SHRSP の脳血管障害発症に及ぼす高血圧確立期からの魚肉の影響

—過酸化脂質と関連酵素活性の変動—

村上哲男*, 辻 章 夫*
山本和夫**, 岡本耕造***

* 近畿大学農学部食品栄養学科

** 近畿大学高血圧研究所

*** 近畿大学医学部第一病理学教室

Effects of a Fish Meal Diet Initiated at the Hypertensive Stage on
the Development of Cerebrovascular Lesions in SHRSP
—Fluctuation of Lipid Peroxides and Related Enzyme Activities—

Tetsuo MURAKAMI,* Akio TSUJI,* Kazuo YAMAMOTO**
and Kozo OKAMOTO***

* Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Agriculture,
Kinki University, Nara 631

** Research Institute of Hypertension, Kinki University, Osaka-sayama 589

*** The First Department of Pathology, Kinki University School of Medicine,
Osaka-sayama 589

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 45, 139~146 (1992)

A diet containing fish meal as a protein source has been found to improve the prognosis of hypertensive diseases in SHRSP, even when given from the hypertensive stage. In the course of studying the mechanism of this preventive effect, we investigated the fluctuation of lipid peroxide (TBARS) and activities of both superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), the enzymes related to removal of lipid peroxides, in the blood of SHRSP fed the fish meal diet from the hypertensive stage. The results obtained were as follows; 1) The serum TBARS level in the control group (stock chow diet) increased with age, and the increase was marked after development of cerebral stroke lesions, whereas the increase in TBARS in the experimental group (fish meal diet) was considerably delayed. Whereas the SOD and GSH-Px activities in erythrocytes in the control group were reduced before the serum TBARS level became elevated, those in the experimental group remained high. 2) In 1% NaCl-loading experiments, elevation of the TBARS level and lowering of SOD and GSH-Px activities in the control group appeared suddenly at an early stage, but in the experimental group these activities remained almost unchanged. From these results, it appears that suppression of cerebrovascular diseases in SHRSP fed a fish meal diet from the hypertensive stage may be due to maintenance of high activities of both SOD and GSH-Px.

Key Words SHRSP, lipid peroxide, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, fish meal, hypertensive stage.

(Received September 27, 1991)

近年, 日本人の脳卒中による死亡率は減少傾向にある

* 〒631 奈良市中町 3327-204

, * 〒589 大阪狭山市大野東 337-2

が, これは疫学調査の結果などから栄養摂取と深い関係にあることがわかってきた。栄養が脳血管障害発症の予防に寄与していることは, ヒトの脳卒中のモデル動物で

ある脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) を用いた研究でも実験的に証明されている¹²⁻¹³⁾。しかし、それらの研究は、ほとんどが若齢期からの栄養との関係であり、高血圧確立期からの影響についてはあまり明確にされていない。実際の栄養管理はこれらの疾患が発症してから行われることが多い。したがって高血圧状態からの食餌因子の改善が、高血圧疾患の予後に及ぼす影響を明らかにすることは重要である。著者ら⁴⁾は SHRSP を使用して高血圧状態からの栄養と脳血管障害の予防、治療に関する研究を、魚肉をタンパク材料にして進め、前報で報告した。脳血管障害の発症抑制は血圧をコントロールすることが第一であるが、高血圧確立期からのタンパク栄養の改善のように降圧作用がみられなくても脳卒中病変の発生率の低下が認められる。その作用機序の一つとして血管壁の肥厚抑制や弾性保持が考えられた。本研究ではその作用機序を明らかにするために、種々の退行性疾患の原因物質として重要視されている過酸化脂質とその関連酵素であるグルタチオン・ペルオキシダーゼ活性 (GSH-Px) およびスーパーオキシド・ディスムターゼ活性 (SOD) の変動について調べ、魚肉をタンパク源とした飼料が活性酸素や過酸化脂質を分解して消去する系にどのような影響を及ぼすかについて研究した。

実験方法

1. 飼料の調製

タンパク源には、前報⁴⁾と同様市販の削り節を使用した。これをタンパク源にして調製した魚肉飼料 (粗タンパク質 22%) の配合割合を Table 1 に示した。対照群には市販粉末飼料 (船橋 SP: 粗タンパク質 20.8%) を使用した。

Table 1. Composition of fish meal diet.

