

# 鉄欠乏食ラットの肝臓、脾臓および褐色脂肪組織における鉄含有量の変化

河西恵子・荒井千穂・名嘉一恵・遠藤司郎

## Change in iron content in the liver, spleen and brown adipose tissue from iron-deficient rats

KASAI Keiko, ARAI Chiho, NAKA Kazue and ENDO Shiro

We investigated the effect of an iron-deficient (ID) diet on iron content in the liver, spleen and brown adipose tissue from rats. Blood hemoglobin concentration and hematocrit value significantly decreased in ID rats. Rats fed ID diet for 5 weeks exhibited tendency to decrease the weight of the liver and epididymal and retroperitoneal adipose tissue and to increase that of the spleen and brown adipose tissue. Iron content significantly decreased in the liver and spleen after ID diet treatment of 5 weeks. On the other hand, iron content in brown adipose tissue significantly decreased after the ID diet treatment of 1 week, while there was a tendency to increase the content after 5 weeks. These results suggest the possibility that change in tissue iron content is different in the liver, spleen and brown adipose tissue from the ID rats.

Keywords: Iron-deficient diet, Brown adipose tissue, Tissue iron content

鉄欠乏食,褐色脂肪組織,組織鉄含有量

### 1. 緒言

体内の鉄は機能鉄と貯蔵鉄に大別され、肝臓や脾臓は貯蔵鉄の場所として認識されている。一方の褐色脂肪組織は褐色脂肪組織の機能特性から、機能鉄が多く含まれる組織として理解されている。ヒトや実験動物において、熱産生能の低下が鉄欠乏と密接に関係していることが指摘されている<sup>1,3)</sup>。今回、我々は鉄欠乏時の臓器鉄の保持を知る目的で、前回の実験結果に基づいて<sup>4)</sup>、ヘマトクリット (Hct) 値が減少するが血清鉄濃度が変化しない1週間目と、Hct 値と血清鉄濃度の両者とも減少する5週間目における肝臓、脾臓および褐色脂

肪組織の重量と鉄含有量について検討した。

### 2. 実験方法

#### 1) 実験材料

成熟ラットでは貯蔵鉄量が多く、鉄欠乏性貧血が発症しにくいことから、実験材料にはJcl:Wistar雄性ラット (日本クレア株式会社) 3週齢、体重 $43.5 \pm 0.4$  gを購入し、1週間予備飼育後用いた。温度 $20 \pm 1$ 度、相対湿度 $65 \pm 10\%$ で6:00から20:00まで人工照明下で、個別ケージを用いて飼育した。動物は鉄欠乏群 (鉄8 mg/kg群) と鉄充足の対照群 (鉄50mg/kg群) に分け、飲料水 (蒸溜水)

表1 飼料組成

成分 (g/kg)	鉄50mg/kg飼料	鉄8mg/kg飼料
コーンスターチ	397.4860	397.4860
ミルクカゼイン	200.0000	200.0000
$\alpha$ 化コーンスターチ	132.0000	132.0000
シュークロース	100.0000	100.0000
大豆油	70.0000	70.0000
ミネラル混合	35.0000	*35.0000
ビタミン混合	10.0000	10.0000
L-シスチン	3.0000	3.0000
重酒石酸コリン	2.5000	2.5000
第3ブチルヒドロキノン	0.0140	0.0140
セルロースパウダー	50.0000	50.0000
クエン酸鉄	0.0294	0.0247

\*鉄8mg/kg飼料はミネラル混合からクエン酸鉄を除いた。

と飼料は自由摂取させた。さらに対照群は飼料摂取量の影響を考慮するために、鉄欠乏群の飼料摂取量と同等にした制限給餌群に分けられた。飼料はAIN-93Gに基づいた精製飼料（オリエンタル酵母株式会社）を用い、その組成は表1に示した。

## 2) 臓器重量の測定

臓器の摘出は、同一験者が採血後、速やかに行い、それらの重量は生理的食塩水で洗浄後、濾紙で水分を除去し、電子天秤（株式会社エー・アンド・ディー）で秤量した。

## 3) 生化学的検査

鉄欠乏状態を把握する目的で血中ヘモグロビンおよびHct値を測定した。実験は約20時間の絶食後、日本栄養・食糧学会の実験動物指針に従って実施した。ラットは体重測定後、採血は麻酔下で腹部大動脈より行った。血中ヘモグロビン量は市販キット（ヘモグロビン-テストワコー）によって、Hct値はキャピラリー管を用いて遠心して求

