

カロチンの生体内利用に関する栄養学的研究

第1報 ビタミンAへの転換におよぼす
ヨードカゼイン水解物の影響

山田 晃・富田 裕一郎

(昭和49年7月18日受理)

Nutritive Studies on the Utilization of β -Carotene in Rats

1. Effects of Hydrolyzed Iodinated-Casein on the Conversion of β -carotene into Vitamin A

Akira YAMADA and Yuichiro TOMITA

(Laboratory of Animal Nutrition)

緒 言

生体内におけるカロチンよりビタミンAへの転換が Moore¹⁾により報告されて以来、その転換に影響を与える因子として従来多数報告されているが、甲状腺もその一つである。

von Noorden²⁾ (1907) はカロチン血症の研究中、はじめて甲状腺がカロチンの代謝に関係するであろうことを示さし、Kunde³⁾ (1926) は甲状腺を摘出したウサギでは適量のカロチンを摂取しているにもかかわらず Xerophthalmia を認めた。その後 Wendt⁴⁾ (1935) はカロチンを充分摂取しているパセドー氏病患者の血中ビタミンA濃度が低いことを報じた。

Fasold と Heidemann⁵⁾ (1933) は山羊の甲状腺を摘出すると乳汁は黄色を呈し、その中にカロチンは検出されるがビタミンAは認められなかったと報じ、その場合 Thyroxine の注射により乳汁は白色となったことより Thyroxine は動物体内のカロチンよりビタミンAへの転換に重要な物質であると推論した。Johnson と Baumann⁶⁾ (1947) も白ネズミを使って正常群、カロチノイド減少群、チロイド過剰群の各群にカロチンを投与して飼育した結果、過剰群には当然ビタミンA減少症を予想されたが、期待に反し体内ビタミンA貯留量が最も多い成績を得た。このことより Thyroxine はカロチンのビタミンA転換に重要な役目を果たしていることを認めた。Cama と Goodwin⁷⁾ (1957) は両性の白ネズミを使い、レチネンとカロチンを投与する実験において、レチネンを経口投与した場合ヨードカゼインは肝臓ビタミンA貯留量を減少し Thiourea は増加するが、Thiouracil は影響を認め

なかった。これに反し、注射の場合は両者の間に差が認められなかった。カロチンを経口投与した場合はヨードカゼイン群は対照群に比し、肝臓ビタミンA貯留量が高く Thiourea 投与群は低い成績を報告している。

従来 Thyroprotein としてはヨードカゼインが用いられたが、このものは活性度が不安定な欠点を持っていた。これに反しヨードカゼインを酵素で加水分解した物質は活性度が安定であるため将来の活用が期待できる。

今回の実験においては Thyroprotein としてヨードカゼインの酵素水解物を取上げ、これが生体内におけるカロチンのビタミンA転換作用におよぼす影響につき検討を行ない、若干の成績を得たので報告する。

実験材料および方法

(1) 被験動物：あらかじめビタミンA欠乏飼料にて飼育した体重 30 gm 前後の Wistar 系白ネズミ(♂) 46匹を使用した。

(2) 飼育方法：一匹宛金網かごに隔離して飼育し、底は二重金網として糞喰を防止した。餌は制限給餌とし、水は自由摂取とした。

(3) 基礎飼料：ビタミンA欠乏飼料(日本クレア飼料 KK 製品)の化学組成は Table 1 に示す。普通飼料(日本クレア飼料 KK 製品)、(CE-2)の一般組成は次の通りである。

水分, 6.0% 粗繊維, 4.5% 粗蛋白質, 24.0% NFE*, 56.0% 粗脂肪, 3.5% 粗灰分, 6.0%

* NFE=Nitrogen free Extract

Table 1. Composition of Vitamin A deficient diet (in 100 gm)

Corn starch	68
Devitaminized casein	18
Soybean oil	10
McCullum salt (No. 185)	4
Vitamins	
D	20 IU
E	100 μ g
B ₁	56
B ₂	100
B ₆	40
B ₁₂	0.2
Folic acid	8
Ca-Pantothenate	260
Niacin	440
Choline-HCl	4 mg

