

植物油多給はラットの肝臓中鉄濃度に影響しない

中 川 良 祐, 舟 場 正 幸, 松 井 徹
 (京都大学大学院 農学研究科 応用生物科学専攻*)
 (受付 2017年8月31日, 受理 2017年10月4日)

High-vegetable oil diets do not affect hepatic iron concentrations in rats

Ryosuke NAKAGAWA, Masayuki FUNABA and Tohru MATSUI
 Division of Applied Biosciences, Kyoto University Graduate School of Agriculture

Summary

Dysmetabolic iron overload syndrome (DIOS) has been known as one of the iron excessive accumulation diseases with obesity or overweight. Rats given high-vegetable oil diets are proposed as an experimental model of DIOS: some researchers reported that diets rich in coconuts oil or corn oil increased hepatic iron concentration although fatty acid composition was largely different between these oils. On the other hand, we and others repeatedly reported that excess animal fat did not increase hepatic iron concentration in rats. For confirming the effect of excess vegetable-oil on hepatic iron concentration, we studied hepatic iron concentration in rats given diets rich in coconuts oil and soybean oil that has similar fatty acid composition as corn oil. Because high oil diets are known to decrease feed intake and thus iron intake, we also investigated hepatic iron concentration in rats given these high oil diets with supplying iron to compensate for the reduction of iron intake. Rats were given a control, high-soybean oil, high-coconut oil diet, or these high-oil diets with iron supplementation for 12 weeks. Those high oil diets increased hepatic triacylglycerol concentrations. However, the high-oil diets with or without iron supplementation did not affect hepatic and plasma iron concentrations. These results indicated that high-vegetable oil diets increased fat accumulation but did not affect iron concentrations in rat liver.

鉄はすべての生命に必須の微量元素であり、酸素の運搬や酸化還元反応、遺伝子発現の制御、細胞の増殖・アポトーシスなど様々な生命活動に必要とされる。一方、鉄が過剰に蓄積すると障害をもたらす大きな問題となる。

体内の鉄が過剰になると肝臓におけるヘプシジンの発現が促進され¹⁾、ヘプシジンは腸上皮細胞側底膜およびマクロファージ細胞膜で発現している鉄エクスポーターであるフェロポルチンと結合して、これをリソソームへ誘導・分解し、発現を低下させる²⁾。このメカニズムによって、鉄吸収の抑制やマクロファージの鉄蓄積増加による鉄循環の減少が起こる。このように、肝臓は生体内の鉄の過不足を検知し、ヘプシジンを分泌することで、体内の鉄の恒常性を維持していると考えられている³⁾。

近年、鉄過剰蓄積疾患の一つとして肥満や過体重を伴う dysmetabolic iron overload syndrome (DIOS) が認知されるようになった。DIOS 発症には脂肪肝やインスリン抵抗性、しばしば遺伝的な素因に起因する潜在的な炎症に伴う鉄代謝調節の変化が関係しており、体内における過剰な

鉄蓄積は、炭水化物異化の減少や脂肪組織の機能異常が関係するメカニズムを介してインスリン抵抗性の原因となると考えられるようになってきた⁴⁾。

実験動物における油脂多給と肝臓中鉄濃度およびヘプシジン (*Hamp*) mRNA 発現との関連については、これまでにいくつかの報告がある。高ココナッツ油飼料を12週間給与したラットにおいて肝臓中鉄濃度と *Hamp* mRNA 発現が増加したことが報告されている⁵⁾。この試験では、DIOS 患者の肝臓におけるトランスフェリン1型受容体 (*TfR1*) mRNA 発現増加が示されており、高ココナッツ油飼料を12週間給与したラットにおいても肝臓における *TfR1* mRNA 発現が増加していることから、肝臓中鉄濃度の上昇にもかかわらず、*TfR1* 発現の増加による鉄の取り込みが促進されることで、肝臓における鉄代謝に異常が生じることが示唆されている。したがって、高油脂飼料を与えたラットは DIOS のモデルになり得ると考えられている。また、高ココナッツ油飼料を5週間給与したラットにおいて肝臓中鉄濃度は変化せず *Hamp* 発現が増加し、8週

