牛における血清過酸化脂質と生体内抗酸化因子の変動

野呂明弘¹⁾ 山田 勤¹⁾ 糸井 浩¹⁾ 宮前千史¹⁾小見邦雄¹⁾ 小茂田匡央²⁾

(平成元年11月1日受付・平成2年2月23日受理)

Changes in Serum Lipid peroxide, Tocopherol Levels and
Serum Superoxide Dismutase Activity in CattleAKIHIRO NORO*, TSUTOMU YAMADA, YUTAKA ITOI, YUKIFUMI MIYAMAE, KUNIO OMI and
MASAO KOMODA (* Institute of Animal Health, Prefecture of Gumma,
Fujimimura, Gumma 370-01)

SUMMARY

Examination was made of variation in serum lipid peroxide, α -tocopherol level and superoxide dismutase activity in dairy cattle, fattening cattle and cattle with liver disorders. In the fattening group, serum lipid peroxide levels markedly increased before and after parturition and exceeded 15 nmol/ml at 12 weeks after parturition. In the control group, no significant variation in serum lipid peroxide levels in association with parturition. Serum α -tocopherol levels and superoxide dismutase activity in the fattening group changed remarkably, compared to control. These parameters transiently or persistently decreased before and after parturition. Serum lipid peroxide levels in Japanese black cattle at the later stage of breeding were measured for two cattle groups reared under different breeding conditions. Although there were no difference in serum superoxide dismutase activity in the 2 groups, serum lipid peroxide levels increased in the group whose serum α -tocopherol levels decreased. Serum superoxide dismutase activity in cattle with liver damage remained higher throughout the period of observation, than the control, being as much as 35% higher at the onset of liver disorder. Serum α -tocopherol decreased to less than 100 μ g/dl after liver damage had been sustained and at 10 months before the onset when serum lipid peroxide increased.

—Key Words : cattle, serum lipid peroxide, serum α -tocopherol, serum superoxide dismutase.

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 43, 489~493 (1990)

要 約

搾乳牛、肥育牛および肝障害牛において血清過酸化脂質と血清 α -トコフェロール(α -Toc)濃度、血清スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)活性値の変動を観察した。搾乳牛の分娩に伴う血清過酸化脂質濃度は対照牛群では分娩に伴い大きな変動はみられなかったが、肥満牛では分娩前後に血清過酸化脂質濃度の増加が顕著に認められ、分娩12週後には15 nmol/ml以上の高値を示した。肥満牛の血清 α -Toc濃度、血清SOD活性値は対照牛群に比較して分娩に伴い顕著な変動がみられ、分娩前後に一過性の低下あるいは持続性の低下が認められた。肥育後期の黒毛和種牛における血清過酸化脂質濃度は農家での飼養方式が異なる2牛群で実施した。その結果2牛群の血清SOD活性値には差はみられなかったが、血清 α -Toc濃度の低下を示していた牛群での血清過酸化脂質濃度の高値が認められた。肝障害牛の血清SOD活性値は観察期間をつうじて対照牛群に比較して高い活性値がみられ、肝障害発症時は35%の高値が示された。血清 α -Toc濃度は肝障害発症時以降と血清過酸化脂質濃度が高値を示した発症10カ月前に100 μ g/dl以下の低値がみられた。

¹⁾ 群馬県家畜衛生研究所(勢多郡富士見村大字小暮2416)²⁾ 群馬県東部家畜保健衛生所(太田市八重笠)Key Words : 牛, 血清過酸化脂質, 血清 α -トコフェロール, 血清スーパーオキシドジスムターゼ.

生体組織に多く存在する高度不飽和脂肪酸はその構造上酸化を受けやすく、高度不飽和脂肪酸の酸化反応により生じた過酸化脂質は生体膜の損傷をはじめ種々の疾病を引き起こすといわれている¹⁶⁾。血清中に過酸化脂質が増加する原因は外因性と内因性に分類され、外因性は主として過酸化脂質を多量に含む食物の摂取によることが多く、内因性は過酸化脂質が生体内で何らかの原因により生成する場合であるとされている²²⁾。このことは血清過酸化脂質の増加は食物から多量の過酸化脂質が入らない限り、生体内の臓器組織に膜障害が生じたことを示すものと考えられる。ヒトの領域での血清過酸化脂質の報告は糖尿病¹⁷⁾、肝障害¹⁸⁾、熱傷³⁾、血管障害¹⁰⁾および予癲前症¹¹⁾等で散見されるばかりでなく、老化²⁾とも関連してその関心が高まっている。

