

ビタミンE欠乏がラットの血液成分に及ぼす影響

—特にビタミンE欠乏と蛋白摂取量との関係—

赤 沢 典 子*・及 川 桂 子*

(1977年7月6日受理)

Effects of Vitamin E Deficiency on the Constituents of Rat's Blood —Especially the Relation between Vitamin E Deficiency and Protein Intake—

Noriko AKAZAWA and Keiko OIKAWA

Effects of Vitamin E deficiency and low protein intake on the blood chemistry and urine creatine in rats were examined. The rats were divided into four groups fed by different diet as follows: (1) 20% casein and E deficient diet (2) 20% casein and E as supplementary diet, (3) 10% casein (low protein) and E as supplementary diet. In the E deficient groups after four weeks the red blood cells were hemolyzed and after eight weeks the urinary creatine excretion was increased.

In the 10% casein and E deficient groups of urinary creatinine was diminished. On the Constituents of blood Plasma Creatine, phospholipids, GOT and GPT were increased in E deficiency.

Especially, phospholipids were increased in the 10% casein and E deficient groups.

緒 言

E**の欠乏は、赤血球の溶血を亢進させることが、多くの研究者、Roseら¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、Friedmanら⁶⁾、Drapperら⁵⁾により報告されている。またEと貧血との関係については、Stansterdら¹⁹⁾がカンオコールの研究の中で、Osikiら¹²⁾は未熟児について、それらの貧血の原因をE欠乏に求めている。Whitaker²²⁾は protein calorie malnutrition の子供にEを投与して貧血の回復をみたことの報告などがある。食餌性肝障害に対して Schwarz¹⁶⁾¹⁷⁾はEの効果を指摘しており、またEは副腎皮質ステロイド投与による骨粗造作用に対して拮抗な作用をもつことが、若生²¹⁾、勝山¹⁰⁾により指摘されている。血液学的所見については、清水ら¹⁸⁾、高松²⁰⁾の報告がみられる程度である。

一方、Murata¹¹⁾らは赤血球の溶血率の測定により、Chenら⁴⁾は血漿コレステロール値の測定から、蛋白質の不足はEの要求を増すのではないかと述べている。

本実験では、E欠乏が血液成分に及ぼす影響を与えるか、あわせて飼料中の低蛋白質との関連を知る目的で実験を行った。

* 岩手大学教育学部

** E=ビタミンE

実験方法

1 実験動物及び飼料配合

離乳直後の体重60g前後の Wistar 系の幼若雄ラットを用い、各群を10匹とし次のように分類した。1群と2群は飼料中の蛋白量20%カゼインとし1群は対照としてEを添加した群、2群はE欠乏群とした。3群と4群は10%カゼインの低蛋白とし3群はEを添加した群、4群はE欠乏群とした。飼育状況および飼料配合は第一報¹⁾に報告したとおりである。

2 測定方法

(1) 赤血球溶血試験

実験開始後、4週、8週、13週に尾静脈から採血し、Friedman ら⁶⁾の方法により、Dialuric acid を使用して測定した。

(2) 尿中クレアチニン及びクレアチン

実験開始後、4週、8週、13週に各々連続3日間尿を採取し(トルエンを入れて)、冷凍室に保存し、Foijn の方法⁹⁾に従って定量した。

(3) 血清化学的成分

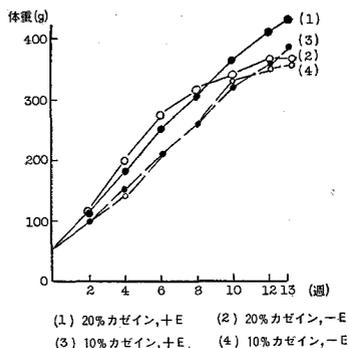
実験開始後8週目に、24時間絶食後にエーテル麻酔下に開腹し、血清中の総蛋白質、クレアチン、クレアチニン、磷脂質、GOT、GPT、アルカリ性フォスファターゼ、無機磷、カルシウム、赤血球数、白血球数、ヘモグロビンについて測定を行った。GOT、GPT は反応初速度法、アルカリ性フォスファターゼは Kind-Kind 法により測定した。

