

一酸化窒素供与剤, sodium nitroprusside (SNP) に対する ラットの脂質代謝の応答

加藤 範久, 五藤 剛志
(広島大学, 生物生産学部*)

Alterations in Lipid Metabolism in Rats Received the Nitric Oxide Donor, Sodium Nitroprusside (SNP)

Norihisa KATO and Tsuyoshi GOTO

Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

Recently, we have found that administration of the nitric oxide (NO) synthase inhibitor to rats caused hyperlipidemia and higher body fat, implying the fat accumulation by inhibiting NO synthesis in vivo. In this study, we investigated the alterations in lipid metabolism of rats received the NO donor, sodium nitroprusside (SNP). Rats were received SNP in drinking water at 0.03% for 5 weeks. The rats were fed the same amount of the high fat diet between the two groups. Growth was unaffected by SNP treatment. The weight of abdominal adipose tissue was reduced by SNP. Serum total cholesterol and free fatty acid were also reduced by SNP, while serum triglyceride was unaffected by SNP. The results suggest that higher NO is associated with lower body fat and serum cholesterol.

ライフスタイルの欧米化により生活習慣病の患者が急増し, その基盤となる肥満や高脂血症改善の対策が急がれている。体脂肪の減少や高コレステロール血症の軽減が生活習慣病の予防や改善につながる事が知られている。最近においては抗肥満薬やダイエット食品の開発が進んでいるが, まだ十分な効果が得られているとは言いがたいのが現状である。我々は, これまでに一酸化窒素 (NO) 合成阻害剤をラットに投与すると高脂血症や体脂肪蓄積が誘起されることを明らかにし¹⁾⁻³⁾, NOが脂肪代謝を調節する重要な因子であることを推定してきた。

本研究では, NO 供与剤の sodium nitroprusside (SNP) をラットに投与した場合の脂肪代謝の応答について解析を加えた。

* 所在地: 東広島市鏡山1-1-2 (〒739-8528)

実験方法

実験動物として、初体重50g前後のWistar系雄ラットを用いた。金網ケージに一匹ずつ入れ、12時間の明暗交替下（明期：8:00～20:00、暗期：20:00～8:00）の恒温（ $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ）の動物室にて飼育した。4日間、市販の固形飼料（MF; オリエンタル酵母）を与え、その後、毎日定刻（10:00～13:00）にその市販の固形飼料を自由に与え、11～12日間トレーニングを行った。その後、実験食に切り替え、同様に毎日定刻（10:00～13:00）に両群が食べ切ることのできる量の実験食を与え、5週間飼育した。即ち、1日目は10g、2～10日目は11g、11～19日目は12g、20～23日目は13g、23～34日目は14gの実験食を個々のラットに与えた。屠殺日は午後（13:00～15:00）に、ジエチルエーテル麻酔下で行い、採血は断頭により得た。ただし、最終日には餌を与えなかった。実験食はTable 1に示した。SNPは0.03%を脱イオン水に溶かし、飲み水として与え、対照群は脱イオン水を与えた。血清のパラメーターは和光純薬のキットを用いた。統計処理はt検定を用いて行った。

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	% (w/w)
Casein	20.0
L-Cystine	0.3
Beef tallow	20.0
Salt mixture ¹	3.5
Vitamin mixture ¹	1.0
Cellulose powder	5.0
Corn starch	30.2
Sucrose	20.0

1. AIN-93 (1993) J. Nutr. 123: 1939

結 果

Table 2に示すように、体重増加は両群間で差は見られなかったが、SNP群において肝臓重量と腎臓重量でそれぞれ18%と9%と有意に増大していた。一方、副睾丸脂肪組織では13%有意に減少し、腎付着脂肪組織重量では有意な差はなかったものの12%減少していた。これらの2つの白色脂肪組織をあわせた内臓脂肪量も18%有意に低下していた。

血清トリグリセリドは両群間で差は見られなかったが、総コレステロール濃度はSNP群で15%有意に低下していた（Table 3）。また遊離脂肪酸濃度もSNPにより27%有意に低下していた。一方、グルコース濃度はSNPにより11%有意に増加していた。リン脂質は両群間で差は見られなかった。

Table 2. Effects of sodium nitroprusside (SNP) on body weight and tissue weight in rats

