

## マグネシウム-ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏ラットに対するビタミン B<sub>6</sub> 再給与によるヒスタミン動態の変動

石黒 茂・西尾 晃・宮尾 陟\*

(家畜薬理学研究室)

昭和 62 年 8 月 10 日 受理

### Effect of Vitamin B<sub>6</sub>-re-feeding on Histamine Metabolism in Magnesium and Vitamin B<sub>6</sub>-Deficient rats

Shigeru ISHIGURO, Akira NISHIO and Noboru MIYAO\*

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

#### 結 言

マグネシウム (Mg) 欠乏飼料を給与したラットで観察される充血症状<sup>14)</sup>, 尿中へのヒスタミン排泄量の増加<sup>13)</sup>, 脾臓および肝臓のヒスタミン量の増加<sup>13)</sup>およびヒスタミン生成酵素である histidine decarboxylase (HDC: EC 4. 1. 1. 22) 活性の著明な上昇<sup>15)</sup> は, ビタミン B<sub>6</sub> (B<sub>6</sub>) 欠乏下では抑制されることを先に報告した<sup>6)</sup>.

本研究では, これらの抑制が B<sub>6</sub> を再給与したとき回復するかどうかについて検討を行った.

#### 材 料 と 方 法

##### 1. 飼 料 組 成

精製飼料に加えるビタミン混合は, 前報<sup>6)</sup>と同様である. すなわち, Harper<sup>4)</sup> 配合の組成より B<sub>6</sub> を無添加とした B<sub>6</sub> 欠乏ビタミン混合 [B<sub>6</sub>(-)] と, B<sub>6</sub> を添加したビタミン混合 [B<sub>6</sub>(+)] の二種類を調整した (Table 1). 精製飼料の組成も前報<sup>6)</sup>と同様に, Mg 濃度は 0.07% [対照: Mg(+)] と 0.001% [Mg 欠乏: Mg(-)] として, 対照飼料 [Mg(+)-B<sub>6</sub>(+)], Mg 欠乏飼料 [Mg(-)-B<sub>6</sub>(+)] および Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 [Mg(-)-B<sub>6</sub>(-)] の三種類の飼料を調製して -20°C に保存した (Table 2).

##### 2. 動 物

前報<sup>6)</sup>と同様に, 生後25日齢で離乳した Wistar 雄ラット (体重 40~50g) を用い, 3日間は対照飼料 [Mg(+)-B<sub>6</sub>(+)] で飼育後, Table 3 に示したように四群

に分けた. I 群には対照飼料 [Mg(+)-B<sub>6</sub>(+)] を, II 群には Mg 欠乏飼料 [Mg(-)-B<sub>6</sub>(+)] を, III 群には Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 [Mg(-)-B<sub>6</sub>(-)] を 8 日間給与した. 一方, IV 群には, 0 日から 5 日までの 5 日間は Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 [Mg(-)-B<sub>6</sub>(-)] を給与ののち, 5 日目以降の 3 日間は B<sub>6</sub> を再給与するために Mg(-)-B<sub>6</sub>(+) 飼料を給与した [Mg(-)-B<sub>6</sub>(-, +)] 群. ラットはステンレススチール製の金網ケージまたは採尿に際しては代謝ケージに収容した. 給水にはガラス製蒸留器で再蒸留した再蒸留水を用いた. 飼料および水は自由に摂取させた. ラットは 12 時間間隔の明暗 (明期: 午前 8 時~午後 8 時) の部屋で飼育した.

##### 3. 試料の採取と測定方法

前報<sup>6)</sup>と同様に, 試料を採取し, 尿および組織ヒスタミン<sup>17)</sup>量と組織の HDC 活性<sup>3, 9)</sup>を測定した.

Table 1. Vitamin mixture\*1

	B <sub>6</sub> (+)	B <sub>6</sub> (-)
Thiamine hydrochloride	0.059%	0.059%
Riboflavin	0.059	0.059
Nicotinic acid	0.294	0.294
Calcium pantothenate	0.235	0.235
Pyridoxine hydrochloride**2	0.029	—
Vitamin K	0.006	0.006
Biotin	0.001	0.001
Folic acid	0.002	0.002
Vitamin B <sub>12</sub>	0.0002	0.0002
Inositol	1.176	1.176
Ascorbic acid	0.588	0.588
Lactose	97.551	97.580

\*1: Vitamin mixture was prepared by formula of Harper (4).