Components	(%)
Dried fish flake	30.22
α -Corn starch	56.54
Vitamin mixture*1	1
Salt mixture*2	4
Cellulose powder*3	3
Choline chloride	0.24
Soybean oil	5

*1 A.E. Harper mixture. *2 AIN-76 prescription.

*3 Mesh size: over 200 mesh (Type-E, TOYO ROSHI Co., Ltd.). Crude protein content in the fish meal diet; 22%.

2. 実験動物および飼育条件

自家繁殖させた 5 週齢の雄性 SHRSP を用いた。SHRSP は系統により血圧上昇の緩急や寿命がかなり異なるが、本実験に使用した SHRSP は血圧上昇が急激で寿命の短い系統 (SHRSP A₃) である。同胞を対照群と実験群に分け、1 群 5~8 匹とした。実験群はさらに正常血圧期 (130~140 mmHg) の 5 週齢から魚肉飼料を投与するグループ (5 週開始群) と、血圧が 200 mmHg (8 週開始群) および 230 mmHg (10 週開始群) を示す時期から投与する三つのグループに分けた。また、これとは別に 5 週齢から対照群の飼料および魚肉飼料に 1% の食塩水を負荷する群も設けた。動物は、室温 23±1°C、湿度 55±5%、12 時間の明暗サイクル (明期 7~19 時) の条件にある飼育室で飼育した。飼料は毎日給餌し、飲料水とともに自由摂取させた。血圧は無麻酔下で Tail-cuff 法により尾動脈圧を測定した (KN-210-1; 夏目製作所)。自然死したラットはすべて病理解剖を行い、10% ホルマリンで固定後脳卒中病変 (脳出血、脳軟化) の有無を調べた。

3. 採血

ラットを加温器 (40°C) にいれ、血管を拡張させた後、ホルダーに固定し、尾静脈からキャピラリーで採血した。

4. 血清過酸化脂質の測定

採血した血液は室温で 1 時間静置後、遠心分離 (3,000 rpm, 10 min) を行い、血清を分離した。血清過酸化脂質は八木蛍光法¹⁴⁾で測定し、血清 1 ml 中のチオバルビツール酸反応物質 (TBARS) の nmol 量として求めた。

5. 赤血球の GSH-Px 活性および SOD 活性の測定

ヘパリン酸リチウム処理を行ったキャピラリー (VC-110HL, テルモ(株)) で採血した血液 50 μ l を氷冷生理食塩水 5 ml に懸濁させた後、遠心分離 (3,000 rpm, 3 min, 4°C) を行って赤血球画分を得た。得られた赤血球画分に 1.45 ml の氷冷蒸留水を加えて溶血させ、遠心分離 (3,000 rpm, 5 min, 4°C) を行った。上清部の 50 μ l は GSH-Px 測定用の粗酵素液とした。GSH-Px 活性は Whanger ら¹⁵⁾の方法で測定した。GSH-Px の 1 単位は 1 分間当り 1 μ mol の NADPH を減少させる酵素量として表示した。一方、残部には氷冷エタノール 250 μ l およびクロロホルム 250 μ l を加えて攪拌したのち、遠心分離 (3,000 rpm, 10 min, 0°C) を行い、得られた上清を 10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.8) 中で 12 時間透析 (4°C) し、SOD 粗酵素液とした。SOD 活性はキサンチンオキシダーゼで酸化し、生じるスーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot -}$) によってニトロブルー・テトラゾリウム (NBT) を還元し、生成されるジフォーマゼン量を

560 nm で比色する今成ら⁷⁾の方法で測定した。活性は、NBT の還元反応が SOD によって阻害される割合から算出した。なお、1 単位は 560 nm における対照群 (SOD 未添加反応液) の吸光値を 50% 抑制する値として表示した。

