

ビタミンA欠乏ラットの内分泌機能に及ぼす 飼料中のタンパク質含量の影響

赤澤典子*

(1993年6月30日 受理)

緒言

現代の食生活においてタンパク質や脂肪は充分摂取されていると考えられるが、それに比べるとビタミンA (以後VAと記す) の摂取は必ずしも充分ではない。Mooreら¹⁾はVAの生体内利用は摂取するタンパクの含量に関連することを指摘している。

Rechciglら²⁾は動物の成長はVAが充分投与されている場合は摂取するタンパク量が多い程早いと報告している。一方、StowsandとScott³⁾は、高タンパク摂取は動物の肝臓中や血清のVAを減少させると述べている。さらに舩重ら⁴⁾はVAの代謝に及ぼす飼料中のタンパク質含量の影響について検討し、高タンパク質摂取あるいは良質タンパク摂取によりVA欠乏の発症が早期化することを報告している。

VA欠乏により夜盲、皮膚及び粘膜上皮の角化、成長障害が生じることはよく知られている、Tompsonら⁵⁾はVA欠乏ラットで精巣が萎縮するなどの生殖腺機能の低下を報告し、またHuangとHembree⁶⁾は、VA欠乏ラットの下垂体から分泌される性腺刺激ホルモンが変動することを報告している。

そこで本研究は、飼料中のタンパク質の量が、VA不足動物における成長や内分泌機能にどのように影響を及ぼすのかを明らかにするため実験を行ったので、その結果を報告する。

実験方法

1) 実験動物及び飼料配合

実験動物は離乳直後のウイスター系の雄ラットを用い4群に分け各群10匹ずつとし12週間飼育した。飼料、飲水は自由に摂取させた。1、2群は普通量のタンパク質投与群とし、3、4群は低タンパク質投与群とした。1群は20%カゼイン・VA投与群、2群は20%カゼイン・VA欠乏群、3群は10%カゼイン・VA投与群、4群は10%カゼイン・VA欠乏群とした。

飼料配合は表1に示す。基礎飼料の組成は α -トウモロコシ澱粉64.9%、ビタミンフリーカゼイン20%、大豆油8%、粉末ロシ2%、無機塩類4%、ビタミン混合(VA、VD、VEを除く)1%、塩化コリン0.1%、ビタミンA1,000IU、ビタミンD100IU、ビタミンE10mgである。3、4群の10%カゼイン群は α -トウモロコシ澱粉を74.9%とした。ビタミンAはパルミチン酸レチノール(理研ビタミン株式会社)を用いた。

*岩手大学教育学部

表1 飼料組成 (g%)

群	1 (20%カゼイン+VA)	2 (20%カゼイン-VA)	3 (10%カゼイン+VA)	4 (10%カゼイン-VA)
α-トウモロコシ澱粉 (g)	64.9	64.9	74.9	74.9
ビタミンフリーカゼイン (g)	20.0	20.0	10.0	10.0
大豆油 (g)	8.0	8.0	8.0	8.0
無機塩類 ¹⁾ (g)	4.0	4.0	4.0	4.0
ビタミン混合 ²⁾ (g)	1.0	1.0	1.0	1.0
塩化コリン (g)	0.1	0.1	0.1	0.1
ビタミンE ³⁾ (mg)	10	10	10	10
ビタミンA ⁴⁾ (IU)	1,000	0	1,000	0
ビタミンD (IU)	100	100	100	100
粉末ロシ (g)	2.0	2.0	2.0	2.0

- 1) ハーパー配合 2) ハーパー配合
 3) dl-α-トコフェロールアセテート
 4) パルミチン酸レチノール (理研ビタミン株式会社)

