

## ビタミンA欠乏の造血機能に及ぼす影響

赤澤典子\*

(1997年6月26日受理)

### 1 緒言

発展途上国<sup>1)</sup>やまたアメリカ<sup>2)</sup>でもビタミンA (VA) の不足は重要な栄養学的課題であることが報告されている。Bloemら<sup>3)</sup>はVAを給与すると鉄欠乏症状が軽くなることを報告している。また、Hodgesら<sup>4)</sup>、Mejiaら<sup>5)</sup>やBloemら<sup>6)</sup>は人による調査や動物実験により血漿中ビタミンAとヘモグロビン濃度が相関することを指摘し、さらに著しいVAの欠乏は造血機能に重要な影響をあたえることを報告している。Mejiaら<sup>7)</sup>やStaabら<sup>8)</sup>はVA欠乏動物では肝臓や脾臓に鉄が蓄積し、組織から鉄の移動が制約されるか、また骨髄における造血が制約されるのではないかと述べている。一方、VA欠乏の状態によっては必ずしもヘモグロビンや赤血球増加はみられない<sup>9)</sup>という報告がある。多くの報告では貧血とVA欠乏は関連することが指摘されているが、その作用機序はいまだ明らかでない。そこで本研究では、ラットを用いVA欠乏動物を作成し、ヘモグロビン量や血清、肝臓や大腿骨中の鉄の測定を行い、造血機能に及ぼすVA欠乏の影響について検討した。

### 2 実験方法

#### 1) 実験動物および飼料配合

実験動物としては離乳直後のウィスター系の雄ラットを用い、各群6匹の3群に分け、1群はVAと鉄を含む飼料を自由に摂取させた自由摂取 (AL) の対照群 (+VA, +Fe)、2群はPair fed (PF) 対照群 (+VA, +Fe)、3群はVA欠乏群 (-VA, +Fe)とした。実験動物は温度22°C、湿度60%の恒温恒湿室で、ステンレスケージを用いて7週間飼育した。対照群の飼料配合はTable 1に示す通りである。蛋白質はカゼイン20%とし、ミネラルはハーパー塩を5%用いた。ビタミン混合はハーパー配合のビタミン混合を用い、VAはVAパルミテートを用い1000IU/100g飼料を投与した。VA欠乏群は、対照飼料からVAを除いた。飲料水は蒸留水を与えた。

#### 2) 測定方法

##### (1) 血清と肝臓中のレチノール量の測定

ラットは開腹し、後大静脈から採血した。血清は分離し測定までフリーザーで凍結保存した。血清はエタノールとn-ヘキサンを加えレチノールを抽出し、窒素ガスを通じながら溶媒を

\* 岩手大学教育学部

Table 1 Composition of control diet (g/100g)

Ingredients	Composition %
Sucrose	67.9
Casein	20.0
Oil	5.0
Mineral mixture <sup>1)</sup>	5.0
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0
Cellulose	1.0
Choline chloride	0.1
Vitamin A	1000 IU
Vitamin D	100 IU
Vitamin E	10mg

- 1) Mineral mixture was consisted of Haper salt mixture  
 2) Vitamin mixture was consisted of Haper vitamin mixture  
 Vitamin A deficient diet was excepted for vitamin A from Haper vitamin mixture

除去したものにイソプロパノールを加えて溶かし試料溶液とした。測定は高速液体クロマトグラフで行った<sup>10)</sup>。カラム：NUCLEOSIL 5C18 (4.0×250mm)，移動層：エタノール：水 (95:5)，流速：0.5ml/分，検出：蛍光 (Ex 340nm, Em 460nm)，肝臓は蒸留水を加えホモジナイズした後，エタノールと n-ヘキサンを加えレチノールを抽出した。その後は血清と同様に測定した。

#### (2) ヘモグロン量，ヘマトクリット値，血球数の測定

血中のヘモグロン量，ヘマトクリット値，赤血球数及び白血球数は血球自動計数器で測定した。

#### (3) 血清，肝臓および大腿骨中の鉄量の測定

血清鉄はニトロソ-PSAP法で測定した。肝臓は約 200mg を時計皿に入れ乾燥させた後，重量を測定した。乾燥させた肝臓は，テフロン製の容器にいれ硝酸 1ml を加え，電子レンジを用いて分解した。放冷後分解液 1ml を採取し，蒸留水 4ml を加え試料調整液を作成した。大腿骨は乾燥重量を測定した後，電気炉で灰化し塩酸処理を行い試料溶液を作成した。鉄の測定は原子吸光 (日立，170-50 型) を用いた。