6. 統計処理

実験データは平均値±標準偏差で表した。結果は、比較すべき数値の等分散性を検定後、Student's *t*-test により、また等分散性を示さなかったものについては、Welch's *t*-test により有意差を判定した。なお、検定には、MUSCOT 統計解析プログラム (YUKMS Corp.) を使用し、 $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 魚肉飼料で飼育した SHRSP の血清過酸化脂質と赤血球 GSH-Px 活性および SOD 活性の加齢に伴う変化

高血圧確立期の SHRSP に魚肉飼料の投与を行っても降圧作用は示さないが、脳卒中の発生率の低下および寿命の延長は認められる。このことは前報で報告した⁴⁾。これらの効果は、投与開始時期が早期ほど顕著であった。そこで、その作用機序を明らかにするために定期的に採血し、血清 TBARS 量とその関連酵素の活性の変動を調べた。Table 2 は血清 TBARS 量ならびに赤血球中の GSH-Px 活性および SOD 活性の各週齢の測定値を示している。血清 TBARS 量 (nmol/ml serum) は対照群では 5 週齢時には 3.38、8 週齢時には 3.59、10 週齢時には 4.02 と加齢に伴って増加した。そして 15 週齢を過ぎたころから急激な増加がみられ、死亡するラットも増えた。これらのラットには剖検で脳卒中病変が確認された。しかし、実験群は対照群でみられたような著しい増加は認められず、15 週齢においても 5.8 および 10 週齢開始群ではそれぞれ 4.63 ± 0.28 , 3.97 ± 0.19 , 4.56 ± 0.84 nmol/ml serum といずれも対照群 (5.82 ± 1.09 nmol/ml serum) より有意に低い値であった ($p < 0.05$)。そしてこの週齢までに死亡したラットも認められなかった。赤血球 SOD 活性は、対照群では 10 週齢まではほとんど変わらなかったが、TBARS 量の急激な上昇が認められるころから SOD 活性の低下が認められ、15、20 および 25 週齢の活性値 (units $\times 10^{-2}$ /ml blood) はそれぞれ 9.6, 8.1, 7.4 としだいに低下した。実験群では活性の低下はほとんど認められず、30 週齢時でも $11 \text{ units} \times 10^{-2}$ /ml blood 前後の値を維持した。赤血球中の GSH-Px 活性は、対照群では 5 週齢時には平均 12.3 ± 1.1 units/ml blood ($n=18$) であった。その活性は SOD 活性と同様に TBARS 量の上昇と相前後して低下がはじまった。しかし、SOD 活性に比べて急激な

低下を示した。一方、実験群の GSH-Px 活性は、15 週齢時には 5 週齢開始群が 40.2 ± 5.2 units/ml blood, 8 週齢開始群が 43.8 ± 6.4 units/ml blood, そして 10 週齢開始群が 43.9 ± 3.2 units/ml blood といずれも対照群 (28.2 ± 7.5 units/ml blood) より有意に高値を示した ($p < 0.05$)。そして、15 週齢以後も対照群でみられたような顕著な活性の低下も認められず、投与開始時期に関係なく高い活性値を保持した。

