

## 亜鉛欠乏状態におけるかき肉エキスの胎児発育および催奇形性に及ぼす影響

渡辺 敏明<sup>1)</sup>・松田 芳和<sup>2)</sup>・太田 隆男<sup>2)</sup>・柴田 幸雄<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>山形大学医学部衛生学教室\*, <sup>2)</sup>日本クリニック(株)中央研究所\*\*

### Effects of Oyster Extract on Teratogenicity and Embryonic Development in Zinc-Deficient Mice

Toshiaki WATANABE<sup>1)</sup>, Yoshikazu MATSUDA<sup>2)</sup>, Takao OHTA<sup>2)</sup> and Yukio SHIBATA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Hygiene and Preventive Medicine, Yamagata University School of Medicine,

Yamagata 9909585,

<sup>2)</sup>Central Research Institute, Japan Clinic, Co., Ltd., Kyoto 6168185, Japan

Zinc is a very important nutrient in a normal reproductive function and embryonic development of mammals. It is well-known that the oyster extract contains a large amount of zinc. We studied the effects of oyster extract on reproductive function, embryonic development and serum levels of zinc in zinc-deficient mice. Zinc deficiency during pregnancy induced the decrease in successful pregnancy rate, maternal weight gain, the number of live fetuses and fetal body weight in mouse dams. Also zinc deficiency caused a number of external malformations and growth retardation in fetuses. However, the supplement of oyster extract prevented the induction of reproductive and embryonic defects in zinc-deficient mice. There were significantly lower serum concentration of zinc in pregnant dams fed zinc-deficient diet. However, the serum zinc concentration attained the normal level in the oyster extract-supplemented group. No difference in the concentration of serum zinc was observed between the oyster extract- and zinc carbonate-supplemented groups. From these findings, it is suggested that the oyster extract may be a useful diet which can prevent the reproductive and embryonic defects in the zinc-deficient status.

亜鉛は、微量栄養素の一つであり、メタロエンザイムなど多数の酵素の必須構成因子として、タンパク質、炭水化物、脂質や核酸の代謝に関与している。また脂質やプロスタグランジンの生成や免疫機能などを維持するためにも、亜鉛が必要とされている。そのため生体内の亜鉛が低下すると、成長、発育や性成熟の抑制がみられるばかりでなく、皮膚障害、脱毛、骨の異常、味覚障害などの症状が誘発され

\*所在地：山形市飯田西2-2-2 (〒990-9585)

\*\*所在地：京都市右京区太秦開日町10 (〒616-8185)

ることが知られている<sup>1,2)</sup>。

亜鉛は生殖生理機能や胎児の発育を正常に保つためにも不可欠である。妊娠中に母体が亜鉛欠乏状態になると、雌性動物では、卵子形成や胎児の発育が障害されたり、重篤な外表奇形が誘発される<sup>3-5)</sup>。雄性動物では、亜鉛欠乏による生殖器官の萎縮や精子形成の障害が知られている<sup>6)</sup>。一方、ヒトにおいては、食事由来の亜鉛不足や低亜鉛状態がいろいろな地域で認められている。また、前立腺やその他の性腺の亜鉛含有量が高いことや精子の形成に亜鉛が必要であることも報告されている<sup>7,8)</sup>。このように、亜鉛は生体内において種々の生理機能を維持するために重要な役割を果たしている。

二枚貝であるかき (*Crassostrea gigas*) は、さまざまな栄養成分を含み、広く一般に食品として使用されている。かき肉エキスは、原料のかきを熱水で抽出した後、抽出物を粉末にしたもので、糖質、タンパク質、アミノ酸を主成分にしたもので、脂質はほとんど含まれていない。また微量元素として、タウリンや亜鉛などが豊富である。タウリンは、血清や肝臓中のコレステロール代謝を改善するほか、コレステロール胆石の予防にも効果があるといわれている。しかし、かき肉エキスの亜鉛が胎児や生殖腺でどのように利用されているのかほとんど明らかにされていない。そこで、かき肉エキスの亜鉛欠乏状態による生殖生理学的障害に対する効果について検討した。また、かき肉エキスの多量摂取による妊娠動物および胎児発育に及ぼす影響についても検討した。

