

## 低蛋白食摂取ラットにおけるビタミン E 栄養状態

里 村 由紀子・ナワラット・チャレアンポン・木 村 美恵子・糸 川 嘉 則  
(京都大学医学部衛生学教室\*)

### Vitamin E Status in Rats Fed Low-Protein Rations

Yukiko SATOMURA, Nawarat CHAREANGPONG, Mieko KIMURA and Yoshinori ITOKAWA

*Department of Hygiene, Faculty of Medicine, Kyoto University*

Protein-calorie malnutrition is still a serious problem in developing countries. It is well-known that low-protein diet causes deficiency of trace nutrients. But the influence of low-protein diet on vitamin E status is not completely clear yet.

We studied the influence of low-protein diet on vitamin E status using male Wistar 3 week-old rats. The rats were divided into 3 groups: group 1; 5% casein, group 2; 10% casein, group 3 (control group); 20% casein. They were fed ad libitum for 6 weeks. Tocopherols in plasma, liver, kidney, brain, spleen and testis were measured by HPLC-fluorometric method.

$\alpha$ -Tocopherol concentration in liver, kidney and plasma of rats fed 5% casein diet were significantly low compared with those of rats fed 20% casein diet.  $\alpha$ -Tocopherol in liver and kidney of rats fed 10% casein diet were also significantly low compared with those of rats fed 20% casein diet. A uniform relationship between  $\beta, \gamma$ -Tocopherols concentrations in tissues and protein concentration in diet was not found.

The results in this study suggest that protein-malnutrition at growing age influences vitamin E status.

低開発国における栄養不良<sup>1-4)</sup>など低蛋白食による低栄養状態は、いまだに種々の問題を残している。また低蛋白食では微量栄養素の欠乏やアンバランスをきたすこと<sup>3,5)</sup>も知られている。しかし、ビタミン E と蛋白質とりわけ低蛋白食に関する詳細な報告は少ない<sup>6,7)</sup>。

一方、成長期におけるビタミン E 栄養状態や必要性についての関心は、比較的低いのが現状である。

---

\*所在地：京都市左京区吉田近衛町（〒606）

今回我々は3週齢のウイスター系雄幼弱ラットを用い低蛋白食が成長期のビタミンE栄養状態に及ぼす影響について検討を加えた。

### 材料と方法

動物：ウイスター系 3週齢 雄ラット

試薬：トコフェロール

2,2,5,7,8-ペンタメチル-6-ヒドロキシクロマン

ビタミンE同族体セット 生化学分析用試薬  
(エーザイ株式会社)

他の試薬は半井テスクのHPLC用試薬を用いた。

実験計画：

ウイスター系3週齢雄ラット31匹を、市販固形MF飼料(オリエンタル酵母社製)で4日間予備飼育した後3群にわけ、蛋白含有量の異なる3種の飼料(Table 1)を6週間自由摂食させた。12時間絶食させた後、ソムノペンチル麻酔下にて腹部大動脈より採血し、失血死後直ちに各種臓器を摘出、秤量した。試料は遮光、凍結、窒素ガス中保存とし、各組織(血漿、脳、肝臓、腎臓、精巣、脾臓)におけるトコフェロール濃度を測定した。

**Table 1.** Composition of experimental rations

	① 5%Casein	② 10%Casein	③ 20%Casein
Casein	5.0(%)	10.0(%)	20.0(%)
Sucrose	48.225	43.15	33.0
Starch	30.0	30.0	30.0
Olive oil* <sup>1</sup>	10.0	10.0	10.0
Cellulose	2.0	2.0	2.0
Salt mixture <sup>12)</sup>	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture* <sup>2</sup>	0.5	0.5	0.5
Choline chloride	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine	0.075	0.15	0.3

\*<sup>1</sup> Tocopherols content in olive oil

α-Tocopherol 85 μg/g

β-Tocopherol 11 μg/g

γ-Tocopherol 11 μg/g

\*<sup>2</sup> Composition of vitamin mixture (per 100g diet)

Vitamin A palmitate 1250 I.U.

Calciferol 100 I.U.

