

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：32517

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25350137

研究課題名(和文) 食事性老化制御因子としての亜鉛および鉄の役割

研究課題名(英文) Role of zinc and iron as dietary modulators of ageing

研究代表者

横井 克彦 (YOKOI, KATSUHIKO)

聖徳大学・人間栄養学部・教授

研究者番号：10200883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、老化制御因子としての亜鉛及び鉄の役割について検討した。飼料中亜鉛が体重増加に支障のないレベルであってもラットの生体内抗酸化因子は正常値に達しておらず、従来考えられていた亜鉛および鉄の必要量では不足することが明らかとなった。人間を対象とした研究のメタアナリシスでは、貧血のない鉄欠乏によって疲労を招くことが示された。今後も亜鉛や鉄の補給による老化制御について検討を続ける必要性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of zinc and iron as modulators of ageing. Even at dietary zinc level where normal body weight gain occurs, endogenous antioxidant concentrations did not reach the normal level in rats. We found that the conventional levels of dietary requirements for zinc and iron are not adequate for rats. Our meta-analysis has shown that iron deficiency without anaemia leads to fatigue in humans. These results suggest the need for further investigations on senescence regulation by supplementation of zinc and iron.

研究分野：栄養学、食生活学、衛生学

キーワード：食と栄養 老化 微量元素 亜鉛 鉄

## 1. 研究開始当初の背景

わが国は、継続する少子化の結果、世界に先駆けて超高齢社会を迎え、しかも直ちに少子化が解消しても今後 30 年間は人口構成の正常化は望めない状況にある。経済的にも活力ある社会を実現するためには、老化制御による健康寿命の延伸と生産年齢の延長が必要である。

その一方で、近年、女性における亜鉛及び鉄の栄養状態の低下が著しい(1)。

認知症をはじめとする老化に伴う脳の変性疾患では、しばしば怒りやすさや抑うつ症状を伴うが、軽度の血漿亜鉛濃度低下がある女性への亜鉛の補充により、怒りや抑うつが軽減することを発見した(2)。また、女性を対象とした疫学調査を実施し、貧血のない鉄欠乏のある女性は、疲労度が高く、怒りやすく、緊張度が高いことを明らかにした(3)。これらの症状は、しばしば老化に伴うものである。

もしも、亜鉛や鉄といった微量元素の欠乏が老化促進の要因であるならば、その克服により老化を制御することが可能となる。

摂取量の分布から判断すると、重度の亜鉛や鉄の欠乏に比べて、軽度の欠乏は遙かに多いと考えられるが、軽度欠乏症の診断や老化との関連は必ずしも明らかではない。この原因の一つは、必要量の科学的根拠が十分ではないことにある。

そこで、本研究では、老化制御因子としての亜鉛および鉄の役割について検討した。

## 2. 研究の目的

ラットを用いて亜鉛および鉄欠乏が抗酸化因子を含む生体指標に及ぼす影響を検討し、あわせて、ラットにおける亜鉛および鉄の必要量を検討する。また、ヒトにおける鉄の必要量を数理解的に推定し、老化促進が疑われる鉄不足の広がりやの推定を試み、さらにメタアナリシスにより貧血のない鉄欠乏と疲労の関連を精査する。

## 3. 研究の方法

### (1) 動物を用いた亜鉛および鉄欠乏の検討

AIN-93G 処方を改変し、飼料中亜鉛または鉄レベルを段階的に変えた飼料を作製した。亜鉛については、3 週令 SD 系雄ラットを上記飼料で 3 週間飼育後、肝臓・腎臓を採取し、メタロチオネインを測定した。飼料中亜鉛濃度と各種指標の関係は Hill 式を適用し回帰曲線を求めた。鉄については、3 週令 Wistar 系雄ラットを上記飼料で 5 週間飼育し、血液を採取し血液学的検査を行ない、採取した肝臓中非ヘム鉄濃度を測定した。データは多重比較検定法で比較し、危険率 5% 未満を有意とした。

### (2) 国民健康・栄養調査成績を用いた鉄必要量の検討

国民健康・栄養調査成績で報告されている鉄栄養指標および鉄摂取量の分布データ、並びに月経出血量の分布データの文献値を、メタアナリシスを実施して求めた個人内変動で補正し、考案した数理解析法(4)を適用して解析し、鉄必要量を推定した。

### (3) 貧血のない鉄欠乏と疲労の関連に関するメタアナリシス

2016 年 1 月までの Pubmed database 上のランダム化比較対照試験と横断研究に関する全文献を対象として、効果サイズを用いるメタアナリシスを実施し、貧血のない鉄欠乏と疲労の関連を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 動物を用いた亜鉛および鉄欠乏の検討