## 方 法

使用した動物は、市販のICR系成熟雌および雄マウス（8週齢、日本クレア株）である。これらの動物は、12時間日周期（明期0900-2100）の動物飼育室（室温23℃、湿度40-60%に制御）で市販の固型飼料（CRF-1）を与えて実験前少なくとも2週間飼育した。雌マウスを雄動物と早朝短時間交配（0900-1100）させ、妊娠動物を得た。受精栓確認日を妊娠0.5日（dg0.5）とした。Figure 1は実験手順を示したものである。妊娠動物には、妊娠期間中、亜鉛欠乏飼料あるいはかき肉エキス添加飼料を与え、自由に摂取させた。飲料水には蒸留水を用いた。糞食を防ぐために、動物はステンレス網の中敷があるプラスチックケージで飼育した。

亜鉛欠乏飼料（オリエンタル酵母株）の亜鉛含有量は、0.02ppm以下である。かき肉エキスは、亜

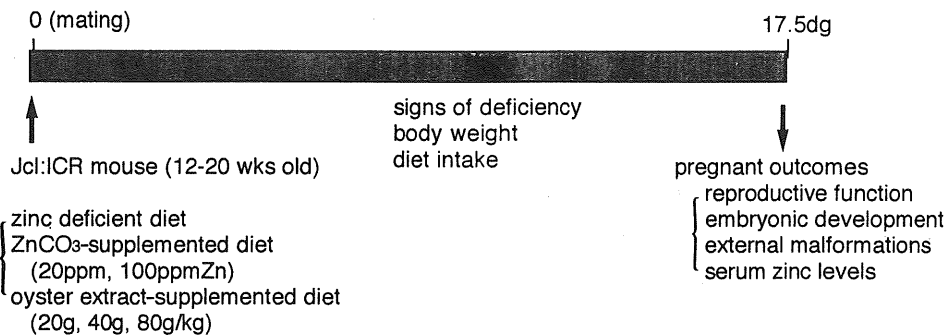


Fig. 1. Experimental procedure

鉛欠乏飼料に1kgあたり粉末のかき肉エキス20, 40, あるいは80gを加えた。かき肉エキスには459.40ppmの亜鉛が含まれているので、かき肉エキス添加飼料の亜鉛量は、それぞれ9.2, 18.4, 36.8mg/kgとなる。また、比較のため、かき肉エキスの代わりに粉末の炭酸亜鉛20あるいは100mg/kgを加えた亜鉛添加飼料も使用した。妊娠中の飼料の摂取量は定期的に測定し、母体の体重は、妊娠確認日と屠殺直前に測定した。

妊娠17.5日 (dg17.5) に屠殺した後に開腹して、子宮内の観察を行った。胎児の体重を測定した後、外表奇形の有無を観察した。

屠殺する際に母体の心臓から採血し、血清を採取した。血清は硝酸で湿式灰化した後、原子吸光度計で亜鉛量を測定した。

妊娠および胎児発育への影響について、母体の体重増加、胎児体重や血清亜鉛量などは、*t*検定によって、亜鉛欠乏群と肉エキス添加群や炭酸亜鉛添加群とを比較した。また生存胎児数や奇形発現頻度などは、Fisherの直接確率法を用いた。

## 結 果

Table 1は、亜鉛欠乏マウスにおけるかき肉エキスの妊娠および胎児発育への影響をまとめたものである。亜鉛欠乏状態においては、妊娠中の母体の体重増加が抑制され、妊娠率も60.0%と低下したが、かき肉エキス20g/kg以上あるいは炭酸亜鉛20mg/kg以上を飼料に添加すると、正常に回復した。また、亜鉛欠乏群では、死亡・吸収胚が増加し、胎児体重の低下がみられた。しかし、かき肉エキス添加群および炭酸亜鉛添加群ではこのような影響はみられず、両群で相違も認められなかった。

