人血清 LDH 活性値に及ぼすビタミンC

長期付加の影響に関する実験的研究

Experimental Study on the Effect of Vitamin C Long Term Loading on the Serum LDH Activity in Man

徳島大学医学部公衆衛生学教室

三 好 保・今 木 雅 英・吉 村 武・松 本 和 興

Tamotsu Miyoshi, Masahide Imaki,
Takeshi Yoshimura and Kazuoki Matsumoto

Department of Public Health, School of medicine, The University of Tokushima, Tokushima

The effects of vitamin C intake on percentages of LDH-4 and LDH-5 fractions were examined in 5 healthy volunteers. The experiment lasted 43 months (usual diets; 12 months, usual diets+vitamin C 1 g/day; 24 months, usual diets; 7 months). The variations of the percentages of LDH-4 and LDH-5 fractions were measured.

The results obtained were as follows.:

The percentage of LDH-4 in all subjects decreased with vitamin C administration, and decreased significantly ($p < 0.05$) from $8.3 \pm 0.98\%$ to $6.9 \pm 0.75\%$ after 24 months.

The percentage of LDH-5 in all subjects decreased after vitamin C administration, and decreased significantly ($p < 0.05$) from $9.4 \pm 4.9\%$ to $8.0 \pm 3.95\%$ after 24 months.

It is possible to conclude from the results that the percentages of the LDH-4 and LDH-5 fractions were affected by long-term vitamin C loading.

Key words: Serum LDH activity, Vitamin C, Long-term loading, Percentage of LDH-4 fraction, Percentage of LDH-5 fraction,
血清 LDH 活性値, ビタミンC, 長期付加, LDH-4 分画比, LDH-5 分画比

実 験 方 法

結 言

集団検診における正常範囲内の血液検査データを予防医学的活用するために、著者らは健康人の血清酵素活性値と摂取栄養の関連について一連の実験的¹⁾、疫学的研究²⁻⁴⁾を報告している。既報において^{3,4)}、血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比と摂取ビタミンC量、血清ビタミンC量との間に統計的に有意な関係を認めた。さらに本報告では、これらの疫学的結果を実験的に実証するために、健康な被験者を対象に43月間の継続した実験を行い、血清 LDH-4 分画比、血清 LDH-5 分画比の変動を観察した。

'83年9月から'87年の3月の連続した43月間、5名の志願被験者に通常食および通常食にビタミンC 1g/日を付加させ、血清 LDH-4 分画比、血清 LDH-5 分画比の変化を測定した。その詳細は次のとおりである (Fig. 1)。

1. 被験者

被験者は、心疾患、糖尿病等の慢性疾患、肝胆疾患の既往歴ない健康な教育公務員5名である。いずれの被験者も、本研究の目的および実施のための詳細な内容を知らされたうえで、協力すると意向表示した志願者である。その年齢、体位は、Table 1 に示した。

- 1) Experimental periods: '83/9-'87/3
First Year ('83/9-'84/8): Usual diets
Second Year ('84/9-'85/8): Usual diets+Vitamin C
Third Year ('85/9-'86/8): Usual diets+Vitamin C
Fourth Year ('86/9-'87/3): Usual diets
- 2) Number of subjects: Five Japanese males
- 3) Serum enzyme activity was measure once a month

Fig. 1 Experimental design.

Table 1 Sex, age, height and weight of each subject.

Subject	Sex	Age (Years)	Height (cm)	Weight (Kg)
No. 1	male	55	164.0	69.0
No. 2	male	43	175.0	60.0
No. 3	male	33	173.0	80.0
No. 4	male	29	171.0	89.5
No. 5	male	28	175.0	70.0
Mean		37.6	170.8	73.6
S.D.		11.3	4.7	11.1

- 1) 一般的に良好な健康状態であった。
- 2) 入院加療を要する疾病はなかった。
- 3) 3日以上連続した病気休暇はなかった。
- 4) 肝胆疾患に罹患しなかった。
- 5) 心疾患、糖尿病等の慢性疾患に罹患しなかった。
- 6) 非喫煙である。
- 7) 常習的な飲酒はしなかった。
- 8) 職業上の配置転換はなく、ほぼ同じ業務を行っていた。
- 9) 5 kg 以上の体重の増減はなかった。

3. 実験期間とビタミンC付加

実験期間は、Fig. 1 に示してあるように、実験1年目は通常食である。実験2、3年目は通常食にビタミンC 1 g/日を付加した。実験4年目は通常食に戻した。ビタミンC (L-アスコルビン酸、粉末、試薬特級、和光純薬) 付加は朝食後0.5g、夕食後0.5gの粉末を摂取させた。

4. 血清酵素測定

血清 LDH アイソザイムの分画は、アガロースにショ糖を混合した pol-E-フィルムを支持体とし、0.05 M バルビタール緩衝液 (pH 8.6) で pol-E-フィルムシステム付属の泳動装置により、電気泳動後、酵素反応と染色を同時に行った。測定は発色させたアガロースフィルムをデンシトメーターのフィルター UV570 nm で記録、計測

