

ラットにおける VitaminE 欠乏症について

(第一報) 実験系の構成についての予備的検討

伊 東 祥

緒 言

vitamin E についての研究は, Evans 等に負うところが大きで, 1922年 Evans および Bishop がラットの繁殖に必要な, 未知のある食餌性因子としてその存在を發表して以来, このビタミンの重要性が認められるようになった。しかし, このような物質が存在することについては, すでに1920年 Mattill および Conklin が報告しており, 1922年 Mattill 自身, それとは別に Sure も1923年に, これを確認している。vitamin E の発見当初は, ラットの生殖作用におよぼす影響が第一に注目された。すなわち, この因子が欠乏すると, 妊娠中の母獣胎内で胎児が死亡吸収されたり, または死産されたりすること, また雄の動物では精巣に精上皮の変性や萎縮がおこり, 精子の形成が妨げられたりすること等がラットその他の動物でみとめられ, 抗不妊ビタミン, あるいは, 生殖ビタミンと考えられたのである。さらに1928年, Evans および Burr の研究から, E欠乏飼育の母獣から生まれた幼若ラットの筋肉に麻痺が出現する事実が認められた。vitamin E 欠乏動物にみられるこのような筋組織の病変の発生機序に関しては, Goettsch および Pappenheimer (1931年) Ringsted (1935年), Einarson および Ringsted (1938年) 等は, それぞれの観点は異なるが, 人間のある種の中樞神経系の疾患(進行性筋ジストロフィー, 筋萎縮性側索硬化症, 脊髄癆など)の際の病理所見に近似するところから, 神経原性と考えた。しかし, Olcott (1938年) は, E欠乏の際の筋麻痺は神経起原ではなく, 横紋筋線維そのものの原発的な壊死による変化であると主張している。一方, このビタミンの化学構造の研究は, Evans とその協同研究者等 (1936年) が小麦胚芽油の中から有効物質をと

り出すことに成功した後, α -, β -および γ -tocopherol として, その構造が決定され, Karrer その他の人々(1938年)によってその合成法も完成している。Vitamin E の化学的性質のうち, もっとも注目されるのは, その酸化防止作用であって, とくに脂肪の酸化は vitamin E の存在のもとにおいて抑制され, したがって脂肪ことに不飽和脂肪酸が安定化するのである。この作用と関連して vitamin A および, カロチンのような物質も vitamin E の存在によって酸化分解から保護される。この抗酸化作用は細胞内呼吸酵素を中心とする種々の代謝に関連すると考えられているが, その生理的作用の本態に関してはまだ基礎的に不明の点が多い。また, さまざまな修復機転におよぼす vitamin E の影響なども検討されているが, その発現機構に関しても不明の点が多くない。vitamin E についての根本的な問題のひとつは, ヒトにおける vitamin E 欠乏症の本質および範囲が明らかでないことであって, ヒトにみられる種々の神経, 筋肉あるいは生殖器の病変のあるものが, vitamin E 欠乏と関連すると予想される。

またその他, vitamin E は体液循環, 老化, 炎症その他の修復機転にかなり重要な役割を果すと推定されているけれども, その本態は必ずしも明らかではない。したがって, vitamin E においては, その化学的研究の目ざましい進歩にもかかわらず, その栄養病理学的意義の解明が不充分なのであって, なお, 系統的な研究が必要とされているのである。著者は vitamin E の栄養病理学的意義, ことに人体における vitamin E の役割に関心を有しているが, この報告においては vitamin E 欠乏の全身的影響の病理組織学的研究の一端として,

一般的なE欠乏実験の序説的部分について述べたい。すなわち、一般的E欠乏をラットにおこさせ、動物の生存状態、死亡率を検討し、さらに、対照動物と対比して主要臓器の変化の病理組織学的検索をこころみた。とくに、中枢神経系の病変に関しては、vitamin E 欠乏が悪性腫瘍における神経障害の発生に関連があるという若干の文献を考慮して、とくに注意をはらって検討した。

