

ビタミン欠乏動物の 2, 3 の知見について

— ビタミンB₂欠乏 —

金 行 孝 雄 沖 田 美 佐 子 黒 田 正 清

は じ め に

私達はビタミンB₂欠乏ラットを作製し、尿中遊離アミノ酸の排泄変動、血中のGOTとGPTの低下および副腎組織中のCorticosteroidsの上昇を認めた。¹⁾ 本実験はビタミンB₂欠乏ラットを作製し、2, 3の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 実 験 動 物

ウェスター系ラット（雄，体重約80g）を10匹ずつ2グループに分け1グループは完全配合飼料を他の1グループは完全配合飼料からビタミンB₂（以下B₂）を除いたB₂欠乏食²⁾をそれぞれ練餌として、自由採食，自由給水下で39日間飼育した。

ラットはB₂欠乏食で飼育し始めて35日目から代謝ケージに入れ38～39日目の1日尿をベニンリンGを入れた三角フラスコに集め試料とした。

40日目に断頭，採血後，血清を分離すると共に副腎を別出した。

2. 血 清 中 の GOT と GPT の 測 定 法

血清中のL-Aspartate:2-oxoglutarate aminotransferase (E. C. 2.6.1.1) (GOT) と L-Alanine:2-oxoglutarate aminotransferase (E. C. 2.6.1.2) (GPT) の測定は和光純薬工業株式会社製の血清トランスアミナーゼ測定用S. T. A-Test Wakoを使用した。¹⁾

3. 副 腎 組 織 中 Corticosteroids の 測 定 法

副腎組織中のCorticosteroidsの測定はMurphy³⁾によるcompetitive protein binding methodを使用した。¹⁾

4. 尿 中 お よ び 血 清 中 の 遊 離 ア ミ ノ 酸 の 測 定 法

尿および血清は各グループともブールしたものに各々1%ピクリン酸を加えて除タンパクを行った後，Dowex 1×8 (CL) 型カラムで過剰のピクリン酸を除去し，試料の調整後，日本電子液体クロマトグラフJLC-6AHで遊離アミノ酸を測定した。

実 験 結 果

図1はB₂欠乏飼料および対照飼料で飼育したラットの平均体重をプロットした体重曲線であり，両者の間には明らかに体重増加の差がみられるがB₂欠乏をきたしているかどうかの判定はしていない。

図2は血清中のGOTとGPTの測定値で単位はKarmen単位を使用した。¹⁾ 血清中のGOTは対照区 25.7 ± 11.2 Karmen (n=10) 欠乏区 20.2 ± 12.2 Karmen (n=9) であった。GPTは対照区 5.3 ± 1.1 Karmen で欠乏区は 0.33 ± 1.0 Karmen であった。

図3はラット副腎重量と副腎Corticosteroids量を表わしたもので副腎重量は両側の副腎を

合わせたもので対照区 $34 \pm 4 \text{ mg}$ ($n=10$), 欠乏区 $28 \pm 5 \text{ mg}$ ($n=9$) であり副腎中の Corticosteroids の量は対照区 $0.61 \pm 0.16 \text{ } \mu\text{g}/\text{adr}$, 欠乏区 $0.46 \pm 0.15 \text{ } \mu\text{g}/\text{adr}$ であった。

表 1 は尿中および血清中の遊離アミノ酸の測定値で血清中の遊離アミノ酸は $\mu\text{M}/\text{ml}$ で尿中のものは $\mu\text{M}/\text{day}$ で表わした。

考 察

ビタミン B_2 欠乏の指標には体重変化を使用し、血中の B_2 量の測定は行わなかったが、有井⁴⁾ は欠乏食で飼育し始めて 5~6 週間で欠乏をきたしていることを認めていることと、図 1 に示すように欠乏区では明らかな体重低下がみられることから B_2 欠乏を起していると判定した。

血清中の GOT および GPT については GOT では有意差がみられなかったが GPT では明らかに欠乏区で低値を示した。

副腎組織は顕微鏡観察によると皮質層が破かいされており(写真 1.2), 副腎組織中の Corticosteroids の値は欠乏区で有意の減少を示した ($P < 0.05$)。このことは肝臓において GPT が糖コルチコイド投与によって 2~5 倍と著しく増加すること^{5~6)} と関係があるものと思われる。

尿中の遊離アミノ酸は欠乏区でタウリン、アスパラギン酸、 β -アラニン、 γ -アミノ酪酸とプロリンが増加傾向にあり、スレオニンとヒドロキシプロリンは著明な増加を示した。

血清中の遊離アミノ酸はタウリンが増加し、アスパラギン酸とヒドロキシプロリンが減少した。

タウリンについては小柳ら^{7~8)} は宮城県内の一地区において県平均よりも体格がかなり劣っている学童について尿中タウリンの排泄が水溶性ビタミンの投与によって減少すると共に尿中への 17-OH コルチコイド排泄が減少したことを述べていることから B_2 欠乏と尿中ならびに血清中のタウリンの増加については更に検討する必要がある。