し、各分画を面積計で測定し百分率を算出した。従来からの命名法により分画は陽極側の易動度の早いものから LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4, LDH-5 と命名した。

血清ビタミンC量は、Ayekaw⁵⁾の方法により測定した。又同一検体については、少なくとも2回の測定を行い、その平均値を測定値とした。

測定は毎月中旬に1回採血した。採血は朝8時、朝食前に実施し、同時に血圧測定などの一般的検診も行った。血清酵素活性値、血清ビタミンC量はその日のうちに測定を終了するようにした。

実験結果

Fig. 2 は、血清 LDH-4 分画比の5人の被験者の平均値の変動を示してある。実験1年目(通常食)と実験2年目(ビタミンC付加)の間には分画比の差異が殆ど認められないが、実験3年目(ビタミンC付加)になる

Fig. 2 Variation of the percentage of the LDH-4 fraction after vitamin C administration.

Fig. 3 Variation of the percentage of the LDH-5 fraction after vitamin C administration.

Table 2 The variation in percentages of serum LDH isozyme in the experimental period.

Subject		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Total
LDH-4(%)	Year 1	8.3±0.88	8.7±0.94	7.2±0.60	7.9±0.52	8.7±0.95	8.3±0.98
	Year 2	7.9±0.47	8.4±0.89	7.3±0.68	8.2±0.49	8.0±0.80	8.0±0.80
	Year 3	6.6±0.34	7.0±0.72	6.6±0.78	7.5±0.55	6.6±0.70	6.9±0.75
	Year 4	7.5±0.61	7.5±0.95	7.7±0.79	8.1±0.62	8.1±1.11	7.8±0.85
LDH-5(%)	Year 1	6.6±0.68	6.7±0.98	7.1±0.74	18.6±3.76	8.2±1.46	9.4±4.97
	Year 2	6.2±0.58	6.8±0.65	7.4±1.29	16.9±1.00	7.6±0.72	9.0±4.10
	Year 3	5.7±0.46	5.9±0.67	6.2±0.65	15.8±0.72	6.3±0.91	8.0±3.95
	Year 4	6.4±0.30	7.1±0.44	7.7±0.75	17.8±0.72	7.3±0.62	9.2±4.36

Year 1: Usual diets ('83/9-'84/8) Year 2: Usual diets+Vitamin C 1g/day ('84/9-'85/8) Year 3: Usual diets+Vitamin C 1g/day ('85/9-'86/8) Year 4: Usual diets ('86/9-'87/3)

認められないが、実験3年目(ビタミンC付加)になると統計的に有意な($p<0.05$)低下が認められる。Table 2は各被験者の分画比の変動を示してある。被験者全員、実験3年目には有意な($p<0.05$)低下を認めた。4年目に通常食に戻すと、分画比に有意な($p<0.05$)上昇が認められた。

Fig. 3は、血清LDH-5分画比の4人の被験者の平均値の変動を示してある。被験者No. 4の血清LDH-5分画比は他の被験者の2~3倍の分画比を示し、異常値の領域にあるので除いた。血清LDH-4分画比と同様な傾向が認められ、実験1年目(通常食)と実験2年目(ビタミンC付加)との間には分画比の差異が殆ど認められないが、実験3年目(ビタミンC付加)になると統計的に有意な($p<0.05$)低下が認められた。Table 2は各被験者の分画比の変動を示してある。被験者全員、実験3年目には有意($p<0.05$)な低下を認めた。4年目に通常

食に戻すと、分画比に有意な($p<0.05$)上昇が認められた。

Fig. 4は、血清ビタミンC量の5人の被験者の平均値の変動を示してある。通常食である実験1年目は、冬期に血清ビタミンC量が上昇する傾向が認められた。ビタミンCを1g/日を付加すると、ほぼ飽和濃度に達したと考えられ、変動は殆どなく平均1.6mg/dl付近の値を示した。

さらに血清ビタミンC量と関連した測定項目についてであるが、耐寒能との関係を検討するために、実験地(徳島市)の気温と血清ビタミンC量との相関関係を求めると、有意な負の相関関係が認められた($r=-0.862$)。又ストレス関係についてであるが、本報では関係のある測定はしなかった。

考 察

血清LDH活性値およびそのアイソザイムは一般臨床検査項目の中に組み込まれ、肝臓、心臓疾患等の診断に広く利用されている⁸⁾。著者らは、これらの血清酵素活性値の栄養指標としての可能性を追求するために、健康人の血清酵素活性値と摂取栄養の関連について一連の実験的、疫学的研究を実施している。

疫学的研究において、健康な学生257名を対象に摂取栄養調査と血清LDH活性値およびそのアイソザイム測定を実施した。その結果、血清LDH-4分画比および血清LDH-5分画比と摂取ビタミンC量の間に統計的に有意な負の相関関係が認められた⁴⁾。さらに血清LDH-4分画比および血清LDH-5分画比は、血清ビタミンC量と統計的に有意な負の相関関係が認められた³⁾。このように疫学的調査から摂取ビタミンC量、血清ビタミンC量の

Fig. 4 Variation of serum vitamin C after vitamin C administration.

