ニワトリの血清コレステロールおよび動脈硬化に 及ぼすビタミンAおよびビタミンEの影響

Effect of Vitamin A and Vitamin E on Serum Cholesterol and Atherosclerosis in the Hen

(昭和 41 年 3 月 10 日 受 理)

小 柳 達 男 和 田 せ つ
(Tatsuo Koyanagi) (Setsu Wada)

室 橋 正 男* 三 村 二 雄*
(Masao Murohashi) (Tsuguo Mimura)

Hens (2-years-1-month old) fed a diet containing 10 % of grease and 0.5 % of cholesterol developed atherosclerotic lesion in 8 months. Vitamin A (10 mg of vitamin A acetate/day/hen) or vitamin E (50 mg of *dl*- α -tocopherol acetate/day/hen) administered singly or together seemed to decrease serum cholesterol and cholesterol esters in the aortic lipids even though this effect was not significant because of large variations within the group. No synergistic action of two vitamins was not observed. The excretion of lipid in the feces was increased by the addition of the vitamins.

Weitzel ら¹⁾は 3~4 年鶏に自然に発生する動脈硬化、あるいは高コレステロール飼料により作られる動脈硬化が、ビタミンA (V. A) の投与によって防がれ、とくにビタミンE (V. E) と併用すると動脈硬化の防止ばかりでなく、血管壁を正常にもどす効果もあることを報告した。Beeler²⁾はコレステロールを与えた若ヒナで試験して V. A の効果は認めたが、V. E の効果は認めることができなかった。V. E については Smith³⁾らは V. E 欠乏飼料でウサギを飼育するとき、V. E を添加することにより血清コレステロールを著明に低下させ、その効果はリノール酸よりも著しいことを報告しているが、これに反し Stamler⁴⁾らは V. E の効果を認めていない。

以上のように動脈硬化に対する両ビタミンの影響についてはまだ明確でない点が多い。著者らは 2 年鶏について V. A, V. E の投与の影響をしらべたので報告する。

実 験 方 法

供試動物：平均体重 1900 g の雌白色レグホン昭和 37 年 2 月 5 日山陰種鶏場（鳥取県）産で孵化後 2 年 1 カ月を経過したものである。1 羽ずつケージ飼育を行なった。飼料と水とは自由に与えた。

飼料：基礎飼料はとうもろこし 30, ふすま 32, 魚粉 10, 大豆かす 10, アルファルファミール 2, 炭酸カルシウム 5, 磷酸カルシウム 0.7, 食塩 0.3, グリース 10, コ

レステロール 0.5 (%) よりなり、基礎飼料 100 g に対し V. A 100 I. U. ビタミン D₃ 100 I. U. リボフラビン 0.32 mg を加えた。グリースはプロイラー用で抗酸化剤 0.025 % を含有していた。グリースおよびコレステロールは動脈硬化の生成を促進するために加えたのであるが、コレステロールの添加量は従来多く使われている 1 % コレステロールよりも少なかった。

試験区：試験群は 20 羽ずつの 4 群で、試験区は (1) 基礎飼料, (2) 基礎飼料 + V. A 10 mg/日/羽, (3) 基礎飼料 + V. E 50 mg/日/羽, (4) 基礎飼料 + V. A 10 mg, V. E 50 mg/日/羽とした。V. A は飼料添加用アセテート（理研ビタミン油株式会社製）、V. E は *dl*- α -トコフェロールアセテート（日清製粉株式会社製）を使用した。

飼育：3 月 2 日より 10 月 27 日まで 8 カ月飼育し、その間、4 カ月経過したとき各区の鶏の 6 羽を殺して分析を行ない、試験終了時に残っていた全部を殺した。

分析：血清および大動脈のコレステロール含量を Zak の方法⁵⁾で定量し、大動脈へキサミンは脱脂、乾燥後、塩酸で加水分解し、Dowex 50 $\times$ 8 で処理し、Boas⁶⁾および櫛田ら⁷⁾の方法を多少改良した方法で定量した⁸⁾。