\*2: Replaced with lactose in vitamin B<sub>6</sub>-deficient mixture.

本研究の要旨は第 38 回日本薬理学会西南部会 (出雲市, 1985) で発表した.

\* 前鹿児島大学教授 Former Professor, Kagoshima University.

Table 2. Composition of experimental diets

Diet	Control [Mg (+) B <sub>6</sub> (+)]	Mg-deficient [Mg (-) B <sub>6</sub> (+)]	Mg-B <sub>6</sub> -deficient [Mg (-) B <sub>6</sub> (-)]
Mg concentration (%)	0.07	0.001	0.001
Vitamin-free casein	20 %	20	20
Glucose	35	35	35
Sucrose	27.28	27.40	27.40
Cellulose	5	5	5
Liver oil	8	8	8
Choline chloride	0.15	0.15	0.15
Vitamin mixture B <sub>6</sub> (+) <sup>*1</sup>	0.85	—	—
Vitamin mixture B <sub>6</sub> (-) <sup>*1</sup>	—	0.85	0.85
Mineral mixture <sup>*1</sup>	3.6	3.6	3.6
Magnesium oxide <sup>*2</sup>	0.1161	0.00167	0.00167

<sup>\*1</sup>: Vitamin and mineral mixtures were prepared by formula of Harper (4).

<sup>\*2</sup>: Replaced with sucrose in magnesium deficient diet.

Table 3. Experimental schedule

Group	Days											
	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8
I. Mg (+) B <sub>6</sub> (+) (Control)	Mg (+) B <sub>6</sub> (+)				Mg (+) B <sub>6</sub> (+)							
II. Mg (-) B <sub>6</sub> (+)					Mg (-) B <sub>6</sub> (+)							
III. Mg (-) B <sub>6</sub> (-)					Mg (-) B <sub>6</sub> (-)							
IV. Mg (-) B <sub>6</sub> (-, +)					Mg (-) B <sub>6</sub> (-)				Mg (-) B <sub>6</sub> (+)			

#### 4. 統計的検討

得られた成績は、Student's *t*-test によりその有意性を検討した。

### 結 果

#### 1. 発育と試料摂取量

3日間の予備飼育後のラットの平均体重は約53gであり、実験期間中に Fig. 1 に示すような平均体重の増加を示した。Mg(+)<sub>6</sub>(+) 群では8日間で約40gと、ほぼ直線的な増加を示した。Mg(-)<sub>6</sub>(+) 群は4日間で約16g、8日間では約23gの増加で、Mg(+)<sub>6</sub>(+) 群に比較すると4日目以降有意な抑制が見られた。Mg(-)<sub>6</sub>(-) 群は4日間で約11g、8日間では約19gの増加を示し、Mg(-)<sub>6</sub>(+) 群よりさらに有意な抑制を受けた。Mg(-)<sub>6</sub>(-, +) 群は、はじめの5日間は Mg(-)<sub>6</sub>(-) 群とおなじ飼料のため同様の推移を示したが、5日目より B<sub>6</sub> 再給与のために Mg(-)<sub>6</sub>(+) 飼料を給与すると、その体重増加は、3日後には Mg(-)<sub>6</sub>(+) 群とほぼおなじ約23gとなった。

この8日間の一日の平均飼料摂取量を Fig. 2 に示

した。Mg(-)<sub>6</sub>(+) 群では Mg(+)<sub>6</sub>(+) 群に比較して摂取量は次第に減少傾向を示し8日目にはラット

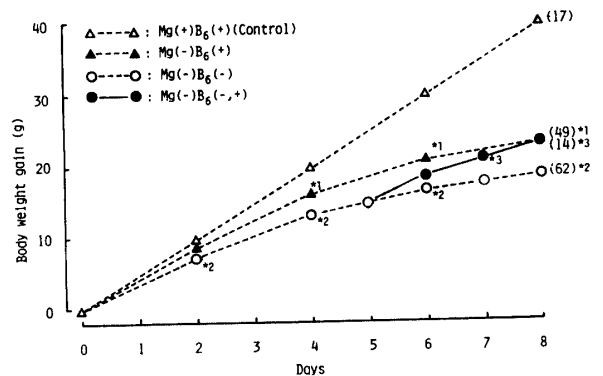


Fig. 1. Body weight gain in control [Mg(+)<sub>6</sub>(+)], Mg-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(+)], Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(-)] and Mg-deficient-vitamin B<sub>6</sub>-refeeding [Mg(-)<sub>6</sub>(-, +)] rats. ( ): Number of rats.  
<sup>\*1</sup>: Significantly different from control rats (*p* < 0.05).  
<sup>\*2</sup>: Significantly different from Mg-deficient rats (*p* < 0.05).  
<sup>\*3</sup>: Significantly different from Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats (*p* < 0.05).

