

四塩化炭素で誘発された急性肝障害に及ぼす 栄養素の防御作用

棚橋 伸行，長太 のどか，長村 洋一

鈴鹿医療科学大学保健衛生学部

原著論文

四塩化炭素で誘発された急性肝障害に及ぼす栄養素の防御作用

棚橋 伸行, 長太 のどか, 長村 洋一

鈴鹿医療科学大学保健衛生学部

キーワード： 四塩化炭素, アスパラギン酸トランスアミナーゼ, アラニントランスアミナーゼ, 中性脂肪,
チオバルビツール酸反応性物質, 非タンパク質性チオール

要 旨

今までに、絶食状態のマウスは、給餌状態のマウスに比べ四塩化炭素投与により強い肝障害を発症することが報告されている。我々は、四塩化炭素による急性肝障害モデルマウスを用いて肝障害レベルに対して絶食と給餌による栄養素供給の影響について、肝障害の指標である血清 AST 活性及び ALT 活性、過酸化状態の指標である肝組織中 TBARS 濃度、抗酸化状態の指標である肝組織中 NP-SH 濃度、脂質代謝状態の指標である肝組織中 TG 濃度を測定した。その結果、急性肝障害の発症は糖質給餌群（デンプン）及び蛋白質給餌群（卵白アルブミン）において抑制されることが判明した。さらにデンプンより消化・吸収されやすい単糖（グルコース）や二糖類（マルトース、スクロース）を給餌した群においても、急性肝障害の発症が抑制された。従って、四塩化炭素による急性肝障害に抵抗性を示す要因として次の2つが関与することを明らかにした。1) 肝障害の発症を抑制するために、体内へ素早くエネルギー源として吸収される単糖類及び二糖類が非常に重要である、2) SH 基を有するアミノ酸の供給は、四塩化炭素により誘発された肝障害に対して重要な防御因子として作用する。

I 緒 言

生体は、生活環境や栄養バランスの乱れ等による酸化ストレスに常に曝されている。細胞内外で生じる種々の酸化ストレスは活性酸素を発生し、糖質、蛋白質、脂質などを酸化し、変性させる。さらに、活性酸素は細胞の生体膜や種々の臓器を傷害することが知られ、結果的に動脈硬化、心筋梗塞、糖尿病といった生活習慣病をはじめ、癌及び老化促進を誘引する。一方、生体は酸化ストレスに対して様々な酵素や抗酸化物質による生体防御システムを整えており、正常な生体機能を維持している。この恒常性の維持に日常生活における食事由来の栄養素が重要な役割を果たしている。

肝臓は、薬物代謝酵素による解毒作用をはじめとした様々な代謝の中心的臓器である。四塩化炭素(CCl_4)を用いた実験的急性肝障害モデルマウスでは、この薬物代謝系を介して発生するフリーラジカルにより肝障害が誘発される^{1,2,3)}。この誘導されるメカニズムを要約すると CCl_4 は薬物代謝酵素(CYP2E1)により代謝的活性化を受けて反応性フリーラジカル・ CCl_3 (トリクロルメチルラジカル)に変わり、脂質過酸化を誘発し、細胞内成分と共有結合し肝障害を誘発する。Gomez ら⁴⁾や Krishnan ら⁵⁾は、 CCl_4 による急性肝障害の重症度がその動物の栄養状態と密接に関与していること、栄養状態の悪化により様々な疾患に対する抵抗力が低下することを報告している。しかし、栄養状態が CCl_4 による障害レベルに影響するメカニズム、すなわち、どの栄養素が急性肝障害レベルに対してどのように影響するかについては詳細に解明されていない。

我々は、ラジカル性急性肝障害発症の栄養素による防御効果について、血清トランスアミナーゼであるアスパラギン酸トランスアミナーゼ(Aspartate transaminase; AST)活性とアラニントランスアミナーゼ(Alanine transaminase; ALT)活性、肝臓のチオバルビツール酸反応性物質(Thiobarbituric acid-reactive substances; TBARS)濃度、肝臓の非タンパク質性SH(Non-protein-SH; NP-SH)濃度及び肝臓

の中性脂肪(Triglyceride; TG)濃度を指標として解析した。本研究結果から、三大栄養素等を単独に給餌させた場合、急性肝障害の発症に対して異なった影響が認められたので報告する。

II 方法と材料

1. 試薬

麻酔薬用ペントバルビタールナトリウム(製品名: ネンブタールR注射液)は大日本住友製薬株式会社製、デンプン、卵白アルブミン、グルコース、マルトース、及びスクロース、 CCl_4 、オリーブ油及び生化学的分析の各試薬は和光純薬工業株式会社製の特級グレードを使用した。また、ラードは雪印の製品を使用した。

2. 飼育条件と実験動物の群別

本研究には、体重約30gのICR系雄性マウス(日本クレア株式会社)を用いた。飼育環境(室温 $22 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度60%、午前7時から12時間の明暗サイクル)に5週齢から1週間予備飼育した。予備飼育期間は通常の固形飼料(CE-2:日本クレア株式会社)と水を自由摂取させた。