実験方法

実験には、体重40~60グラムの Wistar 系雌雄幼若ラットを用い、エーザイ製薬会社から提供された vitamin E 欠乏飼料を与え、金属製の飼育ケージ内で飼養した。対照群としては、vitamin E 欠乏飼料に、毎日約30ミリグラムの水溶性 vitamin E を水に添加して与えた1群、並びに、標準固形食で飼育した動物をも併せ観察した。vitamin E 欠乏飼料は、corn starch 60グラム、lard 10グラム、精製 casein 18グラム、乾燥酵母8グラム、salt mixture 4グラムから成り、それに必要量の vitamin A およびD原液を投与するものである。なお、水は自由に与えた。

実験成績

1. 一般観察所見

Vitamin E 欠乏食で飼育した動物は、次第に体重が減少し、被毛は光沢を失い、粗剛とな

り、動作は一般に不活潑になり、徐々に衰弱の度を加えていく。早いものでは、vitamin E 欠乏飼育後、20週前後に衰弱死亡したものもあるが、多くのものは6カ月以上かなり長期の vitamin E 欠乏に耐える。体重増加の停止が見られる頃から動物はやや動きが鈍くなり、食欲も減退し、衰弱が加わると共にますます動作が不活潑になる。しかし、四肢に判然とした麻痺を認めたものはない。

外表所見では、vitamin E 欠乏実験群全般に全身被毛の粗しょう化が目立ち、とくに、眼の周囲、鼻尖部、下顎部で甚しいものあり、動物によってはそれらの部分の脱毛がみられたものもある。時に眼瞼、口角部、側頸部、前肢等に痂皮の形成があり、極く少数例では口角部潰瘍や膿瘍もみとめられた。

2. 体重の推移

体重推移をしらべると、vitamin E 欠乏後第8週頃までは大体普通の体重増加が見られるが、それ以後変動を示し、第10週乃至第19週頃からは、体重推移曲線が下降し始める動物が多い。雌に比べて雄ラットの方がいくぶん早期に体重増加の停止あるいは下降を示すようである。対照動物においては、vitamin E 欠乏食に vitamin E を添加し与えた動物群の中に、若干 vitamin E 欠乏実験群に類似した体重推移を示すものが認められた他は、ほぼ正常な体重の増加を示した。主な動物の体重推移を表示すると

表1 体重推移グラフ

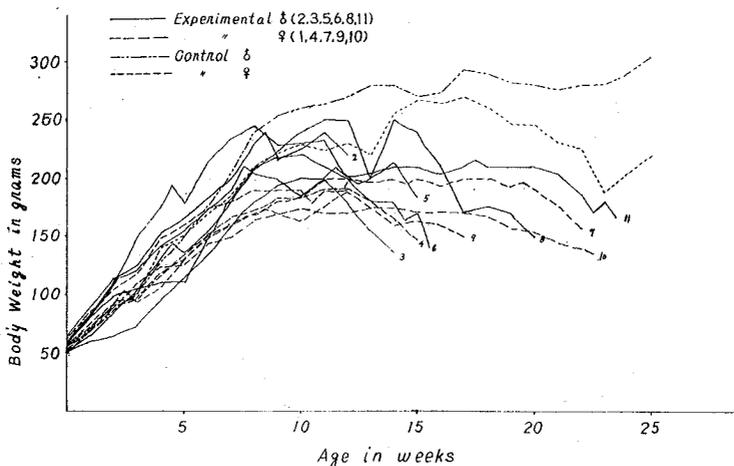


表1のようになる。

3. 臓器重量について

剖検すると、皮下脂肪織の減少が、一般に共通した所見として認められるが、その他肉眼的に特記すべき変化はほとんどみられない。主要

臓器の重量をおのおのの体重と比較してみても、実験群に特徴的な変化はあまり認められない。僅かに、肝/体重比が、vitamin E 欠乏例において対照例よりやや高く、精巣/体重比が幾分低い傾向があるように思われる。

