

モルモットの結合型及び遊離型アスコルビン酸量に 及ぼすアスコルビン酸欠乏飼料給与の影響

米倉政実・中谷哲郎

モルモットは、ヒトやサルと同様にアスコルビン酸 (AsA) を体内で生合成できない動物であり、その欠乏により壊血病に陥る。したがって、AsA の生理的及び生化学的作用、並びに壊血病の研究に際して広く用いられ、壊血病モルモットの体内AsA 量の様相については、すでに多くの報告がある。¹⁻⁷⁾ しかし、そのほとんどが、メタリン酸などの酸で抽出されるAsA、すなわち、遊離型AsAについて調べられたものである。

ブタの肝臓において、AsA が遊離型だけではなく、タンパク質と結合した形、すなわち、結合型としても存在することを初めて報告したのは、Sumerwell and Sealock⁸⁾ である。その後、ヤギの肝臓⁹⁾ や血液¹⁰⁾、ニワトリの血液¹¹⁾ 及びラットの副腎¹²⁾ などでも結合型AsA の存在が報告されている。モルモットについては、肝臓の結合型AsA 量について、Sealockら¹³⁾、Daytonら¹⁴⁾ 及びTohtz and Kemper¹⁵⁾ の報告があるが、結合型及び遊離型AsA の体内分布並びに、それらに対するAsA 欠乏飼料給与の影響については、ほとんど調べられていないようである。

著者ら¹⁶⁾ は、ニワトリにおける両型AsA の体内分布について、すでに報告したが、本研究では、結合型AsA の生理作用及び生理的意義の解明のための基礎的知見を得るために、AsA の欠乏がモルモットの両型AsA 量に及ぼす影響について調べた。

材料及び方法

約50週齢 (体重800g前後) のHartley系雄モルモットを各区2頭ずつ、対照区とAsA欠乏食区に分け、4週間飼育した。対照区には、市販のモルモット飼育用飼料 (GM-2, 船橋農場製) を、AsA欠乏食区には、

AsA無添加で、かつ、飼料原料中のAsAを加熱処理により分解除去した同飼料 (同農場製) を自由摂取させ、飲水も自由に摂取できるようにした。飼育室の温度は約20℃に保ち、午前7時から午後7時まで点灯した。

飼育期間終了後、断頭屠殺し、直ちに組織中の結合型及び遊離型AsAを、血漿、肝臓、腎臓、膵臓、脾臓、肺、脳、精巣、副腎及び甲状腺について測定した。両型AsAの分離及び定量は、それぞれ、既報¹⁶⁾ のゲル濾過による方法及び α 、 α' -ジピリジルを用いる比色法により行った。

結果及び考察

1. 体重及び飼料摂取量について

試験開始時の体重を100とした場合の飼育期間中における両区モルモットの体重変化を図1に示した。対照区では、期間中著しい体重変化はみられず、ほぼ一定の値を保ったが、AsA欠乏食区では、AsA欠乏飼料給与後、

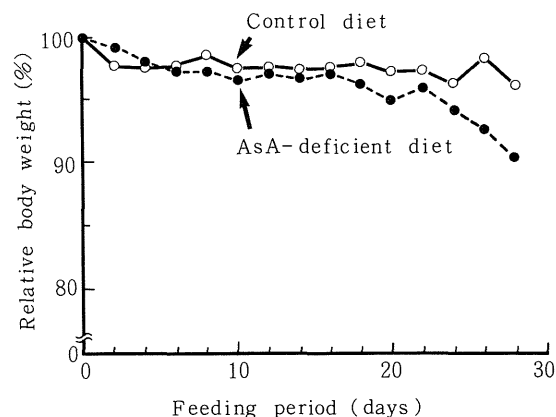


Fig.1. Changes of body weight in guinea pigs.

わずかずつ減少し、4週間で約10%の体重減少を示した。また、4週間の1頭当りの飼料摂取量は、対照区で881g、AsA欠乏食区で1,002gであり、AsA欠乏食区で約14%高い値であった。すなわち、AsA欠乏飼料に対するモルモットの食欲の低下はみられなかった。したがって、AsA欠乏食区における体重減少は、飼料の摂取量が直接関係したものでなく、AsAの摂取量不足の影響があらわれたものであろう。

一般に、若齢動物のほうがビタミンの欠乏症に陥りやすく、若齢のモルモットであれば、約3週間で典型的な壊血病が発現することが知られている¹⁷⁾。本実験では、とくに3週間経過後、体重の減少のみが観察されたが、成熟後かなりの期間を経過したモルモットを使用しており、4週間AsA欠乏飼料を給与しても、出血症状などの典型的な壊血病の症状は、外見上認められず、壊血病の発症まではいかず、潜在的な壊血病状態であったものと推察される。

