

飼料中モリブデン濃度がラット臓器および血清モリブデン濃度に及ぼす影響

吉原花織, 福永健治, 吉田宗弘
(関西大学化学生命工学部食品工学研究室*)

Effect of Dietary Molybdenum Level on Tissue and Serum Molybdenum Concentrations in Rats

Kaori YOSHIHARA, Kenji FUKUNAGA and Munehiro YOSHIDA
*Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering,
Kansai University, Yamate 3-3-35, Suita, Osaka 564-8680, Japan*

Summary

Molybdenum status was examined in rats fed experimental diets containing graded level of molybdenum. Male 5-week Wistar rats were divided into three groups. One group was fed a basal AIN93G diet without ammonium molybdate (molybdenum content, 0.08 $\mu\text{g/g}$) and other groups were fed the basal diet supplemented with 0.1 or 0.5 $\mu\text{g/g}$ of molybdenum as ammonium molybdate for 4 weeks. Molybdenum concentrations in liver and kidney of the rats were not varied with dietary molybdenum intake level but the serum molybdenum concentration was gradually increased with an increase of dietary molybdenum level. Dietary molybdenum level did not effect on copper concentrations in the liver, kidney and serum as well as xanthine oxidase activity in the liver and the serum uric acid level. These results indicate that variation of dietary molybdenum level in the present study (0.08 to 0.58 $\mu\text{g/g}$) did not effect on molybdenum status other than serum molybdenum concentration.

モリブデンはキサンチンオキシダーゼなどの補酵素として機能し、必須微量元素と位置づけられている¹⁾。しかしヒトのモリブデン欠乏は、モリブデンをほとんど含まない高カロリー輸液の長期投与に伴って発生した一例のみであり²⁾、食事性欠乏は知られていない。これは、モリブデンが穀物や豆類に豊富に含まれるため、1日摂取量が所要量(25~30 $\mu\text{g/日}$)³⁾をはるかに超える150 μg 以上であることに起因している⁴⁾。ヒトを対象にした出納試験では、モリブデン摂取量の広範囲にわたって平衡状態が維持されることが示されている^{5, 6)}。このことは、モリブデン摂取量が変動しても組織中モリブデン濃度に変化がなく、体内のモリブデン状態が一定に維持されることを意味する。一方、日本人の血清や母乳のモリブデン濃度は欧米人よりもやや高い^{7, 8)}。これは日本人のモリブデン摂取が欧米人よりも多いためと思われる。しかし、ヒトや実験動物を対象にして、モリブデン摂取量と組織および血清モリブデン濃度との関係を検討した報告は少ない⁹⁻¹¹⁾。本報告は、モリブデン濃度を段階的に変化させた飼料でラットを飼育し、組織および血清のモリブデン濃度を測定した結果を述べるものである。

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

実験方法

1. 実験動物と飼料

5週齢のWistar系雄ラット24匹を6匹ずつ3群に分け、1群にはAIN93G飼料からモリブデン酸アンモニウムを除いた低モリブデン飼料、他の2群にはこの低モリブデン飼料に0.1または0.5 µg/gのモリブデンをモリブデン酸アンモニウムの形態で添加した飼料を投与し、4週間飼育した。なお低モリブデン飼料のモリブデン含量の実測値は0.08 µg/gであった。

飼育期間終了後、すべてのラットをエーテル麻酔下で解剖し、肝臓、腎臓および血清を得た。

2. 分析

(1) モリブデンの定量

約0.5 gの肝臓または腎臓に5 mLの濃硝酸を加え、100℃で不溶物がなくなるまで加熱した。分解液を蒸留水を用いて50 mLにメスアップ後、含有されるモリブデンを誘導結合プラズマ質量分析(ICPMS)により定量した⁴⁾。

血清2 mLをろ紙に入れ、80℃で乾燥させた後、電気炉中550℃で16時間灰化した。灰化した血清を5 mLの2%硝酸に溶解後、含有されるモリブデンをICPMSにより定量した⁷⁾。

