

亜鉛の生化学的研究

I 食餌中の亜鉛の過剰がシロネズミの成長におよぼす影響

新納英夫*

Studies on Biochemistry of Zinc

I Effect of excess dietary zinc on rat growth.

Hideo Nihiro

亜鉛は自然界に広く存在し、動植物にとって微量必須金属元素の1つである。亜鉛は生体内で蛋白質と結合して酵素などの生理的に活性な金属蛋白質として存在するほか遊離の亜鉛イオンが各種の酵素反応^{1),2)}に関係することが知られている。

亜鉛は多くの食物に存在するので、その欠亡は普通起り難いと思われるが、ネズミ、牛、山羊、にわとりなどで欠亡実験がされている。

飼料中に亜鉛が欠亡すると、成長の低下、飼料効率の低下、ケラチン代謝の障害による皮膚の角化、脱毛、皮膚の再生の遅延、骨の成長阻害などがみられ、牛の不妊の一因となる。また欠亡に伴なって亜鉛酵素である乳酸脱水素酵素などの脱水素酵素、カルボキシペプチダーゼ、アルカリフォスファターゼなどの加水分解酵素の組織での活性が低下し、インシュリン²⁾の分泌が減少することなどが報告されている。

一方亜鉛はいろいろな工業に広く使用され、亜鉛合金、亜鉛引きしたトタンなどはどこにでも存在し、しかも亜鉛は酸により容易に溶出するので、不注意あるいは環境汚染によって、過量の亜鉛を摂取する危険がある。我が国で亜鉛の過剰摂取により起った食中毒としては、戦後1946年の東京でのトタンを電極に用いた電気製パン器によるパンでの食中毒、1952年金沢での亜鉛引きバケツに長時間乳酸飲料を入れたためと考えられる集団食中毒などがある。また欧米でも亜鉛の飲料中への溶出によって食中毒が起ったことがある^{1),2)}。その症状は嘔吐、下痢、腹痛、けいれんなどで、一過性で後遺症はなかったようである。また亜鉛蒸気を大量に摂取した場合は呼吸器の炎症その他の障害を生ずる

ことが知られている²⁾。人間の慢性的な亜鉛の過剰摂取による影響については報告がない。成人の必要量は5~22mg/日といわれ²⁾、通常²⁾の食物の摂取で不足することはなく、心配されるのはむしろ環境汚染などによる過剰摂取である。

哺乳動物や鳥類では通常²⁾の食物よりの亜鉛摂取量と中毒量の差が大きく、欠亡や過剰摂取の心配の少ない元素である。なかでもネズミ、ブタ、にわとり、羊、牛はとくに亜鉛の過剰摂取に対する耐性が大きいとされている。また過剰摂取による毒性の発現には飼料組成とくに蛋白質の種類と量および亜鉛の吸収利用に関係する銅、鉄、カドミウム、カルシウムなどの含量によって影響される。

亜鉛の過剰がシロネズミにおよぼす影響については、1927年にV. G. Heller³⁾が食餌に亜鉛を金属、塩化物または炭酸塩として加えた実験を行ない、0.25%のZnの添加ではあまり影響はないが、0.5%にすると著しく成長を阻害する。また塩の種類で毒性に差があり、塩化物の場合は毒性が大きく幼ネズミが死亡するが、⁴⁾酸化物では死亡しないと報告している。V. Sadavisan⁴⁾は酸化亜鉛をZnとして0.5~1.0%加えると、体重増加が減少し、窒素利用率やリン、硫黄の体内保留率が低下し、骨のCa/p比が減少することを認めたが、亜鉛の体内量の変化については測定していない。A. C. Magee⁵⁾らは19%カゼイン食に炭酸亜鉛をZnとして0.5~0.75%加えると体重増加が減少する。これにともなって血液中のヘモグロビンが減少し、肝臓中の亜鉛含量の著増と、銅含量の減少することを認めた。亜鉛による体重増加の減少は飼料中の蛋白含量を増加することにより回復するが、その効果は蛋白質の種類に

