

門脈、大腿静脈留置カテーテル採血法による、ビタミン K 類経口投与後の ラット血中 K_1 及び MK-4 濃度の経時的变化について

阪本 尚正¹⁾・木村 美恵子¹⁾・平池 秀和²⁾・糸川 嘉則¹⁾

(¹⁾京都大学大学院医学研究科社会医学系, (²⁾鈴鹿医療科学技術大学臨床栄養学)

Study on Plasma Vitamin K Concentration of Rats Cannulated in Portal and Femoral Veins

Naomasa SAKAMOTO¹⁾, Mieko KIMURA¹⁾, Hidekazu HIRAIKE²⁾ and Yoshinori ITOKAWA¹⁾

¹⁾Dept. of Social Medicine, Graduate School of Medicine

²⁾Dept. of Clinical Nutrition, Suzuka University of Medical Science and Technology

Fifty μ mol/kg body weight phylloquinone (K_1) and menaquinone-4 (MK-4) were administered perorally to rats cannulated in portal and femoral veins. Two hundred μ l of blood was collected from both the veins 0, 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, and 120 min, later. Fifty μ l of plasma was used to measurement of vitamin Ks with high performed liquid chromatography. After the administration of K_1 or MK-4, only the same chemical species of Vitamin K administered were detected during the experiment. After the administration of K_1 and MK-4 mixture, K_1 appeared in plasma from 15 min, MK-4 from 10 min, and MK-4 concentration was significantly higher than that of K_1 from 15 min upto 60 min. There was no difference significant in plasma vitamin K concentrations between portal and femoral veins. The concentration of K_1 at 120 min of the mixed dose was 1.3 times as high as that of single dose. In contrast, the concentration of MK4 at 120 min of the mixture dose was 0.5 times as high as that of single dose. These result suggest that the main absorption route of MK-4 may be an extra-portal pathway, MK-4 is absorbed faster than K_1 , and some interactions may be present between K_1 and MK-4.

ビタミン K は生体内の種々のビタミン K 依存性蛋白質 (血液凝固因子の一部, オステオカルシン等,) 前駆体のグルタミン酸残基の γ 位をカルボキシル化させる反応に関与している。この反応により上記蛋白質前駆体は、カルシウムとの結合力を獲得し、血液凝固、骨へのカルシウムの沈着等、種々の生理作用を呈する。従って、ビタミン K の欠乏は、血液凝固能の低下による出血傾向のみならず、骨代謝に対しても悪影響が懸念される^{1,2)}。新生児においてビタミン K 欠乏は重篤な頭蓋内出血、および消化管出血をひき起こす事が知られている^{3,4)}。この予防のため新生児に対し欧米では、フィロキノ

(K₁) の筋肉内投与が、我が国ではメナキノン-4 (MK 4) の経口投与が行われているが、どちらの投与方法がより有効であるかは重要な問題である⁴⁾。我々は、これまでラットに K₁, MK 4 を経口投与した場合、いずれを投与しても脳中、精巣中において MK 4 濃度の上昇を認めること^{5,6)}、妊娠中の母体に MK 4 を投与すると、母体血、臍帯血、母乳中の MK 4 濃度が有意に上昇することを報告してきた⁴⁾。

ビタミン K の供給はおもに食物からのものであるが、腸管からのビタミン K の吸収、とくに K₁ と MK 4 の吸収動態の差については、不明な部分が多い。今回我々は、門脈、大腿静脈カテーテル留置ラットを用い、門脈血濃度と全身血濃度の経時の変化を追跡することによって、腸管吸収の初期の段階での、K₁ と MK 4 の動態の比較を行った。

材 料 と 方 法

(材料)

動物は 7～8 週齢の KBL-Wistar 系雄ラット (体重; 200g～300g) をオリエンタル・バイオ・サービス社より購入した。

K₁, MK4 製剤はともに、エーザイ社から、他の薬品類は、ナカライテスク社から購入した。

(方法)