*所在地：京都市左京区北白川追分町 (〒606-8502)

実験方法

間給与したラットでは肝臓中鉄濃度と *Hamp* 発現が増加することや⁶⁾、高ココナッツ油飼料を5週間給与したラットにおいて肝臓中鉄濃度が増加すること⁷⁾、また、高コーン油飼料を5週間給与したラットにおいて肝臓中鉄濃度が上昇するが、*Hamp* mRNA 発現は変化しないこと⁸⁾も報告されている。一方、我々は、4, 8および12週間の高ラード飼料給与は、ラットの肝臓中鉄濃度および *Hamp* 発現に影響を及ぼさないことを報告している⁹⁾。また、同様に高ラード飼料を16週間給与したマウスにおいて肝臓中鉄濃度や *Hamp* 発現に変化がみられなかったことも報告されている¹⁰⁾。

以上のように、動物性油脂であるラードの多給は肝臓中鉄濃度に影響しないが、植物油の多給は肝臓中鉄濃度を上昇させること、この肝臓中鉄濃度上昇は *Hamp* 発現抑制を介したのではないことが示唆される。また、ココナッツ油およびコーン油のいずれにおいても、その多給は肝臓中鉄濃度を上昇させるとされているが、ココナッツ油に含まれる脂肪酸は主にラウリン酸やミリスチン酸であり、コーン油に含まれる脂肪酸の多くはリノール酸やオレイン酸であるので¹¹⁾、特定の脂肪酸が肝臓中鉄濃度を高めるとは考えられない。

そこで本研究では、コーン油同様にリノール酸やオレイン酸を多く含むダイズ油の多給ならびにココナッツ油の多給が、肝臓中鉄含量に及ぼす影響を検討した。また、油脂多給により摂食量が減少することが報告されていることから^{9,12)}、摂食量の減少に伴い鉄摂取量が減少することが予想されるため、上記の2つの油脂多給群についてさらに鉄補給を行った群を設定した。

供試飼料

対照飼料 (CT) には AIN-93G¹³⁾ を用いた (Table 1)。高ダイズ油飼料 (SO) では 282 g/kg のコーンスターチをダイズ油に置き換えた。また、高ココナッツ油飼料 (CO) では、30 mg/kg の大豆油と 282 g/kg のコーンスターチをココナッツ油に置き換えた。高ダイズ油・高鉄飼料 (SOFe) と高ココナッツ油・高鉄飼料 (COFe) については、上記の各飼料にクエン酸鉄二水和物を添加し、鉄濃度が約2倍となるように調製した。

動物試験

30匹の4週齢 Sprague-Dawley 系雄ラットを6頭ずつ各試験飼料群に割り当て、約1週間対照飼料を給与する馴致期間の後に、試験飼料を12週間給与した。

室温は 24±1 °C、明期は 5:00~19:00 とした。ステンレスケージで単飼し、自由飲水 (蒸留水)、飽食とした。飼料摂取量は毎日計測し、体重は試験開始時と終了時に計測した。また、飼料効率、エネルギー効率を体重増加量と飼料摂取量またはエネルギー摂取量の比として算出した。

なお、油脂多給によって飼料摂取量が減少することが予想された。そこで、対照群と油脂を多給した群の鉄摂取量を同量とするために、対照群の平均飼料摂取量から鉄摂取量を毎日算出し、油脂を多給したラットの鉄摂取量の減少を補い、なおかつ油脂を多給した2群のラットの飼料摂取量に等しくなるように、各高油脂飼料とそれに対応した鉄添加高油脂飼料の配合割合を調整し給与した。したがって、試験群は、対照群 (CT)、ダイズ油多給群 (SO)、ココナッツ油多給群 (CO)、ダイズ油多給・鉄補給群 (SO+Fe)、ココナッツ油多給・鉄補給群 (CO+Fe) の計5群

Table 1 Composition of experimental diets (g/kg air dry matter)