(2) 銅の定量

上記の調製試料を蒸留水で8~20倍に希釈後、ICPMSを用いて銅を定量した。

(3) 肝臓キサンチンオキシダーゼ活性の測定

肝臓約1 gに9倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズし、10%ホモジネートを調製した。得られたホモジネートを8,000 x gで15分間遠心した。遠心後の上清0.2 mLに、0.3 mMキサンチン溶液0.6 mL、0.136 Mトリス塩酸緩衝液(pH 7.4) 2.2 mLを混合し、37℃で10分間反応させた。反応終了後、20%過塩素酸1 mLを加えて遠心し、上清を得た。上清中に存在する尿酸を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で定量することにより、肝臓中のキサンチンオキシダーゼ活性を求めた。HPLCの条件は以下のとおりである。カラム, CAPCELL PAK C18 (4.6 mm φ x 150 mm, 資生堂); 移動相, 25 mM NaH₂PO₄ (pH 3.0)/アセトニトリル = 1/99 (v/v); 流速, 1.0 mL/min; 検出, UV 292 nm。

(4) 血清尿酸の定量

血清尿酸濃度はキット(尿酸C-テストワコー, 和光純薬)を用いて測定した。

結果

Table 1に肝臓、腎臓および血清のモリブデン濃度をまとめた。肝臓と腎臓のモリブデン濃度は、飼料からのモリブデン摂取量の増減の影響をまったく受けず、一定範囲に維持された。これに対して血清モリブデン濃度はモリブデン摂取量の増減に対応して変動し、基本食群に比較してモリブデン添加食投与群において有意に高い値を示した。

Table 2に臓器と血清の銅濃度、Table 3に肝臓のキサンチンオキシダーゼ活性と血清尿酸濃度をまとめた。いずれの測定項目も、飼料からのモリブデン摂取量の増減の影響をまったく受けず、各群間に有意な差は認められなかった。

Table 1 Tissue and serum molybdenum levels in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet (µg/g)	Molybdenum level		
	Liver (ng/g)	Kidney (ng/g)	Serum (ng/mL)
0	839 ± 24 ^a	478 ± 9 ^a	5.7 ± 0.8 ^a
0.1	949 ± 32 ^a	508 ± 24 ^a	6.5 ± 1.1 ^{ab}
0.5	893 ± 44 ^a	496 ± 17 ^a	12.4 ± 2.1 ^b

Values are means ± SEM (n = 6).

Means in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2 Tissue and serum copper levels in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Copper level		
	Liver ($\mu\text{g/g}$)	Kidney ($\mu\text{g/g}$)	Serum ($\mu\text{g/mL}$)
0	3.41 \pm 0.26	7.46 \pm 0.98	0.13 \pm 0.03
0.1	4.00 \pm 0.87	9.23 \pm 0.86	0.14 \pm 0.02
0.5	3.69 \pm 0.18	9.45 \pm 0.87	0.17 \pm 0.02

Values are means \pm SEM (n = 6).

Table 3 Liver xanthine oxidase activity and serum uric acid level in rats fed experimental diets

Level of Mo added to diet ($\mu\text{g/g}$)	Liver xanthine oxidase (unit/g protein)	Serum uric acid ($\mu\text{g/mL}$)
0	0.16 \pm 0.01	128 \pm 1.7
0.1	0.13 \pm 0.02	122 \pm 0.8
0.5	0.12 \pm 0.02	133 \pm 0.8

Values are means \pm SEM (n = 6). A unit of xanthine oxidase activity is expressed as μmol uric acid formed per minute.

考 察

モリブデンの過剰摂取は、血清尿酸濃度の上昇や銅欠乏を招くことが知られているが^{12, 13)}、今回の実験では、血清尿酸や組織中銅濃度の数値に各群間に差がなかった。モリブデン中毒を起こした家畜が摂取していた飼料のモリブデン濃度は20~100 $\mu\text{g/g}$ であったと報告されていることから¹⁴⁾、今回のモリブデン投与量の範囲は過剰域にはるかに及ばなかったといえる。今後、より高濃度のモリブデンを含有した飼料を用いて、モリブデン投与の影響を検討する必要があると思われる。

Table 1に示したように、今回のモリブデンの投与範囲においては、血清モリブデン濃度は摂取量に応じて変動したのに対して、肝臓と腎臓のモリブデン濃度は一定範囲に維持されていた。またモリブデン含有酵素であるキサンチンオキシダーゼ活性にも各群間に差はなかった。Wangらも飼料中モリブデン濃度0.1~0.8 $\mu\text{g/g}$ の範囲では、臓器中のモリブデン濃度とモリブデン酵素の活性はほぼ一定値に維持されることを観察している(ただし、この研究では飼料のモリブデン濃度は実測されていない)⁹⁾。このことから、今回のモリブデン摂取の範囲(0.08~0.58 $\mu\text{g/g}$)であれば、血清のモリブデン濃度は変動するが組織中のモリブデン濃度は一定範囲に維持されており、モリブデンを必要とする生理機能も維持されることを意味している。

