

1,25-(OH)₂-D₃ 投与がラットの血液及び組織中微量元素 (Cu, Zn, Fe) 含量に及ぼす影響

畠 中 貴 弘¹⁾・加 藤 健²⁾・舟 場 正 幸³⁾・矢 野 秀 雄¹⁾・川 島 良 治¹⁾

(¹⁾京都大学農学部*, (²⁾現・雪印乳業(株)技術研究所**, (³⁾現・麻布大学獣医学部***)

Effect of 1,25-(OH)₂-D₃ administration on blood and tissue contents of trace elements (Cu, Zn and Fe) in rats

Takahiro HATANAKA, Ken KATO, Masayuki FUNABA, Hideo YANO and Ryoji KAWASHIMA

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kyoto University

The effect of 1,25-(OH)₂-D₃ administration to vitamin D-replete rats on Cu, Zn and Fe distribution in their bodies was investigated in this study. 1,25-(OH)₂-D₃ was subcutaneously injected at two dosage levels (0.05 or 0.5 μg/kg body weight) for five days. Serum Ca concentration was increased only in the rats at the dosage level of 0.5 μg/kg body weight. In some tissues, 1,25-(OH)₂-D₃ administration increased Cu and Zn contents. Particularly, at the dosage level of 0.5 μg/kg body weight, the contents of these minerals were increased in the upper site of small intestine, the main Cu and Zn absorption site. These results suggested the promoted absorption of Cu and Zn by 1,25-(OH)₂-D₃. In the kidney, the increase of Cu content was observed at both dosage levels and Zn content showed a similar tendency. The weight of kidney was also increased dose-dependently. Therefore, the impaired renal function by vitamin D excess might be related with the accumulation of Cu and Zn in the kidney.

近年、ビタミンDがCa、P及び骨代謝に対してのみならず、細胞の分化・誘導や免疫活性に影響を及ぼすことが知られるようになり、その多岐にわたる生理作用に対して注目を集めている¹⁾。ビタミンDがこれら以外のミネラル代謝に及ぼす影響に関する研究は1940年代より行われてきているが、主として有害金属であるPb、Cd、Hgの腸管吸収あるいは骨への沈着の様相が観察されてきた²⁻⁴⁾。最近では、MykkanenとWasserman(1989,1990)が小腸刷子縁膜小胞の無機態セレンの取り込みと蓄積がビタミンD投与により促進されたことを観察し、この機構に関して膜構造の変化がビタミンDにより誘発さ

*所在地：京都市左京区北白川追分町(〒606)

**所在地：埼玉県川越市南台1-1-2(〒350)

***所在地：神奈川県相模原市淵野辺1-7-71(〒229)

れた結果である可能性を示唆している^{5,6)}。しかし、ビタミン D と必須微量元素である Cu, Zn, Fe 代謝との関係についての報告はほとんど見当たらず、腸管吸収に関して Wasserman (1962)⁷⁾ 及び Worker と Migicovski (1961)³⁾ が報告している程度である。さらにこの中でも前者は Cu, Zn については変化しないが Fe については促進されることを、後者は Zn について促進されることを報告しており、必ずしも一致していない。そこで本試験では活性型ビタミン D の一種である 1,25-(OH)₂-D₃ 投与が、ビタミン D 充足ラットの Cu, Zn, Fe の体内分布に及ぼす影響を検討した。

実 験 方 法

供試動物には離乳後より市販のラット育成用飼料を飽食させた 8 週齢ウィスター系雄ラット 11 頭を用い、対照区では溶媒のみを、(D+) 区では 0.05 $\mu\text{g/kg}$ 体重の割合で、(D++) 区では 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 体重の割合で 1,25-(OH)₂-D₃ を 5 日間皮下投与した。6 日目に腹部大動脈からの採血により屠殺後各組織を採取し、原子吸光法にて血液及び組織中ミネラル含量を測定した。血清 Fe 濃度はバソフェナントロリン法にて測定した。各区の最小自乗平均値間の差の検定は Student の t-test により行った。

結 果 と 考 察

Table 1 に血清ミネラル濃度を示した。血清 Ca 濃度は (D++) 区で他の二区に比べて有意に高い値を示したが、(D+) 区では対照区に比べて有意な上昇は認められなかった。ビタミン D の過剰摂取及び投与は様々な影響を引き起こすが、それらは全て血中 Ca 濃度の異常な上昇と関連づけられており⁸⁾、血清 Ca 濃度で判断する限りでは (D+) 区では生理的な投与、(D++) 区では薬理的な投与が行われたと考えられた。Mg, Pi 及び Cu, Zn, Fe に関しては有意な変化は認められなかった。