妊娠中の飼料の摂取量は、亜鉛欠乏群で平均4.9g/日と、かき肉エキス80g群および炭酸亜鉛100mg群のそれぞれ5.5gおよび5.4gに比べて減少していた。しかしながら、亜鉛欠乏マウスで脱毛や皮膚炎などの亜鉛欠乏症状は観察されなかった。またかき肉エキス添加群では、80g/kg群で妊娠初期から軟

**Table 1.** Reproductive and embryonic effects of oyster extract in zinc-deficient mouse dams

	Zinc deficiency	Zinc carbonate (mg/kg)		Oyster extract (g/kg)		
		20	100	20	40	80
No. of dams mated	10	8	8	7	8	6
No. of dams with live fetuses (%)	6(60.0)	8 <sup>b</sup>	8 <sup>b</sup>	7	7(87.5)	6
Mean no. of corpora lutea <sup>1</sup>	16.2±1.1	15.8±1.9	16.0±1.4	15.3±2.1	15.6±1.5	16.2±1.7
Mean no. of implantation sites <sup>1</sup>	13.7±4.6	14.6±1.4	15.0±1.8	14.3±1.5	14.9±1.9	15.0±1.6
No. of resorbed and dead fetuses	42	6	4	5	6	7
No. of live fetuses	40	111 <sup>a</sup>	116 <sup>a</sup>	95 <sup>a</sup>	98 <sup>a</sup>	83 <sup>a</sup>
Fetal body weight <sup>1</sup> (g)	0.78±0.22	1.06±0.13 <sup>d</sup>	1.10±0.17 <sup>c</sup>	1.14±0.10 <sup>c</sup>	1.12±0.07 <sup>c</sup>	1.12±0.15 <sup>d</sup>
Maternal body weight gain <sup>1</sup> (g)	11.0±3.8	31.0±6.8 <sup>c</sup>	26.9±4.9 <sup>c</sup>	29.5±5.3 <sup>c</sup>	27.4±5.1 <sup>c</sup>	27.9±5.8 <sup>c</sup>
Mean food intake (g/day)	4.9	5.6	5.4	5.7	5.4	5.5

<sup>1</sup>mean ± sd.

<sup>a</sup>p < 0.01, <sup>b</sup>0.05 < p < 0.1, compared with the zinc-deficient group (Fisher's exact test).

<sup>c</sup>p < 0.01, <sup>d</sup>p < 0.05, compared with the zinc-deficient group (Student's *t*-test).

