

イヌにおける肝臓疾患の血清生化学診断指標と血漿ビタミン C 濃度の関係

森 広 健一郎¹⁾, 菱 山 信 也²⁾, 舟 場 正 幸¹⁾, 松 井 徹¹⁾⁽¹⁾京大院・農・動物栄養*, ⁽²⁾菱山動物病院**)**Relationship between Plasma Concentrations of Vitamin C and Serum Biochemical Parameters Related to Liver Diseases in Dogs**Ken-ichiro MORIHIRO¹⁾, Nobuya HISHIYAMA²⁾, Masayuki FUNABA¹⁾ and Tohru MATSUI¹⁾¹⁾Graduate School of Agriculture, Kyoto University, ²⁾Hishiyama Animal Hospital**Summary**

A relationship between plasma concentrations of vitamin C and serum biochemical parameters related to liver diseases was examined in 48 dogs hospitalized for diagnosis and treatments of diseases including liver disturbance. Plasma concentration of vitamin C was lower in dogs exhibiting serum activity of alanine aminotransferase (ALT), a marker of leakage of liver membrane, above the reference range than in those within or below the range. Mean vitamin C concentration in plasma (5.2 mg/L), however, was not lower even in dogs with higher ALT activity, as compared with that determined in clinically normal Shiba dogs (4.9-9.2 mg/L). Plasma concentrations of vitamin C negatively related to activities of ALT and aspartate aminotransferase ($p < 0.05$). Vitamin C nutrition may worsen through decreasing synthesis of vitamin C in dogs with liver necrosis.

ビタミン C は、もともと、抗壞血病因子として発見され、化学的には L-アスコルビン酸を指す。ビタミン C は、その強い還元能により抗壞血病作用を示すとともに、動物体内でもっとも豊富に存在する重要な水溶性の抗酸化物質として機能する¹⁾。

ヒトの体内では L-アスコルビン酸を合成できないので水溶性ビタミンに分類される一方、多くの哺乳動物は肝臓で L-アスコルビン酸を必要量合成することができるので厳密な意味ではビタミンとは言えない²⁾。しかしながら、イヌのビタミン C 合成量は、他の動物種に比べて低い³⁾。また、イヌにおいて、壞血病の発症は知られていないものの、白内障の発症がビタミン C 不足と関連する可能性が示唆されている⁴⁾。さらに、感染症によって血漿ビタミン C 濃度が低下するという報告⁵⁾もあり、イヌはビタミン C が不足しやすい動物種と考えられる。ニトロソアミンを投与することによって、実験的な肝臓障害が引き起こされたイヌの血漿ビタミン C 濃度は低下すること⁶⁾と併せて考えると、肝臓病を罹患したイヌではビタミン C の補給が必要となる可能性がある。そこで、肝臓疾患を含めて様々な診療のために来院したイヌの血清生化学診断指標と血漿ビタミン C 濃度の関係を調べた。

実験方法**1. 動物**

様々な目的で来院した 48 頭のイヌ (雄 27 頭; 雌 21 頭) を供試した。本試験は、京都大学動物実験に関する指針にしたがって行われた。検査のための採血を頸静脈あるいは橈側皮静脈より行った。カルテの記載によると、門脈シャントや肝硬変といった肝臓疾患が 12 頭、腸疾患が 7 頭、栄養障害、膀胱炎、発熱あるいは避妊手術が各 2 頭、その他 (シミ、痩せあるいは皮膚炎) が各 1 頭ずつであった。

2. 分析

ビタミン C 分析のための血漿試料調製ならびに血漿ビタミン C 分析は林らの方法⁷⁾によって行った。また、肝臓疾患関連の血清生化学診断指標を自動分析装置 (COBAS INTEGRA 700, Roche Diagnostic) にて測定した。すなわち、肝細胞の逸脱酵素であり、肝臓壊死のマーカー⁸⁾として、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) ならびにアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性を、胆管障害のマーカー⁸⁾としてアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を、肝臓におけるタンパク質合成および脂質合成のマーカー⁸⁾として、それぞれ、アルブミン濃度およ

*所在地: 京都市左京区北白川追分町 (〒606-8502)

**所在地: 八王子市宇津木町 750-1 (〒192-0024)

び総コレステロール濃度を測定した。肝臓疾患に関する血清生化学診断指標の異常を Kaneko の参照値⁸⁾をもとに判定した。つまり、血清 AST 活性、ALT 活性および ALP 活性については、参照値を上回る個体が異常であり、血清アルブミン濃度ならびに総コレステロール濃度に関しては参照値に満たない個体が異常と判断された。

