老化に関する栄養学的研究 (I)

Nutritional Study of Ageing (I)

鉄欠乏がネズミの血中 SH 化合物および胃表皮に及ぼす影響

Effect of Iron Deficiency on Sulfhydryl Compounds of Blood and Epithelial Structure of Stomach in Rats

(昭和 43 年 9 月 25 日 受理)

小 柳 達 男* 湧 口 泰 昌*
(Tatsuo Koyanagi) (Yasumasa Yuguchi)

北 浦 皓 三* 高 橋 伸 子*
(Kozo Kitaura) (Nobuko Takahashi)

Female rats of the Wistar strain were divided into 4 groups. Basal diets contained either 6 or 18% casein, and other constituents were soybean oil 6, salts (excluding iron) 4, cellulose 2, vitamin mixture 1, *dl*-methionine 0.2 (%) and glucose to make up 100%. The corresponding control diets differed only in their iron supplement. The 4 kinds of diet were fed to the 4 groups of rats.

In 74 days haemoglobin concentration of iron deficient rats fed on 6 or 18% casein diet dropped sharply and it reached to the values of 3.1 or 4.1 g per 100 ml of blood respectively. Sulfhydryl compounds when determined by DTNB method showed that the deficient rats, both on 2 levels of protein had much lower values in their blood than animals fed on control diets. The results obtained in this study were in conflict with those of Ling et al. The erythrocyte of the deficient animals was seen more liable to hypotonic haemolysis than that of control animals. Microscopic examination of the gastric mucosa of the deficient animals showed a change in parietal cells showing a hypoactivity. The observation was not in accord with that of Valsberg et al. who observed no structural changes in stomach of iron deficient rat.

老化は動物体内の代謝の際に生ずる free radical (遊離根, 対になっていないエレクトロン) のために起こるといわれている。この free radical はニコチン酸酵素やフラビン酵素による脱水素作用のような分子状酸素が水に還元される時, あるいは放射線の照射によっても動物体内に生ずることが認められている¹⁾。この free radical を打消す主なもの SH 化合物であり, 血液中には血球に集中しているグルタチオンが最も重要である。したがって血液中にグルタチオン含量を高めておくことは老化を防ぐために有効であると思われる。

従来栄養的欠陥により血中の SH 含量を減少させるものとして Ling ら²⁾ はビタミン B₁₂ の不足を報告している。そうして彼らはビタミン B₁₂ と異なり葉酸や鉄の不足は血中 SH 含量に影響しないと述べている。グルタチオンは Johnston ら³⁾ によれば肝臓内でグルタミン酸,

システイン, グリシンおよび ATP で合成できるのであって ATP はグルタチオンの合成に欠くことができない。動物が鉄不足のときは酸素の供給が減り ATP の生産も減るのであるから動物が鉄に不足した場合は当然グルタチオンの合成は低下するものと予想される。そこで Ling らが, 鉄欠乏でも血中 SH が減らないという事実が果たしてその通りかどうかを確かめるためネズミの鉄欠乏試験を行ない血中 SH の測定を行なった。SH は血球の膜の安定性に関係しているので低張圧液中での溶解性について調べ, 胃壁の構造についても組織学的観察を行なった。ここにその大要を報告する。

実 験

飼料および動物: 基礎飼料は 6% または 18% カゼインを含む低タンパク質と普通タンパク質の 2 種を用いた。飼料中の他の成分はダイズ油 6, 鉄を除いた塩類⁴⁾ 4, セ

* 東北大学農学部

ソイ 2, ビタミン混合⁴⁾ 1, DL-メチオニン 0.2(%)であ
って残りはブドウ糖を配合した。そうして対照区には鉄
を除かない塩類を用いた。こうして作った 4 種の飼料を
4 群のネズミに与えた。試験動物は体重 69 g の Wistar
系雌ネズミ 40 頭で 10 頭ずつ 4 群に分けステンレス金網製
の飼育籠に 1 匹ずつ入れ飼料と水とを自由に与えた。

分析：飼育期間中、尾を傷つけて採血しヘモグロビン
をシアノヘモグロビン法⁵⁾、血中 SH は DTNB (5,5'-
dithio bis 2-nitrobenzoic acid) 法⁶⁾ で測定した。血球
の低張圧溶血度は飼育試験の終りに Pranker⁷⁾ の方法
を一部改めて行なった。すなわち 0.1~0.2 ml の血液を
クエン酸ソーダ水溶液に懸濁させ、0.9%食塩水で 2 回
洗ったのち、この中から 1 定量を遠沈管にとり、種々濃
度の食塩水 5 ml を加え室温に 24 時間放置した。そこで
遠心分離後上澄についてヘモグロビンを測定した。