表2 臓器/体重比

Ratio of Organ to Body Weight

Animal	Sex	Expt.	Duration	Brain wt. (as%body wt.)	Liver wt. (%)	Spleen wt. (%)	Testes wt. (%)
No. 1	♀	-E	12 w.	0.88%	4.63%	0.32%	
No. 2	♂	〃	12 w.	0.84	5.00	0.39	1.00%
No. 3	♂	〃	14 w.	1.26	4.44	0.19	—
No. 4	♀	〃	15 w.	1.29	2.88	0.45	
No. 5	♂	〃	15 w.	0.98	4.00	0.18	—
No. 6	♂	〃	15.5w.	1.00	3.04	0.18	—
No. 7	♀	〃	17 w.	—	2.83	0.27	
No. 8	♂	〃	20 w.	1.13	3.33	0.17	—
No. 9	♀	〃	22 w.	0.97	2.27	0.65	
No. 10	♀	〃	22.5w.	0.80	2.85	0.73	
No. 11	♂	〃	23.5w.	1.04	4.97	0.36	1.33
No. 12	♀	-E+E	12 w.	1.36	5.00	0.50	
No. 13	♂	〃	14 w.	0.75	3.20	—	2.14
No. 14	♂	〃	25 w.	0.56	1.75	0.28	1.79
No. 15	♀	〃	25 w.	0.86	1.50	0.50	

4. 主要臓器の組織学的所見

a) 中枢神経系における変化

① 大脳では、一般に血量が多く、軟膜の充血、脳実質内細血管の充盈、拡張を認めるものがかなりある。大脳皮質および脳幹核の神経細胞に明らかな壊死はないが、細胞質および細胞核の濃縮状の変化が目立つ部分がある。その分布は不平等で、比較的集団的に現われる傾向があり、大脳皮質ではしばしば最外層と最内層に多く見られる。動物によっては、一部の神経細胞胞体内に、限局的な虎斑消失または、粗しょう化あるいは空胞化などをみとめる。神経細胞質内に褐色色素の沈着の増加は確認されない。神経細胞自体には一見著しい変化がなくても、グリア細胞が神経細胞に近接または接着して神経喰現象を呈する像が散見される。びまん性あるいは小限局的なグリア増生巣は全例を通じてかなり認

められ、目立つ所見の一つである。明らかな脱髄所見はなく、ただ、時に髄鞘組織の粗しょう化がところどころに見られる。脈絡叢および脳室上衣細胞に著しい変化はない。

② 小脳においては、Purkinje 細胞の変化が目立つ。すなわち、Purkinje 細胞にも不規則な分布で細胞質および核の濃縮が認められ、時に細胞質の空胞化を伴い、ところによっては融解、脱落が混在する。顆粒層には概して著変はないが、中には顆粒層が萎縮して狭小化を示す例も少数ある。脱髄像はみとめられない。

③ 脊髄でも神経細胞は一般にやや萎縮状である。後角の神経細胞が前角に比べて小型で、神経細胞分布が明らかに少く、神経喰現象、グリア細胞増生をより多く認める傾向がある。前・後角を通じて神経細胞胞体の空胞化、融解、虎斑消失等の変化がややつよい。

後根の中央束と前根の一部に若干神経線維の粗しょう化がみられるものがあったが、明らかな脱髄を認める例はなかった。脊髄神経細胞内に時にPAS陽性顆粒の増加がみられた。

以上は、いずれも vitamin E 欠乏実験群における中枢神経系の変化であるが、対照動物でもやはり大脳皮質神経細胞の萎縮や神経嚙現象、および小脳 Purkinje 細胞における細胞質の濃縮状の変化等がある程度認められる。したがって、これらの所見は、厳密に vitamin E 欠乏に特異的な変化とは言えないが、対照群におけるその分布は一般に実験群に比べて少く、変化の程度もまた明らかに軽度である。