一匹当たりでは約 7g/日となり、有意な摂取量の抑制が見られた。Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群よりさらに有意な摂取量の抑制が見られ、8 日目では約 5.5g/日の摂取量を示した。Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 [Mg(-)B<sub>6</sub>(-)] 給与中は Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群とほぼ同様の摂取量を示したが、B<sub>6</sub> 再給与のために Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 飼料を給与することにより摂

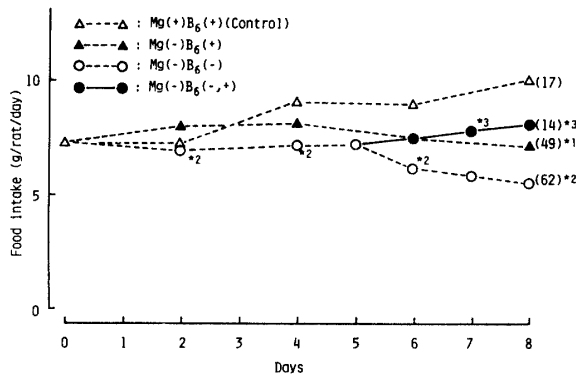


Fig. 2. Food-intake in control [Mg(+)<sub>6</sub>(+)], Mg-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(+)], Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(-)] and Mg-deficient-vitamin B<sub>6</sub>-re-feeding [Mg(-)<sub>6</sub>(-, +)] rats. ( ): Number of rats.

\*1: Significantly different from control rats ( $p < 0.05$ ).

\*2: Significantly different from Mg-deficient rats ( $p < 0.05$ ).

\*3: Significantly different from Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats ( $p < 0.05$ ).

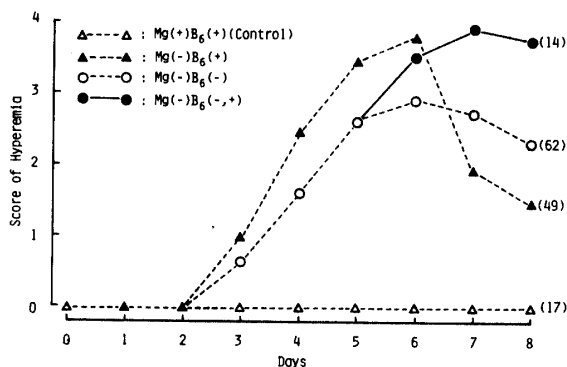


Fig. 3. Hyperemia of ears in control [Mg(+)<sub>6</sub>(+)], Mg-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(+)], Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(-)] and Mg-deficient-vitamin B<sub>6</sub>-re-feeding [Mg(-)<sub>6</sub>(-, +)] rats. ( ): Number of rats. The following criteria were used for the scoring of hyperemia; 1: Hyperemic at base of ear, 2: Hyperemic at half of ear, 3: Hyperemic at three quarters of ear, 4: Hyperemic completely on ear.

取量は増加し、8 日目には約 9g/日の摂取で、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群に比較して有意な増加を示した。

## 2. 充血症状

末梢血管拡張による充血症状を先の報告<sup>6, 14)</sup>と同様に、耳介の充血症状を 0~4 までの 5 段階に標点し、その成績を Fig. 3 に示した。Mg(-)B<sub>6</sub>(+), Mg(-)B<sub>6</sub>(-) の両群では前報<sup>6)</sup>と同様に充血症状は 3 日目より観察され、その症状は 6 日目まで日を経るにしたがい強くなり、いずれも評点は上昇したが、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群の評点はやや低いものであった。Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では、Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 [Mg(-)B<sub>6</sub>(-)] を 5 日間給与し、B<sub>6</sub> 再給与のために Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 飼料に交換すると、その翌日より充血症状は強まり標点は上昇した。Mg(+)<sub>6</sub>(+) 群では評点には変化なく、充血は見られなかった

## 3. 尿水ヒスタミン量

尿中へのヒスタミン排泄量を測定し、その成績を Fig. 4 に示した。Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では 4 日目以降尿中ヒスタミン排泄量は、有意な増加を示したが、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では 2 日目以降、有意な減少を示し、尿中へのヒスタミン排泄量には、著名な抑制が見られた。

