(3) β -Carotene and lycopene do not have influence upon the value of serum vitamin A in this procedure.

ビタミンAの化学的微量分析法 (第3報)

ビタミンA欠乏鼠によるビタミンA及び β -カロチン吸収試験の一知見

佐橋佳一, 中山昭彦, 原島圭二, 岩本秀夫 (東京大学農学部生物化学教室)

昭和30年3月11日受理

Microchemical Determination of Vitamin A. Part 3.

A Note on Absorption Experiments of Vitamin A and β -Carotene with Vitamin A-deficient Rats.

By Yoshikazu SAHASHI, Akihiko NAKAYAMA, Keiji HARASHIMA and Hideo IWAMOTO.

(Biochemical Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

緒 言

ビタミンAの摂取量を研究する方法として血液中に発現するビタミンAを定量することは一良法とされている。SOBEL⁽¹⁾は人体でこの方法を採用し、ビタミンA摂取後3時間で血液中ビタミンA濃度の最高に達することを報告した。然し完全ビタミンA欠乏鼠で厳密に行つた報告は見当らない。我々は完全A欠乏鼠でこの現象を把握せんとし、先ず完全A欠乏餌で養つた仔白鼠がA欠乏症状を呈し、血液中Aが最小量に達した時、Aを経口投与し、血液中Aが最高に達する時間を測定する研究を計画した。只この方法では試験時A欠乏仔鼠の生体量が減少し、頻死の状態になるので、同一個体から短時間に採血することは困難で実際不可能である。そこで同腹同一条件飼育による仔鼠を厳選して行う方法を行つた。未だ例数が少く報告化するには不充分であるが、我々の新方法による吸収試験がSOBELの人体吸収試験とよく平行する結果を得たことと、我々としては尚多数の例を重ねた上報告することを望んでいたが、都合により本研究を打切らねばならぬことに至つたので不備の点多きも現在までに得た結果の概要を報告することとしたい。不充分の箇所については改めて詳細の研究を行う予定である。

実 験 の 部

(1) ビタミンA欠乏白鼠の準備及び採血

生後1カ月、体重平均30gの仔白鼠をビタミンA欠乏飼料(脱脂無胚芽白米粉84%, 精製馬肉粉10%, 混合塩4%, 乾燥酵母2%)を以て飼育し、体量増加停止7日を経ってから試験に供した。

採血には太目の注射針と注射器を用い、麻酔後左胸部の皮膚の上から、または胸部を開き心臓を露出させ、心臓穿刺によつて行つた。採血量は1回0.5~1cc, 採血後直ちに冷蔵し、これを遠沈して血清を採り、測定に供するまでは冷蔵した。ビタミンA定量はBESSEYマイクロ法⁽²⁾によつた。

(2) ビタミンA欠乏白鼠の血液中ビタミンA含量

実験を繰返した結果ビタミンA欠乏白鼠の血液中ビタミンA含量は0または0に近い。 β -カロチン含量は更にそれよりも少い。Table 1に例を掲げたが、数値は100ccの血清に換算した値であるから個体当りの血液中含量はこの幾分の一になる。

次にビタミンA欠乏白鼠を用い、ビタミンA Tween

Fig. 1. Variation of Serum Vitamin A in Vitamin A-deficient Rats after Administration with Vitamin A.

Table 1. Serum Vitamin A Content* in Vitamin A-deficient Rats.

Body Weight of Vitamin A-deficient Rats at the Beginning of Experiments (gr.)	Vitamin A (U.S.P./100 cc of Serum)	β Carotene γ /100 cc of Serum)
♀ 52	0	—
♀ 43	0	0
♂ 42	29.9	—
♂ 126	-7.1	—
♀ 90	11.9	—

* Recovery test of vitamin A . 90~105%

80 添加水溶液を経口投与して投与後何時間で血中濃度が最大となるかの試験を行つたが、同腹5頭のビタミンA欠鼠のうち、1頭を無投与対照とし、4頭の各に300 U. S. P. のビタミンAパルミテート(米国製品)の Tween 80 添加水溶液を経口投与し、2, 3, 4, 6 時間後の各鼠の血中ビタミンA含量を測定したところ、Aの血中濃度の最大となるのは投与3時間後附近のようである (Fig. 1)。

以上得られたビタミン A Tween 80 添加水溶液を摂取させ3時間後に出現する血液中ビタミンA濃度を更に詳細検討するため次の如く種種異なる量のビタミンAを投与した結果を研究した。

Table 2. Serum Vitamin A in Vitamin A-deficient Rats treated with different Amount of Vitamin A.

