原 著

PCB* 投与動物の成長と脂質代謝に及ぼすビタミン D の影響**

中 村 敦 子, 印 南 敏, 永 山 スミ子***, 宮 崎 基 嘉

国立栄養研究所栄養改善部

Effect of Vitamin D on Growth and Lipid Metabolism in PCB*-administered Rats**

Atsuko Nakamura, Satoshi Innami, Sumiko Nagayama***, Motoyoshi Miyazaki

Division of Nutrition Improvement, The National Institute of Nutrition

The investigations have been carried out to clarify the interaction between PCB toxicity and nutritional status.

In the present paper, the effect of vitamin D on growth and lipid metabolism in the PCB-administered rats was studied.

Weanling male rats of the *Sprague Dawley* strain received the experimental diets containing 0.1% PCB which tetrachloride isomer was dominant.

The rats given a 0.1% PCB diet without vitamin D₂ or with 1,000 IU of vitamin D₂ per 100 g of diet reduced their body weight more significantly than that of the 0.1% PCB diet group. When 3,000 IU of vitamin A was added to 100 g of a 0.1% PCB diet with 1,000 IU of vitamin D₂, vitamin A did not improve the growth retardation caused by PCB administration. This is different from the case of single addition of vitamin A to a 0.1% PCB diet.

The concentration of triglyceride and phospholipid in the serum of rats fed a 0.1% PCB diet containing 1,000 IU of vitamin D₂ per 100 g of diet increased significantly as compared with that of a 0.1% PCB diet group.

Jap. J. Nutr., 34 (4) 139~144 (1976)

著者らはさきに、PCB の毒性発現を最小にする栄養条件を見出すことを目的として、まず PCB の毒性とビタミン A (以下 V. A) との関係を検討した。その結果、PCB による動物の成長抑制は V. A の相当量の添加でかなり防止しうること¹⁾ および V. A 不足状態にある動物に PCB を投与すると、V. A の欠乏症状の発現が促進されることを見出し、これらはいずれも PCB の投与により惹起される肝臓 V. A の減少に基づくものであることを明らかにした²⁾³⁾。引続いて、PCB の毒性と V. B₂ との関係⁴⁾ についても検討した結果、栄養状態が異なれば毒性を有する化学物質に対するレスポンスの程度がかなり異なることを示す結果を得た。つまり栄養状態が悪ければ食品を汚染する化学物質による毒性発現がより強くなるということを示唆するといえよう。

ところで、DDT など農薬に汚染した鳥類では卵殻が薄くなることが知られている⁵⁾。この原因としては DDT によって誘導される薬物代謝酵素がステロイドホルモンであるエストロジェンの分解を促進する⁶⁾ ために鳥の

---

* PCB: Polychlorinated Biphenyls

** PCB の毒性と栄養 (第 5 報), PCB Toxicity and Nutrition (5)

*** 勤務先: 帝京短期大学, Teikyo College

カルシウム代謝が乱され、卵殻へ十分なカルシウムが供給されないからであろうと考えられている⁵⁾⁷⁾⁸⁾。

エストロジェンは鳥の産卵期のカルシウム代謝を調節するホルモン⁹⁾として知られているが、V.D もまたカルシウム代謝の調節に関係しており、V.D 欠乏にわたりでは卵殻の薄い卵を産むという事実が古くから認められている¹⁰⁾。問題は薬物代謝酵素が誘導されるような条件において V.D の分解が促進されるかどうかであるが、V.D も薬物投与の際エストロジェン同様より極性の高い物質に転換されるという報告^{11)~13)}が集まりつつある。一方、PCB が肝の薬物代謝酵素を誘導することはすでによく知られている¹⁴⁾。したがって、PCB 投与動物においてはエストロジェンの分解⁶⁾¹⁵⁾のみならず、V.D も水酸化をうけ、より極性の高い化合物に転換する可能性も考えられる。

