

## ラットにおける飼料中ルビジウムと組織中ルビジウムの用量効果関係

内田 由佳<sup>1)</sup>, 許 斐 亜 紀<sup>2)</sup>, 横 井 克 彦<sup>1)</sup>  
 (<sup>1)</sup> 聖徳大学大学院人間栄養学研究科\*, <sup>2)</sup> 愛知学泉大学家政学部\*\*)

### Effect of Graded Levels of Dietary Rubidium on Blood and Tissue Rubidium Concentrations in Rats

Yuka UCHIDA<sup>1)</sup>, Aki KONOMI<sup>2)</sup> and Katsuhiko YOKOI<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Human Nutrition, Seitoku University Graduate School,

<sup>2)</sup> Faculty of Home Economics, Aichi Gakusen University

#### Summary

The effects of graded levels of dietary rubidium (Rb) on blood and tissue Rb concentrations in rats were studied. Fifty-nine 4-week-old male Wistar rats were divided into 8 groups and fed diets with graded levels of supplemental Rb: 0, 4, 8, 25, 50, 100, 200 and 1,000 ppm (mg/kg diet) for 46 days. The body weight gain was significantly lower in rats fed the 1,000-ppm Rb diet compared to rats fed the 8-ppm Rb diet. Rb concentrations in blood and tissues (brain, heart, liver and kidney) were significantly lower in rats fed the 0 and 4-ppm Rb diets compared to rats given the 8-ppm Rb diet. Rb concentrations in blood and tissues were significantly higher in rats fed the 25, 50, 100, 200 and 1,000-ppm Rb diets, compared to rats given the 8-ppm Rb diet. These results suggest a dose-effect relationship between dietary Rb and Rb concentrations in blood and tissues.

ルビジウム (Rb) は栄養素としての必須性が指摘されている微量元素のひとつであり<sup>1-3)</sup>, 人は日常的に Rb を摂取している。その含有量は米 0.76 mg/100 g 湿重<sup>4)</sup>, 牛肉 0.186 mg/100 g 湿重<sup>5)</sup> 等であり, 植物性食品と動物性食品の双方に含まれている。日本人の1日あたりの Rb 摂取量は 1.26 mg と報告<sup>6)</sup> されており, これは銅よりも多く, 亜鉛よりも少ない量である<sup>7)</sup>。

Rb は, カリウムと化学的特性が似ていることから, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の調節に関与している可能性が指摘されている<sup>3)</sup>。そのため, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 活性の測定には K の代わりに<sup>86</sup>Rb を用いた研究は数多くある。しかしながら, <sup>86</sup>Rb を Tracer にして Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase を介した筋肉中への Rb 取り込み量を測定した場合, <sup>42</sup>K とはその振舞いが異なることが報告されている<sup>8)</sup>。

また, Rb が抗鬱作用を有することはすでに数多く報告されている<sup>9-12)</sup>。実際にイタリアでは抗鬱薬としての治験が始まっている<sup>13)</sup>。このように Rb の生理作用についての研究報告はあるが, Rb の摂取量と組織中濃度の関係といった基礎的事項に関する研究は非常に少ない。Rb 摂取量と組織中 Rb 濃度の関係については, ラットに欠乏食を給与した場合, 組織中 Rb 濃度が低下したとの報告<sup>14)</sup> ならびに, アミノ酸代謝異常治療食を摂取していた患児では, 正常児

に比べて全血中 Rb 濃度が低下していたとの報告<sup>15)</sup> にとどまっている。一方, 中毒量の Rb 摂取が組織中 Rb 濃度に及ぼす影響についてはまったく報告がなく, 飼料中 Rb 添加量 1,000 ppm は中毒量であると報告している Glendening らも, 組織および血液中 Rb 濃度は測定していなかった<sup>16)</sup>。