* 栄養学研究室

より異り、カゼインではほとんど効果がないが、肝臓末もしくは肝可溶性蛋白末を加えると著しく回復し、その際には血液中のヘモグロビン量および肝臓中の銅含有量も正常値に近づくことを報告している。⁶⁾⁷⁾

また、L. Murthy ら、D.R. Van Campen らによって亜鉛と銅の食餌中の量比がそれぞれの吸収に関係し、亜鉛の過剰により銅の吸収が阻害されることが明らかにされ、銅が造血機構に関係することから銅含量の低下により貧血が起ると考えられている。

この研究ではカゼインを蛋白源として十分量を与え、その他の栄養素は完全に存在する条件で、食餌中に亜鉛を溶解しやすい酢酸亜鉛の形で加えてシロネズミを飼育し、成長におよぼす影響を検討した。また肝臓の一般成分、肝臓、腎臓中の亜鉛、銅、カルシウム、マグネシウム量を測定し、これらの含量の変化と体重増加の減少、貧血との関係について検討した。

実験方法

1) 飼料の組成

基本飼料は Table 1 に示すもので、蛋白源として

Table 1 Composition of Basal diet (g/100g)

Casein	25	Salt mix. ¹⁾	5
Sucrose	29.4	Vitamin mix ²⁾	1
Corn starch	29.4	Cellulose powder	1
Soy bean oil	9	Choline Chloride	0.2

1) Composition of Salt mix. ; Ca(C₃H₅O₃)₂ 35.65%, CaH₄(PO₄)₂·H₂O 14.31%, K₂HPO₄ 25.29%, NaH₂PO₄·H₂O 9.20%, NaCl 4.59%, MgSO₄ 6.95%, Fe (C₆H₅O₇) 3.13%, KI 0.88%.

2) containing VA. 2500 IU., calciferol 200IU. thiamine nitrate 1mg, riboflavin 1.5mg, nicotinamide 10mg, pyridoxin hydrochloride 1mg, Ca-pantothenate 5mg, menadione 10mg, folic acid 0.5mg, V. B₁₂ 1μg, inositol 10mg, p-aminobenzoic acid 10mg, ascorbic acid 37.5mg.

は市販の乳製カゼインを25% (粗蛋白含量20.8%) 含むものである。亜鉛の添加は無機塩の一部を酢酸亜鉛 (Zn (CH₃COO)₂ · 2H₂O) で置換えることによって行なった。基本飼料中には Zn 25.3μg/g, Cu 2.1μg/g を含んでいた。飲料水は水道水で Zn 0.7~0.9ppm 含んでいた。

II) 動物実験

動物はウィスター系のシロネズミを用いた。使用した動物の日齢および飼育日数は各実験について記した通りである。温度24°C ± 1°C, 相対湿度60 ± 10%とし、飼料・飲料水は自由摂取させた。実験終了時にエーテ

ルで軽く麻酔したのち、肝静脈より採血して殺した。臓器は秤量後、-20°Cで凍結保存した。肝臓の分析は凍結乾燥後、常法により蛋白質、中性脂肪を測定し、リン脂質はリン脂質画分を湿式分解してリンを正リン酸としたのち、比色定量し、リンの量に25を掛けてリン脂質量として表した。グリコーゲンの定量は脱脂した試料について anthron 法でブドウ糖量を求め、それに0.9を掛けてグリコーゲン量とした。

III) 亜鉛、銅、カルシウムおよびマグネシウムの定量

凍結乾燥した試料を一定量秤取し、有害金属測定用の硝酸および過塩素酸 (和光純薬工業株式会社) を用いて湿式分解を行ない、適量に希釈した液をそのまま用いて、島津原子吸光/フレイム分光度計 AA-610 S 形を用いて原子吸光分析により、Zn, Cu, Ca, Mgについて定量した。