組織観察：血管の脂質の染色はズダンブラック B、その他はヘマトキシリン-エオシン染色を行なって観察した。

実 験 結 果

(1) 体重および産卵率

第1表に示したように試験期間中各群とも平均体重はほぼ一定を保ったが、無添加区のみが低い傾向を示した。

産卵率は1ヵ月5箇以上を産んでいる鶏のみで計算した。期間中に各群とも急激に低下したが、V. A を添加

したものは無添加群よりも常に高い率を示した。V. E 添加のものは無添加群よりもわずかによい程度であった。

両ビタミンを併用しても、それぞれのビタミン単独よりもよくなるということは認められなかった。

飼料摂取量は産卵率の高いものが高いという結果を示した。

第1表 飼料摂取量, 体重, 産卵率の推移

飼 料 \ 飼育期間	摂 取 量 (g/羽/日)			平 均 体 重 (kg)			産 卵 率 (%)		
	3 カ月	4 カ月	8 カ月	3 カ月	4 カ月	8 カ月	3 カ月	4 カ月	8 カ月
無 添 加	104	91	77	1.96	1.97	1.87	63.5 (18)*	55.8 (10)	31.0 (7)
V. A	118	114	88	2.17	2.14	2.10	68.7 (18)	76.7 (10)	47.4 (9)
V. E	116	76	67	2.17	2.15	2.19	65.3 (18)	53.2 (10)	36.6 (5)
V. A, V. E	118	99	83	2.10	2.10	2.08	69.0 (20)	70.4 (11)	38.3 (7)

* () 内は産卵鶏の数

(2) 血清コレステロール

各群の血清コレステロール含量は第2表に示すごとく、標準偏差がかなり大きい。しかし、平均値で見ると、試験開始後4ヵ月ではV. A 添加群は無添加群よりも総コレステロールおよび遊離コレステロールが高い

が、V. A と V. E とを併用した群は総および遊離コレステロールが低くなっていた。また V. E は総コレステロールを低下させることはないが、遊離コレステロールは低下させるという結果を示した。

試験開始後8ヵ月になると、各群いずれも総コレステ

第2表 血清コレステロール濃度 (mg/dl)

飼 料 \ 飼育期間	2 カ 月		4 カ 月		8 カ 月	
	総 コレステロール	遊 離 コレステロール	総 コレステロール	遊 離 コレステロール	総 コレステロール	遊 離 コレステロール
無 添 加	747(2)	221	219(6)±65	104±30	184(8)±52	65±32
V. A	265(2)	122	318(6)±109	151±44	143(7)±41	63±11
V. E	316(2)	126	245(6)±86	72±26	155(7)±42	60±28
V. A, V. E	245(2)	106	157(6)±35	61±15	156(6)±32	54±16

() 内は分析羽数

ロール濃度が低下して各群間の差が少なくなったが、ビタミンを添加した群はいずれも無添加群より低い値を示した。

(3) 大動脈コレステロール含量

第3表に示すごとく、4ヵ月よりも8ヵ月経過したばあいのはうが総コレステロール濃度は高い傾向を示しているが、8ヵ月のときを見ると無添加群に比べ、V. A あるいは V. E の単独または同時投与群は多少低い傾向を示し、エステル型コレステロールを算出すると無添

加、V. A, V. E および V. A+V. E 添加群それぞれ 769, 587, 543 および 576 mg% であって、無添加群がもっとも高い値を示した。

(4) 大動脈ヘキササミン量

第3表にヘキササミン含量を示したが無添加群がいくらか高い傾向を示す程度で有意差とはいえなかった。

(5) 糞中排泄脂質

飼育4ヵ月のとき各群の糞を集め脂肪ならびにキリアニ物質³⁾を定量した。その結果は第4表の如くで無添

第3表 大動脈コレステロール濃度(新鮮物 100g 中 mg)
およびヘキサミン(脱脂乾燥物 1g 中 mg)

飼料 飼育期間 コレステロール	2 カ 月		4 カ 月		8 カ 月		
	総コレステ ロール	遊離コレス テロール	総コレステ ロール	遊離コレス テロール	総コレステ ロール	遊離コレス テロール	ヘキサミン
無 添 加	474(2)	282	460(6)± 96	163±27	928(9)±312	159±32	3.42(8)±0.51
V. A	543(2)	291	698(6)±111	256±46	753(9)±171	169±41	2.97(9)±0.62
V. E	539(2)	290	542(6)±159	197±51	737(9)±148	194±28	2.95(8)±0.37
V. A, V. E	520(2)	266	506(6)±105	196±42	804(9)±240	228±44	2.93(8)±0.31