そこで, 本研究では, ラットに飼料中添加量の異なる Rb を給与し, 摂取する Rb が組織中 Rb 濃度に及ぼす影響について検討した。

#### 実験方法

##### 1. 動物および飼料

4週齢 Wistar 系ラット 59 匹 (浜松市: 日本 SLC 株, 体重 60~70 g を体重のばらつきがないようにランダムに 8 群に分け, それぞれに Rb 添加量の異なる飼料 (Rb 0, 4, 8, 25, 50, 100, 200, 1,000 mg/kg diet (または, ppm)) を給与した (Table 1)。飼料はすべて AIN-93G に準じて調製した。ラットはステンレス個別ケージ内で飼育し, 餌および超純水 (日本ミリポア株式会社製 Millipore Direct-Q) を自由に摂取させた。

飼育環境は室温 22±1℃, 湿度約 50%, 明暗時間各 12 時間 (明期 7:00~19:00, 暗期 19:00~7:00) とした。

\*所在地: 千葉県松戸市岩瀬 550 (〒271-8555)

\*\*所在地: 愛知県岡崎市舳越町上川成 28 (〒444-8520)

**Table 1** Composition of diets

Ingredient (g)	Rubidium level in diet (ppm)							
	0	4	8	25	50	100	200	1000
Rubidium mix *1	0	0.8	<b>1.6</b>	5	10	20	40	200
(Amount of elemental rubidium)	( 0	0.004	<b>0.008</b>	0.025	0.05	0.1	0.2	1 )
$\alpha$ -Cornstarch	395.5	394.7	<b>393.9</b>	390.5	385.5	375.5	355.5	195.5
Dextrinized cornstarch	132	132	<b>132</b>	132	132	132	132	132
Sucrose	100	100	<b>100</b>	100	100	100	100	100
Casein	200	200	<b>200</b>	200	200	200	200	200
Soybean oil	70	70	<b>70</b>	70	70	70	70	70
Fiber source	50	50	<b>50</b>	50	50	50	50	50
AIN-93G mineral mix *2	35	35	<b>35</b>	35	35	35	35	35
AIN-93 vitamin mix	10	10	<b>10</b>	10	10	10	10	10
L-Cystine	3	3	<b>3</b>	3	3	3	3	3
Cholin bitartrate	2.5	2.5	<b>2.5</b>	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone mix *3	2	2	<b>2</b>	2	2	2	2	2
Sum	1,000	1,000	<b>1,000</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

\*1 One gram of rubidium mix included 0.986 g  $\alpha$ -cornstarch and 0.014 g rubidium chloride (0.005 g of elemental rubidium).

\*2 AIN-93G mineral mix was made by Oriental Yeast Co., Ltd. (Tokyo, Japan).

\*3 Two grams of tert-butylhydroquinone mix included 1.986 g  $\alpha$ -cornstarch and 0.014 g tert-butylhydroquinone.

**Table 2** Body weight gain and food intake over the experimental period in rats fed diets with graded levels of Rb

Rb level in diet (ppm)	Body weight gain (g)	Food intake (g/day)
0	189 $\pm$ 17	16.0 $\pm$ 1.3
4	191 $\pm$ 9	15.7 $\pm$ 0.7
8	197 $\pm$ 11	16.5 $\pm$ 0.5
25	192 $\pm$ 10	16.0 $\pm$ 0.6
50	186 $\pm$ 13	15.6 $\pm$ 0.8
100	198 $\pm$ 11	16.5 $\pm$ 0.8
200	184 $\pm$ 15	15.8 $\pm$ 1.1
1,000	172 $\pm$ 7*	15.6 $\pm$ 0.3

Data was mean  $\pm$  SD (n=7-8).

Body weight gain was the difference between body weight on day 1 and day 41.

Food intake was an average per day over the experimental period.

\*Significantly different from dietary Rb 8 ppm by Dunnett's test.

p<0.05.

