

## ネズミ組織内アセチルコリン含量に及ぼすパントテン酸の影響

及川桂子\*・小柳達男\*\*

(1980年6月23日受理)

Nagler らは、離乳期のネズミを5日間コリン欠乏にすると、脳、小腸および腎中の神経刺激伝達物質であるアセチルコリンが著しく減少することを報告し、コリン欠乏による腎出血は、アセチルコリンの不足により、副交感神経の働きが正常でないためであろうと述べている。一方、パントテン酸(PA)はアセチルコリン生合成のときに行われるアセチル化の反応に、アセチルCoAの成分として活躍するので、ネズミ体内でのアセチルコリン生合成に影響をもつものと考えられる。そこでネズミがPA不足になった場合に、脳や小腸内でアセチルコリン含量がどうなるかを調べたので報告する。

### 実験方法

#### 1. 実験動物および飼料配合

離乳期の Wistar 系、雄シロネズミを用い、1群6頭ずつ7群に分けて飼育した。

試験は純粋飼料を使った第1試験と、穀粉を使った第2試験との2試験に分けて行った。

第1試験のネズミは4群に分け、第1群には基礎飼料(Table 1)、第2群には基礎飼料よりPAを除去したもの、第3群には基礎飼料よりコリンを除去したもの、第4群には基礎飼料よりPAおよびコリンを除去した飼料を与えた。ネズミは離乳後3週間は、メチオニンからコリンの生合成ができないので、極度のコリン欠乏による死亡を避けるため、飼育開始後3週間はコリン欠乏群にも、飼料100g当り50mgの塩化コリンを配合した。飼料と水は自由に与えた。

第2試験はネズミを3群に分け、白米(第5群)、玄米(第6群)および大麦(第7群)の飼料を与えた。第1試験の飼料中のカゼインを15gに増し、PA、コリン、ゼラチン、トリプトファン、シスチンを除

Table 1. Composition of basal diet

	g
Casein	8.0
Gelatin	12.0
l-Tryptophane	0.2
l-Cystine	0.3
Sucrose	32.1
Corn starch	32.1
Soybean oil	10.0
Cellulose	1.0
Salt mixture a)	4.0
Choline chloride	0.15
Vitamin mixture b)	0.2

a) Harper 2)

b) Containing mg/ 0.2g mixture : thiamine hydrochloride 0.5, riboflavin 0.5, pyridoxine hydrochloride 0.25, calcium pantothenate 2.0, niacin 2.5, biotin 0.01, folic acid 0.02, vitamin B<sub>12</sub> 0.002, inositol 10.0, ascorbic acid 5.0, vitamin A powder (200,000 IU/g) 5.0, α-tocopherol acetate powder (10% powder) 100, and sucrose to make up 0.2g.

\* 岩手大学教育学部

\*\* 常磐学園短期大学

いた。またしょ糖およびでんぷんを同重量の白米、玄米あるいは大麦でおきかえ、これを5) 6), 7) 群の飼料とした。白米は水洗後50℃で乾燥したもの、大麦は加熱せずにからを除いたものを用いた。

## 2. アセチル化能およびアセチルコリンの測定方法

試験開始後6週間に Riggs ら<sup>3)</sup>の方法によってP-アミノ安息香酸を注射し、その後の24時間尿を採取してアセチル化能力を測定した。

1~4群は6週末に、5~7群は7週末に断頭したのちただちに開腹した。脳は小脳、橋、延髄を除去したものを用い、小腸は盲腸からの上部20cmを切り、氷冷リンゲル液で洗ったのち、すばやくぎざんで実験に供した。摘出した脳およびぎざんだ小腸を、それぞれ氷冷下ですみやかに、エセリンを含むしょ糖液中で磨砕し抽出液を作った。

アセチルコリンは Nagler ら<sup>4)</sup>と同じくトノサマガエルの腹直筋の収縮の変化を、標準濃度のアセチルコリンによる収縮と比較して測定した。トノサマガエルは5~10月の暖かい時期でないと、その腹直筋は鋭敏に反応しないので実験は季節的な制約を受けて困難であった。

## 実験結果

### 1. 発育状況

実験期間中の発育曲線をFig1 (第1試験) および Fig2 (第2試験) に、体重の増加量を Table 2 に示した。

第1試験のPA欠乏ネズミ(第2群, 第4群)は2週週末より発育のおくれが目立ち、6週後には基礎飼料群(第1群)およびコリン欠乏群(第3群)に比べて有意に発育が劣った。

第2試験では各群とも順調な発育を示したが、大麦群(第7群)は白米群(第5群)や玄米群(第6群)に比べてわずかに発育が劣った。

### 2. アセチル化能およびアセチルコリン含量

飼育6週間後のアセチル化能を Table 3 に示した。第1試験でPA欠乏飼料を与えた群では、アセチル化能力が低い傾向がみられたが、統計的に有意の差ではなかった。白米、玄米あるい