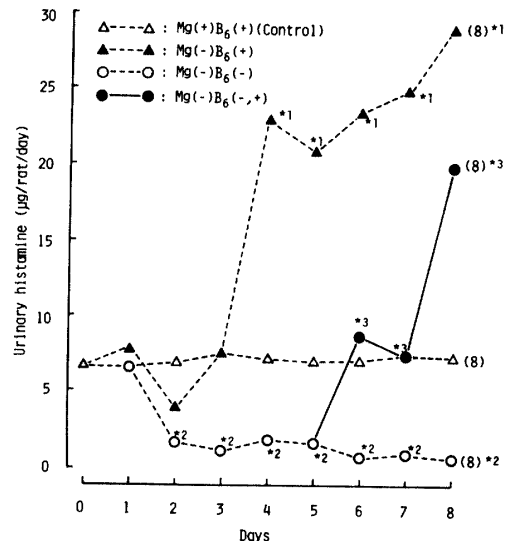


Fig. 4. Urinary histamine level in control [Mg(+)<sub>6</sub>(+)], Mg-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(+)], Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient [Mg(-)<sub>6</sub>(-)] and Mg-deficient-vitamin B<sub>6</sub>-re-feeding [Mg(-)<sub>6</sub>(-, +)] rats. ( ): Number of rats.

\*1: Significantly different from control rats ( $p < 0.05$ ).

\*2: Significantly different from Mg-deficient rats ( $p < 0.05$ ).

\*3: Significantly different from Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats ( $p < 0.05$ ).

Table 4. Weight, histamine contents and HDC activities in the spleen of control [Mg (+) B<sub>6</sub> (+)], Mg-deficient [Mg (-) B<sub>6</sub> (+)], Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient [Mg (-) B<sub>6</sub> (-)] and Mg-deficient-vitamin B<sub>6</sub>-refeeding [Mg (-) B<sub>6</sub> (-, +)] rats.

	Mg (+) B <sub>6</sub> (+)	Mg (-) B <sub>6</sub> (+)	Mg (-) B <sub>6</sub> (-)	Mg (-) B <sub>6</sub> (-, +)
Body weight				
(g)	93.1±12.4 (11)	76.3±9.4 <sup>*1</sup> (31)	71.2±8.2 <sup>*1*2</sup> (35)	79.3±5.9 <sup>*1*3</sup> (14)
Spleen weight				
(g)	0.40±0.06	0.63±0.15 <sup>*1</sup>	0.48±0.16 <sup>*1*2</sup>	0.65±0.16 <sup>*1*3</sup>
(g/100g B. W.)	0.43±0.08 (11)	0.83±0.20 <sup>*1</sup> (31)	0.67±0.23 <sup>*1*2</sup> (35)	0.81±0.14 <sup>*1*3</sup> (14)
Histamine content				
(μg/g wet weight)	2.77±1.73	24.47±7.09 <sup>*1</sup>	3.65±1.89 <sup>*2</sup>	3.58±1.97
(μg/spleen)	1.11±0.67 (11)	15.47±4.42 (21)	1.75±0.91 (23)	2.37±1.28 (8)
HDC activity				
(dpm/60 min. /mg protein)	13.6±15.6 (9)	365.3±208.1 (9)	15.2±17.1 <sup>*2</sup> (9)	115.9±40.3 <sup>*3</sup> (6)

Each value indicates mean ± S.D. on the 8th day after the deficiency.

( ): Number of rats.

\*<sup>1</sup>: Significantly different from control rats (p < 0.05).

\*<sup>2</sup>: Significantly different from Mg-deficient rats (p < 0.05).

\*<sup>3</sup>: Significantly different from Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats (p < 0.05).

Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では、Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 [Mg(-) B<sub>6</sub>(-)] 給与中には尿中へのヒスタミン排泄量には、有意な抑制が見られたが、B<sub>6</sub> 再給与のために Mg(-) B<sub>6</sub>(+) 飼料に交換すると、その翌日より尿中へのヒスタミン排泄量は有意に増加し、日を経るにしたがい Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の値に近づく傾向を示した。

#### 4. 脾臓の重量、ヒスタミン量と HDC 活性

飼育8日目の脾臓重量、ヒスタミン量および HDC 活性を測定して、その成績を Table 4 に示した。Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群の脾臓重量は Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群のそれに比較して約1.6, 1.2, 1.6倍を示し、いずれも有意な重量増加を示した。この脾臓重量を比体重で比較すると、それぞれ Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群の約1.9, 1.6, 1.9倍とさらに有意な増加を示した。Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群の脾臓重量は、Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群より軽くその増加は抑制された。Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群の脾臓重量は、Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群のそれとほぼ同じ重量を示した。

ヒスタミン含量は Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群の約9倍の有意な増加を示したが、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群および Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では、Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群とは有意な差は見られなかった。しかし、脾臓1コ当りのヒスタミン量で比較すると、Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群の約11倍、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群は約1.6倍、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群は約2倍の増加がみ

られた。HDC 活性は、これまでと同様に Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では活性の上昇が見られたが、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では有意な活性増加の抑制が見られた。しかし、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群より有意な活性の上昇が認められたが、その活性は Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の約30%であった。

#### 5. 皮膚と肝臓のヒスタミン量と HDC 活性

皮膚と肝臓のヒスタミン量および HDC 活性を8日目に測定した成績を Table 5 に示した。皮膚のヒスタミン量は、群間には有意な差は見られなかった。肝臓では Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群に比較して他の群では有意な増加がみられ、Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群のその約5.6倍、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では1.8倍、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では2.2倍を示した。

皮膚の HDC 活性は、Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の活性に比較して、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群の活性は約35%、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群の活性は約97%を示した。肝臓の HDC 活性は、Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の活性に比較して、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群の活性は約1%、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群の活性は約153%を示した。

#### 考 察

飼料中の Mg あるいは B<sub>6</sub> を欠乏させると、飼料摂取量の減少により体重増加は抑制を受けることが報告<sup>2,6)</sup> されている。Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 飼料の給与ではこ

Table 5. Histamine contents and HDC activities in the skin and liver of control [Mg (+) B<sub>6</sub> (+)], Mg-deficient [Mg (-) B<sub>6</sub> (+)], Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient [Mg (-) B<sub>6</sub> (-)] and Mg-deficient-vitamin B<sub>6</sub>-refeeding [Mg (-) B<sub>6</sub> (-, +)] rats.

	Mg (+) B <sub>6</sub> (+)	Mg (-) B <sub>6</sub> (+)	Mg (-) B <sub>6</sub> (-)	Mg (-) B <sub>6</sub> (-, +)
Histamine content ( $\mu\text{g/g}$ wet weight)				
Skin	29.53 $\pm$ 12.97 (11)	32.33 $\pm$ 5.45 (21)	27.33 $\pm$ 8.66 (23)	28.53 $\pm$ 6.79 (8)
Liver	0.53 $\pm$ 0.18 (11)	2.96 $\pm$ 1.04* <sup>1</sup> (17)	0.93 $\pm$ 0.23* <sup>1</sup> * <sup>2</sup> (17)	1.18 $\pm$ 0.62* <sup>1</sup> (8)
HDC activity (dpm/60 min. /mg protein)				
Skin	36.1 $\pm$ 8.9 (6)	320.5 $\pm$ 162.0 (6)	112.2 $\pm$ 79.7* <sup>2</sup> (6)	309.8 $\pm$ 229.6 (6)
Liver	1.0 $\pm$ 2.2 (6)	31.7 $\pm$ 57.2 (10)	0.3 $\pm$ 0.9* <sup>2</sup> (8)	49.9 $\pm$ 20.8* <sup>2</sup> (6)

Each value indicates mean  $\pm$  S.D. on the 8th day after the deficiency.

( ): Number of rats.

\*<sup>1</sup>: Significantly different from control rats ( $p < 0.05$ ).

\*<sup>2</sup>: Significantly different from Mg-deficient rats ( $p < 0.05$ ).

\*<sup>3</sup>: Significantly different from Mg-vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats ( $p < 0.05$ ).

の影響は顕著であった (Fig. 1, 2). Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では B<sub>6</sub> 再給与により飼料の摂取量には増加が見られ (Fig. 2), また, 体重も Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群より有意な増加を示した (Fig. 1).

Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群で観察される耳介の充血症状は, Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群ではその症状はいくらか弱いものではあるが観察された (Fig. 3). Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群の充血症状は, B<sub>6</sub> の再給与により, その症状の標点を強め, Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群と同様の評点を示した (Fig. 4). Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の充血症状の発現は, 血中のヒスタミン量の増加, 皮膚肥満細胞の脱顆粒<sup>7)</sup> と皮膚の HDC 活性の上昇<sup>15)</sup> によることを明らかにしてきた。

尿中のヒスタミン量は, 前報<sup>13)</sup> と同様に Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では充血症状発現時には増加するが, Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では逆に減少した (Fig. 4). Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では B<sub>6</sub> 再給与により増加し充血症状の評点の高まりとほぼ相関していた (Fig. 3, 4).