2) 血清及び肝臓のレチノールとレチニルパルミテート量の測定

解剖時に後大静脈から採血した血清及び解剖時に摘出し秤量した後-20℃に凍結保存した肝臓のレチノール及びレチニルパルミテート量は阿部ら⁷⁾の方法によって測定した。

3) 血清トコフェロール量の測定

後大静脈から採血し分離した血清を用い、トコフェロール量を阿部らの方法により測定した。

4) 血清コルチコステロン量の測定

副腎皮質ホルモンであるコルチコステロン (11-Hydroxycorticosteroids) を宇田川らの蛍光測定法により測定した。

5) 血清テストステロン量

テストステロン量は¹²⁵I testosterone radioimmunoassay Kit (英研イムノケミカル研究所) を用いて測定した。

6) 下垂体前葉ホルモン分泌細胞の面積測定

下垂体前葉の連続切片を5種類の抗血清を用いて各細胞型について免疫染色し、連続切片の各細胞型について顕微鏡写真を作成し、画像解析装置によって切片当たりの各細胞型の占める面積比を測定した。

実験結果

1 体重発育

体重発育曲線は図1に示す。2群の20%カゼイン・VA欠乏群の発育は実験開始6週頃までは対照群の1群とほぼ同様であったが、それ以後発育は遅れ1群との有意の差 ($P < 0.001$) が認められるようになった。8週からは体重は減少し始め、最終的には一番発育が劣った。また、9週頃より死亡するラットが現れた。3群の10%カゼイン・VA投与群は1群の対照群に比べて全体的に発育は劣ったが、実験期間中において体重が減少することは認められなかった。4群の10%カゼイン・VA欠乏群の発育は1、3群に比べると劣り、9週目より体重増加は認

められないが、実験期間中に体重が減少する現象は見られなかった。20%カゼイン・VA欠乏群は10%カゼイン・VA欠乏群に比べ発育障害が強く現れた。

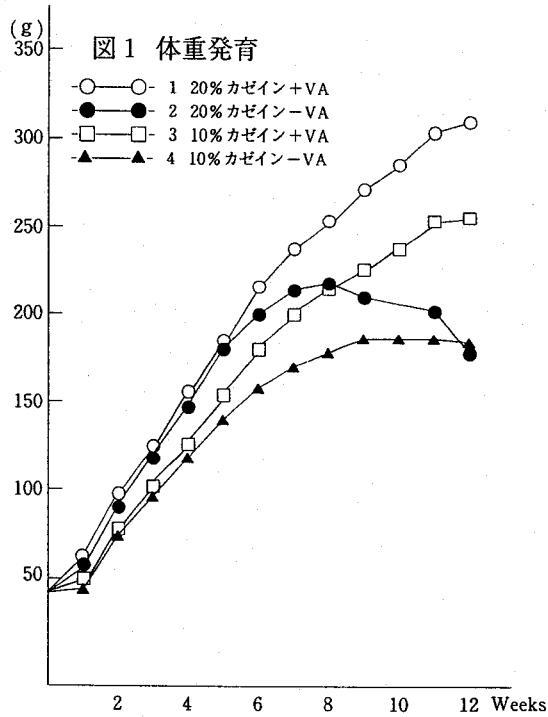


図1 体重発育

2 臓器重量

内分泌腺（下垂体，甲状腺，副腎，精巣）の体重100g当たり重量は表2に示す。下垂体の重量は1群の対照群に比べて2，4群のVA欠乏群で有意に増加した。甲状腺と副腎の重量は特に2群の20%カゼイン・VA欠乏群で有意に増加（ $P < 0.001$ ）した。一方精巣の重量は2，4群のVA欠乏群で減少する傾向を示した。

表2 内分泌腺の重量（体重100g当たり）

群	ラット数	下垂体 (mg)	精巣 (g)	甲状腺 (mg)	副腎 (mg)
1 20%カゼイン+VA	10	3.07±0.46 ¹⁾	907±64	7.12±1.17	10.86±1.16
2 20%カゼイン-VA	7	3.88±0.64*	851±89	10.23±1.33***	18.75±8.03**
3 10%カゼイン+VA	10	2.85±0.31	1,041±58***	5.35±0.59**	10.41±0.59
4 10%カゼイン-VA	10	3.55±0.50*	768±76***	7.04±0.67	11.62±1.05

1) M±SD * P<0.05 *** P<0.01 **** P<0.001

胸腺の重量は図2に示す。1群の対照群に比べて2, 4群のVA欠乏群は有意に減少 ($P < 0.001$) した。とくに20%カゼイン・VA欠乏群の胸腺重量は低値であった。