3. 統計解析

各血清生化学診断指標の値が、肝臓疾患を示唆する（参照値外：ORR）かしない（対照：control）かでイヌを2群に分け、両群間の血漿ビタミンC濃度の相違を分散分析により検定した。また、血漿ビタミンC濃度と各血清生化学診断指標の相関関係を求めた。相関関係の検定は、変数が正規分布していることを前提にしている。そこで、まず、各項目に関して正規分布性を Shapiro-Wilk 検定によって検討した。その結果、血清 AST、ALT ならびに ALP 活性が正規分布していなかったため、これらの変数については対数 (log 10) 変換した後、血漿ビタミンC濃度との間の関係を調べた。

結果と考察

各群の血漿ビタミンC濃度を Table 1 に示す。総じて ORR 群の方が control 群に比べて低い値を示し、ALT 活性に

関しては統計的に有意であった。この結果は、肝臓壊死が示唆されたイヌでは血漿ビタミンC濃度は低い値を示す可能性を示している。泌乳牛においても肝機能の低下により血漿ビタミンC濃度が低下する⁹⁾ことと併せて考えると、今後、さらに詳細な病理学的解析との関連を検討する必要があるものの、肝臓疾患はビタミンC栄養に対して負の影響を及ぼす可能性がある。ALT 活性以外の項目で統計的な有意差が生じなかった理由については不明であるが、考えられる理由の一つとして、ORR 群もしくは control 群、あるいはその両方のデータ数が少なかったため、有意差を示すまでに至らなかった可能性がある。また、血清 ALT 活性は肝臓壊死の特異的なマーカーであるのに対して、血清 AST 活性ならびに ALP 活性は、それぞれ心筋や骨格筋疾患ならびに骨代謝異常によっても高値を示すこと⁸⁾、血清アルブミンならびに総コレステロール濃度は、栄養失調によっても低値を示すこと⁸⁾が原因かもしれない。さらに、ビタミンC合成は、アルブミンやコレステロール合成といった肝機能の低下時にはそれほど大きな影響を受けない可能性もある。実際、門脈シャントを罹患したイヌの血漿ビタミンC濃度は必ずしも低値を示さなかった¹⁰⁾。

全データを使って血漿ビタミンC濃度と各血清生化学診断指標の関係を調べたところ、血漿ビタミンC濃度と血清 AST 活性ならびに ALT 活性間に弱いながらも統計的に有意な関係が認められた (Fig. 1)。つまり、血清 AST

Table 1 Plasma concentration of vitamin C (mg/L) in relation to serum biochemical parameters in dogs

	Reference range ¹	Control (n)	ORR (n)	p
AST	23–66 (U/L)	5.9±1.3 ² (38)	5.1±2.1 (6)	NS ³
ALT	21–102 (U/L)	6.4±1.2 (25)	5.2±1.6 (22)	<0.01
ALP	20–156 (U/L)	6.3±1.2 (9)	5.7±2.0 (36)	NS
Albumin	26–33 (g/L)	6.0±1.4 (35)	5.2±1.9 (11)	NS
Total cholesterol	1.35–2.70 (g/L)	5.7±1.7 (13)	4.5±0.8 (4)	NS

¹Defined by Kanoko *et al.*⁸⁾

²Mean ± SD.

³Not significant: $p > 0.05$.

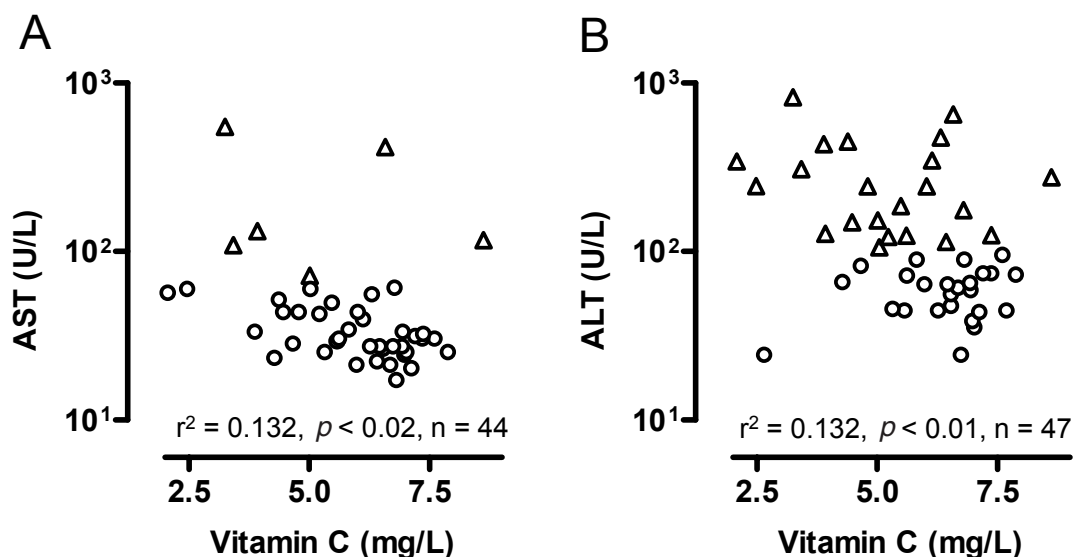


Fig. 1 The correlation between plasma concentrations of vitamin C and serum activities of AST (A) and ALT (B)