2. 臓器重量について

両区モルモットの体重100g当りの臓器重量を表1に示した。

腎臓、脾臓、肺、脳、精巣、副腎及び甲状腺では、対

Table 1. Effect of AsA-deficient diet on organ weight in guinea pigs

Organ	Wet weight (g/100g body weight)	
	Control	AsA-deficient
Liver	3.622 ± 0.120 ¹⁾	3.560 ± 0.633
Kidneys	0.591 ± 0.014	0.817 ± 0.033
Pancreas	0.613 ± 0.020	0.410 ± 0.051
Spleen	0.106 ± 0.004	0.126 ± 0.003
Lungs	0.667 ± 0.026	0.927 ± 0.129
Brain	0.518 ± 0.009	0.638 ± 0.053
Testes	0.373 ± 0.010	0.504 ± 0.048
Adrenals	0.102 ± 0.005	0.152 ± 0.005
Thyroids	0.016 ± 0.001	0.023 ± 0.010

1) Mean ± standard error

照区と比較して、AsA欠乏食区で増加する傾向が、また脾臓では減少する傾向が、それぞれ認められた。他方、肝臓は両区ともほぼ同じ重量を示した。肝臓と脾臓を除く他の臓器の重量増加は、主として体重の減少によるものとも考えられるが、この両臓器の重量変化については、今のところその原因は不明である。

なお、急性AsA欠乏状態では、脾臓や副腎などの重量増加が報告されている²⁾。また、体重に有意な変化を来たさない程度の慢性AsA欠乏状態のモルモットでも、腎臓や脾臓の有意な重量増加が認められたことが報告されている³⁾。

3. 結合型及び遊離型AsA量について

血漿及び臓器中の結合型及び遊離型AsA量を表2に示した。

遊離型AsA濃度は、AsA欠乏飼料の給与により、著しく減少し、対照区の値と比べて、血漿では5.9%、肝臓では2.9%、腎臓では9.0%、脾臓では4.7%、脾臓では3.8%、肺では3.1%、精巣では12.4%、また副腎では1.8%の値をそれぞれ示した。他方、脳と甲状腺では、対照区の値の、それぞれ23.9%及び30.4%に低下し、減少の度合いが、他の臓器に比べて低かった。

なお、すでに述べたように、顕著な壊血病の症状は外見上認められなかったが、血漿及び組織のAsA濃度から判断すると、明らかにAsA欠乏状態であることがわかった。

一方、結合型AsA濃度は、対照区と比べて、AsA欠乏食区では、副腎で減少する傾向、脾臓で増加する傾向をそれぞれ示したが、血漿及びその他の臓器では、ほとんど同じレベルの値であった。

したがって、総AsA量(結合型と遊離型の和)に対する結合型AsA量の比は、AsA欠乏飼料給与により、肝臓、脾臓、脾臓、肺及び副腎では12~16倍となり、著しい増加がみられたのに対し、血漿、腎臓、脳、精巣及び甲状腺では、その増加の度合いはそれほど大きくなく、約2~5倍の範囲であった。

以上の結果から、AsA欠乏飼料給与のAsA量に対する影響は、遊離型AsAに対しては強くあらわれ、その

Table 2. Effect of AsA-deficient diet on the bound and free AsA contents in guinea pigs.