1) 絶食条件で CCl_4 濃度と急性肝障害発症の関係を検討した。実験では、図1に概略を示す方法によって行った。1群5匹からなる12群に分け、6群は絶食、他の6群は給餌(CE-2)群として自由摂取させ、24時間飼育した。その後、オリーブ油に溶解した CCl_4 を0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10mmol/kg 体重(Body weight of mouse; BW)の濃度で腹腔内に投与し、 CCl_4 投与前と同条件下で飼育した。2) 栄養素が急性肝障害に及ぼす影響を検討する実験は、1群10匹からなる16群に分け、絶食群は水のみ、給餌群にはCE-2、糖質給餌群には馬鈴薯由来のデンプン、蛋白質給餌群には卵白アルブミン、脂質給餌群にはラード、グルコース給餌群にはグルコース、マルトース給餌群にはマルトー

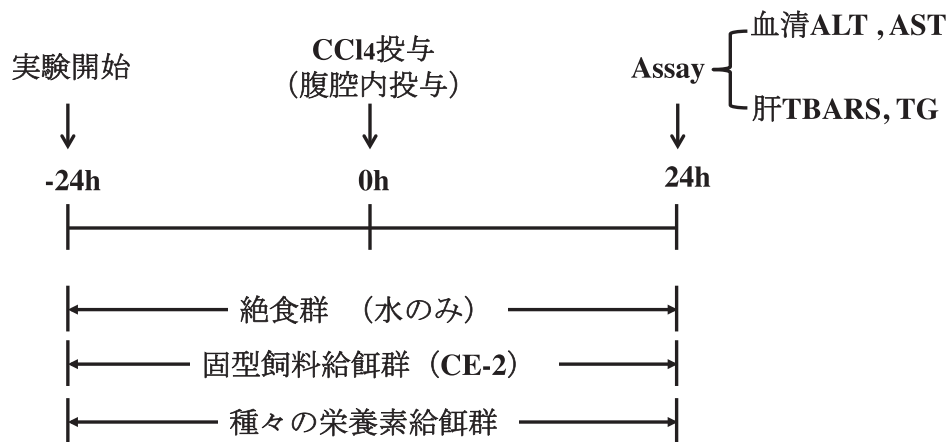


図1 実験の流れ

ス、スクロース給餌群にはスクロースを各々1匹あたり5g, 24時間摂取させた。その後、8群にはオリーブ油に溶解したCCl₄を1mmol/kg BWの濃度で、残りの8群には、オリーブ油を腹腔内に投与し、CCl₄投与前と同条件下で飼育した(図1)。動物は、CCl₄投与24時間後に10%ネブター麻酔下に開腹し、血液と肝臓を採取した。全ての実験は鈴鹿医療科学大学動物実験倫理委員会の承認の下に実施した。

3. 生化学的測定

採取した血液は、4℃で7,000xg, 20分間遠心分離し、得られた血清を実験に用いた。肝障害の指標となるアスパラギン酸トランスアミナーゼ(AST)活性とアラントランスアミナーゼ(ALT)活性をグルタミン酸脱水素酵素(GLDH)との共役による2-(4-インドフェニル)-5-(4-ニトロフェニル)-3-フェニルテトラゾリウムクロライド(INT)比色法(520nm)により測定した⁶⁾。摘出した肝臓は、9倍量の冷却したホモジネート緩衝液を加え、ホモジナイザー(ホモジナイザー用攪拌機:アズワン)を使用して30秒間ホモジナイズし、その後4℃で7,000xg, 10分間遠心し、その上清を10%ホモジネートとした。ホモジネート緩衝液の組成は、50mM Tris-HCl (pH7.5), 140mM KCl, 1mM EDTAとした。このホモジネート溶液を用いて、肝組織中過酸化障害を示す過酸化脂質

(TBARS)の濃度をチオバルビツール酸法⁷⁾で測定し、その濃度をマロンジアルデヒド(MDA)量として表した。MDAは脂質過酸化分解生成物の中で最も生成量が多い過酸化アルデヒドで、チオバルビツール酸(TBA)と感度が高い反応を有している。このMDAの前駆体がチオバルビツール酸反応陽性物質(TBARS)である。また、肝組織中の抗酸化状態の指標となる抗酸化物質(NP-SH)の濃度を5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)⁸⁾法で測定し、その濃度を還元型グルタチオン量として表した。肝組織中脂質代謝状態の指標となる中性脂肪の濃度は、「トリグリセリド-E-TESTキット(WAKO)」を用いて測定した⁹⁾。

4. 統計処理

得られたデータは、平均値±標準偏差で表し、有意差検定は一元配置分散分析及び多重比較検定法を用いて行った。統計的有意差は危険率5%以下とした。

III 結 果

1. 絶食状態で急性肝障害を誘発させるCCl₄投与量の決定

ラジカルによる急性肝障害を誘発するマウスを作製

するための CCl_4 投与量として一般に 2-5mmol/kg BW 程度の濃度が用いられる¹⁰⁾。実験動物を用いた肝障害の発症に及ぼす栄養素の効果を検討するには、障害を誘発するための CCl_4 濃度は再現性を持って一定レベルの急性肝障害を生じる濃度でなければならない。そこでマウスを絶食飼育した場合にラジカル性の急性肝障害が誘発される CCl_4 投与濃度について検討した。24 時間絶食マウスと給餌マウスに異なる濃度の CCl_4 を腹腔内に投与し、24 時間後に血清 AST 活性と ALT 活性を測定した。血清 ALT 活性は、絶食群において CCl_4 投与量 0.1mmol/kg BW から上昇傾向が見られ、0.5mmol/kg BW で給餌 (CE-2) 群と有意な差が認められ 1mmol/kg BW でほぼ最大となった。一方、マウスの飼育に繁用される市販固形飼料を給餌した給餌 (CE-2) 群の血清 ALT 活性は、 CCl_4 投与量 0.1mmol/