#### (4) 血清コレステロール，トリグリセリド量の測定

血清コレステロールやトリグリセリド量は酵素法により測定した。

#### (5) 統計処理

各区間の有意差の検定は t 検定を用い，危険率が 5% 以下 ( $p < 0.05$ ) を有意とした。

### 3 実験結果

#### 1) 発育と臓器重量

体重発育は Fig.1 に示す通りである。VA 欠乏群の発育は 3 週目頃から 1 群の対照群や 2 群の Pair fed 群に比べて遅延し，実験終了時では体重が 1 群の対照群や 2 群の Pair fed 群に比べて有意に減少した。肝臓，脾臓，大腿骨の組織重量は Table2 に示す通りである。肝臓，脾臓

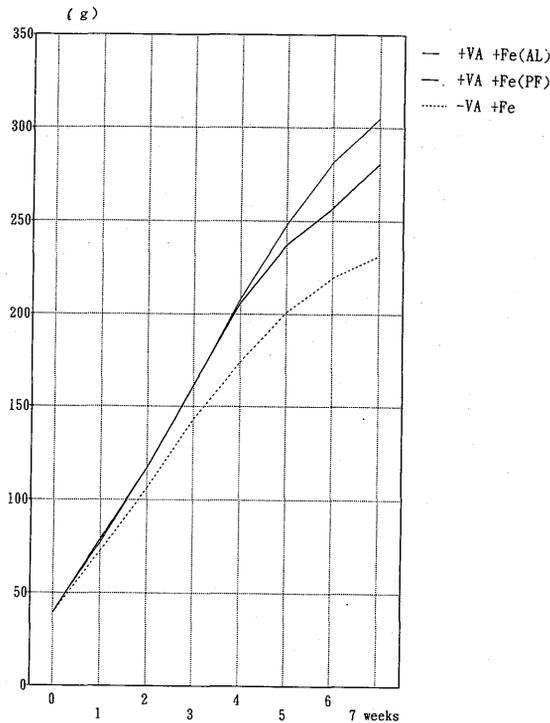


Fig. 1 Body growth curve

や大腿骨量は、第3群のVA欠乏群では1群の対照群や2群のPair fed群に比べて小さく有意に低い値を示した。

2) 血清および肝臓のレチノール量

血清および肝臓のレチノール量はTable 3に示す通りである。血清及び肝臓のレチノール量は、第3群のVA欠乏群では血清レチノール量が3.4/dlで対照群やPair fed群に比べて著しく低く、また肝臓レチノール量も対照群やPair fed群に比べては2.2/dlと著しく低く、VA欠乏状態を示した。

3) 血清および肝臓中のヘモグロビン量、ヘマトクリット値と血球数

血清および肝臓中のヘモグロビン量、ヘマトクリット値と血球数はTable 4に示す通りである。第3群のVA欠乏群ではヘモグロン量15.0g/dl、ヘマトクリット値46.1%dlで対照群やPair fed群に比較し差は認められなかった。赤血球数は $288.2 \times 10^4 / \text{mm}^3$ で、有意の差ではない

Table 2 Body and organ weights of rats fed vitamin A deficient diet

Group	Body Weight (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Femur (g)
1 +VA.+Fe (AL)	304.8±10.1	15.0±1.1 <sup>1)</sup>	0.66±0.03	0.83±0.56
2 +VA.+Fe (PF)	280.8± 6.5	10.6±0.9	0.53±0.04	0.78±0.24
3 -VA.+Fe	231.2±17.1**	8.8±0.7**	0.54±0.05**	0.74±0.38**

AL: ad libitum fed, PF: pair fed

1) M±SD \*\*P<0.01

が高い傾向が認められた。白血球数は、VA 欠乏群では減少することが認められた。

#### 4) 血清、肝臓および大腿骨の鉄含量

血清、肝臓および大腿骨の鉄含量は Table 5 に示す通りである。3群のVA 欠乏群の血清の鉄量は1群の対照群や2群のPair fed群とほぼ同様な値であった。肝臓の鉄量はVA 欠乏群では対照群やPair fed群に比べて多少高い値を示したが、有意の差は認められなかった。一方、大腿骨の鉄量はVA 欠乏群では125.6 $\mu\text{g}/\text{dry g}$ で対照群やPair fed群に比べて有意に高値を示し、VA 欠乏群で大腿骨(骨髓)に鉄が高濃度に存在する傾向が認められた。