組織観察：胃壁の腺部をホルマリン固定後常法によ
りヘマトキシリンおよびエオシンで染色した。

結 果

発育：発育の経過は第 1 図に示したようでタンパク質
の量の多少により発育に差があるが、その各々について
鉄の無いときは発育が劣った。ヘモグロビンおよび血中
SH は第 1 表に示したごとく鉄欠乏の群は 6%および 18
%カゼインの両タンパクレベルで低い値を示した。

血球の低張圧溶血性：先ず老若ネズミの血球について
試験した。その成績は第 2 表のごとくで 3 カ月のものよ
り 28 カ月の方が血球の脆弱性が増していることがわかつ
た。次に鉄欠乏の場合を見ると第 3 表に示したごとく鉄
不足の場合に溶血しやすく、とくに低タンパク飼料の時
は一層溶血しやすかった。

第 1 図 各群のネズミの発育曲線

組織観察：顕微鏡観察によると鉄欠乏のものは胃底部
の塩酸を分泌する旁細胞(parietal cells)に変化が認め
られた。6%カゼイン飼料のものはタンパク質欠乏だ
けによっても酵素分泌細胞の核消失や空胞化が見られ
たが、鉄欠乏が組み合わさると障害はさらにひどかつ
た。18%カゼイン飼料でも鉄欠乏の影響が認められた。す
なわち、粘液を分泌する副細胞や酵素を分泌する主細胞
(chief cells)の変化は著明でないが旁細胞では対照群
において核周囲の細胞質の透明化が増していて酸を分泌
した事を示すものが多く見られたのに対し(図 2, 白矢
印)鉄欠乏のものではこのような細胞はあまり見られな
かった。(図 2 参照)

第 1 表 ヘモグロビンおよび血中 SH 化合物含量

飼 育 日 数	飼 料			
	6%カゼイン, +Fe	6%カゼイン, -Fe	18%カゼイン, +Fe	18%カゼイン, -Fe
	ヘモグロビン g/100 ml			
46	11.3±1.2*	6.1±0.8	12.0±1.1	5.1±0.6
61	11.8±1.2	4.1±0.7	10.9±1.8	4.1±0.6
88	10.1±2.9	3.1±0.3	10.2±2.0	3.7±0.7
106	10.8±3.3	3.4±0.3	11.9±2.9	4.2±0.6
	SH 化合物 m mole/l			
57	8.18±0.78	3.62±0.66	7.82±0.91	3.09±0.41
67	7.56±2.10	2.95±0.56	8.07±1.31	3.88±0.56
82	8.11±2.40	2.98±0.12	8.73±2.46	3.12±0.82
97	5.59±1.55	2.60±0.03	5.64±0.85	3.27±1.06

* 各区 5 頭平均±標準偏差

第 2 表 赤血球の低張圧溶血に及ぼす加令の影響

	NaCl (%)				
	0.70	0.60	0.55	0.50	0.40
若ネズミ (3 カ月) ⁽¹⁾	6.3 ⁽²⁾ ±2.0 ⁽³⁾	9.4±4.3	20.3± 7.0	32.5± 5.1	66.0±9.0
老ネズミ (28カ月)	7.0±2.1	11.5±4.7	28.8±11.0	60.9±17.9	94.6±8.9

(1) 老若とも市販固型飼料 (2) 蒸留水中での溶血を 100 とした場合の相対値 (3) 5 頭平均±標準偏差

第 3 表 赤血球の低張圧溶血に及ぼす鉄欠乏の影響

	NaCl (%)		
	0.55	0.50	0.40
6%カゼイン, +Fe	9.0± 1.5*	21.0± 4.2	52.1±12.5
6%カゼイン, -Fe	45.4±15.2	65.0± 6.9	82.8± 9.3
18%カゼイン, +Fe	9.9± 1.5	17.9± 3.8	45.0±12.9
18%カゼイン, -Fe	26.4± 8.5	37.3±15.9	50.5±27.6

* 第 2 表脚注 (2)(3) 参照

第 2 図 鉄欠乏区および対照区のネズミ胃腺粘膜組織像
ヘマトキシリン・エオシン染色 ×400

上: 18%カゼイン, +Fe (対照区)

下: 18%カゼイン, -Fe

旁細胞の萎縮, 乱れが見られる

考 察

Ling らは鉄欠乏でネズミの血中 SH が減らないというが我々は 6%および 18%カゼイン飼料の両者で鉄欠乏により著明に SH が低下することを認めた。Ling らの成績と一致しなかったことは説明できないが, SH の定

