

実験的クワシオコルにおける臨床検査値（第2報）

川崎医療短期大学 臨床検査科 放射線影響研究所 臨床検査科* 土肥病院 臨床検査部**

瀧山久美子 下田 健治 小郷 正則 泉 礼司* 福林 雅裕**

(平成5年8月23日受理)

The Medical Value in Experimental Kwashiorkor Mice (Part 2)

Kumiko TAKIYAMA, Kenji SHIMODA, Masanori OGO
Reishi IZUMI* and Masahiro FUKUBAYASHI**

*Department of Medical Technology
Kawasaki College of Allied Health Professions
Kurashiki, Okayama 701-01, Japan*

Department of Clinical Laboratory, Radiation Effect Research Foundation
Hiroshima, Hiroshima 730, Japan*

*Department of Clinical Laboratory, Dohi Hospital**
Mihara, Hiroshima 723, Japan
(Received on Aug. 23, 1993)*

Key words : 低蛋白食, クワシオコル, 臨床検査値 (GOT, GPT, AIP, LDH, CRP), 貧血

概 要

マウスに継続的に低蛋白食を投与し、実験的にクワシオコルの状態をつくった。そして、低蛋白食投与から28, 41, 51, 60日後に屠殺し、臨床検査値等の変化について検討した。その結果、低蛋白食群では投与初期(28日後)までは、体重の減少が著明に見られ、その後はゆるやかに増加を示した。

低蛋白食投与初期には、肝機能を反映する酵素である GOT, GPT, AIP, LDH などの著明な上昇が見られ、さらに炎症や組織の破壊で見られる CRP が著しく増加した。しかし、中期から後期になるとそれらの値は対照群値との有意差は見られなくなり、かわって Cho や ChE などの測定値に増加が見られた。また、Hb も後期になると減少を示し、低蛋白食投与が長期になるほど貧血状態が悪化した。

はじめに

低蛋白食を長期間摂取し続けることが人の体に様々な影響を及ぼすことはよく知られている。栄養や蛋白の質的あるいは量的に不十分な状態を余儀なくされている発展途上国では、広い意味での低栄養は今なお大きな社会問題として取り上げられている。貧困が引き起こす低栄養、そしてそれらを取り巻く汚染環境による感染症、なかでも乳幼児における死亡率の高さと低栄養との関係は決して見逃すことのできない事実である。また、近年、先進国では、悪性腫瘍や慢

性疾患による栄養障害とそれが引き金となって生じる免疫低下や感染症も取り上げられている。そしてさらには、老化に伴う栄養素の吸収不良と生体防衛能の低下との関連性も大きな課題とされつつあり、栄養を基盤とする生体反応の重大さが伺われる。なかでも、栄養と免疫機能とは密接な関係があり、栄養障害は感染防御能の低下をもたらすとされているが、今なおこれらの基礎的な研究には未開発な部分が多い¹⁾。

著者らは、マウスに低蛋白食を投与し、実験的クワシオコル状態をつくりだした。第1報では、実験食投与開始から12週間(84日後)の屠

Table 1 Composition of experimental diets

Ingredients (%)	Control (20%protein)	Protein-deficient	
		12%	8%
Casein (86.25%protein)	23.19	13.91	9.28
Sucrose	63.81	71.81	75.81
Corn oil	8.0	8.0	8.0
Mineral mixture U.S.P.	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0
Cellulose		1.28	1.91

殺で低蛋白食群の体重の著明な減少, Hb, TP, Alb, Cho, BS の低下, AIP の増加が明らかになった。そこで, 第2報では, 臨床検査値の経時的変化に注目し, 飼料投与後28, 41, 54, 60日目の臨床検査値等の検討を行った。また, マウス1匹当たりの摂取熱量, 摂取蛋白量を正しく管理するため, 1ケージに1匹飼育した。