カルシウムの分析に当っては塩化ランタンを共存させることによって、多量に共存するナトリウムの影響を減少させた。⁸⁾ 分析に当っては共存物質の影響が大きいと考えられるので、標準添加法により行ない、共存物質の影響を減少させた。

実験結果および考察

実験 I

生後約4週の体重約50gの雄3匹を1群として Table 1 の基本飼料および基本飼料の無機塩の一部を Table 2 に示す割合で酢酸亜鉛 (以下 ZnAc と略す)

Table 2 Zinc content of diets (Exp. I)

Diet	A	B	C	D
Salt mix	5.0%	4.7%	4.4%	4.0%
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	0	0.3	0.6	1.0
Zn μg/g diet	25	975	1925	3195

で置換したA~Dの4種の飼料で25日間飼育した。各群の亜鉛含有量は表の通りで、飲料水は水道水であるので1日20~30ml 摂取として、飲料水より14~27μg/日のZnを、基本飼料より250μg/日以上Znを摂るので、無添加群でも最低必要量の亜鉛は含んでいる。各群のネズミは個別に代謝ケージに入れ、体重と飼料摂取量を毎日測定した。各群のネズミは最初の1週間は基本食で飼育し、体重増加および摂食量に各群にほとんど差のないことを確めたのち、亜鉛添加食に切り換え、15日間飼育した。体重の増加については Fig 1, 飼料摂取量、飼料効率については Table 3 に示す。

Table 3 Feed consumption, body weight gain, feed efficiency (per rat per day)* (Exp. I)

Feeding period	Food intake(g/day)				Body weight gain(g/day)				Feed efficiency**			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1 ~ 7	11.8	11.8	11.2	10.9	3.89	3.90	3.71	3.53	0.33	0.33	0.33	0.32
8 ~ 14	12.1	10.1	10.1	8.0	4.19	3.14	2.81	1.97	0.35	0.31	0.28	0.25
15 ~ 25	14.7	12.3	9.7	7.8	5.99	5.57	2.13	2.05	0.41	0.45	0.22	0.26
mean	13.1	11.5	10.2	8.6	4.85	3.96	2.79	2.46	0.37	0.34	0.27	0.29

* average of 3 rats. ** g body weight gain / g food intake.

Table 4 Liver weight and its composition* (Exp. I)

Diet	final body weight g	liver weight g	liver composition				
			water %	neutral** fat %	phospho-** lipid %	protein** %	glycogen** %
A	161.7	8.9	71.3	13.7	6.1	73.2	1.7
B	141.7	7.8	69.7	14.0	5.8	72.9	1.7
C	114.3	6.9	72.9	13.0	5.7	74.2	1.5
D	106.3	6.7	73.0	11.2	5.5	75.8	1.7

* mean of 3 rats. ** % of dry basis.

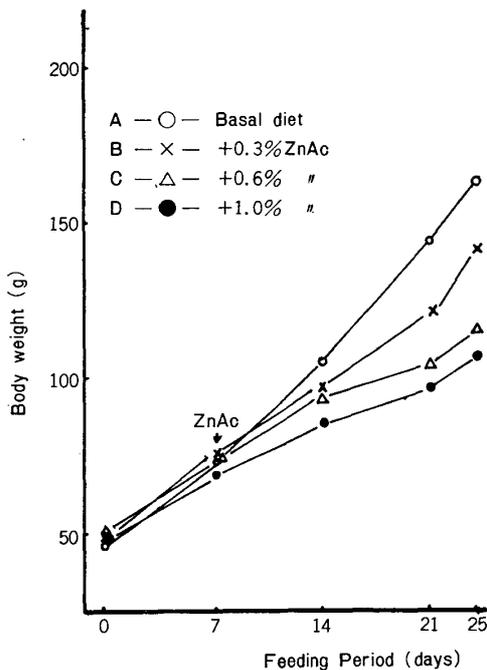


Fig. 1 Change in Body Weight (Exp. I)