ラットを個別ケージ内で、脱イオン水、固形飼料にて 1 週間飼育後 24 時間絶食させた。抱水クロラールにて麻酔後、正中切開にて開腹し、腸管膜静脈起始部を露出させ、カテーテルを挿入した。さらに、そけい部の外側の皮膚を平行に切開し、大腿静脈を露出させ、カテーテルを挿入した。ポリエチレン・チューブを口から挿入し胃内に固定後、K₁, MK4 注射用製剤 (ケーワン注 10mg/ml, ケーツー注 10mg/ml, エーザイ社) を等濃度で体積を調整し体重 1kg あたり 50 μ mol を投与した。投与後、0, 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120 分の各時間に 200 μ l の静脈血を採取し、遠心分離したのち、血漿中ビタミン K 類濃度を平内⁷⁾、平池⁸⁾らの方法に改良を加えた微量定量法により測定した。比較対照として 2g/kg のグルコース 5% 水溶液を投与し、ムタローゼ・GOD 法により血糖値を測定した。各群間の比較は、paired-T-test により検定した。

結 果 と 考 察

Fig. 1 に示すようにカテーテル挿入後のラットにグルコースを経口投与したところ、門脈血漿中のグルコース濃度は投与 1 分後から上昇し始め 5, 10, 15, 30 分後において有意に大腿静脈血濃度を上回った。グルコースは、促進拡散により、腸管から吸収され経門脈的に血中に移行する物質としてよく知られている。今回の実験でもこれに一致した結果が得られ、ラットの循環系が実験中に正常に機能していることが、確認された。

Fig. 2 に示すように K₁ 単独投与群では、血漿 K₁ 濃度は、投与 30 分後に門脈血漿中、大腿静脈血漿中

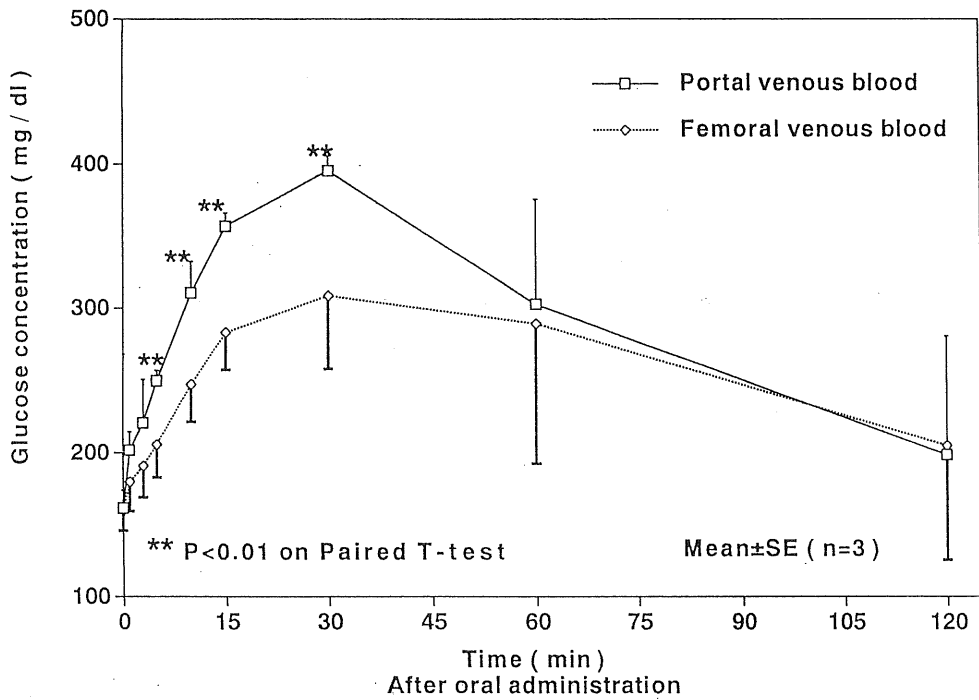


Fig. 1. Glucose concentration in plasma after oral administration (2g/kg)

