

## 血漿および脳中ビタミンK濃度の性による違い ～肥満ラット(Minko rat)に関する研究(10)～

武田厚子<sup>1,2)</sup>, 平池秀和<sup>1,3)</sup>, 初田直樹<sup>3)</sup>, 上野菜採<sup>1)</sup>, 今西雅代<sup>1)</sup>,  
武田隆司<sup>1)</sup>, 武田隆久<sup>1,3)</sup>, 玉井浩<sup>2)</sup>, 木村美恵子<sup>1,3)</sup>

(<sup>1)</sup>タケダライフサイエンスリサーチセンター・疾病予防センター\*, (<sup>2)</sup>大阪医科大学小児科\*\*,

<sup>3)</sup>京都大学大学院医学研究科社会医学系\*\*\*)

### 【序】

血液凝固系に關与するビタミンK (VK) 欠乏による新生児消化管出血や乳児頭蓋内出血は, 母乳栄養児に多く<sup>1) 2)</sup>, 母親のVK摂取不足や, 母体血中VKの胎児への移行が低いこと等<sup>3) 4)</sup> が主な原因と考えられている。脂溶性であるVKの吸収はリンパ系を介して行われ, 十二指腸と空腸から吸収された後, カイロミクロンにより, 目的臓器に運ばれるが, 脂質吸収の障害をもたらす条件下では, VKの吸収も阻害されるなど, VKと脂質代謝は密接な関係にあることが報告されている<sup>5)</sup>。また, 我々は1992年, Wistar系雄ラットを用いた栄養実験中, 体格の非常に大きいラットを見出し, 継代飼育し, Minkoラットと命名, 現在, 32世代を経ている。本Minkoラットは, 高体重, 高中性脂肪・高コレステロール血症, 腹腔内への高度の脂肪蓄積など脂質代謝異常を特色とする。今回, 遺伝的に脂質代謝異常をもつと考えられるMinkoラットのVK栄養状態(血漿中及び脳中VK濃度)について, 対照群ラット(Wistar系)と比較検討した。同時に, VK濃度の性差についても検討した。

### 【実験方法】

25週齢の雌雄Wistar系ラット(対照群: Control)およびWistar系遺伝的高体重・高脂血症ラット(Minko rat)を一晩絶食後, ネブタール麻酔下にて腹部大動脈から採血し, 一部は遠心して血漿を得た。脱血死後, 脳を摘出した。血漿中, 脳中VK類はプレカラムスイッチングを用いた平池らの白金カラム還元HPLC蛍光法<sup>6) 7)</sup>にて測定した。

### 【実験結果】

#### 1. 血漿中VK濃度

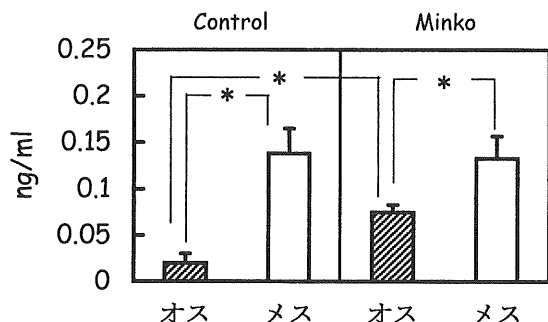
血漿中Menaquinone-4 (MK-4)濃度は, 図1に示すように, ControlラットとMinkoラットを比較すると, 雄ではControl:  $0.020 \pm 0.010$  ng/ml, Minko:  $0.075 \pm 0.008$  ng/mlとMinkoが有意に高値であったが, 雌ではControl:  $0.138 \pm 0.027$  ng/ml, Minko:  $0.133 \pm 0.024$  ng/mlと有意差は認められなかった。雌雄を比較すると, Controlでは雄:  $0.020 \pm 0.010$  ng/ml, 雌:  $0.138 \pm 0.027$  ng/mlと雌が有意に高値, Minkoでも, 雄 $0.075 \pm 0.008$  ng/ml, 雌 $0.133 \pm 0.024$  ng/mlと雄と比較して, 雌が有意に高値であった。