b) 肝臓の変化

一般に肝臓血流量がやや多い。かなりの例に肝小葉周辺部の鬱血を認めるが、中心性鬱血を示すものもある。対照群に比べて Glisson 氏鞘はやや増量し、浮腫状で、ときおり門脈枝の拡張、鬱血が見られる。小葉内にはところにより出血があり、小壊死巣のみとめられたものもある。肝細胞には、鬱血部に萎縮、ところどころ空胞化、脂肪化等がみられ、全体として肝細胞の胞体、核共に大きさの大小不同が目立つ。肝細胞核では、変形、縮小、濃縮が認められ、しばしば2核となり、クロマチンは減少して一般に明るく見えるものが多く、核小体は腫大の傾向がみられる。Disse 氏腔の拡張がある。Kupffer 氏星細胞の腫大も認められる。比較的長期の vitamin E 欠乏例において中心脂肪化が認められ、時に小葉間結合織の増生があり、その中に色素の増加も見られる。

c) 筋肉における変化

骨格筋では、限局的に筋線維の細分、膨化、横紋の消失・融解、核の濃縮または崩壊、時に、2、3の筋線維が壊死に陥る像などが見られる。種々の程度の間質の浮腫があり、僅かに間質の増加も認められるが、一般に線維化によって置き換えられる所見は少ない。筋鞘細胞核の増殖が、しばしば長軸の方向に沿って認められる。しかし、変化は一般

に軽度である。

平滑筋では、子宮筋はやや萎縮を示すが著変はなく、筋線維細胞内に多少色素の沈着がみとめられる。消化管の平滑筋では萎縮のかなり目立つ例がある。また、小限局的な壊死巣も時に認められ、細胞浸潤をも伴う。気管支筋の一部にも筋線維の硝子化、筋鞘細胞核の増加等が見られたが、細胞浸潤は認められない。

心筋では、血量増多の見られるものがあり、一部に心筋細胞の膨化、空胞化、不規則な形の核の濃縮、融解をみとめるが、明らかな心筋壊死の所見はない。時に、極めて限局的な線維化が認められる。この線維増生像は、筋細胞自体の組織変化の程度は軽いにかかわらず、骨格筋におけるよりもやや多い頻度にもみとめられる傾向がある。

d) 精巣の変化

精巣の変性、萎縮は著しい。精上皮には高度の萎縮がみられ、精細胞数は減少し、僅かに残存する精細胞にも空胞化などの変性像が見られ、精子の形成はほとんど認められず、精細管内腔はしばしば細胞の崩壊物で充たされている。支持細胞は比較的残存するが、変形および変性像がよく、時に、Sertoli 細胞が膨化したり、あるいは合胞化するのが見られる。間質空隙の液量の増加は時に甚しい。精細管の著しい変性と浮腫のある例では、胚上皮およびそれを取り囲む基底膜が、恐らく蛋白液と思われる液体の貯溜によって間質組織から分離し、精細管個々がエオジンに均一に染まる液体成分の中に浮遊している像も認められる。間質細胞の増殖も時に見られる。

対照動物においても、精巣の軽い萎縮を示すもの、精子形成能の低下をみるものもあるが、vitamin E 欠乏群に比べれば、その変化ははるかに軽度である。

e) 副腎の変化

副腎の基本的構築に著変なく、皮質3層の区別もあるが、実験群では皮質の巾がやや狭く網状層および髄質の血量が多い。毛細血管拡張、時に出血が見られ、出血部では実質細

胞の空胞変性，稀には壊死が認められる。束状層細胞の脂肪変性もかなり頻繁にみられる。髄質では，クローム親和細胞内に黄褐色色素の増加が目立つ。

f) その他の臓器における変化

① 甲状腺： 甲状腺には血量の増多があり，一般に甲状腺濾胞は萎縮状で小さく，コロイド量も少い。濾胞上皮は扁平となるものが多いが，時に脱落，濾胞の崩壊する所見も見られる。ところにより間質の浮腫も認められる。

② 脳下垂体： 共通する所見として，下垂体前葉では，やや充血が見られる。部分的に色素好性細胞（特に，酸好性細胞）に軽度の変性萎縮がみとめられるが，著度はない。下垂体後葉にも，概して著しい変化はない。

