

## ストレス環境下におけるビタミンA代謝

— 5週齢ラットおよび12週齢ラットに及ぼす尾部懸垂の影響 —

末田香里・今尾真子\*・岩田奈美\*\*・近藤ゆかり\*\*\*・杉岡美季\*\*\*\*  
濱口千波<sup>+</sup>・原田利恵<sup>++</sup>・藤澤直美<sup>+++</sup>

### The Effect of Tail Suspension Stress on the Vitamin A Metabolism in the Rat

Kaori SUEDA, Masako IMAO, Nami IWATA, Yukari KONDOU, Miki SUGIOKA  
Chinami HAMAGUCHI, Rie HARADA, Naomi FUJISAWA

#### 緒 論

腸管から吸収されたレチノールはレチニールエステルとしてカイロミクロンに取り込まれ、肝臓に輸送される。アポE蛋白受容体を介して肝臓細胞にとりこまれ、レチニールエステルの形で貯蔵される。血中に放出される際には、肝臓で作られるレチニール結合蛋白と結合し、血中で更にトランスサイレチンと結合し、レチノール-レチニール結合蛋白-トランスサイレチン複合体で標的細胞へと運搬される。肝臓のほか、腎臓と肺が主な貯蔵組織であり、網膜、生殖器がビタミンAの標的臓器であることは昔からよく知られている。

ストレス環境下では血中ビタミンA濃度が低下すること<sup>1-5)</sup>が知られているが、ストレス環境下でのビタミンAの代謝、体内分布についての報告は多くない。今回尾部懸垂ストレスを、5週齢および12週齢ラットに与え、ビタミンA代謝がどのように変化するかを検討した。

#### 実験材料・方法

5週齢、12週齢のウイスター系雄性ラットを用い、各群4匹づつを実験に供した。7日間に

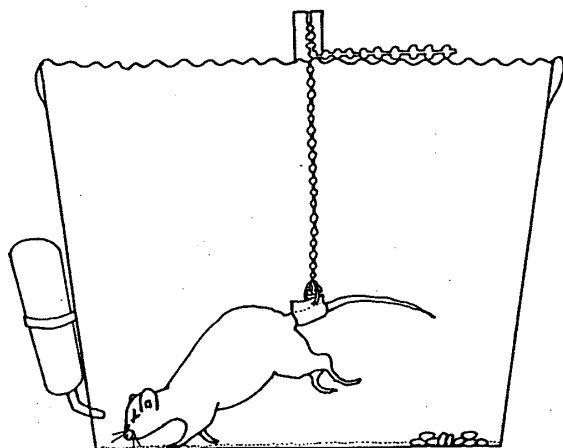


図1. ラット尾部懸垂モデル

表1. 飼料成分内容 100g当り

飼育用MF		
水分	(g)	8.0
粗蛋白質	(g)	24.6
粗脂肪	(g)	5.6
粗灰分	(g)	6.4
粗繊維	(g)	3.1
可溶性無窒素物	(g)	52.3
カロリー	(kcal)	358
ビタミンA	(IU)	880

\*岐阜済美学園済美女子高等学校, \*\*御田中学校, \*\*\*株式会社鈴丹, \*\*\*\*マルアイ株式会社,  
+古川学園向陽台高等学校, ++白銅株式会社, +++株式会社テクノ中部

わたって尾部懸垂を行った，即ち図1に示すようにラットの尾を吊り，後足は宙ぶらりんで，前足は自由に動ける状態にした．飼料として市販の固形飼料を用い(表1)，自由摂取とした(尾部懸垂群)．同時に尾部懸垂を行わないラットを対照群とした．8日目に，両群のラットをエーテル麻酔下で解剖し，血液，臓器を採取し， $-20^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で保存した．

ビタミンAは，ヘキササン抽出し，高速液体クロマトグラフィーにより<sup>6)</sup>，レチノールとレチニールパルミテートを分離し，紫外部吸収 $325\text{nm}$ で測定した．脂質は，クロロホルム・メタノール混液抽出法<sup>7)</sup>，グリコーゲン，比色定量法により定量した<sup>8)</sup>．亜鉛含有量は臓器を硝酸により湿式灰化後，原子吸光度計により測定した．

## 結 果

### 1. 尾部懸垂ストレスの体重および臓器重量に及ぼす影響

#### ① 体 重

5週齢ラットにおいては，尾部懸垂群と対照群の間に差は認められなかった．一方，12週齢ラットにおいては，尾部懸垂群では対照群と比べて，体重が有意に低下した(表2)．7日間の体重増加率をみると，5週齢ラット，12週齢ラットともに尾部懸垂群で有意に低下した．

