齢まで飼育した。その後、生活リズムを統一するために1日2食制 (08-20時, 20-22時) に切り換えて20日間飼育した。飼育期間中、飼育室の温度は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度は $60 \pm 10\%$ に保ち、照明は07-19時を明期、19-07時を暗期とする明暗サイクルとした。また、水は24時間自由に摂取させた。

690日齢の雌雄ラットの各食餌群を2つに分け (各群 7~8頭), 実験日の08-10時食の1時間後の11時に、一方には3%ペントバルビタール水溶液を体重kgあたり1 ml腹腔内投与し、睡眠時間を測定した。他の群は対象群として生理的食塩水を同様に投与した。これを4日間くり返した後、4日目のペントバルビタールまたは生理的食塩水の投与90分後にラットを断頭屠殺した。

採血後直ちに開腹し、肝臓を採り出して生理的食塩水で灌流した後、秤量した。適量の肝臓を4倍の0.25M ショ糖液を加えてホモジナイズし、 $12,000 \times g$ で10分間遠心分離して上清液を得た後、これに5倍の12.5mM ショ糖液 (pH7.5) を加えて、 $105,000 \times g$ で1時間遠心分離してミクロソーム分画を得た。この分画を0.1M カリウムーリン酸緩衝液 (pH7.4) に懸濁した後、以下の分析に供した。

肝臓ミクロソーム分画のたん白質含量はLowryらの方法¹²⁾、チトクローム P-450 含量は大村らの方法¹³⁾、及び NADPH-チトクローム c 還元酵素活性は Mastersらの方法¹⁵⁾で測定した。ま

た、血清のペントバルビタール濃度は Kelner らの HPLC 法¹¹⁾で測定した。

さらに、770日齢の雌雄ラットの各食餌群 (各群 6~8頭) に690日齢と同様な日内リズム下に3%ペントバルビタール水溶液を体重kgあたり1ml腹腔内投与した。投与15, 30, 60および120分後に尾静脈から採血し、血漿ペントバルビタール濃度を測定し、その対数プロットよりペントバルビタールの半減期を算出した。

結 果

1. ペントバルビタール投与による睡眠時間に及ぼす高炭水化物食または高脂肪食摂取の影響 (Fig. 1)。

ペントバルビタール投与による睡眠時間は、雌では1日目と4日目のいずれにおいても高炭水化物食群より高脂肪食群で睡眠時間が短かった。しかし、雄では雌とは逆に1日目には高脂肪食群よ

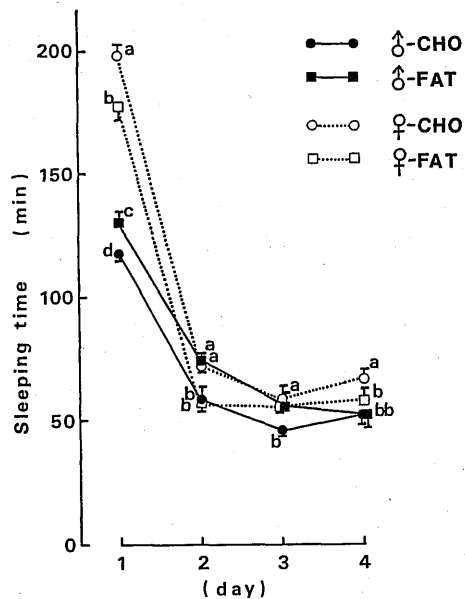


Fig. 1 Effects of feeding of a high-carbohydrate or a high-fat diet on pentobarbital induced sleeping time.

CHO, high-carbohydrate diet; FAT, high-fat diet. Points and vertical bars are means \pm SEM for 7~8 rats. Points with the different letters are significantly different ($P < 0.05$).

り高炭水化物食で有意に短かったが、4日目には両食餌群間の差はなくなった。また、睡眠時間は雄より雌で長かった。

2. ペントバルビタール投与後の血清ペントバルビタール濃度に及ぼす高炭水化物食または高脂肪食摂取の影響 (Fig. 2)。

ペントバルビタール投与4日目、投与90分後の血清ペントバルビタール濃度は、雌では高脂肪食群より高炭水化物食群で有意に高かったが、雄では両食餌群間の差はみられなかった。また、血清ペントバルビタール濃度は雄より雌で高かった。