Thiamin nitrate 500 μg

Riboflavin 750 μg

Niacin 5000 μg

Pyridoxine hydrochloride 500 μg

Folic acid 250 μg

Cyanocobalamine 0.5 μg

Pantothenic acid 2500 μg

Ascorbic acid 18750 μg

DL-α-Tocopherol 500 μg

組織からの抽出方法は、血漿<sup>8)</sup>、肝臓<sup>9)</sup>、については阿部、勝井らの方法を用い、他の臓器については Kaseki らの鹼化法<sup>10)</sup>を用いた。

測定には HPLC-蛍光検出法を用い、2,2,5,7,8-ペンタメチル-6-ヒドロキシクロマン (PMC) を内部標準物質として使用した。

HPLC の条件<sup>11)</sup>は以下に示す通りである。

ポンプ：Shimadzu LC 3 A

カラム：Shimadzu pNH<sub>2</sub> (25cm×4.0mm φ I.D.)

検出器：Shimadzu spectrofluorophotometer

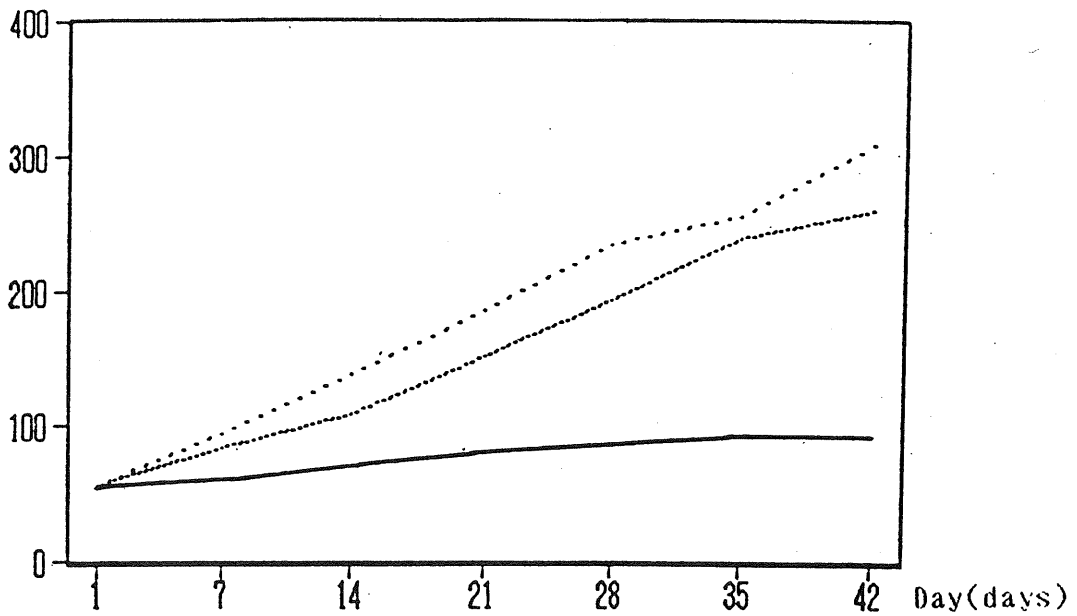
RF500 Ex.298nm Em.325nm

移動相：ノルマルヘキサン：イソプロパノール 98：2

流量：0.8ml/min.

試料溶媒：ノルマルヘキサン

Body Weight(g)



— 5%Casein ··· 10%Casein ··· 20%Casein

Fig. 1. Growth curve.

## 結 果

### (a) 体重の推移 (Fig. 1)

実験開始時の平均体重は、5%カゼイン群;55.8g, 10%カゼイン群;56.5g, 20%カゼイン群(正常群);56.0gと各群相互に有意差を認めなかった。 $(p>0.01)$

実験開始後1週間で、5%カゼイン群は他の群に比べ有意に低体重を示すようになった。10日以後は、10%カゼイン群も正常群に比べて有意に低体重となった。

実験終了時の平均体重は、5%カゼイン群;92.3g, 10%カゼイン群;259.3g, 正常群;307.9gとなり、全ての群の間に有意差 $(p<0.01)$ を認めた。

### (b) 組織中のトコフェロール濃度

#### (1) $\alpha$ -トコフェロール濃度 (Fig. 2)

5%カゼイン群の血漿、肝臓、腎臓、10%カゼイン群の肝臓、腎臓中の $\alpha$ -トコフェロール濃度は、正常群に比べ有意 $(p<0.01)$ に低値を示した。5%カゼイン群と10%カゼイン群の間でも血漿、肝臓、腎臓では有意差 $(p<0.01)$ を認めた。

今回測定した他の全ての組織でも、有意ではないが、5%カゼイン群及び10%カゼイン群の組織中 $\alpha$ -トコフェロール濃度は正常群に比べ低い傾向が認められた。