#### 5) 血清中のコレステロールとトリグリセリド量

血清中のコレステロールとトリグリセリド量は Table 6 に示す通りである。血清コレステロールはいずれの群でも差は認められなかった。血清トリグリセリド量は2群のPair fed群では208mg/dlで、対照群に比べて有意に低い値を示し、また3群のVA 欠乏群では39.5mg/dlと対照群に比べ著しく低い値を示した。

Table 3 Retinol concentrations in serum and liver of rats fed vitamin A deficient diet

Group	Serum retinol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	Liver retinol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
1 +VA.+Fe (AL)	49.2 $\pm$ 3.4 <sup>1)</sup>	96.7 $\pm$ 18.4
2 +VA.+Fe (PF)	48.0 $\pm$ 15.2	107.3 $\pm$ 24.9
3 -VA.+Fe	3.4 $\pm$ 0.6***	2.2 $\pm$ 1.1***

AL: ad libitum fed, PF: pair fed

1) M $\pm$ SD \*\*\*P<0.001

Table 4 Hemoglobin, hematocrit and red blood cell counts of rats fed vitamin A deficient diet

Group	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Red blood cells ( $10^4/\text{mm}^3$ )
1 +VA.+Fe (AL)	14.7 $\pm$ 1.11 <sup>1)</sup>	45.4 $\pm$ 2.59	755.0 $\pm$ 40.7
2 +VA.+Fe (PF)	15.1 $\pm$ 0.61	44.4 $\pm$ 3.51	742.0 $\pm$ 53.5
3 -VA.+Fe	15.0 $\pm$ 1.30	46.1 $\pm$ 3.90	788.2 $\pm$ 63.2

AL: ad libitum fed, PF: pair fed

1) M $\pm$ SD

Table 5 Iron concentrations in serum, liver and femur of rats fed vitamin A deficient diet

Group	Serum ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	Liver ( $\mu\text{g}/\text{dry g}$ )	Femur ( $\mu\text{g}/\text{dry g}$ )
1 +VA.+Fe (AL)	238.0 $\pm$ 24.2 <sup>1)</sup>	287.2 $\pm$ 33.2	92.7 $\pm$ 11.7
2 +VA.+Fe (PF)	193.7 $\pm$ 29.2*	302.3 $\pm$ 75.7	95.3 $\pm$ 14.6
3 -VA.+Fe	219.0 $\pm$ 43.1	332.8 $\pm$ 64.4	125.6 $\pm$ 10.6**

AL: ad libitum fed, PF: pair fed

1) M $\pm$ SD \*P<0.05 \*\*P<0.01

Table 6 Serum cholesterol and triglyceride levels of rats fed vitamin A deficient diet

Group	T-cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
1 +VA.+Fe (AL)	88.0± 6.0 <sup>1)</sup>	406.0±181.7
2 +VA.+Fe (PF)	73.7±14.8	208.3±107.5*
3 -VA.+Fe	86.2± 9.3	39.5± 20.8**

AL: ad libitum fed, PF: pair fed

1) M±SD \*P<0.05 \*\*P<0.01

#### 4 考 察

VA の欠乏は造血機能に重要な影響をあたえることが報告されている。Mejia ら<sup>7)</sup>や Staab ら<sup>8)</sup>は VA 欠乏動物では肝臓や脾臓に鉄が蓄積し、組織から鉄の移動が制約されるのではないかと述べている。さらに骨髄での鉄の摂取が制限される可能性や骨髄における造血機能が制約される可能性について言及している。一方、VA 欠乏の状態によっては必ずしもヘモグロビンや赤血球増加はみられない<sup>9)</sup>という報告がある。このようにビタミン A は造血機能に影響を与えることが指摘されているが、その結果は必ずしも同じではない。そこで、本研究では、ラットを用いて VA 欠乏動物を作製し、赤血球数と血清中のヘモグロビン量、また血清、肝臓および骨髄 (大腿骨) の鉄量を測定し、造血機能に及ぼすビタミン A 欠乏の影響について検討した。

