

鉄—銅欠乏ラットの血液生化学性状について

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*)

Effect of Iron and Copper Deficiency on Blood Biochemical Parameters in Rats

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

To clarify the effect of iron (Fe) and copper (Cu) deficiency on blood biochemical parameters, a 2 × 4 factorially arranged experiment utilized 8 groups of male Wistar rats weighing about 50 g (8 rats for each group) was done. The variables were supplement Fe and Cu in diet. Eight kinds of diets were prepared by combining the two levels of Cu (adequate and deficient level) and the four levels of Fe (adequate, one half of adequate, one fourth of adequate and deficient level). The decrease of hemoglobin and hematocrit were induced by Cu deficiency as well as Fe deficiency. Both the decrease of plasma Fe and TIBC saturation and the increase of UIBC and TIBC were evoked by Cu deficiency as well as Fe deficiency. The degree of decrease of TIBC saturation in Cu deficiency depended on the Fe level in diet. Plasma cholesterol and triglyceride was increased in Fe or Cu deficiency. Plasma glucose was also increased in Cu deficiency. The findings suggest Fe and Cu cooperatively act to maintain normal metabolism.

ミネラルが生理作用を発現する場合、他のミネラルの影響を受けることが知られている¹⁻⁴⁾。これまで、鉄および銅の組織中濃度は、それぞれ他方の栄養状態に著しい影響を受けることを報告してきた⁵⁻⁷⁾。即ち、鉄欠乏時には銅の利用障害の結果、肝臓をはじめとする組織中での銅の蓄積を生じ^{5,6)}、銅欠乏時には鉄の輸送障害の結果、肝臓での鉄蓄積と他の組織での低下を招くことを明らかにした⁷⁾。今回、鉄及び銅の栄養状態が血液生化学性状に及ぼす影響を明らかにするため、ラットを鉄及び銅欠乏飼料にて飼育し、各種生化学検査項目を測定し、検討した。

*所在地：京都市左京区吉田近衛町（〒606）

方 法

体重約50gのWistar系雄ラット64匹を8匹づつ8群に分け、Table 1に示す8種の合成飼料即ち、①鉄無添加-銅無添加 (Fe 0-Cu 0)、②鉄1/4量-銅無添加 (Fe 1/4-Cu 0)、③鉄1/2量-銅無添加 (Fe 1/2-Cu 0)、④鉄正常量-銅無添加 (Fe 1-Cu 0)、⑤鉄無添加-銅正常量 (Fe 0-Cu 1)、⑥鉄1/4量-銅正常量 (Fe 1/4-Cu 1)、⑦鉄1/2量-銅正常量 (Fe 1/2-Cu 1)、⑧鉄正常量-銅正常量 (Fe 1-Cu 1)の飼料と再蒸留水を与え、摂餌飲水は自由とした。ICP発光分析法による飼料中铁濃度の実測値は、Fe 0:1.2 mg/kg, Fe 1/4:30 mg/kg, Fe 1/2:60 mg/kg, Fe 1:120 mg/kg, 銅濃度の実測値はCu 0:0.18 mg/kg, Cu 1:1.8 mg/kgであった。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、血液はヘマトクリット、ヘモグロビン濃度を測定した。血液を3000 rpmで、15分間遠沈し、血漿を分離し、島津自動生化学分析装置CL-7000を用いて各種生化学検査を実施した。統計処理には、2元配置分散分析を用い、群間の比較にはBonferroni型多重比較検定を行なった。

Table 1. Composition of experimental diet (g)

Group	Fe 0 Cu 0	Fe 1/4 Cu 0	Fe 1/2 Cu 0	Fe 1 Cu 0	Fe 0 Cu 1	Fe 1/4 Cu 1	Fe 1/2 Cu 1	Fe 1 Cu 1
Fe citrate · 3H ₂ O	—	0.160	0.320	0.640	—	0.160	0.320	0.640
CuSO ₄ · 5H ₂ O	—	—	—	—	7.111 mg	7.111 mg	7.111 mg	7.111 mg
Fe & Cu free salt ¹	39.353	39.353	39.353	39.353	39.353	39.353	39.353	39.353
Sucrose	330.647	330.487	330.327	330.007	330.640	330.480	330.320	330.000
Casein	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000	200.000
Potato starch	300.000	300.000	300.000	300.000	300.000	300.000	300.000	300.000
Olive oil	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
Cellulose	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000	20.000
Vitamin mixture ²	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000
Choline chloride	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
DL-Methionine	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
	1000.000	1000.000	1000.000	1000.000	1000.000	1000.000	1000.000	1000.000

