

ラットにおける銅欠乏時のミネラル栄養状態

横井 克彦・木村 美恵子・糸川 嘉則
(京都大学医学部衛生学教室*)

Mineral Status in Copper-Deficient Rats

Katsuhiko YOKOI, Mieko KIMURA and Yoshinori ITOKAWA
Department of Hygiene, Faculty of Medicine, Kyoto University

To clarify the effect of copper-deficiency on mineral status in rats, 14 male Wistar rats, weighting about 60g, were equally and randomly divided into two groups, and fed either control diet or copper-deficient diet. Diet and deionized double-distilled water were given for 5 weeks *ad libitum*. Mineral levels (copper, iron, zinc, manganese, calcium, magnesium, phosphorus and sulfur) in plasma and tissues were determined by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry after wet digestion by nitric acid. Hemoglobin, hematocrit, plasma unsaturated iron binding capacity and ceruloplasmin level were determined. Significant changes observed in the rats fed copper-deficient diet compared with the rats fed control diet were as follows: copper concentration decreased in plasma and all tissues; iron concentration increased in liver, while iron concentration decreased in plasma, lung, spleen and tibia; zinc concentration decreased in kidney and tibia; manganese concentration increased in kidney; unsaturated iron binding capacity increased; total iron binding capacity saturation and ceruloplasmin decreased.

完全静脈栄養法施行中に銅欠乏症が発生すること¹⁾や銅欠乏時に鉄欠乏性類似の貧血症が発生すること²⁾, 妊娠貧血の治療に有効な漢方薬は高濃度の銅を含有することが報告され³⁾, 銅の栄養状態が鉄の栄養状態に及ぼす影響の重要性が認識されるようになってきた。しかし, 銅欠乏のミネラル栄養状態に及ぼす影響に関する詳細な検討は少ない。そこで, 今回ラットを銅欠乏飼料で飼育し, 組織中ミネラル濃度や血漿中生化学検査値について検討した。

*所在地:京都市左京区吉田近衛町(〒606)

実験方法

実験に用いた動物は、4週令平均体重約60gのWistar系雄ラットであり、対照群7匹、銅欠乏群7匹の2群に分け、それぞれの群に、正常合成飼料、銅欠乏飼料を蒸留水とともに与え、摂餌飲水は自由とした。飼料の組成は、Table 1に示した。5週間飼育後、ペントバルビタール麻酔下にて腹部大動脈より採血し、各種組織を採取した。血液のヘマトクリット値を毛細管法、ヘモグロビン濃度をシアノメトヘモグロビン法 (Hemokit-N, 日本商事, 大阪) で測定した。血漿を分離後、不飽和鉄結合能 (UIBC) をUIBC-テスト (和光純薬, 大阪) にて、セルロプラスミン (Cp) をRavin法⁴⁾にて測定した。血漿、全血および組織は、Advantec社 (東京) 製ホットブロックバスTPB-62を用い、硝酸にて湿式灰化後、適宜希釈し、島津シーケンシャルプラズマ分析装置ICPS-1000IIにて、イットリウムを内標準とし、銅、鉄、亜鉛、マンガン、リン、イオウ、カルシウム、マグネシウム濃度を測定した。

統計処理はWelchのtテストを用いた。

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredient	Control	Cu deficiency
	g/kg Diet	g/kg Diet
Sucrose	329.993	330.00
Starch	300.00	200.00
Casein	200.00	200.00
Olive oil	100.00	100.00
Cellulose	20.00	20.00
CuSO ₄ · 5H ₂ O	7.111 mg	—
Mineral mixture ¹	40.00	40.00
Vitamin mixture ²	5.00	5.00
DL-Methionine	3.00	3.00
Choline chloride	2.00	2.00
	1000.00	1000.00

¹The mineral mixture of M. S. Mameesh and B. C. Johnson (J. Nutr. 65 : 161, 1958) without CuSO₄ · 5H₂O was used with supplementation of 1.1 mg Na₂SeO₃ per 1 kg diet.