めた。臓器鉄の含有量は臓器摘出後、一部の臓器を600℃で灰化し、0.6N塩酸で溶解・希釈後、市販キット（Fe-Bテストワコー）によって求めた。

## 4) 統計処理

結果は平均±標準誤差で示した。有意差の検定はスチューデントのt検定で行ったが、F検定で分散が等しくなかった場合はマン・ホイットニのU検定を用いて行った。

## 3. 結果および考察

### 1) 体重および臓器重量について

血中ヘモグロビン濃度とHct値は鉄欠乏状態を把握する重要な指標である。表3に示す様に、鉄欠乏群の血中ヘモグロビン濃度とHct値は1週目および5週目とも対照群の値より有意に低下した。これらの結果から、我々は本実験で用いた鉄欠乏食が食餌性の鉄欠乏状態を惹起したと判断した。鉄欠乏群の体重は1週間目では対照群と同様であったが、5週間目体重は有意に低かった（表2）。この体重増加の抑制は前回報告<sup>4)</sup>した様に、飼料摂取量および飼料効率の減少が一部関係していると考えられるが、表2、3に示した様に脂肪組織の代謝変化に基づく体脂肪量の減少の関与も考えられる。

鉄欠乏食による臓器重量の変化において（表2、3）、相対肝臓重量は対照群と比較して1週目で変化しなかったが、5週目では僅かに減少した。相対脾臓重量は対照群と比較して1週目で有意に減少し、5週目では逆に増加する傾向が見られた。この増加傾向は鉄欠乏時に見られる心臓肥大<sup>5,6)</sup>と

表2. 体重および臓器重量

	1週間給餌			5週間給餌		
	50mg/kg対照群	50mg/kg制限給餌群	8mg/kg群	50mg/kg対照群	50mg/kg制限給餌群	8mg/kg群
ラット匹数	7	6	8	6	6	7
体重(g)	111.1±1.5	116.6±4.2	110.6±2.6	295.1±7.3	254.0±9.9 <sup>b</sup>	262.0±4.1 <sup>b</sup>
肝臓(g)	3.812±0.073	4.107±0.138	3.736±0.133 <sup>c</sup>	9.274±0.296	7.246±0.401 <sup>b</sup>	7.284±0.197 <sup>b</sup>
脾臓(g)	0.402±0.015	0.403±0.030	0.328±0.019 <sup>ac</sup>	0.689±0.046	0.514±0.023 <sup>b</sup>	0.662±0.022
白色脂肪 副睾丸脂肪(g)	0.482±0.042	0.506±0.084	0.447±0.035	3.582±0.326	3.058±0.232	2.705±0.139 <sup>a</sup>
後腹壁脂肪(g)	0.482±0.050	0.488±0.057	0.423±0.077	5.514±0.706	4.589±0.392	3.845±0.321 <sup>a</sup>
褐色脂肪(g)	0.147±0.015	0.163±0.014	0.154±0.011	0.206±0.023	0.255±0.021	0.239±0.024

データは、平均±標準誤差を示す。

<sup>a</sup>:50mg/kg対照群との有意差(p<0.05)

<sup>b</sup>:50mg/kg対照群との有意差(p<0.01)

<sup>c</sup>:50mg/kg制限給餌群との有意差(p<0.05)

表3 生化学検査および相対臓器重量

	1 週間給餌			5 週間給餌		
	50mg/kg対照群	50mg/kg制限給餌群	8mg/kg群	50mg/kg対照群	50mg/kg制限給餌群	8mg/kg群
ラット匹数	7	6	8	6	6	7
生化学検査						
ヘモグロビン(g/L)	128±12	94±4 <sup>a</sup>	98±7 <sup>a</sup>	170±4	94±4 <sup>b</sup>	92±3 <sup>b</sup>
ヘマトクリット(%)	36.5±1.3	36.6±1.6	30.7±1.3 <sup>bd</sup>	43.9±1.6	42.4±0.4	23.8±0.6 <sup>bd</sup>
相対臓器重量(g/100g体重)						
肝臓	3.434±0.070	3.524±0.032	3.373±0.061 <sup>a</sup>	2.987±0.067	2.844±0.055	2.778±0.047 <sup>a</sup>
脾臓	0.362±0.012	0.345±0.023	0.295±0.012 <sup>bc</sup>	0.234±0.015	0.202±0.003 <sup>a</sup>	0.252±0.006
副睾丸脂肪	0.434±0.039	0.424±0.065	0.403±0.027	1.209±0.097	1.200±0.078	1.029±0.039 <sup>c</sup>
後腹壁脂肪	0.433±0.045	0.413±0.042	0.376±0.064	1.863±0.238	1.803±0.136	1.463±0.108 <sup>c</sup>
褐色脂肪	0.132±0.013	0.141±0.014	0.138±0.008	0.070±0.009	0.102±0.011	0.091±0.009

データは、平均±標準誤差を示す。

<sup>a</sup>:50mg/kg対照群との有意差(p<0.05)

<sup>b</sup>:50mg/kg対照群との有意差(p<0.01)

<sup>c</sup>:50mg/kg制限給餌群との有意差(p<0.05)