kg BW では変化がなく、 CCl_4 投与量 1mmol/kg BW から有意に上昇し、10mmol/kg BW で最大となった (図 2A)。血清 AST 活性は、図に示さないが血清 ALT 活性と同様の变化を示した。すなわち、マウスを 24 時間絶食状態にすることで従来の CCl_4 投与量より低い 0.5mmol/kg BW 以上で急性肝障害誘発マウスを作製できることが判明した。

次に、肝臓の脂質代謝に及ぼす CCl_4 投与の影響について検討するため、肝組織中 TG 量を測定した。絶食群では、肝組織中 TG 量が CCl_4 投与量 0.1mmol/kg BW から上昇し、0.5mmol/kg BW で給餌 (CE-2) 群と有意な差が認められ 1-5mmol/kg BW でほぼ最大となった (図 2B)。給餌 (CE-2) 群では、肝組織中 TG 量が CCl_4 投与量 1mmol/kg BW で上昇し、5-10mmol/kg BW で最大になった。これらの結果は、絶食群で

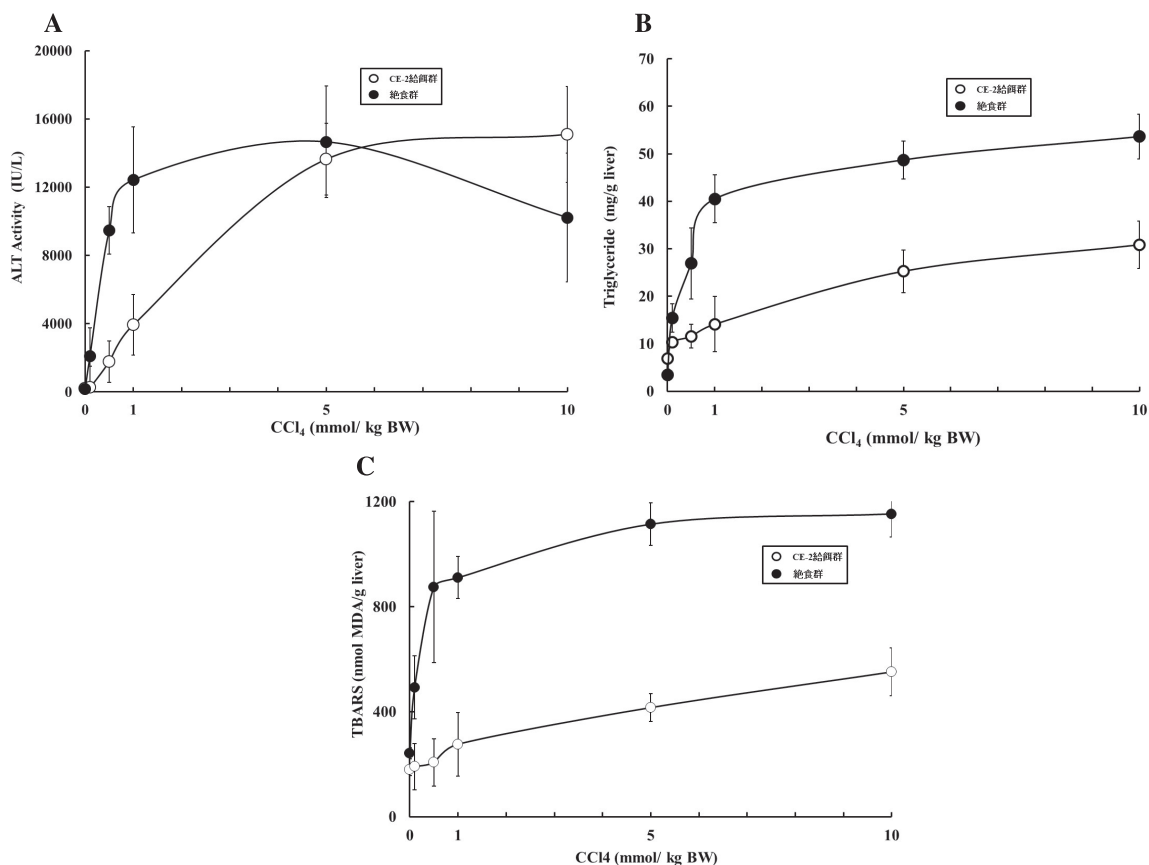


図 2 様々な四塩化炭素濃度により発症したマウスの急性肝障害における血清 ALT 活性 (A), 肝組織中の TG 濃度 (B) 及び TBARS 濃度 (C)