尿中スレオニン排泄の増加はビタミン B_6 欠乏時と同様と考えるがアミノ酸分析機の進歩により尿中、血中のアミノ酸の分析が更にくわしく行われるようになった現在、これらのアミノ酸の変化について検討が必要である。

これらのアミノ酸の中でヒドロキシプロリンの変化は B_2 とコラーゲン代謝の関係を示唆することが考えられる。

ビタミン B_2 欠乏ラットにおいて

1. 血清中の GOT には変化がなかったが、GPT は低値であった。
2. 副腎皮質組織中の Corticosteroids 値は有意の減少を示した。
3. 尿中の遊離アミノ酸のタウリン、アスパラギン酸、 β -アラニン、 γ -アミノ酪酸とプロリンが増加傾向にあり、スレオニンとヒドロキシプロリンは著明な増加を示した。
4. 血清中の遊離アミノ酸はタウリンが増加し、アスパラギン酸とヒドロキシプロリンが減少した。

本論文の要旨は第 7 回日本栄養・食糧学会、中国四国支部大会で発表した。

図1 成長曲線

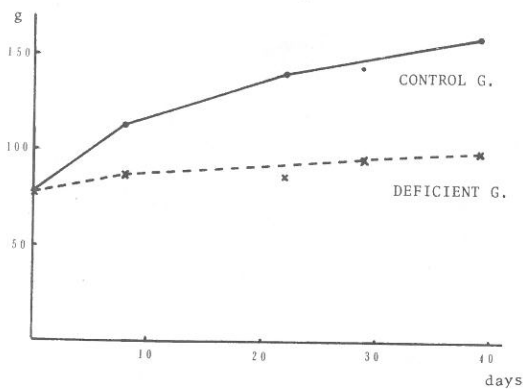


図2 GOT, GPT ACTIVITY IN SERUM ²³³

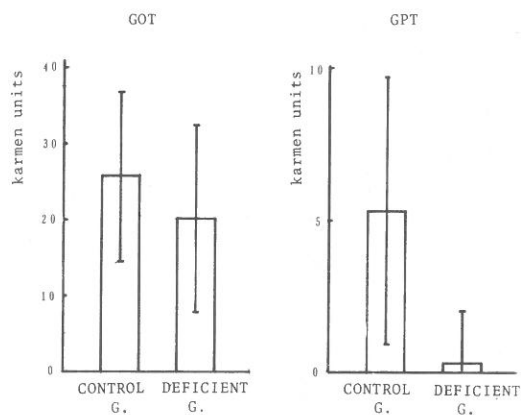


図3

WEIGHT OF ADRENALS CORTICOSTERONE IN ADRENAL

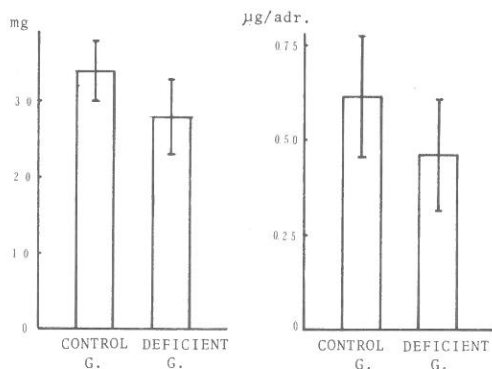


表1. FREE AMINO ACIDS IN SERUM AND URINE

| AMINO ACID | SERUM $\mu\text{M}/\text{ML}$ | | URINE $\mu\text{M}/\text{DAY}$ | |
|----------------|-------------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|
| | CONTROL | DEFICIENT | CONTROL | DEFICIENT |
| P-Ser | 0.032 | 0.001 | 0.954 | 1.033 |
| Tau | 0.193 | 0.255 | 1.323 | 2.350 |
| P-E-Amin | 0.032 | — | — | 0.570 |
| Asp-A | 0.376 | 0.060 | 0.612 | 2.810 |
| Thr | 0.362 | 0.454 | 1.264 | 6.310 |
| Ser | 0.168 | 0.196 | 0.580 | 1.210 |
| Glu-A | 0.236 | 0.447 | 0.414 | 0.820 |
| Glu-N | 0.121 | — | 0.616 | 0.830 |
| Gly | 0.169 | 0.251 | 1.278 | 2.820 |
| Ala | 0.194 | 0.221 | 0.864 | 1.550 |
| α -AnBA | 0.004 | 0.005 | 0.013 | — |
| Val | 0.115 | 0.146 | 0.459 | 0.530 |
| Cys | — | — | 0.054 | 0.050 |
| Met | 0.015 | 0.022 | 0.040 | 0.080 |
| Cysta | 0.032 | 0.001 | 1.836 | 1.310 |
| Ileu | 0.065 | 0.067 | 0.423 | 0.470 |
| Leu | 0.104 | 0.106 | 0.531 | 0.690 |
| Tyr | 0.041 | 0.040 | 0.620 | 0.350 |
| Phe | 0.034 | 0.053 | 0.742 | 0.480 |
| β -ABA | 0.001 | — | 0.004 | — |
| β -Ala | — | — | — | 0.790 |
| γ -AnBA | — | — | 0.045 | 0.220 |
| Orn | 0.028 | 0.027 | 0.090 | 0.170 |
| Lys | 0.199 | 0.218 | 0.531 | 1.840 |
| Car | — | 0.015 | 0.801 | 1.010 |
| His | 0.033 | 0.038 | — | — |
| 1-M-His | — | — | 0.423 | 0.700 |
| 3-M-His | — | — | 0.162 | 0.580 |
| Arg | 0.084 | 0.076 | 0.283 | 0.180 |
| Pro | 0.050 | 0.031 | 0.108 | 0.450 |
| Hydroxy pro | 0.872 | 0.207 | 1.219 | 6.540 |

