

ビタミンCの不足が胎児の発生や成長、老化や老年病に及ぼす影響

石 神 昭 人

(東京都健康長寿医療センター研究所 老化制御研究チーム 分子老化制御*)

Effect of vitamin C deficiency on fetal and neonatal development and aging.

Akihito ISHIGAMI

Molecular Regulation of Aging, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

Summary

Vitamin C (L-ascorbic acid) is a water-soluble vitamin that functions as an electron donor to reduce the reactive oxygen species. Vitamin C is also a cofactor for numerous biosynthetic enzymes such as prolyl and lysyl hydroxylase for procollagen hydroxylation. Vitamin C is synthesized mainly in the liver of most mammalian species including mice and rats. However, humans, primates, and guinea pigs are unable to synthesize vitamin C *in vivo*. To clarify the relationships between vitamin C and aging, we developed SMP30/GNL knockout mice which unable to synthesize vitamin C *in vivo* and found that these knockout mice were shorter in life-span than the wild-type mice when fed vitamin C low diet (about 2.5% a day of vitamin C). Moreover, we also found that an absence or low intake of vitamin C during pregnancy induced multiple abnormalities in the developing tissues of SMP30/GNL knockout mice. Therefore, a diet that supplies an adequate amount of vitamin C is essential to avoid a life-shortening deficiency and to provide optimal conditions for fetal and neonatal health.

はじめに

ビタミンCは水溶性ビタミンの一種であり、化学的な慣用名をアスコルビン酸という。ビタミンCには化学構造の中に炭素2位および3位にエンジオール基($[-C(OH)=C(OH)-]$)とよばれる非常に強い還元性部位が存在する (Fig. 1)。この化学構造を持つが故にスーパーオキシドラジカル ($O_2^{\cdot-}$) やヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) などの活性酸素種 (ROS) を消去する^{1,3)}。また、生体内でのビタミンCは皮膚や骨に多く存在するコラーゲン繊維の構築、コレステロールなどの脂質代謝、アドレナリンなどカテコールアミン合成に重要な酵素を助ける補因子としての働きもある^{4,5)}。

ビタミンCは水溶性であるため、尿から排泄されやすく、消失しやすい^{6,8)}。私たちヒトは、ビタミンC生合成経路の最後に位置する酵素、L-グルロラクトン酸化酵素の遺伝子に進化の過程で多くの変異が入ったため、ビタミンCをからだの中で作ることができない。ビタミンCをからだの中で作ることができない動物は、ヒト、サル、モルモットなど限られた動物だけである。他の動物、例えばイヌやネコ、マウスなどほとんどの動物はからだの中でビタミンCを作ることができる。そのため、私たちは毎日の

食事からビタミンCを十分に摂取しなければ、やがて不足、欠乏状態に陥る。そして、最後にはビタミンC欠乏症である壊血病を発症し、死に至る。本稿では、ビタミンC不足が老化や老年病に及ぼす影響、そして母体のビタミンC不足が胎児の発生や成長に及ぼす影響について概説する。

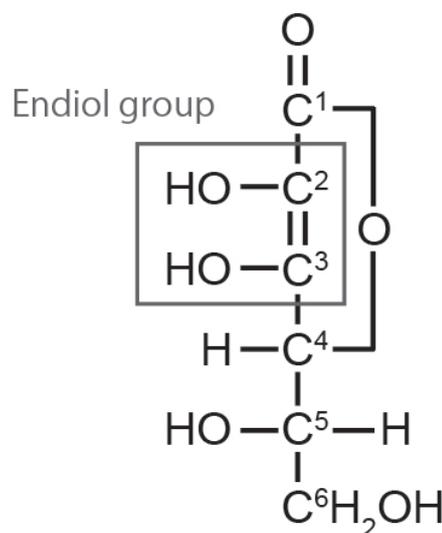


Fig. 1 Chemical structure of vitamin C

*所在地：東京都板橋区栄町35-2 (〒173-0015)