	CT	SO	CO	SOFe	COFe
Dextrinized cornstarch	132	132	132	132	132
Cornstarch	397.486	115.486	115.486	115.451	115.451
Casein	200	200	200	200	200
Sucrose	100	100	100	100	100
Soybean oil	70	352	40	352	40
Coconut oil	0	0	312	0	312
Cellulose	50	50	50	50	50
Mineral premix ¹	35	35	35	35	35
Ferric citrate	0	0	0	0.035	0.035
Vitamin premix ²	10	10	10	10	10
L-Cystine	3	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
TBHQ	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
Energy concentration(kcal/kg)	3868	5278	5278	5278	5278
Iron concentration(mg/kg/diet)	38.7	38.0	38.3	71.4	72.8

CT, control diet; SO, high-soybean oil diet; CO, high-coconut oil diet; SOFe, high-soybean oil and high-iron diet; COFe, high-coconut oil and high-iron diet

¹AIN-93G-MX¹³⁾.

²AIN-93-VX¹³⁾.

Table 2 Primer pairs used for quantitative RT-PCR

Genes	Forward primer	Reverse primer
<i>Gapdh</i>	5'-ACAACCTTTGGCATCGTGGA-3'	5'-CTTCTGAGTGGCAGTGATGG-3'
<i>Hamp</i>	5'-GCTGCCTGTCTCCTGCTT-3'	5'-AGCCGTAGTCTGTCTCGTCTG-3'
<i>Tfr1</i>	5'-GAGTTCACATGACATCAAGC-3'	5'-TCCAGCCTCACGAGGAGTAT-3'

Gapdh, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; *Hamp*, Hepsidin; *Tfr1*, Transferrin receptor 1

とした。

動物実験は、「実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 25 年環境省告示第 84 号)を遵守し、京都大学における動物実験の実施に関する規程(京都大学動物実験委員会)に基づき行った(承認番号:28-43)。

試料採取

試験期間終了後、イソフルラン(エスカイン, 日本ファイザー, 東京)麻酔下で、あらかじめヘパリンを注入しておいた注射筒を用いて腹部大動脈から血液を採取した。採取した血液は 3000 × g, 4°C で 15 分間遠心分離を行い、血漿を得た。血液採取後、肝臓を採取し、湿重量を測定した。定量リアルタイム PCR に用いる肝臓サンプル約 1 g を 1 mL の RNA later (RNA later® Stabilization Solution, Invitrogen, Carlsbad, California, USA) 中で一晩冷蔵保存後、RNA later を除去し、-80°C で分析まで保存した。その他のサンプルは -80°C で分析まで保存した。

鉄濃度測定

血漿中鉄濃度は市販の分析キット(Fe C-テスト, 和光純薬, 大阪)を用いて測定した。採取した肝臓は、有害金属分析用硝酸および過塩素酸で湿式灰化後、0.1 M 塩酸で適切に希釈した後に、原子吸光分光光度計(AA-6600F, 島津, 京都)により測定した。

肝臓中トリアシルグリセロール濃度

約 100 mg の肝臓をクロロホルム・メタノール混液(2/1 v/v)中でホモジナイズし、振とうした後 0.12 mol/L NaCl 水溶液を加え、振とう、遠心分離(3000 rpm, 10 分間)をした。下層をとり、窒素ガスで蒸散させた後イソプロピルアルコールに溶解し、市販の分析キット(トリグリセライド E-テスト, 和光純薬)を用いて測定した。

定量的リアルタイム RT-PCR (qRT-PCR)

肝臓を Sepasol 試薬(ナカライテスク, 京都)中でホモジナイズし、遠心分離後(4°C, 12000 rpm, 10 分間)上清をとり、クロロホルムを加え激しく攪拌した。これを遠心分離(4°C, 12000 rpm, 15 分間)し、上層の透明な溶液をとり、これにイソプロピルアルコールを加え、激しく攪拌した。これを再び遠心分離(4°C, 12000 rpm, 5 分間)し、上清を完全に除き、蒸散させた後、ジエチルピロカー

ボネート(DEPC)水に溶解させ、これを RNA 溶液とした。試料中 RNA 量は分光光度計(UVmini-1240, 島津)を用いて 260 nm における吸光度を測定し求めた。