飼料給与開始後 46 日目に 1 晩絶食させた後、解剖を行った。エーテル麻酔下で腹部大動脈より採血し、脳、心臓、肝臓、腎臓を採取した。血液は 3,000 rpm, 20 分間遠心分離し、血漿を分離した。採取した組織および血漿は分析まで  $-50^{\circ}\text{C}$  で保存した。

動物の飼育および取り扱い、聖徳大学動物実験委員会の許可を受け、「実験動物の飼養及び保管に関する基準(総理府告知第 6 号)」および本学の「聖徳大学動物実験指針」を遵守して行った。

## 2. サンプル処理

血液および各種組織は濃硝酸-過酸化水素で湿式灰化した後、1%硝酸に溶解したものを Rb 測定用サンプルとした。血液および各種組織中 Rb 濃度は、原子吸光計(日立製作所製 HITACHI Z-2300)を用いて、蛍光法で測定した。

## 3. 統計処理

Rb は必須栄養素として確立されていないため、対照となる飼料中 Rb 量の公的な目安がない。そのため、対照と

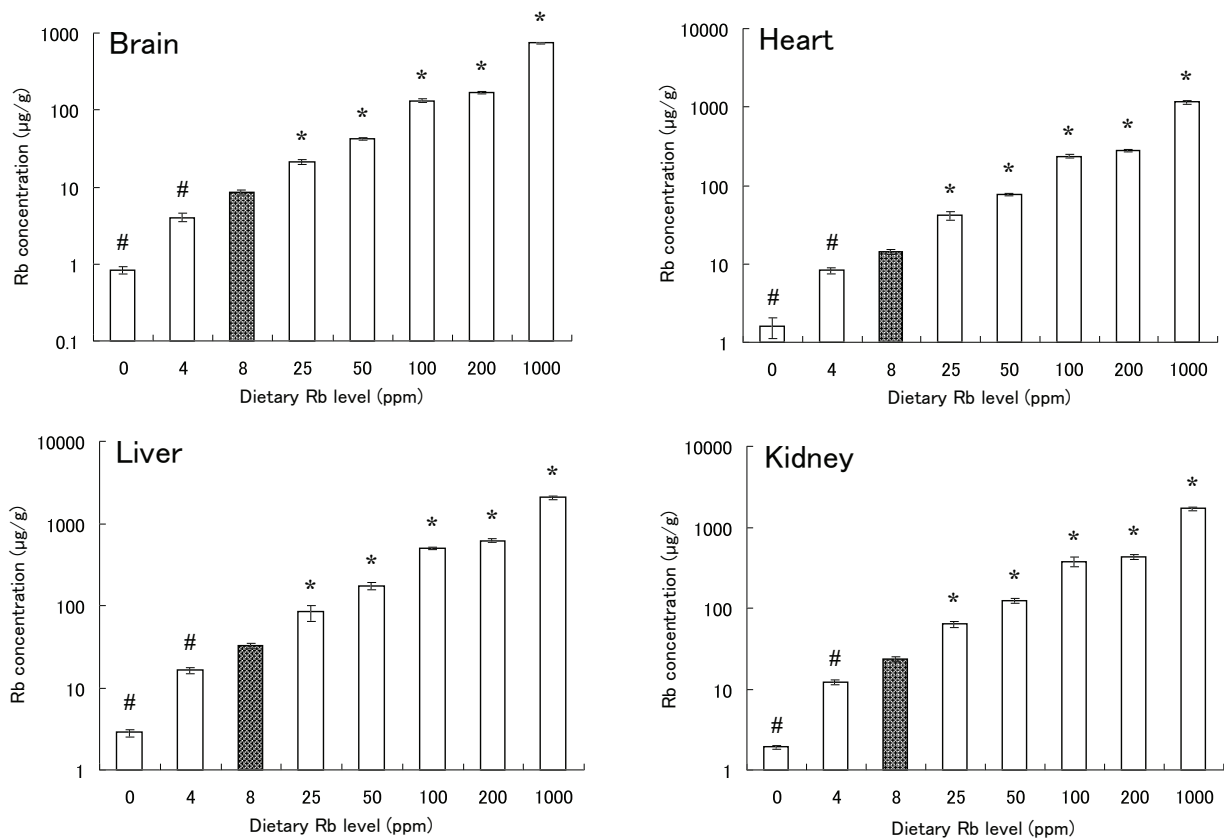
して与える飼料中 Rb 濃度は、横井らがラットのルビジウム欠乏を検討した研究で使用した対照飼料に合わせ、8 ppm とした<sup>14)</sup>。飼料中 Rb 濃度と血液・組織中 Rb 濃度の間には、用量効果関係を仮定したので、血液・組織中 Rb 濃度については、Rb 8 ppm を対照として、飼料中 Rb がそれより高い過剰側とそれより低い欠乏側の 2 つに分け、それぞれに Williams の多重比較検定を行った<sup>17)</sup>。用量効果関係が仮定できないその他のデータは Dunnett の多重比較検定を行った。有意水準は 5% とした。