実験材料

実験動物は, 静岡県実験動物農業協同組合から購入した SPF-ddY 系マウス (6週齢, 雄) を使用した。投与飼料は, Table 1 に示す成分を含有する飼料をオリエンタル酵母㈱に作製を依頼した。蛋白源としてミルクカゼインを使用した。対照群 (20%蛋白食) と低蛋白食群 (12%および8%蛋白食) の3群とした。水は自由摂取とした。

実験方法

飼料の投与量はマウス一匹あたり1日2.5gとし, 飼料中の蛋白濃度により, 20%蛋白群 (対照群), 12%蛋白群 (低蛋白食群), 8%蛋白群 (低蛋白食群) の3群に分けた。マウスは1群あたり24匹とし, 各群とも1回の屠殺匹数は6匹とした。マウスは入荷後, 3日間ならし飼育し, その期間はすべてのマウスに飼育用 MF 飼料 (固形飼料) を投与した。その後, 20%, 12%, 8%の各蛋白食を2.5g/1日/1匹投与した。体重は, 週に1回, ほぼ一定日時に測定した。実験用飼料投与開始から28, 41, 54, 62日後にエーテル麻酔下で屠殺した。その際, ヘパリン処理した1ml注射器により, 心臓穿刺し, 採血した。屠殺によって得られた試料は, 血液検査と臨床化学検査に供した。血液検査は, ヘモグロビン (Hb, シアンメトヘモグロビン法), 白血

球数算定 (WBC, 視算法) などを行った。臨床化学的検査は, 総蛋白 (TP, ビウレット法), アルブミン (Alb, BCG 法), グロブリン (Glb), 血糖 (BS, グルコキナーゼ G-6-PDH 法), 乳酸脱水素酵素 (LDH, ロブレスキー・ラデュー法), アルカリホスファターゼ (AIP, Bessey-Lowry 法), グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素 (GOT, UV 法), グルタミン酸ピルビン酸転移酵素 (GPT, LDH-UV 法), 総コレステロール (Cho, COD-POD 法), アルブミン/グロブリン比 (A/G 比), コリンエステラーゼ (ChE, DTNB 法), C 反応性蛋白 (CRP, 免疫比濁法), シアル酸 (SIAL, UV 法), クレアチニン (Cre, 酵素法), 尿素窒素 (BUN, ウレアーゼー UV 法) などを行った。

実験結果

(1) 体重の推移 (Fig. 1)

体重は, 飼料投与開始から28日目頃までに急激な減少が見られ, その後は安定した推移を示し, 12%蛋白群では49日目頃からやや増加した。8・14・21・28日目の各群の減少率は20%蛋白群で3.5%, 5.8%, 6.4%, 6.8%, 12%蛋白群で15.6%, 21.6%, 24.9%, 27.4%, 8%蛋白群で18.6%, 24.6%, 29.9%, 30.9%, と投与飼料の蛋白濃度が低くなるにつれて体重減少率は著しく, 日数の経過によりその差は大きくなった。いずれの群においても投与開始から28日目頃に体重減少率は最高値を示した。その後体重はゆるやかに増加したが, 28~56日の上昇率は20%蛋白群で6.8%, 12%蛋白群で10.0%, 8%蛋白群で1.2%と8%蛋白群の体重上昇が最も少なかった。実験開始時の平均体重は, 8%蛋白群, 12%蛋白群がともに30.1g, 対照群が31.1gと各群ともほぼ同一の値であった。

(2) 血液学的検査結果 (Fig. 2)

Hb値は, 8%蛋白群では飼料投与開始から54日および60日後で対照群に比較して有意な低下を示した。同群内での経日的変化は, 28日後に比較して54日および60日後で, 41日後に比較して54日および60日後で有意な低下を示した。12%蛋白群では, 41日後で対照群に比較して有意な増加が見られた。経日的変化では8%蛋白群と同様であった。