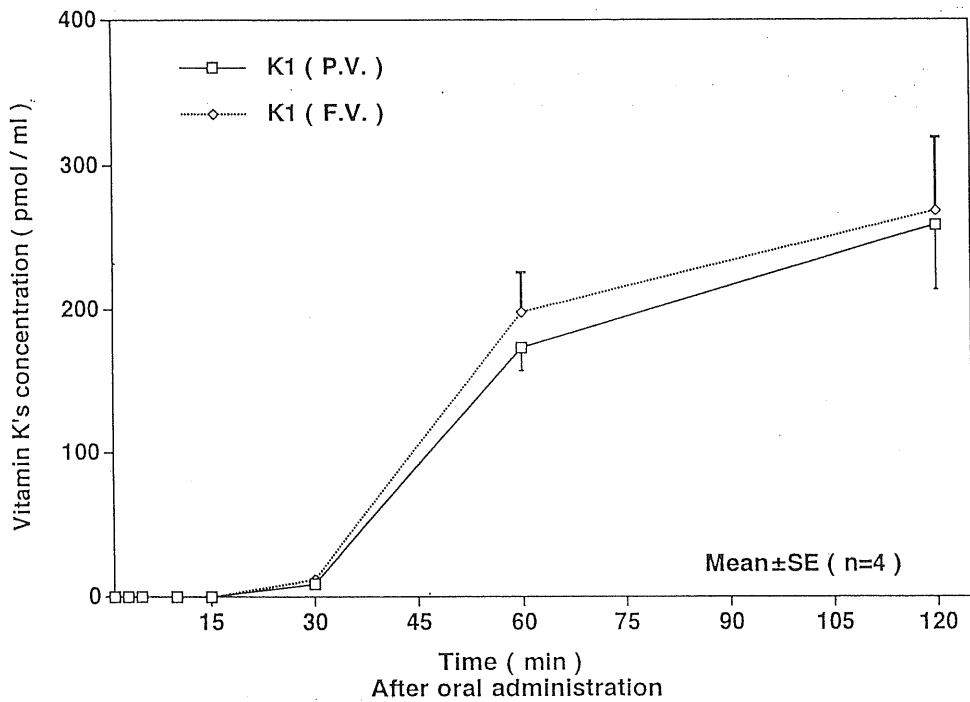


Fig. 2. Vitamin K's concentration in plasma after K₁ oral administration (50 μmol/kg)

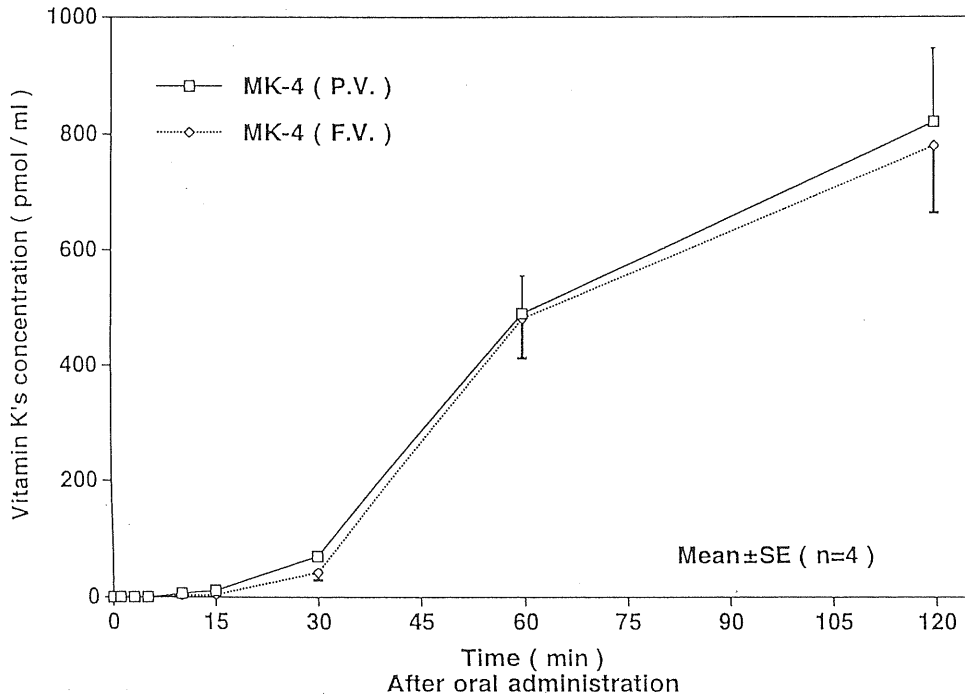


Fig. 3. Vitamin K's concentration in plasma after MK-4 oral administration ($50 \mu\text{mol/kg}$)