#### (2) $\beta$ -トコフェロール濃度 (Fig. 3)

血漿、5%カゼイン群の腎臓では、 $\beta$ -トコフェロールは検出できなかった。血漿及び各組織中の $\beta$ -トコフェロール濃度では、正常群との間に有意差は認められなかった $(p>0.01)$ 。5%カゼイン群と10%カゼイン群の間では、精巣で有意差 $(p<0.01)$ を認めた。

飼料中のカゼイン含有量と組織中 $\beta$ -トコフェロール濃度の間には一定の傾向は、みられなかった。

#### (3) $\gamma$ -トコフェロール濃度 (Fig. 4)

5%カゼイン群の血漿では、 $\gamma$ -トコフェロールは検出できなかった。5%カゼイン群の脳中 $\gamma$ -トコフェロール濃度は、正常群と比べて有意 $(p<0.01)$ に低値を示した。5%カゼイン群と10%カゼイン群の間でも、脳、精巣では有意差 $(p<0.01)$ を認めた。

飼料中のカゼイン含有量と組織中 $\gamma$ -トコフェロール濃度の間に一定の傾向は認められなかった。

#### (4) $\delta$ -トコフェロール濃度

今回測定した血漿、組織では、 $\delta$ -トコフェロールは検出できなかった。

## 考 察

今回の実験結果より、他の微量栄養素<sup>13,14)</sup>と同様、成長期における蛋白質摂取量が、ビタミンE栄養状態にも影響を及ぼしていることが明らかとなった。Rajaramら<sup>6)</sup>により低蛋白摂取では $\alpha$ -トコフェロールの吸収低下をきたすことが、また毛利ら<sup>7)</sup>により低蛋白食では赤血球、腎臓などで $\alpha$ -トコフェロールが低下することが報告されているが、本実験結果はこれらの報告を支持するものである。低開発国の低栄養児についても、Bergenら<sup>15)</sup>がインドネシア西部ジャワ地方の就学前の児童では、ビタミンAだけでなくビタミンEも欠乏していると報告しており、今後は低蛋白栄養状態下でも、ビタミン

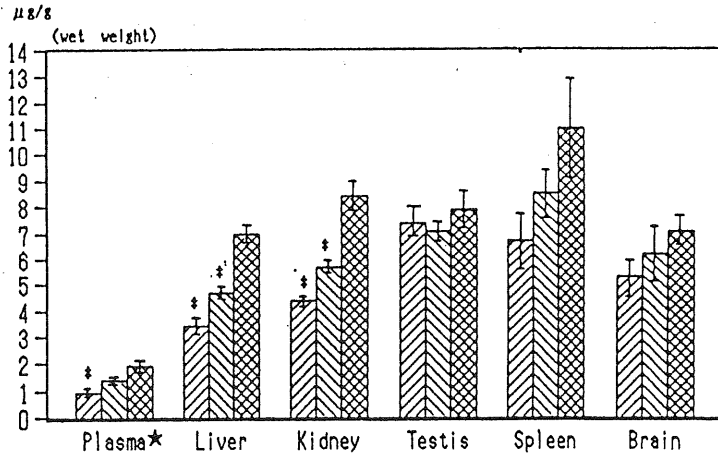


Fig. 2. Content of  $\alpha$ -Tocopherol in rat tissue.