ビタミンC不足が老化に及ぼす影響

著者らはビタミンCと老化との関係を明らかにするため、ビタミンCを体内で合成できないSMP30/GNL遺伝子欠損マウスを開発した⁹⁾。通常、マウスはヒトと異なり体内でビタミンCを合成できるため、ビタミンCの欠乏や不足状態を評価することができない。SMP30/GNL遺伝子欠損マウスは、ビタミンC合成経路の最後から2番目の酵素、グルコノラクトナーゼ(GNL)遺伝子を人為的に破壊したため、ヒトと同様、ビタミンCを長期間摂取しないと、ビタミンC欠乏症である壊血病の症状を呈する⁹⁾。

ビタミンCと老化との関係を明らかにするため、SMP30/GNL遺伝子欠損マウスをビタミンCの少ないエサ(1日必要量の2.5%のビタミンC)で飼育し、野生型マウスと寿命を比較した。その結果、野生型マウスの50%生存率が約24ヵ月であったのに対して、SMP30/GNL遺伝子欠損マウスの50%生存率はその1/4である約6ヵ月であった^{9,10)}。死因を特定するために病理解剖を行ったがガンや炎症、特定の臓器疾患、出血、骨密度の低下は認められなかった。このようにビタミンCの長期的な不足は寿命を短くすると考えられる。ビタミンCの長期的な不足が寿命をどのように短くするのか、その詳細なメカニズムはまだ明らかではない。もし、組織や細胞内のROSの増加やその蓄積が老化の一因であるならば、ビタミンC不足による体内でのROSの増加が寿命を短くする可能性も考えられる。そこで、組織中ROSの量をROS検出蛍光試薬であるcarboxy-H₂DCFDAを用いて測定した。その結果、ビタミンCが不足したSMP30/GNL遺伝子欠損マウスでは、ビタミンCを十分に与えたSMP30/GNL遺伝子欠損マウスに比べて、調べたすべての組織(胃、十二指腸、精巣、脳、膵臓、心臓、足底筋、ひらめ筋、腎臓)において、ROSが高い値を示した。しかし、組織中でのROSの増加がビタミンC不足による寿命短縮の一因であるのか、その確証はまだ得られていない。

ビタミンC不足が老年病に及ぼす影響

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は気道および肺実質の慢性的炎症の結果、可逆性の乏しい気流閉塞を生じる慢性呼吸器疾患であり、高齢者に多い疾患である。COPD患者の多くが慢性的な喫煙習慣を伴うため、COPDの発症には喫煙による肺での酸化ストレスの増加が指摘されていた。SMP30/GNL遺伝子欠損マウスをビタミンC不足状態にして8週間、タバコ煙の曝露を行ったところ、COPDの主要な病理変化である肺気腫、すなわち肺胞の破壊による気腔の拡大が生じた¹¹⁾。また、肺での酸化ストレスの増加およびアポトーシスの誘導が顕著に認められた。一方、野生型マウスの肺ではほとんど変化は認められなかった。このように、ビタミンCの不足は喫煙によるCOPD発症

のリスクを高めると考えられる。また、十分なビタミンCの摂取は喫煙によるCOPD発症リスクを下げられる可能性がある¹²⁾。

高齢者における血漿ビタミンC濃度と運動機能との関連

高齢者での栄養不良、低栄養(タンパク質欠乏やエネルギー欠乏)は、免疫力低下、感染症および慢性疾患の増悪と治癒を長引かせる要因となり、筋肉量や筋力の低下、いわゆる筋肉減少症(サルコペニア)を増強していると考えられる。著者らは、地域在宅高齢女性を対象とした横断調査により、血漿ビタミンC濃度と運動機能に関する調査を行った¹³⁾。すなわち、東京都板橋区在住の70~84歳の女性を住民台帳から抽出し、平成18年11月に介護予防を目的としたお達者健診を実施した。健診受診者は957名であった。調査内容は、身長、体重等の身体計測、身体活動機能(運動)測定、面接聞き取りによる食生活習慣調査、血液検査(血漿ビタミンC濃度等)である。解析には面接聞き取り調査によるビタミンCサプリメント摂取者を除外した655名分のデータを使用した。対象者の年齢は75.7±4.1歳、血漿ビタミンC濃度は8.9±1.5mg/L、毎日野菜を摂取する者は84.2%、毎日果物を摂取する者は81.8%であった。血漿ビタミンC濃度と既往歴との関係では、高血圧及び糖尿病を持つ者は、既往を持たない者より、血漿ビタミンC濃度が有意に低かった。血漿ビタミンC濃度と、握力、開眼片足(片足で立っている時間)、通常歩行速度には有意な正相関が見られた。すなわち血漿ビタミンC濃度が高い者ほど握力が強い傾向が見られた。この関連はいくつかの交絡因子(年齢、BMI(Body Mass Index)、体脂肪率、高血圧既往有無、糖尿病既往有無、果物摂取の有無)で調整しても有意であった。このように血漿ビタミンC濃度は、在宅高齢者女性の筋肉量及び運動機能に関わる可能性が示唆される。