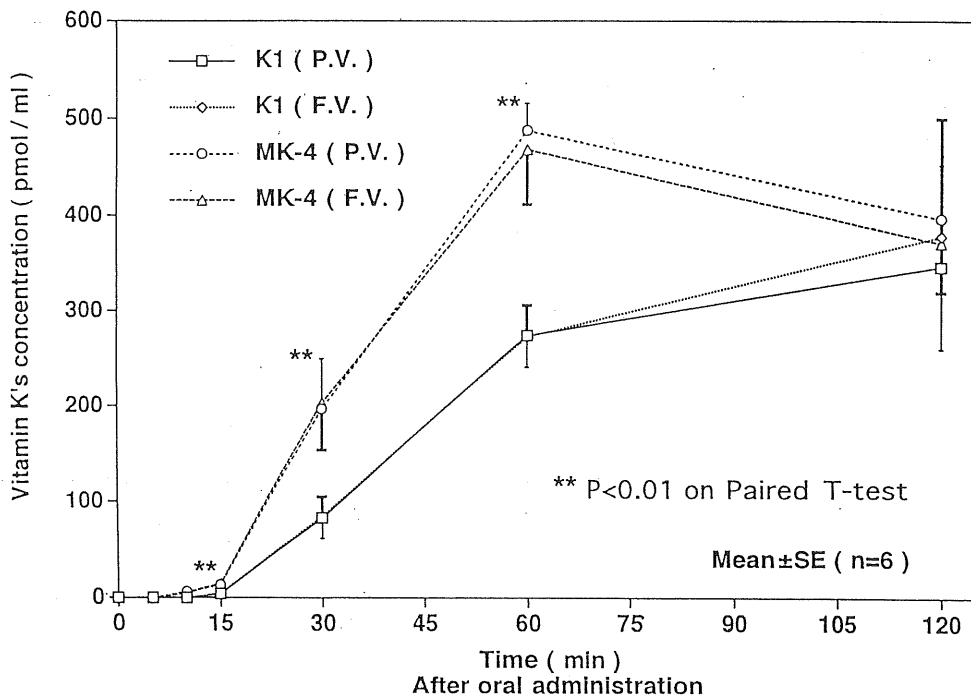


Fig. 4. Vitamin K's concentration in plasma after K₁ and MK-4 oral administration ($50 \mu\text{mol/kg}$)

に同時に検出されはじめ、120分後まで上昇した。血漿 MK4 濃度は、投与120分後まで検出限界 (0.5pmol/ml) 以下であった。門脈血、大腿静脈血間の血漿中 K_1 濃度間に有意差はなかった。 K_1 の吸収は他の脂溶性物質の吸収と同じように、胆汁酸のミセルを通じて、空腸上部から吸収され、カイロミクロンに含まれリンパ管に入り、静脈角より血中に移行するといわれており⁹⁾、本実験でも、これを支持する結果が得られた。

Fig. 3 に示すように MK 4 単独投与群では、血漿 MK4 濃度は、投与10分後に門脈血、大腿静脈血中に同時に検出されはじめ、120分後まで上昇した。血漿 K_1 濃度は、投与120分後まで検出限界以下であった。門脈血、大腿静脈血間の血漿中 MK4 濃度間に有意差はなかった。本実験結果より、MK 4 の吸収についても、 K_1 同様、経リンパ的吸収が主体の可能性が示唆された。