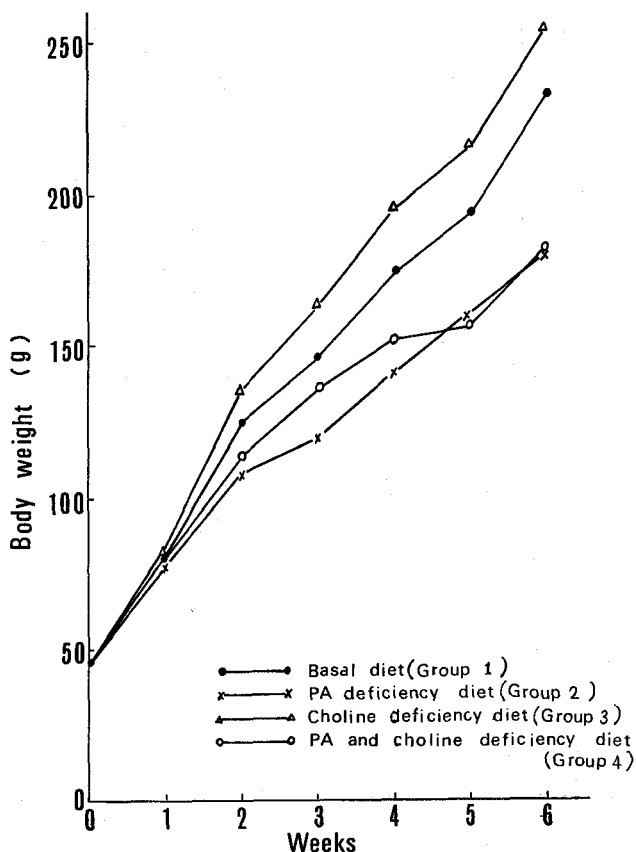


Fig. 1 Growth curve of rat. (Exp. 1)

は大麦を与えた群では、白米群が低く玄米群が高い傾向がみられたが、これも有意の差とはいえなかった。

脳のアセチルコリン含量 (Table 3) は、PAを与えた第1群のネズミに比べ、PA欠乏群 (第2群) は低い値を示し、有意の差であった。コリン欠乏のネズミ (第3群) もアセチルコリン含量は低かった。脳に比べ小腸ではアセチルコリン含量はPA欠乏あるいはコリン欠乏になっても低下がはっきりと認められなかった。

白米、玄米あるいは大麦を与えたものでは小腸は勿論、脳においてもアセチルコリンの低下は認められなかった。

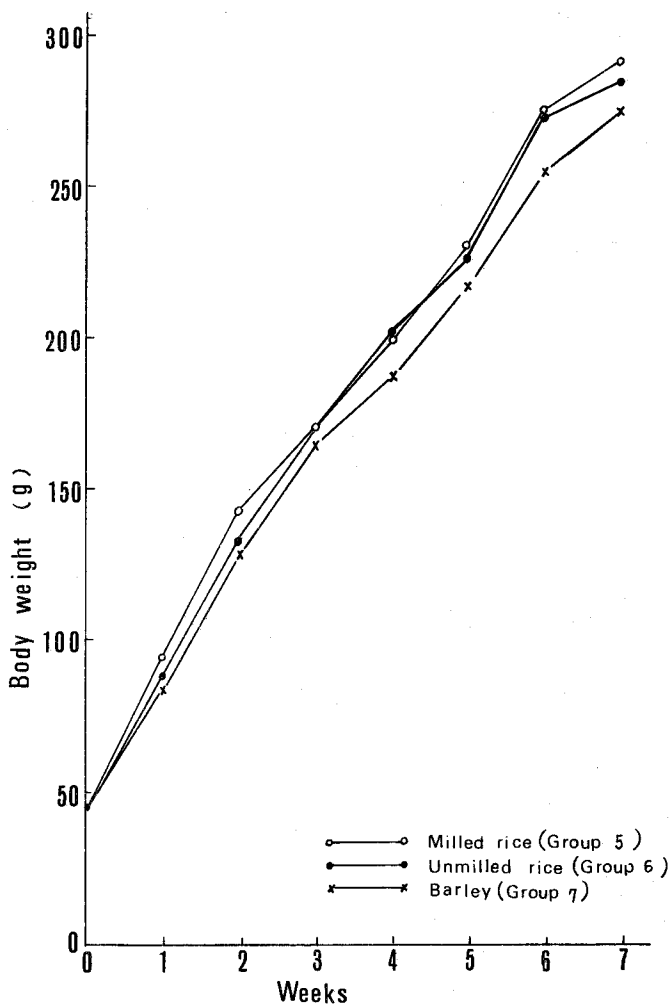


Fig. 2 Growth curve of rat. (Exp. II)