脾臓重量は Mg(+ )B<sub>6</sub>(+) 群に比較して, Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群は約1.6倍, Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群は約1.2倍とその増加には有意な差が見られた。Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群で約1.6倍を示した。すなわち, B<sub>6</sub> 再給与により有意な増加のあることが示された (Table 4)。比体重当りでの比較ではその比率はさらに大きくなった (Table 4)。

Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の HDC 活性の上昇は, 前報<sup>6, 15)</sup> と同様に, 脾臓, 皮膚および肝臓で見られたが, Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群ではその活性の上昇は抑制され (Table

3, 4) たが, Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では活性の上昇が観察されたことは, B<sub>6</sub> の再給与により HDC 活性の回復が生じていることを示している。

Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の脾臓および肝臓で見られるヒスタミン量の増加<sup>13, 15)</sup> は, Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では有意に抑制され, また, Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群でも Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群とほぼ同様の含量であった。このことは, B<sub>6</sub> 再給与により HDC 活性には上昇が見られるものの, 先に報告<sup>13)</sup> したように, Mg 欠乏による組織ヒスタミン含量の有意な増加が見られるのは, 脾臓で6日目, 肝臓では8日目以降であり, B<sub>6</sub> 再給与後の観察期間が3日間と短いためと推察される。この期間の HDC 活性上昇に伴い生成されたヒスタミンは血中へ放出されて血中のヒスタミン量を増加させて, 充血症状を強め (Fig. 3), さらに尿中へ排泄されることにより, 尿中のヒスタミン量の増加を来したものと考えられる (Fig. 4)。

B<sub>6</sub> 欠乏下では, ラットは組織により差はあるが, 組織中の PLP は減少を示し, 特に血漿では B<sub>6</sub> 欠乏により急激な PLP 低下を示すことが報告されている<sup>10, 12, 19)</sup>。Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群の HDC 活性上昇の抑制は, PLP 依存酵素<sup>5, 10, 18)</sup> の一つである HDC のアポ酵素が組織内 PLP の減少により影響を受けて変化したため, HDC 活性の測定時に多量の PLP を添加しても HDC の賦活化は見られなかった (Table 4, 5) のと考えられる。Conner ら<sup>1)</sup> は, 4-deoxypyridoxine を投与して, PLP を減少させると, HDC と同じく PLP を補酵素とする ornithine decarboxylase 活

性は抑制されるが、このとき、DNA 合成には影響がなかったことを報告している。このことから、B<sub>6</sub> 欠乏下での HDC 活性上昇の抑制は、HDC のアポ酵素の合成阻害という変化ではなく、アポ酵素自体が PLP の減少により何らかの影響を受けて変化し、PLP の添加によっても賦活化しなくなり、HDC 活性は抑制されるものと思われる。Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群への B<sub>6</sub> の再給与は組織内 PLP の増加をもたらす、PLP 減少により影響を受けて変化したアポ酵素の機能を回復させるため、ヒスタミンの合成が正常化され、合成されたヒスタミンは、Schayer<sup>16)</sup> のいう誘導型ヒスタミンや Kahlson and Rosengren<sup>8)</sup> の発生期のヒスタミンとして組織に貯えられることなく血中へ放出することにより、充血症状の増強と (Fig. 3), 尿中ヒスタミン量の増加 (Fig. 4) を生じたと推察される。

### 要 約

幼弱ラットを四群に分けて、I [Mg(+), B<sub>6</sub>(+)] 群には対照飼料 (Mg: 0.07%, B<sub>6</sub> 添加) を、II [Mg(-), B<sub>6</sub>(+)] 群には Mg 欠乏飼料 (Mg: 0.001%, B<sub>6</sub> 添加) を、III [Mg(-), B<sub>6</sub>(-)] 群には Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料 (Mg: 0.001%, B<sub>6</sub> 未添加) を 8 日間給与し、IV [Mg(-), B<sub>6</sub>(-, +)] 群には Mg-B<sub>6</sub> 欠乏飼料を 5 日間給与、その後、B<sub>6</sub> を再給与するために 3 日間は B<sub>6</sub> を添加した飼料 (Mg: 0.001%, B<sub>6</sub> 添加) を給与した。

