

ビタミンEの動態に及ぼす 食餌性たん白質の影響

EFFECT OF DIETARY PROTEIN ON VITAMIN E TRANSFER
BETWEEN BLOOD AND TISSUES IN RATS

毛利佳世・五十嵐脩（お茶の水女子大学 生活環境研究センター）

Kayo MOURI and Osamu IGARASHI

Institute of Environmental Science for Human Life,
Ochanomizu University, Tokyo 112

ABSTRACT

This experiment was carried out to elucidate the influence of nutritional status of rats upon vitamin E transfer among serum, erythrocyte, liver, kidney, lung and muscle. To elucidate this relationship between vitamin E transfer and nutritional status, we investigated the effect of dietary protein. As to the effect of dietary protein, we observed the quantity and quality of proteins, such as the effect of milk casein and SPI. The following results were obtained. When the rats were fed at levels of 10 and 20% protein in diets for 6 weeks, the concentrations of α -tocopherol in serum and liver were not different each other. However, the concentrations of α -tocopherol in erythrocyte, kidney, lung and muscle were significantly decreased in rats fed 10% protein diet. The level of serum cholesterol in rats fed 10 and 20% milk casein diets was not different each other. The rats fed SPI showed lower concentration of α -tocopherol in serum, liver, erythrocyte, kidney, lung and muscle than the rats fed milk casein at the same level. The level of serum cholesterol in rats fed SPI was lower than the rats fed milk casein. Then, it may be concluded that both quantity and quality have an effect on vitamin E transfer.

小腸から吸収された食物中のビタミンE (α -Toc.) は、各組織に運ばれ抗酸化作用を主とする生理作用を発現することで重要なビタミンであるが、そのためにビタミンEを必要とする組織への移行が問題になってくると考えられる。本研究は、食餌中のビタミンEの生体内での移行と、生体側の栄養状態との関連に着目し、とくに食餌中のたん白質の量と質がビタミンEの組織への移行にどのような影響をもたらすか検討を行った。

実験方法

実験動物は、初体重120～150 gの Sprague-Dawley 系雄ラットを用い、当研究室で調製した標準食で1週

間予備飼育後正常発育したものを以下の実験に供した。標準食の組成は、Table 1 に示した。

実験 I

食餌中のたん白質の量と質の影響を検討するために、たん白質のレベルを10%と20%にし、標準食のミルクカゼインに対し SPI を用いた。6週間自由摂取法で飼育した。6週間飼育後、15～18時間絶食させたラットをエーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血した。一部はヘパリン血とし、常法で赤血球を得た。各臓器は充分放血後、生理食塩水で洗浄し、分析に用いるまで -20°C の冷凍庫内に保存した。血清の総コレステロール (T-chol.) と中性脂質は酵素法（協和酸酵製キット）で、肝臓の T-chol. は Folch 法¹⁾で脂質を抽出後、

Table 1. Composition of basal diet

Composition	%
Casein (vitamin free)	20.0
Sucrose	63.8
Corn oil (vitamin E free)	8.0
Mineral mix.*	4.0
Vitamin mix.**	1.0
Choline-Cl	0.2
Cellulose powder	3.0

* Purchased from Nihon Clea Co., LTD.

** Supplemented per 1 kg of diet with 71.5 mg of α -tocopherol.

Sperry-Webb 法²⁾で、赤血球中の α -Toc は石橋らの方法³⁾で、血清と肝臓の α -Toc.は阿部ら^{4,5)}の方法に従い、それぞれ定量した。

実験II

実験 I と同様に、たん白質源としてミルクカゼインと SPI を用いて 6 週間飼育し、各組織の α -Toc.の定量と赤血球脂質中の遊離コレステロールの定量を行った。赤血球脂質の抽出は Rose and Oklander の方法⁶⁾に従って抽出した脂質を *n*-プロピルアルコールに溶解し、酵素法で遊離コレステロールを定量した。

実験結果と考察

実験 I

Table 2 に各群の飼料摂取量と体重増加量ならびに血清と肝臓の脂質量を示した。飼料摂取量は各群間に有意差はなく、平均約 17 g/日であった。体重増加量は SPI 群に比べカゼイン群の方が良好であった。血清の脂質量は、20%たん白レベル間を比較すると、カゼイン群に比べ SPI 群で、T-chol.の減少が見られた。たん白質の量による比較を行うと、カゼイン食の場合、10%と20%のレベル間に差はみられなかった。一方 SPI 食では、10%レベルで、T-chol.の有意な上昇を認めた。これは低たん白食による含硫アミノ酸欠乏に由来する

Table 2. Food intake, body weight gain and level of serum and liver lipids in rats