各々の四塩化炭素 (0, 0.1, 0.5, 1, 5 or 10mmol/kg BW) を絶食群と給餌 (CE-2) 群のマウスの腹腔内へ投与し、投与前と同条件下で飼育し 24 時間後の血清 ALT 活性、肝組織中 TG 量及び TBARS 量を測定した。値は平均値±標準偏差で示す (n = 10)。

は、 CCl_4 投与量 0.5mmol/kg BW 以上で脂質代謝異常が発症することを示している。さらに、 CCl_4 投与により発生する活性酸素は脂質の酸化を促進するため、肝組織中 TBARS 量を測定した。絶食群で肝組織中 TBARS 量が CCl_4 投与量 0.1mmol/kg BW から上昇し、 0.5mmol/kg BW で給餌 (CE-2) 群と有意な差が認められ、 $1-5\text{mmol/kg BW}$ でほぼ最大となった (図 2C)。一方、給餌 (CE-2) 群で肝組織中 TBARS 量は、 CCl_4 投与量 1mmol/kg BW でやっと上昇し始める状態で、絶食群と明らかな差が認められた。従って、絶食群では、給餌 (CE-2) 群と比較して低濃度の CCl_4 投与量 0.5mmol/kg BW 以上で急性肝障害が誘発されることにより、脂質の代謝異常や過酸化状態が進行していることが明らかとなった。

2. 急性肝障害誘発マウスに対する三大栄養素と各糖質の効果

絶食マウスは図 2A に示すように CCl_4 投与量 1mmol/kg BW 投与により急性肝障害を発症し、その投与量では給餌マウスとの急性肝障害の程度の差が大きいことが明らかである。そこで、この栄養素の供給の有無の差が大きく認められた CCl_4 濃度で、三大栄養素が、急性肝障害の発症に及ぼす影響について血清 AST, 活性及び ALT 活性, 肝組織中 TG 量及び TBARS 量を測定した (図 3A-D)。糖質給餌群と蛋白質給餌群における血清 AST 活性及び ALT 活性の上昇は、絶食群と比較して有意に抑制されたが、脂質給餌群での抑制効果はほとんど認められなかった。さらに、給餌

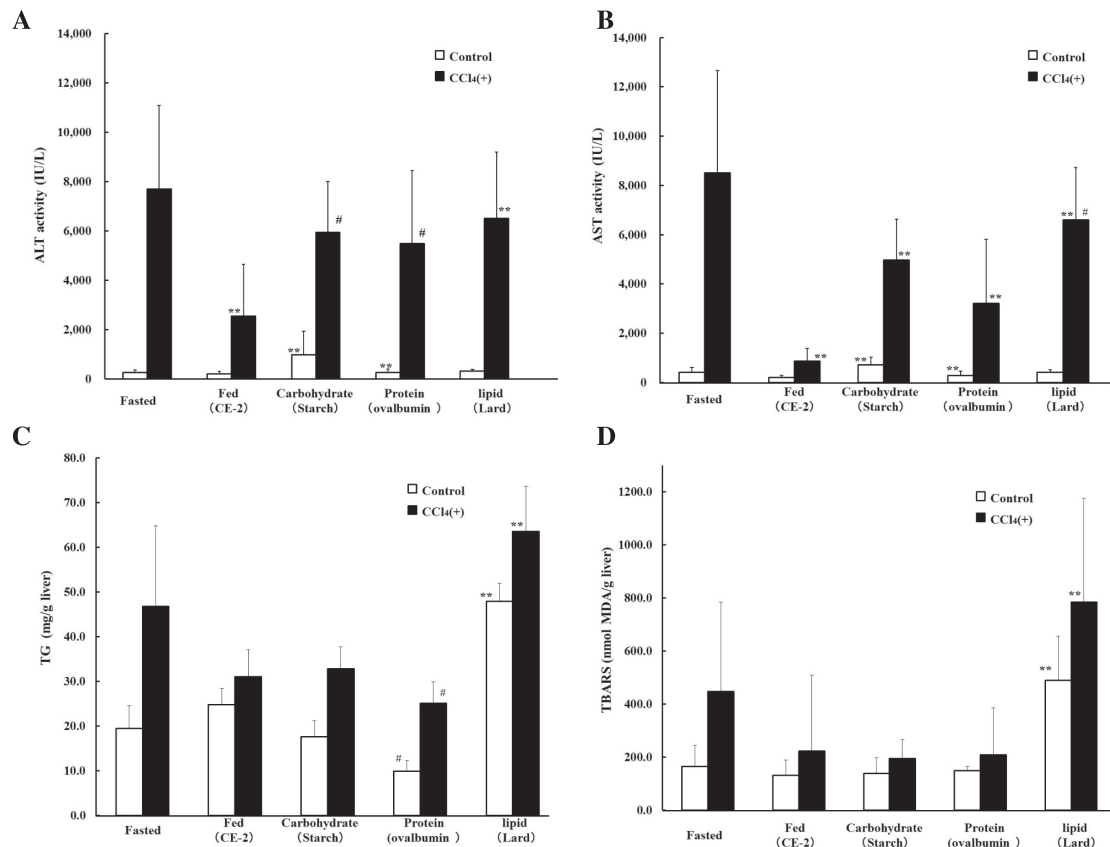


図3 四塩化炭素により発症したマウス急性肝障害における血清 AST 及び ALT 活性 (A, B), 肝組織中の TG 濃度 (C) 及び TBARS 濃度 (D) に対する三大栄養素の影響