## 結果

実験食投与期間中の体重増加量、平均摂食量は Table 2 に示した。Rb 1,000 ppm 食を摂取したラットの体重増加量は、Rb 8 ppm 食に比べて有意に低下した。

Rb 8 ppm と他の Rb 給与レベルの間では、体重増加量、摂食量に有意な差は認められなかった。

組織(脳、心臓、肝臓、腎臓)中 Rb 濃度を Fig. 1 に示した。統計処理では、対照とした Rb 8 ppm を境に、組織中 Rb 濃度の減少が予想される欠乏側の飼料中 Rb 濃度 0 ppm



**Fig. 1** Rubidium concentrations in brain, heart, liver, and kidney of rats fed diets with graded levels of rubidium.

Data were mean  $\pm$  SD (n=7-8).

\* Significantly different from dietary Rb 8 ppm by Williams' test.  $p < 0.05$ .

# Significantly different from dietary Rb 8 ppm by Williams' test.  $p < 0.05$ .

および4 ppm と増加が予想される過剰側の飼料中 Rb 濃度 25~1,000 ppm に分けて、Williams の多重比較を行った。その結果、すべての組織において、欠乏側である飼料中 Rb 濃度 0 ppm および 4 ppm では、対照とした Rb 8 ppm に比べて Rb 濃度が有意に低下した。また、過剰側である飼料中 Rb 濃度 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 1,000 ppm では、すべての組織中 Rb 濃度が、対照飼料 (Rb 8 ppm) に比べて有意に増加した。

血液、血漿および血球中 Rb 濃度を Fig. 2 に示した。血液、血漿および血球中 Rb 濃度も組織中 Rb 濃度と同様に 8 ppm を対照として欠乏側と過剰側に分けて、Williams の多重比較を行った。その結果、飼料中 Rb 濃度 8 ppm に対して、血液、血漿および血球中 Rb 濃度は、欠乏側である飼料中 Rb 濃度 0 ppm および 4 ppm では有意に低下し、過剰側である飼料中 Rb 濃度 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 1,000 ppm では有意に増加した。

## 考 察

本研究では、ラットに飼料中添加量の異なる Rb を給与し、給与レベルの異なる Rb が血液および組織中 Rb 濃度に及ぼす影響について検討した。

現在、Rb は必須性が確立されておらず、動物における

飼料中 Rb の最少必要量は不明である。今までに報告された動物飼料に含まれる Rb 量は 8~33 ppm<sup>14, 18)</sup> である。そこで、1996 年に横井らは、ラットの低 Rb 栄養状態について研究した際、オリエンタル酵母社製 MF 飼料に含まれる Rb 濃度を参考に、対照群に与える Rb を 8 ppm としているので、本研究でも Rb 8 ppm を対照として用いた<sup>14)</sup>。

今回の研究では、欠乏量である 0 ppm から過剰量である 1,000 ppm までの幅広い給与量を設定し、飼料中 Rb が、血液および組織中 Rb 濃度に及ぼす影響について検討した。Glendening らは、Rb 1,000 ppm を給与したラットでは成長が低下し、Rb 1,000 ppm は中毒量であると、報告している<sup>16)</sup>。われわれの研究でも、8 ppm に比べて 1,000 ppm の体重増加量は有意に低下していた。これは Glendening らの報告と一致しており、Rb 1,000 ppm は中毒量であることが確認された。