	Control	0.03% SNP
Food intake(g)	409	409
Final body weight(g)	287 ± 4	283 ± 2
Tissue weight		
Liver(g)	8.14 ± 0.19	9.46 ± 0.13*
Kidney(g)	1.84 ± 0.04	1.97 ± 0.04*
Epididymal adipose tissue(g) (a)	4.55 ± 0.20	3.90 ± 0.16*
Perirenal adipose tissue(g) (b)	5.78 ± 0.26	5.02 ± 0.34*
(a) + (b)(g)	10.33 ± 0.38	8.93 ± 0.48*

Each value is the mean ± SE(n=14). *Significantly different from the control group (P < 0.05)

Table 3. Effects of sodium nitroprusside (SNP) on serum lipids and glucose

	Control	0.03% SNP
Triglyceride(mmol/L)	1.05 ± 0.08	1.23 ± 0.12
Total cholesterol(mmol/L)	2.10 ± 0.11	1.78 ± 0.09*
HDL-cholesterol(mmol/L)	0.698 ± 0.033	0.575 ± 0.026*
Phospholipids(mmol/L)	1.82 ± 0.08	1.76 ± 0.06
Free fatty acid(mmol/L)	0.641 ± 0.062	0.471 ± 0.046*
Glucose(mmol/L)	8.50 ± 0.22	9.44 ± 0.22*

Each value is the mean ± SE(n=14). *Significantly different from the control group (P < 0.05)

考 察

本研究において SNP 投与により内臓脂肪の減少が見い出され、血清コレステロールの低下も示された。このことは SNP が抗肥満薬ならびに抗高脂血症として有効であることを示している。しかし一方では、肝臓および腎臓の重量が SNP 投与により増大していた。この原因として考えられるのは、SNP の毒性である。SNP はシアン化合物であり、多量に摂取すると死亡することがある。一般に生体異物やエチルアルコールを摂取した時に肝臓が肥大することが知られている。そのため、肝臓に負担がかかり、肥大化したものと考えられる。

最近、Kurowska と Carrol も、ウサギへの SNP 添加食を与えて血中の LDL のコレステロールの低下を観察している⁴⁾。また、NO は LDL の酸化修飾を抑制することが知られている⁵⁾。従って、NO はコレステロール代謝を改善することが考えられる。

また血清グルコースは NO 合成阻害剤を投与した場合は逆に、SNP 投与で増加していた。NO は鉄含有酵素であるアコニターゼ活性を抑制することが知られており⁶⁾、糖の利用を抑制しているものと思われる。その糖代謝の抑制が間接的に脂肪代謝に影響していることも考えられる。血清遊離脂肪酸も NO 合成阻害剤を投与した場合¹⁾とは逆に SNP 投与群で減少していた。この結果は、脂肪組織のホルモン感受性

リパーゼにNOが影響を与えている可能性が考えられる。血中の遊離脂肪酸の増加は、インシュリン抵抗性などを引き起こすことから⁷⁾、NOによる血中の遊離脂肪酸の低下は、生活習慣病に関連する疾患の改善に役立つことが考えられる。

血清トリグリセリドについては、NO合成阻害剤の投与で高トリグリセリド血症が見られたので¹⁾、SNP投与条件下では、血清トリグリセリドの減少を予測したが、得られた結果は両群の間で差は見られなかった。この理由は不明であるが、血清トリグリセリドはNO産生が通常より低いレベルでのみ影響しているのかもしれない。

本研究は、NOが血中コレステロールや体脂肪を低下させる因子であるとする我々の仮説を支持する結果となった。さらに本研究は、抗脂血剤薬や抗肥満薬開発のための新たな方向性を提示している。

参 考 文 献

- 1) Khedara, A., Y. Kawai, J. Kayashita and N. Kato (1996) J. Nutr. 126 : 2563
- 2) Khedara, A., T. Goto, J. Kayashita and N. Kato (1998) Biosci. Biotechnol. Biochem. 62 : 773
- 3) Khedara, A., T. Goto M. Morishima, J. Kayashita and N. Kato (1999) Biosci. Biotechnol. Biochem. 63 : 698
- 4) Kurowska, E. M. and K.K. Carrol (1998) Biochim. Biophys. Acta 1392 : 41
- 5) Hogg, N., A. Struck, S.P. Goss, N. Santanam, J. Joseph, S. Parthasarathy and B. Kalyanaraman (1995) J. Lipid Res. 36 : 1756
- 6) Stadler, J., R.D. Curran, J.B. Ochoa, B.G. Harbrecht, R.A. Hoffman, R.L. Simmons and T.R. Billiar (1991) Arch. Surg. 126 : 186
- 7) Steinberg, H. O, H. Chaker, R. Leaming, A. Johnson, G. Brechtel and A.D. Baron (1996) J. Clin. Invest. 97 : 2601