²Panvitan powder* (Takeda Chemical Industries, Ltd.).

実験結果

飼育開始時のラットの体重は、両群ともに 64 ± 1 g (mean \pm SEM), 5週間後の体重は、対照群 172 ± 6 g, 銅欠乏群 166 ± 6 gであり、両群間に有意差はなく、摂食量、臓器重量に差はなかった。外見上も両群の間に差はなかった。

血液学的検査値並びに血漿生化学検査値は Table 2 に示した。ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値は両群間に差がなかったが、銅欠乏群は対照群に比べ、血漿中鉄濃度, Cp, 総鉄結合能飽和率(Fe/TIBC)が有意に低下し、UIBC が有意に上昇した。対照群に比べて銅欠乏群のラットの組織中銅濃度は、すべての組織で減少した (Fig. 1.)。銅欠乏群のラットの組織中鉄濃度は、対照群に比較して、血漿, 肺, 脾臓, 脛骨で有意に低下したが、肝臓では有意に上昇した (Fig. 2.)。対照群に比較して銅欠乏群のラットの組織中亜鉛濃度は、腎臓, 脛骨で有意に低下し (Fig. 3.), マンガン濃度は、腎臓中で有意に上昇した (Fig. 4.)。

また、リン, イオウ, カルシウム, マグネシウムはデータを示さないが、対照群と銅欠乏群の間には差がなかった。

Table 2. Hematological data in blood and biochemical parameters in plasma of rats

Group	Hct ¹	Hb ²	plasma-Fe	UIBC ³	TIBC ⁴	Fe/TIBC ⁵	plasma-Cu	Cp ⁶
	%	g/dl	μ g/ml	μ g/ml	μ g/ml	%	μ g/ml	A 530nm
Control	45.4 ± 1.1	16.0 ± 0.3	1.2 ± 0.1	3.5 ± 0.1	4.5 ± 0.2	26 ± 2	1.0 ± 0.1	0.63 ± 0.03
Cu deficiency	46.1 ± 1.3	16.0 ± 0.4	$0.75 \pm 0.10^*$	$4.2 \pm 0.2^*$	4.9 ± 0.3	$15 \pm 2^\#$	n.d.	$0.02 \pm 0.01^\#$

Data were represented as mean \pm SEM. n = 7.

Significant difference from Control : * $p < 0.05$, # $p < 0.01$.

¹Hematocrit.

²Hemoglobin.

³Unsaturated iron binding capacity.

⁴Total iron binding capacity (= plasma-Fe + UIBC).

⁵TIBC saturation (= plasma-Fe \div TIBC \times 100).

⁶Ceruloplasmin was determined as *p*-phenylenediamine oxidase activity by the change of absorbance at 530 nm per 1 h using the method of Ravin (ref. 4).

考 察

銅欠乏群のラットの組織中銅濃度, Cp は対照群より有意に低下し、今回の銅欠乏飼料による5週間の飼育で、ラットは銅欠乏状態になっていたと考えられる。Cp は肝臓中で合成されるとされており⁵⁾, 銅欠乏群では基質である銅が肝臓中で不足し、Cp の合成低下を招き、Cp および血漿銅の低下をきたしたことが示唆される。

一方、組織中鉄濃度は、銅欠乏群と対照群を比較すると、銅欠乏群の肝臓中のみで上昇し、血漿や他の組織ではむしろ減少した。銅欠乏による肝臓中鉄濃度の上昇の機構はかならずしも明らかにされてい