得られた RNA 溶液は ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix(東洋紡, 大阪)を用いて逆転写反応を行い、cDNA を得た。次いで、THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix(東洋紡)を用い、プロトコルに基づいて qRT-PCR を行った(Roter-Gene 6000, Corbett Research, Sydney, Australia)。補正遺伝子として *Gapdh* mRNA を用いた。得られた結果は ΔΔCt 法を用いて遺伝子転写産物量の存在比を求めた。*Hamp*, *Tfr1* の発現を測定のために用いたプライマー配列は Table 2 に示した。

統計処理

データは平均値と標準誤差で示した。一元配置の分散分析(One-way ANOVA)を用いて検定し、分散分析の結果が有意な場合は、各試験群間の差を Tukey-Kramer の多重比較を行い検定した。遺伝子発現のデータは正規分布に近似するため log 変換を行った。p < 0.05 を有意とした。統計処理は全て JMP13(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いた。

結果と考察

油脂源の相違や鉄補給の有無に関わらず、油脂を多給した群における飼料摂取量は CT 群と比べ少なかったが、油脂を多給した各群間で有意差は認められなかった(Table 3)。エネルギー摂取量は、CO+Fe 群と比較し、CT 群で少なかった。また、SO 群、CO 群、SO+Fe 群のエネルギー摂取量はこれらの中間的な価であった。試験期間の体重増加は、CO+Fe 群と比較し、CT 群、SO 群、CO 群で少なかった。また、SO+Fe 群の体重増加はこれらの中間的な価であった。油脂源の相違や鉄補給の有無に関わらず、油脂多給ラットでは CT 群と比べ飼料効率は高かった。エネルギー効率は、CT 群と比較し鉄補給した油脂多給の 2 群では高く、油脂多給のみの群は、CT 群と鉄補給した 2 群の中間的な価であった。油脂多給のみの 2 群の鉄摂取量は CT 群よりも少なかったが、CT 群と鉄補給した油脂多給 2 群との間に差はなかった。CT 群および SO+Fe 群と比べ、CO+Fe 群の肝臓重量は大きく、他の群の肝臓重量は中間的な値であった。ラットにおいて高油脂飼料を給与すると、飼料摂取量が低下することによって、

エネルギー摂取量は一定に保たれることが報告されている⁹⁾。また、ラットに高コーン油飼料を5週間給与した試験⁵⁾や、高ココナツ油飼料8週間給与した試験⁶⁾では、油脂多給は体重増加に影響を及ぼさないことが報告されている。本試験において油脂多給は飼料摂取量を減少させるが、エネルギー摂取量、体重増加やエネルギー効率には影響しないことが示され、従来の報告と一致していた。一方、ココナツ油を多給したラットに鉄を補給すると、CT群と比べエネルギー摂取量とエネルギー効率が増加するとともに、体重増加も促進された。ココナツ油を多給したラットでは、鉄摂取量が少ないので、鉄要求量が満たされていない可能性がある。また、マウスに要求量を上回る鉄補給を行うと、レプチン分泌が減少するとともに食欲が増進されることが報告されている¹⁴⁾。したがって、ココナツ油多給ラットに対する鉄補給は、鉄栄養状態を改善する、または、レプチン分泌抑制を介してエネルギー摂取量を増加させている可能性がある。しかし、血漿中ならびに肝臓中铁濃度は、各群間で差はなかったため、鉄の栄養状態には大きな差は無く、ココナツ油を多給したラットに対する鉄補給による体重増加促進の原因は明らかにはならなかった。

油脂源の相違や鉄補給の有無に関わらず、油脂を多給した群の肝臓中トリアシルグリセロール濃度はCT群と比べ高かった (Fig. 1)。また、鉄補給は肝臓中トリアシルグリセロール濃度に影響を及ぼさなかった。Meliら⁶⁾は、ココナツ油を24.4%含む飼料を8週間ラットに給与すると、肝臓中トリアシルグリセロール濃度は2倍になることを報告している。一方、本試験では、油脂の多給により肝臓中トリアシルグリセロール濃度は3倍程度に上昇していた。本試験ではココナツ油を30%含む飼料を12週間給与しており、その結果として、Meliら⁶⁾の試験よりも肝臓中トリアシルグリセロール濃度が上昇したものと推察された。