結 果

1 発 育 状 況

実験期間中の体重の発育曲線は第1図および第1表に示す。

図1 発育曲線



- (1) 20%カゼイン,+E
 (2) 20%カゼイン,-E
 (3) 10%カゼイン,+E
 (4) 10%カゼイン,-E

20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群のラットの体重増加は後者が劣り、その差は実験開始2週間後から生じた。4週においては10%カゼイン低蛋白群の体重増加量は有意の差をもって減じたが、その後は20%カゼイン群と体重増加量については有意の差は認められなかった。

20%カゼイン群では、E添加群とE欠乏群との間には8~9週までは発育の差をみなかったが、9週以後E欠乏群では発育の遅くれを示した。13週ではE欠乏群はE添加群の87%にとどまった。10%カゼイン低蛋白群では、E添加群とE欠乏群との間に発育に差はほとんどみられなかった。

しかし、10%カゼイン低蛋白群のE欠乏群では8週頃より急死するものが続出し、8週から13週までに5頭中4頭が死亡した。死亡率は第2表に示す。

第1表 体重表 (g)

群	実験開始時	4 週	8 週	13 週
1 {20%カゼイン + E	58.6±4.3 ⁽¹⁾	181.0±29.0	312.5±39.4	428.1±36.2
2 {20%カゼイン - E	58.5±4.7	197.3±24.8	314.8±29.4	372.9±45.9
3 {10%カゼイン + E	58.7±5.2	147.2±20.2*	257.2±30.3	383.1±40.0
4 {10%カゼイン - E	57.5±6.6	138.5±31.4*	252.0±15.4	366.0

(1) M±SD

* P<0.05

第2表 死亡率 (%)

群	死亡率(8週~13週)%
1 {20%カゼイン + E	0
2 {20%カゼイン - E	0
3 {10%カゼイン + E	0
4 {10%カゼイン - E	75

第3表 溶血率 (%)

群	4 週	8 週	13 週
1 {20%カゼイン + E	1.0±1.8 ⁽¹⁾	5.6±6.4	2.4±3.5
2 {20%カゼイン - E	90.5±18.4	99.9±4.2	86.9±17.1
3 {10%カゼイン + E	1.7±2.1	1.4±1.3	1.4±0.6
4 {10%カゼイン - E	86.3±15.9	96.2±7.6	99.9

(1) M±SD

2 赤血球溶血率に及ぼす影響

実験開始後、4週、8週、13週に各群から5頭ずつラットを抽出し、赤血球の溶血率を測定した。結果は第3表に示す。

溶血率は20%カゼイン群、10%カゼイン群ともE欠乏群において明らかに高い値を示し、赤血球の溶血充進が認められた。20%カゼイン群と10%カゼイン群の両E欠群の比較においては、両者の間にほとんど差はみられず、低蛋白食餌による赤血球の溶血充進は認められなかった。実験開始後4週目のE欠乏群は90%近い溶血率を示し、8週、13週でも同じような高い値を示しE欠乏期間の長さによる溶血率の変化はみられなかった。E添加群では20%カゼイン群、10%カゼイン群とも正常であった。

3 尿中クレアチニンおよびクレアチン量

実験開始後、4週、8週および13週に各群から5頭ずつを選び、クレアチニンおよびクレアチンを定量した。10%カゼイン・E欠乏群では死亡するものが多く、13週では1頭のみとなったが、他の群では死亡するものはみられなかった。

結果は第4表に1日平均のクレアチニンおよびクレアチン排泄量として示す。

実験開始後4週目では、20%カゼイン群に比べ10%カゼイン低蛋白群はクレアチニン量はやや低い傾向が認められた。クレアチン量は20%カゼイン群、10%カゼイン低蛋白群ともそれぞれ

第4表 尿中クレアチニン量とクレアチン量 (24時間尿中 mg)

群	4 週		8 週		13 週	
	クレアチニン	クレアチン	クレアチニン	クレアチン	クレアチニン	クレアチン
1 {20%カゼイン +E	2.80±0.92 ⁽¹⁾	0.49±0.25	4.09±2.69	0.24±0.16	4.95±0.90	0.29±0.17
2 {20%カゼイン -E	3.38±1.00	0.36±0.23	5.00±1.95	2.88±1.80*	2.74±1.29*	3.55±2.25*
3 {10%カゼイン +E	1.19±0.93**	0.29±0.12	5.09±0.65	0.68±0.32	4.97±1.57	0.52±0.42
4 {10%カゼイン -E	2.38±1.08	0.28±0.17	2.92±0.77	2.28±1.45*	4.80	—