Table 2. Effect of PA or choline deficiency in rats on body weight gain

Group	Diet	Body weight	
		Initial	Gain
Exp. I	1 Basal	46.3±9.4	189.3±24.1
	2 -PA	46.5±8.7	132.4±26.3 <sup>c)</sup>
	3 -Choline	46.7±7.9	206.7±8.0
	4 -PA, -Choline	46.0±6.5	134.2±21.3 <sup>d)</sup>
Exp. II	5 Milled rice	45.5±5.6	244.5±20.5
	6 Unmilled rice	45.5±5.6	238.3±12.2
	7 Barley	45.7±5.8	228.7±13.0

c) d) Significantly (P<0.01) lower than group 1.

**Table 3.** Effect of PA or choline deficiency in rats on their ability of acetylation and acetylcholine content in tissues

Group	Diet	Ability of acetylation	Acetyl choline	
			Brain	Intestine
Exp. I	1 Basal	80.8±2.6 %	2.45±0.61 μg/g	2.35±0.64 μg/g
	2 -PA	73.2±5.2	1.71±0.24 <sup>e)</sup>	2.19±0.51
	3 -Choline	81.1±3.3	1.86±0.20 <sup>f)</sup>	2.38±0.46
	4 -PA, -Choline	75.1±4.9	1.94±0.21	2.33±0.55
Exp. II	5 Milled rice	75.4±6.4	2.59±0.47	4.32±1.06
	6 Unmilled rice	79.2±2.9	2.81±0.26	4.97±0.89
	7 Barly	76.2±7.5	2.97±0.39	3.95±0.33

e) f) Significantly ( $P < 0.05$ ) lower than group 1.

## 考 察

Naglerらは、コリン欠乏の場合脳とともに小腸においてもアセチルコリン含量の低下を認めしたが、これは彼らのネズミは極度にコリン欠乏状態にあったためであろう。われわれのネズミはコリン欠乏群にも少量のコリンを与えているという軽度の欠乏状態におかれていた。またPA欠乏も軽度のものである。われわれは予備試験ではでんぷんを使用せずしょ糖だけにしてしたが、こうするとPAの欠乏が急激に進行して死亡するものが続出した。そのため今回の試験ではでんぷんを配合して腸内微生物により合成されたPAの供給を許すという穏やかな欠乏にしたのである。

白米、玄米あるいは大麦を与えたものでは脳および小腸において、アセチルコリンの低下は認められなかったが、アセチル化能力は白米群は玄米や大麦を与えた群に比べ低い傾向を示したので、もっと長期に飼育したならば、はっきりした差が出たかも知れない。

さて、PAが食品中に広く分布しているので、一般にPA欠乏はヒトには起きないと考えられている。しかし、太平洋戦争中に日本軍の捕虜になり白米、葉野菜および少量の肉あるいは魚を食べさせられた人々のあいだに発生した焼足症状はPA欠乏であったろうと考えられだしている。Katz<sup>4)</sup>は、この焼足症状をフィリピンのCabanatuanの収容所で観察していて、1943年1月から6月までの間に2,000人もこの症状の患者が発生したことを報告している。彼によると1942年の暮にマニラのBibibidの軍病院では、すべての入院患者800人中約300人が焼足症状に悩んだということである。

この症状を報告している人々の記述によると、その発病は除々であって、大体白米食を与えられて3~4か月後に足にしびれと、ちくちくする痛みが起き、これが進むと足の指と、足の底が焼けるように痛みだし、次につきづきする痛みになり寝つかれなくなるというのである。

戦後Gopalan<sup>5)</sup>は、焼足症状をインドでも認め、これがパーボイルドライス(もみを水に浸漬したのち蒸し、乾燥、精白したもの)や白米のかゆと貧弱な野菜で生活する貧しい人々のあいだに多く見られることを知った。彼は毎日50mgのサイアミン、10mgのリボフラビン、300mgのニコチン酸を与えると舌炎、口内炎およびいくらかの目の症状が消失したが、焼足症状には

ほとんど治癒効果がなかった。ところが20~40mgのPAカルシウムを与えたところ焼足症状、多汗がまず直り、ちくちくする痛みが次に消失したと述べている。

Wooley<sup>6)</sup>は、マウスを3週間PA欠乏にすると非常に敏感になり、数日後に周期的に痛みのひきつけを起すらしく、ときどき激しく走り回り、痛みを耐えかむたようにきいきとなくと述べている。また、ブタのPA欠乏については Follis ら<sup>7)</sup>が報告していて、欠乏が進むと神経がいたんで足が痛いらしく突然一本の足をもち上げると書いている。解剖してみると末梢神経、後部神経節、背髄の後部束に退行変化が起きていることを観察している。