表2. 尾部懸垂ストレスの体重・体重増加率に及ぼす影響

	対 照 群	懸 垂 群
5週 齢 ラ ッ ト		
体 重 ( g )	214.25 ± 10.52	189.50 ± 10.21
体 重 増 加 率 ( % )	23.9 ± 3.0	2.4 ± 5.9 ***
肝 臓 ( g )	8.72 ± 0.69	8.10 ± 0.62
腎 臓 ( g )	1.45 ± 0.10	1.46 ± 0.08
辜 丸 ( g )	2.00 ± 0.05	1.25 ± 0.13***
12週 齢 ラ ッ ト		
体 重 ( g )	341.50 ± 8.50	291.25 ± 2.69***
体 重 増 加 率 ( % )	8.9 ± 6.4	-6.6 ± 1.8 **
肝 臓 ( g )	11.66 ± 0.71	10.12 ± 0.21
腎 臓 ( g )	2.42 ± 0.06	2.09 ± 0.06
辜 丸 ( g )	2.75 ± 0.10	1.71 ± 0.09***

平均 ± 標準誤差 Student's t-test: \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.005$

#### ② 臓器重量

肝臓，腎臓，辜丸の重量を比較した．肝臓，腎臓重量は5週齢ラット，12週齢ラットともに対照群と，懸垂群の間に有意の差はなかった．辜丸重量は5週齢，12週齢共に尾部懸垂群で有意に低下した．表には示さなかったが，比体重(各臓器を体重で除した値)で比較した場合も，辜丸の比体重は，5週齢・12週齢ラットともに，有意に尾部懸垂群で低かった．

### 2. 尾部懸垂ストレスのビタミンA代謝への影響

#### ① 血中ビタミンA

5週齢ラットにおいては，尾部懸垂群は，対照群と比べて有意に低下した．一方，成熟期ラットにおいては，尾部懸垂群と対照群の間に，差は認められなかった(図2)．血清中には，ビタミンA貯蔵型のレチニールパルミテートの存在は検出感度以下の微量であった．

#### ② 臓器単位重量当りのビタミンA

単位重量当りのビタミンA含有量は肝臓に一番多く，腎臓，辜丸と順に桁違いに少なくなっ

ている。また肝臓、睪丸においてはレチノールに対してレチニールパルミテート濃度が低く、腎臓においてはレチニールパルミテートは、測定感度以下であった(図3)。

5週齢ラットにおいては、肝臓、腎臓において個々のビタミンA含有量は、対照群と尾部懸垂群の間に有意の差は認められなかった。しかし、睪丸において、レチノールは両群の間に差はなかったが、レチニールパルミテートは、尾部懸垂群では対照群と比べて、有意に高かった。

12週齢ラットにおいては、肝臓、腎臓、睪丸中のビタミンA量は両群の間に差がなかった。睪丸のレチニールパルミテートは、有意差は認められなかったが、5週齢ラットの場合に見られたように、懸垂群で高い傾向にあった。

③ 臓器当りのビタミンA量

5週齢ラットにおいては、肝臓、腎臓中ではレチノール、レチニールパルミテートともに両群に差はなかった。睪丸では、レチノール量は懸垂群で有意に少なく、一方レチニールパルミテートは懸垂群で有意に多かった。睪丸重量が懸垂群で低くなったせいで、睪丸全体のレチノール量が少なくなったが、それにもかかわらずレチニールパルミテートは懸垂群で有意に多かった。

12週齢ラットにおいては、レチノール、レチニールパルミテート量は、肝臓、腎臓、睪丸ともに両群で差はなかった。

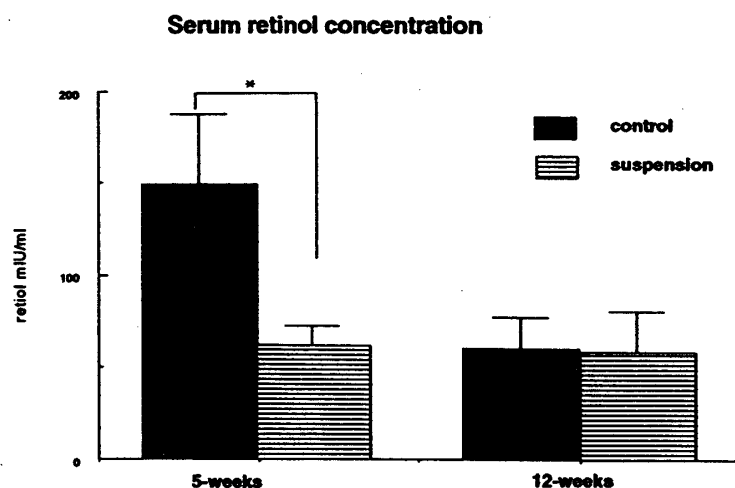


図2. 尾部懸垂ストレスの血清レチノール濃度に及ぼす影響  
各群4匹のラットを用い、平均±標準誤差で示した。  
Student's t-test: \* p < 0.05