母体のビタミンC不足が胎児の発生や新生児の成長に及ぼす影響

「日本人の食事摂取基準(2010年版)」では新生児の壊血病を防ぐため、妊婦や授乳婦の付加量が設けられている。しかし、母体のビタミンC不足が胎児の発生や小児の成長に及ぼす影響を調べた報告は少ない。そこで、著者らはビタミンCを体内で合成できないSMP30/GNL遺伝子欠損マウスを用いて、妊娠期間中、母体のビタミンC欠乏や不足が胎児や新生児の発達、成長に及ぼす影響を調べた¹⁴⁾。

はじめに、ビタミンCを十分に与えた雌と雄のSMP30/GNL遺伝子欠損マウスを交配し、臍栓の有無により妊娠を確認した。その後、雌マウスにビタミンCを十分に与える群[VC(+)]と全く与えない群[VC(-)]

の2群に分けて妊娠の経過を観察した。その結果、妊娠期間中ビタミンCを全く与えなかったVC(-)群の雌マウスからは、新生児マウスが1匹も生まれてこなかった。一方、妊娠期間中ビタミンCを十分に与えたVC(+)群の雌マウスからは、正常に新生児マウスが生まれた。妊娠期間中、雌マウスの血中ビタミンC濃度を継時的に調べた結果、妊娠5日目のVC(-)群では、妊娠時のおよそ25%にまで血中ビタミンC濃度が低下し、出産予定日にあたる妊娠20日目には、血中ビタミンC濃度が枯渇状態であった。この時、VC(-)群の雌マウスに壊血病の症状は見られなかった。また、妊娠19日目に胎児を摘出して観察したところ、VC(-)群のすべての胎児は既に死亡していた。

妊娠期間中、雌マウスのVC欠乏は胎生致死となることがわかった。そこで、次に、妊娠期間中に少量のVCを与え、妊娠期間中のVC不足が胎児や新生児に及ぼす影響を調べた。予め雌のSMP30/GNL遺伝子欠損マウスを1か月間、1日必要量(7mg)の25%のビタミンCを与えて飼育し、ビタミンC不足状態にした。次に、ビタミンCを十分に与えた雄のSMP30/GNL遺伝子欠損マウスと交配し、膈栓の有無により妊娠を確認した。その後、マウスが1日に必要とするビタミンC量の25%のビタミンC[VC(Low)]を与え、妊娠期間中のビタミンC不足が胎児や新生児に及ぼす影響を調べた。この量のビタミンCを与えた場合、壊血病の症状は見られない。妊娠確認時、VC(Low)群の血中ビタミンC濃度は、VC(+)群の5%以下であり、妊娠20日目の血中ビタミンC濃度は、VC(+)群のおよそ1%であった。VC(Low)群から生まれた新生児マウスは、そのほとんどが出生後、数日以内に死亡した。死因を究明するため、出生後24時間以内の新生児マウスから全身切片を作成し、病理学的解析を行った。その結果、VC(Low)群から生まれた新生児マウスは、VC(+)群から生まれた新生児マウスに比べて心臓の心室壁が菲薄化しており、心拡張が認められた。同時に、肝臓や肺で顕著なうっ血も認められた。これらの病理所見は、ヒトでの拡張型心筋症の所見とよく一致する(Fig. 2)。また、他の病理所見として、肺では肺泡が潰れ、椎体に肥大化した軟骨細胞が多く見られるなど骨形成の異常や無眼球症(3.9%)が認められた。直接的な死因ははっきりしないが、肺泡の萎縮による呼吸不全が原因ではないかと考えている。このように、妊娠期間中、母体のビタミンC不足は、胎児や新生児に異常な心拡張を引き起こし、重篤な呼吸・循環障害を来すことがわかった。