12週間の給与試験からなる本試験では、油脂の多給、多給した油脂の種類、鉄補給は、肝臓中および血漿中铁濃度、肝臓中 *Hamp* mRNA 発現ならびに *Tfr1* mRNA 発現

に影響を及ぼさなかった (Fig. 2, 3)。Ahmed と Oates⁸⁾は、ラットに高コーン油飼料を給与すると、肝臓中 *Hamp* 発現は変化しないが、鉄濃度が上昇することを報告している。Dongiovanniら⁵⁾は、ラットに高ココナツ油飼料を12週間給与すると、肝臓中铁濃度が上昇するとともに、肝臓における *Hamp* および *Tfr1* mRNA 発現が増加することを報告しており、*Tfr1* 発現増加による鉄の取り込み促進を介して鉄濃度が上昇すること、肝臓中铁濃度上昇により *Hamp* 発現が増加することを示唆している。また、Meliら⁶⁾は、ラットに高ココナツ油飼料8週間給与すると、肝臓中铁濃度が上昇するとともに、それに伴い *Hamp* 発現が増加したことを報告している。一方、本試験では、ダイズ油ならびにココナツ油の多給を12週間与えても、肝臓中铁、*Hamp* および *Tfr1* mRNA 発現に影響を及ぼさず、さらにこれら油脂多給に加え鉄を補給しても、これ

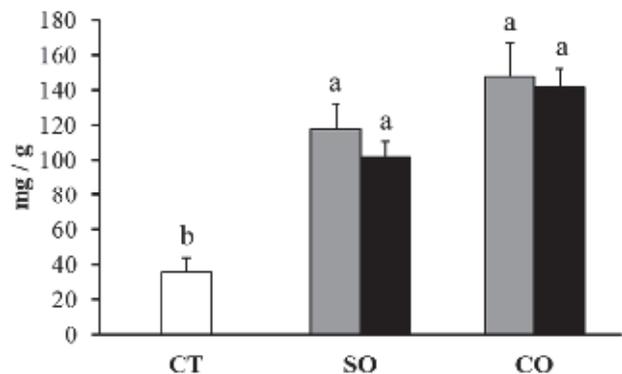


Fig. 1 Effects of high-vegetable oil diets and iron supplementation on hepatic triacylglycerol concentrations in rats. CT, the control diet; SO, a high-soybean oil diet; CO, a high-coconut oil diet. Open bar, control group; gray bar, groups not supplied iron; closed bar, groups supplied iron. Values are the mean \pm SEM (n = 6). One-way ANOVA indicated that the effect of diets on hepatic triacylglycerol concentrations was significant ($p < 0.05$). Mean values with different letters were significantly different by Tukey-Kramer test ($p < 0.05$).

Table 3 Effects of high-vegetable oil diets and iron supplementation on feed intake, energy intake, body weight gain, feed efficiency, energy efficiency, iron intake, and liver weight

	CT	SO	CO	SO + Fe	CO + Fe
Feed intake (g/day)	21.16 \pm 0.45a	15.71 \pm 0.32b	15.73 \pm 0.48b	15.97 \pm 0.57b	17.50 \pm 0.45b
Energy intake (kcal/day)	81.84 \pm 1.73b	82.90 \pm 1.69ab	83.00 \pm 2.52ab	84.30 \pm 3.02ab	92.39 \pm 2.38a
Body weight gain (g/day)	4.91 \pm 0.17b	5.22 \pm 0.16b	5.19 \pm 0.20b	5.44 \pm 0.24ab	6.16 \pm 0.24a
Feed efficiency (g/g)	0.23 \pm 0.01b	0.33 \pm 0.01a	0.33 \pm 0.01a	0.34 \pm 0.00a	0.35 \pm 0.01a
Energy efficiency (g/kcal)	0.059 \pm 0.001b	0.063 \pm 0.001ab	0.062 \pm 0.001ab	0.064 \pm 0.001a	0.067 \pm 0.001a
Iron intake (μ g/day)	818.80 \pm 17.35a	596.88 \pm 12.19b	602.28 \pm 18.31b	776.68 \pm 4.12a	815.71 \pm 2.95a
Liver weight (g)	13.76 \pm 0.62b	14.74 \pm 0.64ab	14.71 \pm 0.80ab	14.43 \pm 1.00b	17.64 \pm 0.56a