このように PCB はステロイド化合物の代謝に影響を及ぼすことが知られているので、今回は PCB の毒性と V.D との関係を成長や脂質代謝の面から明らかにしたいと考え、実験を行なったので報告する。

実験方法

1. 飼育条件：実験動物としては3週齢の Sprague Dawley 系の雄シロネズミを用い、1群6~8匹宛とし、6室に分離された金網籠に1匹ずつ入れ、12時間明暗交替の恒温室（温度、 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度45%）の動物室にて飼育した。飼料および水は自由摂取とした。

2. 飼料組成：使用した基本飼料組成は前報²⁾に示した如くであるが、ビタミンD₂（以下 V.D₂）添加群は飼料 100 g 中に V.D₂ を 1,000 IU 添加した。V.A 添加群は同じく V.A アセテートを 3,000 IU 添加した。PCB は和光純薬 K K から購入したもので、4 塩化物を主成分とする混合物を用いた。各飼料はフリーザー中に保存し、10~14日置きに新しく調製した。

3. 血清脂質成分の測定：PCB による脂質代謝への影響を確かめるために、血清の中性脂肪（以下 TG）および燐脂質（以下 PL）を測定した。すなわち、飼育実験終了後、午前7時に餌を抜きとり、午後2時に断頭により屠殺し、血清を採取し、分析するまで凍結保存した。TG は Van Handel & Zilversmit 法¹⁶⁾、PL は血清をエタノール：エーテル（3：1）にて抽出後 Fiske & SubbaRow 法¹⁷⁾に従って測定した。

実験結果並びに考察

1. V.D 無添加飼料または添加飼料で飼育した場合の PCB の毒性

1) 成長に及ぼす影響：PCBを0.1%含み、かつV.D₂ 無添加（PCB-V.D₂群）または添加（PCB+V.D₂群）して8週間飼育した場合の成長曲線を図1に示した。

V.D₂ を含まない飼料で飼育した場合8週後の成長は若干劣るようであったが、有意差はなく、V.D₂ を 1,000 IU 添加した群では正常群とほとんど変らない成長を示した。しかしながら、PCB-V.D₂ 群の成長

Fig. 1 Effect of vitamin D₂ on growth of rats fed 0.1% PCB diet

- Control
- △—△ -V.D₂
- ▲—▲ +V.D₂ (1,000 IU per 100 g diet)
- ×—× 0.1% PCB
- -V.D₂+0.1% PCB
- +V.D₂+0.1% PCB

は6週以後 PCB 群より下廻り、次第に体重減少がみられた。これは飼料中の V.D₂ の無添加の影響もさることながら PCB により誘導される薬物代謝酵素により、体内の V.D も水酸化をうけて代謝され、V.D 不足が促進されるのではないかと考えられるが今後の研究にまたねばならない。一方、PCB+V.D₂ 群の成長は PCB 群のみならず PCB-V.D₂ 群より下廻る成長を示した。V.D₂ の添加量は正常飼料に含まれる量の約30倍であるが、正常群への同量の添加では何らの異常も認められなかった。

これらの結果は PCB の毒性抑制に対して V.D₂ が必要であることを示すと共に、ある量以上の V.D₂ は PCB の毒性をさらに強めるように作用することを示すものと考えられる。

2) 肝重量並びに血清脂質量に及ぼす影響：前記条件で8週間飼育した動物の肝重量及び血清脂質量を示すと表1の如くである。

Table 1 Effect of vitamin D₂ on liver weight and serum lipids in rats fed 0.1% PCB diet