おわりに

ほとんどの日本人はビタミンCを毎日の食事から十分に摂取していると思っている。しかし、ビタミンCは水溶性であるため、尿から排泄されやすく、体内消費量も多いことから消失しやすい。そのため、私たちは気づかない

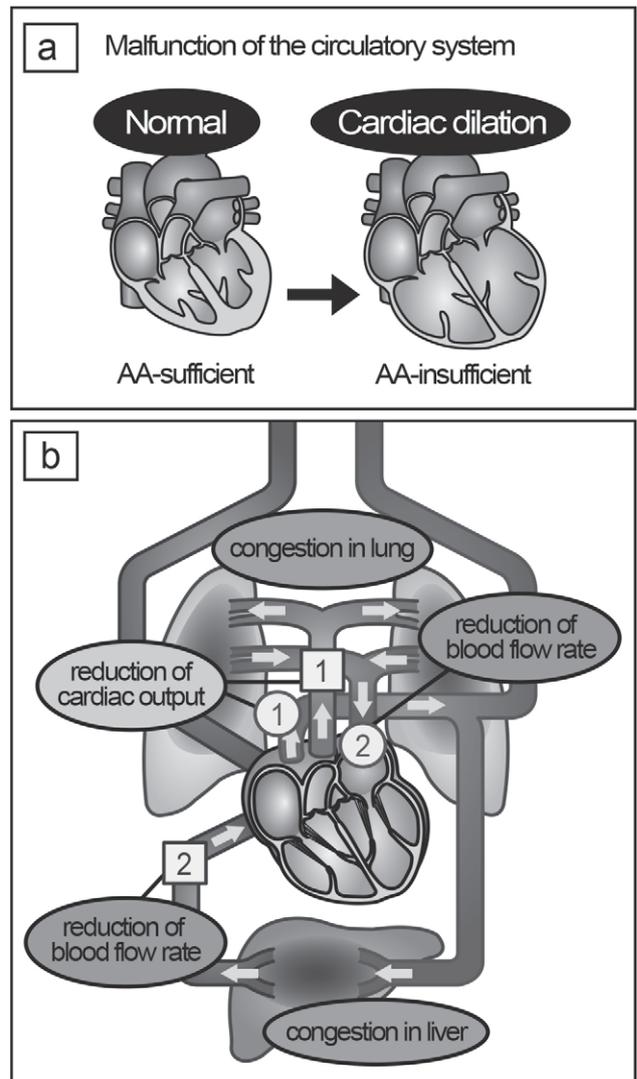


Fig. 2 Schematic illustrations of the hypothesis that insufficient intake of vitamin C during gestation leads to fetal congestive heart failure. Insufficient intake of vitamin C during gestation induces abnormal heart development such as (a) thinning of the ventricular myocardium. (b) Thinning of the ventricular wall reduces cardiac output (1) and allows blood to accumulate in the heart, resulting in an increase of internal cardiac pressure. Intolerance of such pressure promotes cardiac dilation. Finally, the reduced blood flow (2) facilitates congestion in the liver and lung and incomplete expansion of pulmonary alveoli.