¹The mineral mixture of Mameesh & Johnson (J. Nutr. 65, 161, 1958) without CuSO₄ · 5H₂O and FeC₆H₅O₇ · 5H₂O supplemented with 1.1 mg Na₂SeO₃ per 1 kg diet.

²Panvitan power ® (Takeda Chemical Industries, Ltd, Osaka).

結果と考察

Table 2に、5週間の飼料摂取量、体重増加量と飼料効率を示した。①群と⑤群の飼料摂取量と体重増加量は、それぞれ④群と⑧群に比較して有意に低下したが、飼料効率には差がなかった。

Table 3に、貧血関連の検査値を示した。①群と⑤群はそれぞれ④群と⑧群に比較して、ヘマトクリット値とヘモグロビン濃度、MCHCが有意に低値をとり、鉄無添加食の摂取によって①群と⑤群では著しい貧血を生じていた。③群は⑦群に比較してヘマトクリット値とヘモグロビン濃度が有意に低値をとり、鉄1/2量であっても銅正常量のときには貧血とはならないが、銅欠乏が加わることによって貧

Table 2. Food intake, weight gain and food efficiency in rats during the experimental period

	Food intake	Weight gain	Food efficiency
	g / week	g / week	
① Fe 0 -Cu 0	67.8±2.3*	20.5±1.1*	0.30±0.02
② Fe 1 / 4-Cu 0	87.0±1.7	28.4±0.7	0.33±0.01
③ Fe 1 / 2-Cu 0	87.3±2.5	28.6±0.8	0.33±0.01
④ Fe 1 -Cu 0	91.9±1.8	28.5±0.9	0.32±0.01
⑤ Fe 0 -Cu 1	63.6±1.0*	18.9±0.5*	0.30±0.01
⑥ Fe 1 / 4-Cu 1	91.7±1.7	30.5±0.7	0.33±0.01
⑦ Fe 1 / 2-Cu 1	89.4±2.9	28.6±1.5	0.32±0.01
⑧ Fe 1 -Cu 1	84.4±0.9	26.8±0.9	0.32±0.01
Analysis of variance-P values.			
Fe effect	0.0001	0.0001	0.02
Cu effect	ns	ns	ns
Fe × Cu	0.01	ns	ns

Mean ± SE (n = 8).

*Significant difference ($p < 0.05$) as compared with the rats fed the diet containing normal iron level (Fe 1) at the same dietary copper level by Bonferroni's multiple comparison test.

Table 3. Blood parameters concerning hematological response in rats

	Hb	Hct	MCHC	plasma Fe	UIBC	TIBC	TIS
	g / dl	%	g / dl	μg / dl	μg / dl	μg / dl	%
① Fe 0 -Cu 0	4.7±0.2*	17.9±0.7*	26.6±0.3*	24.7±1.2*	736±16*	761±16*	3.25±0.16*
② Fe 1 / 4-Cu 0	14.0±0.3	44.2±0.6	31.7±0.4	71.2±6.2	388±22**	459±18**	15.8±1.6
③ Fe 1 / 2-Cu 0	14.0±0.2#	42.8±0.8#	32.7±0.6	62.8±5.1#	351± 3#	414±19	15.1±0.8#
④ Fe 1 -Cu 0	14.4±0.2	44.2±0.7	32.7±0.5	64.7±4.4#	333± 9	398± 8	16.3±1.1#
⑤ Fe 0 -Cu 1	4.5±0.1*	16.3±0.6*	27.5±0.7*	22.7±1.4*	688±27*	711±30*	3.19±0.12*
⑥ Fe 1 / 4-Cu 1	14.9±0.3	45.7±1.2	32.7±0.5	79.6±5.0*	282±11	361±15	22.0±0.7
⑦ Fe 1 / 2-Cu 1	15.2±0.3	47.0±1.2	32.4±0.4	102.3±8.1	283±12	385± 8	26.6±2.3
⑧ Fe 1 -Cu 1	15.3±0.1	47.1±0.7	32.5±0.3	114.7±6.3	287± 9	402±10	28.5±1.3
Analysis of variance-P values							
Fe effect	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Cu effect	0.0003	0.005	ns	0.0001	0.0001	0.001	0.0001
Fe × Cu	0.02	0.01	ns	0.0001	0.02	0.01	0.0001