③ 膵臓： うっ血がつよく，外分泌腺では限局的な腺上皮細胞の変性，萎縮がみとめられ，ところにより壊死に陥る部分もある。Langerhans 氏島には著変はないが，幾分数が減少していると思われる例もある。

④ 脾臓： 一般に，白脾髄の大きさは正常または，縮小し，反応中心の増生像は殆んどない。赤脾髄では，髄洞は拡大し，静脈洞内の血量多く，髄索はやや菲薄のものが多いが，時に，髄索肥厚，細胞増生を見るものもある。脾髄内に色素摂取細胞が多い。

⑤ 腎臓： 概して血量が多い。糸球体に著変はないが，尿細管，特に主部尿細管の上皮細胞の膨化，硝子化などが時に認められ，部分的に間質の浮腫あるいは増加の見られるものもある。全体として，特に著しい変化はない。

考 按

以上の観察から，vitamin E 欠乏によりラットにおいて，中枢神経系に軽度ではあるが神経細胞の変性，萎縮が起ることが確かめられ，また，筋肉・肝臓・精巣・副腎・甲状腺・脳下垂体などの臓器に種々の程度の萎縮性変化が確認された。

しかし，欠乏症状発現の時期がラットにおけ

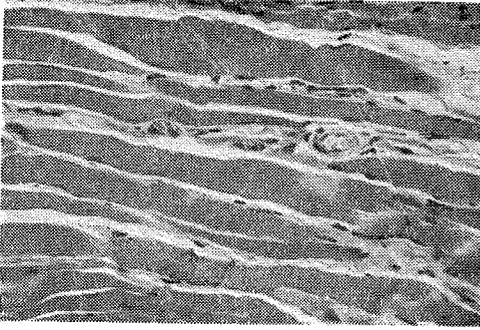
る vitamin E 単独欠乏としてはやや早過ぎること，欠乏動物の一般外表所見にも著明な変化が割合早く起ること，組織学的にも比較的早期からかなり著しい病変の認められることなどから，結果的にみて，この実験群では vitamin E 欠乏だけでなく，その他の要素の欠乏乃至不均衡が加わっている可能性を否定しえない。例えば，外表所見上，被毛の粗しょう化特に眼の周囲や鼻尖部，口角部等の脱毛，更に著しい例では口角部に潰瘍の形成の認められたことは，複合性のビタミン欠乏症の存在を推定せしめる。組織所見の上からも，皮膚および粘膜（気管・消化管など）上皮に時に著明な角化変性をみており，さらにまた，表皮の萎縮性変化（皮膚附属器も共に）が目立つ所見は vitamin A 欠乏に特徴的と考えられる変化である。精巣の著しい萎縮，殊に急速な精上皮の変性萎縮の発展においても，vitamin E 以外の成分ことに vitamin A 欠乏を完全に除外しえないと思われる。脳組織の変化については，既に1947年，Adamstone が，vitamin A および vitamin E のそれぞれ単独欠乏時における脳の変化を実験動物にヒヨコを用いて，比較観察しており，① vitamin E 欠乏例では小脳における乏血性壊死の型の変性病変が特徴的であり，すなわち，それは，vitamin E 欠乏症に由来するいわゆる“栄養障害性脳軟化症”と診断し得る所見であると述べ，それに対して，② vitamin A 欠乏例の脳では小脳の変化は割合に少なく，おもに大脳および脳幹核に小さい点状の病巣が散在性に認められることがむしろ特異的であると記している。かれの言う点状病変（pinpoint lesions）とは，肉眼的に点状にみとめられる病巣を指し，それは顕微鏡下，弱拡大では一見正常に見える，一様に濃く染まっている神経線維の背景の中に，奇妙に明るく抜けた部分として認められ，さらに強拡大でみるとそのような病変の中心は微かに淡染する神経細胞から成ることが明らかであると説明している。なお，Adamstone の記載に従って，主として小脳における組織学的変化を両者の欠乏症で比較表示すると以下のようなのである。