高摂取グループは、血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比が低レベルであると推察された。しかし、この結果から、ビタミンCに血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比を低下させる作用があると断定するには若干無理を生じる。さらにビタミンCを投与して、血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比が低下するのを確認する必要がある。人を用いたビタミンC投与実験についての報告がいくつかなされている。その中で、Howarde⁷⁾らは、26人の被験者を用い、3 g/日のビタミンC経口投与により血清 LDH 活性値が上昇したと報告しているが、逆に Andre ら⁸⁾は10人の被験者で3 g/日のビタミンC経口投与で活性値が低下したと報告し一定しない。著者らの実験的研究⁹⁾では、6人の被験者を用い、1 g/日のビタミンC経口投与を10日間続いて10 g/日のビタミンC経口投与を10日間を実施した結果、血清 LDH-4 分画比と血清 LDH-5 分画比に統計的に有意な低下を示した。しかしこれらの報告はすべて実験期間が短期間であり、季節変動など他の生理的変動因子を考慮にいていない。このために、長期間の投与と実験が必要であると考えられる。そこで著者らは、同一被験者による43月間の長期の血清 LDH-4 分画比、血清 LDH-5 分画比および血清ビタミンC量の変動の測定を行った。その結果、血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比ともにビタミンCを付加しなかった実験1年目と実験2年目（付加1年間）の間に殆ど差異が認められなかったが、しかし実験3年目（付加2年間）には有意な低下が認められた。さらに付加を中止すると分画比の上昇を認めた。つまりビタミンCの投与が1年間程度では、差異が認められないが、以上の長期のビタミンC投与によって作用が発現することが認められた。

補足的であるが、血清ビタミンC量と耐寒能との関係を検討するために、実験地の気温と血清ビタミンC量との間に有意な負の相関関係が認められ、気温の低下と共に血中濃度が上昇することが認められた。

本報告においては、被験者の年齢が一定しなかったのは問題があると思われるが被験者全員の分画比に低下傾向が認められた。又作用機序について、ビタミンCによるストレスの緩和などあげられるが、明確な実験報告はなく、解明が必要であると思われる。

しかしながら、血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比のビタミンC摂取量および血清濃度の指標としての可能性が認められ、今後臨床検査値の予防医学上への応用が示唆された。

結 論

血清酵素活性値レベルに及ぼす食生活の影響を検討するために、健康な男性被験者5名に通常食1年間、ビタミンC 1 g/日付加2年間、通常食7ヵ月間摂取させ、血清 LDH-4 分画比および血清 LDH-5 分画比に及ぼすビタミンC長期付加の影響を検討した。

1. 血清 LDH-4 分画比の変動について、実験1年目（通常食）と実験2年目（ビタミンC付加）との間には分画比の差異が殆ど認められないが、実験3年目（ビタミンC付加）になると統計的に有意な ($p < 0.05$) 低下が認められる。
2. 血清 LDH-5 分画比は血清 LDH-4 分画比とほぼ同様な傾向を示した。
3. 血清ビタミンC量の変動について、冬期に血清ビタミンC量が上昇する傾向が認められた、ビタミンCを1 g/日を付加すると、ほぼ飽和濃度に達した（平均1.6 mg/dl）。

文 献

- 1) 今木雅英, 三好 保, 吉村 武, 大谷信弘: 人血清酵素活性値に及ぼす高糖質食（低蛋白・低脂質）の影響に関する実験的研究, 日衛誌, **40**, 885-891 (1986).
- 2) Imaki, M., Miyoshi, T. and Yoshimura, T.: Nutritional Evaluation of Serum Lactate Dehydrogenase Levels in Humans, Jpn. J. Hyg., **39**, 541-545 (1984).
- 3) Yoshimura, T., Miyoshi, T., Imaki, M. and Tamura, T.: Epidemiological study on serum lactate dehydrogenase (LDH) isozyme and serum vitamin C, Tokushima J. exp. Med., **32**, 71-77 (1985).
- 4) 吉村 武, 三好 保, 今木雅英: 血清 Lactate Dehydrogenase (LDH) アイソザイムの栄養学的研究, 日本公衛誌, **32**, 59-64 (1985).
- 5) Ayekaw, J.: A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma, Clin. Chim. Acta, **86**, 153-157 (1978).
- 6) Wroblewski, F. and Gregory, K.F.: Lactic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissues and plasma and in disease states, Ann. N. Y. Acad. Sci., **94**, 912-918 (1961).
- 7) Howarde, E.: Effects of Vitamin C loading on

serum constituents in man, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **169**, 363-367 (1982).

acid on laboratry test results, Clin. chem., **24**, 54-57 (1978).

- 8) Andre, C., Van Steirteghem, E., Robertson, A. and Donald, S.: Influence of large dose of ascorbic

(受付 1987年10月17日 受理 1987年12月9日)