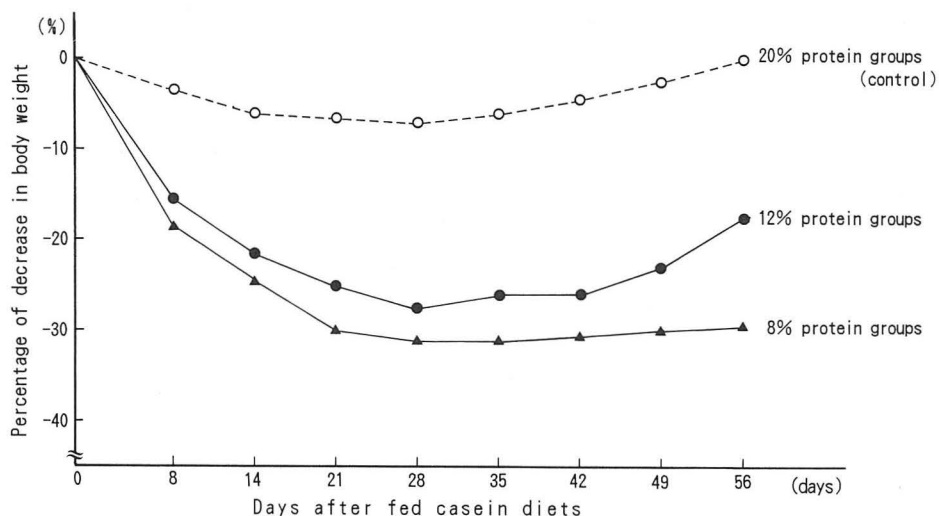


Fig. 1 Change of body weight in experimental Kwashiorkor mice.

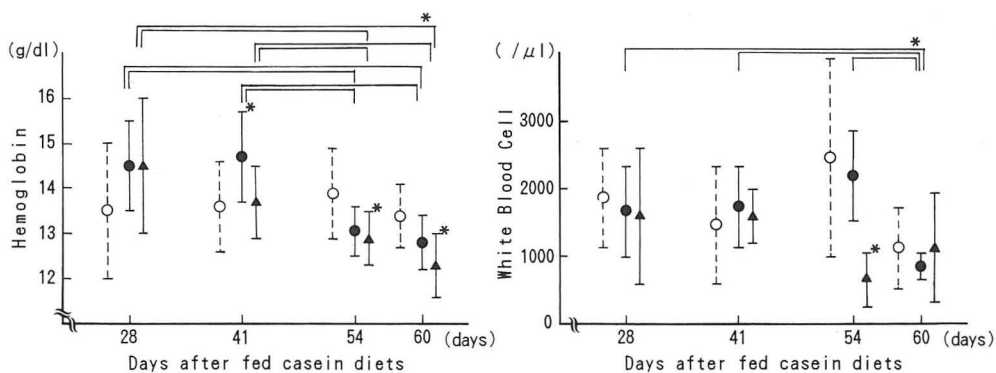


Fig. 2 The values of Hb and WBC in experimental Kwashiorkor mice.

Bars represent standard deviations of the means. * P<0.05.

○: 20% protein (control), ●: 12% protein, ▲: 8% protein

WBC 数は、8%蛋白群では54日後に対照群に比較して有意な低下が見られた。同群内での経日的変化は、41日後に比較して54日で有意な低下が見られた。12%蛋白群では各日とも対照群と比較して有意な差は見られていない。経日的変化では、28日、41日および54日後に比較して60日後で有意な低下を示した。

(3) 臨床化学的検査結果 (Fig. 3)

TP では、28日後で8%蛋白群が対照群と比較して有意な低下を示した。また、8%蛋白群では28日後に比較して41日、51日および60日後で有意に増加を示した。12%蛋白群では54日後

で対照群と比較して有意に増加した。Alb では、41日後に対照群に比較して8%蛋白群、12%蛋白群共に有意に増加し、8%蛋白群では28日後に比較して41日および54日後で有意に増加を示した。Glb では28日、41日、60日後で12%蛋白群が対照群に比較して有意な低下を示した。BS では、8%蛋白群、12%蛋白群共に54日後に対照群と比較して有意な低下を示した。8%蛋白群では28日後に比較して54日および60日後、41日後に比較して54日および60日後に有意に低下した。12%蛋白群では28日後および41日後に比較して54日後で有意に低下を示した。GOT で