(1) M±SD

* P<0.05, ** P<0.01

れE欠乏群とE添加群では差はみられなかった。8週では、クレアチニン量は10%カゼイン低蛋白群のE欠乏群が低値を示した。またクレアチン量は20%カゼイン群、10%カゼイン群ともE欠乏群はE添加群に対して有意の差をもって増加した。クレアチンとクレアチニンの比についてみると、E欠乏群ではこの比の上昇がみられた。特に10%カゼイン低蛋白群のE欠乏群ではその傾向が著しかった。13週では20%カゼイン群のE欠乏群においてクレアチニン量の減少がみられた。クレアチン量は8週のときより増加し、クレアチンとクレアチニンの比はさらに上昇した。

4 血液成分に及ぼす影響

実験開始後8週目に血漿中の総脂質、クレアチン、クレアチニン、磷脂質、GOT、GPT、アルカリ性フォスファターゼ、無機磷、カルシウムについて測定した。結果を第5表に示す。

(1)血漿総蛋白量：20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群の間に差はみられなかった。また20%カゼイン群ではE欠乏群とE添加群、また10%カゼイン低蛋白群のE欠乏群とE添加群の間に差はみられなかった。

(2)クレアチニン及びクレアチン：クレアチニンは20%カゼイン群、10%カゼイン低蛋白群、さらにおのおのE欠乏群、E添加群においても差はみられなかった。

クレアチンは20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群では後者の方が幾分高い値を示した。両群ともE欠乏群とE添加群の間では明らかな差が認められ、E欠乏群にクレアチンの増加がみられた。クレアチンとクレアチニンの比は20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群ともE欠乏群で上昇したが、10%カゼイン低蛋白群でより上昇する現象はみられなかった。

(3)磷脂質：20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群では、後者の方が高い値を示した。また両群においてE欠乏群はE添加群に比べ高い値を示した。とくに10%カゼイン低蛋白E欠乏群は著しい高値を示した。

(4)GOT、GPT：GOTは20%カゼイン群ではE欠乏群はE添加群に比べて明らかに高値を示した。10%カゼイン低蛋白群ではE欠乏群とE添加群との差は著明ではなかった。GPTは20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群の間に差は認められず、両群ともE欠乏群はE添加群に比べ幾分高い値を示した。

第5表 血漿中の成分(8週)

群	総蛋白質 (g/dl)	クレアチニン (mg/dl)	クレアチン (mg/dl)	磷脂質 (mg/dl)	GOT (R・F単位)	GPT (R・F単位)	アルカリ性 フォスファタ ーゼ (K・A単位)	無機 機 磷 (mg/dl)	カルシウム (mg/dl)
1 {20%カゼイン +E	6.1±3.4 ⁽¹⁾	0.9±0.3	1.6±0.2	128±16	23±7	19±5	25.6±1.7	8.1±0.4	9.4±0.2
2 {20%カゼイン -E	5.3±1.8	0.8±0.7	3.2±2.3*	149±4	112±32**	37±14	17.2±1.8**	7.3±0.4*	8.5±1.5
3 {10%カゼイン +E	6.0±0.2	0.8±0.5	2.6±0.7	155±17	67±57	20±13	31.3±3.2**	6.7±0.9**	8.7±0.5
4 {10%カゼイン -E	6.4±0.4	0.9±0.2	3.7±0.5*	178±15*	73±46	35±10*	19.7±4.5	6.0±0.8**	9.1±0.5

(1) M±SD

* P<0.05,

** P<0.01

(5)アルカリ性フォスファターゼ：20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群を比べると、後者は明らかに高値を示した。両群においてE欠乏群はE添加群に比べ明らかに低値を示した。

(6)無機磷，カルシウム：無機磷は20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群を比べると、後者は明らかに低い値を示した。両群においてE欠乏群はE添加群に比べやや低い値を示したが有意の差は認められなかった。カルシウムは20%カゼイン群，10%カゼイン低蛋白群，両群のE欠乏群の間に一定の傾向は認められなかった。