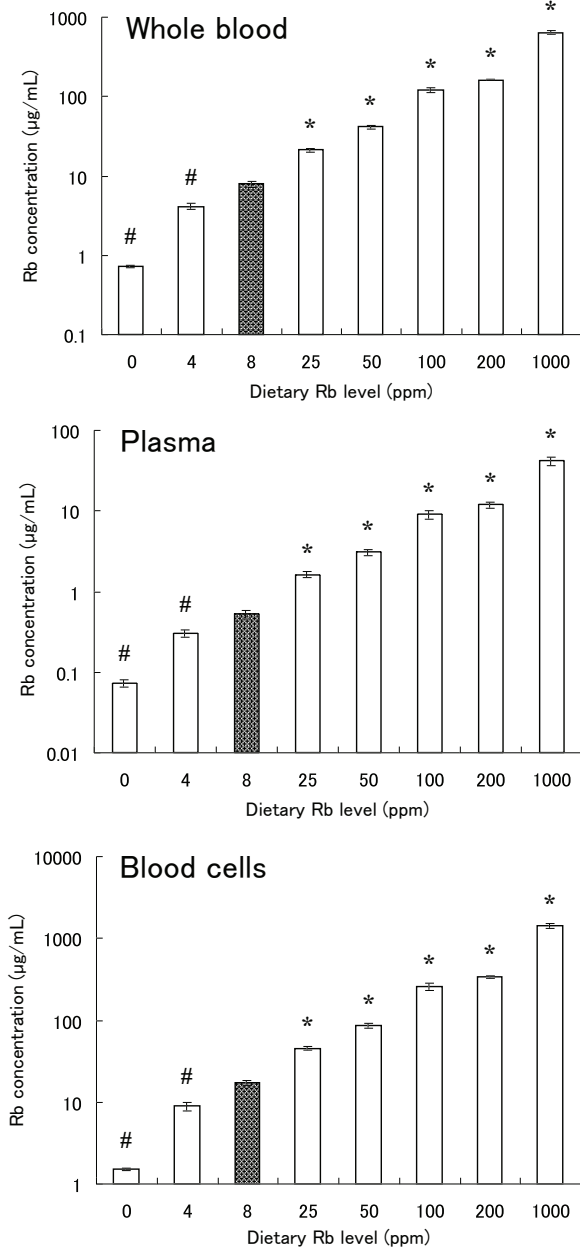
心臓、肝臓、腎臓、血球、血漿いずれにおいても、飼料中 Rb 濃度が増加するにつれて、組織および血液中 Rb 濃度は増加した。モリブデン (Mo) については、ラットに飼料中添加量の異なる Mo を投与した場合、飼料中 Mo 濃度が増加するにつれて血清中 Mo 濃度は増加するが、組織中 Mo 濃度は変化しなかったと報告されている<sup>19, 20)</sup>。それに比べて、Rb は飼料中 Rb 濃度が増加するにつれて組織

