総 説

ビ タ ミ ン E の 生 命 科 学

美 濃 真

大阪医科大学小児科学教室
(〒569 高槻市大学町2番7号)

Life Science of Vitamin E

Makoto MINO

Department of Pediatrics, Osaka Medical College
(2-7, Daigakucho, Takatsuki-shi, 〒569)

Vitamin E has been established from the experimental results that unknown substance contained in lettuce prevented fetal reabsorption in rats who fed synthetic diets including the vitamins previously found. Then, the multiplicity of severe pathological reactions that could be obtained in animals when vitamin E was removed from their diets, presents a confusing picture that is difficult to relate to human disorders. Recently, careful clinical studies of individuals with low plasma tocopherol levels together with trials of therapy have clarified the clinical situations and physical features which can be attributed to vitamin E deficiency. There have been three categories in the human vitamin E deficiency: (1) premature infants, (2) fat-malabsorption syndrome, and (3) isolated vitamin E deficient neuropathy. Free radical reactions, ubiquitous in living systems, which are of both enzymatic and non-enzymatic origin, may chemically explain the clinical changes relating to diseases. Biological scavenger systems and substances for protecting the progressive radical chain reactions exist in living systems. Vitamin E as a nutrients for scavenging the chain, may play an important role in maintaining health. In this paper, the scavenging action of vitamin E contained in erythrocyte membranes has been shown as a model, that radical reactants are introduced in biological system. Introduced radicals in erythrocyte membranes were used a xanthine oxidase reaction and an azo compound, AAPH, which are known to produce superoxide anions and hydroperoxides, respectively. In addition, erythrocyte tocopherol levels are shown to be clinically available for the assessment of nutritional status of vitamin E.

1 ビタミンEの発見と歴史¹⁾

ビタミンEが発見された経緯は、合成飼料にそれまでにはわかっていないビタミンを混合した食いをネズミにあたえたところ、そのネズミはこどもを産まなくなることが明らかとなり、それにレタスを与えると、ふたたび生殖能力が回復した実験事実から、その有効物質が抽出されたことに始まる。そしてその有効物質を、子供を産みやすくする物質という意味で、トコフェロール (tocopherol) と名づけられ、新しいビタミンであるビタミンEとして取り扱われるようになった。このビタミンは脂溶性である。

その後、ビタミンEが発見されて以来、種々の動物に実験的な欠乏症状の記載が相次いだ。しかし、ヒトの欠乏症ははっきりしないまま長い年月が経過したが、その過程で最も注目されたビタミンEの性質はその酸化防止作用であった。この酸化防止作用はすでに1937年にOlcottとEmersonによって認められたものであったがビタミンEの生理機能の重要性がこの酸化防止作用によるものと強調されはじめたのは1955年から1957年にかけて、MasonやDamにより、ビタミンEの欠乏病態が生体の脂質の酸化と関係があることが提唱されて以来である。ビタミンEの酸化防止作用は現在でもビタミンEの生物活性を説明する中心に位置しているが、この

表-1 各種動物におけるビタミンE欠乏症状

疾 病	実 験 動 物	障害組織	食じ性 不飽和 脂肪酸 依存性	予 防 効 果				
				ビタミ ンE	セレン	合成酸化 防 止 剤	SH-ア ミン酸	
不妊症 (Reproductive failure)								
胎児吸収 Type A	ラット, ニワトリ, 七面鳥	胎子の血管系	あり	あり	なし	あり	なし	
Type B	牛, 羊	胎子の血管系	なし	なし ^{a)}	あり ^{b)}	なし	なし	
無精子症	ラット, モルモット, ハムスター, 犬, ニワトリ	精そう	なし	あり	なし	なし	なし	
肝, 血液, 脳, 血管, その他								
肝壊死	ラット, 豚	肝	なし	あり	あり	なし	なし	
赤血球溶血	ラット, ニワトリ, ヒト (未熟児)	赤血球	あり	あり	なし	あり	なし	
血しょうタンパク喪失	ニワトリ, 七面鳥	血清アルブミン	なし	あり	あり	なし	なし	
貧血	猿	骨髓	なし	あり	なし	あり	なし	
脳軟化症	ニワトリ	小脳	あり	あり	なし	あり	なし	
浸出性体質	ニワトリ, 七面鳥	血管系	なし	あり	あり	なし	なし	
じん変化	ラット, 猿, ミンク	じん尿細管上皮	あり	あり	あり	なし	なし	
色素脱 (Depigmentation)	ラット	門歯	あり	あり	なし	あり	なし	
Steatitis, 黄色脂肪性疾患 (yellow fat disease)	ミンク, 豚, ニワトリ	脂肪組織	あり	あり	なし	あり	なし	
栄養性筋疾患								
栄養性筋ジストロフィー								
Type A	兎, モルモット, 猿, ガチョウ, マウス, ミンク	骨核筋	なし	あり	なし	なし(?)	なし	
Type B	小羊, 子牛の白筋病	骨核筋及び心筋	なし	なし ^{a)}	あり ^{b)}	なし	なし	
Tape C	七面鳥	砂のう, 心筋	なし	なし ^{a)}	あり	なし	なし	
Type D	ニワトリ	骨核筋	なし ^{c)}	あり	なし	なし	あり	