は28日後で対照群に比較して8%蛋白群, 12%蛋白群共に有意な増加が見られ, その後は対照群値との有意差は見られなかった。8%蛋白群では28日後に比較して41日後で有意な低下を示した。12%蛋白群では28日後に比較して41日, 54日および60日後で有意な低下を示した。GPTは28日後に, 対照群に比較して8%蛋白群, 12%蛋白群共に有意な増加が見られ, その後は対照群値との有意差は見られなかった。12%蛋白

群では28日後に比較して41日, 54日および60日後で有意に低下を示した。LDHは, 28日後に8%蛋白群, 12%蛋白群共に対照群に比較して有意な増加を示した。また, 8%蛋白群では28日後に比較して54日および60日後, 12%蛋白群では28日後に比較して41日後で有意に低下を示した。AIPは28日後と60日後で8%蛋白群, 12%蛋白群共に対照群に比較して有意な増加を示した。また, 8%蛋白群では28日後に比較して

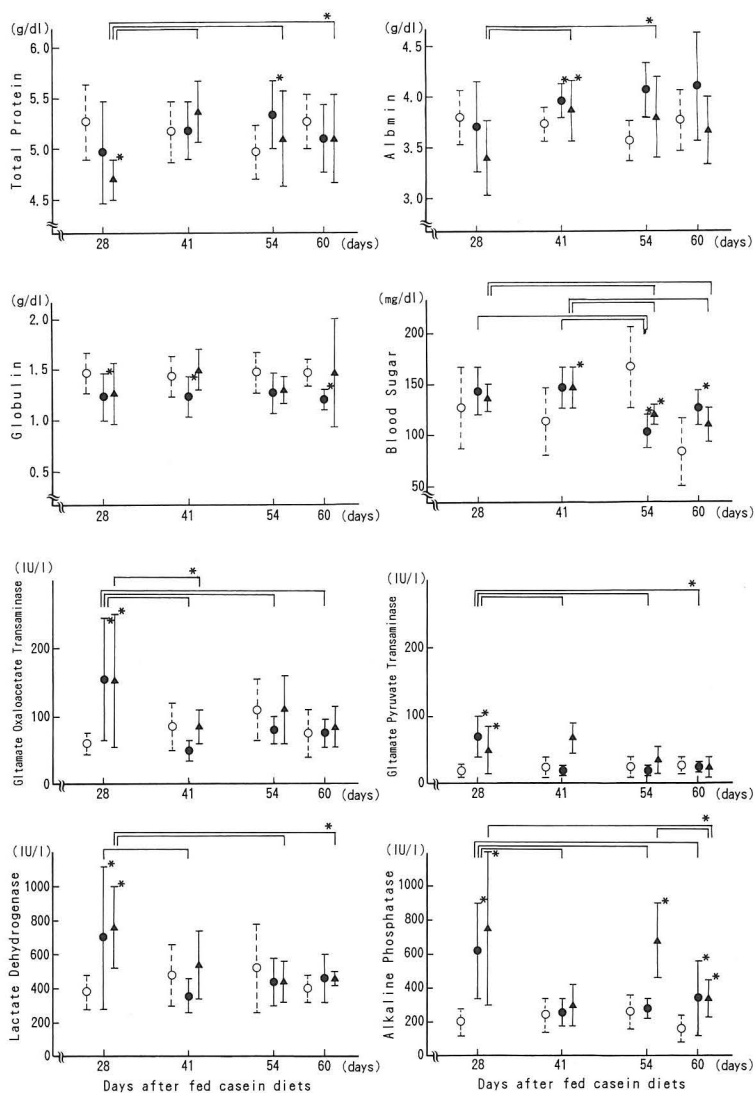


Fig. 3A The laboratory values of experimental Kwashiorkor mice.
 ; Bars represent standard deviations of the means. * P < 0.05.
 ; ---○--- : 20% protein (control), |●| : 12% protein, |▲| : 8% protein