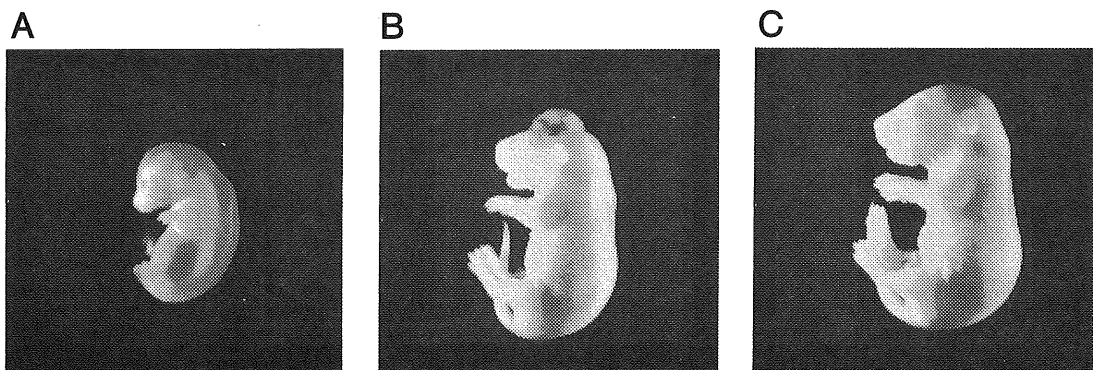
便がみられたが、40g/kg以下の群では過剰摂取による影響は認められなかった。

生存胎児の外表奇形の出現頻度をまとめたものがTable 2である。亜鉛欠乏群においては、生存胎児の77.5%に種々の外表奇形がみられた。観察された主な奇形としては、外脳症(32.5%)、小頭症(37.5%)、口蓋裂(32.5%)、および小顎症(45.0%)など顔面頭部の異常であった(Fig. 2)。これらの外表奇形は、かき肉エキス20g/kg以上あるいは炭酸亜鉛20mg/kg以上を添加すると、ほとんどみられなかった。これらの添加群では、乏指症や口蓋裂などの外表奇形が散見された。また、かき肉エキス80g/kg群でも、奇形の増加は認められなかった。

**Table 2.** Teratogenic effects of oyster extract in zinc-deficient mouse fetuses

	Zinc deficiency	Zinc carbonate (mg/kg)		Oyster extract (g/kg)		
		20	100	20	40	80
No. of fetuses examined	40	111	116	95	98	83
No. of malformed fetuses (%)	31(77.5)	2(1.8) <sup>a</sup>	3(2.6) <sup>a</sup>	4(4.2) <sup>a</sup>	0(0.0) <sup>a</sup>	2(2.4) <sup>a</sup>
No. of malformations (%)						
exencephaly	13(32.5)	1(0.9) <sup>a</sup>	0	0	0	0
microcephaly	15(37.5)	0	0	0	0	0
open eyelid	8(20.0)	0	0	1(1.1) <sup>a</sup>	0	0
anophthalmia	3(7.5)	0	0	0	0	0
micrognathia	18(45.0)	0	0	0	0	0
miromelia	11(27.5)	0	0	0	0	0
cleft palate	13(32.5)	0	2(1.7) <sup>a</sup>	2(2.1) <sup>a</sup>	0	1(1.2) <sup>a</sup>
cleft lip	1(2.5)	0	0	0	0	0
oligodactyly	0	0	1(0.9)	1(1.1)	0	1(1.2)
tail anomalies	5(12.5)	1(0.9) <sup>a</sup>	0	0	0	0

<sup>a</sup>p < 0.01, compared with the zinc-deficient group (Fisher's exact test).



**Fig. 2.** Representative specimens of dg 17.5 mouse fetuses. A. A lateral view of the zinc-deficient fetus, showing growth retardation, micrognathia, open eyelid, micromelia, short tail and edema. B. Zinc-deficient fetus, showing exencephaly. C. Oyster extract-supplemented fetus.

Figure 3は、妊娠17.5日に母体の血清中の亜鉛量を測定した結果である。亜鉛欠乏状態にすると、血清亜鉛量は平均  $50.2 \pm 2.2 \mu\text{g}/\text{dl}$  に低下した。しかし、かき肉エキス 40g/kg 添加群では平均  $126.9 \pm 8.2 \mu\text{g}/\text{dl}$  と、炭酸亜鉛 100mg/kg 群の平均  $121.9 \pm 7.2 \mu\text{g}/\text{dl}$  と同じレベルまで達していた。

### 考 察

マウスを妊娠期間中亜鉛欠乏状態にすると、母体においては、成功妊娠率が低下し、妊娠期間中の体重増加の抑制や着床率の低下が認められた。胎児においては、生存胎児数が減少し、発育も抑制された。また生存胎児には種々の外表奇形が観察された。これらの知見は、これまでの結果をよく一致している<sup>6,7)</sup>。亜鉛欠乏による妊娠および胎児発育への影響は、マウスばかりでなく、モルモットやラットなどにおいても報告されている<sup>9)</sup>。また、ヒトにおいても、亜鉛欠乏で、早産、流産、奇形との関連が報告されている<sup>10,11)</sup>。亜鉛は哺乳動物において、生殖生理機能を正常に維持するために不可欠な微量栄養素である。