#### ラットを用いた亜鉛欠乏の検討

亜鉛欠乏の影響は体重増加量に顕著に現れるとされるが、図 1 に示すように体重増加量が 95% 飽和量に達しても腎臓中メタロチオネイン (MT) 濃度は 50% 程度であった。

MT は高い抗酸化能を持った亜鉛結合タンパクである。本研究の結果から、抗酸化能を持った MT が腎臓に存在するためには、十分な亜鉛摂取量のあることが必要であることが示された。この結果は、腎臓が特に酸化障害の影響を受けやすいことに一致している。

なお、米国の National Research Council (NRC) は体重増加量に基づき、ラットの亜鉛必要量を 12 mg/kg と定めているが、この量は体重増加量の 95% 飽和量程度であり、ラットの亜鉛必要量について再考の必要を示唆する結果であった。



図 1. 飼料中亜鉛濃度と各種亜鉛指標の関係

### ラットを用いた鉄欠乏の検討

鉄栄養の典型的な指標は血液中ヘモグロビン濃度である。ヘモグロビン濃度が最大値を取ったのは、飼料中铁濃度が 126 mg/kg の場合であり、それを対照に設定し、Williams ないし Shirley-Williams の多重比較検定法を実施した。

図 2 に示すように、飼料中铁濃度が 49 mg/kg 以下では、いずれもヘモグロビン濃度が有意に低値を取った。ヘマトクリットにも同様の変化が見られた。本研究結果は、先行する研究 (5, 6) と同様の傾向ではあるが、先行研究は、酸化が防止されていない状態で 2 価鉄を含む鉄塩が飼料の鉄源に用いられていたものである。本研究では、AIN-93G 処方に基づき、3 価鉄であるクエン酸第二鉄を鉄源に用いている。このことから、先行研究における 2 価鉄を含む鉄塩の鉄は酸化されて 3 価鉄になっていたと推定される。

また、貯蔵鉄量の指標である肝臓中非ヘム鉄濃度は、飼料中铁濃度が 49 mg/kg で有意に低下し、126 mg/kg 以上で飽和量に達した。

米国の NRC は飼料中铁濃度とヘモグロビン濃度の関係に基づき、ラットの鉄必要量を 35 mg/kg としている。先行研究以後、本研究をわれわれが実施するまで、飼料中铁量とヘモグロビン濃度の関係は検討されず、ヘモグロビン以外の鉄指標についての詳細な検討はなかった。本実験の結果は、今後、鉄必要量の再検討が必要であることを示唆するものである。

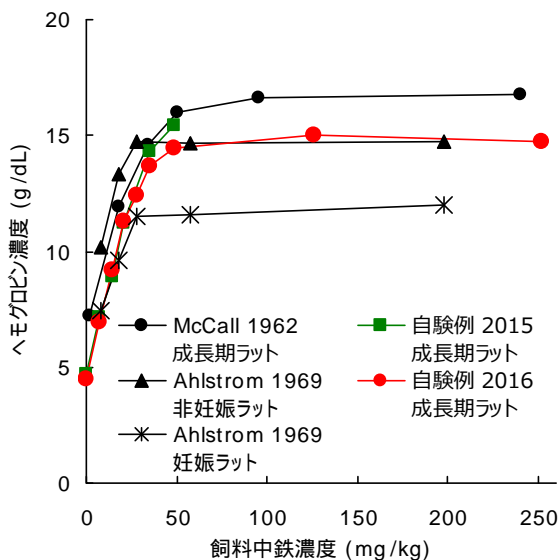


図 2. 飼料中铁濃度とヘモグロビン濃度の関係

### (2) 国民健康・栄養調査成績を用いた鉄必要量の検討

2003 年から 2007 年の国民健康・栄養調査では、鉄摂取量ならびに血清フェリチン濃度が測定され、その分布の詳細が公表されている。また、月経のある女性の鉄損失量を決める最大の要因である月経出血量の個人内変

動は、Hallberg らの報告 (7) を再解析することにより求めた。また、日本人の鉄摂取量の個人内変動については、日本人の鉄摂取量に関する研究のメタアナリシスを行ない決定した。欠乏状態は日常的な摂取量が個人の必要量を下回る状態と定義されるので、欠乏症の有病率は、必要量の中央値 (EAR) を未知数とする積分方程式で記述できる (4)。