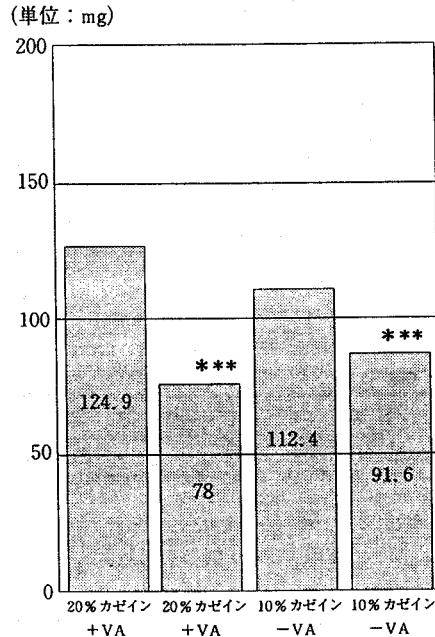


図2 胸腺の重量 (g/体重100g)

3 レチノール, レチニルパルミテート及びトコフェロール量

血清及び肝臓レチノール, 肝臓レチニルパルミテート, 血清トコフェロール量は表3に示す。2群の20%カゼイン・VA欠乏群の血清と肝臓のレチノール量, 肝臓のレチニルパルミテート量はほとんど認められなかった。一方, 4群の10%カゼイン・VA欠乏群では血清と肝臓のレチノールは対照群に比べて有意に減少 ($P < 0.001$) したが, 血清レチノールは91.5IU/100ml, 肝臓レチノールは4.3IU/gであった。血清トコフェロール量は1群の対照群に比べて2, 3, 4群とも有意に減少 ($P < 0.001$) したが, そのなかでも20%カゼイン・VA欠乏群は0.54mg/dlと低い値を示した。

表3 血清レチノール, 肝臓レチノールとレチニルパルミテート及び血清トコフェロール量

群	ラット数	レチノール		レチニルパルミテート	トコフェロール
		血清 (IU/100ml)	肝臓 (IU/g)	肝臓 (IU/g)	血清 (mg/dl)
1 20%カゼイン+VA	10	289.1±38.3 ¹⁾	192.7±25.0	12.0±16.2	1.37±0.21
2 20%カゼイン-VA	7	0	0	0	0.54±0.21***
3 10%カゼイン+VA	7	232.8±28.9**	223.4±36.6	7.2±7.7	0.81±0.10***
4 10%カゼイン-VA	7	91.5±58.3***	4.3±3.2***	0	0.86±0.14**

1) Mean±SD * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

4 血清テストステロン及びコルチコステロン量

血清テストステロン及び11-ヒドロキシコルチコステロイド量は表4に示す。血清テストステロン（性ホルモン）量は1群の対照群に比べて2, 4群のビタミンA欠乏群で有意に減少した。飼料中のタンパク質量の差による変化は認められなかった。10%カゼイン・VA投与群では血清テストステロン量は増加する傾向が認められた。

表4 血清のテストステロン及びコルチコステロン量

群	ラット数	テストステロン ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	11-ヒドロキシ コルチコステロイド ($\mu\text{g}/\text{dl}$)
1 20%カゼイン+VA	8	267.4 \pm 20.9 ¹⁾	40.1 \pm 9.0
2 20%カゼイン-V A	7	247.6 \pm 52.2*	14.5 \pm 4.5***
3 10%カゼイン+VA	7	307.4 \pm 42.8*	10.9 \pm 3.8***
4 10%カゼイン-V A	7	232.0 \pm 18.5***	7.6 \pm 2.6***

1) Mean \pm SD * P<0.05 *** P<0.001

血清コルチコステロン（副腎皮質ホルモン）量は2, 4群のVA欠乏群において有意に減少（P<0.001）した。また、3群の低タンパク群でも血清コルチコステロン量は10.9 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と有意に減少（P<0.001）した。