a) 食じ性にセレンの欠乏状態において効果ができない。

b) 低ビタミンE含有の食じにセレンを加えたときに効果がある。

c) ジストロフィーを発現させるには少量のリノール酸 (0.5%) が必要である; 高濃度であっても予防のためのビタミンEを増量させる必要はない。

作用を反応論的に明確にしたのは Tappel である。Tappel はビタミンE欠乏ではフリーラジカルの連鎖反応によって脂肪の酸化物が生じ、これが生体の機能を障害すると提唱した²⁾。一方、臨床的、栄養学的な面からこの作用に関し、大きい貢献をしたのは Gyorgy, Rose らによって開発された酸化的溶血テストであった³⁾。このテストによってビタミンE欠乏症の把握を容易にするとともに、このテストによってビタミンEの栄養学的、臨床学的知見が多く得られるようになった。

2 ビタミンE欠乏症

2・1 動物の欠乏症

ビタミンEが発見されてから、1940年代にかけて動物実験における多くの欠乏症状が発見され、そのリスト作りがおこなわれた。その概略を表-1に示す¹⁾。表に示すように種々の臓器に欠乏症状の発現があり、動物の

種類により欠乏症の出現が異なり、また、欠乏症の発現予防に必ずビタミンEを必要とするもの、ビタミンEでなくても合成酸化防止剤で予防されるもの、またビタミンEのほかにセレンを必要とするものなどの知見はビタミンEの生物活性を理解するのに混乱を招いた。

また、以上の動物実験の知見の積み重ねのうちに、ビタミンEの化学的な重要な性質に油脂の酸化を防ぐ作用 (酸化防止作用) が生物学的にも存在することが明らかとなり、ビタミンEの生理作用や必要量を理解する手掛かりを与えた。すなわち、ビタミンEの欠乏症状は動物間または臓器間で異なっているが、共通した現象としての理解は、各臓器における過酸化脂質の上昇と、生体膜系 (細胞膜, ミトコンドリア膜, リソソーム膜, 小胞体膜) の損傷であり、とくに生体膜を介した物質代謝においては酵素反応の修飾が生ずることが次第に明らかとなった。

表-2 未熟児に発現したビタミンE欠乏症

Low serum vitamin E levels
Susceptibility of RBC to hydrogen peroxide
Anemia
Short survival time in RBC
Thrombocytosis
Eczema
Edema

表-3 無 β -リポタンパク血症と胆汁うっ滞状吸収障害症に発現したビタミンE反応性の神経症状

	無 β -リポタンパク血症	他の脂肪吸収障害
無反射	++	++
小脳性運動失調	++	++
位置感覚の喪失	++	++
色素性網膜症	++	+
振動感覚の喪失	++	++
眼筋麻痺	++	++
筋力低下	++	++
ニスタグムス	++	(-)
触覚(痛み)の喪失	(+)	++
extensor plantal response	(+)	+
眼げん下垂	(+)	(+)
構音障害	(+)	(+)

(D.P.R. Muller ら, *Lancet*, 1983)⁸⁾

2・2 ヒトにおける欠乏症

しかし、ビタミンEの発見から1955年まではヒトにおける欠乏症は明らかでないまま経過したが、1955年にアメリカにおいてビタミンEの欠乏症の有無をヒトにおいて明らかにするための研究プロジェクトが生まれ志願者による9年間にわたる欠乏実験が行われた⁵⁾。この研究においても最初の3年間は血清中のビタミンE値も低下せず、なんの異常も発現しなかった。そこで動物実験から得られた、ビタミンEの酸化防止作用に対抗させるように、酸化されやすい油、すなわち不飽和脂肪酸を多く含んだ油脂を食事に添加させたところ、血清中のビタミンE値は減少し、赤血球の酸化剤に対する抵抗性が低下するという事実が表れた。これらはビタミンE欠乏の表れではあったが、明らかな欠乏症状の発現を見ることができなかった。しかし、この人体での実験は非常に貴重なものであって、この研究から、ビタミンEの必要量は食事の不飽和脂肪酸の量によって左右されることも明らかとなって、アメリカで世界で初めてのビタミンE所要量の決定をもたらせる基礎となる成績を得た。