血漿中VK1濃度は, 図2に示すように, ControlラットとMinkoラットを比較すると, 雄ではControl:  $0.180 \pm 0.057$  ng/ml, Minko:  $0.045 \pm 0.008$  ng/mlとMinkoが有意に低値をとり, 雌では, Control:  $0.076 \pm 0.024$  ng/ml, Minko: 雌 $0.098 \pm 0.021$  ng/mlと有意差は認められなかった。雌雄を比較すると, Controlラットでは雄:  $0.180 \pm 0.057$  ng/ml, 雌:  $0.076 \pm 0.024$  ng/mlで有意な差は認められなかった。Minkoラットでは雄:  $0.045 \pm 0.008$  ng/ml, 雌:  $0.098 \pm 0.021$  ng/mlと雄に比べ雌が有意に高値であった。

\*所在地: 京都市下京区中堂寺南町134 (〒600-8813)

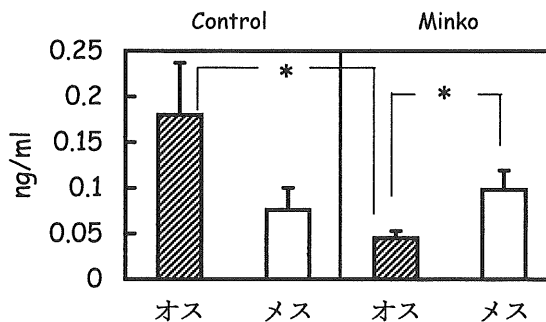
\*\*所在地: 高槻市大学町2-7 (〒569-8686)

\*\*\*所在地: 京都市左京区吉田近衛町 (〒606-8315)



Data are mean ± S.E.  
\*Significant difference (p < 0.05)

**Fig. 1** Concentration of MK-4 in plasma



Data are mean ± S.E.  
\*Significant difference (p < 0.05)

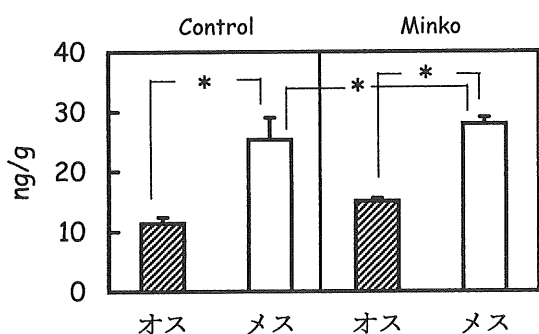
**Fig. 2** Concentration of VK1 in plasma

2. 脳中VK濃度

脳中MK-4濃度は、図3に示すように、ControlラットとMinkoラットを比較すると、雄ではControl : 11.36 ± 1.02 ng/g, Minko : 14.76 ± 0.40 ng/gと有意差はなく、雌では、Control : 25.28 ± 3.69 ng/g, Minko : 26.43 ± 0.86 ng/gとControlに比べMinkoが有意に高値であった。雌雄を比較すると、Controlラットでは、雄 : 11.36 ± 1.02 ng/g, 雌 : 25.28 ± 3.69 ng/gと雄に比べ雌が有意に高値であった。Minkoラットでも雄14.76 ± 0.40 ng/g, 雌26.43 ± 0.86 ng/gと雄に比べ雌が有意に高値であった。

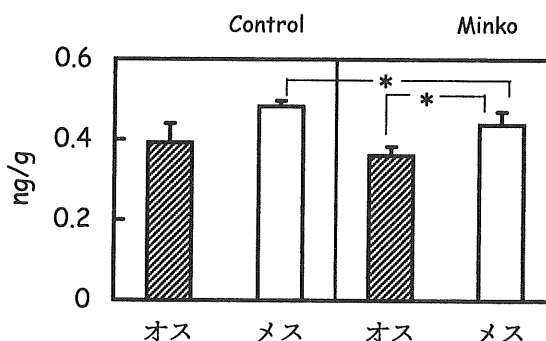
脳中VK1濃度は、図4に示すように、ControlラットとMinkoラットを比較すると、雄では、Control : 0.392 ± 0.048 ng/g, Minko : 0.329 ± 0.017 ng/gと有意差はなく、雌では、Control : 0.483 ± 0.014 ng/g, Minko : 0.395 ± 0.024 ng/gとControl群が高値の傾向にあった。