ビタミンA, 1000 IU; その他のビタミン類は Table 1 に同じ。

(4) β -カロチン, ヨードカゼイン酵素水解物 (ICH と略す) およびそれらの投与方法: β -カロチンはメルク製品を使用した。あらかじめエチルエーテルに溶かし, その含有量を分光光度計で測定したものを投与した。ICH は帝国臓器製薬 KK 製品を使用した。本品はヨードカゼインを細菌と臍臓酵素との混合剤で3時間加水分解したものを濃縮粉末化したものであり, 次のごとき化学的性質を有する。

a) PPC* によれば Thyroxine, Diiodotyrosine のスポットは得られず, Rf=0.2 を示し, ペプチッド状有機ヨード化合物と考えられる。

b) 分子量, Sephadex G-25, G-50, G-100 のゲル濾過法による平均値の分布は 5,000 以下 10%; 5,000~10,000 (34%); 10,000~100,000 (30%); 100,000 以上 26% を示した。

c) 甲状腺ホルモン作用, クライトマイヤー試験 (モルモット) による体重減少作用は Thyroxine に比し極めて弱い。

d) 吸収スペクトル, 赤外部, 紫外部とも明らかに原料のヨードカゼインまたは Thyroxine, Diiodotyrosine と異なる。

上記の ICH は水にかしカテーテルにて適量経口投与した。

(5) 試験区分: 白ネズミ 38 匹を Table 2 のごとく 5 群に分けた。すなわち I 群は基礎飼料に β -カロチン 100 μ g を, II, III, IV の各群には β -カロチンの他にそれぞれ ICH を 1 日 1 匹当り 10 mg, 0.1 mg, 0.01 mg 投与した。大江によれば ICH はヒ

ナに対し 0.1 mg 投与が一番成長に良好な成績を得ているのでその前後に区分した。V 群は普通飼料群とした。なお各群の総 N 摂取量は 2.2%, 総ヨード添加量は ICH, 10 mg 当り 0.57 mg であった。

(6) 実験計画: 離乳直後より 42 日間ビタミン A 欠乏飼料にて飼育しビタミン A 欠乏状態に陥らせ, その内より 5 匹 (Table 3 の VI 群) を無作意抽出により取り出し, クロロフォルム麻醉下で肝臓, 腎臓を摘出科量し, 直ちにビタミン A 含有量を測定した。なお Table 3 中の VII 群は普通飼料 (CE-2) で飼育したものであるが, これも同様にして 3 匹についてビタミン A 含有量を測定した。残り 38 匹の白ネズミは 5 群に分け, その後 14 日間 ICH を投与し 56 日目にクロロフォルム麻醉下で肝臓, 腎臓を摘出秤量し, 各々のビタミン A 含有量を測定した。

(7) ビタミン A および β -カロチン定量法: Sobel 法の藤田, 青山改良法⁸⁾ によった。すなわち GDH を発色剤とし spectronic 101 により吸光度を測定し検量曲線より計量した。

糞中 β -カロチンは川口法⁹⁾ により定量した。なお当研究室の内山¹⁰⁾ は糞中カロチノイドを消石灰によるクロマトカラムで分離した結果, ほとんど β -カロチンのみであることを認めている。

実験成績および考察

(1) 成長試験: 実験成績は Fig. 1 に示す。42 日間ビタミン A 欠乏飼料を投与すると, 37 日頃より体重の増加割合が普通飼料区に比べてビタミン A 欠乏区では低下しはじめるので, その時点を生理的ビタミン A 欠乏状態と認め, 無作意抽出により肝, 腎のビタミン A 含有量を測定した。引続き β -カロチンおよび ICH を投与した結果, 各群の最終体重は図で明らかのように対照群に比べ II 群の 10 mg 投与群および IV 群の 0.01 mg 投与群は低値を示したが III 群の 0.1 mg 投与群は高値を示した。このことより考え ICH は生長に対しては 0.1 mg が最適と認められる。しかし推計学的有意差は認められなかった。各群の増体量についても同様である (Table 2)。