今回の実験において、低モリブデン飼料として用いたAIN93Gをベースとした低モリブデン飼料には0.08 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンが含まれていた。これはAIN93Gを構成するミルクカゼインとコーンスターチにモリブデンが混入していたためである。ヒトの食事摂取量(乾燥重量)を約500 g/日と仮定して、飼料中濃度0.08 $\mu\text{g/g}$ をヒトの摂取量に換算すると40 μg /日になる。日本人を対象にした食事摂取基準では、モリブデンの摂取推奨量(RDA)を20~25 μg /日としていることから³⁾、今回の実験では基本食を投与したラットにおいてもモリブデンが充足していた可能性は高い。一方、モリブデン添加食のモリブデン含有量(0.18, および0.58 $\mu\text{g/g}$)を同様にヒトの摂取量に換算すると、それぞれ90, および290 μg /日となる。食事摂取基準におけるモリブデンの摂取上限値(UL)が230~320 μg /日であることから³⁾、0.5 $\mu\text{g/g}$ のモリブデンを添加した群は食事摂取基準のUL相当量のモリブデンを摂取したとみなせる。以上のこと、および日本人のモリブデン摂取量は150~320 μg /日の範囲にあると推定されていることをあわせると⁴⁾、今回のモリブデンの投与量はRDAをやや上回る摂取量から日本人のモリブデン摂取量の上限をカバーしているといえるだろう。

以上のことから、今回の実験結果は、モリブデン摂取が食事摂取基準のRDA~ULの範囲、あるいは現在の日本人の範囲であれば、血清のモリブデン濃度は変動するが、モリブデンの恒常性は維持されることを示すといえるだろう。

このことは、日本人を対象にした調査研究において、血清モリブデン濃度に個人差が大きいこと⁷⁾、モリブデン出納値がほぼゼロに維持されていること⁶⁾、とよく一致している。

今回の実験では低モリブデン飼料自体に相当量のモリブデンが混入していたために、モリブデン不足の状態を引き起こすことが不可能であった。今後、モリブデンの生理機能を検討し、モリブデンの必要量を推定するには、モリブデン混入の確率が低い素材によって調製された、カゼインやコーンスターチを使用しない飼料を用いることが必要といえる。

参考文献

- 1) Rajagopalan KV (1987) Molybdenum-An essential trace element. *Nutr Rev* 45: 321 - 328.
- 2) Abumrad NN, Schneider AJ, Steel D, Rogers LS (1981) Amino acid intolerance during prolonged total parental nutrition reversed by molybdate therapy. *Am J Clin Nutr* 34: 2551 - 2559.
- 3) 厚生労働省策定 (2005) 日本人の食事摂取基準 [2005年版], 第一出版, 東京: pp. 152 - 155.
- 4) Hattori H, Ashida A, Itô C, Yoshida M (2004) Determination of molybdenum on foods and human milk, and an estimate of average molybdenum intake in the Japanese Population. *J Nutr Sci Vitaminol* 50: 404 - 409.
- 5) Turnland JR, Keyes WR, Peiffer GL (1995) Molybdenum absorption, excretion and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr* 62: 790 - 796.
- 6) Yoshida M, Hattori H, Ôta S, Yoshihara K, Kodama N, Yoshitake Y, Nishimuta M (2006) Molybdenum balance in healthy young Japanese women. *J Trace Elem med Biol* 20: 245 - 252.
- 7) Yoshida M, Ôta S, Fukunaga K, Nishiyama T (2006) Serum molybdenum concentration in healthy Japanese adults determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J Trace Elem Med Biol* 20: 19 - 23.
- 8) 吉田宗弘, 伊藤智恵, 服部浩之, 土田 博, 米久保明得, 西牟田 守 (2004) 日本における母乳および調製粉乳中のモリブデン濃度と乳児のモリブデン摂取量. *微量栄養素研究* 21 : 59 - 64.
- 9) Wang X, Oberleas D, Yang MT, Yang SP (1992) Molybdenum requirement of female rats. *J Nutr* 122: 1036 - 1041.
- 10) Pandey R, Kumar R, Singh SP, Srivastava SP (2002) Molybdenum in rat tissue. *Human Exp Toxicol* 21: 33 - 35.
- 11) Turnlund JR, Keyes WR (2004) Plasma molybdenum reflects dietary molybdenum intake. *J Nutr Biochem* 15: 90 - 95.
- 12) Walravens PA, Moure-Eraso R, Solomons CC, Chappell WR, Bentley G (1979) Biochemical abnormalities in workers exposed to molybdenum dust. *Arch Environ Health* 34: 302 - 308.
- 13) Vyskocil A, Viau C (1999) Assessment of molybdenum toxicity in humans. *J Appl Toxicol* 19: 185 - 192.
- 14) Mills CF, Davis GK (1987) Molybdenum, In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 5th ed. (ed by Mertz W), Academic Press, New York, pp. 429 - 463.