うちにビタミンC不足状態に陥っている可能性がある。

ビタミンCを生合成できないSMP30/GNL遺伝子欠損マウスを用いた研究からもわかるとおり、ビタミンCの不足状態が長期的に続くと寿命が短くなる可能性がある。また、妊娠、出産時のビタミンC不足は新生児に拡張型心筋症を招く可能性がある。これを避けるためにも、私たちは新鮮な野菜や果物からビタミンCを十分に摂取するよう日頃から心がける必要がある。

参考文献

- 1) Bielski BH, Richter HW, Chan PC (1975) Some properties of the ascorbate free radical. *Ann N Y*

- Acad Sci 258: 231-237.
- 2) Nishikimi M (1975) Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. *Biochem Biophys Res Commun* 63: 463-468.
 - 3) Kondo Y, Sasaki T, Sato Y, Amano A, Aizawa S, Iwama M, Handa S, Shimada N, Fukuda M, Akita M, Lee J, Jeong KS, Maruyama N, Ishigami A (2008) Vitamin C depletion increases superoxide generation in brains of SMP30/GNL knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun* 377: 291-296.
 - 4) Amano A, Tsunoda M, Aigaki T, Maruyama N, Ishigami A (2013) Effect of ascorbic acid deficiency on catecholamine synthesis in adrenal glands of SMP30/GNL knockout mice. *Eur J Nutr* (in press).
 - 5) Kishimoto Y, Saito N, Kurita K, Shimokado K, Maruyama N, Ishigami A (2013) Ascorbic acid enhances the expression of type 1 and type 4 collagen and SVCT2 in cultured human skin fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 430: 579-584.
 - 6) Iwama M, Shimokado K, Maruyama N, Ishigami A (2011) Time course of vitamin C distribution and absorption after oral administration in SMP30/GNL knockout mice. *Nutrition* 27: 471-478.
 - 7) Uchida E, Kondo Y, Amano A, Aizawa S, Hanamura T, Aoki H, Nagamine K, Koizumi T, Maruyama N, Ishigami A (2011) Absorption and excretion of ascorbic acid alone and in acerola (*Malpighia emarginata*) juice: comparison in healthy Japanese subjects. *Biol Pharm Bull* 34: 1744-1747.
 - 8) Kondo Y, Higashi C, Iwama M, Ishihara K, Handa S, Mugita H, Maruyama N, Koga H, Ishigami A (2012) Bioavailability of vitamin C from mashed potatoes and potato chips after oral administration in healthy Japanese men. *Br J Nutr* 107: 885-892.
 - 9) Kondo Y, Inai Y, Sato Y, Handa S, Kubo S, Shimokado K, Goto S, Nishikimi M, Maruyama N, Ishigami A (2006) Senescence marker protein 30 functions as gluconolactonase in L-ascorbic acid biosynthesis, and its knockout mice are prone to scurvy. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 5723-5728.
 - 10) Ishigami A, Kondo Y, Nanba R, Ohsawa T, Handa S, Kubo S, Akita M, Maruyama N (2004) SMP30 deficiency in mice causes an accumulation of neutral lipids and phospholipids in the liver and shortens the life span. *Biochem Biophys Res Commun* 315: 575-580.
 - 11) Sato T, Seyama K, Sato Y, Mori H, Souma S, Akiyoshi T, Kodama Y, Mori T, Goto S, Takahashi K, Fukuchi Y, Maruyama N, Ishigami A (2006) Senescence marker protein-30 protects mice lungs from oxidative stress, aging, and smoking. *Am J Respir Crit Care Med* 174: 530-537.
 - 12) Koike K, Kondo Y, Sekiya M, Sato Y, Tobino K, Iwakami SI, Goto S, Takahashi K, Maruyama N, Seyama K, Ishigami A (2010) Complete lack of vitamin C intake generates pulmonary emphysema in senescence marker protein-30 knockout mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 298: L784-792.
 - 13) Saito K, Yokoyama T, Yoshida H, Kim H, Shimada H, Yoshida Y, Iwasa H, Shimizu Y, Kondo Y, Handa S, Maruyama N, Ishigami A, Suzuki T (2012) A Significant Relationship between Plasma Vitamin C Concentration and Physical Performance among Japanese Elderly Women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 67: 295-301.
 - 14) Kishimoto Y, Kanai T, Sato K, Lee J, Jeong KS, Shimokado K, Maruyama N, Ishigami A (2013) Insufficient ascorbic acid intake during gestation induces abnormal cardiac dilation in fetal and neonatal SMP30/GNL knockout mice. *Pediatr Res* 73: 578-584.