3. 血漿ペントバルビタール半減期に及ぼす高炭水化物食または高脂肪食摂取の影響 (Fig. 3)。

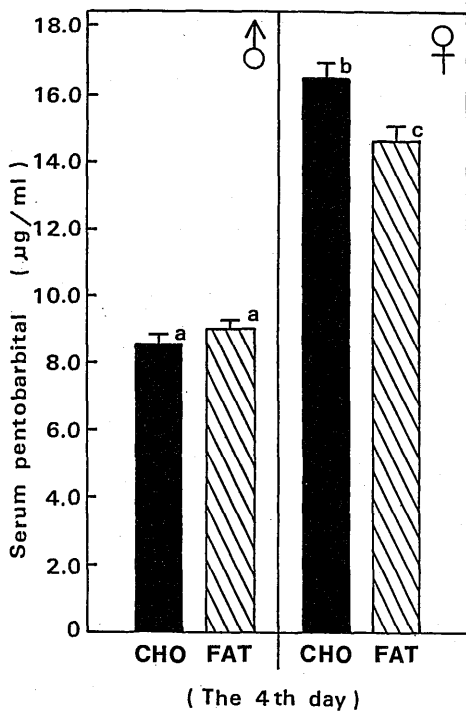


Fig. 2 Effects of feeding of a high-carbohydrate or a high-fat diet on the serum pentobarbital concentration on the 4th day of pentobarbital treatment. CHO, high-carbohydrate diet; FAT, high-fat diet. Bars represent means±SEM. The different letters at the top of each bar indicate a statistically significant difference between groups ($P<0.05$).

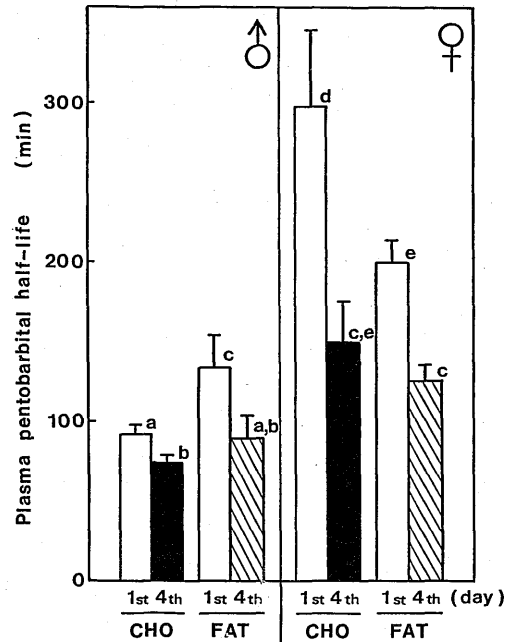


Fig. 3 Effects of feeding of a high-carbohydrate or a high-fat diet on plasma pentobarbital half-life in rats on the 1st and 4th day of pentobarbital treatment. CHO, high-carbohydrate diet; FAT, high-fat diet. Bars represent means±SEM for 7~8 rats. The different letters at the top of each bar indicate a statistically significant difference between groups ($P<0.05$).

血漿ペントバルビタール濃度の半減期は、雌では投与1日目から4日目まで高炭水化物食群より高脂肪食群で短かった。これとは逆に、雄では投与1日目には高脂肪食群より高炭水化物食群で短かったが、投与4日目にはその差が消失した。また、半減期は雌より雄で短かった。

4. 肝臓重量およびミクロソームのたん白質含量に及ぼす高炭水化物食または高脂肪食摂取の影響 (Table 2)。

ペントバルビタール投与4日目、投与90分後の肝臓重量は雄の高炭水化物食群でのみペントバルビタール投与による増加が認められた。同時に、肝臓ミクロソームのたん白質含量は、雄の高炭水化物食群でのみペントバルビタール投与による増加が認められた。

Table 2 Effects of pentobarbital on liver weight and microsomal protein content.

	High-carbohydrate diet		High-fat diet	
	control	pentobarbital	control	pentobarbital
male	(8)	(8)	(7)	(7)
Liver wt./body wt. (%)	2.3±0.1 ^a	2.8±0.1 ^b	2.4±0.1 ^a	2.4±0.1 ^a
Microsomal protein				
(mg/g of liver)	7.6±0.3 ^a	7.5±0.3 ^a	10.1±1.2 ^b	8.2±0.7 ^a
(mg/whole liver)	91.7±3.8 ^a	107.2±7.3 ^b	205.5±18.7 ^c	143.7±18.7 ^d
female	(7)	(7)	(7)	(7)
Liver wt./body wt. (%)	2.7±0.2 ^a	2.8±0.1 ^a	2.3±0.1 ^b	2.5±0.1 ^b
Microsomal protein				
(mg/g of liver)	8.4±0.3 ^a	7.6±0.4 ^b	9.9±0.8 ^{a,c}	8.0±0.5 ^{a,b}
(mg/whole liver)	73.9±4.5 ^a	68.7±3.8 ^a	88.6±12.5 ^b	76.1±7.0 ^a

Values are means±SEM. Number of rats are in the parentheses. Values not followed by the same letter are significantly different (P<0.05).

