

亜鉛と生体反応 —特に炎症反応と c-fos の発現について—

柳 沢 裕 之, 野 寺 誠, 和 田 攻
埼玉医科大学衛生学教室

Zinc and its action

Hiroyuki Yanagisawa, Makoto Nodera and Osamu Wada

Department of Hygiene & Preventive Medicine, Faculty of Medicine, Saitama Medical School

The present study was designed to examine if zinc (Zn) affects the development of unilateral ureteral obstruction (UUO)-induced tubulointerstitial nephropathy and the expression of the proto-oncogene, c-fos mRNA relating to the induction of apoptosis and carcinogenesis. Compared to rats fed a standard or a high Zn diet, rats fed a Zn deficiency diet showed a more influx of leukocytes into the interstitium and in part had the structural damage of glomeruli in the cortex of the obstructed kidney at day 3 following UUO. These histological changes, however, were ameliorated by administration of enalapril, an angiotensin (ANG) I converting enzyme inhibitor. Again, the expression of c-fos mRNA was observed only in the kidney of rats fed a Zn deficiency diet. Thus, it is suggested that Zn deficiency not only aggravates UUO-induced tubulointerstitial nephropathy via an increase in the action of ANG II but also enhances the expression of c-fos mRNA in the kidney.

亜鉛は、必須微量元素として、生体機能を司る種々の酵素活性の発現に関与し、生命維持には不可欠な元素である¹⁾。現在までに、亜鉛の生体機能への影響については数多く報告されている¹⁾が、亜鉛が生体反応に影響を及ぼすかどうか、あまり知られていない。従って、この研究では、亜鉛が(1)閉塞性腎症モデルの病態、すなわち炎症反応²⁾(2)アポトーシスや発癌の誘導に関連する proto-oncogene である c-fos の発現³⁾ にどのような影響を及ぼすのかを検討する。

方 法

1. 亜鉛含量の異なる5種類の特別食(亜鉛含量以外はすべて同一組成で亜鉛無添加・0.001%亜鉛添加食は低亜鉛食, 0.003%亜鉛添加食は標準食, 0.02%・0.04%亜鉛添加食は高亜鉛食)を準備し, Sprague-Dawley ラット(雄・約350g)にその特別食を毎日等量与え, 亜鉛欠乏状態から亜鉛過剰傾

向状態にある動物モデル（一群3匹）を作製した。飲水としては、蒸留水（亜鉛含量は、原子吸光法で検出感度以下）を用い、自由に摂取させた。この間、定期的に体重変化と血清 Zn・Cu 濃度をモニタリングした。

2. 特別食投与開始から50日目に、

- 1) 各群のラットの臓器（特に胸腺）重量を測定した。
- 2) 各群のラットの一側の尿管を結紮して、尿管閉塞性腎症モデルを作製した⁴⁾。また、新たに亜鉛無添加食ラットを用意し、尿管結紮術を施行する24時間前より1時間前まで、また、施行71時間後まで、約12時間毎に15mg/kgのangiotensin I converting enzyme inhibitor (enalapril) を経腹腔的に投与（計9回）した。72時間後、腎臓を採取し、その腎組織切片（H-E染色）を顕微鏡下で観察した。
- 3) 腎皮質のRNAを抽出後、RT-PCR法⁵⁾を用いて、c-fos mRNAを測定した。

結 果

1. 低亜鉛食（特に亜鉛無添加食）ラットでは、体重の減少・胸腺重量の減少・血清 Cu/Zn 比の上昇が観察された。高亜鉛食ラットと標準食ラットでは、体重・胸腺重量・血清 Cu/Zn 比に顕著な差は認められなかった（Table 1-3）。
2. 高亜鉛食ラットや標準食ラットに対して、低亜鉛食（特に亜鉛無添加食）ラットでは、閉塞腎において、一部糸球体構造の損傷が観察され、また、間質への炎症性細胞浸潤の程度が高度であった。enalaprilの投与で、これらの変化は軽減された（Fig. 1）。
3. c-fos mRNAの発現は、高亜鉛食ラットや標準食ラットに対して、低亜鉛食（特に亜鉛無添加食）ラットで増強していた（未提示）。