60日後, 54日後に比較して60日後で有意に低下を示した。12%蛋白群では28日後に比較して41日, 54日および60日後で有意に低下を示した。Choは, 8%蛋白群では28日後から実験全期間を通して, 対照群と比較して有意な増加を示した。ChEでは54日および60日後に対照群と比べて8%蛋白群, 12%蛋白群共に有意な増加が見られた。両群とも28日後および41日後に比較して54日および60日後で有意な増加を示した。また, 両群とも41日後に比較して54日および60日後で有意な増加が見られた。Creは28日および41日後の8%蛋白群で対照群に比較して有意な低下を示した。8%蛋白群では28日および41日後に比較して54日および60日で有意に増加を示した。BUNでは60日後で対照群に比べて8%蛋白群, 12%蛋白群共に有意な低下が見られた。

CRPは8%蛋白群, 12%蛋白群共に28日, 41日, 60日後で対照群に比較して有意な増加を示した。SIALは, 28日および41日後で8%蛋白群, 12%蛋白群共に対照群に比較して有意な低下を示した。

体重および各検査項目をレーダーチャートとして示した。(Fig. 4)。実験食投与と初期(28日後)には, 低蛋白食群ではGlbがやや減少し, GOT, GPT, LDH, AIPが著しく増加した。投与中期(41日後)には, 12%蛋白群でGOT・GPT・LDHがやや減少し, 8%蛋白群はGPTが著増, LDHがやや増加し, Cho, AIP, BSでは8%蛋白群, 12%蛋白群共にやや増加した。投与後期(54日, 60日後)では, Hbが軽度低下を示し, 12%蛋白群でGPTが低下を示した。Cho, AIPで8%蛋白群, 12%蛋白群共に増加を

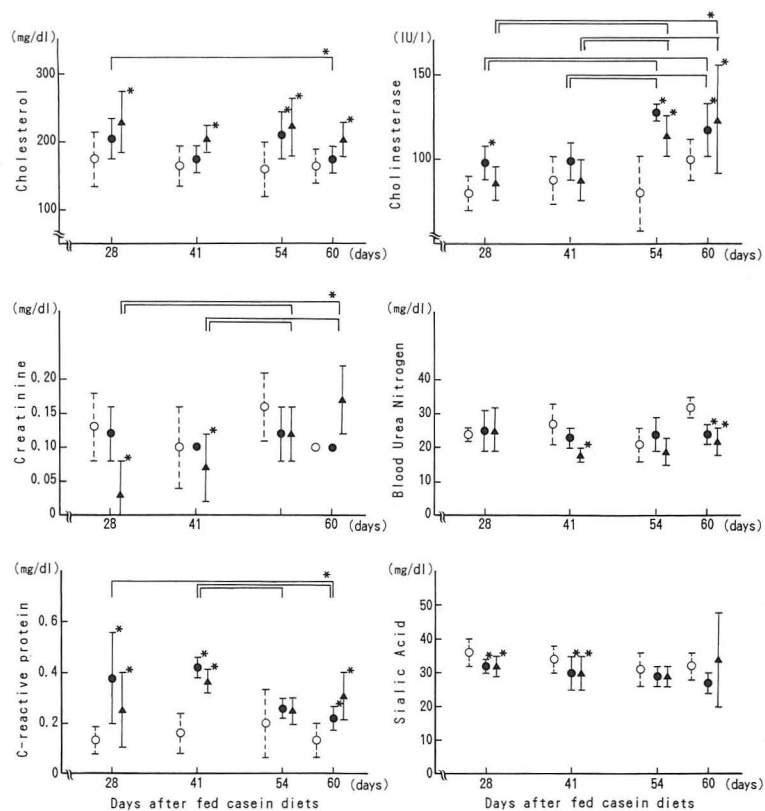


Fig. 3B The laboratory values of experimental Kwashiorkor mice.