2. 食塩負荷を行った SHRSP の血清過酸化脂質、赤血球 GSH-Px 活性および SOD 活性に及ぼす魚肉飼料の影響

5 週齢から対照群の飼料および魚肉飼料に 1% 食塩水を飲料水として負荷したときの血圧の推移を Fig. 1 に示した。対照群の飼料に 1% 食塩水を負荷した群 (対照-食塩群) の血圧は、対照群に比べてその上昇は急激で、12 週齢時には 250 mmHg に達した。一方、魚肉飼料に 1% 食塩水を負荷した群 (魚肉-食塩群) では、血圧の上昇は抑制され対照群よりも有意に低値で、しかも、8 週齢以降は 200 mmHg 前後の血圧を維持した。これらのラットの生存曲線は Fig. 2 に示した。対照-食塩群は対照群に比べて死亡時期も早まり 14~18 週齢の間に全例が死亡した。その平均生存日数は 106 ± 8 日であり、対照群 (188 ± 79 日) より短くなった。一方、魚肉-食塩群では生存日数の著しい延長がみられた。脳卒中の発生率は対照群および対照-食塩群は 100% であったが、魚肉-食塩群では 60% に減少した (Table 3)。Fig. 3 に各群の血清 TBARS 量と赤血球 GSH-Px 活性ならびに SOD 活性の変動を示した。TBARS 量は 5~10 週齢ごろまでは対照群も魚肉-食塩群も 3.5 nmol/ml serum 前後で推移した。その後、対照群では TBARS 量の増加がみられ、18 週齢時には 8 nmol/ml serum 近くまで上昇した。対照-食塩群の TBARS 量の増加は対照群よりも早期からはじまった。しかし、魚肉-食塩群では 13 週齢以降もほとんど変わらず 30 週齢時でも 5.4 nmol/ml serum 以下であった。SOD 活性および GSH-Px 活性は、対照群 (5 例中 2 例が生存) では TBARS 値の急激な上昇と相前後して低下が認められた。しかし、前者の低下は後者ほど急激でなかった。対照-食塩群での両酵素活性の低下は、対照群よりも急激かつ早期から起こった。一方、魚肉-食塩群の SOD 活性は 12 週齢時に $11 \text{ units} \times 10^{-2}$ /ml blood であったが、その値は 30 週齢でもほとんど変わらなかった。そして GSH-Px 活性も 18 週齢まで高値であった。それ以後、漸次低下がみられたものの 30 週齢でも 45 units/ml blood の活性値を保持した。

3. WKY, SHRSP の赤血球 GSH-Px 活性の加齢に伴う変化

上記の 1. に示したごとく、対照群の飼料で飼育した

Table 2. Changes of serum TBARS level, SOD and GSH-Px activities in erythrocytes of SHRSP fed fish meal diet from each age.

Groups	Age (weeks)									
	5	8	10	12	15	20	25	30		
Control	TBARS ^a	3.38±0.29	3.59±0.36	4.02±0.38	4.78±1.13	5.82±1.09	5.44±0.31	6.82±0.73	8.55	
	SOD ^b	11.1±0.7	11.2±0.6	11.1±0.7	10.9±0.9	9.6±0.6	8.1±1.1	7.4±1.8	6.83	
	GSH-Px ^c	12.3±1.1	24.2±3.4	37.2±5.1	38.3±5.3	28.2±7.5	26.2±3.4	20.6±7.4	21.45	
	<i>n</i>	(18)	(18)	(18)	(18)	(10)	(6)	(4)	(2)	
5 Weeks-change	SBARS	3.41±0.52	—	4.16±0.64	—	4.63±0.28*	4.68±0.46*	5.13±0.21*	5.75±0.34	
	SOD	11.8±1.0	—	11.8±0.6	—	11.7±1.9	11.5±0.6*	10.7±0.8*	11.8±0.1	
	GSH-Px	13.2±2.0	—	38.6±2.7	—	40.2±5.2*	46.7±9.3*	36.1±3.7*	39.6±4.0	
	<i>n</i>	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	
8 Weeks-change	TBARS	—	3.69±0.56	3.81±0.23	—	3.97±0.19*	4.29±0.38*	4.81±0.31*	6.33±0.75	
	SOD	—	12.0±0.8	11.4±0.7	—	11.4±0.7*	11.6±0.6*	11.3±0.8*	10.7±0.8	
	GSH-Px	—	27.6±4.2	44.0±5.6	—	43.8±6.4*	48.7±5.3*	43.9±6.6*	37.4±2.5	
	<i>n</i>	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	
10 Weeks-change	TBARS	—	—	3.90±0.24	—	4.56±0.84*	4.67±0.33*	5.15±0.50*	6.22±1.05	
	SOD	—	—	11.4±0.7	—	11.3±0.7*	11.0±0.6*	10.6±1.1*	11.2±0.5	
	GSH-Px	—	—	34.5±4.7	—	43.9±3.2	44.7±3.3*	48.8±3.9*	43.1±3.7	
	<i>n</i>	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(5)	(5)	(5)	

^a TBARS (nmol/m), ^b SOD activity (units×10⁻²/ml blood), ^c GSH-Px activity (units/ml blood), *n*: No. of rats.

