

## 栄養レベルにおける鉄の用量効果関係

横井克彦<sup>1)†</sup>, 許斐亜紀<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 聖徳大学大学院 人間栄養学研究科\*, (<sup>2)</sup> 九州女子大学 家政学部 栄養学科\*\*)

### Dose-effect Relationship of Nutritional Level of Iron

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

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

<sup>2)</sup> Department of Nutrition, Faculty of Home Economics, Kyushu Women's University

#### Summary

Nutritional level of iron exhibits linear dose-effect relationship with blood hemoglobin up to its normal concentration during recovery from severe iron deficiency in rats. This relationship is used for measurement of bioavailability of food iron by the official methods of AOAC international. Hemoglobin regeneration efficiency method was improved using a longer depletion period and a longer repletion period as an easier and simpler alternative. The dose-effect relationship between dietary iron and blood hemoglobin yields a sigmoid curve in a wider range of dietary iron level, starting a feeding from normal iron status of animals. The analysis of dose-effect relationship between dietary iron and various iron parameters may give a definite basis of iron requirements and a division of severity of iron deficiency for experimental rats.

#### はじめに

鉄に貧血治療効果のあることは、英国医学の父である Thomas Sydenham (1624-1689) によって記載されており、鉄鋼の粉末や微粉末が貧血(但し、原語では chlorosis) の治療に用いられている<sup>1)</sup>。当然ながら、鉄の用量効果関係 dose-effect relationship ないし、用量反応関係 dose-response relationship は、貧血治療において認識されていたと思われる。実際、Sydenham は、chlorosis の治療に際し、年齢に応じて鉄剤の量を変えることに言及し、また、調製法の異なる鉄剤の有効性の違いについて論じている<sup>1)</sup>。

今日においても鉄欠乏は世界で最も有病率の高い欠乏性疾患であり、鉄欠乏克服のために、生物学的利用効率の高い鉄を含む食品が探索されている。この際、鉄の用量効果関係が生物学的利用効率の定量的な測定法に応用されている。

ここでは、混乱を避けるため、用量効果関係 dose-effect relationship は、ある用量に対して、個体ごとの連続量として規定される効果に対応させる関係とし、用量反応関係 dose-response relationship は、ある用量に対して、集団内で特定の反応を示した個体の割合に対応させる関係と定

義しておく。上記定義に従えば、鉄の用量効果関係の場合は、鉄によるヘモグロビンの上昇量ないしヘモグロビン濃度自体を従属変数にとるが、鉄の用量反応関係の場合、鉄によって治療した貧血個体の率を従属変数にとることになる。

用語の初出時から現在に至るまで一つの論文の中で dose-effect と dose-response が区別なく同一の現象に対して用いられることも多いので<sup>2,4)</sup>、その意味合いに留意する必要がある。

#### 用量効果関係を用いた鉄の生物学的利用効率の測定

鉄欠乏性貧血からの回復期における鉄とヘモグロビン濃度の間には、概ねヘモグロビン濃度が正常値を示すまで直線関係が成立する<sup>5)</sup>。この性質を利用した Rat Hemoglobin Bioassay として AOAC 法 (AOAC は Association of Official Analytical Chemists の略) が定められている<sup>6)</sup>。AOAC 法では、先ず 21 日齢以下の雄性ラットを鉄欠乏飼料での 4 週間の飼育および瀉血によってヘモグロビン濃度を 6 g/dL 未満とする。その後、硫酸第一鉄および被検試料を段階的に含む飼料で 2 週間飼育し、飼料中铁濃度とヘモグロ

\*所在地：千葉県松戸市岩瀬550 (〒271-8555)

\*\*所在地：福岡県北九州市八幡西区自由ヶ丘1番1号 (〒807-8586)

†連絡先 (Corresponding Author) : Tel : 047-365-1111, E-mail : yokoi@seitoku.ac.jp

ピン濃度の間の傾きを求める。被検試料の傾きを硫酸第一鉄の傾きで除したものが、被検試料中铁の生物学的利用効率 bioavailability である。

飼料中铁濃度とラットのヘモグロビン濃度の間には直線関係が成立するのに対して、肝臓中非ヘム鉄として測定される貯蔵鉄量は変化しなかった<sup>7)</sup>。このことから、鉄欠乏性貧血からの回復時にはヘモグロビン鉄の回復が優先されることが明らかである。