5. 肝臓ミクロソームのチトクローム p-450 含量に及ぼす高炭水化物食または高脂肪食摂取の影響 (Fig. 4)。

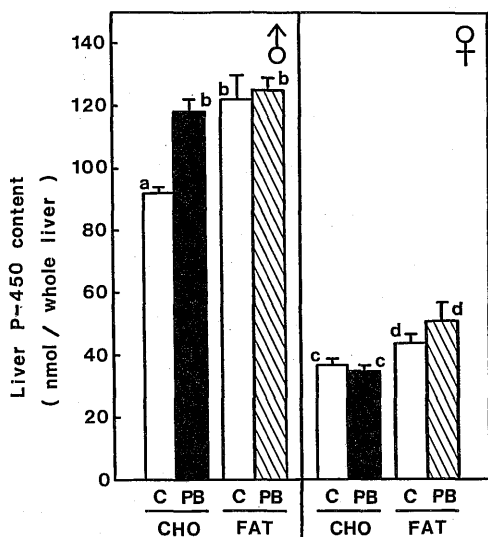


Fig. 4 Effects of feeding of a high-carbohydrate or a high-fat diet on liver microsomal cytochrome P-450 content. CHO, high-carbohydrate diet; FAT, high-fat diet; C, saline treatment; PB, pentobarbital treatment; P-450, cytochrome P-450. Bars represent means±SEM for 7~8 rats. The different letters at the top of each bar indicate a statistically significant difference between groups (P<0.05).

ペントバルビタール投与4日目、投与90分後の肝臓チトクローム p-450 含量は、雌では、ペントバルビタール投与による誘導はなかったが、高脂肪食群で高い値を示した。しかし、雄では高炭水化物食群にのみペントバルビタール投与によるチトクローム p-450 の誘導が認められた。また、肝臓チトクローム p-450 含量は雌より雄で高かった。

6. 肝臓ミクロソームの NADPH-チトクローム c 還元酵素活性に及ぼす高炭水化物食または高脂肪食摂取の影響 (Fig. 5)。

ペントバルビタール投与4日目、投与90分後の肝臓 NADPH-チトクローム c 還元酵素活性は、両食餌群の雌雄ともペントバルビタール投与による誘導が認められ、雌では、高炭水化物食群より高脂肪食群で高い酵素活性の誘導が認められた。しかし、雄では高炭水化物食で高い酵素活性の誘導が認められ、両食餌群間の差はなかった。また、肝臓 NADPH-チトクローム c 還元酵素活性は雌より雄で高かった。

考 察

本研究において、ペントバルビタール代謝は、雌では高炭水化物食群より高脂肪食群で高く、雄では逆に高脂肪食群より高炭水化物食群で高かったが、ペントバルビタールの連続投与によりその差が消失するという結果を得た。

これまでの報告では、高脂肪食や高たん白質食は肝臓ミクロソームのチトクローム p-450 を増加させ、肝臓薬物代謝活性を高めるとされてき

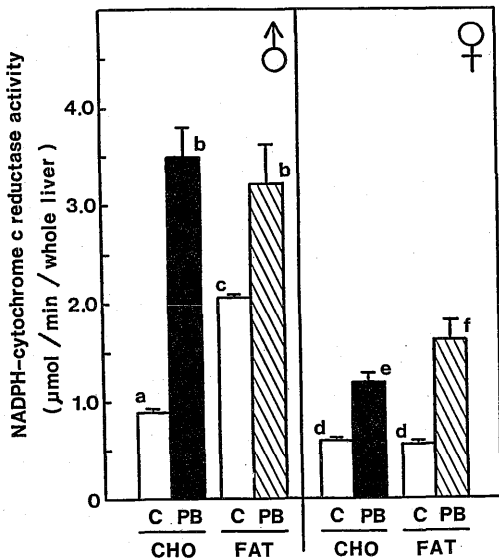


Fig. 5 Effects of feeding of a high-carbohydrate or a high-fat diet on liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase activity. CHO, high-carbohydrate diet; FAT, high-fat diet; C, saline treatment; PB, pentobarbital treatment. Bars represent means \pm SEM for 7~8 rats. The different letters at the top of each bar indicate a statistically significant difference between groups ($P < 0.05$).