雌雄を比較すると、Controlラットでは雄 : 0.392 ± 0.048 ng/gに対して、雌 : 0.483 ± 0.014 ng/gと雌で高値の傾向が認められた。Minkoラットでも、雄 : 0.329 ± 0.017 ng/g, 雌 : 0.395 ± 0.024 ng/gと雄に比べ雌が有意に高値であった。



Data are mean ± S.E.  
\*Significant difference (p < 0.05)

**Fig. 3** Concentration of MK-4 in brain



Data are mean ± S.E.  
\*Significant difference (p < 0.05)

**Fig. 4** Concentration of VK1 in brain

## 【考 察】

脂溶性ビタミンであるVKは生体内の脂質代謝と関わっている<sup>5)</sup>。遺伝的に脂質代謝異常をもつMinko ratでは、VK栄養に何らかの影響を持つことが予測されるが、これまでに報告はない。本実験結果から、遺伝的高脂質体質を持つ本Minko ratでは、Control群に比較して、血漿中の活性型であるMK-4濃度が血漿および脳中ともに高値をとり、K-1は必ずしも高値をとらないことが明らかとなった。即ち、Minko ratはVK栄養が良好であることを示していると考えられる。

また、今回の結果では、ラットの血漿中ならびに脳中MK-4濃度は雌で高値をとった。これまでのラット雌雄のVK栄養状態を比較検討した報告では、脳中VK1濃度には有意差は認められなかったが、脳中MK-4濃度は雌が高値であった<sup>8)</sup>、同じ体重の雌雄のラットで飼料中VKの必要量を比較すると、雌は雄ほど多くを必要としない<sup>9)</sup>、雄ラットは雌ラットよりもVK欠乏に陥り易い<sup>10)</sup>などと報告されている。今回の結果は、ラットの生体内VK濃度には性差があるというこれまでの報告を支持するものである。我々はVK類の内、活性型はMK-4であると<sup>11)</sup>報告しているが、Control、Minkoラットともに雌の血漿中・脳中のMK-4濃度は雄より有意に高値を示し、雌は雄よりもVK活性が高いことが示唆される。このことは、仔をたくさん産むラットの雌はK1から活性型であるMK-4への変換活性が高い、あるいは組織内に貯蔵するメカニズムが存在する可能性が考慮される。しかし、ラットの精巣中にも高濃度のMK-4が存在することを確認しており<sup>12)</sup>、雌雄ではVKの分布パターンが異なるのかもしれない。VK依存性血液凝固因子の一つでヒト血清に存在するprotein Sは、アンドロゲン（男性ホルモン）binding proteinと同じC末端構造を持っているという報告もあり、<sup>13)14)</sup>生体内MK-4濃度は性的要因が関係している可能性も示唆される。

ControlラットとMinkoラットのVK濃度を比較すると、雌ラット間には有意の差異は認められなかったが、雄では、Minkoラットの血漿中K1濃度の有意の低値、そして血漿中、脳中MK-4濃度の有意の高値を示した。Minkoラットは、血漿中コレステロール、中性脂肪が高く脂質代謝異常が考えられている。循環しているVK濃度は高脂血症で増加すること<sup>15)</sup>や、VK-1は大部分が肝臓に集中して存在しているが、MK-4はtriacylglycerol-rich lipoprotein, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein分画に見出され、肝外の組織に広く分布しているとの報告<sup>16)</sup>もあり、MinkoラットのMK-4値が高値であるのは、高コレステロール、高中性脂肪血症との関連が強く示唆された。