しかしなお、ヒトのビタミンE欠乏症の有無は不明の状態が続いたが、1966年と1968年に未熟児にビタミン

E欠乏症のそれぞれ1例ずつの報告があった^{6)・7)}。ヒトのビタミンE欠乏症では最初の報告であった。また、最近、脂肪の栄養障害を示す、無 β -リポタンパク血症⁸⁾と胆汁うっ滞症⁹⁾の小児にビタミンEの欠乏症状が出現することが明らかにされた。

2・2・1 未熟児における欠乏症

従来より、未熟児や成熟新生児の血清ビタミンE値が低く、またその赤血球はしばしば過酸化水素(酸化剤)に対する抵抗性が弱く、過酸化水素溶血値がこう進んでいるので、未熟児はビタミンE欠乏状態と考えられていた。しかし、症状としての欠乏症は特定されなかったが、粉乳に脂肪置換の効果が頭頭してきた時期の1965年ころ、未熟児に必須脂肪酸であるリノール酸の栄養学的効果が検討されていた。その一つの研究としてリノール酸を多く含む粉乳を未熟児に与えたところ、表-2に示すような共通した症状の発現をみた報告が別々に2報された。しかし、この様に高度不飽和脂肪酸を過剰に投与しない未熟児がその血清値から想像される程、ビタミンE欠乏状態であるか否かは現在議論の余地が残されている。

2・2・2 脂肪吸収障害とビタミンE欠乏症

a) 無 β -リポタンパク血症

β -リポタンパクは血液の中でコレステロールなどの脂肪類を組織に運搬するタンパクであるが、このタンパク質が先天的に欠損している疾患がある。これを無 β -リポタンパク血症というが、この患者は従来より赤血球寿命が短く形態異常があり、また10才ころまでに種々の神経症状や網膜症を発現し、一たん発症すると自然軽快することはないことが知られていた。この症状は表-3に掲げたものである。また、血しょうビタミンE値は測定不能にまで低下することも従来よりよく知られていたので、Muller ら⁸⁾はこの患児にビタミンE大量投与を試みた。そして、その結果、症状の発現している小児は症状の進行が停止し、また生活に不自由のないまでに症状が改善することを証明し、さらに、まだ症状の発現していない小児においては完全に発症を抑制し得ることを示した。そして、これらの症状がヒトにおけるビタミンE欠乏症状であることが明らかにされた。

b) 脂肪吸収障害症

上記の無 β -リポタンパク血症と同じような神経・筋障害の症状が胆汁うっ滞を伴う脂肪吸収障害症にも報告されはじめ、これに対してもビタミンE投与の効果が無 β -リポタンパク血症に対するとおなじように認められはじめた。このような脂肪の吸収障害は、先天的に胆管の欠損している小児に現れたもので、このような患児は従来2才までに死亡していたものであるが、手術法の開発によって長期生存が可能となったためビタミンE欠乏症が表れたものである。これは肝臓に胆汁のうっ滞をお

図-1 Xanthine oxidase 反応及び AAPH 免疫の基質濃度と溶血との関係

図-2 赤血球 tocopherol 濃度と xanthine oxidase 反応性溶血と AAPH 反応性溶血

表-4 2種類のラジカル反応による赤血球の構成脂質の変化

	PC	PE	PS	$\text{C}_{18:2}$	$\text{C}_{20:4}$	$\text{C}_{22:6}$
			mg/100mL	packed	cell volume	
Before	113 $\pm$ 8 (100%)	81 $\pm$ 6 (100%)	16 $\pm$ 3 (100%)	22 $\pm$ 1 (100%)	65 $\pm$ 3 (100%)	1.0 $\pm$ 0.05 (100%)
Xanthine oxidase						
ビタミン E 欠乏	88 $\pm$ 7 (78%)	30 $\pm$ 8 (37%)	5 $\pm$ 3 (31%)	18 $\pm$ 2 (82%)	28 $\pm$ 3 (43%)	0.6 $\pm$ 0.06 (60%)
非 欠 乏	111 $\pm$ 7 (98%)	78 $\pm$ 6 (96%)	15 $\pm$ 3 (94%)	22 $\pm$ 1 (100%)	64 $\pm$ 2 (98%)	1.0 $\pm$ 0.02 (100%)
AAPH						
ビタミン E 欠乏	93 $\pm$ 6 (82%)	62 $\pm$ 5 (77%)	11 $\pm$ 3 (69%)	20 $\pm$ 1 (91%)	50 $\pm$ 2 (77%)	0.9 $\pm$ 0.05 (90%)
非 欠 乏	106 $\pm$ 7 (94%)	76 $\pm$ 6 (94%)	15 $\pm$ 3 (94%)	22 $\pm$ 1 (100%)	63 $\pm$ 1 (97%)	1.0 $\pm$ 0.01 (100%)