絶食群, 給餌 (CE-2) 群, 糖質 (デンプン) 給餌群, 蛋白質 (卵白アルブミン) 給餌群, 脂質 (ラード) 給餌群を 24 時間給餌させ, その後四塩化炭素 (1mmol/kg BW) を投与し, 投与前と同条件下で飼育し 24 時間後, 血清 AST 及び ALT 活性, 肝組織中 TG 量及び TBARS 量を測定した。値は平均値±標準偏差で示す ($n = 10$)。有意差検定は一元配置分散分析及び多重比較検定法を用いて行った。有意差: **: $p < 0.01$ (vs 絶食群, 給餌群, 糖質給餌群, 蛋白質給餌群), #: $p < 0.05$ (vs. 給餌群, 糖質給餌群, 蛋白質給餌群)

(CE-2) 群における血清 AST 活性及び ALT 活性の抑制効果に対して、蛋白質給餌群における血清 AST 活性及び ALT 活性の抑制効果はわずかに強く、次に糖質給餌群で認められたが、脂質給餌群には認められなかった。また、給餌 (CE-2) 群、糖質給餌群と蛋白質給餌群における肝組織中 TG 量及び TBARS 量の上昇は、絶食群より抑制される傾向を示した。給餌 (CE-2) 群における肝組織中 TG 量及び TBARS 量の抑制効果に対して、糖質給餌群と蛋白質給餌群における肝組織中 TG 量及び TBARS 量の抑制効果は同程度を示したが、脂質給餌群の抑制効果はほとんど認められなかった。従って、急性肝障害発症に対する三大栄養素の影響については、糖質給餌群と蛋白質給餌群で、急性肝障害発症を抑制する傾向が示されたが、二群間に大きな差は認められなかった。さらに、四塩化炭素により酸化ストレスを受けた組織の抗酸化状態が栄養素によりどのように変動するかを肝組織中 NP-SH 量を測定して解析した (表 1)。給餌 (CE-2) 群、糖質給餌群及び蛋白質給餌群は絶食群より有意に上昇することを示した。このことから、これらの給餌群では酸化ストレスを受けた生体に対して防御するように働いていることが示唆された。また、今回の実験におい

て糖質給餌群、蛋白質給餌群及び脂質給餌群における摂取カロリー量はわずかであるか異なっている。

次に、急性肝障害誘発マウスを用い、消化・吸収されやすい二糖類であるスクロースやマルトース、単糖類であるグルコースに対する血清 AST 活性及び ALT 活性、肝組織中 TG 量及び TBARS 量を指標に、絶食群と給餌 (CE-2) 群で比較検討した (図 4A-D)。グルコース給餌群、スクロース給餌群、マルトース給餌群における血清 AST 活性及び ALT 活性の上昇は、絶食群と比較して有意に抑制された。さらに、グルコース給餌群、スクロース給餌群、マルトース給餌群による血清 AST 活性及び ALT 活性の抑制効果は、給餌 (CE-2) 群より強い効果を示した。また、グルコース給餌群、スクロース給餌群、マルトース給餌群における肝組織中 TG 量及び TBARS 量の上昇は絶食群と比べ、抑制傾向を示した。さらに、グルコース給餌群、スクロース給餌群、マルトース給餌群における肝組織中 TG 量及び TBARS 量の抑制効果は、給餌 (CE-2) 群と同レベルの効果が認められた。また、酸化ストレスを受けた生体の抗酸化状態の指標である肝組織中 NP-SH 量を測定した (表 2)。給餌 (CE-2) 群の肝組織中 NP-SH 量は絶食群よりも有意な上昇を示した

表 1 四塩化炭素濃度により発症したマウス急性肝障害における抗酸化状態に対する三大栄養素の影響

		fasted	fed (CE-2)	Carbohydrate (starch)	protein (ovalbumin)	lipid (lard)
NP-SH ($\mu\text{mol/g liver}$)	Control	3.0 $\pm$ 1.5	6.7 $\pm$ 1.8 ^a	2.3 $\pm$ 1.4 ^a	4.5 $\pm$ 1.2 ^b	3.9 $\pm$ 0.8 ^a
	CCl ₄ (+)	2.0 $\pm$ 1.2	7.8 $\pm$ 3.0 ^a	5.1 $\pm$ 2.1 ^{b,c}	5.8 $\pm$ 1.5 ^a	1.9 $\pm$ 0.7 ^{a,b}

絶食群、給餌 (CE-2) 群、糖質 (デンプン) 給餌群、蛋白質 (卵白アルブミン) 給餌群、脂質 (ラード) 給餌群を 24 時間給餌させ、その後四塩化炭素 (1mmol/kg BW) を投与し、投与前と同条件下で飼育し 24 時間後、肝組織中 NP-SH 量を測定した。値は平均値 $\pm$ 標準偏差で示す (n = 10) 有意差検定は一元配置分散分析及び多重比較検定法を用いて行った。有意差 : a: < 0.01 (vs 絶食群, 給餌群, 糖質給餌群, 蛋白質給餌群), b: p < 0.05 (vs. 給餌群, 糖質給餌群, 蛋白質給餌群), c: p < 0.05 (vs 絶食群)。