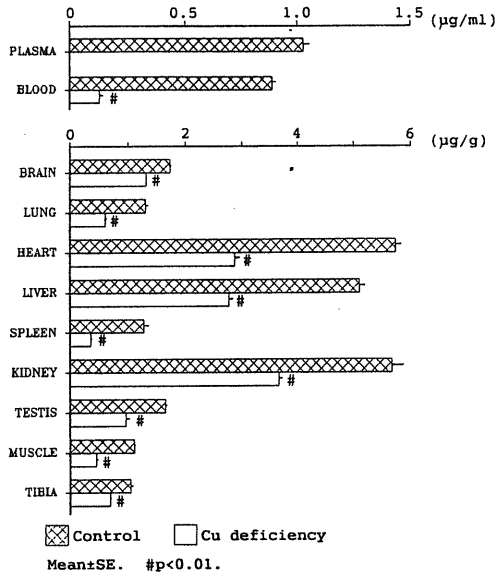


Fig. 1. Copper concentrations in tissues of rats.

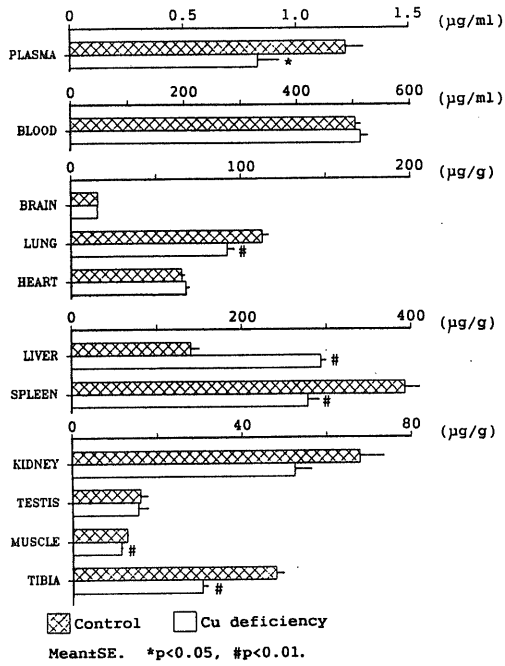


Fig. 2. Iron concentrations in tissues of rats.

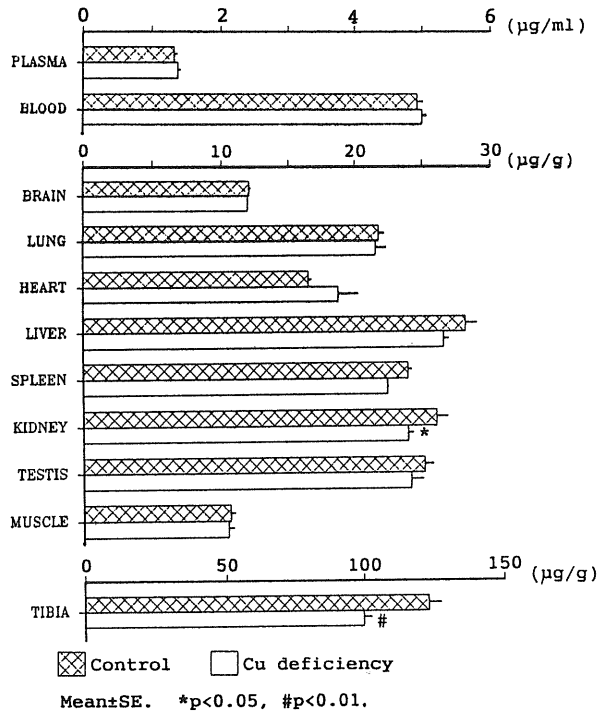


Fig. 3. Zinc concentrations in tissues of rats.