今回の結果では、炭酸亜鉛のみでなく、粉末のかき肉エキスを飼料に添加することによっても、亜鉛欠乏によるマウス胎児の奇形誘発を完全に防ぐことが可能であった。このように食品の摂取によって亜鉛欠乏の生殖障害を予防できることが示唆された。

亜鉛は摂取量の約30%しか吸収されない<sup>12)</sup>、摂取量が十分であっても吸収率に影響されることが考えられる。今回の実験で用いたかき肉エキス 20g/kg 飼料の亜鉛濃度は 8.9mg/kg である。この亜

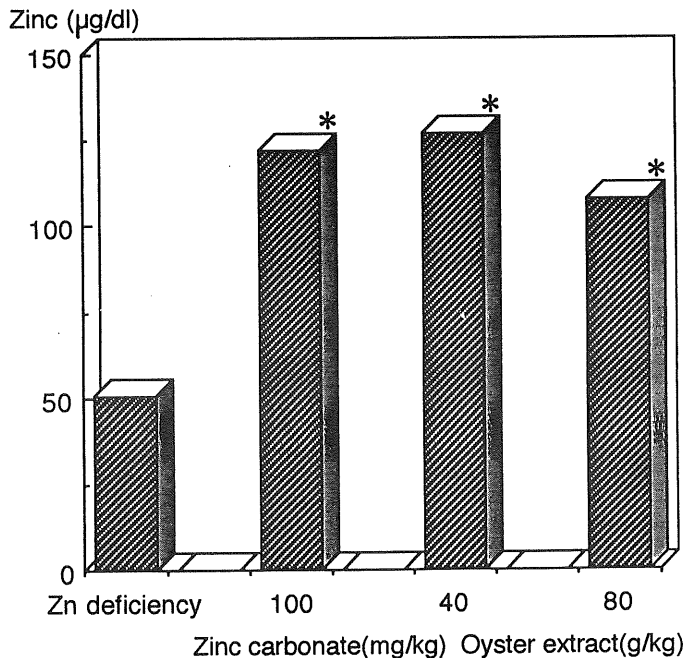


Fig. 3. Serum zinc levels in mouse dams fed the oyster extract- and zinc carbonate-supplemented diets \* $p < 0.05$ , compared with the zinc-deficient group (Student's t-test).

鉛量は、決して十分な量ではなく、生殖生理学的には marginal deficiency の量である。

かき肉エキス 20g/kg (8.9mg/kg) 群では、外表奇形が4.2%観察された。今回この濃度に相等する炭酸亜鉛群を設定していないので、直接比較することはできないが、これは炭酸亜鉛 20mg/kg 群の頻度 1.8%と同じ程度であった。このことは、かき肉エキス中の亜鉛が効率的に吸収されているのかもしれない。つまり、かき肉エキスは熱水抽出したものであるため、水に溶けやすく、容易に吸収されるものと考えられる。あるいはかき肉エキス中の種々の微量栄養成分が亜鉛の吸収や亜鉛酵素に効果的に作用しているのかもしれない。いずれにしても、亜鉛欠乏による奇形誘発の防止に、かき肉エキスが、有効であることが示唆された。

ヒトにおける亜鉛欠乏としては、常染色体劣性遺伝である腸性肢端皮膚炎 (Acrodermatitis enteropathica) と亜鉛との関連や静脈栄養に伴って出現した亜鉛欠乏状態がよく知られている。最近、悪性腫瘍患者においても低亜鉛血症がみられている。これらの原因としては、小腸粘膜での吸収障害、亜鉛の無添加や悪性腫瘍による食思不振が示唆されている。