Tissue	Bound AsA (mg / 100 g tissue)		Free AsA (mg / 100 g tissue)		Bound AsA / Total AsA (%)	
	Control	AsA-deficient	Control	AsA-deficient	Control	AsA-deficient
Plasma	0.254 ± 0.004 ¹⁾	0.226 ± 0.016	1.66 ± 0.02	0.098 ± 0.016	13.3 ± 0.3	69.9 ± 1.9
Liver	2.69 ± 0.04	2.30 ± 0.08	46.9 ± 0.6	1.34 ± 0.05	5.4 ± 0	63.3 ± 1.6
Kidneys	2.31 ± 0.10	2.21 ± 0.07	15.6 ± 1.1	1.40 ± 0.01	12.9 ± 0.3	61.4 ± 1.1
Pancreas	0.70 ± 0.09	1.48 ± 0.09	16.3 ± 2.4	0.76 ± 0.03	4.1 ± 0.1	65.8 ± 2.2
Spleen	3.27 ± 0.11	4.32 ± 0.34	52.6 ± 1.9	1.99 ± 0.10	5.9 ± 0.4	68.5 ± 0.6
Lungs	1.75 ± 0.03	1.60 ± 0.33	51.3 ± 0.6	1.57 ± 0.23	3.3 ± 0.1	50.3 ± 8.8
Brain	1.10 ± 0.10	1.00 ± 0	21.7 ± 0.1	5.18 ± 0.21	4.8 ± 0.4	16.2 ± 0.6
Testes	0.79 ± 0.05	0.45 ± 0.01	36.8 ± 1.7	4.55 ± 0.49	2.1 ± 0	9.1 ± 1.0
Adrenals	5.32 ± 0.15	3.27 ± 0.39	162.6 ± 3.3	2.99 ± 0.03	3.2 ± 0	52.1 ± 2.8
Thyroids	2.41 ± 0.36	2.29 ± 0.75	9.1 ± 0	2.78 ± 0.08	20.8 ± 2.6	44.0 ± 8.9

1) Mean ± standard error

量は著しく減少するが、結合型 AsA では大きな影響を受けず、それぞれある一定のレベルを保つことがわかった。

栗岡¹⁾は、充分な量の AsA を含む飼料を与えた雄モルモットの AsA 濃度は、肝臓では 30 mg/100 g、腎臓では 10 mg/100 g、脾臓では 50 mg/100 g、副腎では 150 mg/100 g、であったと報告している。これらの値は、本実験で得られた遊離型の AsA の値にほぼ近く、遊離型 AsA 量と考えてよさそうである。また、低 AsA 飼料を 1 週間与えたモルモットでは、体内 AsA 濃度は、対照区に比べて、肝臓では約 1/7、腎臓と脾臓では約 1/3、副腎では約 1/4 に減少したことを報告している。

笠井ら⁷⁾によると、AsA 欠乏飼料を 26 日間給与した雄モルモットでは、血液中の AsA 量は 0 となり、肝臓、腎臓、脾臓及び脳の AsA 濃度は、対照区の、それぞれ、8.7%、7.1%、4.0% 及び 22.9% に低下し、本実験の遊離型 AsA の場合と同様に、測定した臓器の中では、脳の AsA 量の減少はゆるやかに起こることを示している。辻村ら⁶⁾は、AsA 欠乏飼料を 20 日間給与した雄モルモットの血液、肝臓及び腎臓の AsA 量は、それぞれ、対照区の 9.1%、1.3% 及び 1.4% となり、その減少は顕著であったと述べている。同様に肝臓における AsA 量の著しい減少は、土屋・鈴江⁵⁾によっても報告されている。

これらの報告における結果は、いずれも本実験における遊離型 AsA 量の変動のパターンと極めて類似していることがわかる。

一方、Sealock ら¹³⁾は、モルモットにおいて、肝臓の総 AsA 量の約 15% が結合型であること、また、AsA 欠乏モルモットでは、遊離型及び結合型ともに減少するが、前者の減少率が大きく、その結果、結合型が総 AsA 量の約 37% を占めることを報告している。

また、Dayton ら¹⁴⁾は、モルモット肝臓の結合型 AsA 量を $1-^{14}\text{C}-\text{AsA}$ を用いて調べた結果、正常動物の肝臓では総 AsA 量の 19%、AsA 欠乏動物の肝臓では 28% が結合型であることを認めた。

さらに、Tohtz and Kemper¹⁵⁾は、モルモット肝臓の結合型 AsA 量を測定した結果、正常動物では 10 ~

16 mg/100 g、AsA 欠乏動物では 0.3 ~ 3.8 mg/100 g の値が得られ、AsA 欠乏により結合型 AsA 量はかなり減少することを見い出している。また、結合型 AsA は、AsA の貯蔵型としての役割^{18,19)}だけではなく、物質代謝の上で何らかの重要な役割を果している可能性を示唆している。

これらの諸報告の結果から、肝臓において、総 AsA 量に対する結合型 AsA の割合が、AsA 欠乏飼料の給与により増加する傾向にあるといえるが、これは本実験の結果とも一致するところである。

以上のように、AsA 欠乏飼料を給与した場合におけるモルモットの体内 AsA 量の変動パターンは、結合型と遊離型とはかなり異なっていた。このことは結合型と遊離型とは、AsA の生理作用及び生理的意義に違いがあることを示唆するものである。