<sup>d</sup>:50mg/kg制限給餌群との有意差(p<0.01)

同様に、代償性の肥大による可能性が高いと思われる。白色脂肪組織（副睾丸脂肪および後腹壁脂肪）の相対重量は前回の報告<sup>4)</sup>と同様に、鉄欠乏食によって減少する傾向がみられた。一方、褐色脂肪組織重量におよぼす鉄欠乏食の影響において、組織肥大が起こるという報告と変化しないという報告があり、一致した見解が得られていない<sup>7-11)</sup>。我々の実験では、5週間の鉄欠乏食摂取ラットの相対的な褐色脂肪組織重量は対照群のものと比較して僅かに増加する傾向が見られたが、有意な変化ではなかった。

表4は、鉄欠乏食が肝臓、脾臓および褐色脂肪組織の鉄含有量におよぼす影響について示している。臓器中の鉄はヘム鉄と非ヘム鉄に分けられるが、我々が用いた定量法ではこの区別ができないため、総鉄量として表示している。鉄欠乏群の肝臓および脾臓の鉄含有量は1週目より減少傾向を示し、5週目でも同様に対照群と比較して減少し

た。一方、褐色脂肪組織において、鉄欠乏群の鉄含有量は対照群と比較して1週目で減少を示したが、5週目では増加する傾向が見られた。

鉄欠乏食摂取時の肝臓および脾臓の鉄含有量は有意に減少することが多く報告<sup>12-17)</sup>されている。McKayら<sup>14)</sup>は4週間の鉄欠乏食による臓器鉄含有量はラット骨格筋において対照群の35%に、心臓において60%に、肝臓において13%に減少することを示し、鉄欠乏の影響に臓器特異性があることを示唆している。前述した様に、本実験においても肝臓および脾臓の鉄含有量は減少し、先行研究の結果とほぼ同様であった。褐色脂肪組織におよぼす鉄欠乏の影響に関する研究は熱産生に関する研究<sup>13)</sup>が多く見られるが、鉄含有量に関する研究は見られない。我々の実験では、5週間の鉄欠乏食摂取は褐色脂肪組織重量を僅かに増加させる傾向を示したが、有意な変化ではなかった。一方、鉄欠乏群の鉄含有量は対照群と比較して1週目で

表4 組織中Fe含有量

		1 週間給餌			5 週間給餌		
		50mg/kg対照群	50mg/kg制限給餌群	8mg/kg群	50mg/kg対照群	50mg/kg制限給餌群	8mg/kg群
肝臓	検体数	6	7	7	6	5	7
Fe含有量(μg/100g体重)		131.1±22.1	109.8±14.5	33.1±3.0 <sup>b</sup>	70.4±7.6	92.6±15.9	27.3±3.2
脾臓	検体数	7	6	8	6	6	7
Fe含有量(μg/100g体重)		87.7±6.4	87.1±7.1	58.1±4.6 <sup>b</sup>	136.2±14.7	113.4±18.9	48.4±4.1
褐色脂肪	検体数	7	6	7	6	6	7
Fe含有量(μg/100g体重)		52.8±3.5	121.8±45.8	44.9±13.2 <sup>a</sup>	35.1±4.1	35.8±3.3	74.4±12.9 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:50mg/kg対象群との有意差(p<0.05)

<sup>b</sup>:50mg/kg制限給餌群との有意差(p<0.01)

減少を示したが、5週目では増加傾向が見られた。これらの結果から、我々は、1週間の鉄欠乏食摂取による鉄含有量の低下は肝臓や脾臓と同様に鉄欠乏初期の直接的な効果と考えている。一方、5週間目の増加傾向は重篤な貧血時の産熱機能を維持するために鉄を保持する機構が亢進した結果と考えている。しかし、この保持する機構を説明する知見は現時点、残念ながら持っていない。また、この鉄含有量の変化は褐色脂肪組織の代償性肥大を導く前段階かも知れない。

#### 4. 結論

鉄欠乏食が肝臓、脾臓および褐色脂肪組織の鉄含有量におよぼす影響について検討した。鉄欠乏食は血中ヘモグロビン濃度およびHct値を有意に低下させた。5週間の鉄欠乏食摂取は肝臓重量、副睪丸脂肪組織および後腹壁脂肪組織の重量を減少させる傾向を、脾臓重量および褐色脂肪組織重量を僅かに増加させる傾向を示した。肝臓および脾臓の鉄含有量は5週間の鉄欠乏食摂取によって有意に減少した。一方、褐色脂肪組織の鉄含有量は1週間の鉄欠乏食摂取によって有意に減少したが、5週間の鉄欠乏食摂取では増加する傾向が見られた。以上の結果は鉄欠乏食摂取時における臓器中の鉄含有量の変化が肝臓、脾臓および褐色脂肪組織で異なる可能性を示唆している。