亜鉛の添加が増すにつれて成長が悪くなり、飼料摂取量、飼料効率が減少した。

0.6%以上の ZnAc 添加では1週間後より毛並の悪いもの、尾の色より貧血状態のみられるものが多く、実験終了時に1夜絶食させて屠殺したときのヘマトクリット値は対照のA群は36.0と3匹揃っていたのに、Bでは34.0, 28.0, 29.0, C 28.0, 18.0, 16.5, D 27.0, 16.0, 18.0と著しく低く貧血を示していた。解剖時にはD群の盲腸に肥大の傾向があり、ZnAc の添

加の多いものほど体重当りの肝臓重量が大であったほかは異常がみられなかった。肝臓の蛋白および脂質含量は Table 4 のようで、リン脂質含量が亜鉛の添加が増すにつれて減少する傾向を示した。

実験 II

実験 I で ZnAc 0.3%以上の添加ではネズミの成育にとって著しく有害であると認められたので、ZnAc の添加量を0.01, 0.05, 0.1%として飼育実験を行ない、ZnAc の添加が体重増加を抑制する限界値を求めることにした。飼料中の Zn 含量は Table 5 の通りである。この飼料で生後約4週の46~70gの雄シロネ

Table 5 Zinc content of diets (Exp. II)

Diet	E	F	G	H
Salt mix	5.00	4.99	4.95	4.90
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	0	0.01	0.05	0.10
Zn μg/g diet	25	55	185	345

ズミを平均体重が57~59gになるよう3匹ずつ4群に分け、最初から亜鉛添加飼料を与えて7週間飼育した。体重増加は Fig 2 に示すように酢酸亜鉛の添加群が減少していた。各群ネズミの平均体重、平均飼料摂取量、飼料効率は Table 6 に示すように、いずれも酢酸亜鉛添加群は減少している。なお0.1%群の一匹が6週間目より体重が減少し、解剖時に肺炎にかかっていたので Table 6 では5週目までの平均値をとった。この

Table 6 Feed consumption,* body weight gain,* feed efficiency.* (Exp. II)

Feeding period	Food intake (g/day)				Body weight gain (g/day)				Feed efficiency			
	E	F	G	H	E	F	G	H	E	F	G	H
1 ~ 7	11.7	10.3	11.3	11.3	5.57	4.87	4.94	4.71	0.48	0.47	0.44	0.42
8 ~ 14	13.7	13.3	13.7	12.0	5.11	4.83	4.57	4.11	0.37	0.36	0.33	0.34
15 ~ 21	17.0	16.3	17.7	16.3	6.41	5.94	5.47	5.61	0.38	0.36	0.31	0.34
22 ~ 28	18.3	18.0	19.0	18.3	5.17	4.97	4.81	3.94	0.28	0.28	0.25	0.22
29 ~ 35	20.7	19.3	20.7	20.7	3.82	3.50	3.31	3.28	0.18	0.18	0.16	0.16
mean	16.3	15.5	16.5	15.7	5.22	4.84	4.34	4.32	0.32	0.31	0.26	0.28

* average of 3 rats.

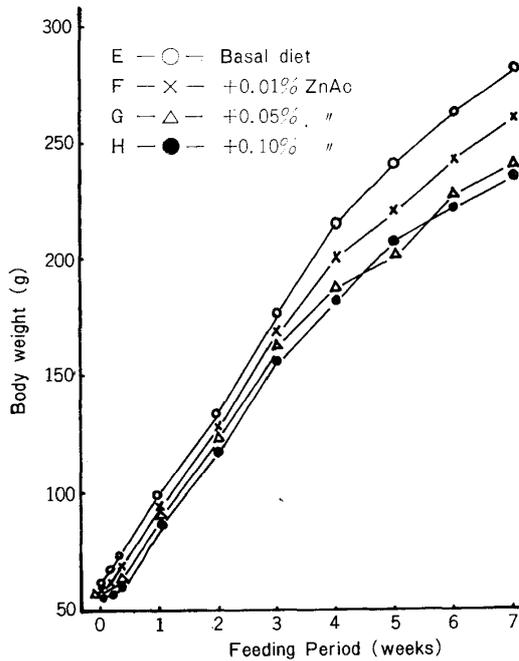


Fig. 2 Change in Body Weight (Exp. II)