要 約

モルモットにおける結合型及び遊離型アスコルビン酸 (AsA) の生理的役割を解明するために、まず、両型 AsA 量に及ぼす AsA 欠乏飼料給与の影響について調べた。

AsA 欠乏飼料の給与により、モルモットの体重は、4 週間で約 10% 減少したが、飼料摂取量は、対照区に比べて約 14% 多かった。測定した臓器の中で、肝臓と脾臓以外の臓器重量は、AsA 欠乏飼料の給与により増加する傾向を示した。

AsA 欠乏飼料の給与により、遊離型 AsA 濃度は、いずれの組織においても著しく減少した。他方、結合型 AsA 濃度は、ほとんどの組織において、AsA 欠乏飼料給与の影響をそれほど受けず、それぞれ、ある一定のレベルを維持することがわかった。

以上の結果から、モルモットにおける AsA 欠乏飼料給与の影響は、遊離型 AsA 量に対して顕著にあらわれるが、結合型 AsA 量に対してはそれほどでないことがわかった。また、遊離型 AsA と結合型 AsA の生理作用及び生理的意義が異なることが示唆された。

謝 辞

本研究の一部は、昭和59年度文部省科学研究費補助金（奨励研究A，課題番号：59760058）により行われたものである。

文 献

- 1) 栗岡 恵：ビタミン， **16**, 415(1959)
- 2) Sebrell, W.H. and R.S. Harris ed.: The Vitamins, 2nd ed., I, p.305(1967) Academic Press Inc.
- 3) Ginter, E., P. Bobek and M. Ovecka: Int. Z. Vitaminforsch., **38**, 104(1968)
- 4) Kuenzig, W., R. Avenia and J. J. Kamm: J. Nutr., **104**, 952(1974)
- 5) 土屋治美・鈴江緑衣郎：ビタミン， **49**, 333(1975)
- 6) 辻村 卓・福田知子・笠井孝正・北村佐三郎：同上， **55**, 31(1981)
- 7) 笠井孝正・辻村 卓・福田知子：同上， **56**, 117(1982)
- 8) Sumerwell, W.N. and R.R. Sealock: J. Biol. Chem., **196**, 753(1952)
- 9) Malakar, M. C. : Nature , **198**, 185(1963)
- 10) Malakar, M.C. and B. C. Guha : Naturwissenschaften, **48**, 645(1961)
- 11) Malakar, M. C. : Sci. Cult., **29**, 109(1963)
- 12) Fiddick, R. and H. Heath: Biochim. Biophys. Acta, **136**, 206(1967)
- 13) Sealock, R. R., R. L. Goodland, W. N. Sumerwell and J. M. Brierly: J. Biol. Chem., **196**, 761(1952)
- 14) Dayton, P. G., J. Reichenthal and J. J. Burns : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **91**, 326(1956)
- 15) Tohtz, A. and A. Kemper : Acta Biol. Med. Ger., **12**, 365(1964)
- 16) 米倉政実・加藤健司・中谷哲郎：家禽会誌（印刷中）
- 17) 日本ビタミン学会編：ビタミン学実験法Ⅱ， p.34(1985) 東京化学同人
- 18) Holtz, P. : Hoppe - Seyler's Z. Physiol. Chem., **263**, 187(1940)
- 19) Lewin, S. : Vitamin C : Its Molecular Biology and Medical Potential, p.118(1976) Academic Press Inc.

Effect of Feeding an Ascorbate-deficient Diet on the Bound and Free Ascorbic Acid Contents in Guinea Pigs

MASAMI YONEKURA and TETSURO NAKAYA

In order to clarify the nutritional and physiological role of bound and free ascorbic acid in the guinea pig, the effect of feeding an ascorbate-deficient diet on the bound and free ascorbic acid contents in the animals was investigated.

The ascorbate-deficient guinea pigs showed a 10% weight loss in four weeks and a 14% increase in feed intake compared to control animals. Except for liver and pancreas, increased organ weights in the ascorbate-deficient animals were observed in all other organs measured.

The concentrations of free ascorbate in the tissues of guinea pigs were markedly decreased by feeding the ascorbate-deficient diet. On the other hand, the levels of bound ascorbate in the tissues of the animals were little affected by feeding the above diet.

From these results, it was demonstrated that the influence of feeding the ascorbate-deficient diet in guinea pigs was much greater on the content of free ascorbate than on that of bound ascorbate. Furthermore, it was suggested that there were differences in the nutritional and physiological role between bound and free forms of ascorbate in the animals.

(Sci. Rep. Fac. Agr. Ibaraki Univ., No.36, 63~68, 1988)