考 察

E欠乏は赤血球の溶血亢進，貧血，食餌性肝障害をひきおこし，また骨の代謝にも影響を与えることが報告されている。これらのことよりEは血液成分に何らかの影響を与えることが予想される。また蛋白質の不足はEの要求を増すのではないかと考えられている。そこで本実験では飼料の蛋白質質を20%カゼインと10%カゼイン（低蛋白）の2群とし，ともにE欠乏をおこさせその成長，赤血球の溶血率，尿中のクレアチニン，クレアチン，血液成分に及ぼす影響について検討した。

10%カゼイン低蛋白群は20%カゼイン群に比較して，発育は幾分劣った（体重が60g前後より実験開始）。20%カゼインのE欠乏群は実験開始9週以後発育の遅延を示した。

10%カゼイン低蛋白のE欠乏群では実験中急死するものが現れた。Hummel ら⁹⁾はEが蛋白質の消耗を抑制し，蛋白の利用を良好にするとし，成長促進作用も核蛋白合成を刺激するためと述べている。本実験において，10%カゼイン低蛋白群でもE添加を行った群はこのような急死例が見られなかった。この事実は，E欠乏は蛋白質の摂取が少ない場合に重要な意義をもつものとも考えられる。E欠乏は赤血球の溶血を亢進させることについてはすでに多くの報告が見られるが，本実験においてもE欠乏により著しく赤血球の溶血の亢進が認められた。Murata ら¹⁴⁾は低蛋白食餌により溶血率は高くなるのと述べているが，本実験では，20%カゼイン群と10%カゼイン低蛋白群ともE欠乏群は溶血率が高く，両群の差は認められなかった。

Zalkin らはウサギをもちいてE欠乏食餌により尿のクレアチン排泄が上昇するのと述べている。Hove はラットをもちいてE欠乏により尿中のクレアチニンは減少し，クレアチンは増加するのと述べている。本実験では実験開始後4週において変化はみられなかったが，8週においてクレアチニン量は10%カゼインE欠乏群にのみ減少がみられた。クレアチン量は，20%カゼイン群，10%カゼイン群ともE欠乏により著しい増加がみられた。クレアチンとクレアチニンの比についてみると，10%カゼインE欠乏群は著しい上昇を示し，蛋白不足の場合にクレアチニン代謝の異常が早く現れるように思われた。Binder ら²⁾はE欠乏症候群のいくつかの病期について，初期の軽度なToc欠乏，中期の赤血球の溶血亢進とクレアチン尿の出現，重病の平滑筋にセロイドの沈着と骨格筋に筋ジストロフィーに似た病変を起す時期に分類しているが，本実験において赤血球の溶血亢進とクレアチン尿の出現の時期についてみると，赤血球の溶血亢進の方が先にE欠乏症状として出現することが認められた。血漿中クレアチニンについては20%カゼイン群，10%カゼイン群ともE欠乏による差はみられず，尿中のクレアチニンが10%カゼインE欠乏群で減少するような傾向はみられなかった。クレアチンは20%カゼイン群，10%カゼイン群ともE欠乏で明らかに増加し，尿中における変化と同じ傾向を示した。クレアチニンは尿中の排泄を減じて血漿中では一定に保たれ，クレアチンは体内における過剰分を体

外に排泄したものと思われる。磷脂質について、福本⁷⁾はウサギを用いてコレステロールとEの併用投与はコレステロールの単独投与より血中の中性脂肪、磷脂質の増加が抑制されるとのべている。本実験においては特に10%カゼイン・E欠乏群で血漿中の磷脂質の著しい増加がみられ、E欠乏によって血漿中の磷脂質が増加することが確認された。Caravaggiら⁸⁾はモルモットにCCl₄を与えると血清のGOTが増加し、Eを投与すると血清のGOTの増加が抑制されるとのべている。また動物の実験的肝傷害に対してEが防禦効果をもつことが報告¹⁶⁾¹⁷⁾されている。本実験において、GOT、GPTは20%カゼイン群、10%カゼイン群ともE欠乏により上昇がみられた。E欠乏により酵素活性が増しているが、その機能は複雑な内容を示すものと推察している。いずれ肝機能とEの関連を示すものと思われた。アルカリ性フォスファターゼは20%カゼイン群、10%カゼイン群とも、E欠乏で減少し、無機燐も減少の傾向を示した。このことはEが骨の代謝と何らかの関係をもっていることが考えられた。