量法の違いにも関係あると思われる。

SH 化合物は free radical の打消し, 動物体内の酵素活性, 細胞の発育, 解毒, 放射線障害の防護および酸化還元にも重要であることは多くの研究で明らかである⁹⁾。もし鉄の不足により血中の SH 化合物の減少があるとすれば上の反応に悪影響を与え結局は動物の老化を促すのではないと思われる。SH 化合物は膜の安定性にも関係しているので, 低張圧液での赤血球の脆弱性が鉄不足で増加したことは血中の SH の低下と関係があると思われる。なお老化ネズミの血球が若ネズミの血球より溶血し易いこともこれに関連して興味がある。

ヒトの鉄欠乏は爪, 舌, 口, 咽喉のような表皮構造に変化を生じることや, 鉄不足で貧血している患者が慢性胃炎や無酸症を招くことは古くから知られている。このように鉄の欠乏はヒトの胃にこのような障害を起こさせるにかかわらず, 鉄欠乏のネズミの胃に及ぼす影響に関する研究はわずかに Valsberg ら¹⁰⁾ のものがあるだけである。しかし, 彼らは我々の成績と異なり 220 日の鉄欠乏によってネズミの胃には何らの変化も生じなかったと報告している。この成績の不一致は鉄欠乏の程度の差によるものであろう。彼らは試験期間中, 血中ヘモグロビンは血液 100 ml 中 6~9 g であるのに対し, 我々の 61 日ですでに 4 g にまで低下していた。すなわち, 彼らのネズミは鉄欠乏が軽度のものであったものと思われる。

ヒトの場合萎縮性慢性胃炎で無酸症にまでなったものは胃ガンの前駆症状といわれているが, 鉄不足が胃粘膜の酸分泌細胞の機能低下を起こすという本実験の成績は注目される。なお, 小柳ら¹¹⁾はニコチン酸欠乏やビタミ

ンA欠乏¹¹⁾のネズミの胃においては酸分泌細胞の機能亢進を見た。栄養素の種類により胃腺に対するその欠乏の影響が異なるのは興味がある。

要 約

鉄欠乏によりネズミの血中SH化合物が減少し赤血球は脆弱性を増した。老ネズミの赤血球は若ネズミのより脆弱である。鉄欠乏により胃腺の酸分泌細胞に変化が起きた。

本研究は文部省科学研究費によって行なった。組織観察に助力を与えられた星野忠彦氏、山田正二氏に謝意を表わす。

文 献

- 1) Harman, D.: *J. Gerontol.* **15**, 38 (1960)
- 2) Ling, C. T. & Chow, B. F.: *J. Biol. Chem.*, **202**, 445 (1953)
- 3) Johnston, R. B. & Bloch, K.: *J. Biol. Chem.*, **188**, 221 (1951)
- 4) Harper, A. E.: *J. Nutr.*, **68**, 405 (1959)
- 5) King, E. J.: *Biochem. J.*, **41**, XXXIII (1947)
- 6) Ellman, G. L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70 (1959)
- 7) Pranker, T. A. J.: *J. Physiol.*, **143**, 325 (1958)
- 8) Barron, E. S. G.: *Adv. Enzymol.*, **11**, 201 (1951)
- 9) Valsberg, L. S.: *Brit. J. Nutr.*, **15**, 473 (1961)
- 10) 小柳達男, 山田正二: ビタミン, **36**, 126 (1967)
- 11) 山田正二, 小柳達男: (未発表)

アミノ酸自動分析計によるリジン迅速定量法

穀類のリジン含量だけを迅速かつ正確に定量する方法を考案した。アミノ酸自動分析計のショートカラムに試料3点を連続して吸着させ、3個のリジンピークを1グループとして溶出、記録する。リジンが溶出したら0.2N水酸化ナトリウム、ついでクエン酸緩衝液を流してカラムを再生し、つぎの分析を行なう。条件はクエン酸緩衝液 pH 5.10, Na-濃度 0.20N, カラム温度 40°C, 樹脂はベックマン PA-35, カラム中の樹脂の長さ 9 cm,

流速 68ml/hr である。この条件で朝8時から夕5時までにかラム1本で15点、3本で36点のリジンの定量が可能である。精度は96~99%でかなりよい。

Determination of Lysine on the Automated Amino Acid Analyzer by a Triplicate-Sample Method. Villegas, E., McDonald, C. E. & Gilles, K. A., : *Cereal Chem.*, **45**, 432~436 (1968)

(竝持)