Values are expressed as the mean±SD of 4 to 18 rats.

* Significant difference from the control (*p*<0.05).

Fig. 1. Effect of fish meal diet on blood pressure of SHRSP loading 1% saline from 5 weeks of age.

○ : Control diet, ● : Control diet plus 1% saline, ■ : Fish meal diet plus 1% saline.

* Significant difference from the control diet ($p < 0.05$).

Fig. 2. Effect of fish meal diet on survival ratio of SHRSP loading 1% saline from 5 weeks of age.

○ : Control diet, ● : Control diet plus 1% saline, ■ : Fish meal diet plus 1% saline.

Table 3. Effect of fish meal diet on incidence of stroke lesion and life-span of SHRSP loading 1% saline from 5 weeks of age.

Groups	No. of rats	Incidence of stroke lesion (%)	Average age of death (days)
Control diet	5	100	188±79
Control diet plus 1% saline	5	100	106±8
Fish meal diet plus 1% saline	5	60	399±53*

The values are expressed as the mean±SD of five rats. * Significant difference from the control diet ($p < 0.05$).

SHRSP では血圧が 250 mmHg 以上に達している 15 週齢時においては TBARS 値が高値を示し、赤血球 GSH-Px 活性や SOD 活性の低下もみられた。そのとき、SOD

活性に比べ GSH-Px 活性の低下が顕著であったので、SHRSP と正常圧の WKY について加齢に伴う GSH-Px 活性の変動を詳しくしらべた。その結果を Fig. 4 に示

Fig. 3. Effect of fish meal diet on serum TBARS level, SOD and GSH-Px activities in erythrocytes of SHRSP loading 1% saline from 5 weeks of age.

○ : Control diet, ● : Control diet plus 1% saline, ■ : Fish meal diet plus 1% saline. Each point represents the mean $\pm$ SD of 3 to 5 rats. [—]: [No. of survived rats/No. of examined rats]. * Significant difference from the control diet ($p < 0.05$).

した。GSH-Px 活性は、SHRSP, WKY とともに 5 週齢時には、12~13 units/ml blood と低値であった。WKY は加齢に伴って緩やかな上昇を示し、17 週齢時に 34.7 ± 2.8 units/ml blood ($n=5$) まで上昇した。その後は活性値に大きな変動はみられず、30 units/ml blood 前後を推移した。一方、SHRSP は WKY に比べて活性の上昇は急激であり、血圧の上昇と同じ推移で GSH-Px 活性の上昇がみられ、13 週齢時には 37.4 ± 4.0 units/ml blood となった。しかし、それ以降は週齢を追うごとに活性の低下がみられ、17 週齢時には 18.6 ± 2.4 units/ml blood まで低下し、死亡するラットも多くなった。また、食塩水を負荷した SHRSP では、GSH-Px 活性の上昇は対照群よりも早期からはじまり、しかも急激であった。活性値は対照群よりやや高い状態で推移し、12 週齢で最大に達した。そして、その後の活性の低下も対照群より早くから起こった。