() は分析羽数

第4表 糞中の脂肪およびキリアニー反応物質

飼 料	脂 肪	総キリアニ ー反応物質	遊離キリアニ ー反応物質
無 添 加	1.6%	289 ^{mg} %	160 ^{mg} %
V. A	2.1	442	309
V. E	1.8	320	248
V. A, V. E	2.8	365	319

加群は脂肪もキリアニー物質すなわちステロールの排泄がもっとも少なかった。これらの排泄に対し V. A はとくに効果が認められた。

(6) 脂肪沈着状態

老鶏にグリースを添加給与したためか腹腔脂肪はいずれも多量に沈着し、試験群の間に差異は認められなかった。大動脈の脂肪沈着状態は第5表に示す通りで、試験開始後4か月、8か月でともに個体差が甚しく、各群間にははっきりした差は認められない。しかし、内膜、中膜共無添加群がやや脂肪沈着が著しい傾向にみうけられた。

心臓冠状動脈の脂肪沈着状態は各群の間での差は認められなかった。

(7) 腎臓における所見

ヘマトキシリン・エオシン染色によってしらべた組織像の一部の結果は第6表に示す通りで、各群ともに糸球体嚢には変化が見られないが、主部、ヘンレ係蹄、導管部に核濃縮、壊死、水腫性空胞化、および萎縮が、また間質にうっ血、結合組織増生などが見られた。そして、このような退行性病変はいずれの群にも大体同程度に認められ、無添加群に特に変化がひどいわけではなかった。

考 察

以上のように V. A あるいは V. E の動脈硬化に対する予防効果は本実験ではあまり著明なものではなかった。しかし、無添加鶏に比べ V. A および V. E を同時に添加したものは、血清コレステロールを低い値に維持することはできた。V. A あるいは V. E を単独に添加

第5表 大動脈脂肪沈着状況(ズダンブラック B 染色)

飼料 飼育期間 動脈壁	4 カ 月			8 カ 月		
	内膜	中膜	外膜	内膜	中膜	外膜
無 添 加	±	—	—	卅	卅	+
	—	—	—	卅	卅	—
	卅	卅	卅	卅	+	—
	±	±	—	卅	卅	—
	卅	?	?	+	+	—
V. A	+	+	—	卅	—	—
	卅	+	—	卅	卅	—
	±	—	—	卅	+	—
	卅	卅	—	卅	+	—
	+	—	—	卅	+	—
V. E	+	—	—	+	+	—
	—	—	—	卅	—	—
	卅	卅	—	卅	卅	—
	卅	±	—	卅	+	—
	±	—	—	卅	卅	—
V. A, V. E	+	—	—	+	—	—
	卅	卅	±	卅	卅	—
	卅	卅	—	卅	+	—
	卅	卅	—	+	±	—
	卅	±	—	卅	+	—

したものも後期には無添加群よりも低い値を示した。また、大動脈コレステロール含量も、ビタミン無添加群のほうが V. A または V. E を単独あるいは同時添加したものより高い傾向を示し、組織の顕微鏡観察でも、内膜、中膜ともに無添加群に脂肪の沈着が著しいという同じ傾向が認められた。しかし、この場合も、V.A と V.E

第6表 腎 臓 所 見 (8ヵ月飼育)

