

20 安定同位体呼気試験によるビタミンA栄養状態の評価法 松浦 知和

【目的】 ビタミンA (VA) 欠乏症は、貧困、戦争といった社会情勢とも密接に関与しており、未だに、アフリカや南・東南アジアではVA 欠乏症が蔓延している。VA 欠乏・不足の診断は、夜盲症、眼球乾燥症といった臨床症状と、血中VAであるレチノール (ROH) の測定で行われる。しかし、生体では肝臓のVA 貯蔵細胞である星細胞 (伊東細胞) に通常は80~90%のVA がエステル型VA として蓄えられており、そのリザーブされたVA が欠乏してはじめて血中ROH レベルが低下する。このため、従来の血中VA 測定方法では、VA 欠乏を末期状態でしか診断できない。本研究では、肝臓におけるVA 貯蔵状態を評価することで、生体のVA の栄養状態 (過剰・正常・不足・欠乏) を診断するための¹³C-VA 呼気試験を新規に開発する。

【方法】 初めに、VA の13位の炭素を¹³Cにラベルした¹³C-retinyl acetate (¹³C-Race) を合成した。ヒト肝臓細胞FLC-4を、5 mL容量のラジアルフロー型バイオリアクター (RFB) に播種し、バイオ人工肝臓を作製した。RFBのバイオ人工肝臓部と培養液がガス交換を行うリザーバー部を150 mLの培養液が閉鎖系で還流された。リザーバーには5%CO₂・95%Airが注入され、液面でガス交換の上、注入と同量が排出路から排出された。細胞が増殖し、安定したところで、¹³C-Race濃度が100 μMに調整した培養液にリザーバー内の培養液を交換し、還流を開始し、継続的に排気 (呼気) を呼気バックで採取した。24時間還流後、再度¹³C-Race濃度が100 μMの培養液に交換し、培養をさらに24時間継続し、排気を採取した。¹³CO₂の測定は、呼気ガス用質量分析装置で行った。

【結果】 FLC-4細胞を培養したバイオ人工肝臓に100 μMの¹³C-Raceを含有する培養液を還流した (図)。100 μMの¹³C-Raceを添加すると1回目の還流では、¹³CO₂/¹²CO₂比値は3時間をピークに上昇し、その後、低下する。2回目の添加では3時間の上昇は観察されなかった。一方、¹³C-Race未添加条件でも、1回目、2回目ともわずかに¹³CO₂/¹²CO₂比値は上昇した。従って、VA欠乏状態のバイオ人工肝臓に¹³C-Raceを投与することで、最終産物の¹³CO₂が生成し、その検知によってVA欠乏が診断できる可能性が示唆された。

¹³C-retinyl acetate 還流実験における¹³CO₂/¹²CO₂比の動態