体重の増加は、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群が最も抑制を受け、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では B<sub>6</sub> 再給与により改善が見られ、この変化は飼料の摂取量の増加によるものであった。

尿中のヒスタミン量は Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では 4 日目以降増加が見られたが、Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群にはこの増加は見られなかった。しかし、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では B<sub>6</sub> 再給与後に増加が見られた。

耳介の充血症状は Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群では 3 日目より出現し、6 日目には最高となった。Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群でも同様の経過を示したが、その症状は Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群よりも弱いものであった。しかし、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では、B<sub>6</sub> 再給与後には Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群と同様に強い充血症状を示した。

組織ヒスタミン量は皮膚では四群間には有意な差はなかった。脾臓と肝臓では Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の増加に比較して Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群と Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では有意に抑制された。

脾臓、皮膚および肝臓の HDC 活性は Mg(-)B<sub>6</sub>(+) 群の増加に比較して Mg(-)B<sub>6</sub>(-) 群では有意な

抑制を受けたが、Mg(-)B<sub>6</sub>(-, +) 群では B<sub>6</sub> 再給与による活性の上昇が見られた。

以上の成績より、Mg 欠乏時にみられるラットのヒスタミン代謝の B<sub>6</sub> 欠乏による抑制は、B<sub>6</sub> を再給与すると回復する性質を有することが示された。

### 文 献

- 1) Connor, M. J. and Lowe, N. J.: Epidermal pyridoxal 5-phosphate depletion, inhibition of DNA synthesis, and inhibition of the expression of ornithine decarboxylase activity by the vitamin-B<sub>6</sub> antagonist 4-deoxypridoxine. *J. Invest. Dermatol.*, **81**, 136-139 (1983)
- 2) Felice, J. H. and Kirksey, A.: Effect of vitamin-B<sub>6</sub> deficiency during lactation on the vitamin-B<sub>6</sub> content of milk, liver, and muscle of rats. *J. Nutr.*, **111**, 610-617 (1981)
- 3) Fukui, N., Fujita, A., Ohtsuka, H. and Miura, Y.: Induction of tyrosine aminotransaminase and ornithine decarboxylase in isolated perfused regenerating rat liver. *J. Biochem.*, **76**, 867-873 (1974)
- 4) Harper, A. E.: Amino acid balance and imbalance. *J. Nutr.*, **68**, 405-418 (1959)
- 5) Hunter, J. E. and Harper, A. E.: Stability of some pyridoxal phosphate-dependent enzymes in vitamin-B<sub>6</sub> deficient rats. *J. Nutr.*, **106**, 653-664 (1976)
- 6) 石黒 茂・澤野芳範・西尾 晃・宮尾 陟: Mg 欠乏ラットのヒスタミン動態におよぼすビタミン B<sub>6</sub> 欠乏の影響。鹿大農学術報告, No. **36**, 197-203 (1986)
- 7) 石黒 茂・西尾 晃・宮尾 陟・森川嘉夫・竹野 一・柳谷岩雄: ラット皮膚肥満細胞におよぼすマグネシウム欠乏の影響。日薬理誌, **89**, 121-127 (1987)
- 8) Kahlson, G. and Rosengren, E.: New approaches to the physiology of histamine. *Physiol. Rev.*, **48**, 155-196 (1968)
- 9) Kobayashi, Y.: Determination of histidine decarboxylase activity by liquid scintillation counting of <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>. *Anal. Biochem.*, **5**, 284-290 (1963)
- 10) Li, T.K. and Lumeng, L.: Plasma PLP as an indicator of nutrition status: relationship to tissue vitamin-B<sub>6</sub> content and hepatic metabolism. in Leklem, J. E. and Reynolds, R. D. (eds.), *Methods in vitamin-B<sub>6</sub> nutrition*. p.289-296, Plenum press, New York (1981)
- 11) Litwack, G. and Rosenfield, S.: Coenzyme dissociation, a possible determination of short half life of inducible enzymes in mammalian liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **52**, 181-188 (1973)
- 12) Lumeng, L., Ryan, M. P. and Li, T. K.: Validation of the diagnostic value of plasma pyridoxal-5-phosphate measurements in the vitamin-B<sub>6</sub> nutrition of the rat. *J. Nutr.*, **108**, 545-553 (1978)
- 13) 西尾 晃・石黒 茂・生垣一郎・宮尾 陟: ラットの実験的 Mg 欠乏症に関する毒性薬理学的研究 I. 低 Mg 血症時の組織ヒスタミン量。日獣誌, **44**, 653-659 (1982)
- 14) 西尾 晃・吉満文隆・石黒 茂・宮尾 陟: ラットの实