Nagler ら<sup>1)</sup>は、アセチルコリンが不足すると血管はアドレナリンのようなアミンに敏感になり収縮し、血管けいれん、局所的貧血、血管破裂を起すであろうと考えている。PA欠乏により脳中のアセチルコリンが低下するというわれわれの今回の結果は、焼足症状のような神経症状と関係あるのではないかと思われる。

小柳らは<sup>8)</sup>、岩手県農村で水田および畑作地帯の住民の血中のPAを測定した結果、白米食をしている水田地帯の人々の、大麦を混食している畑作地帯の人々のよりも低いことを認めた。また、われわれ<sup>9)</sup>は、宮城県の水田地帯の人々にPAを与えると暗調応が改善されることを認めて、これらの人々にPAの不足があるのではないかと報告した。さらにわれわれ<sup>10)</sup>は、岩手県農村で白米を主食にしている主婦に、白米に大麦を2割混ぜて食べさせると、尿中のPAが増し、白米食では不足の状態にあったものが正常な範囲の値となることを認めた。

また、小柳ら<sup>11)</sup>は、白米をネズミに与えると大麦を与えた場合よりも腸内微生物によるPAの合成の少ないことを知った。このように白米食の場合はPAの不足が起きやすいことを示すような成績が集っていて、これらの成績は、焼足症状が白米食の場合にだけ発生したことを説明しているように思われる。

もし、白米食の場合にPAの欠乏が起きやすい傾向があるとすると、アセチルコリンの体内生産が減り、焼足症状ばかりでなくわれわれの周囲に多い自律神経失調症や便秘症のような病気をも発生させることになるのではないかと考えられる。

## 要 約

ネズミにPA欠乏飼料を与えると脳中のアセチルコリンが低下した。

このアセチルコリン濃度の低下と太平洋戦争時に、フィリピンでのアメリカ軍捕虜に生じた焼足症状との関係を論じた。

終りにのぞみ、アセチルコリン定量についてご指導をいただいた岩手大学農学部助教授小林晴男博士に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Nagler, A.L., Dettbarn, W., Seifter, E. and Levenson, S.M. : J. Nutr., 94, 13 (1968)
- 2) Harper, A.E. : J. Nutr., 68, 405 (1959)
- 3) Riggs, T.R. and Hegsted, D.M. : J. Biol. Chem. 172, 539 (1948)
- 4) Katz, C.J. : J. Nerv. Ment. Dis., 103, 456 (1946)

- 5) Gopalan, C. : cited. in the review by Glusman, M. Am. J. Med., 3, 211 (1947)
- 6) Wooly, D.W. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 46, 565 (1941)
- 7) Follis, R.H. and Wintrobe, M.M. : J. Exp. Med., 81, 539 (1945)
- 8) 小柳達男, 晴山信一, 菊池亮介, 木村武 : 栄養と食糧, 19, 433 (1967)
- 9) 小柳達男, 中原経子, 鷹菊テル, 及川桂子, 赤沢典子 : 栄養と食糧, 27, 211 (1974)
- 10) 小柳達男, 鷹菊テル, 及川桂子, 赤沢典子, 常松露子 : 常磐学園短期大学研究紀要, 8, 75 (1979)
- 11) 小柳達男, 千葉茂, 常松露子 : 栄養と食糧学会関東支部講演, 1976年2月

#### Effect of Pantothenic Acide on Tissue Levels of Acetyl Choline in Rats

Keiko Oikawa\* and Tatsuo Koyanagi\*\*

\* Department of Home Economics, Iwate University, Morioka

\*\* Laboratry of Nutrition, Tokiwa Junior College, Mito

The effect of pantothenic acide (PA) deficiency on the level of acetyl choline in brain and intestine in rats was studied.

Weanling rats were divided into 4 groups and offered the following 4 Kinds of diet : (1) basal (complete), (2) PA deficient, (3) choline deficient, (4) PA and choline deficient. Besides these diets 3 diets were also tested : milled rice, unmilled rice and barley. After 6 weeks of feeding acetyl choline in bran and intestine was assayed by rectus abdominus of the frog. The results show that the levels of acetyl choline in small intestine was unaltered but that of brain was lowered in the deficiency of not only choline and also PA. The content of acetyl choline in rats fed with milled rice, unmilled rice or barley was not differed significantly probably owing to the short period of their feeding.

The relation of the decrease of acetyl choline to the nervous tissue and the burnong feet syndrome found in war prisoners in the war of Far East and people of the poorer classes in India is discussed.