Mean ± SE (n = 8).

Hb = hemoglobin. Hct = hematocrit. MCHC = mean corpuscular hemoglobin concentration.

UIBC = unsaturated iron binding capacity. TIBC = total iron binding capacity. TIS = TIBC saturation.

*Significant difference ($p < 0.05$) as compared with the rats fed the diet containing normal Fe level (Fe 1) at the same dietary Cu level by Bonferroni's multiple comparison test.

#Significant difference ($p < 0.05$) as compared with the rats fed the diet containing normal Cu level (Cu 1) at the same dietary iron level by Bonferroni's multiple comparison test.

血傾向の生ずることが明らかとなった。

血漿中鉄濃度は、④群に比較して①群では有意に低値をとり、③群でも低下傾向が認められた。同様に、③群と④群はそれぞれ⑦群と⑧群に比較して血漿中鉄濃度が有意に低値をとり、銅無添加食の摂取によって血漿中鉄濃度は低下した。

不飽和鉄結合能 (UIBC) は、①群と②群は、④群に比較して有意に高値、⑤群は⑧群に比較して有意に高値をとり、鉄欠乏によって上昇した。同様に②群と③群は、それぞれ⑥群と⑦群に比較して有意に高値をとり、銅無添加食の摂取によって UIBC は上昇した。総鉄結合能 (TIBC) にも、UIBC 同様に鉄欠乏と銅欠乏の影響が認められた。

TIBC 飽和率 (血漿中鉄濃度 ÷ TIBC × 100) は、①群は④群に、⑤群と⑥群は⑧群に比較して有意に低値をとり、鉄欠乏の影響が認められた。③群と④群はそれぞれ⑦群と⑧群に比較して有意に低値となり、銅欠乏の影響が認められた。

Fig. 1 に、飼料中銅および鉄レベルと TIBC 飽和率の相関関係を示した。即ち、TIBC 飽和率と鉄レ

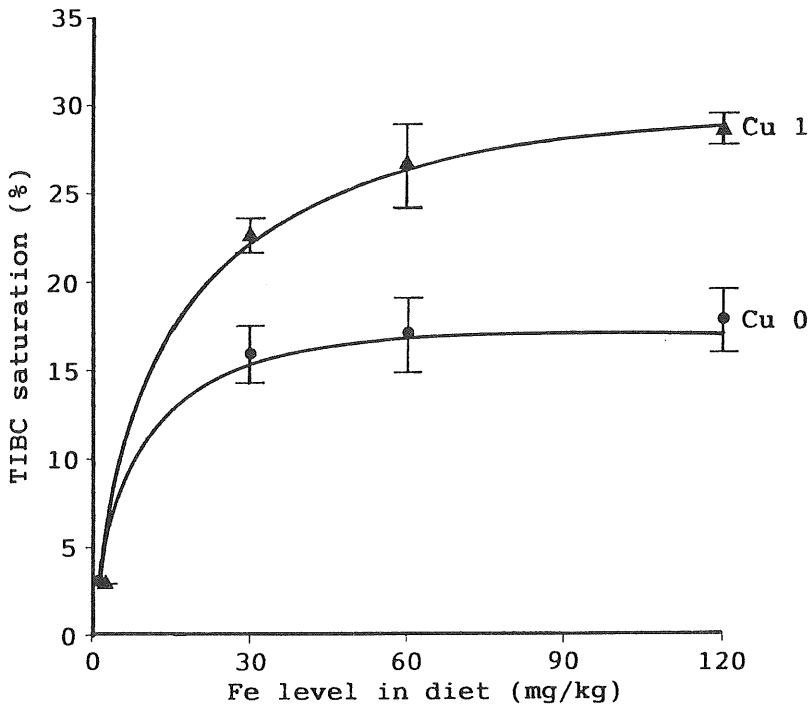


Fig. 1. Effect of iron and copper level in diet on TIBC saturation (TIS).