Group	Number of animals	Food intake (g/day)	Liver weight (g)	Liver weight per 100 g body weight (%)	Serum	
					Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
1 Control	8	18.4±1.11 ¹⁾	14.91±0.83	3.71±0.11	145±8	175±8
2 0.1% PCB	8	14.5±0.40 ^{a)}	20.40±1.38 ^{a)}	8.52±0.13 ^{a)}	243±14 ^{a)}	382±14 ^{a)}
3 -V.D ₂	6	17.4±0.85 ^{b)}	12.90±0.95 ^{b)}	3.39±0.14 ^{b)}	178±24	175±18 ^{b)}
4 -V.D ₂ +0.1% PCB	8	13.9±0.91 ^{a)c)}	16.90±1.14 ^{c)}	8.30±0.21 ^{a)c)}	204±12 ^{a)}	345±19 ^{a)c)}
5 +V.D ₂	6	19.5±0.58 ^{b)}	14.38±0.63 ^{b)}	3.49±0.12 ^{b)}	196±23	198±18 ^{b)}
6 +V.D ₂ +0.1% PCB	8	11.8±0.60 ^{a)b)d)}	16.15±1.11 ^{b)}	9.38±0.18 ^{a)d)}	273±20	356±23 ^{a)d)}

1) Mean+SE.

a) Significantly different from group 1, $p < 0.05$

b) Significantly different from group 2, $p < 0.05$

c) Significantly different from group 3, $p < 0.05$

d) Significantly different from group 5, $p < 0.05$

PCB を含む飼料で飼育した群ではいずれも肝肥大がみられると共に、血清 TG および PL 値の上昇が認められた。V.D₂ 無添加飼料または V.D₂ 添加飼料で飼育した群ではいずれも肝肥大ならびに血清 TG, PL 値の上昇は認められなかった。

2. V.D₂ 添加飼料または V.A, V.D₂ 同時添加飼料で飼育した場合の PCB の毒性

1) 成長に及ぼす影響：さきの V.D₂ 添加 PCB 群でみられた著しい成長抑制をさらに確認するために実験を繰返した。なお、V.A には前報¹⁾の如く、PCB による成長抑制をある程度防止する効果がみられるので、V.A を添加した群をもつくり比較した。PCB を0.1%含む飼料に V.D₂ を1,000 IU 添加した場合および V.D₂ 1,000 IU と V.A アセテート 3,000 IU を同時に添加した場合の成長曲線を示すと図2の如くである。

PCB を0.1%含む飼料に V.A を添加した群では PCB 群に比して有意の成長増加が認められたことは前報同様である。PCB を含む飼料に V.D₂ を添加した群は飼育開始後約40日目頃より成長は停止し、50日目をすぎると体重が低下し始め、55日以後では急激な低下を示し、58日目には1匹が死亡したので、59日目には残りを屠殺した。PCB を含む飼料に V.A と V.D₂ を同時に添加した群では50日目まで PCB+V.D₂ 群を上廻る成長を示したものの50日目をすぎると体重の急激な減少がみられ、51日目には1匹が死亡したので、52日目に

残りを屠殺した。V. A, V. D₂ 同時添加群の50日目までの良好な成長は V. A 添加の効果によるもので、その後の急激な体重低下は V. D₂ 添加のマイナスの面が強く現われ、V. A の効果を消去したものと考えられる。

ところで、PCB 投与によって薬物代謝酵素系が誘導され、エストロジェンの分解が促進されることが知られている⁶⁾¹⁵⁾。この際、エストロジェンと似た構造の V. D も水酸化を受ける可能性が大きいので、体内の V. D 量も低下することが推測される。そこで、PCB 群に V. D₂ を添加してみたところ、逆にマイナスの結果をもたらしたわけで、この原因については目下不明であるが、V. D₂ の添加が PCB の蓄積をうながし、その毒性を強めたのか、あるいは PCB が V. D₂ の蓄積をうながし、PCB と V. D₂ の害が相乗的に、あるいは相加的に起ったのかも知れない。この場合、薬物代謝酵素系がどのように関与しているかも全く不明である。

2) 血清脂質に及ぼす影響：0.1% PCB 飼料に V. D₂ を 1,000 IU 添加した場合および V. D₂ 1,000 IU と V. A アセテート 3,000 IU を同時添加した場合の血清中の TG および PL を測定した値を示すと表 2 の如くである。