著者ら¹⁵⁾は肝障害牛の経時的観察において黄疸を伴う肝障害発症時以前に血清過酸化脂質濃度の高値を認め、この時期に生体内で脂質過酸化現象が起きた可能性を示唆した。しかし、牛においては血清過酸化脂質に関する報告は少なく⁹⁾、十分な検討が行われていないのが現状である。そこで今回は牛における血清過酸化脂質濃度の測定を実施するとともに、生体内の抗酸化因子として重要な血清ビタミンE（以下「 α -トコフェロール」と略す。）と血清スーパーオキシドジスムターゼ（以下「SOD」と略す。）の変動について検討した。

材料および方法

搾乳牛は群馬県下の1農家で飼養されている2～3歳の搾乳牛7頭を用い、採材は分娩前8週～分娩後12週まで計12回実施した。供試牛は採材期間中に臨床異常はみられなかったが、分娩前のBody Condition (B.C.)の状態¹⁹⁾により対照牛群5頭 (B.C. 値の平均3.2) と症例1号牛 (B.C. 値4.0)、症例2号牛 (B.C. 値5.0) に区分した。肥育牛は群馬県下の2戸の農家で飼養されている黒毛和種去勢牛14頭であり、临床上健康な80～100周齢の肥育後期牛を選定した。各農家での飼料給与方式はA農家では肥育前期から後期まで全期間をつうじて濃厚飼料給与割合は85%前後であった。B農家は肥育前期の濃厚飼料給与割合は35%であり、中期から後期にかけては80%であった。肝障害牛は過去の報告¹⁵⁾と同様な材料を用いた。また、測定項目は血清総コレステロール（酸素法）、血清過酸化脂質（八木法）、血清 α -トコフェロール（高速液体クロマト法）および血清SOD（NBT還元法）について行った。

成 績

分娩に伴う血清過酸化脂質濃度の推移

分娩に伴う血清過酸化脂質濃度の変動を図1に示した。対照牛群の血清過酸化脂質濃度は分娩に伴い大きな変動

は認められなかったが、分娩時に平均値で3.5 nmol/mlと最低値を示した。分娩前に肥満の傾向がみられた症例1は分娩8週前に12 nmol/mlと対照牛群に比較して高い値がみられたが分娩時には低下した。また、分娩4週後には10 nmol/mlと増加する傾向がみられ、分娩12週後には23 nmol/mlと著しい高値が認められた。症例2は分娩前から分娩直後までは対照牛群とほぼ同様な推移を示したが、分娩6週後から増加する傾向がみられ、分娩12週後には15 nmol/mlまで増加した。

分娩に伴う血清 α -トコフェロール濃度、SOD活性値の推移

図2、3に分娩に伴う血清 α -トコフェロール（以下「 α -Toc」と略す。）濃度と血清中の総コレステロールに

図1 分娩に伴う血清過酸化脂質濃度の推移

図2 分娩に伴う血清 α -トコフェロール濃度の推移

図3 分娩に伴う血清 α -トコフェロール/総コレステロールの推移

対する α -トコフェロールの比 (以下「 α -Toc/T-Cho」と略す.) を示した. 対照牛群の血清 α -Toc 濃度は分娩に伴い減少する傾向がみられ, 分娩時には平均値で $190 \mu\text{g/dl}$ と最低値を示し分娩 2 週後まではほぼ同様な値で経過した. その後漸次増加し分娩 10 週後にはほぼ分娩前の値に推移した. それに対して, 症例 1 の血清 α -Toc 濃度は対照牛群に比較して全期間をつうじて低い値で推移し, 特に分娩時から分娩 2 週後の期間は $100 \mu\text{g/dl}$ 以下の値を示し, 分娩 12 週後に $200 \mu\text{g/dl}$ まで増加した. 症例 2 の血清 α -Toc 濃度は観察期間をつうじて対照牛群との大きな差は認められなかった. また, 血清 α -Toc/T-Cho は対照牛群では分娩前 8 週から分娩時まで平均値で 4.0 以上の値で推移したが, 分娩 1 週後に平均値で 2.65 と低下が認められ, 以後分娩 12 週後まで同様な値で経過した. 対照牛群に比較して症例 1 の血清 α -Toc/T-Cho は分娩前に低く, 症例 2 では高い値が示さ