主として小脳における組織学的変化の比較

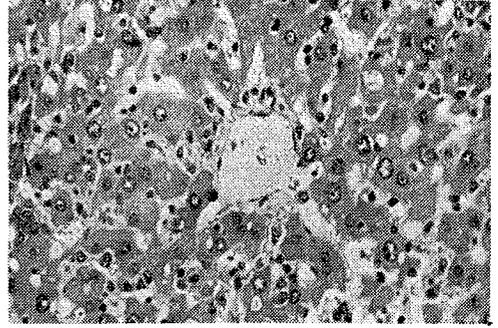
種 類 部 位	Vitamin E 欠乏ヒヨコ	Vitamin A 欠乏ヒヨコ
a) 外 顆 粒 層	Purkinje 細胞樹状突起の崩壊（初期には網状に変化、後に完全に崩壊）	樹状突起層に多少変化はあるが、E欠乏例のような著しい変性像は見られない。
b) Purkinje 細胞層	Purkinje 細胞の濃縮状の変化および変性。	明らかな変化はないが、軽度に染色性低下を示す部分はある。
c) 内 顆 粒 層	神経細胞の濃縮状の変化および変性。	稀には、この部位にも、脳幹核における点状病巣として認められるところの淡明細胞化に類似した所見が見られることがある。
d) 髓 質	小脳回転髄質の神経線維の崩壊。	神経線維の消失が多少みとめられる。恐らく軽度の脱髄性変化
e) そ の 他	小脳の各層に広範囲の出血や硝子血栓の見られることがある。	脳幹核における大きなノイロン（神経単位）の変性、崩壊がもっとも目立つ変化である。（神経細胞内 Nissl顆粒の変性、消失、あるいは細胞核の空胞化、クロマチン減少など。）

さらに、Coggeshall および Bieri (1960) がやはりヒナにおける実験で、vitamin A 欠乏、vitamin E 欠乏、および両者の複合欠乏の場合の、中枢神経系における組織病変を比較記載しているが、それによるとヒヨコの脳における変化は、① vitamin A 単独欠乏では散発的に神経細胞に塩基好性の増加および濃縮状の変化が見られ、そのような変化は特に小脳の Purkinje 細胞層および視床の内層にしばしば局限して認められるという。なお、1例において大脳の前頭葉に数個の点状病巣が見られたと言っている。② vitamin E の単独欠乏では、神経細胞の消失したかなり広範囲の壊死巣が、たいていは小脳に、しかし、時に視中枢のまわり、前頭葉および脳幹核に認められ、点状病変や血管を取り囲む空胞様変性は見られなかった。③ Vitamin A および E の複合欠乏では、ほとんどの脳にある程度点状病巣(pinpoint lesions)

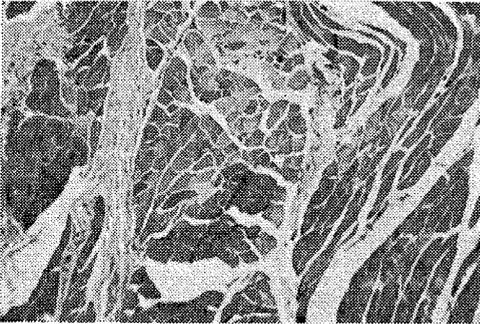
がみとめられ、そのような変化は、たいていの例で大脳の前頭葉に、僅か数例において脳全体に拡がっているのがみられた。この病変の初期像は血管をとり囲む開放域（直径 50~100ミクロン）として認められるが、病変の進行したものは、淡明化巣の中心部に、多くの場合、血管をみとめることはできないと述べている。以上は、いずれもヒヨコにおける脳の変化であり、また、記載も極めて簡単で、こまかい組織学的変化についてはよく解らないが、幼若ラットにおいても同じような傾向の変化は起りうると思われる。したがって、このたびの実験系においては、vitamin E 欠乏以外の副次条件の評価が不十分であるということができ、一般に、E欠乏実験の成績を正確に評価するためには、この点の厳密な条件づけが必要であると考えられた。