表 2 四塩化炭素濃度により発症したマウス急性肝障害における抗酸化状態に対する糖質類の影響

		fasted	fed(CE-2)	sucrose	maltose	glucose
NP-SH ($\mu\text{mol/g liver}$)	Control	4.3 $\pm$ 0.9	7.0 $\pm$ 0.9 ^a	3.7 $\pm$ 1.4 ^b	3.4 $\pm$ 1.4 ^b	3.0 $\pm$ 0.9 ^b
	CCl ₄ (+)	3.3 $\pm$ 1.6	8.1 $\pm$ 1.1 ^a	3.3 $\pm$ 1.5 ^b	3.2 $\pm$ 0.7 ^b	3.9 $\pm$ 1.1 ^b

絶食群、給餌群 (CE-2)、グルコース給餌群、マルトース給餌群、スクロース給餌群を 24 時間給餌させ、その後四塩化炭素 (1mmol/kg BW) を投与し、投与前と同条件下で飼育し 24 時間後、肝組織中 NP-SH 量を測定した。値は平均値 $\pm$ 標準偏差で示す (n = 10) 有意差検定は一元配置分散分析及び多重比較検定法を用いて行った。有意差 : a: p < 0.01 (vs 絶食群), b < 0.01 (給餌群)。

が、スクロース給餌群、マルトース給餌群、グルコース給餌群においてはその上昇が認められなかった。

IV 考 察

これまでの研究報告では、給餌状態において、実験的な急性肝障害を発症させるための CCl_4 投与量は、2-5mmol/kg BW と高投与量で行われていた¹⁰⁾。しかし、24時間の絶食状態で急性肝障害を発症させるためには、給餌状態の 1/10 濃度以下で誘導することが報告されている^{11, 12)}。この CCl_4 濃度の違いは、絶食状態では肝臓の薬物代謝酵素の活性が促進されるために CCl_4 の投与によりその代謝が促進される。その結果、肝組織は低濃度の CCl_4 で過酸化状態となり損傷され、血清トランスアミナーゼ活性の上昇や脂質代謝

異常を発症し、急性肝障害を示したと考えられている^{13, 14)}。一方、給餌状態では、低濃度の CCl_4 投与では薬物代謝酵素の活性や含量が変化しないため肝臓はほとんど影響を受けない。しかし、高濃度の CCl_4 により薬物代謝酵素の活性や含量は増加し過酸化状態となり肝臓が損傷を受け、血清トランスアミナーゼ活性の上昇や脂質代謝異常が起これ、急性肝障害になると考えられている^{15, 16, 17)}。今回の研究では、24時間の絶食により、給餌状態の CCl_4 投与量¹⁰⁾ の約 1/10 量である 0.5-1mmol/kg BW で急性肝障害が誘発されることが示され、この結果も以前報告されている結果¹¹⁾と同様な傾向であることが認められた。従って、この条件で誘発した急性肝障害マウスを用いることは、酸化ストレスより発症する急性肝障害の防御機構に関与する栄養成分や予防因子を同定する手段として有用と