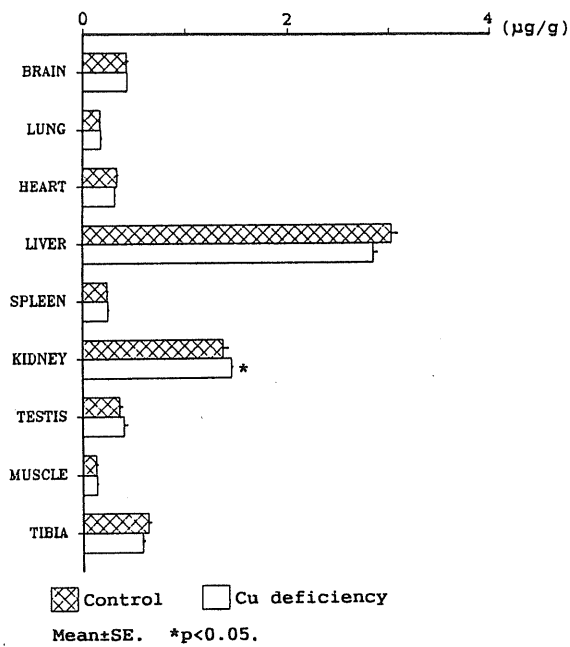


Fig. 4. Manganese concentrations in tissues of rats.

ないが⁶⁻⁸⁾、本研究の結果から、銅欠乏により肝臓からの鉄の輸送が減少したため、肝臓では鉄が貯留し、血漿や他の組織では逆に鉄濃度の低下や血漿鉄飽和率の低下を招いたことが示唆される。Cpは鉄とトランスフェリンの結合を触媒しているとされており⁹⁻¹¹⁾、今回の銅欠乏群の総鉄結合能飽和率の低下にCpの低下が関与している可能性がある。鉄欠乏だけではなく、銅欠乏によっても貧血症の発生することが報告されているが²⁾、鉄の摂取量が多い場合、銅欠乏によって生ずる貧血の発生が防がれるとの説があり¹²⁾、銅欠乏による貧血の発生条件について検討を要する。

一方、組織中亜鉛濃度は銅欠乏によって、腎臓および脛骨で減少したが、骨組織は亜鉛の主な生体内プールであり、銅欠乏に伴う潜在的な亜鉛欠乏症¹³⁾の発生が示唆される。腎臓中マンガン濃度も銅欠乏によって僅かではあるが有意に増加し、銅の栄養状態がマンガンのbody statusに影響する可能性が示唆された。

以上の結果から、銅欠乏飼料の摂取によって銅欠乏を起こすだけではなく、鉄、亜鉛、マンガンの栄養状態の変化を招くことが明らかとなった。従って、銅以外のこれらの元素の栄養状態を評価する場合、銅の栄養状態を示す指標、特に臨床的には血漿ないし血清中銅濃度あるいはCp濃度にも同時に注意を払う必要があるだろう。

文 献

1. GRAHAM, G. G. and A. CORDANO (1969) *Johns Hopkins Med. J.* 124 : 139
2. KARPAL, J. T. and V. H. PEDEN (1972) *J. Pediatr.* 80 : 32
3. 田中 熟 (1989) *和漢医薬学会誌* 6 : 528
4. RAVIN, H. A. (1961) *J. Lab. Clin. Med.* 58 : 161
5. FRIENDEN, E. and H. S. HSIEH (1976) *Adv. Enzymol.* 44 : 187
6. SORKES, T. L., K. LLOYD and H. BIRNBAUM (1968) *Can. J. Biochem.* 46 : 267
7. OWEN, C. A. (1973) *Am. J. Physiol.* 224 : 514
8. SHERMAN, A. R. (1981) *Nutr. Res.* 1 : 363
9. OSAKI, S., D. A. JOHNSON and E. FRIEDEN (1966) *J. Biol. Chem.* 241 : 2746
10. OSAKI, S., D. JOHNSON and E. FRIEDEN (1971) *J. Biol. Chem.* 246 : 3018
11. ROSER, H. P., G. R. LEE, S. NACHT and G. E. CARTWRIGHT (1970) *J. Clin. Invest.* 49 : 2408
12. SCOTT, E. M. and R. H. MCCOY (1944) *Arch. Biochem.* 5 : 349
13. 木村美恵子 *最新医学* (1990) 45 : 725