実験の0.01%添加のF群は最初の1週間の摂食量が少くこれが最後まで影響して対照より体重増加が少なかったが、体重増加曲線の傾向、飼料効率の低下しないことよりみて、この量の添加では全く影響がないのではないかと考えた。

ZnAc 0.05, 0.1%添加では体重の増加、飼料効率が低下していた。なお7週の飼育中外観的に異常を認められるものは肺炎にかかった一匹以外になかった。実験終了時に絶食さすことなく屠殺した。ヘマトクット値は対照群37.3(3匹平均) F36.0でバラツキがなかったが G34.7(36.0, 33.0, 35.0), H31.0(32.0, 30.0)とやや低い値を示した。以上の結果より0.05%のZnAcの添加でも幼若ラットの成長に影響を与えていると考えた。なお解剖時の内臓所見、重量および肝中性脂肪、リン脂質、蛋白質量、グリコーゲン量を測定したが差が認められなかった。

実験 III

実験 II では ZnAc 0.05%添加によって成長速度の低下、飼料効率の減少がみられたが、飼料摂取量については3週後より各群でほとんど差がなくなっていた。また摂食量からみて体重g当りの亜鉛摂取量は日令と共に減少すること、銅の必要量は成長の盛んなときほど大であると考えられるので、実験 III では生後約6週

Table 7 Zinc content of diets (Exp. III)

Diet	I	J	K	L
Salt mix.	5.0%	4.99%	4.975%	4.95%
Zn(Ac) ₂ ·2H ₂ O	0	0.01%	0.025%	0.05%
Zn μg/g diet	25	55	105	185

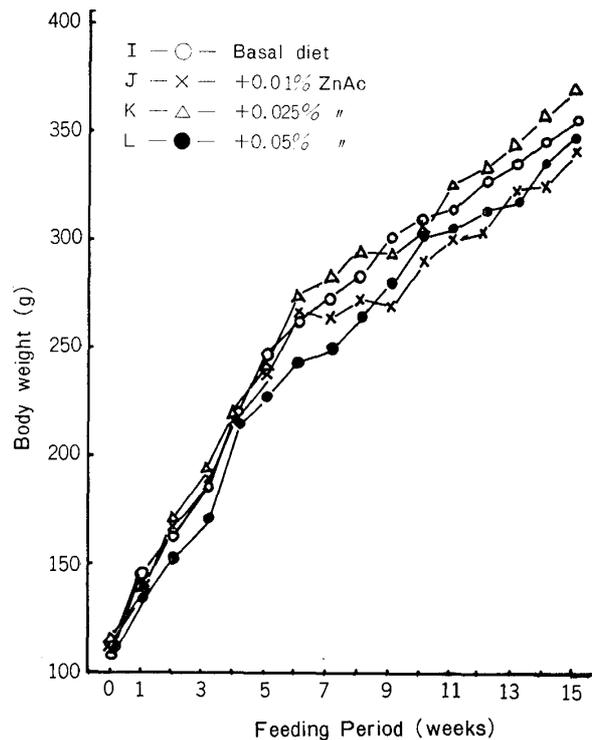


Fig. 3 Change in Body weight (Exp. III)

で100gに達したものについて、雄各1匹を Table 7 に示す4種の飼料で飼育した。この実験に使用したネズミは離乳後市販の飼育用固形飼料（オリエンタルMF、粗蛋白含量24.2%、1g中にZn 43 μ g、Cu 5.2 μ gを含有する）で飼育したものである。別にこの程度の亜鉛添加が繁殖におよぼす影響をみるため、雄1匹、