微量元素(5)

マンガン摂取 — 過不足と茶の影響 —

関西大学 化学生命工学部 食品工学研究室 吉田宗弘 *Yoshida, Munehiro*

マンガン (Mn) はピルビン酸カルボキシラーゼとスーパーオキシドジスムターゼの構成因子であり、ヒトを含む高等動物において必須の微量ミネラルと位置付けられている。Mn の 1 日摂取量は mg オーダーであり、銅と鉄・亜鉛の中間に位置する。しかし Mn の体内存在量 (約 10 mg) はこれらの元素よりも 2 桁少なく、推奨量が数 10 μg /日であるセレンやモリブデンと同程度である。これは Mn の吸収率がきわめて低い (数%またはそれ以下) ためである。

本稿では、Mn 摂取の過不足の可能性と Mn 摂取に及ぼす茶の影響を解説する。

Mn の摂取不足は起こりうるか

ヒトでの Mn 欠乏の報告はきわめて少ない。実験的に調製した特殊な Mn 欠乏食 (Mn 摂取量 0.11 mg/日) を 39 日間投与された若い男性では、血清コレステロール濃度のわずかな低下と皮膚症状が観察されている¹⁾。この皮膚症状は Mn 投与で消失することから、Mn 欠乏の一症状とみなせる。この実験では、Mn の最小必要量を、平均的には 0.74 mg/日、吸収率などが低いヒトでは 2.11 mg/日と推定している。別の実験において、8 週間にわたる 0.8 mg/日の低 Mn 摂取がいかなる健康障害も起こしていないことから²⁾、この推定は妥当なものと考えられる。一方、わが国の食事摂取基準における Mn 摂取の目安量は、男性 4 mg/日、女性 3.5 mg/日であり³⁾、上記の数値よりも相当高い。これは、わが国の目安量が日本人の Mn 摂取量の推定値 (平均 3.7 mg/日) をもとに設定されているためである。

図は、日本人の食事由来の Mn 摂取量を食品群

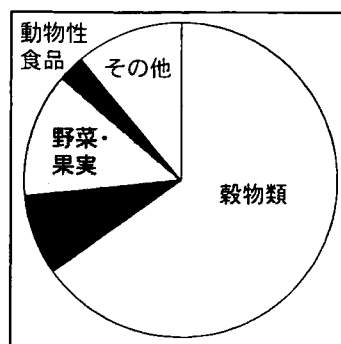


図 日本人のマンガン摂取に及ぼす各食品群の寄与 (文献 4 をもとに作成)

別に示したものである⁴⁾。Mn 供給源の大半は穀物などの植物性食品である。Mn 摂取量の計算には後述の茶由来の Mn 摂取量が反映されていないため、日本人の平均的な Mn 摂取量は 5 mg/日を上回っている可能性が高い。したがって、一般的な食生活において Mn 摂取不足を懸念する必要はないといえる。

Mn の過剰摂取

Mn の過剰摂取はさまざまな神経障害を引き起こすことが知られている。しかし最初に述べたように、Mn の消化管吸収率はきわめて低いため、食事由来の Mn による過剰障害はほとんど知られていない。たとえば、実験的に食事摂取基準の上限値 (11 mg/日) の 2 倍近くに相当する 20 mg/日の Mn を 8 週間投与されたヒトにおいても、問題となるような障害は観察されていない⁵⁾。

近年、カルシウムなどのミネラルの消化管吸収を促進する食品素材が開発されており、いわゆる機能性食品として市販されている。このようなミネラル吸収促進成分は Mn の吸収も促進する可能性があるため、実質的に Mn 過剰摂取を引き起

こす危険性がある。しかし鉄強化剤として用いられた EDTA 鉄は Mn の消化管吸収と尿中排泄に影響を与えていない⁹⁾。筆者らも、動物実験において、カルシウム吸収を促進するオリゴ糖の一種が Mn 吸収には影響を与えないことを確認している。