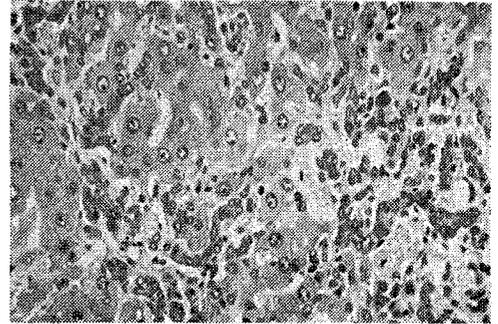
1. 横紋筋線維の萎縮および変性を示す。



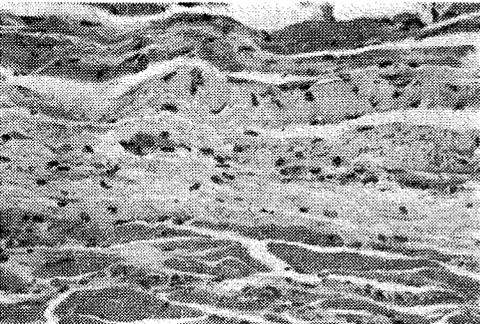
5. 肝臓のうっ血像。



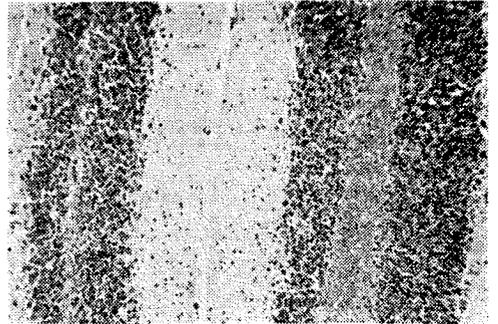
2. 骨格筋の線維増生像。



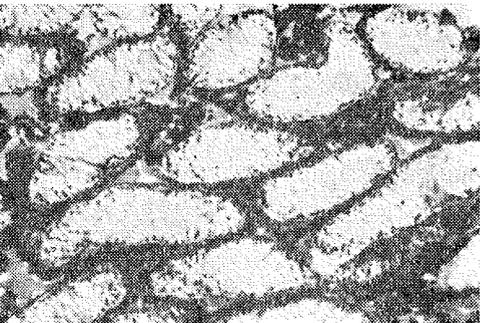
6. 肝細胞の変性、崩壊などの変化に、間葉性細胞増生を伴う。



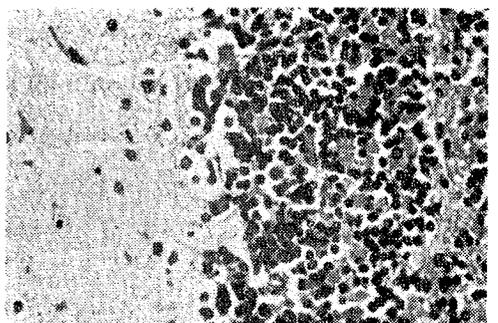
3. 筋肉の著しい線維増生の部。



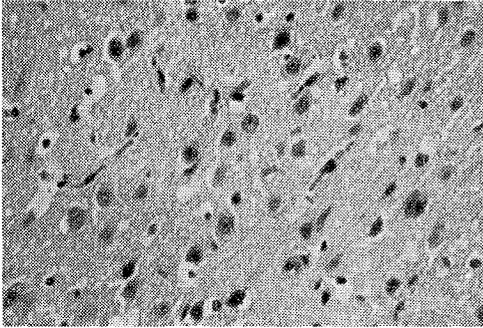
7. 小脳皮質の萎縮。



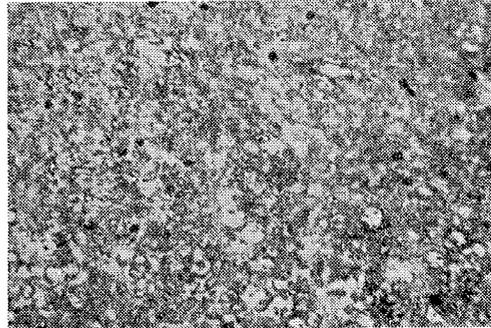
4. 高度の萎縮を示す精巣の変化。



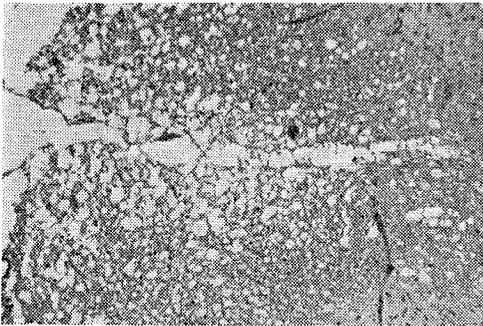
8. 同上の強拡大図。Purkinje 細胞の変性、濃縮状の変化、消失等が認められる。



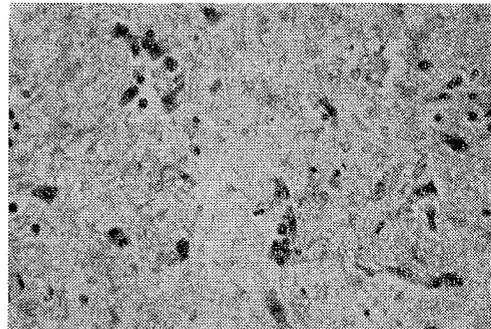
9. 大脳皮質におけるグリア細胞増生像。神経細胞も散在性に変性に陥っている。



11. 脊髄髄鞘線維の変性所見。



10. 脊髄前角白質の粗しょう化。



12. 脊髄後角における神経細胞の変性、萎縮および神経嚙現象。

文 献

- 1) Adamstone, F. B. : "Histologic comparison of the brains of vitamin A-deficient and vitamin E-deficient chicks", *Archives of Pathology*, 1947, 43, 301.
- 2) Bailey, P. : "Cerebellar encephalomalacia produced by diets deficient in tocopherol." *Am. J. Clin. Nutr.* 1963, 12, 275.
- 3) Bicknell, F. & Prescott, F. : "The Vitamins in Medicine", 1953.
- 4) Coggeshall, R. E. & Bieri, J. G. : "Pathology of the brain in single and mixed de-

- iciencies of vitamins A and E in the chick", *J. Nutr.*, 1960, 70, 272.
- 5) Follis, R. H. : "Deficiency Disease", 1957.
- 6) Gordon, H. H. and Nitowsky, H. M. : "Modern Nutrition in Health and Disease", 1964.
- 7) Studer, A., Zbinden, G. und Uehlinger, E. : "Handbuch der Allgemeinen Pathologie", XI/1, 1962.
- 8) Wolf, A. & Pappenheimer, A. M. : "Central nervous system in vitamin E-deficient rats", *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 1942, 48, 583.

Vitamin E-Deficiency in Rats

I. A preliminary Examination for the Establishment of Experimental Systems

Nagako Ito M.D.

—Abstract—

The results of experimental studies on vitamin E-deficiency are largely affected by experimental conditions. This study, therefore, was undertaken to establish an exact

experimental system for our further investigation of vitamin E-deprived rats.

Wistar rats of either sex, weighing 40-60 g., were fed for a period from 12 to 25 weeks with a vitamin E-deficient diet mainly composed of corn starch, lard, casein (vitamin-free), dried yeast and salt mixture. The control animals were of two types: those fed with deficient diet but given oral supplements of alpha-tocopheryl acetate (30mg. daily) and those reared with a commercial stock diet.

The growth curve of the experimental group shows that there was almost normal gain during the first 8 weeks, but from the 10th until the 19th week, retardation of the increase in body weight was apparent, and since then the body weight began to decrease most. Some changes were also observed in the general appearance of the rat deficient in vitamin E.

The histological examination revealed pathological changes in the tissues of central nervous system, muscle, liver, skin and genitals. However, as to these several lesions, we could not deny the possibility that other causative factors than vitamin E-deficiency might also be concerned with such microscopic changes. We have obtained some valuable observations on adequate experimental conditions of breeding method or nutrition, which would make a significant contribution to our further experiments.