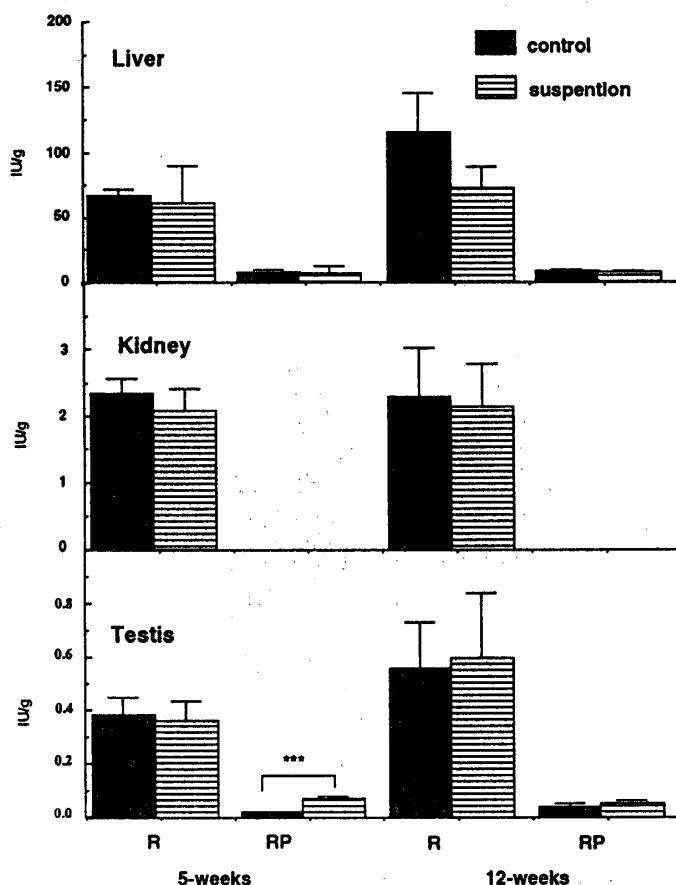


図3. 尾部懸垂ストレスのビタミンAの体内分布に及ぼす影響  
—臓器単位重量当りのレチノール、レチニールパルミテート量  
R:レチノール、RP:レチニールパルミテート  
各群4匹の平均±標準誤差を示す。Student's t-test: \*\*\* p < 0.005

表3. 尾部懸垂ストレスのビタミンAの臓器分布に及ぼす影響

臓器当り (IU/臓器)		対照群	懸垂群
5週齢ラット			
肝臓	レチノール	555.5 ± 70.5	463.3 ± 203.4
	レチニールパルミテート	63.56 ± 7.84	51.52 ± 29.96
腎臓	レチノール	3.41 ± 0.49	3.09 ± 0.73
	レチノール	0.770 ± 0.127	0.47 ± 0.159*
睪丸	レチノール	0.042 ± 0.008	0.089 ± 0.011***
	レチニールパルミテート		
12週齢ラット			
肝臓	レチノール	1282.0 ± 338.9	704.0 ± 141.5
	レチニールパルミテート	92.12 ± 9.80	79.24 ± 6.16
腎臓	レチノール	5.48 ± 1.59	4.54 ± 1.65
	レチノール	1.543 ± 0.449	0.993 ± 0.316
睪丸	レチノール	0.106 ± 0.039	0.098 ± 0.012
	レチニールパルミテート		