従来、VKは凝固系でのみはたらきが注目されてきたが、現在は、骨代謝でのみはたらきがより注目を浴びている。しかし、明瞭な雌雄差、脳での高濃度MK-4の存在などにみられる臓器特異的な存在パターンなどもあり、未だ明らかではないはたらきが隠されているようである。

## 【文 献】

- 1) LANE, P.A. and W.E. HATHAWAY (1985) J. Pediatr. 106: 351.
- 2) 馬場一雄 (1982) 新生児へのビタミンK使用の歴史, 周産期医学, 12 : 1017 - 1020.
- 3) Shearer, M.J., Rahim, S., Barkhan, P. and Stimmler, L. (1982): Plasma vitamin K1 in mothers and their newborn babies, The Lancet, August 28, 460 - 463.
- 4) 白幡 聡, 中村外士雄 (1985) ヒト生体試料中のvitamin K1 (phylloquinone) およびvitamin K2 (menaquinones) 同族体の個別測定, Blood & Vessel, 16 : 395 - 401.
- 5) Savage D, Lindenbaum J. (1983) : Clinical and experimental human vitamin K deficiency. In Lindenbaum J (ed), Nutrition in hematology. Churchill Livingstone, New York : pp271 - 320.
- 6) HIRAIKE, H., M. KIMURA and Y. ITOKAWA (1988): Determination of K vitamins (phylloquinone and menaquinones) in umbilical cord plasma by a platinum-reduction column J. Chromatogr. 430: 143 - 148.
- 7) HIRAUCHI, K., T. SAKANO and MORIMOTO (1986) Chem. Pharm. Bull. 34: 845.
- 8) Huber AM, Davidson KW, O'Brien-Morse ME, Sadowski JA. (1999): Tissue phylloquinone and menaquinones in rats are affected by age and gender J Nutr. 129: 1039 - 44.

- 9) Huber AM, Davidson KW, O'Brien-Morse ME, Sadowski JA, (1999): Gender differences in hepatic phyloquinone and menaquinones in the vitamin K-deficient and -supplemented rat. *Biochim Biophys Acta*: 1426, 43 - 52.
- 10) Matsuura T, Satoh S, Takano K, Harauchi T, Yoshizaki T, Kobayashi F, Matsubara T, Uchida K (1998): Vitamin K-reversible hypoprothrombinemia in rats. I. Sex differences in the development of hypoprothrombinemia and the effects of beta-lactam antibiotics. *Jpn J Pharmacol* .46: 303 - 10.
- 11) 三浦みどり, 平池秀和, 木村美恵子, 糸川嘉則 (1990) ラット (血漿・脳組織) におけるビタミンK1からメナキノ-4への変換について *Vitamins (Japan)* 64 (8): 459 - 462.
- 12) 肥後匡子, 平池秀和, 木村美恵子, 糸川嘉則 (1992) ラット精巢におけるビタミンK1及びメナキノ-4投与後のビタミンK類の動態について *微量栄養素研究* (9): 29 - 33.
- 13) BAKER, M. E., F. S. FRENCH and D. R. JOSEPH (1987) *J. Biochem.* 243: 293.
- 14) GERSHAGEN, S., P. FERNLUND and A. LUNDWALL (1987) *FEBS Lett.* 220: 129
- 15) Shearer MJ, McBurney A, Barkhan P. (1974): Studies on the absorption and metabolism of phyloquinone (vitamin K1) in human. *Vitam Horm.* 32:513-542)(Sadowski JA, Hood SJ, Dallal GE, Garry PJ. (1989): Phyloquinone in plasma from elderly and young adults: factors influencing its concentration. *Am J Clin Nutr.* 50:100 - 108.
- 16) Schurgers LJ, Vermeer C (2002 Feb 15): Differential lipoprotein transport pathways of K-vitamins in healthy subjects. *Biochim Biophys Acta* .1570:27 - 32.