考 察

脳卒中や脳血管障害はいずれも高血圧に基づく血管障害に起因するものである。血管障害の成因には高血圧以外にも多くの因子が関与している。近年、動脈硬化、老化、虚血などの細胞障害機能としてフリーラジカルや過酸化脂質による膜障害の関与が考えられている⁸⁾⁻¹⁵⁾。木畑ら¹⁶⁾⁻¹⁹⁾は、ヒトの臨床結果から脳卒中の発症に際して血清過酸化脂質 (TBARS) が急増することを認めている。このような臨床的観察は動物実験でもみられる。Tomita ら²⁰⁾⁻²¹⁾は SHRSP の脳卒中発症と血中過酸化脂質の変動について検討し、脳卒中発症の直前に血清過酸化脂質が急増し、同時に過酸化脂質の生成、分解系に關与する SOD 活性ならびに GSH-Px 活性が著明に低下すると報告している。その中で、脳卒中発作の直前に血中過酸化脂質レベルが、急上昇することが脳卒中発症の誘因であることを示唆している。そこで魚肉飼料の投与による脳卒中発症率の低下の機序を、過酸化脂質とその関連酵素の変動に焦点をあわせて検討を加えた。SHRSP の血清 TBARS 値は対照群、実験群ともに実験開始時の 5 週齢から 10 週齢までは大きな変動はみられなかった。したがって 10 週齢頃までは活性酸素の消去系も過酸化脂質の分解系も正常に機能していたものと考えられる。しかし、対照群は 15 週齢時には血圧がすでに 250 mmHg に達し、血清 TBARS 値の上昇もみられた。このときには、高血圧性血管病変がかなり進行していると考えられ、TBARS が異常な高値を示したラットでは、その直後に脳卒中を発症して死亡することも認めた。これは脳卒中発症時に血中 TBARS 値が急激に増加するという Tomita ら²⁰⁾⁻²¹⁾の報告と一致する。一方、実験群では加齢に伴って血清 TBARS 値は徐々に上昇したが、対照群でみられたような急激な上昇は認められなかった。さらに、この点については SHRSP に食塩水を負荷し、重症高血圧を生じさせた実験でも同じような結果が得られた。したがって魚肉飼料を投与することは、過酸化脂質の蓄積を抑え高血圧の持続により起こる膜障害の進行を遅延あるいは阻止しているものと考えられ、これが脳血管障害の発症抑制や寿命の延長につながった可能性を示している。この血中過酸化脂質の上昇の機序に対していくつかの因子があげられる。一つは過酸化脂質の分解系の関与である。本研究においても、対照群では TBARS 量が急増する時期に赤血球 GSH-Px 活性の著明な低下を伴うことが認められた。しかし、実験群では、血圧の上昇に伴って緩やかな血清 TBARS の増加が認められるが、これに対応して、GSH-Px の誘導も行われているために、TBARS の増加は抑制されたものと考えられる。GSH-Px はグルタチオンによる H_2O_2 、過酸化

Fig. 4. Changes of GSH-Px activity in erythrocytes of SHRSP and WKY rats.

▲: WKY, ○: SHRSP, ●: SHRSP loading 1% saline. SHRSP and WKY used in this experiment were fed stock chow diet (Funabashi SP). Each point represents the mean $\pm$ SD of 3 to 8 rats. [—]: [No. of survived rats/No. of examined rats].

脂質の分解を触媒する酵素で、SOD やカタラーゼとともに酸化損傷に対する生体防御に重要な役割を担っている酵素である。この活性の低下は生体に大きなダメージを与えると考えられる。事実、GSH-Px 活性の低下がいったんはじまると活性の低下は非常に速さで進行し、ラットはその後死亡することを確認した。GSH-Px 活性の低下により過酸化脂質の蓄積が起これ、それにより組織の酸化的障害が急速に進んでいくと考えられた。この点については、食塩を负荷させて高血圧性血管病変の進行を促進させる条件でも確認できた。GSH-Px はその活性中心にセレン (Se) がセレノシステインの形で存在するセレン酵素である。このセレンは魚肉に多く含まれているが利用率が悪いといわれている²²⁾²³⁾。しかし、魚肉飼料を投与したラットでは GSH-Px 活性が高く維持されていることから考えると、良質タンパクに加え魚肉中の Se が GSH-Px の誘導にも寄与していると考えられる。過酸化脂質の増加を抑制するもう一つの機序として、過酸化脂質の生成系の関与があげられる。過酸化脂質の生成は、高度不飽和脂肪酸が種々の活性酸素によって酸化されることにより進行するが、生体内には SOD²⁴⁾²⁵⁾、カタラーゼ²⁶⁾²⁷⁾、GSH-Px²⁸⁾²⁹⁾ などの抗酸化酵素やビタミン E やアスコルビン酸などの抗酸化剤¹⁹⁾¹⁸⁾³⁰⁾ が存在しており、脂質の過酸化の抑制に働いている。したがって、これらの除去系も正常に機能していることが過酸化脂質の上昇抑制には必要である。オキシラジカルの最上流に位置し、スーパーオキシドを消去する SOD は