雌2匹を1群として同一ケージに入れ、4群の飼料で平行して飼育した。雄の体重変化は Fig 3 に示すように各群に差がなく、Table 8 に示すように飼料効率、飼料摂取量も差がなかった。また各群の雌は8~12匹の正常の仔を出産した。0.05%の仔について出産後親には市販固形飼料を与え、離乳後雄4匹を固形飼料で

Table 8 Body weight gain, food intake, feed efficiency (Exp. III)

Diet	Zn μ g/g diet	Body weight g		Weight gain* g/day	Food intake* g/day	Feeding efficiency*
		initial	final			
I	25	108	353	2.33	12.71	0.183
J	55	111	341	2.19	12.73	0.172
K	105	112	358	2.34	12.49	0.187
L	185	107	343	2.25	11.93	0.188

* average of 105 days.

Table 9 Zn, Cu, Mg, Ca content* of liver

Diet	Zn μ g/g diet	Body weight		liver weight g	Zn μ g	Cu μ g	Mg μ g	Ca μ g
		initial g	final g					
A	25	46	172	9.9	48.0	12.7	825	149
A	25	49	217	12.3	63.0	16.5	833	192
B	975	53	155	7.9	190.9	16.6	811	97
B	975	46	124	7.4	186.2	9.6	818	74
C	1925	53	122	7.9	350.8	11.0	844	105
C	1925	43	107	5.6	623.5	7.0	820	102
D	3195	41	111	6.0	564.5	4.2	830	160
D	3195	48	122	7.0	652.5	4.6	774	93
E	25	72	299	13.5	48.2	18.6	806	205
F	55	46	248	12.8	130.2	11.6	830	175
G	185	52	255	13.7	158.6	6.8	840	94
G	185	70	263	11.8	167.9	10.4	856	99
H	345	50	230	12.7	216.8	5.4	860	85
H	345	67	248	12.2	215.5	9.6	923	52

* μ g/g dry basis.

Table 10 Zn, Cu, Mg, Ca content* of Kidneys and Heart.

Diet	Zn μ g/g diet	Kidneys				Heart			
		Zn μ g	Cu μ g	Mg μ g	Ca μ g	Zn μ g	Cu μ g	Mg μ g	Ca μ g
A	25	35.2	35.4	708	265	55.5	23.9	908	163
B	975	168.0	29.8	887	218	75.8	29.2	955	174
C	1925	384	17.8	879	222	97.0	16.6	962	181
D	3195	574	13.8	872	236	139.0	16.5	980	206
D	3195	764	15.3	830	188	111.3	15.5		

* μ g/g dry basis.

飼育したが、正常の生育を示し、2年以上生存した。15週後雄を解剖したが、外観、ヘマトクリット値、内臓重量、肝脂質量とも4群とも正常で差がなかった。以上の結果より体重100gに達した生後6週のネズミでは0.05% ZnAcが無害であると考えた。日令の進んだネズミについてさらに検討する必要がある。

肝臓、腎臓、心臓中の亜鉛、銅、マグネシウム、カルシウム量の変化；

肝臓について実験Ⅰ、実験ⅡでのみZn, Cu, MgおよびCaを測定した結果がTable 9で、腎臓、心臓についてはTable 10の結果がえられた。食餌にZnAcを添加することによって各臓器中にZnが蓄積するが、その蓄積は肝臓が大きく、腎臓がこれに次ぎ心臓にはあまり蓄積しない。そして亜鉛の蓄積が大きくなると、銅含量が減少するという相関関係が認められた。ことに肝臓でのCu含量の減少が大きく、1.0% ZnAc添加の場合には、肝臓中の銅含量は対照の30%以下になった。銅は血色素の形成に必要であり、実験Ⅰ、ⅡでみられたZnAc添加にともなうヘマトクリット値の低下、貧血の主要原因に体内の銅含量の低下があげられよう。またZnAc添加群の肝臓、腎臓中のCa量が減少していた。これも成長速度の遅延、飼料効率の低下の一因になると考えられる。心臓では同様の傾向がZnとCuについてみられたが、Ca量には変化が認められなかった。またマグネシウム量については各臓器とも飼料の影響はなかった。