; Bars represent standard deviations of the means. * P < 0.05.

; |---○---| : 20% protein (control), |●| : 12% protein, |▲| : 8% protein

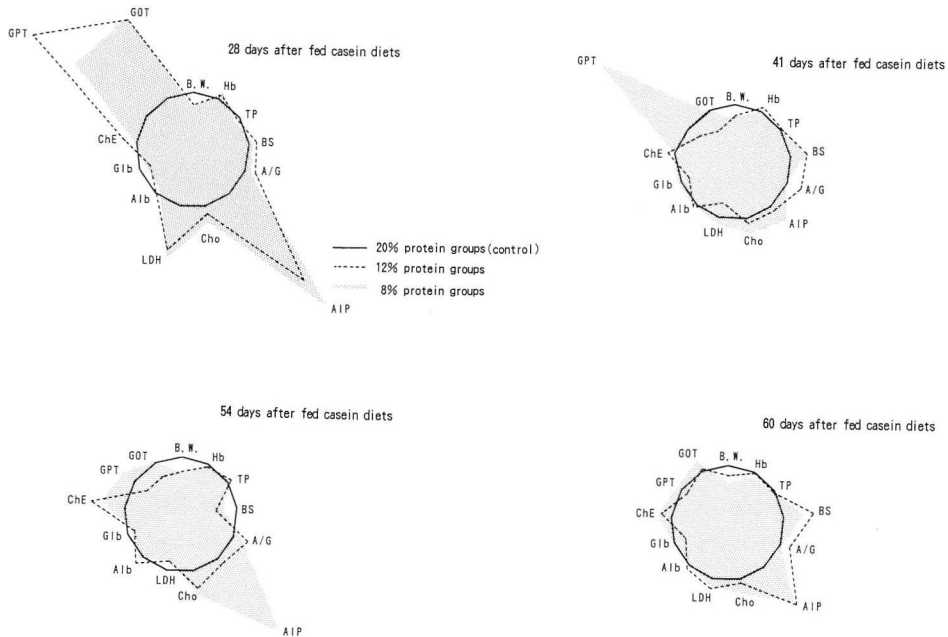


Fig. 4 Chart of laboratory values of 28, 41, 54, 60 days after fed casein diets in experimental Kwashiorkor mice.

示した。また、低蛋白食群では体重は全期間を通して対照群よりも低下していた。

考 察

マウスを低蛋白状態にした場合、対照群に比べてその体重は20～30%減少した。体重は栄養評価のひとつにも挙げられ、ヒトの場合3ヶ月以内の体重減少が10%以上、あるいは1日の減少率が0.2%以上の場合には、中等度の栄養障害があるものとされている²⁾。そのことから、著者らの実験において、低蛋白食群のマウスは明らかに栄養障害の状態にあるものと考えられる。飼料投与開始から28日頃までは、低蛋白食群では減少率が著しいが、12%蛋白群では21～28日目頃を境にその体重はゆるやかに増加を示し始めている。飼料摂取制限にもかかわらず体重に増加をきたしたのは、制限食にマウスの体が慣れてしまったためか、あるいは血漿蛋白減少から浮腫を発現し、体重の増加につながったものと考えられる。また、8%蛋白群における28～56日間の体重上昇率は、対照群および12%蛋白群に比較してかなり低いことから、投与飼料の蛋白濃度が低いほどマウスは低体重に陥りやすく、