Group	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/6 weeks)	Serum		Liver	
			T-cholesterol (mg/100 ml)	Triglyceride (mg/100 ml)	T-lipid (mg/g)	T-cholesterol (mg/g)
20% Casein (7)	18.0 $\pm$ 0.3*	238.1 $\pm$ 24.7	73.8 $\pm$ 9.6	109.3 $\pm$ 26.4	52.9 $\pm$ 5.2	2.77 $\pm$ 0.36
10% Casein (8)	16.8 $\pm$ 1.5	152.1 $\pm$ 28.3 ^a	68.1 $\pm$ 2.6	123.3 $\pm$ 41.5	61.2 $\pm$ 5.9 ^a	2.77 $\pm$ 0.47
20% SPI (9)	18.3 $\pm$ 2.5	209.1 $\pm$ 18.2 ^a	63.5 $\pm$ 4.8 ^a	123.6 $\pm$ 37.5	65.8 $\pm$ 5.2 ^a	2.55 $\pm$ 1.01
10% SPI (9)	16.4 $\pm$ 2.6	99.9 $\pm$ 21.3 ^{abc}	77.1 $\pm$ 10.9 ^c	97.5 $\pm$ 10.9	79.5 $\pm$ 7.5 ^{ab}	3.22 $\pm$ 0.41 ^c

* Mean $\pm$ SD.

a : Significantly different from the value for 20% casein group ($p < 0.01$)

b : Significantly different from the value for 10% casein group ($p < 0.01$)

c : Significantly different from the value for 20% SPI group ($p < 0.01$)

Table 3. α -Tocopherol levels in serum, erythrocyte and liver and a ratio of α -tocopherol to total-cholesterol in serum

Group	Serum (μ g/ml)	Erythrocyte (μ g/ml packed cell)	Liver (μ g/g)	Serum α -Toc. / Serum T-chol.
20% Casein (7)	8.75 $\pm$ 0.79*	6.15 $\pm$ 0.38	39.9 $\pm$ 4.8	1.19 $\pm$ 0.09
10% Casein (8)	7.68 $\pm$ 0.75	5.22 $\pm$ 0.50 ^a	36.1 $\pm$ 3.6	1.12 $\pm$ 0.10
20% SPI (9)	6.12 $\pm$ 0.64 ^a	4.87 $\pm$ 0.45 ^a	30.2 $\pm$ 4.7 ^a	0.97 $\pm$ 0.11 ^a
10% SPI (9)	6.01 $\pm$ 1.04 ^b	4.09 $\pm$ 0.61 ^{bc}	34.1 $\pm$ 3.9	0.78 $\pm$ 0.12 ^{bc}

* Mean $\pm$ SD.

a : Significantly different from the value for 20% casein group ($p < 0.01$)

b : Significantly different from the value for 10% casein group ($p < 0.01$)

c : Significantly different from the value for 20% SPI group ($p < 0.01$)

Table 4. α -Tocopherol levels in serum, erythrocyte, liver, kidney, lung and muscle

Group	Serum ($\mu\text{g/ml}$)	Erythrocyte ($\mu\text{g/ml}$ packed cell)	Liver ($\mu\text{g/g}$)	Kidney ($\mu\text{g/g}$)	Lung ($\mu\text{g/g}$)	Muscle ($\mu\text{g/g}$)
20% Casein (11)	6.8 $\pm$ 0.80*	6.1 $\pm$ 0.99	31.9 $\pm$ 6.68	20.1 $\pm$ 2.34	37.0 $\pm$ 4.55	13.3 $\pm$ 2.23
10% Casein (11)	6.6 $\pm$ 0.77	5.0 $\pm$ 0.47 ^b	28.5 $\pm$ 4.76	17.0 $\pm$ 1.62 ^a	28.1 $\pm$ 3.66 ^a	10.8 $\pm$ 1.01 ^a
20% SPI (9)	5.4 $\pm$ 1.56 ^b	4.6 $\pm$ 0.51 ^a	23.8 $\pm$ 5.31 ^b	15.9 $\pm$ 2.04 ^a	25.5 $\pm$ 3.8 ^a	10.7 $\pm$ 1.87 ^a

* Mean $\pm$ SD.a : Significantly different from the value for 20% casein group ($p<0.001$)b : Significantly different from the value for 20% casein group ($p<0.05$)

脂質代謝異常によるものと考えられる。

血清と赤血球ならびに肝臓の α -Toc.量と血清の α -chol.に対する α -Toc.の比 (α -Toc./T-chol.)の結果を Table 3 に示した。これから明らかなように SPI 食群では、カゼイン食に比べ血清、赤血球、肝臓いずれも α -Toc.量が有意に減少した。たん白レベル間で比較すると、カゼイン食、SPI 食ともに赤血球中の α -Toc.量に、その影響が現れ、10%レベルでの低下を認めた。血清の α -Toc.量は、たん白質の量の影響はみられなかったのであるが、血清の α -Toc.量は生体でのビタミン E の栄養状態を把握する指標になりえず、血清の総脂質や総コレステロール量との比が指標として重要であるという Horwitt らの報告⁷⁾がある。そこで、血清 α -Toc./T-chol.比に着目し検討すると、SPI の10%食においてのみ、この比の低下を認めた。この時、赤血球の α -Toc.量の減少もみられたが、この現象は、血清の総コレステロールや総脂質の上昇により赤血球への α -Toc.の移行が低下するという Bieri らの報告⁸⁾と一致する。しかし、カゼイン10%食においては、血清の α -Toc./T-chol.比の変化がないにもかかわらず、カゼイン20%食に比較し、赤血球中の α -Toc.量の有意な減少がみられることから、赤血球への α -Toc.の移行に食餌たん白質のレベルの影響が推定される。