平均 ± 標準誤差

Student's t-test: \*p&lt;0.05, \*\*\*p&lt;0.005

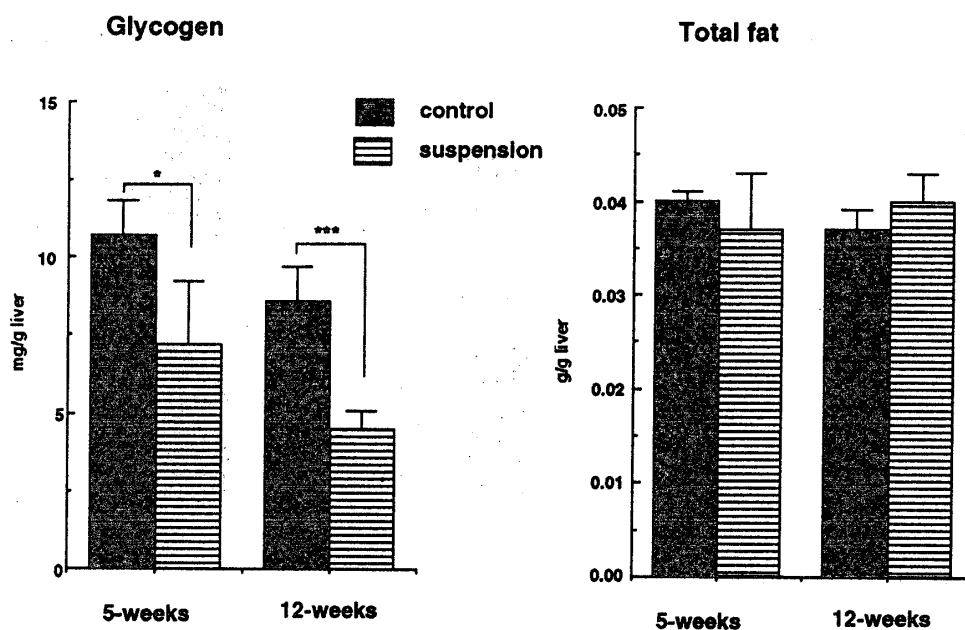


図4. 尾部懸垂ストレスの肝臓脂質, グリコーゲン量に及ぼす影響

各群4匹の平均 ± 標準誤差を示す. Student's t-test: \* p &lt; 0.05, \*\*\* p &lt; 0.005

### 3. 尾部懸垂ストレスの肝臓中 脂質・グリコーゲンに及ぼす影響

#### ① 脂質

肝臓単位重量あたりの脂質量は, 5週齢・12週齢ラット共に尾部懸垂群と対照群の間に差は認められなかった(図4). 図には示していないが, 肝臓臓器当りの脂質量も5週齢・12週齢ラッ

とともに両群のあいだに差はなかった。

## ② グリコーゲン

肝臓単位重量当りのグリコーゲン量は、5週齢・12週齢ラット共に、尾部懸垂群では対照群と比べて有意に低下した。

肝臓中のグリコーゲン量は12週齢ラットにおいては、懸垂群で有意に低下した。

## 考 察

ラットの尾部懸垂は、宇宙空間における無重力状態での体液の移動、即ち体液の移動が起こり体液が頭部に集中するのを模した実験系であると考えられている。同時に、尾部懸垂は大きなストレスをもたらすと考える。そこで7日間の尾部懸垂ラットを用いてストレスのビタミンA代謝に及ぼす影響を検討した。5週齢の成長期ラットと12週齢の成熟期ラットをもちい、ストレスの影響を比較した。

体重をみると、5週齢ラットの尾部懸垂群で、体重増加率が統計的に有意に低かった。また12週齢ラットの体重・体重増加率も有意に低かった。今回摂食量を測定しなかったが、予備実験において、尾部懸垂群と対照群の間で摂食量に差がないことを確認した。尾部懸垂群における体重の低下、ならびに体重増加率の低下は摂食量のせいではなくストレスの影響と推察された。

また調べた肝臓、腎臓、睪丸のなかで、5週齢、12週齢ラットいずれにおいても、睪丸重量が懸垂群で有意に低下していた。このことから、睪丸は特にストレスの影響を受けやすい臓器であると推察された。

今回は、ビタミンAについては、レチノールとその貯蔵型であるレチニールパルミテートについて測定した。血清中レチノール濃度は5週齢ラットにおいては尾部懸垂群で有意に低下した、12週令ラットでは両群に差はなかった。今回5週齢と12週齢ラットの血中レチノール濃度に差が見られたのは、ラットの成長過程での変化なのかは今後検討したい。

尾部懸垂ストレスのビタミンA代謝におよぼす影響が臓器により異なり、肝臓・睪丸・腎臓の中では、睪丸に特に影響が大きかった。Moritaら<sup>5)</sup>は、7日間の固定ストレスを与えたラットの睪丸中のビタミンAは減少したと報告している。我々の結果もレチノールとレチニールパルミテートを合計したビタミンA含有量は、対照群に比べて尾部懸垂群においては、有意に減少した。しかし、内訳をみると、5週齢ラットにおいては、睪丸単位重量当りのレチニールパルミテート量は有意に高かった。睪丸当りのレチノール含有量は、対照群に比べて尾部懸垂群は有意に減少したが、レチニールパルミテート含有量は有意に増加した。尾部懸垂群においては睪丸が萎縮し、睪丸重量が有意に減少しているにも関わらず、レチニールパルミテートが増加したことは注目に値する。ビタミンAは性成熟に重要であるとされており、成長期ラットにおいて、貯蔵型のレチニールパルミテートとして貯蔵されたと推察された。