Values are mean ± SEM (n = 8).

Solid line represents the regression line estimated by multiple nonlinear regression analysis with the following regression equation. Each of nomials significantly ($p < 0.001$) attributes to the determination of TIS. The coefficients of determination (R^2) is 0.94.

$$\log(TIS) = 0.4 + 0.8 \cdot \log C_1 - 0.2 \cdot (\log C_1)^2 + 0.1 \cdot \log C_1 \cdot C_2$$

TIS : TIBC saturation (%).

C_1 : Fe level in diet (mg / kg).

$C_2 = 0$ for Cu 0 and $C_2 = 1$ for Cu 1.

ベルは対数を取り、銅摂取レベルは2水準しかないため0,1の2値変数とし、TIBC飽和率を目的変数とする2次多項式により重相関分析を行った。寄与率は0.94で危険率1%未満の有意の相関が認められた。TIBC飽和率は鉄レベルに依存する飽和型のグラフの形状を示すが、銅レベルが単独に含まれる項は有意ではなく、銅レベルと鉄レベルの積がTIBC飽和率の決定に対し寄与していた。

Table 4に脂質関連項目並びに肝機能系パラメーターを示した。総コレステロールは、分散分析では鉄と銅の単独効果が有意にでており、多重比較では有意差はないものの鉄欠乏と銅欠乏による上昇傾向が認められた。遊離コレステロールは、分散分析の結果、鉄と銅の単独効果が有意であり、①群と⑤群は、それぞれ④群と⑧群に比較して有意に高値をとった。トリグリセリドは、分散分析の結果、鉄と銅の単独効果が有意であり、⑤群は⑧群に比較して有意に高値をとった。非エステル化脂肪酸即ち遊離脂肪酸には、群間に差がなかった。リン脂質は、分散分析の結果、鉄の単独効果が有意であり、鉄欠乏時には上昇する傾向があった。

血糖値は、分散分析の結果、銅の単独効果が有意であり、銅欠乏時には血糖値が上昇する傾向があった。

GOTは、分散分析の結果、鉄の単独効果が有意であり、①群と⑤群はそれぞれ④群と⑧群に比較して有意に高値をとった。GPTは、分散分析の結果、鉄-銅の相互作用のみ有意であり、①群は④群に比較して有意に高値をとった。

データは示さないが、総蛋白質、アルブミン、コリンエステラーゼには差がなかった。

以上の結果より銅欠乏が鉄代謝に及ぼす影響の程度は飼料中铁レベルの影響を著しく受けることが明

Table 4. Blood biochemical parameters concerning lipid metabolism and others of rats

	TCHO	FCHO	TG	NFFA	PL	GLU	GOT	GPT
	mg / dl	mg / dl	mg / dl	mg / dl	mg / dl	mg / dl	IU / l	IU / l
①Fe 0 -Cu 0	92.7±4.4	17.8±1.2*	57.0±7.8	0.39±0.04	139±6	164±6	11.7±0.3*	71.5±4.6
②Fe 1/4-Cu 0	64.5±2.8	9.8±0.7	54.9±2.7	0.52±0.03	104±4	165±5	9.2±0.2	55.1±3.4
③Fe 1/2-Cu 0	79.4±5.7	10.9±0.7	53.9±5.6	0.46±0.04	117±8	139±15	8.8±0.2	49.1±2.8
④Fe 1 -Cu 0	76.0±4.9	10.9±1.0	50.3±7.9	0.53±0.03	96±9	138±6	8.8±0.3	53.1±2.1
⑤Fe 0 -Cu 1	80.5±4.8	14.9±0.9*	65.7±9.4*	0.46±0.05	132±7	137±8	11.2±0.3*	54.7±4.8
⑥Fe 1/4-Cu 1	62.5±5.8	8.4±0.9	34.6±3.7	0.48±0.03	99±8	141±8	9.0±0.2	53.6±3.6
⑦Fe 1/2-Cu 1	63.3±6.5	8.4±1.1	43.7±4.6	0.58±0.05	112±9	149±7	9.3±0.3	54.9±5.1
⑧Fe 1 -Cu 1	63.3±8.3	8.7±1.6	31.0±3.7	0.50±0.03	108±1	125±6	9.0±0.1	59.5±5.2
Analysis of variance-P values								
Fe effect	0.001	0.0001	0.01	ns	0.001	ns	0.0001	ns
Cu effect	0.01	0.004	0.02	ns	ns	0.03	ns	ns
Fe × Cu	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.02