図 4 分娩に伴う血清 SOD 活性値の推移

表 1 肥育後期牛における血清過酸化脂質

牛 No.	血清過酸化脂質	血清 SOD 活性値	α -Toc.	α -Toc./T-Cho.
A-1	30.1	14.9	201.8	1.68
A-2	5.5	12.3	518.7	4.59
A-3	40.7	21.5	220.6	1.52
A-4	17.7	26.9	180.0	1.84
A-5	26.2	18.1	220.1	1.84
A-6	21.8	26.9	172.9	1.63
平均値	23.7	20.1	252.4	2.18
標準偏差	11.8	6.1	131.9	1.18
B-1	3.3	16.3	579.7	3.47
B-2	1.5	20.8	548.8	5.07
B-3	1.7	15.6	542.8	6.87
B-4	1.7	23.7	341.2	3.56
B-5	2.5	21.4	428.3	2.99
B-6	2.5	22.4	574.7	4.32
B-7	2.4	21.7	484.9	4.63
B-8	2.4	24.5	611.8	5.67
平均値	2.3	24.5	611.8	4.57
標準偏差	0.6	2.7	88.7	1.28
	nmol/ml	%	$\mu\text{g/dl}$	

れたが, 分娩後は症例 1, 2 とともに大きな差は認められなかった. 図 4 に分娩に伴う血清 SOD 活性値の変動を示した. 血清 SOD 活性値は対照牛群では分娩前, 分娩後をつうじて平均値で 20.0% から 25.0% の間で推移し, 分娩時に 16.0% とやや低下する傾向が認められた. 症例 1 の血清 SOD 活性値は分娩 4 週前に 9.0%, 分娩 8 週後に 0.8% と分娩前後に急激な活性値の減少がみられた. 症例 2 では分娩前後をつうじて血清 SOD 活性値は 5.0% から 10.0% で推移し, 観察期間をつうじて対照牛群に比較し低値が認められた.

肥育末期牛における血清過酸化脂質濃度と血清 α -Toc 濃度, SOD 活性値

表 1 に肥育末期牛の血清過酸化脂質濃度, α -Toc 濃度および SOD 活性値の成績を示した. 血清過酸化脂質濃度は A 農家の牛群では平均値で 23.7 nmol/ml であり, B 農家の牛群の 2.3 nmol/ml に比較して著しい高値が認められた. 血清 SOD 活性値は A, B 農家の牛群は平均値で各々 20.1, 24.5% であり大きな差は認められなかった. 血清 α -Toc 濃度は A 農家の牛群は平均値で $252.4 \mu\text{g/dl}$ であったのに対し, B 農家の牛群では $611.8 \mu\text{g/dl}$ であり, A 農家の牛群での血清 α -Toc 濃度の低値が示された. 血清 α -Toc/T-Cho は血清 α -Toc 濃度

図 5 肝障害牛における血清 α -トコフェロール濃度の変動

図 6 肝障害牛における血清 SOD 活性値の変動

とほぼ同様の傾向がみられ、B農家の牛群に比較してA農家の牛群での低値が認められた。

肝障害牛における血清 α -Toc 濃度、SOD 活性値の変動

肝障害牛における血清 α -Toc 濃度と血清 SOD 活性値の変動を図 5、6 に示した。肝障害牛の血清 α -Toc 濃度は肝障害発症時の 10 カ月前に $95 \mu\text{g}/\text{dl}$ と対照牛群に比較して低値が認められた。その後対照牛群と同様に増加する傾向がみられたが、肝障害発症時には $18.4 \mu\text{g}/\text{dl}$ と急激な減少が認められた。また、血清 SOD 活性値は対照牛群では大きな変動はみられず、平均値で 9.0% 前後で推移した。しかし、肝障害牛は発症の 10 カ月前から全調査期間をつうじて対照牛群に比較して高い値で推移し、特に肝障害発症時には 39.6% と著しい高値が認められた。