$n=4$, $M \pm SD$, 反応時間 3 h, 反応温度 37°C, ビタミン E 非欠乏赤血球の α -tocopherol の濃度: 300~400 $\mu\text{g/dL}$ packed cells, FC: 遊離コレステロール, PE: ホスファチジルエタノールアミン, PS: ホスファチジルセリン

こし胆汁の排せつが悪く脂肪の吸収障害によるビタミンE欠乏であるが、無 β -リポタンパク血症に発現する筋肉、神経障害の症状と非常に類似した症状が、無 β -リポタンパク血症より早期に出現することが特徴的で、早ければ3才に初発を見る⁹⁾。ビタミンEの経口投与のみでは血清ビタミンE値を正常レベルまで上昇させることが難しく、ビタミンEを筋肉内に注射投与を行うことによって血清ビタミンE値を正常値近くに上昇させることによって、上記神経症状の改善をうることができた報告が相次いだ。

上記の二病態によって発現する筋、神経症状とビタミンE治療の効果の関係は表-3に示されているものである。これらは、動物の欠乏症における筋ジストロフィーや脳軟化の病変に対応するものであると考えられる。

3 生理作用

ビタミンEに酸化防止作用があることは古くより認められているところである。この酸化防止作用をそのまま生体作用への理解に導いたのはTappelであった。現在でもTappelの考え方はビタミンEの生理作用の理解の中心に位置している。

生体における非生理的酸化的組織障害は酸化反応が導入されやすい生体膜の不飽和脂肪酸に発生すると考えられており、この酸化反応の抑制にビタミンEが効力を発揮するという基礎的、実験的事実の確認は多い。ここには、その1例として著者らの研究結果を述べる。

生体膜として赤血球膜を用い、それに対する酸化反応系に、発生するラジカル種の明らかな2種類の反応系を用いた。反応系は以下に示すように、スーパーオキシドを発生するxanthine oxidase (HX-XOD) 反応系と、恒常的に一定のラジカル量を発生するアゾ色素 AAPH [2,2'-azobis(2-aminidopropane) dihydrochloride] の自動分解系である¹⁰⁾。

1. Xanthine oxidase reaction system

- 0.34 mM hypoxanthine
- 0.1 U xanthine oxidase
- 10% RBC suspensions in phosphate buffer pH 7.4)

2. AAPH reaction system

- 74 mM AAPH
- 10% RBC suspensions in phosphate buffer (pH 7.4)

なお、AAPHの自己分解反応で発生するラジカルは、ペルオキシラジカルであることが知られている。この2種類の反応系はそれぞれ基質に依存してE欠乏ラット赤血球を溶血させた(図-1)。この両反応は異なる反応様式をとり、HX-XOD反応系の方が膜脂質変化が強(表-4)、TBARSの生成量も多い。このように異なっ

表-5 ビタミンE栄養アセスメントとしての指標

Plasma tocopherol level
Plasma tocopherol/lipid ratio
RBC tocopherol level
Platelet tocopherol level
Buccal mucosal cell tocopherol level
Hydrogen peroxide hemolysis test

た反応様式の二種類のラジカル誘導性の溶血反応にさいし、ラットにEを適宜負荷して、E濃度を種々に変化させた赤血球で反応させると、赤血球膜中にE濃度に依存して、量反応による溶血は防止し得た(図-2)。かなりの濃度にEを含有している赤血球においても、AAPH反応では一定時間後に溶血が出現してきているが、これはAAPH反応によって赤血球膜内のEが破壊されたためであり、溶血は量反応とも赤血球中E濃度が100 μ g/dL packed cells 以下となった時発現した¹¹⁾。