考 察

1. 低亜鉛食（特に亜鉛無添加食）ラットで観察される体重の減少、胸腺重量の減少、血清 Cu/Zn 比の上昇は、慢性的亜鉛欠乏状態の結果生ずるものと考えられる。また、慢性的亜鉛過剰傾向状態では、発育の異常などは認められない。
2. 閉塞性腎症では、renin-angiotensin systemが亢進することが知られている⁶⁾。Angiotensin I converting enzyme inhibitorの投与によって、angiotensin IIの作用を抑制する結果、低亜鉛食（特に亜鉛無添加食）ラットの閉塞腎で組織像の改善、炎症性細胞浸潤の軽減が認められることから、亜鉛欠乏状態の閉塞性腎症では、他の亜鉛食群に比し、renin-angiotensin systemがさらに増強され、その結果、産生のより増大したangiotensin IIの作用により、閉塞性腎症の増悪が引き起こされることが示唆される。しかしながら、亜鉛の過剰傾向状態では、閉塞性腎症の病態は、あまり修飾されない。
3. アポトーシスや発癌に関連するc-fos mRNAの発現が低亜鉛食（特に亜鉛無添加食）ラットの腎皮質で増強していた。今後、亜鉛欠乏状態で、c-fosが腎においてどのような役割を果たすのか検討する必要がある。

Table 1. Changes in rat body weight

Zn content in diets	Feeding period		
	3 days	34 days	73 days
	Body weight		
0.04%	350	385	406
0.02%	350	350	382
0.003%	360	370	406
0.001%	370	336	360
Not added	350	330	332

Rat body weight (g) was measured at days 3, 34 and 73 after administration of various concentrations of Zn diets.

Table 2. Serum Zn concentrations and the Cu/Zn ratio

Zn content in diets		Feeding period					
		10 days	17 days	24 days	31 days	47 days	50 days
0.04%	Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	176	193	210	152	166	129
	Cu/Zn	0.27	0.43	0.12	0.64	0.41	0.69
0.02%	Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	149	186	155	137	123	120
	Cu/Zn	0.46	0.26	0.23	0.82	0.65	0.68
0.003%	Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	117	164	156	122	123	126
	Cu/Zn	0.64	0.37	0.49	0.79	0.63	0.67
0.001%	Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	124	114	120	90	135	121
	Cu/Zn	1.04	0.73	0.88	1.17	0.69	0.72
Not added	Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	121	83	132	135	85	117
	Cu/Zn	0.94	1.09	1.19	0.78	1.05	0.84

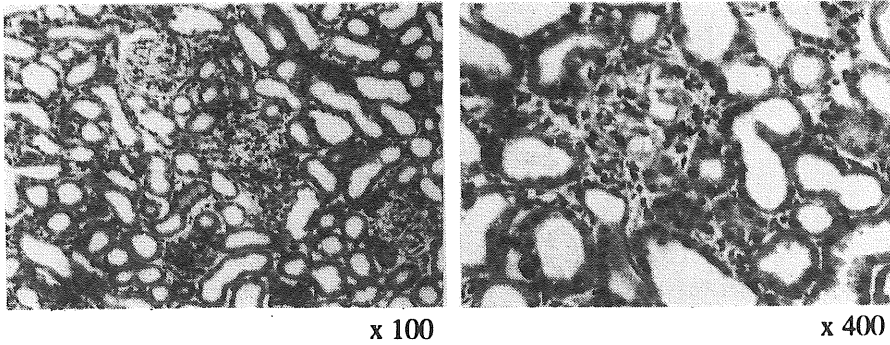
Serum Zn and Cu concentrations were obtained from rats at days 10, 17, 24, 31, 47 and 50 after administration of various concentrations of Zn diets.