CT, rats fed control diet; SO, high-soybean oil diet; CO, high-coconut oil diet; SO + Fe, high-soybean oil diet with iron supplementation; CO + Fe, high-coconut oil diet with iron supplementation

Values are the mean \pm SEM (n = 6).

One-way ANOVA indicated that the effect of diets on all parameters was significant ($p < 0.05$).

Mean values with different superscript letters in the same line were significantly different by Tukey-Kramer test ($p < 0.05$).

Feed efficiency = Body weight gain / Feed intake

Energy efficiency = Body weight gain / Energy intake

らは変化しなかった。したがって、油脂多給と肝臓中鉄濃度の関連について、過去の試験と本試験では、明らかに異なった結果が得られたといえる。

油脂過剰により肝臓中鉄濃度が上昇することを示した試験と本試験の実験条件を比較した。供試動物はどの試験も Sprague-Dawley 系雄ラットを用いていた。Sprague-Dawley 系ラットには、高油脂飼料の摂取により体重が変化しない個体と、体重が増加する個体がいることが報告されている¹⁵⁾。本試験では、油脂過剰でも体重は変化しなかった。Ahmed と Oates⁸⁾、Dongiovanni ら⁵⁾、Meli ら⁶⁾ の試験においても、油脂過剰摂取は体重に影響を及ぼさなかった。したがって、用いたラットの性・系統が肝臓中鉄濃度についての異なる結果につながったわけではないと考えられる。また、Ahmed と Oates⁸⁾ は 5 週齢から 5 週間のコーン油多給を、Dongiovanni ら⁵⁾ は 6 週齢から 12 週間のココナツ油多給を、Meli ら⁶⁾ は平均体重が 114 g のラットを用い、8 週間のココナツ油多給を行っていた。本試験では、5 週齢から 12 週間にわたり試験飼料を給与しており、試験開始時週齢は、本試験と過去の報告の間に大きな差はなく、試験飼料給与期間も他の試験より短くはなかった。したがって、試験開始時週齢や試験飼料給与期間が肝臓中鉄濃度の異なる結果の原因であるとも考えられない。

本試験における高油脂飼料に含まれる油脂は

66.7 g/1000 kcal、鉄を補給していない飼料中鉄濃度は 7.3 mg/1000 kcal であった。Ahmed と Oates⁸⁾ は液状飼料を供試していたので飼料成分の濃度は直接的に比較できないが、彼らの用いた高油脂飼料は、79.6 g/1000 kcal の油脂、8.8 mg/1000 kcal の鉄を含んでおり、本試験と比べ油脂濃度および鉄濃度は高かった。一方、Dongiovanni ら⁵⁾ の試験における高油脂飼料の油脂濃度は 35.7% であり、本試験と差はなかった。また、彼らが供試した対照飼料中鉄含量は 85 mg/kg であり本試験と比べ高く、油脂多給群の飼料の鉄含量は 7.4 mg/kg であり本試験と比べ著しく低かった。Meli ら⁶⁾ が用いた油脂多給飼料の油脂濃度は 26.2% であり、本試験と比べ低かった。なお、Meli ら⁶⁾ は飼料中鉄濃度を示しておらず、対照群と油脂多給群の鉄含量に差がないことのみを示している。以上の結果から、飼料中の油脂含量や鉄含量の差が、油脂多給の肝臓中鉄濃度に及ぼす影響が異なる原因であるとは考えられない。さらに、先に述べたように、本試験における油脂多給による肝臓中トリアシルグリセロール濃度の増加は Meli ら⁶⁾ の試験よりも著しかった。Meli ら⁶⁾ は、組織学的に油脂多給による脂肪肝発生を示している。本試験では、組織学的検討を行っていないが、少なくとも Meli ら⁶⁾ の試験よりも顕著な脂肪肝が生じていると考えられる。したがって、脂肪肝自体が肝臓中鉄濃度を上昇させるとは考えにくい。