5 下垂体前葉ホルモン陽性細胞の面積

下垂体前葉ホルモン陽性細胞の面積は表5に示す。成長ホルモン（GH）は長骨の発育と軟組織の成長を促進させる。副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）は、副腎皮質ホルモンの生成ならびに分泌を促進する。また、卵胞刺激ホルモン（FSH）と黄体化ホルモン（LH）は生殖腺刺激ホルモン（GTH）であり、性ホルモン分泌や卵胞の成熟に関与する。甲状腺刺激ホルモン（TSH）は甲状腺ホルモンの生成ならびに分泌を促進する。催乳ホルモン（PRL）は乳腺に作用し乳汁の分泌を起こさせる。下垂体前葉のこれらのホルモン分泌細胞の占める面積比を測定し、それらの機能を推定した。

表5 下垂体前葉ホルモン陽性細胞の面積

群	匹数	GH	ACTH	GTH	TSH	PRL
1 20%カゼイン+VA	4	43.0 \pm 4.9 ¹⁾	13.5 \pm 1.9	10.4 \pm 0.8	11.8 \pm 3.7	21.1 \pm 3.1
2 20%カゼイン-V A	5	26.5 \pm 2.8**	19.9 \pm 2.3**	16.3 \pm 1.8**	15.8 \pm 1.1	21.2 \pm 2.3
3 10%カゼイン+VA	6	32.5 \pm 1.2*	12.7 \pm 1.4	15.3 \pm 2.0**	15.9 \pm 0.8	23.4 \pm 2.3
4 10%カゼイン-V A	6	27.3 \pm 11.1*	19.8 \pm 3.7**	15.5 \pm 5.3	16.5 \pm 3.8	21.5 \pm 1.4

1) Mean \pm SD * P<0.05 ** P<0.01

GH=成長ホルモン ACTH=副腎皮質刺激ホルモン
GTH=性腺刺激ホルモン TSH=甲状腺刺激ホルモン
PRL=催乳ホルモン

成長ホルモン (GH) 陽性細胞は1群の対照群が43.0%に対して、2, 4群ともVA欠乏群では27%と有意 ($P < 0.001$) に減少した。また、3群の10%カゼイン群は32.6%と対照群に比べて減少していた。副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 陽性細胞は2, 4群のVA欠乏群で有意 ($P < 0.001$) に増加した。生殖腺刺激ホルモン (GTH) 陽性細胞は1群の対照群に比べて2, 3, 4群において増加したが、2群の20%カゼイン・VA欠乏群は16.3%とさらに増加が著しかった。また、甲状腺刺激ホルモン (TSH) 陽性細胞は1群に比べて他の群は増加する傾向が認められたが有意差はなかった。催乳ホルモン陽性細胞は対照群に比べて大きな差は認められなかった。

考 察

VAの不足は成長障害、夜盲症などを引き起こし、またVA欠乏動物では精巣が萎縮するなどの生殖腺機能の低下が報告されている。一方、VAの生体利用は摂取するタンパクの含量に関連することが指摘されており、さらに高タンパク質摂取によりVA欠乏の発症が早期化することが報告されている。そこで今回の実験は飼料中のタンパク質の量がVA欠乏動物における成長や内分泌機能にどのような影響を及ぼすかについて検討することを目的として行った。

成長についてみると、20%カゼイン・VA欠乏群の体重は8週から減少し、10%カゼイン・VA欠乏群の低タンパク群より成長停止が早いことが認められた。最終的には一番発育が劣った。これらの結果はニワトリヒナをもちいた舂重ら⁴⁾やラットをもちいた実験結果と一致した。Bieriら⁸⁾は無菌室で飼育したシロネズミに無菌化したVA欠乏飼料を投与した場合と普通に飼育した無菌化しないVA欠乏飼料を投与した場合の体重発育を比較したところ、無菌室で飼育したシロネズミは一定期間 (6週間) 体重の増加がみられ、その後成長は停止するが、体重の減少や死亡は認められないことを報告している。VA欠乏による成長は停止はVAの直接的作用と関連するが、体重の減少や死亡は二次的作用によると考えられている。舂重ら⁴⁾はニワトリヒナを用い、VA欠乏では排泄尿酸量が異常に増加すること、また高タンパク質・VA欠乏群では腎臓や尿管への尿酸の蓄積が低タンパク質・VA欠乏群より早期にみられることから、VAはタンパク質・アミノ酸代謝と密接に関連していることを示唆している。