SHRSP では、若齢時 (5 週齢) でも成熟時 (10 週齢) でもその活性値に変動はないが、過酸化脂質の上昇がみられるころから活性の低下がみられた。しかし実験群では GSH-Px 活性と同様 SOD 活性の低下はほとんど認められないことから推察して正常な機能が保たれていたものと考えられる。酵素系以外にも過酸化脂質の生成抑制にビタミン E 等の抗酸化剤が有効であることはよく知られているが、その他メチオニンやタウリンなどの含硫アミノ酸も脂質の過酸化を防止するという報告もみられる³¹⁾。魚肉タンパクの構成アミノ酸にはメチオニンなどの含硫アミノ酸が多く含まれており、これらも過酸化脂質の生成によって受ける細胞膜のダメージの軽減に間接的に作用している可能性も考えられる。以上、食餌因子の改善が高血圧疾患の予後に及ぼす影響を過酸化脂質の消去、分解系の面から検討した。脳卒中病変が進行しはじめると考えられる時期からでも、栄養因子の改善で組織の酸化的障害の進行を遅延、防御することが本実験から明らかとなった。これらの結果は、栄養による脳卒中の予防、治療の立場からみて、有益であると考えられる。

要 約

魚肉をタンパク源とする飼料を脳血管病変進行期の SHRSP に投与して、活性酵素や過酸化脂質の消去系に及ぼす影響を調べた。

1) 血清 TBARS 値は、対照群、魚肉飼料群とも 10 週齢までは大きな変動はなかった。対照群では血圧が

250 mmHg に達する 13 週齢ごろより急増したが、魚肉飼料群ではその増加は抑制された。SOD 活性および GSH-Px 活性は、対照群では TBARS 値の上昇と相前後して急激な低下が認められたが、魚肉飼料群では活性の低下は認められず、30 週齢時でも高値を維持した。

2) SHRSP に 1% 食塩水を負荷して高血圧性血管病変の進行を促進する条件でも、魚肉飼料を投与した SHRSP では、赤血球 GSH-Px 活性や SOD 活性の低下が抑制され高い活性値を保持し、TBARS 値の上昇を抑制した。

3) 赤血球 GSH-Px 活性の加齢に伴う変動を SHRSP および正常圧の WKY でしらべた。WKY および SHRSP と GSH-Px 活性値は若齢期には変わらなかったが、加齢に伴って上昇した。WKY では、17 週齢に最大活性を示し、それ以降も高い活性を保持した。SHRSP は WKY より早期に急激な活性の上昇がみられ、血圧が 250 mmHg に達したところから活性は急激に低下し、死亡するラットも増えた。また、SHRSP に食塩水を負荷すると、GSH-Px 活性の上昇は対照群よりも急激で、早期からはじまり、しかも高値で推移した。

グルタチオン系の抗酸化力の低下は組織の酸化的障害の防御機構の破綻を招き、脳卒中発症の引き金となるが、高血圧状態からでも、栄養因子の改善はこれらの障害の進行を遅延、防御することが以上の結果より示唆された。

