実験的高コレステロール血症ウサギに対する ビタミンEの影響*

石 垣 吉 春** 今 村 敏 治** 勝 沼 英 宇**

I. はじめに

ビタミンEは生体膜脂質を過酸化より防止して、生体膜を保持する作用があり、一方動脈硬化症と過酸化脂質との関係を示す報告も多い。勝沼ら¹⁾は高コレステロール血症を有する貧血高齢者の赤血球は膜遊離コレステロールが増加して、コレステロール・リン脂質比が増大し、赤血球膜リン脂質構成脂肪酸では不飽和脂肪酸が減少する傾向があることを報告した。今回膜機能²⁾と重大なかかわりを持つと言われている膜リン脂質構成脂肪酸と脂質過酸化との関係を追求する目的で、ビタミンEを実験的高コレステロールウサギに投与し、赤血球膜脂質および大動脈壁脂質の変動について検討した。

II. 対象および方法

1. 対象

2.5 kg 前後の白色雄性ウサギを用い、1% コレステロール含有食飼育群 (以下 C 群とす)、および1% コレステロール+0.1% α -Tocopherol 含有食飼育群 (以下 E 群とす)を用いた。

2. 方法

実験食投与前、飼育5週、10週、20週に耳静脈より、ヘパリン加採血し、血漿、buffy coat を除去、赤血球を生食にて3回洗浄後、赤血球懸濁液を作製し、その懸濁液より Folch の方法³⁾に準じて膜内総脂質を抽出後、膜内遊離コレステロールを OPA 法にて定量し、リン脂質構成脂肪酸組成を GLC 法にて分析した。分離した血漿では総

コレステロールを酵素法にて、ビタミンEを HPLC 法にて定量した。大動脈壁内脂質は飼育20週で屠殺し、大動脈を摘出し、外膜剝離後、ホモジネートし、Folch の方法に準じて、総脂質を抽出後、リン脂質構成脂肪酸組成を GLC 法にて分析した。

III. 結 果

血漿総コレステロールは飼育により著明に増加するが、両群間に有意な差は認められなかった。赤血球膜遊離コレステロールでは両群共飼育につれて増加するが、E 群では増加の抑制される傾向が認められた (Fig. 1)。血漿ビタミンEではE群において、増加する傾向が認められた (Fig. 2)。赤血球膜リン脂質構成脂肪酸組成では、5週飼育

Fig. 1 Changes of free cholesterol in RBC.

* 1983年1月、日本動脈硬化学会 昭和57年度冬季大会において発表

** 東京医科大学老年病科

Fig. 2 Changes of Plasma Vit. E.

Fig. 3 Fatty acid composition of phospholipid in RBC membrane: upper, 5 weeks, lower, 10 weeks.

Fig. 4 Fatty acid composition of phospholipid in RBC membrane (Before, 5 weeks, 10 weeks).

Fig. 5 Fatty acid composition of phospholipid in thoracic aorta (20 weeks).

時、10週飼育時ともに C18=2, C20=4 など多価不飽和脂肪酸 (以下 PUFA とす) で E 群において高い傾向が認められた (Fig. 3)。それぞれの経時的変動をみると、C 群では C18=2, C20=4 など PUFA で有意な減少が認められた。E 群では C18=2 で減

少する傾向が認められたが、C20=4 では減少の抑制される傾向が認められた (Fig. 4)。不飽和脂肪酸・飽和脂肪酸比でみると、C 群において飼育前 1.08 ± 0.08 に対し、飼育 10 週で 0.94 ± 0.05 と 10 週飼育で有意な減少が認められたが、E 群では飼

Fig. 6 Fatty acid composition of phospholipid in RBC membrane (20 weeks).

育前 1.06 ± 0.07 に対し、10 週飼育で 0.99 ± 0.05 と減少したが、C 群に比し、減少が抑制される傾向を認めた。20 週飼育時の赤血球膜リン脂質構成脂肪酸組成でも、5 週、10 週と同様 $C_{18=2}$ 、 $C_{20=4}$ め E 群に高い傾向が認められた (Fig. 5)。大動脈壁リン脂質構成脂肪酸組成でも赤血球と同様、 $C_{18=2}$ 、 $C_{20=4}$ で E 群に高い傾向が認められた (Fig. 6)。貧血の推移では両群共に著明に進行したが、E 群では C 群に比べ貧血の進行が抑制される傾向が認められた。

IV. 考 案

Cooper⁴⁾ らは赤血球膜コレステロール・リン脂質比の増大は、膜流動性の低下、膜機能の低下、脆弱性の増大をきたすと報告しており、野沢²⁾ らも膜リン脂質構成脂肪酸組成で PUFA が減少す

と膜流動性が低下すと報告している。一方勝沼¹⁾ らは高コレステロール血症ウサギでは赤血球寿命が短縮して、溶血性貧血が出現し、赤血球膜コレステロール・リン脂質比の増大、リン脂質構成脂肪酸で不飽和脂肪酸の減少、飽和脂肪酸の上昇を報告している。したがって、脂質過酸化を防止するビタミンEを高コレステロール血症ウサギに投与することにより、赤血球膜遊離コレステロールの増加の抑制、リン脂質構成脂肪酸で PUFA の減少の抑制がみられ、貧血の進行が抑制されたと思われる。赤血球のビタミンE⁵⁾ は膜に局在しており、Diplock⁶⁾ および Lucy らは膜内で PUFA と複合体を形成し、PUFA の過酸化を防止していると報告していることから、今回の成績でビタミンEは高コレステロール血症ウサギにおいて、PUFA の過酸化を防止して、赤血球を保護し、貧血の進行を抑制していることが予想される。なおビタミンE投与群で大動脈壁リン脂質構成脂肪酸でも赤血球と同様 PUFA が高い値を示したが、大動脈壁のどの fraction での変化であるか今後分析する必要があると思われる。

文 献

- 1) 勝沼英字, 他: 治療, **55** (12): 2374 (1973).
- 2) 野沢義則: 生化学, **47** (2): 52 (1975).
- 3) Folch, J., et al.: J. Biol. Chem., **226**: 497 (1957).
- 4) Cooper, R. A., et al.: Biochemistry, **17** (2): 327 (1978).
- 5) Silber, R. et al.: Clin. Invest., **48**, (1969).
- 6) Lucy, J. A., et al.: Ann. N.Y. Acad. Sci., **203**: 4 (1972).

Summary

The Effect of Vitamin E on Lipid Metabolism of Erythrocyte Membrane of Experimental Hypercholesterolemic Rabbits

Yoshiharu ISHIGAKI*, Toshiharu IMAMURA* and Hideyo KATSUNUMA*

*Department of Geriatric Medicine, Tokyo Medical College

The effect of vitamin E on the lipid metabolism of erythrocyte membrane of experimental hypercholesterolemic rabbits was examined. Rabbits were divided into two groups. Group C: rabbits fed by a hypercholesterol diet. Group E rabbits fed by a hypercholesterol diet containing vitamin E. Erythrocyte Membrane lipids and lipids in the thoracic aorta were analysed.

Free cholesterol in the erythrocyte membrane of group C was not so much increased as that of

group E. In group E, the decrease of polyunsaturated fatty acids (PUFA), particularly $C_{18=2}$, $C_{20=4}$ of erythrocyte membrane phospholipid was inhibited. Phospholipids in the aorta of group E contained more PUFA than that of group C. These data suggested that vitamin E had an important effect on membrane lipid metabolism.

Key words: rabbit, vitamin E, erythrocyte membrane, fatty acid.