(2) β -カロチンの吸収率: 各群の吸収率は Table 2 に示す。すなわち対照群は平均 55.7% を示した。この数値は Jagannathan ら¹¹⁾ の従来の数値と近似である。ICH 投与群では 58~63% の値を示し, 対照群に比し幾分良好な成績を示したが推計学的有意差は認められなかった。

(3) β -カロチン \rightarrow ビタミン A 転換に関する実

* PPC=Paper partition chromatography

Table 2. Growth, organ weights and absorption coefficient of β -carotene

Group	No. of rats	Initial body weight	Body gain	Liver Weight		Kidneys weight		Absorption coef.
		<i>mg</i>	<i>mg</i>	<i>mg</i>	%	<i>mg</i>	%	
I Control	8	36.1±5.0	218±30	8.9±1.52	3.5±0.34	1.7±0.28	0.7±0.05	55.7±12.7
II ICH, 10 <i>mg</i>	8	35.6±3.5	201±50	7.8±1.68	3.4±0.23	1.5±0.22	0.6±0.09	63.0± 5.7
III ICH, 0.1 <i>mg</i>	7	36.7±4.2	222±41	9.4±1.38	3.5±0.48	1.8±0.33	0.7±0.09	62.6±12.8
IV ICH, 0.01 <i>mg</i>	8	37.0±4.3	207±47	7.4±1.37	3.2±0.48	1.5±0.25	0.7±0.07	57.7±12.2
V Ordinary diet	7	28.4±1.5	48±2.0	9.9±2.05	3.6±0.54	2.0±0.26	0.8±0.10	—

* Standard deviation of the mean

Table 3. Vitamin A contents of liver and kidneys (μ g)

Group	No. of rats	Liver (L)		Kidneys (K)		Total (L+K)	Increase relative to group I
		per <i>mg</i>	total	per <i>gm</i>	total		
After the administration of β -carotene and ICH							
I	8	1.8±0.59	15.4±4.70	1.9±0.61	3.2±1.11	18.6±4.78	100
II	8	2.4±1.93	16.8±8.87	3.3±0.98	4.8±1.55	21.7±8.38	123
III	7	1.6±0.60	14.8±6.65	2.2±0.76	3.9±1.61	18.9±7.93	102
IV	8	2.8±1.94	19.1±10.74	2.8±1.94	4.8±2.37	23.9±9.05	139
V	7	46.0±18.09	437.1±137	5.9±3.57	5.9±3.59	442.5±136	—
Before the administration of β -carotene and ICH							
VI	5	0.4±0.13	2.8±0.10	1.5±0.58	2.3±0.60	5.1±1.04	—
VII	3	59.0±7.70	532.±19.95	1.83±0.30	4.1±1.76	536.1±19.75	—

* Standard deviation of the mean.

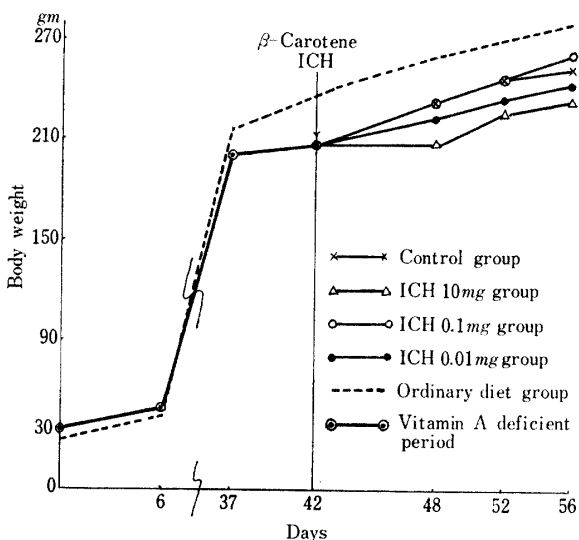


Fig. 1. Growth curves of groups receiving various amounts of ICH

験：実験成績は Table 3 に示す。肝臓ビタミンA 含有量については対照群の 15.4 μ g に対し ICH 投与群は 0.1 *mg* 群を除き他は 16.8 μ g, 19.1 μ g と高値を示した。