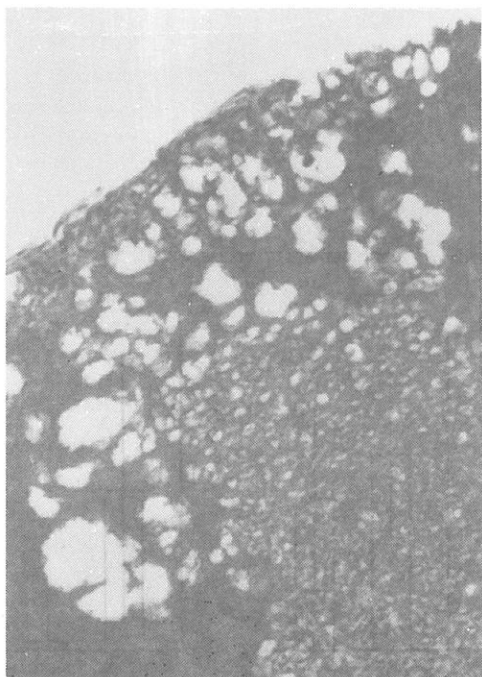


写真 1

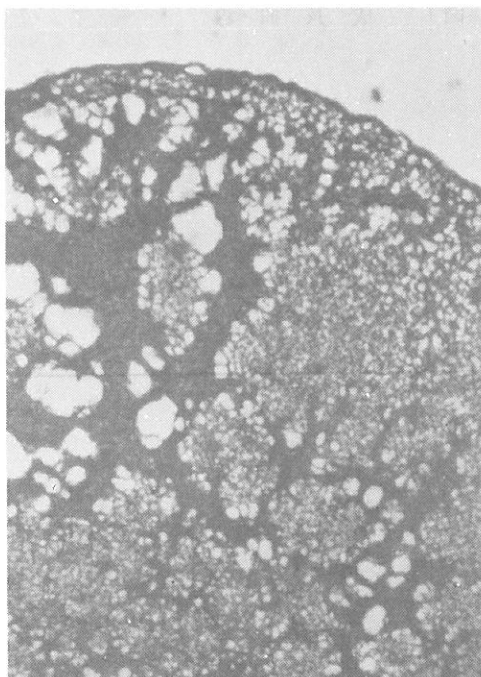


写真 2

写真1. B₂ 欠乏ラット副腎組織の脂肪染色をしたもので第1,2層とも著明な萎縮変性の上に濃厚な融合した脂肪が充満し, 明らかな変性像。第3層もむしろ脂肪顆粒は少なく, 部分的には微細な脂肪顆粒が充満しているが萎縮が著しい。

写真2. B₂ 欠乏ラット副腎組織のヘマトキシリン・エオシン染色で第1層は膜様に萎縮し, 残った部分は大きく空胞化し, そのいくつかが融合して欠落した部分を作っている。全体的に染まりが悪く, 第2層の構築も著しく乱れ全体に空胞化が進み, 融合して巨大な網の目状となる。そのような部分では核も形をかえて三角形あるいはやせたえんどう型を呈し, わずかに残った柵状の部分は巨大な欠落部をとり囲んで枯木状の柵を作り, ほとんど繊維状に変化している。第3層は萎縮像を示す。空胞はやや小さいが第2層と同様核の変形あり。

文 献

1. 沖田美佐子, 金行孝雄, 黒田正清: 岡山県立短期大学研究紀要 19 (1975)
2. 金行孝雄, 黒田正清: 岡山県立短期大学研究紀要 15. 1 (1971)
3. Murphy, B. P.; J. Clin. Endocr. 27. 973 (1967)
4. 有井義公: ビタミン 20. 49 (1960)
5. Chalmero, T. M. & Lewis, A. A. G: Lancet. 2. 1158 (1951)
6. Rosen, F., Roberts, N. R., Bunich, L. E. & Nichol, C. A: Endocrinology. 65. 256 (1959)
7. 小柳達雄, 上西きよ, 田中零子, 高崎芙美: ビタミン 31. 207 (1965)
8. 小柳達雄, 諏訪純一, 高泉克子, 右黒弘三: ビタミン 36. 130 (1967)