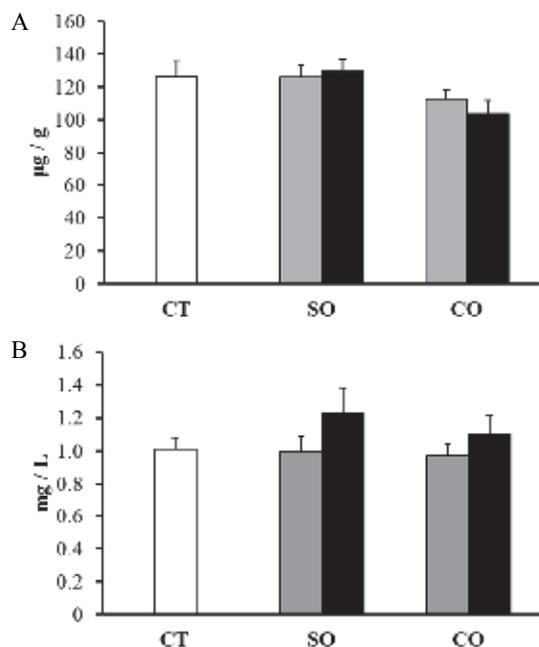


Fig. 2 Effects of high-vegetable oil diets and iron supplementation on (A) hepatic and (B) plasma iron concentrations in rats
CT, the control diet; SO, a high-soybean oil diet; CO, a high-coconut oil diet
Open bar, control group; gray bar, groups not supplied iron; closed bar, groups supplied iron.
Values are the mean \pm SEM (n = 6).
One-way ANOVA indicated that the effect of diets on hepatic and plasma iron concentration was not significant.

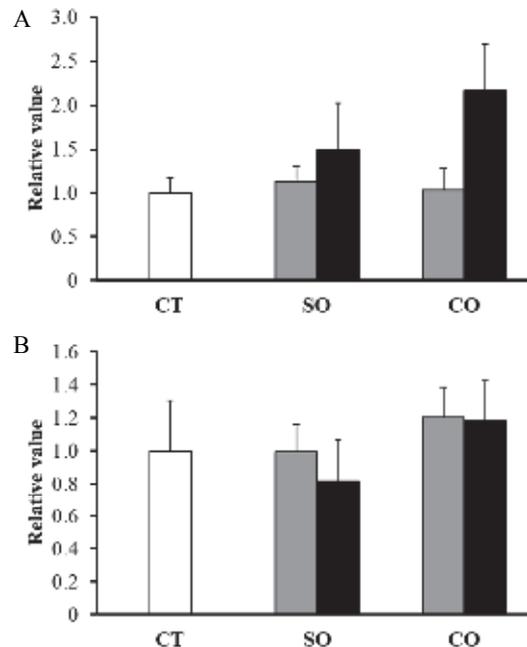


Fig. 3 Effects of high-vegetable oil diets and iron supplementation on the mRNA expressions of (A) hepcidin (*Hamp*) and (B) transferrin receptor 1 (*Tfr1*) in rat liver
CT, the control diet; SO, a high-soybean oil diet; CO, a high-coconut oil diet
Open bar, control group; gray bar, groups not supplied iron; closed bar, groups supplied iron.
The expression levels in the CT rats were set at 1.
Values are the mean \pm SEM (n = 6).
One-way ANOVA indicated that the effect of diets on *Hamp* and *Tfr1* expression was not significant.