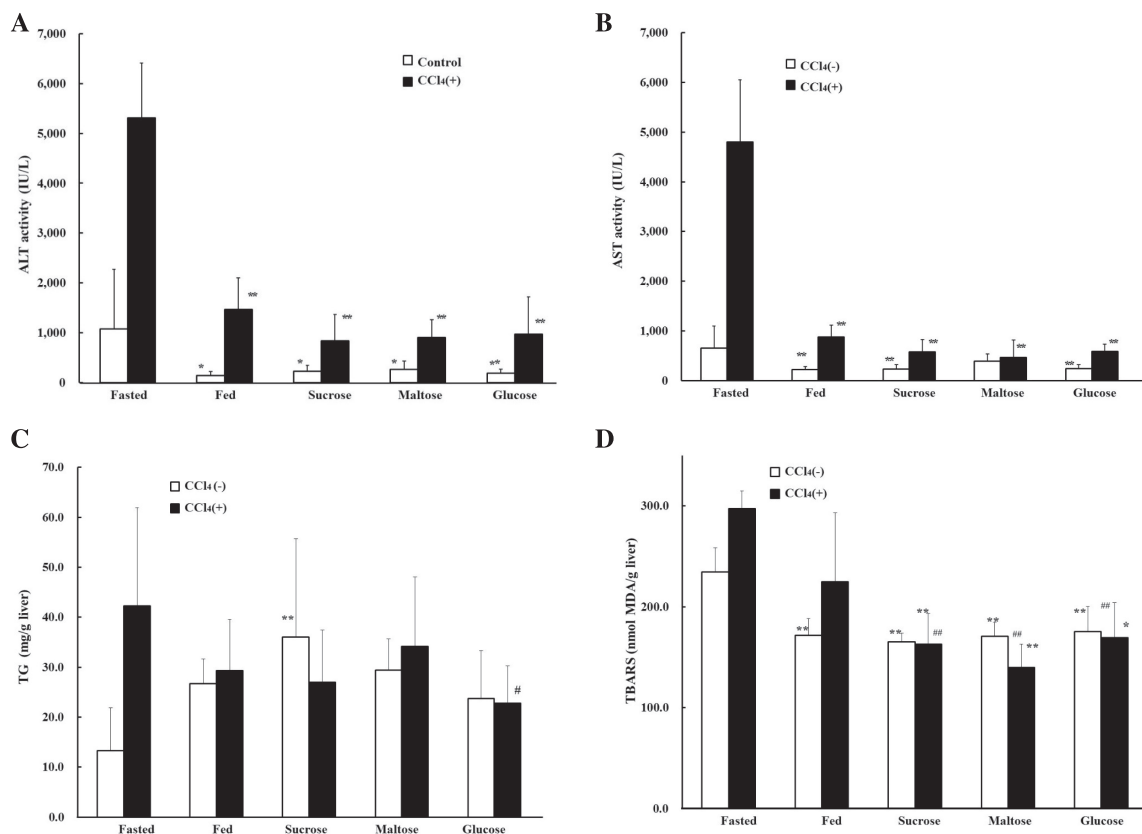


図4 四塩化炭素濃度により発症したマウス急性肝障害における血清 AST, 及び ALT 活性 (A, B), 肝組織中 TG 濃度 (C) 及び TBARS 濃度 (D) に対する糖質類の影響

絶食群, 給餌 (CE-2) 群, グルコース給餌群, マルトース給餌群, スクロース給餌群を 24 時間給餌させ, その後四塩化炭素濃度 (1mmol/kg BW) を投与し, 投与前と同条件下で飼育し 24 時間後, 血清 AST 及び ALT 活性, 肝組織中 TG 量及び TBARS 量を測定した。値は平均値±標準偏差で示す (n = 10)。有意差検定は一元配置分散分析及多重比較検定法を用いて行った。有意差: **: p < 0.01 (vs 絶食群), #: p < 0.05 (vs 絶食群), ###: p < 0.01 (vs. 給餌群), #: p < 0.05 (vs 給餌群)。

考えられる。

急性肝障害誘発マウスに対する三大栄養素、糖質類（グルコース、マルトース及びスクロース）による影響を解析した結果より、1) 急性肝障害誘発マウスでは、三大栄養素のうち糖質給餌群や蛋白質給餌群で血清AST活性及びALT活性、肝組織中TG量及びTBARS量が抑制された。また、糖質類給餌群では、血清AST活性及びALT活性、肝組織中TG量及びTBARS量の上昇が糖質を糖質給餌させた群より有意に抑制された。これらの結果より、糖質類給餌群は速やかなエネルギー供給により、CCl₄により誘発される生体への様々な障害に対して防御的に対応でき急性肝障害の発症が抑制され、より顕著な抑制効果が認められたと考えられる。2) 四塩化炭素により誘導された組織の抗酸化状態の指標である肝組織中NP-SH量において、給餌（CE-2）群、糖質給餌群及び蛋白質給餌群は、絶食群と比較して有意に増加したので、絶食群より過酸化状態が回復したことを示した。しかし、糖質類給餌群における肝組織中NP-SH量は、絶食群と同じであり、糖質類給餌群では過酸化状態が回復しなかったことを示した。従って、給餌（CE-2）群や蛋白質給餌群により過酸化状態にならないように機能した要因とし、SH基を有する含硫アミノ酸を含めたアミノ酸の供給とその機能により脂質の過酸化物の生成が抑制され、肝機能が正常に維持されたと推測される。また、糖質給餌群でのNP-SH濃度の増加は、エネルギー供給により含硫アミノ酸を含むアミノ酸の分解と生合成による濃度維持を可能にしたのではないかと考えられるが、糖質類給餌群の場合は、糖質給餌群とは相違の機構が作用したと推測される。以上のことから、糖質給餌群、蛋白質給餌群及び糖質類給餌群は、薬物代謝酵素の上昇を緩やかにし、肝臓の組織修復力を維持し、過酸化状態を回避する機構に作用することが考えられる。

一方、飼料の中に蛋白質、糖質及び脂質を単独もしくは異なる配合でラットを飼育し、肝臓の薬物代謝酵素の活性を測定した結果、蛋白質や脂質の摂取量とは関係なく、糖質摂取量を増加させると薬物代謝酵素

（CYP2E1）の活性が低下するという報告¹³⁾があるが今回の結果から糖質だけでなく蛋白質でも薬物代謝酵素の活性を低下させる可能性が考えられるので、今後各種のアミノ酸を配合させた餌を給餌させ解析する必要があると考えている。しかし、今回得られた結果ならびに今まで報告されている内容¹³⁾より、ラジカル急性肝障害誘発の防御に最も有効であった栄養素は単糖類や二糖類であり、酸化ストレスを受けた生体に対して、速やかにエネルギーを供給することが、急性肝障害の発症において最も効果的な処理であることが強く示唆された。また、急性肝障害誘発マウスを用いて市販固形飼料（CE-2）を摂取させた場合と、特定の栄養素として蛋白質と多糖類、二糖類及び単糖類をそれぞれ摂取させた場合とでは、肝機能障害に対する発症機構もしくは防御機構が異なることが考えられた。