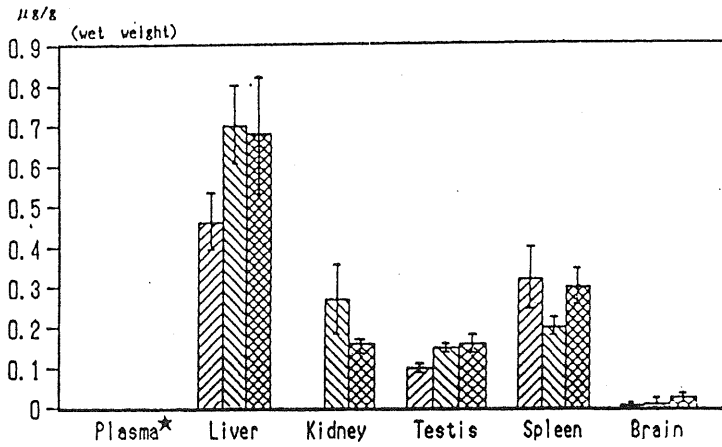
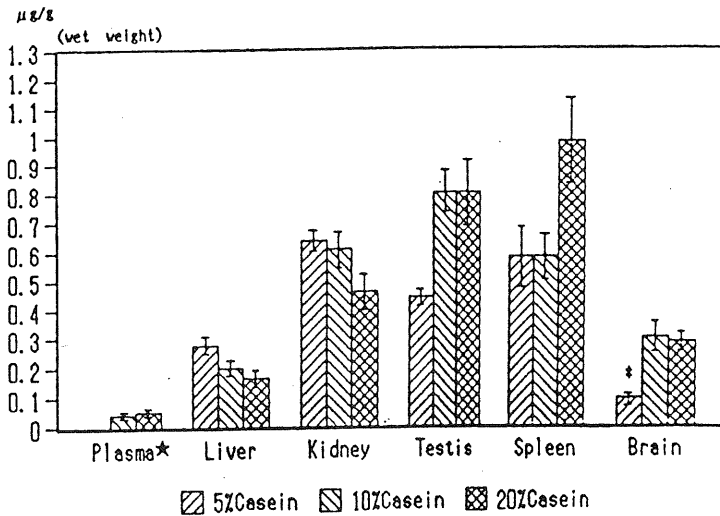


Fig. 3. Content of  $\beta$ -Tocopherol in rat tissue.



5%Casein 
  10%Casein 
  20%Casein  
 ‡; Significantly different from 20% casein group ( $p < 0.01$ )    ] ;  $\pm$  S.E.    \*;  $\mu\text{g/ml}$

Fig. 4. Content of  $\gamma$ -Tocopherol in rat tissue.

Aなどとあわせ、ビタミンE栄養状態についても注意していく必要があると考えられる。

低蛋白栄養により組織中 $\alpha$ -トコフェロールは低下するが、 $\beta$ 、 $\gamma$ -トコフェロールでは異なった結果が得られた。ビタミンE栄養状態を検討する際、 $\alpha$ -トコフェロールだけでなく、 $\beta$ 、 $\gamma$ -トコフェロールについてもあわせて検討していくことは興味ある問題と考えられる。

6週間の総摂食量の平均値は、5%カゼイン群では250g、10%カゼイン群では523g、正常群では542gと、5%カゼイン群のラットは正常群に比べて摂食量が有意に( $p < 0.01$ )少なかった。組織中の $\alpha$ -トコフェロール濃度の変化が単に摂食量の差によるのか、低蛋白摂取自体の影響によるのかについては現在検討中である。

## 文 献

1. SCRIMSHAW, Nevin S. and Moises BEHAR (1961) Science 133 No. 3470 : 2039
2. LATHAM, Michael C. (1974) Physiol. Rev. 54 No. 3 : 541
3. TRUSWELL, A. Stewart (1985) Br. Medical J. 291 : 525, 587
4. HOPE, Ruth (1985) Br. Medical J. 291 : 602
5. KIRSCH, R. E., J. F. BROCK and S. J. SAUNDERS (1968) The Amer. J. Clin. Nutr. 21 No. 8 : 820
6. RAJARAM, O. V., Prema FATTERPAKER and A. SREENIVASAN (1977) Br. J. Nutr. 37 : 157
7. 毛利佳世, 早船佳子, 五十嵐脩 (1986) J. Nutr. Sci. Vit. 32 : 147
8. 阿部皓一, 勝井五一郎 (1975) ビタミン 49 : 259
9. 阿部皓一, 大前雅彦, 勝井五一郎 (1976) ビタミン 50 : 453
10. KASEKI. Hisayuki, Edward Y. KIM, Ronald L. WHISLER and David G. CORNWELL (1986) J. Nutr. 116(9) : 1631
11. 勝井五一郎 (1983) 日本ビタミン学会編 ビタミン学実験法1 東京化学同人 pp.194-228
12. MAMEESH, M.S. and B. Connor JOHNSON (1958) J. Nutr. 65 : 161
13. S.M.アーメッド, 木村美恵子, 山川知之, 糸川嘉則 (1986) マグネシウム 5巻 1号 : 15
14. AHMED, S. M., M. KIMURA and Y. ITOKAWA (1988) Trace Nutr. Res. No. 4 : 121
15. BERGEN H. R., G. NATADISASTRA, H. MUHILAL, A. DEDI, D. KARYADI and J. A. OLSON (1988) Am. J. Clin. Nutr. 48 : 279