稿を置くにあたり、懇切なるご指導をいただいた、武蔵丘短期大学健康生活科教授駒林隆夫先生に厚く感謝の意を表します。

#### 参考文献

- 1) Borel, M.J. and Beard, J.L. Thermogenic performance in iron deficiency. *FASEB J.*, 2, A1609, 1988
- 2) Beard, J.L., Green, W. and Finch, C.A. Effects of anemia and iron deficiency on thyroid hormone levels and thermoregulation during acute cold exposure. *Am. J. Physiol.*, 247, R114-R119, 1984
- 3) Dillman, E., Gale, C., Green, W., Johnson, D.G., Mackler, B. and Finch, C. Hypothermia in iron deficiency due to altered triiodothyronine metabolism. *Am. J. Physiol.*, 239, R377-R381, 1980
- 4) 河西恵子、荒井千穂、名嘉一恵、遠藤司郎 ラットの白色脂肪組織および褐色脂肪組織に及ぼす鉄欠乏食の影響。鎌倉女子大学紀要、9, 57-64, 2002
- 5) Rossi, M.A., Carillo, S.V., and Oliveira, J.S. The effect of iron deficiency anemia in the rat on catecholamine levels and heart morphology. *Cardiovasc. Res.*, 15, 313-319, 1981
- 6) Rossi, M.A. and Carillo, S.V. Pathogenesis of cardiac hypertrophy in iron deficiency anemia: the role of noradrenaline. *Br. J. Exp. Pathol.*, 63, 269-277, 1982
- 7) Mackler, B., Person, R., and Grace, R. Iron deficiency in the rat: Effects on energy metabolism in brown adipose tissue. *Pediatr. Res.*, 19, 989-991, 1985
- 8) Beard, J. Feed efficiency and norepinephrine turnover in iron deficiency. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 184, 337-344, 1987
- 9) Beard, J.L. and Alpert, S.S. Heat loss in iron deficiency anemia. *Nutr. Rep. Int.*, 36, 603-611, 1987
- 10) Beard, J.L., Tobin, B.W., and Smith, S.M. Effects of iron repletion and correction of anemia on norepinephrine turnover and thyroid metabolism in iron deficiency. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 193, 306-312, 1990
- 11) 森谷 満 褐色脂肪組織熱産生における栄養性適応—特に過食と鉄欠乏について—北海道医誌、69, 1115-1131, 1994
- 12) Sherman, A.R., Guthrie, H.A., Wolinsky, I., and Zulak, I.M. Iron deficiency hyperlipidemia in 18-day-old rat pups: Effects of milk lipids, lipoprotein lipase, and triglyceride synthesis. *J. Nutr.*, 108, 152-162, 1978
- 13) Hunter, J.E. Variable effects of iron status on

- the concentration of ferritin in rat plasma, liver, and spleen. *J. Nutr.*, 108, 497-505, 1978
- 14) McKay, R.H., Higuchi, D.A., Winder, W.W., Fell, R.D., and Brown, E.B. Tissue effects of iron deficiency in the rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 757, 352-358, 1983
- 15) 上原万里子、遠藤幸江、鈴木和春、五島孜郎  
鉄欠乏状態における組織中 Fe、Cu 濃度および肝中金属酵素活性に及ぼす鶏卵投与の影響.  
栄養学雑誌、44, 203-208, 1986
- 16) Schumann, K., Elsenhans, B., Ehtechami, C., and Forth, W. Increased intestinal iron absorption in rats with normal hepatic iron stores. Kinetic aspects of the adaptative response to parenteral iron repletion in dietary iron deficiency. *Biochim. Biophys. Acta*, 1033, 277-281, 1990
- 17) Knutson, M.D., Walter, P.B., Ames, B.N., and Viteri, F.E. Both iron deficiency and daily iron supplements increase lipid peroxidation in rats. *J. Nutr.* 130, 621-628, 2000

## 要旨

我々はラットの肝臓、脾臓および褐色脂肪組織の鉄含有量におよぼす鉄欠乏食の影響について検討した。血中ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は鉄欠乏ラットにおいて有意に減少した。5週間鉄欠乏食を摂取したラットは肝臓重量、副睾丸脂肪組織および後腹壁脂肪組織の重量において減少傾向を、脾臓重量および褐色脂肪組織重量において増加傾向を示した。鉄含有量は5週間の鉄欠乏食処置後、肝臓および脾臓において有意に減少した。一方、褐色脂肪組織における鉄含有量は1週間の鉄欠乏食処置後、有意に減少したが、5週間の処置後は増加する傾向があった。これらの結果は組織中の鉄含有量の変化は肝臓や脾臓と褐色脂肪組織との間で異なる可能性を示唆している。

(2002. 10. 31. 受稿)