亜鉛の必要量は、妊娠、授乳や成長などによって、急速に増大することが知られている。一方、加工食品における亜鉛の損失や食物繊維などによる吸収阻害は、亜鉛不足を引き起こす可能性がある。また動物実験ではあるが、アルコール摂取によって亜鉛欠乏が増強されている。これらのことから、多くの妊婦において亜鉛不足が起きているかもしれないことが懸念される<sup>12)</sup>。このような状態を改善するために、亜鉛を多量に含むかき肉エキスは、亜鉛の供給源として有用であると考えられる。

かき肉エキス 80g/kg 群では、すべての母体に軟便がみられたが、これが亜鉛によるものか否か明らかではない。しかし、これ以外に特別な症状は観察されなかった。ヒトではあまり問題になることはないが、生理的濃度以上の遊離型の亜鉛は神経毒として働くことが示唆されている<sup>14)</sup>。実際、動物実験では高濃度の硫酸亜鉛を側脳室に注入すると、摂餌量の低下がみられている<sup>15)</sup>。また、過剰に亜鉛を摂取すると免疫機能や腎機能を阻害したり、血中の脂質代謝のバランスを崩したりする。しかし、適度の亜鉛の摂取はこれらの機能を高めることが知られている<sup>12)</sup>。

以上のように、かき肉エキスによって、亜鉛欠乏状態による雌性動物の生殖障害や催奇形性を防止することが可能であった。かき肉エキスは亜鉛を補うために有用で、かつ安全性が高い食品であることが示唆される。

## 参 考 文 献

- 1) 本郷哲郎 (1994) 亜鉛. 「ミネラル・微量元素の栄養学」, 鈴木継美, 和田功編. 第一出版, 東京 : pp. 377-395.
- 2) Kirchgessner, M. and H. -P. Roth (1980) Zinc in the Environment, Part 2, Health Effects, ed. by Nriagu, J. O., John Wiley & Son, New York.
- 3) Watanabe, T., Sato, F and A. Endo (1983) Cytogenetic effects of zinc deficiency on oogenesis and spermatogenesis in mice. Yamagata Med. J. 1 : 13-20.
- 4) Hurley, L. S. and H. Swenerton (1966) Congenital malformations resulting from zinc deficiency in

rats. *Nature* 254 : 427-429.

- 5) Hickory, W., R. Nanda and F. A. Catalanotto (1979) Fetal skeletal malformations associated with moderate zinc deficiency during pregnancy. *J. Nutr.* 109 : 883-891.
- 6) Martin, G. B., C. L. White, C. M. Markey and M. A. Blackberry (1994) Effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep : testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *J. Reprod. Fert.* 101 : 87-96.
- 7) 渡辺敏明 (1997) 亜鉛欠乏状態のマウス精子の生存率および形態に及ぼす影響. *日栄食誌* 50 : 311-315.
- 8) Abbasi, A. A., A. S. Prasad, P. Rabbani and E. DuMouchelle (1980) Experimental zinc deficiency in man. *J. Lab. Clin. Med.* 96 : 544-550.
- 9) Quarterman, J. and W. R. Humphries (1983) The production of zinc deficiency in the guinea pig. *J. Comp. Pathol.* 93 : 261-270.
- 10) Apgar, J. (1985) : Zinc and reproduction. *Ann. Rev. Nutr.* 5 : 43-68.
- 11) Prasad, A. S. (1996) Zinc deficiency in women, infants and children. *J. Am. Coll. Nutr.* 15 : 113-120.
- 12) Solomons, N. W. (1981) Zinc and copper in human nutrition. *Prog. Clin. Biol. Res.* 67 : 97-127.
- 13) Villa Elizaga, I. and R. M. da Cunha Ferreira (1985) Zinc, pregnancy and parturition. *Acta Paediat. Scand., Suppl.* 319 : 150-157.
- 14) Ebadi, M., L. C. Murrin and R. F. Pfeiffer (1990) Hippocampal zinc thionein and pyridoxal phosphate modulate synaptic functions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 585 : 189-201.
- 15) 矢野史子 (1996) 低亜鉛食給与ラットの側脳室への亜鉛投与が摂食量に及ぼす影響. *微栄研* 13 : 19-22.