た^{2,13,17}).しかし、中島らは、食餌中の脂肪やたん白質よりも炭水化物の摂取量によって肝臓薬物代謝活性が左右され、高炭水化物食は肝臓ミクロソームのたん白質やチトクローム p-450 の含量には影響を及ぼすことなく薬物代謝活性を低下させるとしている^{16,17}).

本研究の雌で得られた結果は中島らの報告と一致しており、高炭水化物食群より高脂肪食群で薬物代謝活性が高かった。しかし、中島らは肝臓チトクローム p-450 含量に食餌の影響はなかったとしているが¹⁶、本研究では肝臓チトクローム p-450 含量が高炭水化物食群より高脂肪食群で高かった。このちがいは、実験食投与期間が中島らでは1日から3週間であったのに対して、本研究ではそれぞれの実験食を4週間投与したラットから得た仔ラットに、さらに約700日間、親と同一の食餌を与えており、実験期間の大きな差が関与していると思われる。したがって、本研究のように

高脂肪食を長期摂取したラットでは、薬物代謝活性抑制効果をもつ炭水化物の摂取量が少なかったこと、肝臓チトクローム p-450 含量増加作用をもつ脂肪^{13,17}の摂取量が多かったことの2つの理由によって、睡眠時間で観察されたような *in vivo* での総合的な薬物代謝活性が高炭水化物食群より高脂肪食群で高かったと考えられる。

一方、雄においては、高脂肪食群に比べて高炭水化物食群でペントバルビタール投与による睡眠時間が投与1, 2 および3日目で短く、血中ペントバルビタールの半減期が短く、また、ペントバルビタール投与による肝臓ミクロソームのたん白質含量、チトクローム p-450 含量の増加、および肝臓ミクロソーム NADPH-チトクローム c 還元酵素活性の誘導が高いなどの高い薬物代謝活性が見られたが、これは雌の結果と異なり、さらに中島らの報告と一致しない。加藤らは、副腎摘除やサイロキシン投与などによって、雄ラットでは肝臓ミクロソームの NADPH 依存性の電子伝達系の活性およびチトクローム p-450 含量は刺激を受けずに、チトクローム P-450 の基質結合能が障害を受けて低下するのに対して、雌ではそれはおこらないと報告している^{6,9,10}。また、著者らは両実験食で同様に飼育したラットにおいて、肝臓の T_3 濃度および5'-脱ヨウ素酵素活性が高炭水化物食群より高脂肪食群で高いという事実を得ている²⁰。したがって、雄では高脂肪食によって甲状腺ホルモンの影響が増加したためにペントバルビタール投与による睡眠時間が高炭水化物食群より長かった可能性がうかがえる。

本研究において、肝臓薬物代謝活性は両食餌群とも雌より雄で高かったが、これには性ホルモンが関連していることが知られている^{4,5,8,13}。加藤らは、アンドロジェンは肝臓薬物代謝機能を高め、一方、エストロジェンはこのアンドロジェンの作用に拮抗的に働き、ペントバルビタール代謝などのアンドロジェン依存型薬物代謝活性を低下させると報告している⁸。また、雄ラットでは加齢によるアンドロジェン分泌の低下とエストロジェン分泌の増加がみられるが、雌ラットでは加齢による性ホルモン分泌の変化はみられず、したがって、雌では薬物代謝活性が低いまま維持されるとの報告がある^{14,18}。本研究では高炭水化物食と高脂肪食の長期食歴をもったラットの老齢期において肝臓薬物代謝活性を調べたが、両食餌群間の性ホル

モン分泌に差があるかどうかは調べていない。

要 約

高炭水化物食または高脂肪食の食歴が肝臓薬物代謝機能に及ぼす影響について検討した。

1. 雌では、ペントバルビタール投与1, 2および4日目の睡眠時間, および投与1日目の血中ペントバルビタールの半減期は高炭水化物食群より高脂肪食群で短かった。また, 投与4日目の肝臓チトクローム p-450 含量および NADPH-チトクローム c 還元酵素活性は高炭水化物食群より高脂肪食群で高かった。
2. 雄では、ペントバルビタール投与1日目の睡眠時間および血中ペントバルビタール半減期は、雌とは逆に高脂肪食群より高炭水化物食群で短かったが、4日目ではその両食餌群間の差は消失した。