表から明らかなように、PCB 群の血清 TG および PL はいずれも対照群に比して高値を示した。PCB に

Fig. 2 Effect of vitamin D₂ and A addition on growth of rats fed 0.1% PCB diet

- Control
- 0.1% PCB
- △—△ 0.1% PCB+V. D₂ (1,000 IU per 100 g diet)
- ×---× 0.1% PCB+V. A (3,000 IU per 100 g diet)
- ▲---▲ 0.1% PCB+V. D₂ (1,000 IU per 100 g diet)
+V. A (3,000 IU per 100g diet)

Table 2 Effects of vitamin D₂ and vitamin A addition on serum triglyceride and phospholipid concentration in rats fed 0.1% PCB diet

Group	Number of animals	Food intake (g/day)	Serum	
			Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
1 Control	6	18.6±0.68 ¹⁾	125±4.3	286±16.0
2 0.1% PCB	6	11.7±0.53 ^{a)}	194±11.4 ^{a)}	456±36.0 ^{a)}
3 0.1% PCB +V. D ₂ (1,000 IU)	6	10.0±0.51 ^{a)}	342±10.0 ^{a) b)}	643±38.0 ^{a) b)}
4 0.1% PCB +V. A (3,000 IU)	6	12.2±0.84 ^{a)}	272±38.0 ^{a) b)}	387±38.0 ^{a) c)}
5 0.1% PCB +V. D ₂ (1,000 IU) +V. A (3,000 IU)	6	12.4±0.87 ^{a) c)}	310±25.0 ^{a) b)}	761±47.0 ^{a) b) d)}

¹⁾ Mean±SE.

^{a)} Significantly different from group 1, $p < 0.05$

^{b)} Significantly different from group 2, $p < 0.05$

^{c)} Significantly different from group 3, $p < 0.05$

^{d)} Significantly different from group 4, $p < 0.05$

V. D₂ を添加した群では PCB 群の血清よりさらに TG 値および PL 値が上昇した。PCB に V. A を添加した群においても、血清 TG の上昇が認められたが、PCB に V. D₂ を添加した場合より上昇の程度は低かった。PCB に V. D₂ を添加した群が PCB 投与 6～7 週後に著しい成長低下を示した原因については明らかでないが、TG や PL の著しい上昇による高脂血症も何らかの関係があるのではないかと考えられる。

3) 肝重量および肝 V. A 含量におよぼす影響：PCB 飼料に V. D₂ を 1,000 IU 添加した場合および V. D₂ 1,000 IU と V. A 3,000 IU を同時添加した場合の肝重量および肝 V. A 含量を示すと表 3 の如くである。

Table 3 Vitamin A content in the liver of rats fed 0.1% PCB diet and its diet added with vitamin D₂, vitamin A or both vitamin

Group	Liver weight (g)	Liver weight per 100g body weight (g)	Vitamin A content	
			(IU/g liver)	(IU/liver)
1 Control	17.11±0.43 ¹⁾	3.77±0.09	33.7±4.3	586±84
2 0.1% PCB	18.42±1.11	8.42±0.22 ^{a)}	3.7±1.0 ^{a)}	70±21 ^{a)}
3 0.1% PCB +V. D ₂ (1,000 IU)	14.83±1.10 ^{a)}	8.38±0.54 ^{a)}	2.7±0.4 ^{a)}	39±6 ^{a)}
4 0.1% PCB +V. A (3,000 IU)	21.16±1.69 ^{a)c)}	8.46±0.83 ^{a)}	153.7±8.0 ^{a)b)c)}	3,231±230 ^{a)b)c)}
5 0.1% PCB +V. D ₂ (1,000 IU) +V. A (3,000 IU)	16.54±0.79 ^{d)}	8.54±0.52 ^{a)}	117.5±12.7 ^{a)b)c)d)}	1,910±155 ^{a)b)c)d)}

1) Mean+SE.