飼 料	No.	糸球体囊	主 部	ヘンレ係蹄	導 管 部	間 質
無 添 加	1-1	○	一部水腫性空胞化	一部水腫性空胞化	一部水腫性空胞化	全 般 に う っ 血
	2	○	一部核濃縮, 小空胞状混濁	主 部 に 同 じ	萎 縮	肥厚, 結合織増生, 全般にうっ血著明
	3	○	"	"	水 胞 性 空 胞 化	リンパ球集簇数カ所
	4	○	一 部 核 濃 縮	全 般 に 核 濃 縮	"	"
V. A	2-1	○	○	○	一部水腫性空胞化	全般に軽度うっ血
	2	○	○	○	○	"
	3	○	○	一 部 核 濃 縮	一部水腫性空胞化	リンパ球集簇数カ所
	4	○	○	○	萎 縮	軽 度 う っ 血
V. E	3-1	○	○	一部わずかに核濃縮	○	○
	2	○	○	"	○	○
	3	○	一 部 核 濃 縮	○	一部わずかに水腫性空胞化	全 般 に う っ 血
	4	○	○	○	○	"
V. A, V. E	4-1	○	○	○	○	全 般 に う っ 血
	2	○	○	一 部 核 濃 縮	○	全般に軽度うっ血, リンパ球集簇数カ所
	3	○	一 部 核 濃 縮	○	○	"
	4	○	○	○	○	全般に軽度うっ血

○は健全なもの

との効果の差あるいは併用によって効果が著しくなるということは認められなかった。

なお糞中の脂肪およびステロール排泄が V. A あるいは V. E をネズミに与えたばあいに多いことをわれわれは認めたが, Beeler ら²⁾の研究と関係して興味がある。Beeler らは V. A が動脈硬化を防ぐ作用は, 胆汁を飼料に添加すると打消されてしまうことから, V. A の血管防護作用は V. A が胆汁塩と不溶性物質を作りコレステロールの吸収を阻害するためではないかと考えている。

われわれの使用した基本飼料には最少必要量の V. A が添加してあり, ふすま, アルファルファミールによって V. E も供給されていると考えられたが, 多量の V. A あるいは V. E の添加によって産卵率が上昇したことは注目すべきである。産卵率を鶏の健康度の尺度とみてよいとすれば, この基礎飼料はまだ V. A や V. E が不足であったため, 健康度は十分でなかったと考えられるかもしれない。そうして, 健康度が低いため老化が促進され, 動脈硬化が早められたと考えてもよいであろう。

動脈硬化を防ぐ V. A の作用に関しては Weitzel らは Beeler らとは別な意見を持っている。Weitzel らは V. A をβカロチンやフィトールと比較した結果, V. A にのみその作用を認めた。そうしてこれは V. A の粘質多糖類代謝に対するビタミンとしての作用ではないかと考えている。Weitzel は血管壁の粘質多糖類を構成する各成分を定量した結果, 酸性粘質多糖類の70%はコンドロイチン硫酸であり, 20%はヒアロウロン酸, 残りはヘ

パリン硫酸と糖蛋白質であることを認めた。しかし, この各区分に対するビタミンの影響は明らかでなかった。われわれの実験でもコンドロイチン硫酸のガラクトサミンと, ヒアロウロン酸およびヘパリンのグルコサミンとをヘキシサミンとして定量してみたが, 無添加区の方が少し高い値を出す傾向を示した。これはビタミンを添加したほうが他の成分含量が高い傾向を示すためかもしれない。このような結果はビタミンCの欠乏のばあいに, Gore⁹⁾らが血管壁で認めている。

文 献

- 1) Weitzel, G., Schoen, H., Gey, F. & Buddecke, E.: *Z. Physiol. Chem.*, **304**, 247 (1956); **327**, 109 (1962)
- 2) Beeler, D. A., Rogler, J. C. & Quackenbush, W.: *J. Nutr.*, **78**, 184 (1962)
- 3) Smith, L. C., Shin, Y. S. & Freier, D. T.: *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **103**, 56 (1960)
- 4) Stamler, J., Pick, R. & Katz, L. N.: *Circulation*, **8**, 455 (1953)
- 5) Zak, B. et al.: *Amer. J. Med. Tech.*, **23**, 283 (1957)
- 6) Boas, N. F.: *J. Biol. Chem.*, **204**, 553 (1953)
- 7) 柿田秀夫, 尾藤竜哉, 志田半三郎: 農化, **35**, 27 (1961)
- 8) 小柳達男, 高橋幹夫, 野田サツ: 未発表
- 9) Gore, I., Tank, Y., Fujinami, T. & Goodman, M. L.: *J. Nutr.*, **87**, 311 (1965)

(東北大学農学部栄養化学研究室)
(* 日清製粉株式会社研究所)