Number of Rats used in Exp.	Amount of Vitamin A administered (U.S.P.) per Head.	Serum Vitamin A at 3 hrs. after Treatment (U.S.P./100 cc of Serum)
Experiment I		42 (Av. value)
2	0	204 "
3	300	228 "
3	600	243 "
3	1000	2.4 "
Experiment II		150 "
2	0	202 "
4	250	246 "
4	500	
4	1000	

300 IU 投与した場合に、血液中にビタミンAが幾何発現するかを試験した。純β-カロチン 0.6γを1IUとして計算し、純度 85% (吸光係数からの計算値) のβ-カロチンをビタミンAを含まざる合成混合脂肪酸エチルエステルに溶かし、これに10倍量の Tween 80 を混合したものを試料とした。

同腹7頭のビタミンA欠鼠に1頭当りβ-カロチン 300 IU を経口投与し、2~6 時間後の血液中ビタミンA濃度及びカロチン量を測定したところ Table 3 の通りビタミンAの血液中発現は僅少、カロチンは0であつた。すなわちビタミンA欠乏鼠に於ては血液中ビタミンA発現のためにはβ-カロチン 300 IU は量的に過少なることを知つたので、更に17頭にβ-カロチン 1000 IU を与え時間的間隔測定を行つたところ、血液中へ最高に発現するまでの所要時間は3~4 時間であつた (Table 4)。

Table 3. Content of Serum Vitamin A and β-Carotene in Vitamin A deficient Rats treated with 300 IU of β-Carotene.

Time estimated after Oral Administration of β Carotene (hrs.)	Vitamin A (U.S.P./100 cc of Serum)	β-Carotene (γ/100 cc of Serum)
♀ 0	0	0
♀ 2	<12	0
♂ 2.5	<8	0
♂ 3	<12	0
♀ 4	<20	0
♀ 6	0	0
♂ 6	<17	0

第一試験には同腹 11 頭のビタミンA欠乏鼠を4群に分け、3群に対し1頭当りビタミンA油の Tween 80 添加水溶液 300 U. S. P., 600 U. S. P. 及び 1000 U. S. P., 残りの1群を無給与対照とした。第二試験では14頭に投与量を 250 U. S. P., 500 U. S. P., 1000 U. S. P. としたところ Table 2 のような結果を得た。

(3) ビタミンA欠乏白鼠によるβ-カロチンの吸収試験

先ずビタミンA欠乏鼠に対し、β-カロチンを

Table 4. Serum Vitamin A Content in Vitamin A-deficient Rats treated with 1,000 IU of β-Carotene.

Time estimated after Oral Administration of β Carotene (hrs.)	Number of Rats used	Vitamin A (U.S.P./100 cc of Serum)
1	1	113.0
2	4	120.2 (av. value)
3	4	148.8 "
4	4	126.5 "
5~6	4	68.7 "

総 括

(1) ビタミンA欠乏白鼠の血液中ビタミンA含有量は0に近いが殆んど0であつた。これにビタミンA Tween 80 添加水溶液を1回経口投与すれば、血液中ビタミンA濃度は時間の経過と共に増大し3時間後に最高に達するように思われる。この濃度は以後時間経過と共に低下する。

(2) β-カロチンの場合、ビタミンA欠乏白鼠の血液中β-カロチン量は0であつて、これにβ-カロチン 300 IU 経口投与では血液中にビタミンAの発現を見ず、β-カロチン 1000 IU 経口投与に至りビタミンAとして発現を見ることを得、この場合も3~4 時間後に最高に達することを観察した。

終りに本研究は文部省科学研究費及び厚生科学研究費によつた。併記して感謝の意を表する。

- (1) A. E. SOBEL. *Vitamins and Hormones*, X, 47~67 (1952). (2) 佐橋及び共著者: ビタミン, 6, 589(1953).