本実験においては VA 欠乏群の体重発育は遅延し、実験終了時の体重は有意に低い値を示し発育の差が認められた。VA 欠乏群の血清と肝臓のレチノール量は対照群に比べて著しく低く、VA 欠乏状態になっていることが認められた。

本実験では VA 欠乏群の血清ヘモグロビン量、ヘマトクリット値は対照群とほぼ同様の値を示したが、赤血球数は多くなる傾向が見られた。白血球は、VA 欠乏により減少した。Amine ら<sup>11)</sup>は VA が不足した場合はヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数は増加し多血球血症 (赤血球が異常に増加する状態) が生じ、鉄の不足では血色素減少が見られ、鉄と VA が共に不足すると正常赤血球で血色素減少が認められると述べている。一方、Staab ら<sup>8)</sup>は低ビタミン A 飼料 (0.4 IU/100g) 給与ラットのヘモグロビン量、ヘマトクリット値や赤血球数は、高ビタミン A 飼料 (4000 IU/100g) 給与のものと同様であると報告している。また、Sijtsma ら<sup>12)</sup>は VA を限界量に近い少量を投与した場合では、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値や赤血球数はむしろ減少するとことを観察し、VA 欠乏が急激に起こる場合にのみ、ヘモグロビン量や赤血球数などの増加傾向が生じるのではないかと述べている。Hodges ら<sup>4)</sup>は VA 欠乏により液状成分が著しく血管外に浸出された結果、血液成分が比較的増多する血液濃縮 (Hemoconcentration) などにより、貧血の状態が覆い隠されるのではないかと述べている。本実験では、VA 欠乏により赤血球数はむしろ増加傾向がみられ、Amine ら<sup>11)</sup>の VA が不足した場合は、赤血球数は増加し多血球血症を示す結果とむしろ同じ傾向が認められた。VA 欠乏により造血機能に影響を及ぼす事は本実験によっても認められたが、その出現状態は、鉄と VA の不足状態によって異なる事が伺えた。VA と鉄がともに欠乏した場合はヘモグロビンの減少などの症状

が生じ、鉄が十分あり VA のみ欠乏の場合は多血球血症が生じると考えられた。

組織の鉄含量は、VA 欠乏群では血清の鉄量は対照群とほぼ同様であった。また、肝臓の鉄量は VA 欠乏群では対照群に比べて多少増加する傾向が認められた。一方、大腿骨の鉄量は有意に増加し、VA 欠乏動物で骨髄に鉄が高濃度に存在する傾向が認められた。

Hodges ら<sup>4)</sup>は、VA 欠乏の動物ではヘモグロビン量やヘマトクリット値が対照群より低くなること、また肝臓の鉄量は増加するが有意の差は認められないと述べている。Amine<sup>11)</sup>らはラットに VA 欠乏症を生じさせた場合、過剰の鉄が脾臓に蓄積することを観察し、VA 欠乏症により鉄代謝の異常がおきることを指摘している<sup>9)</sup>。さらに、Mejia ら<sup>7)</sup>は鉄の取り込みについて実験し、VA 欠乏動物では鉄が肝臓や脾臓に多く蓄積され、骨髄では鉄の取り込みは低い傾向があることを観察し、骨髄への鉄の移動が制約されるのか、または骨髄で適切に利用されないため肝臓に蓄積されるのではないかと述べている。本実験では VA 欠乏群では肝臓の鉄の蓄積が多少みられたが、大腿骨の骨髄に著しい鉄が高濃度に存在する傾向が認められ、骨髄において何らかの影響により鉄が高濃度に集まったか、または適切な利用が抑制されていることが伺われた。通常赤血球は骨髄 (bone marrow) で作られ、脾臓で崩壊され、赤血球が血流中でほぼ一定数に保たれている。赤血球の増加は、骨髄における赤血球の亢進、血漿の減少 (赤血球の相対的増加) また赤血球の産生と崩壊に関与するエリスロポエチンと呼ばれるホルモンの作用などの関連が考えられる。今後さらに検討する必要がある。