## 謝 辞

本研究の一部は、財団法人 日本科学協会 笹川科学研究助成の援助を受けて実施した。

## 参考文献

- 1) Nielsen FH (1996) How should dietary guidance be given for mineral elements with beneficial actions or suspected of being essential. *J Nutr* 126: 2377S-2385S.
- 2) Anke M, Angelow L, Müller R, Anke S (2005) Recent progress in exploring the essentiality of the ultra-trace element rubidium to the nutrition of animals and man. *Biomed Res Trace Elements* 16: 203-207.
- 3) 横井克彦 (2003) ルビジウム. 糸川嘉則編, ミネラルの事典, 朝倉書店, 東京: pp. 421-428.
- 4) Jorhem L, Åstrand C, Sandström B, Baxter M, Stokes P, Lewis J, Grawé KP (2008) Elements in rice on the Swedish market: part 2. Chromium, copper, iron, manganese, platinum, rubidium, selenium and zinc. *Food Addit Contam* 25: 841-850.
- 5) Anke M, Angelow L, Gleis M, Müller M, Gunstheimer U, Röhrig B, Rother C, Schmidt P (1999) Rubidium in the food chain of humans: Origins and intakes. *Trace elements in man and animals* 9: pp. 186-188.
- 6) Yamagata N (1962) The concentration of common potassium, rubidium and cesium in Japanese diet. *J Radiat Res* 3: 158-169.
- 7) 健康・栄養情報研究会編 (2009) 国民健康・栄養の現状—平成 18 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より—, 第一出版, 東京: pp. 80-82.
- 8) Dørup I, Clausen T (1994)  $^{86}\text{Rb}$  is not a reliable tracer for potassium in skeletal muscle. *Biochem J* 302: 745-751.
- 9) De Angelis L (1991) Memory storage and effect of repeated treatment with a new antidepressant drug: Rubidium chloride. *J Int Med Res* 19: 395-402.
- 10) Betts RP, Paschalis C, Jarratt JA, Jenner FA (1978) Nerve fibre refractory period in patients treated with rubidium and lithium. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 41: 791-793.
- 11) Paschalis C, Jenner FA, Lee CR (1978) Effect of rubidium chloride on the course of manic-depressive illness. *J R Soc Med* 71: 343-352.
- 12) Gambarana C, Ghiglieri O, Masi F, Scheggi S, Tagliamonte A, De Montis MG (1999) The effect of long-term administration of rubidium or lithium on reactivity to stress and on dopamine output in the nucleus accumbens in rats. *Brain Res* 826: 200-209.
- 13) Torta R, Ala G, Borio R, Cicolin A, Costamagna S, Fiori L, Ravizza L (1993) Rubidium chloride in the



**Fig. 2** Rubidium concentrations in whole blood, plasma, and blood cells of rats fed diets with graded levels of rubidium.

Data were mean  $\pm$  SD ( $n=7-8$ ). Rb concentrations in blood cells were calculated using Rb concentrations in whole blood and plasma, and hematocrit according to Yokoi et al.<sup>14</sup>.

\* Significantly different from dietary Rb 8 ppm by Williams' test.  $p < 0.05$ .  
# Significantly different from dietary Rb 8 ppm by Williams' test.  $p < 0.05$ .

および血液中 Rb 濃度がともに増加したことから、血液および組織中 Rb 濃度の両者において、給与 Rb との間の用量効果関係が認められた。これは、摂取 Rb に関する基礎データとして重要である。現在、Rb を過剰に摂取する状況は限られている。しかし、Rb を投薬される人の他にも Rb 電波発振機の製造や塩化 Rb、硫酸 Rb 等の薬剤合成に従事する人にとっては過剰な Rb に曝露される可能性がある。その際、本研究で得られた給与 Rb レベルと血液ならびに組織中 Rb 濃度の間に存在する用量効果関係は、Rb 中毒を生じた場合の診断に有益な情報であろう。

- treatment of major depression. *Minerva Psichiatr* 34: 101-110.
- 14) Yokoi K, Kimura M, Itokawa Y (1996) Effect of low dietary rubidium on plasma biochemical parameters and mineral levels in rats. *Biol Trace Elem Res* 51: 199-208.
  - 15) Lombeck I, Kasperek K, Feinendegen L, Bremer H (1980) Rubidium—a possible essential trace element. *Biol Trace Elem Res* 2: 193-198.
  - 16) Glendening BL, Schrenk WG, Parrish DB (1956) Effects of rubidium in purified diets fed rats. *J Nutr* 60: 563-579.
  - 17) 永田 靖, 吉田道弘 (1997) 統計的多重比較法の基礎, サイエンティスト社, 東京: pp. 45-52.
  - 18) Malhotra A, Dhawan DK (2008) Zinc improves antioxidative enzymes in red blood cells and hematology in lithium-treated rats. *Nutr Res* 28: 43-50.
  - 19) 吉原香織, 福永健治, 吉田宗弘 (2007) 飼料中モリブデン濃度がラット臓器および血清モリブデン濃度に及ぼす影響. *Trace Nutrients Research* 24: 120-123.
  - 20) Wang X, Oberleas D, Yang MT, Yang SP (1992) Molybdenum requirement of female rats. *J Nutr* 122: 1036-1041.