考 察

生物が生きていくうえで酸素は必要不可欠であるが、一方で生体に種々の障害をもたらしている²⁰⁾。酸素分子は電子を受け取り反応性の強い酸素の誘導体となり、これが活性酸素と称されている。活性酸素はスーパーオキシドアニオン (O_2^-)、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) および一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) を示すが、これらは直接的または間接的に過酸化脂質の生成に関与する²¹⁾。そのため八木は活性酸素により起こされる生体の障害を考える際には、過酸化脂質による障害も当然考慮に入れねばならないとしている²¹⁾。過酸化脂質とは脂質が酸化されて生じたペルオキシド構造をもつ酸化産物の総称であり、生体内で何らかの原因により脂質中不飽和脂肪酸および酸素が活性化されて、脂質ラジカル ($\text{L}\cdot$) が形成され、酸素と反応して過酸化脂質であるペルオキシラジカル (以下「 $\text{LOO}\cdot$ 」と略す。) となる。この $\text{LOO}\cdot$ は他の脂質中不飽和脂肪酸から新しい $\text{LOO}\cdot$ を発生するが、 α -Toc のようなラジカルを捕捉する抗酸化剤により $\text{LOO}\cdot$ は安定化される¹⁶⁾。このように生体内で活性酸素が生ずると生体の構成要素に多くの変化をあたえることになり、ヒトにおいては血清過酸化脂質は数多くの報告^{3, 9, 10, 11, 17, 18)} がみられるが、家畜の領域ではあまりみられない⁹⁾。そこで、牛における血清過酸化脂質の生理的変動を把握する目的で同一農家において搾乳牛の分娩に伴う変動を観察した結果、対照牛群に比較して分娩前に肥満の傾向が強い牛では分娩前後に血清過酸化脂質濃度の高値が認められた。今回の調査牛はほぼ同時期に分娩した牛群であることから、血清過酸化脂質濃度が増加した原因として過酸化脂質を多量に含む飼料の摂取による外因性の要因は考え難く、肥満牛において生体内で何らかの原因で過酸化脂質が生成されたものと考えられた。

次に生体内で活性酸素消去に作用する血清 α -Toc 濃度と血清 SOD 活性値の分娩に伴う変動を検討した。血清 α -Toc に関してはわが国でも野外の牛における調査が実施されているが^{4, 5, 6)}、牛に対する適切な投与方法、血中濃度は検討されておらず、 α -Toc の投与は一般にはビタミン A の腸管における吸収促進等の目的で投与されているにすぎないと報告されている¹⁴⁾。しかし、 α -Toc には先に述べたラジカルの連鎖反応を阻止する役割があり、生体内でも脂質の過酸化を阻止する重要な役割を有していると考えられている。また、SOD は O_2^- の定常濃度の減少を図るとともに、 O_2^- が H_2O_2 と反応し生成される $\cdot\text{OH}$ を抑制するため、細胞を酸素毒性から防御し、結果として過酸化脂質の生成を防止する役割を果たしている¹⁾。今回の調査により、肥満牛では対照牛群に比較して血清 α -Toc 濃度、SOD 活性値ともに分娩前後をつうじて大きな変動が認められ、肥満牛にみられた血清過酸化脂質濃度の増加は、生体内で抗酸化作用を行う血清 α -Toc 濃度と血清 SOD 活性値の変動と関連が深いものと推察された。また、血清 α -Toc に関しては近年生体内で利用性の高い血清中 α -Toc の測定をすることが適当な方法であると報告されている¹²⁾。今回血球中 α -Toc 濃度の測定は実施しなかったが、臓器中の α -Toc 含量と強い正の相関がみられる⁷⁾ 血清 α -Toc/T-Cho 値は分娩後の対照牛群、肥満牛ともに大きな差は認められなかったことから、今回の調査牛では分娩後では臓器中 α -Toc 含量に差はないものと推察された。また、血清 α -Toc にはその輸送、取り込みに特異的なリポタンパク質が存在することが知られており⁸⁾、症例 2 でみられた分娩後の血清 α -Toc 濃度の低下は α -Toc 結合リポタンパク質の合成低下などが関与しているものと考えられた。