12週齢ラットにおいては5週齢ラットの場合と傾向は同じであったが、いずれの結果についても有意差が認められなかった。5週齢ラットと12週齢ラットを比べて、ビタミンAに及ぼす尾部懸垂ストレスの影響が5週齢ラットで大きいと推察され、成長期におけるストレスの影響は重大であると推察された。

高瀬ら<sup>9)</sup>による宙吊り実験の結果では、レチノールとレチニールパルミテートの量を比較すると、貯蔵型のレチニールパルミテートの方が多い。我々の今回の結果では肝臓中のレチノール

ルの量が多かったが、これはビタミンAの摂取量に関連すると考えられる。ビタミンAは脂溶性ビタミンなので、摂取量が多い場合には、体内にレチニールパルミテートの形で貯蔵される。我々の実験では市販の固形飼料をラットに自由摂取させたが、飼料中のビタミンA量が今回の実験と高瀬らの実験とで異なるせいではないかと推察された。

また高瀬ら<sup>9)</sup>は宙吊りにより肝臓中にレチニールパルミテートが貯留される結果を得ている、そして、脂質も肝臓中に貯留される結果をだしており、この脂質の肝臓貯留がビタミンAが肝臓に貯留されるのと同じ機序ではないかと推論している。今回の実験では、肝臓の総脂質、レチニールパルミテートともに、懸垂群と尾部懸垂群との間に有意の差はなかった。これは尾部懸垂ストレスと宙吊りストレスのストレスの強さの差、あるいはストレスの種類による差ではないかと推論される。

肝臓単位重量当りのグリコーゲン量は、5週齢ラットでは、対照群に比べて尾部懸垂群は有意に減少した。12週齢ラットについて見ると、肝臓単位重量当りのグリコーゲン量及び肝臓当りグリコーゲン含有量共に、対照群に比べて尾部懸垂群は有意に減少した。これは、ストレス下ではストレスに対する抵抗力を増すために糖質コルチコイドの分泌が亢進すること、代謝が亢進すること<sup>10-12)</sup>が報告されており、ストレスによって血糖値を上昇させるために、肝臓グリコーゲンが分解され、血中にグルコースとして放出されたり、エネルギー源として消費されたりすると推察された。高瀬らも同様の結果を得ている。

## 結 語

尾部懸垂ストレスのビタミンA代謝におよぼす影響を5週齢と12週齢ラットを用いて検討した。

1. 血清レチノール濃度は、5週齢ラットでは尾部懸垂群で低下し、12週齢ラットでは差はなかった。
2. ストレスの影響は肝臓、腎臓、睪丸のうち、睪丸で大きかった。5週齢ラットでは睪丸単位重量当りのレチニールパルミテートが有意に増加し、睪丸当りのレチノール量の低下、レチニールパルミテート量の増加が認められた。
3. ストレスのビタミンA代謝におよぼす影響は12週齢ラットに比べて、5週齢ラットにおいて、より大きいと推察された。

## 参 考 文 献

1. Hillman. R. W. & Rosne M. C. : J. Nutr. 64, 605-613 (1958)
2. Rai. K. & Courtemache. A. D. : J. Trauma. 15, 419-424 (1975)
3. Portor. E. & Masoro. E. J. : Proc. Doc. Exp. Biol. Med. 108, 609-610 (1961)
4. Sundaresan. P. R., Winters. V. G. & Therriault. D. G. : J. Nutr. 92, 474-478 (1967)
5. Morita. A. & Nakano. K. : J. Nutr. 112, 789~795 (1982)
6. 阿部皓一, 石橋恭子, 大前雅彦, 河部靖, 勝井五一郎: ビタミン, 51, 275 (1977)
7. 山川民夫, 斉藤国彦, 林陽: 生化学実験法. 5, 65-66, 東京化学同人 (1975)
8. Lo. S. Russell, J. Cecal : J. Apol. physiol. 28, 234~236 (1970)
9. 高瀬幸子, 合田敏尚, 横越英彦, 星猛: . 第6回宇宙利用シンポジウム, 160~164, 宇宙科学研究所 (1989)
10. Mikulaj. L., Kventnansky. R. & Murgas. K. : Rev. Czech. Med. 20, 162-169 (1974)
11. Clark. I. & Colburn. R. W. : J. Nutri. 56, 232-238 (1955)
12. McGillvary. W. A. : Briti. J. Nutri. 15, 305-312 (1961)