上記方程式を Excel Add-in Solver を用いて数値解析することにより解を求め、月経のある日本人女性の鉄必要量を推定した (表 1)。

表 1. 月経のある女性の鉄必要量推定値と日米の食事摂取基準

年齢	18-29	30-49
	mg/d	mg/d
鉄必要量中央値	7.59	8.13
月経出血量80mLまでカバーする摂取量	11.27	11.95
97.7%の女性をカバーする摂取量	13.93	14.71
日本の食事摂取基準		
第6次改定所要量	12	12
2010年版EAR	8.5	9.0
2010年版RDA	10.5	11.0
2015年版EAR	8.5	9.0
2015年版RDA	10.5	10.5
過多月経者への推奨 <sup>#</sup>	≥16	≥16
US DRI 2000		
US DRI EAR		8.1 <sup>\$</sup>
US DRI RDA		18.0 <sup>\$</sup>

<sup>#</sup>月経 1 周期当り月経出血量80mLを過多月経と定義

今回求めた鉄必要量の中央値は、現行の食事摂取基準の EAR より若干低い値である。わが国の鉄の RDA は伝統的に過多月経者 (月経出血量 80 mL 以上) を除外して定められている。月経出血量 80 mL までカバーする摂取量として推定した値は、第 6 次改定所要量とほぼ一致しているが、現行の食事摂取基準の RDA よりも高い値である。これは、現行の食事摂取基準の RDA の策定において、右に裾を引く片寄った分布となっている鉄必要量の分布を、過多月経者除外後は正規分布に従っているものとみなした結果である。

今回推定した鉄必要量推定値は、米国の EAR と事実上一致している。今回推定した 97.7% をカバーする摂取量は、米国の RDA よりも低い値となっている。米国の RDA ではその算定に際して過多月経者を除外せずモンテカルロ法を用いているので、原理的には同じ数値を推定していることとなる。米国の RDA では月経出血量の個人内変動を考慮しておらず、このことが米国の RDA が高い値となっている理由であろう。

2008 年以降、国民健康・栄養調査において鉄欠乏状態に関して調べられていないが、平均鉄摂取量やその標準偏差は大きく変わっておらず、現在も月経のある女性の 5 割から 7 割が鉄欠乏状態にあると推測される。

### (3) 貧血のない鉄欠乏と疲労の関連に関するメタアナリシス

貧血のない鉄欠乏者を対象とした鉄剤投

与による疲労の治療を試みたランダム化比較対照試験は6件あり、鉄剤治療と疲労軽減効果の関連は有意であった(効果サイズ0.33,  $P < 0.0001$ )。一方、貧血のない鉄欠乏者ならびに鉄栄養正常者を含む集団における鉄栄養状態と疲労の関連を調べた横断研究は6件あり、鉄栄養と疲労の関連は有意ではなかった(効果サイズ0.10,  $P = 0.362$ )。しかしながら、敏感性分析の結果、有意ではないという結論には頑健性がなく、ある研究1例を除くと関連は有意になった。以上のことから、貧血のない鉄欠乏と疲労が関連しており、貧血のない鉄欠乏者の疲労は鉄剤投与で治療できることが明らかとなった。

以上の研究結果から、ラットにおける亜鉛と鉄の必要量は従来考えられていたよりも高く、NRCの基準によれば正常対照と考えられたものが、実は亜鉛や鉄が不足しており、抗酸化能が低下するなど、老化を招きやすい状況にあることが示唆された。

NRC基準の12 mg/kgの飼料中亜鉛レベルでは、AIN-93Gが採用している30 mg/kgとの間に、血漿亜鉛濃度のはっきりとした差はない(8)。ヒトの亜鉛欠乏も現在は血漿亜鉛濃度の低下から診断せざるを得ない状況であり(9)、たとえ血漿亜鉛濃度が正常値であっても抗老化の観点からは注意が必要である。

本研究の結果、貧血のない鉄欠乏と疲労の間に疫学的因果関係が存在することが明らかとなった。また、予備的な検討では、重度鉄欠乏ラットの線条体にマンガンが蓄積し、カテコラミンレベルが変化していた。以上の結果より、鉄栄養と脳の老化の関連について研究を進める必要性のあることが示唆された。

#### <引用文献>

- (1) 横井克彦 (2010) 摂取不足が問題になる必須微量元素 - 特に、亜鉛と鉄を中心に - *Foods & Food Ingredients J Jpn* 218(1):5-11
- (2) Sawada T & Yokoi K (2010) Effect of zinc supplementation on mood states in young women: A pilot study. *Eur J Clin Nutr* 64, 331-333
- (3) Sawada T, Konomi A & Yokoi K (2014) Iron deficiency without anemia is associated with anger and fatigue in young Japanese women. *Biol Trace Elem Res* 159, 22-31
- (4) Yokoi K (2003) Numerical methods for estimating iron requirements from population data. *Biol Trace Elem Res* 95, 155-172
- (5) 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
- (6) Ahlstrom A & Jantti M (1969) Effect of

various dietary iron levels on rat reproduction and fetal chemical composition. *Annales Academiae Scientiarum Fennicae Series A IV Biologica* 152, 1-14