回復しにくいとも考えられる。

蛋白の欠乏が引き起こすクワシオコルの検査所見の特徴として、TP、Alb、A/G比の著明な減少がある³⁾が、今回の実験では28日後に8%蛋白群で有意な低下が見られただけであった。これまでの著者らの報告⁴⁾でも3%蛋白群と6%蛋白群でやや軽度の低下が見られたに過ぎない。これは、低蛋白食群では、生体内でその蛋白の低さを補おうとする機構が働き、代償的に貯蔵蛋白などが使用されるために、臨床検査値の変動は見られないものと考えられる。28日後に8%蛋白群で有意な低下を示したのは、この時期が低蛋白食投与の初期であり、マウスの代償的機構が十分働いていないために起ったものと推測できる。また、前回の実験は12週後(84日後)に屠殺をしており、今回は最大日数が60日である。低蛋白状態の期間は前回の実験の方が3週間長く、その事が前回3%蛋白群でのTP、Albの低下につながったのではないかと考えられる。低蛋白状態の期間が長いほどその影響は大きくなり、より慢性的なクワシオコル状態に近づくことが明らかである。人の場合のクワシオコルが問題にされているのは、環境等によるこの慢

性的な低栄養の状態である。

Hbの著しい減少による貧血は、クワシオコル状態の中でも特徴的な所見である。今回の実験でも54日、60日後には8%蛋白群に有意な低下が見られており、低栄養の影響が現れているものと考えられる。これは8%蛋白群のみに見られ、12%蛋白群では低下の傾向はあるものの有意差はない。前回の実験では12週後(84日後)で、3%蛋白群、6%蛋白群共に対照群に比べて有意な低下を示している。このことから、投与飼料の蛋白濃度の低い方がHbにより早く大きな影響を与え、さらに低蛋白食投与期間が長くなるほどマウスはより貧血になることがわかる。

28日後のデータで、GOT、GPT、AIP、LDHが有意な上昇を示した。これらの酵素はいずれも肝機能に影響を受けるものであり、低蛋白食投与初期(28日後)では、マウスの肝臓に何らかの変化を生じていると考えられる。人の場合、急性肝炎や肝硬変でLDH/GOT比は6を越えることはほとんど見られないと言われている⁵⁾。今回の実験の28日後でも8%蛋白群、12%蛋白群共にそれぞれ4.9、4.6と6を越えないLDH/GOT比が見られており、肝機能の障害の存在を裏付けるものであろう。また、肝臓で合成されているCreが28日後の8%蛋白群で有意に低下していることから何らかの肝機能障害の存在を示唆している。また、これらの酵素の上昇との関連づけは難しいが、28日後ではCRPにおいて8%蛋白群、12%蛋白群共に有意に増加を示した。このCRPの上昇からマウス体内に炎症あるいは組織壊死が起こっているものと考えられる。低蛋白食投与後期(54日、60日後)にはAIP、Cho、ChEの値が有意に増加している。特にCho、ChEの有意な増加から、低蛋白食投与後期(54日、60日後)には脂肪肝を起こしているのではないかと考えられる。マウスに低蛋白食を投与すると、その初期の段階では、肝機能に何らかの障害が起こる。さらに投与が長期間に及ぶと肝障害が慢性化し、脂肪肝をきたすのではないかと考えられる。

人の場合のクワシオコル状態では、ChoやChEなどは低下すると言われている⁶⁾。前回の実験では6%蛋白群でChoの軽度低下が見られたが、

今回の実験ではChoはむしろ全期間を通じて、有意に増加を示している。ChEも前回の実験ではほとんど変動が見られなかったが、今回は54日、60日後で8%蛋白群、12%蛋白群ともに有意な増加を示した。クワシオコルの特徴として肝臓の脂肪変性⁶⁾⁷⁾があげられており、これが今回の実験データと関連しているものと考えられる。肝臓の病変に伴い、Choの排泄異常あるいは合成のフィードバック調節の障害による合成の亢進によって、今回の実験のようにChoの増加をきたすのではないかと考えられる。ChEの増加の原因は不明であるが、最近高脂質血症に関連して、ChEの増加が解明されつつあり、Choの増加によるものと考えられる。しかし、前回の実験ではChoが低下傾向であったことから、脂肪肝は断定できない。むしろ、前回の実験との飼育方法の違いがCho値の相違につながったとも考えられる。前回は、4匹飼育用のケージを使用し、今回の実験では1匹飼育用の個別ケージを使用した。そのケージ容積の違いがマウスの慢性的な運動不足を引き起こし、それがChoの増加につながったとも考えられる。