実験 II

実験 I で得られた赤血球の α -Toc.への影響が、他の組織においてもみられるのか否かという点を検討する目的で行った。また、赤血球への α -Toc.の移行に赤血球脂質が関係あるかという点についても合わせて検討した。Table 4 に、血清、赤血球、肝臓、肺、腎、筋肉中の α -Toc.量を示した。血清と肝臓の α -Toc.量を見ると、20%カゼイン食群と10%カゼイン食群間には有意な差はみられなかったが、20%カゼイン食群と SPI 食群間を比較すると、SPI 食群で、有意な減少を認めた。この結果は、実験 I の結果と一致した。次に、赤血球、肺、腎臓、筋肉の α -Toc.量を見ると、20%カゼイン食群に比し、10%カゼイン食群、20% SPI 食群で

有意な低下を認めた。赤血球への α -Toc.の移行に食餌中のたん白質の量や質が影響を与えることが実験 I で推察されたが、それが赤血球に特異的な現象であるか否か問題が残った。しかし、実験 II の結果より、肺、腎、筋肉などの他の組織への α -Toc.の移行にも食餌中のたん白質の量や質が影響を与えていることが明らかになった。

次に、赤血球の α -Toc.に焦点をあてると、赤血球の α -Toc.量は血清 (血漿) の総脂質量や T-chol.量の影響を受けるが、本実験では10%カゼイン食で20%カゼイン食と比較し、血清の T-chol.量に差がみられなかったにもかかわらず、赤血球の α -Toc.量が低下したことから、赤血球の脂質に着目し、検討を行った。その結果を Table 5 に示したが、赤血球の遊離コレステロール量 (FC) の有意な上昇が、10%カゼイン食群で認められた。この FC の増加は、低たん白食による結果であると考えられるが、赤血球中の α -Toc.量の低下とどのような関係があるのか、この実験の結果からは明らかにはできなかった。一方、SPI 食群の赤血球中の FC 量は20%カゼイン食と比較し差が認められなかった。SPI 食群の各組織の α -Toc.量を見ると、10%カゼイン食群と異なり、血清、肝臓を含め、実験で用いた組織すべてで、20%カゼイン食と比べ有意な減少をみたことから、SPI 食による α -Toc.量の低下と10%カゼイン食による α -Toc.量の低下は異なったメカニズムによるもの

Table 5. Free cholesterol level in erythrocyte lipids.

Group	Free cholesterol (mg/100 ml)
20% Casein	105.2 $\pm$ 4.16*
10% Casein	129.0 $\pm$ 6.63 ^a
20% SPI	107.6 $\pm$ 10.07

* Mean $\pm$ SDa : Significantly different from the value for 20% casein group ($p<0.001$).

のではないかと推察される。つまり、SPI はコレステロール代謝に関与し、血清の chol. 量を減少させることから、コレステロール代謝と関係があると考えられるビタミンEの代謝に影響を与えているのではないかと推定されるが、今後の検討が必要である。

またビタミンEの生体での栄養状態を表す指標として血清の α -Toc./T-chol. 比や赤血球中の α -Toc. 量が指摘されているが、本研究の結果から考えると、赤血球中の α -Toc. 量は各組織の α -Toc. 量をよく反映し、指標として血清の α -Toc./T-chol. 比より、better であると考えられる。

なお、用いた SPI 中のビタミンE含量は、 α -Toc. が $7.6\mu\text{g/kg}$ 、 γ -Toc. が $184\mu\text{g/kg}$ 、 δ -Toc. が $94\mu\text{g/kg}$ とごく微量であり、 α -Toc. の摂取量はまったく影響を与えていなかった。

文 献

- 1) Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.
- 2) Sperry, W.M. and Webb, M. (1950): A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.*, **187**, 97-110.
- 3) 石橋恭子, 阿部皓一, 大前雅彦, 阿部靖, 勝井五一郎 (1977): 高速液体クロマトグラフィーによる赤血球中のトコフェロール同族体の定量. ビタミン, **51**, 415-422.
- 4) 阿部皓一, 勝井五一郎 (1975): 血清中のトコフェロール同族体の高速液体クロマトグラフィーによる定量. ビタミン, **49**, 259-263.
- 5) 阿部皓一, 大前雅彦, 勝井五一郎 (1976): 肝臓中のトコフェロール同族体の微量迅速定量法. ビタミン, **50**, 453-457.
- 6) Rose, H.G. and Oklander, M. (1965): Improved procedure for the extraction of lipids from human erythrocytes. *J. Lipid Res.*, **6**, 428-431.
- 7) Horwitt, M.K., Harrey, C.C., Dahm, C.H. and Searcy, M.T. (1972): Relation between tocopherol and serum lipid levels for determination of nutritional adequacy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **203**, 223-236.
- 8) Bieri, J.G., Evarts, R.P. and Sylvia, T. (1977): Factors affecting the exchange of tocopherol between red blood cells and plasma. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 686-690.