Table 3. Rat thymus weight

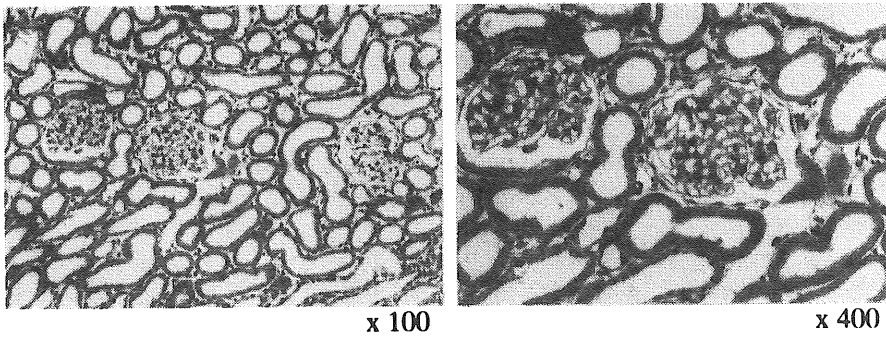
Zn content in diets	Thymus weight
0.04%	0.51
0.02%	0.39
0.003%	0.48
0.001%	0.29
Not added	0.33

Rat thymus weight (g) was measured at day 50 after administration of various concentrations of Zn diets.

0% Zn diet



0.02% Zn diet



0% Zn diet + Enalapril

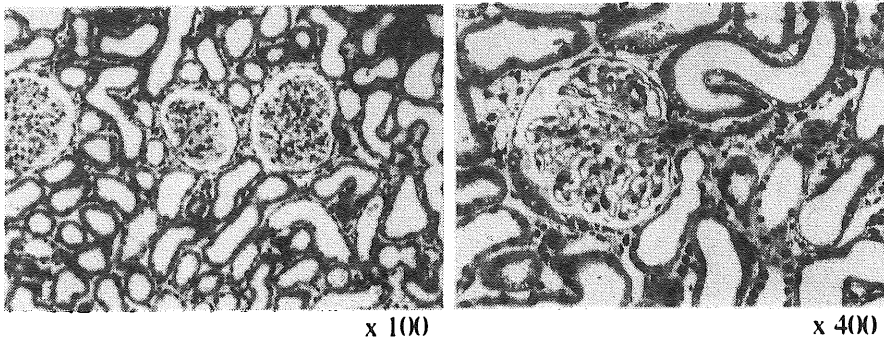


Fig. 1 Photomicrographs of the cortex of the obstructed kidney from rats with unilateral ureteral obstruction fed a diet not added Zn or a 0.02% Zn-containing diet. Rats were subjected to unilateral ureteral obstruction at day 50 after administration of a diet not added Zn or a 0.02% Zn-containing diet. Another group of delete rats given a diet not added Zn intraperitoneally received 15 mg/kg of the angiotensin I converting enzyme inhibitor, enalapril before and after ureteral obstruction as described in Methods. Kidneys were removed and stained with hematoxylin-eosin at day 3 following ureteral obstruction.

結論として、亜鉛は、閉塞性腎症モデルの病態である炎症反応に関与するだけでなく、腎での proto-oncogene の発現にも関係している。

参 考 文 献

- 1) 和田 攻, 柳沢裕之 (1996) 日本臨床 54 : 5
- 2) Harris, K.P.G., G. F. Schreiner and S. Klahr (1989) *Kidney Int.* 36 : 210
- 3) 奥山隆三, 高橋 玲, 前田 盛 (1995) 臨床医 21 : 2088
- 4) Yanagiwasa, H., N. Kurihara, S. Klahr, J. Morrissey and O. Wada (1994) *Kidney Int.* 45 : 245
- 5) Shultz, P. J., S. L. Archer and M. E. Rosenberg (1994) *Kidney Int.* 46 : 683
- 6) Yanagisawa, H., J. Morrissey, A. Morrison, M. L. Purkerson and S. Klahr (1990) *Am. J. Physiol.* 258 : F85