成長ホルモン陽性細胞はVA欠乏群では有意に減少しており、特に20%カゼイン・VA欠乏群で著しくこれらの変化は体重発育の結果と一致していた。20%カゼイン・VA欠乏群では血清や肝臓のレチノール量、肝臓のレチニルパルミテート量はほとんど認められなかった。低タンパクVA欠乏群の血清や肝臓のレチノールは対照群に比べ減少しているが、血清レチノールは対照群の約40%残存しており、飼料タンパク質レベルが高いと血清や肝臓のVA量の減少速度が早くなることが確認された。体内におけるVAの消失をみると、VA欠乏の最初の徴候は肝臓に現れ、肝臓に完全になくなるとつぎに血液中のVAが急速に減少する⁹⁾。本実験においてもその徴候が認められた。

精巣の重量はVA欠乏群で減少し、また血清テストステロン (性ホルモン) 量もVA欠乏群で減少した。一方、下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン陽性細胞はVA欠乏により増加した。VA欠乏により精巣の精細管が萎縮すること、性ホルモンが減少することをAkazawaら¹⁰⁾が報告している。また、VA欠乏ラットで生殖腺刺激ホルモン (FSH, LH) が増加することが報告されている^{10, 11)}。本実験における下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン陽性細胞の増加は、VA欠

乏により精巣の機能が低下したため、生殖腺刺激ホルモンの分泌を高め精巣における性ホルモン合成を活性化させようとした現象であると考えられる。

10%カゼイン・VA欠乏群の低タンパク質群のテストステロンは増加している。摂取するタンパク質が少ない場合は性ホルモンの合成は抑制されると考えられるが、この程度のタンパク質では影響は少ないものと考えられる。

副腎の重量は20%カゼイン・VA欠乏群で著しく増加しており、副腎が肥大していることが認められたが、この傾向は体重減少の激しいものほど強く認められ、VA欠乏による副腎組織の代償的肥大と思われた。

血清コルチコステロン（副腎皮質ホルモン）量はVA欠乏で減少した。VA欠乏では、コレステロールからのコルチコステロン合成が抑制されることが報告されている¹²⁾。本実験の結果はこれらの結果と一致した。副腎皮質刺激ホルモン陽性細胞はVA欠乏で増加しており機能的には活性像を示すものとみえるが、この変化はVA欠乏ラットの下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン陽性細胞の変化と同様と考えられる。すなわち、副腎皮質におけるコルチコステロン合成を高めようとする現象であると考えられる。低タンパク質群ではコルチコステロン量は低値を示した。

甲状腺の重量は20%カゼイン・VA欠乏群で著しく増加しており、甲状腺が肥大していることが認められた。VA欠乏では甲状腺ホルモン濃度も変動することが知られているが、一定の結論えられていない。舂重¹³⁾はホルモン濃度の変化についてのこれらの差は飼育方法やホルモン測定操作上の差ではなく、生体側のなんらかの変化がresponseの差になって現れたものであろうと推察している。さらなる研究が必要であると考ええる。

胸腺はリンパ節と同様に免疫担当細胞として重要視されている。リンパ球の産生を行う造血器であるが同時にリンパ組織のリンパ球の産生を亢進するホルモンを分泌するといわれている。VA欠乏により胸腺は萎縮するが、特に20%カゼイン群で著しく萎縮することが認められる。

以上のことから、VA欠乏で摂取タンパク質の量を多くするとVA欠乏による成長停止が早まること、また体内におけるVAの消失は、飼料タンパク質レベルが高いと血清や肝臓のVA量の減少速度が早いことが確認された。さらに、血清テストステロンやコルチコステロン合成がVA欠乏により抑制されることが確認され、下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン陽性細胞や副腎皮質刺激ホルモン陽性細胞が増加することが明らかになった。これら下垂体前葉の変化は精巣や副腎の機能低下によるネガティブフィードバックによるものと考えられた。胸腺はVA欠乏により萎縮するが、特にVA欠乏でタンパク質量が多いと萎縮する傾向が大きいことが明らかになった。