鉄の生物学的利用効率を求める方法として、AOAC 法に代表される slope-ratio 法（傾き比法）以外に hemoglobin regeneration efficiency method（ヘモグロビン回復効率法）がある。

slope-ratio 法による測定には、1 被検試料につき 24 匹（1 段階 8 匹が 3 段階）に加えて、鉄欠乏ならびに硫酸第一鉄対照 32 匹が必要である。また、集団全体のデータに直線回帰式を適用し、その傾きの比から生物学的利用効率を求める。

hemoglobin regeneration efficiency method（ヘモグロビン回復効率法）では、ラットに鉄欠乏飼料を一定期間与えた後、被検試料を含む飼料を与える期間（回復期間）を設定する。被検試料を含む飼料の摂取量と鉄含有量から、回復期間（概ね 20 日間）における鉄摂取量を求める。また、その期間の前後で体重とヘモグロビン濃度を測定し、ヘモグロビンの増加量を求める。ヘモグロビン増加量を鉄摂取量で除し、hemoglobin regeneration efficiency とする。そして、被検試料の hemoglobin regeneration efficiency を基準である硫酸第一鉄の hemoglobin regeneration efficiency で除し、relative biological values（相対的生物価）すなわち鉄の bioavailability（生物学的利用効率）とする。

hemoglobin regeneration efficiency method<sup>8)</sup> では、ラット 1 匹ずつに relative biological value が与えられる。1 被検試料について 1 段階の設定で済むため用いる動物数が少ない。しかし、7-8 日の欠乏期間と 9-10 日間の回復期間を用いる hemoglobin regeneration efficiency method で得られた relative biological values（相対的生物価）は、AOAC 法で得られた生物学的利用効率に比して過大評価しているという欠点が指摘されていた<sup>8)</sup> が、この欠点は、28 日間の欠乏期間と 20 日間の回復期間を用いることで軽減できる<sup>9)</sup>。

### 鉄の用量効果関係と鉄の必要量

鉄栄養正常状態のラットに対して、広い範囲で鉄濃度を段階的に変えた飼料を給与した場合の用量効果関係は、概ねシグモイド曲線となる。アメリカ合衆国の National Research Council (NRC) は、McCall<sup>10)</sup> ならびに Ahlström と Jantti の研究<sup>11)</sup> に基づき、成長とヘモグロビン最大値の維持のための鉄の必要量を 35 mg/kg のオーダーとし、成長期ラットならびに成獣の鉄の必要量を 35

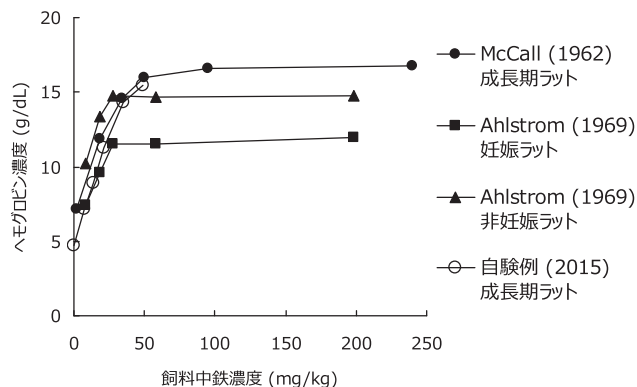


Fig. 1 各種報告に見られる飼料中铁レベルと血中ヘモグロビン濃度の関係

mg/kg と定めている。アメリカ栄養学会も、1976 年の AIN-76A ならびに 1993 年策定の AIN-93G および AIN-93M 処方において NRC の必要量を踏襲している。因みに、アメリカ栄養学会は、1928 年の創立から 1996 年までは、American Institute of Nutrition (AIN), 1996 年から 2005 年までは American Society for Nutritional Sciences (ASNS), 2005 年以降は American Society for Nutrition (ASN) という呼称の変遷を経ており、現行の飼料処方 は AIN 時代の 1993 年に策定されたものである。