a) Significantly different from group 1, $p < 0.05$

b) Significantly different from group 2, $p < 0.05$

c) Significantly different from group 3, $p < 0.05$

d) Significantly different from group 4, $p < 0.05$

PCB 投与群では V. D₂ または A 添加の有無にかかわらず、肥大が認められ、その程度もほぼ同じであった。肝の V. A 含量は PCB 群および PCB+V. D₂ 群において著しい減少が認められ、前報同様の結果が得られた。一方、V. A 添加群においては V. A の蓄積が認められたが、V. A、V. D₂ 同時添加群の方が肝 V. A 含量は低かった。

要 約

PCB を投与した動物の成長および脂質代謝が飼料中の V. D の有無によってどのような影響をうけるかについて検討した結果を要約すると次の如くである。

1. 飼料中に V. D₂ が不足しても、またある一定量以上添加しても PCB による成長抑制が一層著しく、毒性の強まることを認めた。
2. V. A は PCB による成長抑制を改善する効果を有することを再確認した。
3. PCB を含む飼料に V. D₂ 1,000 IU と V. A 3,000 IU を同時に添加した場合、V. A は PCB による成長抑制を改善する効果を示さなかった。
4. PCB を含む飼料に V. D₂ 1,000 IU 添加した場合は血清の中性脂肪と磷脂質を著しく増加させた。

本研究の一部は環境庁公害防止等試験研究費によって行なわれたことを付記して厚く感謝の意を表します。なお、実験に協力下さった日本大学農獣医学部水産学科学学生戸田義夫、額賀良人両君に感謝します。

文 献

- 1) 印南 敏, 東条仁美, 宇津木良夫, 中村敦子, 永山スミ子 : 栄養学雑誌, **32**, 58 (1974)
- 2) Innami, S., Nakamura, A., and Nagayama, S. : *J. Nutr. Sci. and Vitaminol.*, **20**, 363 (1974)
- 3) Innami, S., Nakamura, A., Kato, K., Miyazaki, M., Nagayama, S., and Nishide, E. : *Fukuoka Acta Medica* **66**, 579 (1975)
- 4) 永山スミ子, 中村敦子, 高木清子, 印南 敏 : 栄養学雑誌, **32**, 253 (1974)
- 5) Peakall, D. B. : *Sci. Am.*, **223**, 73 (1970)
- 6) Risebrough, R. W., Rieche, P., Peakall, D.B., Herman, S. G., and Kirven, M. N. : *Nature*, **220**, 1098 (1968)
- 7) 磯野直秀, 藤原邦達 : 科学, **42**, 396 (1972)
- 8) 磯野直秀 : 和光純薬時報, **41**, 6 (1972)
- 9) Simkiss, K. : *Calcium in Reproductive Physiology* (Reinhold, New York) (1967)
- 10) Hart, E. B., Steenbock, H., Lepkovsky, S., Kletzien, S. W. F., Halpin, J. G., and Johnson, O. N., : *J. Biol. Chem.*, **65**, 579 (1925)
- 11) Hahn, T. J., Hendin, B. A., Scharp, C. R., and Haddad, J. G. : *New Engl. J. Med.*, **287**, 900 (1972)
- 12) Stamp, T. C. B., Round, J. M., Rowe, D. J. F., and Haddad, J. G. : *Br. Med. J.*, **4**, 9 (1972)
- 13) Stamp, T. C. B. : *Proc. Roy. Soc. Med.*, **67**, 64 (1974)
- 14) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯清太郎, 塚元久雄 : 福岡医誌, **62**, 30 (1971)
- 15) Lincer, J. L., and Peakall, D. B. : *Nature*, **228**, 783 (1970)
- 16) Van Handel, E., and Zilversmit, D. B. : *J. Lab. Clin. Med.*, **50**, 152 (1957)
- 17) Fiske, C. H., and SubbaRow, Y. : *J. Biol. Chem.*, **66**, 357 (1925)

(受付 : 昭和51年7月30日)