以上に示したように、生体膜中のビタミンEは生体膜に波及するラジカル障害を防止する1例である。

4 生体ラジカル反応とビタミンE

先に述べたビタミンE欠乏症が生体ラジカル反応を導入しやすくしていることは概念的な理解を得ることができるが、各組織や臓器また、体全体で実際に欠乏症の発現とどのような部位で、どのような反応と関係し、どのような異常が実際の症状の発症に関係しているのか、詳細は明らかでない。その理由の一つは、実際生体に必要な部位に、必要な量のビタミンEが存在するかどうか不明の点である。この点が不明であれば生体に発生するラジカル障害を、どのようなビタミンE栄養状態で防止しうなのか、また防止し得ないで障害の原因となるのかを知り得ないからである。

ビタミンEの栄養状態の指標として、表-5に示すようなものがある。この中で、作用部位のビタミンE量を推定し得るものは、赤血球ビタミンE、血小板ビタミンEであるが、これを間接に伺い得るものは、血しょうビタミンE/脂質比である。また一定のラジカル攻撃の膜障害をとらえ得るものは、赤血球の過酸化水素溶血テストである。しかし、生体でのラジカル発生機構として考え得るものは数多いが、それを生体内反応として知り得る指標は少ない。例えば、出血巣や、異常ヘモグロビン症に活性酸素の発生が多いことは想像に難くないが、これを指標として取り出すことは難しい。まして、その活性酸素による過酸化反応がどこまで拡大して、どこで終結しているのかを知り得ない。従って、例えばビタミンEの作用部位の濃度を知り得ても、それが生体に発生する有害なラジカル反応をどの程度、防止しているものかは現時点では推定さえすることができない。ビタミンE

の生体内での役割を更に明らかにするためには、作用部位の濃度を知る以外に、その部位でのラジカル開始反応やその部位の peroxidizability, ラジカル拡大域の総合理解が必要であり、今後の検討課題であろう。

(昭和63年5月13日受理)

文 献

- 1) M.K. Horwitt, *J. Clin. Nutr.*, 29, 569 (1976)
- 2) A.L. Tappel, *Vitamin Hormon*, 20, 493 (1962)
- 3) P. Gyorgy, G. Cogan, C.S. Rose, *Am. J. Dis. Child*, 82, 237 (1951)
- 4) M.L. Scott, *Fed. Proc.*, 39, 2737 (1980)
- 5) M.K. Horwitt, *Vitamin Hormon*, 20, 541 (1962)
- 6) H. Hassan, S.A. Hashim, Van Italie, W.H. Sebrell, *Am. J. Clin. Nutr.*, 19, 147 (1966)
- 7) O.H. Ritchie, MB. Hioh, V. Master, M. Grossman, *New Engl. J. Med.*, 279, 1189 (1968)
- 8) D.P.R. Muller, J.K. Lloyd, O.H. Wolf, *Lancet I*, 1983, 225
- 9) R.J. Sokol, M.A. Guggenheim, J.E. Heubi, S.T. Iannaccone, N. Butter-Simon, V. Jackson, C. Miller, M. Cheney, W.F. Balistreri, A. Sliverman, *Am. J. Dis. Child*, 139, 1211 (1985)
- 10) E. Niki, M. Kawakami, Y. Saito, J. Yamamoto, J. Tsuchiya, Y. Kamiya, *J. Biol. Chem.*, 25, 2191 (1985)
- 11) M. Mino, M. Miki, H. Tamai, H. Yasuda, H. Maeda, Membrane damage in erythrocytes induced by radical initiating reactions and its effects of tocopherol as a radical scavenger. In LIPID PEROXIDATION IN BIOLOGICAL SYSTEMS (AOCS) 1988 in press.

国際油脂情報

[INFO 9号(1988) 吉富和彦]

☆国際会議の予告(詳細略)

○28th Annual Conference of the International Association of Fish Meal Manufacturers

1988年11月4~12日, ペルーのリマにおいて開催。

○International Meeting on Biomembranes and Nutrition (Nutrients Effecting Lipid Composition and Properties of Cell Membranes)

1989年6月12~14日, フランスのパリーにおいて開催。主催は CNERNA (CNRS), INSERM, INRA and ITERG。

○Australian Chemical Specialties Manufactures Association, Third National Convention

1989年7月16~18日, オーストラリアのシドニーにおいて開催。

☆Gupta 氏, インド抽出機協会の会長に

Kanchan Oil Industries 社(カルカッタ)の H.P. Gupta 氏が 1988-89 年のインド溶剤抽出機協会の会長に選任された。その他の役員については省略。