Table 2, 3, 4 に各々組織中 Cu, Zn, Fe 含量を示した。組織中 Cu, Zn 含量は 1,25-(OH)₂-D₃ 投与によっていくつかの組織で有意な増加が認められた。Cu, Zn は主に小腸上部（十二指腸）で吸収され、腸管粘膜上皮細胞内で結合蛋白であるメタロチオネインと結合し蓄積されて、必要に応じて門脈中へ放出されると考えられている^{9,10)}。本試験における (D++) 区の小腸上部 Cu, Zn 含量増加は、腸管粘膜上皮細胞内 Cu, Zn 含量の増加に起因するものと考えられ、各組織への Cu, Zn の蓄積の増加と考え併

Table 1. Effect of 1,25-(OH)₂-D₃ administration on serum mineral concentration

Groups*	Ca	Pi	Mg	Cu	Zn	Fe
		mg/dl			$\mu\text{g/ml}$	
Control	9.25 ^a (0.42)	11.18 (0.77)	3.38 (0.34)	1.97 (0.25)	2.50 (0.18)	1.98 (0.32)
D+	9.58 ^a (0.36)	11.31 (0.67)	2.57 (0.30)	2.05 (0.21)	2.35 (0.15)	1.82 (0.28)
D++	12.17 ^b (0.42)	8.95 (0.77)	2.23 (0.34)	2.22 (0.21)	2.59 (0.15)	2.18 (0.32)

Each Value is the L. S. mean (S. E.).

The means with different superscript letters differ significantly ($p < 0.05$).

* D+ and D++ groups were injected with 1,25-(OH)₂-D₃ at a 0.05- and 0.5- $\mu\text{g/kg}$ body weight dose, respectively and the control group with the solvent.

Table 2. Effect of 1,25-(OH)₂-D₃ administration on tissue Cu content

Groups*	Liver	Kidney	Spleen	Small intestine			Bone
				Upper site	Middle site	Lower site	
$\mu\text{ g/g dry weight}$							
Control	18.5	48.0 ^a	11.5	12.1 ^a	12.4	8.4	0.56 ^a
	(1.3)	(3.5)	(0.5)	(0.8)	(1.1)	(0.6)	(0.06)
D+	18.4	65.1 ^b	12.7	13.6 ^a	12.2	7.7	0.59 ^a
	(1.2)	(3.0)	(0.5)	(0.7)	(1.0)	(0.5)	(0.05)
D++	19.2	69.1 ^b	11.2	15.8 ^b	12.2	8.3	1.02 ^b
	(1.2)	(3.0)	(0.5)	(0.7)	(1.0)	(0.5)	(0.05)

Each Value is the L. S. mean (S. E.).

The means with different superscript letters differ significantly ($p < 0.05$).

* D+ and D++ groups were injected with 1,25-(OH)₂-D₃ at a 0.05- and 0.5- $\mu\text{g/kg}$ body weight dose, respectively and the control group with the solvent.

Table 3. Effect of 1,25-(OH)₂-D₃ administration on tissue Zn content

Groups*	Liver	Kidney	Spleen	Small intestine			Bone
				Upper site	Middle site	Lower site	
$\mu\text{g/g dry weight}$							
Control	248	304	92 ^a	218 ^a	245	420 ^{ab}	148
	(33)	(44)	(8)	(15)	(24)	(32)	(12)
D+	218	400	108 ^{ab}	235 ^a	224	331 ^a	141
	(29)	(38)	(7)	(13)	(21)	(28)	(10)
D++	232	472	124 ^b	293 ^b	253	446 ^b	137
	(29)	(38)	(7)	(13)	(21)	(28)	(10)

Each Value is the L. S. mean (S. E.).

The means with different superscript letters differ significantly ($p < 0.05$).

* D+ and D++ groups were injected with 1,25-(OH)₂-D₃ at a 0.05- and 0.5- $\mu\text{g/kg}$ body weight dose, respectively and the control group with the solvent.

Table 4. Effect of 1,25-(OH)₂-D₃ administration on tissue Fe content

Groups*	Liver	Kidney	Spleen	Small intestine			Bone
				Upper site	Middle site	Lower site	
$\mu\text{g/g dry weight}$							
Control	443	242	1239	99	69	70	112
	(64)	(14)	(221)	(8)	(9)	(6)	(38)
D+	263	256	1762	117	82	54	170
	(55)	(12)	(192)	(7)	(8)	(5)	(33)
D++	384	225	1152	91	68	49	110
	(55)	(12)	(192)	(7)	(8)	(5)	(33)

Each Value is the L. S. mean (S. E.).

* D+ and D++ groups were injected with 1,25-(OH)₂-D₃ at a 0.05- and 0.5- $\mu\text{g/kg}$ body weight dose, respectively and the control group with the solvent.