要 約

本実験は飼料中のタンパク質の量がVA欠乏動物における成長や内分泌機能にどのような影響を及ぼすかについて検討した。Wistar系のラットを用い、普通量のタンパク質（20%カゼイン）投与群と低タンパク質（10%カゼイン）投与群にわけ、それぞれの半数にVAを投与しVA投与群とVA欠乏群とし12週間飼育し、体重発育、内分泌腺の重量、血清及び肝臓レチノール、肝臓レチニルパルミテート、血清トコフェロール量、血清テストステロンとコルチコステ

ロン量及び下垂体前葉ホルモン陽性細胞の面積を測定し次の結果をえた。

- 1) 20%カゼイン・VA欠乏群は10%カゼイン・VA欠乏群より発育障害が強く現れた。また成長ホルモン陽性細胞はVA欠乏群では有意に減少し、さらに20%カゼイン・VA欠乏群で著しく、これらの変化は体重発育の結果と一致している。
- 2) 血清及び肝臓レチノール、肝臓レチニルパルミテート量はVA欠乏群では有意に減少し、特に20%カゼイン・VA欠乏群で著しい。
- 3) 血清テストステロンおよびコルチコステロン量はVA欠乏群で有意に減少した。また、10%カゼイン・VA投与群でもコルチコステロン量は減少した。
- 4) VA欠乏により、下垂体前葉の生殖腺刺激ホルモン陽性細胞や副腎皮質刺激ホルモン陽性細胞が増加することが明らかになった。

本研究に当たり、下垂体前葉ホルモン測定にご指導頂きました群馬大学医学部ホルモン測定センター教授若林克巳博士、服部眞彰博士に深謝申し上げます。また、下垂体前葉ホルモン分泌細胞の面積測定にご協力頂きました岩手大学農学部家畜解剖学研究室、さらに実験にご協力頂きました教育学部家政科研究室的佐々木美佳、佐々木由起、木村愛さんに感謝致します。

文 献

- 1) Moore, T., I. M. Sharman, R. J. Ward "Vitamin A and teresistance of rats to protein deficiency". *Biochem. J.* 52, (1952) xii.
- 2) Rechcigl, M., Berger, S., Loosli, J. K., Williams, H. H. "Dietary protein and utilization of vitamin A". *J. Nutr.* 76, (1976) 435-440.
- 3) Stoewsand, G. S. and M. I. Scott "Effect of protein on utilization of vitamin A in the chick". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 106, (1961) 635.
- 4) 舩重正一, 菊茂茂司, 田所忠弘, 鈴木高雄 "ニワトリヒナのビタミンA欠乏に及ぼす飼料タンパク質の影響". *ビタミン* 54, (1980) 303-310.
- 5) Tompson, J. N., Howell, J. McC., Piit, G. A. J. "Vitamin A and Reproduction in the rats". *Proc. R. Soc. Biol.* 159, (1964) 510-535.
- 6) Huang, H. F. S., Hembree, W. C. "Spermatogenic response to vitamin A in vitamin A deficiency rats". *Biol. Reprod.* 21, (1979) 891-904.
- 7) Abe, K., Ishibashi, K., Ohmae, M., Kawabe, K., Katsui, G. "Determination of vitamin A in serum and liver by hight speed liquid chromatography". *Bitamin (vitamin)* 51, (1977) 275-280.
- 8) Bieri, J. G., E. G. Mc. Daniel, W. E. Roggers, "Survivel of germfree rats without viamin A". *Science* 163, (1969) 574-575.
- 9) 日本ビタミン学会 新ビタミン学 (1969年9月) 23ページ。
- 10) Akazawa, N., Taniguchi, K., Mikami, S., "Effects of vitamin A deficiency on the function of pituitary-gonadal system in male rats". *Jpn. J. Vet. Sci.* 51, (1989) 1209-1217.
- 11) Hung, H. F. S., Dyrenfurth, I., Gunnsalus, G. L., Hembree W. C. "Effects of vitamin A deficiency upon gonodotropin response to gonodotropin releasing hormone". *Biol. Reprod.* 33, (1985) 1176-1187.
- 12) 日本ビタミン学会 新ビタミン学 (1969年9月) 54ページ。
- 13) 舩重正一 "ビタミンAと血中甲状腺ホルモン". *ビタミン* 59, (1985) 30-31.