本試験の結果から、ダイズ油あるいはココナツ油の多給は肝臓中鉄濃度に影響を及ぼさないことが明らかになった。本試験では油脂多給によって飼料摂取量の減少がみられたが、油脂多給による肝臓中鉄濃度増加を示した過去の報告では飼料摂取量が示されていない^{5,6,8)}。今後は、過食モデル動物を用いるあるいは卵巣摘出動物を用い、飼料摂取量を増加させた条件下で試験を行う必要がある。また、DIOSは非アルコール性脂肪性肝疾患でありかつインスリン抵抗性の患者の多くで認められている⁴⁾。一方、ラットに対する慢性的なインスリン投与は、低血糖を生じるとともに、IRS2活性化を介して肝臓におけるTfR1発現および鉄濃度を増加させることが報告されている¹⁶⁾。したがって、同様な飼育条件ではあるが、本試験および油脂多給により肝臓中鉄濃度が上昇した試験では、血漿中インスリン濃度やインスリン感受性が異なっていた可能性がある。今後は、この点も明らかにする必要がある。

参考文献

- 1) Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loréal O (2001) A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 276: 7811-7819.
- 2) Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J (2004) Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 306: 2090-2093.
- 3) Koenig MD, Tussing-Humphreys L, Day J, Cadwell B, Nemeth E (2014) Hepcidin and iron homeostasis during pregnancy. *Nutrients* 6: 3062-3083.
- 4) Dongiovanni P, Fracanzani AL, Fargion S, Valenti L (2011) Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: a promising therapeutic target. *J Hepatol* 55: 920-932.
- 5) Dongiovanni P, Lanti C, Gatti S, Rametta R, Recalcati S, Maggioni M, Fracanzani AL, Riso P, Cairo G, Fargion S, Valenti L (2015) High fat diet subverts hepatocellular iron uptake determining dysmetabolic iron overload. *PLoS One* 10: e0116855.
- 6) Meli R, Mattace Raso G, Irace C, Simeoli R, Di Pascale A, Paciello O, Pagano TB, Calignano A, Colonna A, Santamaria R (2013) High Fat Diet Induces Liver Steatosis and Early Dysregulation of Iron Metabolism in Rats. *PLoS One* 8: e66570.
- 7) Johnson PE, Lukaski HC, Bowman TD (1987) Effects of level and saturation of fat and iron level and type in the diet on iron absorption and utilization by the rat. *J Nutr* 117: 501-507.
- 8) Ahmed U, Oates PS (2013) Dietary fat level affects tissue iron levels but not the iron regulatory gene HAMP in rats. *Nutr Res* 33: 126-135.
- 9) Takai K, Funaba M, Matsui T (2015) Time effects of a high-fat diet on hepatic iron concentrations in rats. *Trace Nutr Res* 32: 27-33.
- 10) Sonnweber T, Ress C, Nairz M, Theurl I, Schroll A, Murphy AT, Wroblewski V, Witcher DR, Moser P, Ebenbichler CF, Kaser S, Weiss G (2012) High-fat diet causes iron deficiency via hepcidin-independent reduction of duodenal iron absorption. *J Nutr Biochem* 23: 1600-1608.
- 11) 文部科学省 食品成分データベース. <http://fooddb.mext.go.jp/> (2017年8月30日閲覧)
- 12) Schemmel R, Mickelsen O, Gill JL (1970) Dietary obesity in rats: Body weight and body fat accretion in seven strains of rats. *J Nutr* 100: 1041-1048.
- 13) PG Reeves, FH Nielsen, GC Fahey Jr (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
- 14) Gao Y, Li Z, Gabrielsen JS, Simcox JA, Lee SH, Jones D, Cooksey B, Stoddard G, Cefalu WT, McClain DA (2015) Adipocyte iron regulates leptin and food intake. *J Clin Invest* 125: 3681-3691.
- 15) Bertinato J, Aroche C, Plouffe LJ, Lee M, Murtaza Z, Kenney L, Lavergne C, Aziz A. (2014) Diet-induced obese rats have higher iron requirements and are more vulnerable to iron deficiency. *Eur J Nutr* 53: 885-895.
- 16) Jiang X, Wang H, Shi W, Shen Z, Shen H, Li M (2014) Hyperinsulinemia induces hepatic iron overload by increasing liver TfR1 via the PI3K/IRP2 pathway. *J Mol Endocrinol* 53: 381-392.