Fig. 4 に示すように K_1 , MK4 同時投与群では、投与10分後から、門脈血漿中、大腿静脈血漿中に同時に MK4 が検出され15分後には、 K_1 も検出されたが、15, 30, 60分後において血漿 MK4 濃度が、有意に血漿 K_1 濃度より高値を示した。血漿 MK4 濃度の上昇は、単独投与時と比較し投与60分後以降上昇せず、投与120分後の血漿 MK4 濃度は約370pmol/ml で単独投与時の約1/2であった。これに対し血漿 K_1 濃度は、出現時間が、1/2に短縮し、投与120分後の血漿 K_1 濃度は約340pmol/ml で単独投与時の約1.3倍であった。同時投与120分後の血漿 K_1 , MK4 濃度の和は約710pmol/ml で MK4 の単独投与時の濃度約800pmol/ml に近いことから、血漿中に存在出来る総ビタミン K 量に一定の限界がある可能性が推察された。門脈血、大腿静脈血間の血漿 K_1 , MK4 濃度間に有意差はなかった。

Fig. 5 に示すように MK4/ K_1 濃度比は15分で約4 と最も高値となり、以後、低下し、120分後では約1 となった。

単独、同時投与を問わず、MK-4 は K_1 よりも早く血中に移行することが観察された。このことより K_1 , MK-4 の分子構造、特に側鎖の二重結合数 (K_1 ; 1 個, MK4 ; 4 個) の違いが、生体膜にたいする透過性に対して、なんらかの影響をあたえている可能性が示唆された。

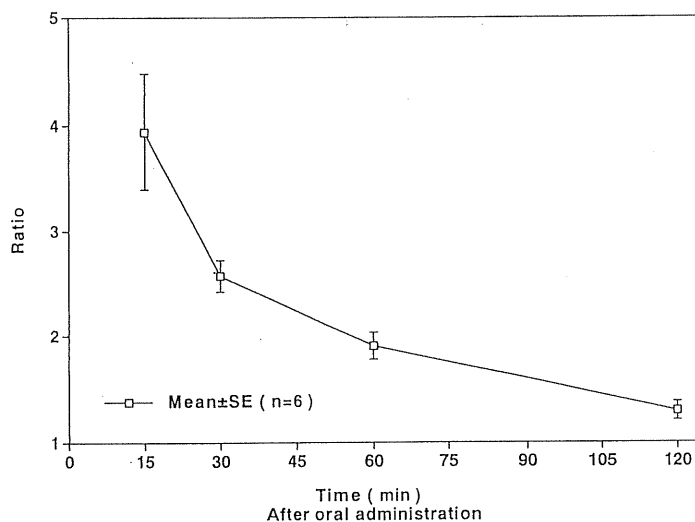


Fig. 5. MK-4 conc. / K_1 conc. ratio in plasma

文 献

- 1) Suttie, J. W. (1985) The Fat-soluble Vitamins (Diplock, A. T. ed.), pp.225-311, William Heinemann, Ltd., London.
- 2) Ramotar, K., Conly, J. M., Chubb, H. & Louie, T. J. (1984) J. Infect. Dis. 150 : 213-218.
- 3) Ansell, J. E., Kumar, R. & Deykin, D. (1977) JAMA 238 : 40-42.
- 4) Hiraie, H., Kimura, M. & Itokawa, Y. (1989) Vitamins (Japan), 63 (1), 25-28
- 5) Miura, M., Hiraie, H., Kimura, M. & Itokawa, Y. (1990) Vitamins (Japan), 64 (1), 459-462
- 6) Higo, K., Hiraie, H., Kimura, M. & Itokawa, Y. (1992) Japan Trace Nutrients Research Society (9) 29-33.
- 7) Hirauchi, K., Sakano, T. & Morimoto, A. (1986) Chem. Pharm. Bull. Tokyo. 34 (2) : 845-9.
- 8) Hiraie, H., Kimura, M. & Itokawa, Y. (1988) J. Chr. 430 : 143-148.
- 9) Hollander, D. & Rim, E. (1978) Am. J. Physiol. 233(1) : E54-E59.