Mean ± SE (n = 8).

TCHO = total cholesterol. FCHO = free cholesterol.

TG = triglyceride. NEFA = nonesterified fatty acid. PL = phospholipid. GLU = glucose.

GOT = glutamic-oxaloacetic transaminase. GPT = glutamic-pyruvic transaminase.

* Significant difference ($p < 0.05$) as compared with the rats fed the diet containing normal iron level (Fe 1) at the same dietary copper level by Bonferroni's multiple comparison test.

らかとなった。即ち、銅欠乏によるヘマトクリットとヘモグロビンの低下は、鉄1/2量のときに顕著であり、銅欠乏によるTIBC飽和率の低下の程度は、摂取鉄レベルの用量に依存して増加することが示唆された。銅欠乏時には、鉄は肝臓のみで蓄積し、他の組織では逆に減少し、鉄の輸送効率低下を生ずることを報告しており⁷⁾、鉄の摂取レベルが高い程、鉄の輸送効率低下の影響が顕著に表われることが示唆された。強度貧血に伴う心筋への負荷の増大^{8,9)}、銅欠乏性の心筋症¹⁰⁾並びに大動脈壁の障害¹¹⁾、銅欠乏性動脈硬化症¹²⁾が報告されている。本実験結果では、鉄ならびに銅欠乏によるコレステロールの上昇が認められ、銅欠乏と鉄欠乏ならびに両者の欠乏の併発は動脈硬化症発生の危険因子となることが示唆された。更に、銅欠乏による血糖値の上昇、鉄および銅欠乏によるトリグリセリドの上昇、鉄欠乏によるリン脂質の上昇も認められ、鉄および銅欠乏と両者の併発では広範囲の糖・脂質系代謝異常を招くことが明らかとなった。現在、これらの詳細なメカニズムについて検討中である。

文 献

1. NIELSEN, F. H. (1988) *Nutr. Rev.* 46 : 337
2. 木村美恵子 (1990) *最新医学* 45 : 725
3. YOKOI, K., M. KIMURA and Y. ITOKAWA (1990) *Biol. Trace Elem. Res.* 24 : 223
4. KIMURA, M. and Y. ITOKAWA (1989) *Magnesium in Health and Disease* (Y. Itokawa & J. Durlach, eds.) (London & Paris) John Libbey pp. 95
5. 横井克彦, 木村美恵子, 加畑寿明, 糸川嘉則 (1988) *微量栄養素研究* 5 : 43
6. YOKOI, K., M. KIMURA and Y. ITOKAWA (1991) *Biol. Trace Elem. Res.* 29 : 257
7. 横井克彦, 木村美恵子, 糸川嘉則 (1990) *微量栄養素研究* 7 : 125
8. DUKE, M. and W. H. ABELMANN (1969) *Circulation* 39 : 503
9. SPROULE, B. J., J. H. MITCHELL and W. F. MILLER (1960) *J. Clin. Invest.* 39 : 378
10. PETERING, H. G., L. MURTHY, K. L. STEMMER, V. N. FINELLI and E. E. MENDEN (1986) *Biol. Trace Elem. Res.* 9 : 251.
11. EVERSON, G. J., H.-C. CHOW TSAI and T.-I. WANG (1967) *J. Nutr.* 93 : 533
12. ALLEN, K. G. D. and L. M. KLEVAY (1978) *Atherosclerosis* 29 : 81