なおこの実験では血液および血清中の亜鉛と銅との量の測定をできなかったが、引き続いて報告する予定の飲料水中に亜鉛を過剰に含ませて飼育させた実験で、臓器中の亜鉛、銅、カルシウム量と、これらの血液中の量の関係について考察する。また骨の中の亜鉛および銅、カルシウムとリンへの影響についても引き続き報告する予定である。

要 約

生後4週令、体重約58gのウィスター系雄ネズミをカゼインをたんぱく源として粗蛋白で20.8%含み、その他の栄養素を充分含む飼料で飼育し、飼料中の無機塩の1部を酢酸亜鉛で置換することによって、亜鉛の食餌中での過剰が幼若ネズミに与える影響を調べて、次の結果をえた。

1) 酢酸亜鉛を飼料中に0.05%以上添加した場合は(飼料中のZn 185ppm)、体重増加の減少、飼料効率の低下が認められた。これらは金属亜鉛末、酸化亜鉛または塩化亜鉛を添加した実験により、亜鉛の過剰に

よる害は飼料中に2500ppm以上のZnを含む場合にみられるという従来の報告より著しく低い。このことより食餌中の亜鉛の形態が毒性に大きく影響していると考えられる。

2) 生後6週令、体重約100gの雄ネズミの場合には、0.05%酢酸亜鉛の添加は体重増加に影響しなかった。

3) 過剰の亜鉛を摂取したネズミの肝臓、腎臓では、亜鉛の摂取量と平行して亜鉛の蓄積と銅含量の低下が認められた。飼料中にZn 3195ppmを含む1%酢酸亜鉛添加飼料では2週間の飼育で肝臓乾燥重量g当りZn 652 μ gと対照の10倍に、Cu 4.2 μ gと対照の1/4になった。また0.6%以上の酢酸亜鉛を含む飼料で飼育したネズミは外観的にも貧血状態がみられ、ヘマトクリット値が対照の1/2以下のものもあった。これは銅の欠乏により造血機能に障害を生じたためと考えられる。また亜鉛過剰添加により肝臓、腎臓中のCa量は減少した。心臓でも亜鉛の添加によりZn含量の増加、Cu量の減少が起ったが、その変化は肝臓、腎臓に比べて少なく、Ca量はほとんど変化しなかった。臓器中のMg量は亜鉛の添加により変らなかった。

この研究は昭和50年度京都女子大学研究助成金による援助を受けたものである。

参 考 文 献

- 1) G. W. Monier-Williams: "Trace Element in Food" [Zinc] p.107~137 (1950) Chapman & Hall., London
- 2) E. J. Underwood: "Trace Element in Human and Animal Nutrition" Zinc p.208~252 (1971) Academic press., New York and London.
- 3) V. G. Heller and A. D. Burke: J. Biol. Chem., **74**, 85 (1927)
- 4) V. Sadavisan: Biochem. J., **48**, 527 (1951); **49**, 186 (1951); **52**, 452 (1952)
- 5) A. C. Magee and G. Martrone: J. Nutr., **72**, 233 (1960); A. C. Magee and S. Spahr: J. Nutr., **82**, 209 (1964)
- 6) L. Murthy, L. M. Klevay, and H. G. Petering: J. Nutr., **104**, 1458(1974)
- 7) D. R. Van Campen: J. Nutr., **97**, 104 (1969)
- 8) 原子吸光分析法クックブック, 第1巻 一水質分析用— p.10. 島津製作所科学計測事業部