結 論

E欠乏が血液成分に及ぼす影響を検討し、あわせて低蛋白食餌の影響を検討する目的で20%カゼインおよび10%カゼイン低蛋白飼料で飼育したラットにE欠乏を起させ、赤血球の溶血反応、尿中クレアチニンとクレアチン、血液成分について測定し次の結論をえた。

1. 赤血球の溶血率亢進は、実験開始後4週より20%カゼイン群、10%カゼイン低蛋白群ともE欠乏群にみられた。この実験では、投与した蛋白質の量による差はみられなかった。

2. 尿中のクレアチニンとクレアチン

実験開始後4週では群間による違いはみられなかったが8週では20%カゼイン群、10%カゼイン低蛋白群ともE欠乏によりクレアチン尿がみられた。また、10%カゼインE欠乏群でクレアチニンの減少がみられ、クレアチンとクレアチニンの比の著しい上昇がみられた。

3. 血漿中の成分

クレアチン、磷脂質、GOT、GPTは20%カゼイン群、10%カゼイン低蛋白群ともE欠乏により増加し、特に磷脂質は10%カゼイン低蛋白E欠乏群に著しい増加がみられた。アルカリ性フォスファターゼ、無機燐は20%カゼイン群、10%カゼイン低蛋白群ともE欠乏群において、8週では減少がみられた。

4. 10%カゼイン低蛋白群のE欠乏群においてのみ実験中急死するラットが出現したことから、Eの低蛋白で脂肪が比較的多い食事に対しての効果が伺えた。

本論文の要旨は、第29回栄養・食糧学会総会（昭和50.5・京都市）において発表した。

終りに臨み、本研究を行うにあたり御指導並びに御校閲を賜りました岩手医科大学教授若生宏博士、同助教授島山富而博士を始め、常盤学園教授小柳達男博士、当研究室教授鷹嘴テル博士に深謝申し上げます。尚、御協力いただきました当研究室諸姉に感謝いたします。

文 献

1) 赤沢典子, 1977: ビタミン, 51, 141

2) Binder, H. J., Herting, D. C., Hurst, V., 1965: New. Eng. J. Med., 273, 1289

- 3) Caravaggi, C., Ruffledge, P., 1970 : Lab. Pra., 19, 1219
- 4) Chen, L. H., Liao, S., Packett, L. V., 1972 : J. Nutr., 102, 729
- 5) Drapper, H. H., Csallany, A. S., 1969 : J. Nutr., 98, 390
- 6) Friedman, L., Weiss, W., Wherry, F., Kline, O. L., 1958 : J. Nutr., 65, 143
- 7) 福本新一, 1965 : 体質医学研究報告, 16, 1
- 8) Hawk, P. B., Oser, B. L., Summerson, W. H., 1954 : Practical Physiological Chemistry, McGraw-Hill Co. Inc. London.
- 9) Hummel, J. P., Meluille, R. S., 1951 : J. Biol. chem., 191, 391
- 10) 勝山信男, 1969 : 日児誌, 73, 1177
- 11) Murata, K., Ikehata, H., 1965 : Agr. Biol. Chem., 29, 809
- 12) Oski, F. A., Barness, L. A., 1967 : J. Pediatrics, 70, 121
- 13) Rose, C. S., György, P., 1948 : Federation Pro., 8, 1
- 14) Rose, C. S., György, P., 1950 : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 74, 411
- 15) Rose, C. S., György, P., 1952 : Am. J. Physiol., 168, 414
- 16) Schwarz, K., 1944 : Physiol. Chem., 281, 108
- 17) Schwarz, K., 1958 : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99, 20
- 18) 清水 宏, 坂本ノブ, 小川みつ, 藤井高明, 1970 : ビタミン, 42, 343
- 19) Stansterd, H. H., Gabr, M. K., Azzan, S., Shuky, A. S., Weiler, R. I., Din, M. E., Mokhtar, N., Prasad, A. S., Hifney, A. E., Darby, W. J., 1965 : Am. J. Clin. Nutr., 17, 27
- 20) 高松秀寿, 1970 : 岩手医学雑誌, 22, 342
- 21) 若生 宏, 畠山富而, 勝山信男, 伊藤宗行, 都鳥和雄, 1966 : 肝臓, 7, 63
- 22) Whitaker, J. A., Fort, E. G., Vimokesant, S., Dinning, J. S., 1967 : Am. J. Clin. Nutr., 20, 783