○ : Control △ : ORR

活性や ALT 活性が高い個体, もしくは, その程度が大きい個体ほど血漿ビタミン C 濃度は減少することを示しており, この結果も, 肝臓が壊死した状態ではビタミン C 栄養が悪化する可能性を示唆している。一方, 肝臓におけるタンパク質や脂質の合成といった機能面のマーカーとビタミン C 濃度との間には統計的に有意な関係が認められなかった。

血清 ALT 活性値から肝臓壊死が示唆された個体においても平均血漿ビタミン C 濃度は 5.2 mg/L であった。ビタミン C の定量法には幾つかの方法があり, 測定感度や精度に違いがあるため, 一概に報告間の数値の違いを比較することはできない。われわれは, 先に, 今回と同一の方法で, 外見上健康な柴犬 48 頭の血漿ビタミン C 濃度を測定し, その標準値が 4.8~9.2 mg/L であることを提唱した⁷⁾。したがって, 今回肝臓壊死が示唆された個体群ではビタミン C 栄養の悪化は軽微であったと考えられる。しかしながら, 林ら⁷⁾が提唱した標準値を下回る個体が 25 頭中 11 頭おり, 大幅に下回る (<4 mg/L: 6 頭) 個体もいた。

2007 年 7 月にペットフードの表示に関する公正競争規約・施行規則が改正され, ペットフード公正取引協議会の会員社に対しては, 添加物の表示が義務化された。市販ペットフードのラベルによると, ビタミン C の添加の有無に関して, 添加されているドッグフードが多いものの, 少なからぬ銘柄のフードでは, 恐らく, シュウ酸生成の危険性 (イヌではシュウ酸カルシウム結石が多い) からビタミン C の添加が見合わされている。本試験では, 与えられていたフードにおけるビタミン C 添加の有無は明らかではなかったが, 血清 ALT 活性値から肝臓壊死が示唆される個体における大きな血漿ビタミン C 濃度の変動は, ビタミン C 摂取量の差が一因かもしれない。肝臓疾患時には, ビタミン C 栄養が潜在的に悪化する可能性があるので, この疾患に対する療法食にはビタミン C を添加した方が酸化ストレスに起因する疾病の予防に有効かもしれない。

謝 辞

情報の提供ならびに議論して下さい朝見恭裕氏 (日本

農産工業・研究開発センター) に感謝します。本研究は日本ペット栄養学会研究奨励金を受けて行った。

参考文献

- 1) Sauberlich HE (1994) Pharmacology of vitamin C. *Annu Rev Nutr* 14: 371-391.
- 2) McDowell LR (1989) Vitamin C. in *Vitamins in Animal Nutrition*, ed. by McDowell LR, Academic Press, San Diego: pp. 365-387.
- 3) Rucker RB, Dubick MA, Mouritsen J (1980) Hypothetical calculations of ascorbic acid synthesis based on estimates in vitro. *Am J Clin Nutr* 33: 961-964.
- 4) Barros-Paulo SM, Angelotti-Alessandra C, Nobre F, Morales A, Fantoni-Denise T, Barros-silvia BM (1999) Antioxidant profile of cataractous English Cocker Spaniels. *Vet Ophthalmology* 2: 83-86.
- 5) Kolb E, Seahawer J, Wuegang K (1997) Vitamin and ascorbic acid requirements of dogs. *Tierarztl Umschau* 52: 728-733.
- 6) Strombeck DR, Harrold D, Rogers Q, Wheeldon E, Stern J, Schaeffer M (1983) Plasma amino acid, glucagon and insulin concentrations in dogs with nitrosamine-induced hepatic disease. *Am J Vet Res* 44: 2028-2036.
- 7) 林 海鷹, 松井 徹, 堀江崇文, 菱山信也, 藤瀬 浩, 矢野秀雄 (2003) 柴犬における血漿中ビタミン C 濃度. *ペット栄養会誌* 6: 53-56.
- 8) Kaneko JJ (1989) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (4th Ed) Academic Press, San Diego.
- 9) Padilla L, Matsui T, Shibano K, Katamoto H, Yano H (2007) Relationship between plasma vitamin C and serum diagnostic biochemical markers in lactating cows. *J Vet Med Sci* 69: 909-913.
- 10) Hishiyama N, Kayanuma H, Matui T, Yano H, Suganuma T, Funaba M, Fujise H (2006) Plasma concentration of vitamin C in dogs with a portosystemic shunt. *Can J Vet Res* 70: 305-307.