本研究を進めるにあたり、終始ご指導とご助言を賜りました故飯塚義富先生に深く感謝の意を表します。

文 献

- Okamoto, K., Suzuki, T., Ito, H., Mitachi, Y. and Morita, N.: Spontaneous Hypertension: Its Pathogenesis and Complications, Proc. Second Int. Symp. on SHR, DHEW Publ. No. (NIH) 77-1179, 21 (1976)
- Okamoto, K., Suzuki, T., Murakami, T. and Miyake, H.: *Jpn. Heart J.*, 20 (suppl. 1), 334 (1979)
- 村上哲男, 岡本耕造, 大垣昌弘, 飯塚義富: 栄養誌, 40, 351 (1987)
- 村上哲男, 辻 章夫, 山本和夫, 岡本耕造: 栄養誌, 45, 129 (1992)
- Yagi, K.: *Biochem. Med.*, 15, 212 (1976)
- Whanger, P.D., Weswing, P.H., Schmitz, J.A. and Oldfield, J.E.: *J. Nutr.*, 107, 1298 (1977)
- 今成登志男, 広田元子, 宮崎元一, 早川和一, 田村義藏: 医学のあゆみ, 101, 496 (1977)
- Harman, D.: *Aging*, 7, 111 (1984)
- 内山 充, 松尾光芳, 嵯峨井勝(編著): 過酸化脂質と生体, (1985), 学会出版センター (東京)
- Fridovich, I.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 239 (1983)
- Slater, T.F.: *Biochem. J.*, 222, 1 (1984)
- 大柳善彦: スーパーオキシドと医学, (1981), 医歯薬出版 (東京)
- Sies, H.: 活性酸素と疾患—分子論的背景と生物の防衛戦略 (井上正康監訳), (1987), 学会出版センター (東京)
- 八木國夫, 中野 稔 (監修): 活性酸素, (1989), 医歯薬出版 (東京)
- 早石 修, 八木國夫, 五島雄一郎(監修): 虚血と細胞障害—活性酸素, フリーラジカル, (1980), 医歯薬出版 (東京)
- Kibata, M., Shimizu, Y., Miyake, K., Shoji, K., Miyahara, K., Nasu, Y. and Kimura, I.: Studies on Vitamin E in Lipid Metabolism, Tocopherol, Oxygen and Biomembranes (de Duve, C. and Hayaishi, O., eds.), 283 (1978), Elsevier Holland Biomedical Press (New York)
- 木畑正義, 清水能人, 三宅寛治, 下野雅通, 正路浩二郎, 宮原 潔, 洲本武文, 那須祥恵: 医学のあゆみ, 101, 591 (1977)
- 木畑正義: ビタミンEと脳疾患, ビタミンE—基礎と臨床—(福場博保, 美濃 慎編), 381 (1985), 医歯薬出版 (東京)
- 木畑正義: 急性血管障害における過酸化脂質反応とビタミンEの変動, 虚血と細胞障害—活性酸素, フリーラジカル—(早石 修, 八木國夫, 五島雄一郎監修), 105 (1980), 医歯薬出版 (東京)
- Tomita, I., Sano, M., Serizawa, S., Ohta, K. and Katou, M.: *Stroke*, 10, 323 (1979)
- Tomita, I., Sano, M., Serizawa, S., Takata, T., Furukawa, K. and Ohta, K.: *Jpn. Heart J.*, 20 (Suppl. I), 328 (1979)
- 吉田宗弘, 岩見公和, 安本教博, 岩井和夫: 農化, 55, 689 (1981)
- 木村修一, 左右田健次 (編): 微量元素と生体, (1987), 秀潤社 (東京)
- 鈴木敬一郎, 谷口直之: 実験医学, 9, 1317 (1991)
- Gutteridge, J.M.C.: *FEBS Lett.*, 150, 454 (1982)
- Fridovich, S.E. and Porter, N.A.: *J. Biol. Chem.*, 256, 260 (1981)
- Bannister, J.V., Bannister, W.H., Hill, H.A.O. and Thornalley, P.J.: *Biochim. Biophys. Acta*, 715, 116 (1982)
- 高橋和彦: 蛋白質 核酸 酵素, 33, 1495 (1988)
- 渡部 烈, 平塚 明: 蛋白質 核酸 酵素, 33, 2949 (1988)
- 里和スミエ, 岡本三郎, 山形政和, 七理 泰, 馬場理一, 片山哲二: 日老医誌, 16, 376 (1979)
- Dillard, C.J., Litov, R.E. and Tappel, A.L.: *Lipids*, 13, 396 (1978)

(1991年9月27日受理)