- 験的 Mg 欠乏症に関する毒性薬理学的研究 II. Mg 欠乏ラットの充血症状に対する抗ヒスタミン薬の影響. 鹿大農学術報告, No. 33, 141-145 (1983)
- 15) Nishio, A., Ishiguro, S. and Miyao, N.: Toxicological and pharmacological studies on magnesium deficiency in rats: Histamine-metabolizing enzymes in some tissues of magnesium-deficient rats. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **45**, 699-705 (1983)
- 16) Schayer, R. W.: Enzymatic formation of histamine from histidine; in Rochoa e Silva, *Handbook of experimental Pharmacology*, vol. XVIII, part 1. p.688-725, Springer, Berlin (1966)
- 17) Shore, P.A., Burkhalter, A. and Chon, V.H.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. therap.*, **127**, 182-186 (1959)
- 18) Tryfiayes, G. P.: Cofactor regulation of gene product expression. Vitamin-B<sub>6</sub> effects of enzyme induction and expression of proteins in normal and hepatomabearing animals. in Tryfiates, G. P. (ed.) *Vitamin-B<sub>6</sub> metabolism and role in growth*. p.309-333, Food and Nutrition Press. Westport, Coneticut (1980)
- 19) Van den Berg, H., Bogaards, J. J. P., Sinkeldam, E. J. and Sghreurs, W. H. P.: Effect of different levels of vitamin-B<sub>6</sub> in the diet of the rats on the content of pyridoxamine-5-phosphate and pyridoxal-5-phosphat in the liver. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, **52**, 407-416 (1982)

### Summary

The effects of vitamin B<sub>6</sub>-refeeding upon histamine metabolism in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats were studied. For 5 days, young Wistar male rats were fed a magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient diet [Mg: 0.001%, vitamin B<sub>6</sub>(-)] ad libitum; thereafter the same rats were fed for 3 days with a vitamin B<sub>6</sub>-supplemented magnesium-deficient diet [Mg: 0.001%, vitamin B<sub>6</sub>(+)] ad libitum. Compared with the case of the magnesium-deficient group [Mg: 0.001%, vitamin B<sub>6</sub>(+)], a significant depression of body-weight-gain was noted in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient group. The depressed body-weight was recovered after being fed with a vitamin B<sub>6</sub>-supplemented magnesium-deficient diet, for 3 days. This increase was due to the increasing in food-intake. In the magnesium-deficient rats, an increasing of the urinary histamine-level was noted on the 4th day of depletion onwards; but not in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient ones. The low urinary histamine-level in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats increased rapidly after feeding them a vitamin B<sub>6</sub>-supplemented magnesium-deficient diet, for 3 days. In the magnesium-deficient group, an appearance of pinnal hyperemia was noted on the 3rd day of depletion, growing most remarkable on the 6th day. In case of the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient group, almost the same was noted, but it was somewhat milder than in the former case. The degree of a mild pinnal hyperemia in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats was strengthened rapidly after feeding them a vitamin B<sub>6</sub>-supplemented magnesium-deficient diet, for 3 days. In the dermal histamine contents, no significant difference was observed between the control [Mg: 0.07%, vitamin B<sub>6</sub>(+)] and the magnesium-deficient; the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient and the magnesium-deficient vitamin B<sub>6</sub>-refed groups. In case of the magnesium-deficient rats, the splenic and hepatic histamine-contents increased significantly on the 8th day of deficiency. However, in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats no increment was observed, and moreover, no obvious effects were brought out on the histamine-contents in both tissues by the supplement of vitamin B<sub>6</sub> for 3 days. In the magnesium-deficient rats, the splenic, hepatic and dermal histidine decarboxylase (HDC) activity increased significantly on the 8th day of deficiency. However, in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats, no increment was observed. The HDC-activities in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats, increased nearly to the magnesium deficient levels, after having fed them a vitamin B<sub>6</sub>-supplemented magnesium-deficient diet, for 3 days. The data show that the inhibition of histamine metabolism in the magnesium and vitamin B<sub>6</sub>-deficient rats may be removed after the supplement of vitamin B<sub>6</sub> for 3 days.