- (7) Hallberg L & Nilsson L (1964) Constancy of individual menstrual blood loss. *Acta Obstet Gynecol Scand* 43, 352-359
- (8) 許斐亜紀、横井克彦 (2007) 鉄・亜鉛の単独および同時欠乏が血漿中各種ミネラル濃度に与える影響. *Biomed Res Trace Elements* 18: 281-285
- (9) 日本微量元素学会 (2010) 日本微量元素学会設定「健常者血清亜鉛濃度の下限値」について *Biomed Res Trace Elements* 21(3): 182

#### 5. 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計4件)

Katsuhiko Yokoi, Aki Konomi, Iron deficiency without anaemia is a potential cause of fatigue: meta-analyses of randomised controlled trials and cross-sectional studies, *Br J Nutr*, 査読有、2017 (掲載決定)

横井克彦、許斐亜紀, 栄養レベルにおける鉄の用量効果関係、*Trace Nutrients Research* 微量栄養素研究、査読有、Vol.32, 83-85、2015

Katsuhiko Yokoi, Estimation of iron requirements for women by numerical analysis of population-based data from the National Health and Nutrition Surveys of Japan 2003-2007, *J Trace Elem Med Biol*, 査読有 Vol.28, No.4, 453-458, 2014

横井克彦, 摂取不足が問題となる微量元素と摂取源としての缶詰食品、食品と容器、査読有、Vol.54, No.12, 766-771, 2013

##### [学会発表](計9件)

横井克彦、藤井香菜子、小林朝恵、潮見唯、渡邊木綿子, 飼料中鉄レベルと貯蔵鉄量ならびに血漿エリスロポエチン濃度の用量反応関係の検討、第34回日本微量元素学会、2017年6月24日(確定)、関西大学百周年記念会館(大阪府吹田市)

Katsuhiko Yokoi, Aki Konomi, Dose-effect relationship between dietary iron and hematological parameters in rats. Poster: 801. Micronutrient bioavailability and antioxidant function presented at the Experimental Biology 2017, 2017年4月24日, Chicago (USA)

Katsuhiko Yokoi, Momoko Sakata, Kanae Noro, Aki Konomi, Effect of graded levels

of dietary iron on hematological parameters in rats. The 17th International Congress of Dietetics 2016, 2016年9月7-10日, Granada (Spain)

横井克彦、小倉真奈、許斐亜紀、ラット線条体カテコラミン・セロトニン濃度およびマンガン濃度に及ぼす食餌性鉄欠乏ならびにマンガン過剰の影響、第27回日本微量元素学会大会、2016年7月30-31日、京都大学百周年記念施設芝蘭会館(京都府京都市)

Katsuhiko Yokoi. Is iron deficiency without anemia a symptomatic disease? Symposium 2: Trace Elements and Human Nutrition (Chair: Jeanne Freeland Graves): International Society For Trace Element Research In Humans (ISTERH), Eleventh International Conference "Recent Advances in Trace Element Research in Health and Diseases", 2015年10月18-22日, Srebreno-Dubrovnik (Croatia)

横井克彦、野呂佳苗、坂田桃子、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、2015年5月30日、京都リサーチパーク(京都府京都市)

Katsuhiko Yokoi. Development of a numerical method for estimating nutritional requirements: PS-01-a-275. Poster Session, Public Health Nutrition 1. The 12th Asian Congress of Nutrition, A Joint Meeting with the 69<sup>th</sup> Annual Meeting of Japan Society of Nutrition and Food Science. Nutrition and Food for Longevity: For the Well-being of All, 2015年5月14-18日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

横井克彦、小野寺麻稀、栄養レベルにおける亜鉛とメタロチオネインの用量反応関係、第31回日本微量栄養学会学術集会、2014年6月7日、関西大学百周年記念会館(大阪府吹田市)

Katsuhiko Yokoi. Estimation of iron requirements by numerical analysis of population-based indicators. Symposium 4: Populations at Risk for Trace Element Deficiencies (Chair Persons: Jeanne Freeland-Graves, James P. McClung): International Society For Trace Element Research In Humans (ISTERH), Tenth International Conference "Trace Element Research on Health and Diseases", 2013年11月19日、京王プラザホテル(東京都新宿区)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

横井 克彦 (YOKOI, Katsuhiko)  
聖徳大学・人間栄養学部・教授  
研究者番号: 10200883

### (2)研究分担者

許斐 亜紀 (KONOMI, Aki)  
九州女子大学・家政学部・講師  
研究者番号: 40529658