腎臓ビタミンA含有量は ICH 投与の3つの群 II,

III, IV 群とも高値を示し、肝臓と腎臓の合計量においても ICH 投与群が良好な傾向を示しているが、推計学的有意差は認められなかった。

次にビタミンA 転換率を比較するため VI 群の Total Vitamin A (5.1 μ g) を各群のそれより差引いた数値につき、対照群を 100 として計算すれば 0.1 *mg* 投与群は 102 とほとんど変わらないが、10 *mg* 投与群では 123, 0.01 *mg* 投与群では 139 を示し、いずれも転換率が増加している。以上の成績より判るごとく ICH 投与は β -カロチンのビタミンA 転換率を好転せしめる傾向が認められたが、その添加量には比例せず 0.01 *mg* 投与が最良の成績を示した。

本県の肉牛の商品価値は脂肪層黄色のため、市場において低く評価されると言う。その原因は種々考えられるが、肥育時に摂取する生草中のカロチノイド過剰によることが指摘されている。今回の実験成績より考え、肥育末期に適量の ICH のごとき物質を投与することにより、カロチンよりビタミンAへの転換が促進され、その結果として脂肪層のカロチンが減少し脱色される可能性も考えられ、本県肉牛の商品価値を高め得ることも推論される。

要 約

Thyroprotein であるヨードカゼインの酵素水解物 (ICH) を白ネズミに投与し, β -カロチンのビタミン A 転換におよぼす影響について実験を行なった結果次の成績を得た.

(1) 成長試験においては 1日 1匹当り ICH 10 mg, 0.1 mg, 0.01 mg 投与群中対照群に比し, 0.1 mg 投与群が最も良好な成績を示した.

(2) β -カロチンの吸収率は ICH 投与により幾分改善された.

(3) β -カロチンのビタミン A 転換率は対照群を 100 とすれば 0.1 mg 投与群は 102, 10 mg 投与群は 123, 0.01 mg 投与群は 139 の順に良好な成績を示した.

(4) 本県の肉牛は脂肪層が黄色を呈する市場的欠陥を指摘されているが, 本実験の結果より考え ICH のごとき, Thyroprotein の投与により脱色可能なことを推論した.

終りに臨み ICH を恵与された 帝国臓器製薬 KK 中馬一操博士および実験に協力された 寺師, 梶井両君に深謝する.

文 献

- 1) Moore, T.: *Biochem. J.*, **23**, 803-810 (1929).
- 2) von Noorden, C.: *Die Zuckerkrankheit*, 4th ed. 80-81 Berlin (1907).
- 3) Kunde, M. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **23**, 812-815 (1912).
- 4) Wendt, H.: *Klin. Wochschr.*, **14**, 9-11 (1935).
- 5) Fasold, H. and Heidemann, E. R.: *Z. Ges. Exp. Med.*, **92**, 53-57 (1933).
- 6) Johnson, R. M. and Bauman, C. A.: *J. Biol. Chem.*, **171**, 513-520 (1947).
- 7) Cama, H. R. and Goodwin, T. W.: *Boi-chem. J.*, **45**, 236-242 (1949).
- 8) 藤田秋治: ビタミン定量法, 159-163 南江堂 (1956).
- 9) 川口露子: ビタミン, **9**, 388-390 (1955).
- 10) 内山秀盛: 鹿児島大学農学部家畜栄養学講座卒業論文, 20-23 (1966).
- 11) Jagannathan, S. N. *et al.*: *Ind. J. Med. Res.*, **48**, 775-780 (1960).

Summary

Hydrolyzed iodinated-casein (ICH) was examined to promote the conversion by rat of β -carotene into Vitamin A. The results are summarized as follows.

(1) In the growth experiment, there is a slight significance among the groups fed on ICH 10 mg, 0.1 mg and 0.01 mg.

(2) The absorption-coefficient of β -carotene was improved to some extent by the administration of ICH.

(3) Supposed the percentage of the control group to be 100, the rate of the conversion of β -carotene into Vitamin A showed 102, 123 and 139 in the order of groups fed on ICH 0.1 mg, 10 mg, and 0.01 mg respectively.