肥育後期牛では血清 α -Toc 濃度、 α -Toc/T-Cho が低値を示した牛群における血清過酸化脂質濃度の増加が認められ、臓器中 α -Toc 含量の減少に由来した血清 α -Toc 濃度の低下が血清過酸化脂質の増加した要因と考えられた。肥育牛では発育の旺盛な時期に増体効率向上を目的として若齢肥育方式が現在主流を占め、このような濃厚飼料主体の肥育方式が肝臓瘍発症や飼料効率低下の 1 つの誘因となっている¹³⁾。今回の調査では肥育過程における検討を実施していないが、血清過酸化脂質の増加は炎症性疾患、血管障害を誘起する可能性があり日増体量等の生産効率の低下を生じることが十分に推察できる。さらに、血清過酸化脂質、 α -Toc 濃度の変動の要因として肥育前期から中期にかけての肥育方式の違いによる影響もあると考えられ、今後は肥育過程の変化による検討を行い、飼料効率や病態との検討を実施することも重要であると思われる。

血清過酸化脂質と病態との関連として肝障害牛に関し

ての所見を過去に報告¹⁵⁾した. そのなかで肝障害牛は発症 10 カ月前に血清過酸化脂質が 30 nmol/ml 以上の高値を呈したことを示した. 今回, 発症牛の血清 α -Toc 濃度と血清 SOD 活性値相互間の変動を観察したところ, 血清 α -Toc 濃度が低下した時点で血清 SOD 活性値の増加が認められた. しかし, 血清 α -Toc 濃度が低値であった発症 10 カ月前に血清過酸化脂質の増加が起こったことは, 血清 SOD が α -Toc の作用を完全に代替することが不可能であった結果と推察された. これらのことは何らかの原因で生体内の活性酸素発生量が増加したときに, それに応じて抗酸化能を上昇できるか否かが重要であることを示唆し, 活性酸素生産量に対する生体内の処理能力の比が問題であると考えられた. 現在, 搾乳牛に関しては過酸化脂質の変動要因についての調査を継続中であり, 今回検討のできなかったグルタチオンペルオキシターゼ, カタラーゼ等の生体内抗酸化因子との関連を検討するとともに病態との関連を検討したい.

引用文献

- 1) 福沢健治, ほか: 過酸化脂質と生体, 内山 充, 松尾充芳, 嵯峨井勝編, 45~76, 学会出版センター, 東京 (1988).
- 2) 平井俊策: 代謝, 15, 55~61 (1978).
- 3) HIRAMATU, M. et al.: *Burns*, 11, 111~116 (1947).
- 4) 一条 茂, ほか: 日獣会誌, 34, 573~579 (1981).
- 5) 一条 茂, ほか: 日獣会誌, 40, 562~566 (1987).
- 6) 一条 茂, ほか: 日獣会誌, 41, 565~570 (1988).
- 7) 五十嵐 脩, ほか: 過酸化脂質と生体, 内山 充, 松尾充芳, 嵯峨井勝編, 79~97, 学会出版センター, 東京 (1988).
- 8) 五十嵐 脩, ほか: ビタミン, 58, 1~11 (1984).
- 9) KARSAL, F., et al.: *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 94, 264~266 (1987).
- 10) 木畑正義, ほか: 医学のあゆみ, 101, 591~592 (1977).
- 11) MASEKI, M. et al.: *Clin. Chim. Acta*, 115, 155~161 (1981).
- 12) 美濃 真, ほか: ビタミン, 57, 165~175 (1983).
- 13) 元井霞子: 臨床獣医, 6, 21~27 (1988).
- 14) 村上由紀, ほか: 日獣会誌, 42, 161~165 (1989).
- 15) 野呂明弘, ほか: 日獣会誌, 43, 181~184 (1990).
- 16) 荻原 享, ほか: 臨床検査, 33, 262~267 (1989).
- 17) SATO, Y. et al.: *Biochem. Med.*, 21, 104~107 (1979).
- 18) SUEMATSU, T. et al.: *Clin. Chim. Acta*, 79, 267~270 (1977).
- 19) WILDMAN, E. E. et al.: *J. Dairy Sci.*, 65, 495~501 (1981).
- 20) 八木国夫, ほか: 代謝, 15, 13~21 (1978).
- 21) 八木国夫, ほか: 代謝, 25, 25~31 (1988).
- 22) 八木国夫: 臨床検査, 33, 250~255 (1989).

小動物用

**ハロゲン眼耳鼻咽喉
診断セット
NO.64425**

臨床家必携

ゴーランド社製

カウ・ドクター

**牛用
妊娠診断器**

30日~39日の適中率は
32例中30例

外部から胎児の心音を聴取
することも出来る(5ヵ月)。

メデータ社製

輸入・発売元

(N) 日英貿易株式会社

☎048-624-6291
〒331 大宮市プラザ48-1