Fig. 1 に、彼らの結果ならびに自験例<sup>12)</sup> をプロットした。離乳期ラットを対象とした McCall の研究（雌雄の表記なし）や自験例（3 週齢 Wistar 雄）では、飼料中铁濃度が 35 mg/kg でもヘモグロビン濃度が最大量に達していない。一方、Ahlström と Jantti (1969) の研究<sup>11)</sup> においては、3 ヶ月齢の雌ラットは、妊娠前には飼料中铁濃度が 28 mg/kg でヘモグロビン最大量に達し、妊娠中には飼料中铁濃度が 198 mg/kg の時、ヘモグロビン濃度が最大値となっているが、それ以上の濃度がないため最大値に到達しているかどうかの判定が出来ない。また、McCall (1962) の用いた鉄源は、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  であり、Ahlström と Jantti (1969) の用いた鉄源は  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  である。これらは、AIN の処方で用いられているクエン酸第二鉄とは異なり、本来であれば生物学的利用効率の高い 2 価鉄である。実際、hemoglobin regeneration efficiency method で測定したクエン酸第二鉄の生物学的利用効率は、硫酸第一鉄を 100% とした場合、47.8% である<sup>7)</sup>。しかしながら、AIN 処方と違って酸化防止剤も添加されていないので、酸化されて 3 価鉄になっていた可能性もあり、一概に判断できない。なお、自験例においては、AIN 処方に基づき、クエン酸第二鉄を鉄源としている。

鉄の必要量の合理的な推定のために、ヘモグロビンに限らず、飼料中铁濃度の範囲を広げ、各種鉄指標との関係を詳細に検討する必要があるのは確かである。更に、鉄の用量効果関係の解析は、ラットにおける鉄必要量の再検討に留まらず、ヒトの鉄欠乏モデルとして用いられる鉄欠乏ラットの重症度の適切な区分の設定にもつながると期待される。

## 謝 辞

本研究実施に当たり、日本学術振興会科学研究費(25350137)の助成を受けた。

## 参考文献

- 1) Sydenham T (1769) The Entire Works of Dr. Thomas Sydenham, 5th edition, Swan J, ed. London, UK: Printed for F. Newbery, at the Corner of St Paul's Church Yard, pp. 666.
- 2) Foster RHK (1939) Standardization of safety margin. *J Pharmacol Exp Therapeut* 65: 1-17.
- 3) Clarke MF, Lechycka M (1943) The biological assay of pyridoxine (vitamin B6): Two figures. *J Nutr* 25: 571-584.
- 4) Lushchak VI (2015) Dissection of the hormetic curve: Analysis of components and mechanisms. *Dose Response* 12: 466-479.
- 5) Hegsted DM, Neff R, Worcester J (1968) Determination of the relative nutritive value of proteins. Factors affecting precision and validity. *J Agric Food Chem* 16: 190-195.
- 6) Association of Official Analytical Chemists (1984) Bioavailability of iron: Rat hemoglobin repletion bioassay. Williams S, ed. Official methods of analysis, 14th ed. AOAC, Washington, DC, p 880-881.
- 7) Yokoi K, Konomi A, Otagi M (2011) Comparison of a modified hemoglobin regeneration efficiency method with a slope-ratio assay in measuring relative bioavailability of cocoa powder iron using rats. *Biol Trace Elem Res* 143: 1103-1109.
- 8) Forbes AL, Adams CE, Arnaud MJ, Chichester CO, Cook JD, Harrison BN, Hurrell RF, Kahn SG, Morris ER, Tanner JT, Whittaker P (1989) Comparison of in vitro, animal, and clinical determinations of iron bioavailability: International nutritional anemia consultative group task force report on iron bioavailability. *Am J Clin Nutr* 49: 225-238.
- 9) Yokoi K, Konomi A, Otagi M (2009) Iron bioavailability of cocoa powder as determined by the Hb regeneration efficiency method. *Br J Nutr* 102: 215-220.
- 10) McCall MG, Newman GE, O'Brien JRP, Valberg LS, Wittsa LJ (1962) Studies in iron metabolism. 1. The experimental production of iron deficiency in the growing rat. *Br J Nutr* 16: 297-304.
- 11) Ahlstrom A, Jantti M (1969) Effect of various dietary iron levels on rat reproduction and fetal chemical composition. *Ann Acad Sei Fenn A, IV BIOLOGICA* 152: 1-14.
- 12) 横井克彦, 野呂佳苗, 坂田桃子 (2015) 飼料中鉄レベルとの鉄指標の用量反応関係. 第32回日本微量栄養学会学術集会 平成27年5月30日, 京都市, 京都リサーチパーク, プログラム O-8, p.16.