せて1,25-(OH)₂-D₃投与によるCu, Znの吸収促進の可能性が示唆された。また、前述のように血清Cu, Zn濃度に1,25-(OH)₂-D₃投与による有意な上昇は認められなかったが、ラットはCu, Zn過剰に対して強い耐性を持つことが認められており^{11,12)}, Cu, Znの代謝回転を高めることで血中Cu, Zn濃度上昇をある程度抑制する能力を有すると考えられた。

また、ビタミンD充足動物に対する活性型ビタミンDの投与は糸球体濾過量の大幅な減少¹³⁾やCa, Mgの尿細管以降での見かけの再吸収の抑制¹⁴⁾などの腎機能低下を引き起こすことが観察されている。これらの原因として、従来血中Ca濃度の上昇による腎の石灰化や血管収縮作用を有するアンギオテンシンⅡの活性化が提唱されてきたが¹³⁾, 近年血中Ca濃度の上昇を伴わない程度のビタミンD過剰による腎機能低下が報告されている¹⁵⁾。本試験においても表には示していないが腎機能低下が原因と考えられる腎臓重量の増加が投与量に用量依存的に生じ、血清Ca濃度で判断する限りでは生理的な投与であると考えられた(D+)区でもビタミンD過剰による腎機能の低下が生じていると考えられた。また腎臓Cu含量は(D+), (D++)両区で有意に増加し、Znも同様の傾向が認められ(P<0.06), 腎機能低下とCu, Znの蓄積の関係が示唆された。しかし、ビタミンD過剰による腎機能低下がどのような形態のCu, Znを増加させ、これらのミネラルの恒常性維持に対してどの様に作用するかは本試験では不明である。

その他の組織に関しては、Cuが骨において、Znが脾臓において対照区に対して(D++)区で有意に高い値を示したが、現在のところ明確な説明は出来ない。

一方組織中Fe含量は有意な変化が認められなかった。

以上より1,25-(OH)₂-D₃は微量元素代謝にも影響を及ぼすようであるが、本試験ではこれらのミネラルの体内分布を調べたに過ぎず、そのメカニズムに対する考察は推察の域を出ない。次の研究課題としてそのメカニズムを解明するには今回示唆されたCu, Znの吸収促進や、腎機能低下がCu, Znの排出に及ぼす影響を中心に更なる検討が必要であると考えられる。

文 献

- 1) DeLUCA, H. F. (1988) FASEB. J. 2: 224-236
- 2) SOBEL, A. E., H. YUSAKA, D. D. PETERS and B. KRAMER (1940) J. Biol. Chem. 132: 239-265
- 3) WORKER, N. A. and B. B. MIGICOVSKI (1961) J. Nutr. 75: 222-224
- 4) MYKKANEN, H. M. and R. H. WASSERMAN (1982) J. Nutr. 112: 520-527
- 5) MYKKANEN, H. M. and R. H. WASSERMAN (1989) J. Nutr. 119: 242-247
- 6) MYKKANEN, H. M. and R. H. WASSERMAN (1990) J. Nutr. 120: 882-888
- 7) WASSERMAN, R. H. (1962) J. Nutr. 77: 69-80
- 8) McDOWELL, L. R. (1989) Vitamins In Animal Nutrition, Academic Press, San Diego: pp. 87
- 9) 和田攻 (1985) 金属とヒトーエコトキシコロジーと臨床一, 朝倉書店, 東京: pp. 102-103
- 10) 和田攻 (1985) 金属とヒトーエコトキシコロジーと臨床一, 朝倉書店, 東京: pp. 86
- 11) 木村正巳, 小滝規子訳 (1981) 環境汚染物質の生体への影響 12 銅・鉄 和田攻, 木村正巳監訳,

東京化学同人, 東京 : pp. 23

- 12) 山根靖弘, 富田寛, 玄番昭夫, 石山英一, 坂井和男訳 (1986) 環境汚染物質の生体への影響 17
亜鉛 和田攻, 木村正巳監訳, 東京化学同人, 東京 : pp. 243-244
- 13) GOFF, J. P., R. L. HORST, E. T. LITTLELIKE, A. BORIS and M. R. USKOKOVIC (1986) J. Nutr. 116 :
1500-1510
- 14) MATSUI, T., T. HARUMOTO, H. YANO and R. KAWASHIMA (1990) J. Nutr. Sci. Vitaminol. 36 : 99-104
- 15) MORISSEY, R. L., R. M. COHN, R. N. EMPSON, H. L. GREENE, O. D. TAUTON and Z. Z. ZIPORIN (1977) J.
Nutr. 107 : 1027-1034