Mn 過剰摂取が生ずる危険性があるのは、高カロリー輸液が用いられる場合である。かつて、この輸液には亜鉛などの微量元素が添加されておらず、種々の微量元素欠乏が発生した。このため、現在では微量元素を添加した輸液が用いられている。Mn は必須ミネラルであるため、欠乏症発生を予防するために、一定量（約 1 mg/日）が輸液に添加されていた。しかし、Mn を添加した輸液を用いた場合に、頭痛や脳 MRI 像の異常を認める症例が相ついであり、輸液への Mn 添加は慎重に進める必要があるとされている^{6,7)}。現在、輸液への Mn 添加は、低用量（約 0.05 mg/日）で行うか、または全血 Mn 濃度が基準値（0.5~2.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ）を下回った場合にのみ実施されることが多い。

Mn 摂取と茶

上述のごとく食事由来の Mn は吸収率が低いため、Mn 過剰障害の原因となる可能性は低い。しかし最近、英国において茶の大量消費が Mn 過剰障害を促進する可能性が指摘されている⁹⁾。つぎに Mn 摂取に及ぼす茶の影響について述べる。

産地や製法の異なるさまざまな茶葉を収集して Mn 濃度を測定すると、20~150 mg/100 g の範囲にあり、食品成分表に記載された数値（煎茶 55 mg/100 g、紅茶 21 mg/100 g）にほぼ一致する⁹⁾。また実験的に調製した浸出液の Mn 濃度も食品成分表に記載された数値（煎茶 3.1 mg/kg、紅茶 2.2 mg/kg、ウーロン茶 2.4 mg/kg）にほぼ一致する⁹⁾。しかし、家庭で実際に調製・飲用されている茶浸出液と市販の缶およびペットボトル入り茶系飲料の Mn 濃度は 0.5~2.5 mg/l の範囲にあり、食品成分表記載のものよりも明らかに低値で

ある^{9,10)}。したがって、食品成分表に記載されている茶浸出液の Mn 濃度の数値は、一般に飲用されているものに適用するには少し高過ぎるといえる。茶以外の植物の浸出液が混入しているハーブ茶の Mn 濃度は、茶とほかの植物の量比のばらつきを反映してさまざまな値となる。たとえば、茶をまったく使用していない麦茶の Mn 濃度はきわめて低い。

茶系飲料の 1 日消費量は 0.5~1.0 l の範囲にある人が多いので、茶からの Mn 摂取は平均的には 0.5~2 mg/日程度と思われる¹⁰⁾。したがって、茶由来の摂取量を加えたとしても Mn 摂取量が上限値の 11 mg/日を超える可能性は低い。しかし、茶の Mn 濃度が産地ごとに変動するため、浸出液中 Mn 濃度が 5 mg/kg に近いケースも考えられる。このような茶を大量（2 l 以上）に飲用すれば、無視できない量の Mn 摂取を引き起こすことになる。最近では茶の健康効果が強調される傾向にあるが、茶の大量消費はフッ素の過剰障害を起こすことが報告されている¹¹⁾。茶を大量に飲用する人については、Mn に関しても注意を払う必要があるだろう。

文 献

- 1) Friedman BJ, Freeland-Graves JN, Bales CW, et al. J Nutr 1987; 117: 133-43.
- 2) Finley JW, Penland JG, Pettit RE, Davis CD. J Nutr 2003; 133: 2849-56.
- 3) 厚生労働省策定。日本人の食事摂取基準 [2005 年版]: 第一出版; 2005. p 156-60.
- 4) 鈴木泰夫。ミネラル・微量元素の栄養学 (鈴木継美, 和田 攻編): 第一出版; 1994. p 469-81.
- 5) Davidsson L, Almgren A, Hurrell RF. J Nutr 1998; 128: 1139-43.
- 6) Nagamoto S, Umehara F, Hanada K, et al. J Neurol 1999; 162: 102-5.
- 7) Masumoto K, Suita S, Taguchi T, et al. JPEN J Parenter Enteral Nutr 2001; 25: 95-9.
- 8) Ross C, O'Reilly DS, McKee R. Ann Clin Biochem 2006; 43: 226-8.
- 9) 林希未子, 大西美加, 堀越亮介, ほか。微量栄養素研究 2004; 21: 115-20.
- 10) 林希未子, 福永健治, 吉田宗弘。日本健康医学会雑誌 2005; 14: 19-23.
- 11) Cao J, Bai X, Zhao Y, et al. Environ Health Perspect 1996; 104: 1340-3.