Summary

In 1952, A. E. SOBEL stated problems of absorption and transportation of fat-soluble

vitamins in children, and the metabolic pathway of vitamin A, when administered in aqueous dispersion was shown in his works. Marked elevation of blood vitamin A was recognized 3 hrs. after oral administration of vitamin A with aqueous dispersion. But, no further evidence for absorption appeared in vitamin A-deficient rats, and thus the present authors have recently attempted to carry out several studies on this problem.

At first, the serum vitamin A in blood of vitamin A-deficient rats was tested, and the disappearance of vitamin A in blood was found at the end of the experiment. Then, the animals thus obtained were treated by administration of vitamin A in aqueous dispersion, and the appearance of the vitamin in blood was estimated by the BESSEY method.

On the otherhand, similar experiments with β -carotene were repeated. The results obtained are shown in Tables 1~4.

From the above findings, it may be observed that the highest vitamin A blood level was also found in vitamin A-deficient rats 3~4 hrs. after oral administration of the vitamin and β -carotene, similar to the experiments with children by SOBEL.

白鼠の成長と代謝(第1報)

成長と酵素の Activity (其の1)

吉田 昭, 山崎 隆, 芦田 淳(名古屋大学農学部食品栄養化学教室)

昭和30年4月30日受理

Studies on Growth and Metabolism in the Rat.

Part 1. Relationships between Growth and Enzyme Activity (1).

By A. YOSHIDA, T. YAMAZAKI, and K. ASHIDA.

(Facul. Agricul., Laboratory of Food and Nutrition, Nagoya Univ.)

我々の教室に於ては以前より栄養素の最適摂取量の決定を目的として、栄養素組成と酵素の activity との関係につき研究を行つて来た⁽¹⁾⁽²⁾。それらの結果からも分るように酵素の activity は、摂取栄養素と密接なる関係を有するのであるが、同じ栄養条件にあつても成長に伴う代謝の変化に応じて、酵素の activity も亦必ずしも同じ状態にとどまらないことが予想される。CLARK⁽³⁾等は人の血漿の alkaline-phosphatase が年令、性により異なることを報告しているし、血管壁組織の succinic dehydrogenase の activity が老ネズミに於ては若いものより低くなること⁽⁴⁾⁽⁵⁾、更に APRISON 達は兎の脳中の choline esterase activity と年令との関係につき調べている⁽¹³⁾。又体内代謝に関して多くの点で最も重要と思われる肝臓の酵素については RICHERT⁽¹⁴⁾等は choline oxidase activity が幼鼠では成長したものの 30~50% であると云つてゐるが、種種の成育段階については未だ明らかにされていない。それらの関係を知ることは、先の我々の研究を進める為の基礎的知識として必要であるばかりでなく、今後栄養素摂取必要量の成長による変化を考慮する際の資料ともすることが出来ると考え、xanthine oxidase, choline oxidase 及び succinic dehydrogenase 等の酵素の activity と成長との関係を調べた。

これら3者の酵素をえらんだ理由は、前述の我々の教室に於る研究でこれらの体内代謝に於る重要性並びに栄養素との関連性が知られているからである⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾。

実 験

実験に用いた動物は Wistar 系の白鼠で、我々の教室で生育したものである。これらの白鼠は 3~5 匹宛を1つの木箱に入れて飼ひ、飼料の組成は、小麦 25%, とうもろこし 15%, 大豆粕 10%, 米糠 10%, 麴 10%, 魚粉 15%, 蛹粉 1%, 配給飼料(三井印, 育雛用) 12%, 食塩 1%, 炭酸カルシウム 1% の如くであり、水は井戸水を与えてある。

これらの中から、各成育段階にあるもの約 70 匹を撰んで酵素の activity を測定した。Succinic dehydrogenase は雌のみについて行つた。これらの鼠は、撲殺して手速く肝臓を摘出し、濾紙で血液を出来るだけ除き、適当量を秤量して、水冷しながらワーリングブレンダーを用いて蒸溜水のホモジェネートを作り、各酵素の activity の測定に供した。測定法は3者共にワールブルクの検圧法によるもので次の如くである。