AIPは前回低蛋白食群で著明な増加をきたした。今回の実験でも8%蛋白群では28、54、60日後で、12%群では28、60日後でいずれも有意な増加を示している。ヒトのクワシオコル状態では低下するとされており³⁾、著者らの実験では逆の結果となった。低栄養状態が長期になるほどAIPは高値の傾向を示しており、肝疾患の影響あるいは体重増加に伴う骨の再形成などが考えられる。また、人のクワシオコルでは小腸の絨毛の萎縮がみられるという所見³⁾もあり、このことで小腸由来のAIPが異常値を示したとも考えられる。上昇をもたらしたAIPの由来は、アイソザイムを検討する必要があると考えられる。

前回の実験と今回との相違は、投与飼料の蛋白濃度と屠殺日の違い、そして1ケージの飼育数が4匹か1匹の違いである。蛋白濃度は前回は3%と6%で今回は8%と12%であり、その濃度の違いは臨床検査値にそれほど大きな影響を与えとは考えられない。屠殺日の相違は、前回は飼料投与開始から12週後(84日後)で、今回は28、41、54、60日後であった。マウスの臨床検査値は低蛋白食投与初期と後期では種々

の点で違いが見られた。初期には、GOT, GPT, AIP, LDH などの肝機能に関連のある酵素や様々な炎症・組織の破壊を示唆する CRP の著しい上昇が見られ、後期には Hb の低下や Cho・ChE の上昇が見られた。低蛋白食投与初期には、体内の各機能や代謝がかなりの影響をうけ、やがてそれが慢性化するにつれ、初期の段階とは異なった反応が起ってくるものと考えられる。今なお問題になっているのは発展途上国における貧困や食糧難がもたらす慢性化したクワシオコルの状態である。著者らの実験期間は84日間を最大日数としたが、慢性的なクワシオコルの状態をつくりだすためにはさらに長期間の実験をする必要があると考えられる。飼育方法の相違については前述のように前回は、4匹飼育用のケージを使用し、今回の実験では1匹飼育用のケージを使用した。その容積の違いがマウスの運動不足を引き起こし、それが臨床検査値、特に Cho の増加につながったとも考えられる。また、飼育数の違いはマウスの精神的ストレスにも影響を与えているものと考えられる。前回は4匹飼育であり、マウスの力関係が飼料摂取量に非常に影響を受ける。力の強いマウスが飼料を独占し、弱いマウスは必要量⁸⁾さえも摂取できなかったことも考えられる。また、マウス間で

の争いも考えられ、マウスの飼料摂取個体差はかなり大きかったと推測できる。一方逆に、今回の実験では、飼料の争奪や上下関係の圧迫は生じないが、マウスの孤独感はかなり強かったと考えられる。

参考文献

- 1) 坂本元子：栄養障害と免疫不全。臨床免疫，20(5)，457—465，(1988)
- 2) 岡田 正，他：栄養アセスメントとそのパラメーター。臨床病理，X X X V (4)，359—364，(1987)
- 3) 市田文弘編：内科学II，568—571，日本医事新報社，(1982)
- 4) 瀧山久美子，他：実験的クワシオコルにおける臨床検査値。川崎医療短大紀要，12，1—5，(1992)
- 5) 河合 忠，他：異常値の出るメカニズム第2版，50—54，79—85，104—108，188—198，207—216，医学書院(1989)
- 6) 織田敏次，他：内科学書，第1巻代謝・内分泌疾患，39—43，中山書店(1982)
- 7) 森 亘他：ロビンス基礎病理学(I)，第8章栄養異常，302—305，廣川書店(1984)
- 8) Robert F. Knauff, Kenneth S. Warren: The effect of calorie and protein malnutrition on both the parasite and the host in acute murine schistosomiasis *Mansoni*. *J. Infect. Dis.*, 120(5)，(1969)