以上の結果から、高炭水化物食より高脂肪食の食歴をもつ雌の老齢ラットで肝臓の薬物代謝機能が高い可能性が示唆されたが、雄では両食餌群間の差は認められなかった。

参 考 文 献

- 1) 足立, 田崎, 下村, 鈴木; 世代を超えた高炭水化物食または高脂肪食の食歴が過酸化脂質代謝に及ぼす影響。第42回日本栄養・食糧学会要旨集, 167 (1988)。
- 2) Alvares, A.P., Anderson, E., Conney, A.H., and Kappas, A.; Interaction between nutritional factors and drug biotransformation in man. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73 (7), 2501-2504 (1976)。
- 3) Kamataki, T., Maeda, K., Yamazoe, Y., Nagai, T., and Kato, R.; Sex difference of cytochrome P-450 in the rat: Purification, characterization, and quantitation of constitutive forms of cytochrome P-450 from liver microsomes of male and female rats. Arch. Biochem. Biophys., 225 (2), 758-770 (1983)。
- 4) Kamataki, T., Maeda, K., Shimada, M., Kitani, K., Nagai, T., and Kato, R.; Age-related alteration in the activities of drugmetabolizing enzymes and contents of sex-specific forms of cytochrome P-450 in liver microsomes from male and female rats. J. Pharmacol. Exp. Therap., 233 (1), 222-228 (1985)。
- 5) Kato, R., and Gillette, J.R.; Effect of starvation on NADPH-dependent enzymes in liver microsomes of male and female rats. J. Pharmacol. Exp. Therap., 150 (2), 279-284 (1965)。
- 6) Kato, R., and Gillette, J.R.; Sex differences in the effects of abnormal physiological states on the metabolism of drugs by rat liver microsomes. J. Pharmacol. Exp. Therap., 150 (2), 285-291 (1965)。
- 7) Kato, R., and Takanaka, A.; Effect of phenobarbital on electron transport system, oxidation and reduction of drugs in liver microsomes of rats of different age. J. Biochem., 63 (3), 406-408 (1968)。
- 8) Kato, R., and Onoda, K.; Studies on the regulation of the activity of drug oxidation in rat liver microsomes by androgen and estrogen. Biochem. Pharmacol., 19, 1649-1660 (1970)。
- 9) Kato, R.; Advance in cytopharmacology I (Clementi, F., and Ceccarelli, E., eds.), P 250, Raven Press (1971)。
- 10) 加藤隆一; 薬の代謝と薬効。p216, 中外医学社 (1971)。
- 11) Kelner, M., and Bailey, D.N.; Reversed-phase liquid-chromato-graphic simultaneous analysis for thiopental and pentobarbital in serum. Clin. Chem., 29 (6), 1097-1100 (1983)。
- 12) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Radall, J.; Protein Measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275 (1951)。
- 13) Maeda, K., Kamataki, T., Nagai, T., and Kato, R.; Postnatal development of constitutive form of cytochrome P-450 in liver microsomes of male and female rats. Biochem. Pharmacol., 33 (3), 509-512 (1984)。
- 14) Marshall, W.J., and McLean, A.E.M.; A requirement for dietary lipids for induction of cytochrome P-450 by phenobarbitone in rat liver microsomal fraction. Biochem. J., 122, 569-573 (1971)。
- 15) Masters, B.S., Williams, C., and Kamin, H.; The preparation and properties of TPNH cytochrome C reductase from pig liver. Meth.
- 16) Nakajima, T., Koyama, Y., and Satoh, A.; Dietary modification of metabolism and toxicity of chemical substance—with special reference to carbohydrate. Biochem. Pharmacol., 31 (6), 1005-1011 (1982)。
- 17) Nakajima, T., and Satoh, A.; Effects of carbohydrate intake of phenobarbital-, polychlor-

- inated biphenyl- and 3-methylcholanthrene-enhancement of drug oxidation in rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, 33 (15), 2517-2519 (1984).
- 18) Norred, W.P., and Wade, A.E.; Dietary fatty acid-induced alterations of hepatic microsomal drug metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 21, 2887-2897 (1972).
- 19) Omura, T., and Satoh, R.; The CO binding pigment of liver microsomes.: (I) Evidence for its nonprotein nature. *J. Biol. Chem.* 239, 2370-2378 (1986).
- 20) 柳田, 田神, 林, 下村, 鈴木; 母ラットの高脂肪食摂取が仔ラットの体脂肪蓄積および甲状腺機能に及ぼす影響。第9回日本肥満学会抄録集, 113 (1988)。