文 献

- 1) Chopra P, Roy S, Ramalingaswami V, Nayak NC.: Mechanism of carbon tetrachloride hepatotoxicity. An in vivo study of its molecular basis in rats and monkeys. Lab Invest 26, 716-727, 1972.
- 2) Brattin WJ, Glende EA Jr, Recknagel RO.: Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. J Free Radic Biol Med. 1, 27-38, 1985.
- 3) Recknagel RO: Carbon tetrachloride hepatotoxicity.: Pharmacol Rev. 19, 145-208, 1967.
- 4) Gómez MI, de Castro CR, de Ferreyra EC et al.: Mechanistic studies on carbon tetrachloride hepatotoxicity in fasted and fed rats. Toxicol Appl Pharmacol. 32, 101-108, 1975.
- 5) Krishnan N and Stenger RJ.: Effects of starvation on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride. A light and electron microscopic study. Am J Pathol. 49, 239-255, 1966.
- 6) Lippi U and Guidi G.: A new colorimetric ultramicromethod for serum glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminase determination. Clin Chim

- Acta. 28, 431-447, 1970.
- 7) Mihara M and Uchiyama M.: Effects of antioxidants on the TBA reaction of various rat liver homogenates. *Biochem Med.* 30, 131-134, 1983.
 - 8) Tietze F.: Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem*, 27, 502-522, 1969.
 - 9) Spayd RW, Bruschi B, Burdick BA et al.: Multilayer film elements for clinical analysis: applications to representative chemical determinations. *Clin Chem*, 24, 1343-1350, 1978.
 - 10) Shimizu M, Morita S, Yamano T, et al. : Relationship between hepatic glutathione content and carbon tetrachloride — induced hepatotoxicity in vivo. *Toxicol Letters*. 47, 95-102, 1989.
 - 11) 入田和男, 岡部広直, 酒井浩徳, 他 : ラットにおける急性四塩化炭素肝障害と絶食の相互作用. 麻酔と蘇生. 28, 13-23, 1993.
 - 12) 石川浩章, 大橋鉦二, 荻津直通, 他 : 四塩化炭素誘発肝障害マウスに対する栄養状態による抑制作用. 生物試料分析, 28, 445-451, 2005.
 - 13) Nakajima T, Koyama Y, Sato A.: Dietary modification of metabolism and toxicity of chemical substances--with special reference to carbohydrate. *Biochem Pharmacol.* 31, 1005-1011, 1982.
 - 14) Siegers CP, Strubelt O, Dost-Kempf E.: Fasting accelerates the in vivo metabolism of carbon tetrachloride in rats. *Toxicol Lett.* 10, 423-426, 1982.
 - 15) Rao KS, Recknagel RO.: Early onset of lipoperoxidation in rat liver after carbon tetrachloride administration. *Exp Mol Pathol.* 9, 271-278, 1968.
 - 16) Smuckler EA, Arrhenius E, Hultin T.: Alterations in microsomal electron transport, oxidative N-demethylation and azo-dye cleavage in carbon tetrachloride and dimethylnitrosamine-induced liver injury. *Biochem J.* 103, 55-64, 1967.
 - 17) Klaassen CD, Plaa GL.: Comparison of the biochemical alterations elicited in livers from rats treated with carbon tetrachloride, chloroform, 1,1,2-trichloroethane and 1,1,1-trichloroethane. *Biochem Pharmacol.* 18:2019-2027, 1969.

The protective effects of certain nutrients against CCl₄-induced mouse acute liver injury

Nobuyuki TANAHASHI, Nodoka NAGO and Yoichi NAGAMURA

Faculty of health science, Suzuka University of Medical Science

Key Words: Carbon tetrachloride (CCl₄), aspartate transaminase (AST), Alanine transaminase (ALT), Triglyceride (TG), Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), Non-protein-thiol (SH) (NP-SH)

Summary

It has been reported that fasted state mouse developed more severe liver injury than fed state one after the administration of carbon tetrachloride. In order to elucidate the effects of nutrient condition (fasting and feeding) in carbon tetrachloride induced acute liver injury, we assayed serum AST activity and ALT activity, hepatic TBARS concentration, hepatic NP-SH concentration, and hepatic TG concentration as an indicator of liver injury, peroxidation state of liver, peroxidative condition, antioxidant condition and hepatic lipid metabolism state, respectively. As a result, the onset of acute liver damage was found to be inhibited in the carbohydrate group (starch) and protein group (ovalbumin). In addition monosaccharide (glucose) and disaccharide (maltose, sucrose) which are more easily digested and absorbed than a starch, also suppressed acute liver injury. Thus we found the following two important resistant factors which prevent the onset of acute liver damage by carbon tetrachloride; 1) supply of monosaccharide and disaccharide which is quickly absorbed and becomes an energy source into the body, 2) a supply of the amino acid with the SH group

略 歴

棚橋 伸行（医学博士） 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療栄養学科 准教授

学 歴：

平成 9 年 徳島大学大学院 医学研究科 生理系専攻（博士課程）修了

職 歴：

平成 20 年 鈴鹿医療科学大学 東洋医学研究所 助教

26 年 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療栄養学科 准教授

主な研究内容

- ・様々な栄養状態を感知するプロテアソームの分子シグナル機構の同定と解析
- ・ヒスタミン産生菌を活用した抗ヒスタミン物質の評価系の確立とそれを用いたアレルギー性食中毒を防御する食品成分の探索