本実験では血清コレステロール量はいずれの群でも有意差は認められなかったが、VA 欠乏状態が長期に及んだ場合は血清コレステロールが減少する<sup>12)</sup>ことが報告されている。一方、血清トリグリセリド量は VA 欠乏群では対照群に比べ有意に低い値を示した。血清トリグリセリド量は鉄欠乏などによって上昇する<sup>13)</sup>が、VA 欠乏では飼料の摂取量の減少が血清トリグリセリド量の減少を引き起こしていると考えられる。

Bloem ら<sup>3)</sup>は VA を給与すると鉄不足の症状が軽減されることを報告している。VA の欠乏は造血機能に重要な影響をあたえることが、本実験によっても確認された。貧血を改善のためには、VA を摂取することは有効であると考えられた。

## 要 約

ビタミン A は造血機能に影響を与えることが指摘されている。そこで本研究では、ラットを用いて VA 欠乏動物を作成し、ヘモグロビン量、血清や肝臓、大腿骨の鉄量を測定し、ビタミン A 欠乏動物における造血機能に及ぼす影響について検討した。

- (1) VA 欠乏群では発育が遅延した。
- (2) VA 欠乏群では血清と肝臓のレチノール量は対照群に比べて著しく低く、VA 欠乏状態が認められた。
- (3) ヘモグロビン量、ヘマトクリット値は対照群と同様の値を示した。赤血球数は増加する傾向が見られ、VA 欠乏が急激に起こる場合に多血球血症が生じると考えられた。
- (4) VA 欠乏群の血清と肝臓の鉄量は、対照群に比べ有意の差は認められなかったが、大腿骨の骨髄の鉄量は対照群に比べて有意に増加することが認められた。
- (5) 血清コレステロールはいずれの群でも差は認められなかった。血清トリグリセリド量は

VA 欠乏群では著しく低い値を示した。

(6) VA 欠乏は、多血球血症など造血機能に影響を及ぼすことが本実験でも確認された。

本研究にあたり、原子吸光法による鉄量の測定にご指導ご協力頂きました盛岡大学教授佐藤彰博士に深謝致します。また、実験にご協力頂きました岩手大学教育学部家政科の山崎薫、古川由子、保坂文代さんに感謝いたします。

- 1) Lloyd, P. M., Aniol, M., Mahoney, F., Mahoney, J.: *Nutr. Res.*, 9, 1007-1016 (1989)
- 2) Ten-State Nutrition Survey of the United States: Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, Reports I-V, 1972. DHEW Pub. (HSM) 72, 8130-8133
- 3) Boem, M. W., Wedel, M., Agtmeal, E. T., Speek, A. J., Saowakontha, S. and Schreurs, W. H. P.: *Ame. J. Clin. Nutr.*, 51, 76-79 (1990)
- 4) Hodges, R. E., Sauberlich, H. E., Canham, J. E., Wallace, D. L., Rucker, R. B., Mejia, L. A., and Mohanram, M.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, 876-885 (1978)
- 5) Mejia, L. A., and Arroyave, G.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 36, 87-93 (1982)
- 6) Bloem, M. W., Wedel, M., Egger, R. J., Andries, M., Speek, A. J., Schrijver, J., Saowakontha, S., and Schreurs, W. H. P.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 51, 332-339 (1989)
- 7) Mejia, L. A., Hodges, R. E., and Rucker, R. B.: *J. Nutr.* 109, 129-137 (1979)
- 8) Saab, D. B., Hodges, R. E., Metcalf, W. K., and Smith, J. L.: *J. Nutr.*, 114, 840-844 (1984)
- 9) Hodges, R. E., Rucker, R. B. and Gardner, R. H.: *Ann. York Acad. Sci.* 355, 58-61 (1980)
- 10) Abe, K., Ishibashi, K., Ohmae, K., Kawabe, K. and Katsui, G.: *Bitamin (Vitamin)*, 51, 275-280 (1977)
- 11) Amine, E. K., Corey, J., Hegsted, D. M. and Hayes, K. C.: *J. Nutr.*, 100, 1033-1040 (1979)
- 12) Sijtsma, K. W., Van Den Berg, G. J., Lemmens, A. G., West, C. E. and Beynen, A. C.: *Brit. J. Nutr.*, 70, 777-785 (1993)
- 13) Sherman, A. R., Bartholmey, S. J., Perkins, E. G.: *Lipids*, 17, 639-643 (1982)