

鉄欠乏のホルモン分泌に及ぼす影響

——食餌中の鉄成分の不足が血清テストステロン分泌に及ぼす影響——

赤澤典子*

(平成18年11月21日受理)

緒言

日本の食生活は向上してきているが、その一方で、ビタミンやミネラルなどの微量元素の摂取不足が指摘されている。最近の国民健康・栄養調査¹⁾を見ると、食事からの摂取量は食事摂取基準値を満たしていないことが指摘される。また低栄養・栄養不良の妊婦の増加が推測されている。

先進国および発展途上国双方においても貧血が、一般的なかつ広範囲にわたる栄養問題であり、貧血の原因として最も多いのが、鉄欠乏性貧血である事が指摘されている。摂取する鉄の量が不足してくると、貧血が生じることは良く知られているが、鉄成分は、生体内で重要な役割を果たしており、その不足は代謝や内分泌腺にも影響を与える。内分泌腺としては脳下垂体、甲状腺、副腎、すい臓などのほか卵巣や精巣などがあり、ホルモンは微量で著しい生理活性があり、からだの各器官に運ばれ諸機能を制御する働きがある。ホルモン分泌と栄養との関連で、特に鉄成分との関係では、鉄欠乏により甲状腺ホルモン分泌が異常になる^{2, 3)}こと、また鉄は精巣の精細管に集まり、セルトリ細胞の生殖細胞 (germ cells) の成熟に関与する重要な要素であることが Skinner ら⁴⁾により報告されている。一方、Intragumtornchai⁵⁾らは、鉄欠乏の血漿テストステロン分泌に対する影響は少ないのではないかと報告している。鉄成分の不足は、性ホルモン分泌機能に影響を及ぼすことが懸念されるがその結果は必ずしも一致はしていない。また、鉄は生体内の酸化還元酵素として必須元素であり、鉄の不足動物では、肝臓キサンチオキターゼ活性や過酸化脂質が増加することが上原ら⁶⁾、千葉ら⁷⁾により報告されている。先に、筆者はビタミンEなどの抗酸化物質の不足は過酸化脂質が増加すること、下垂体の性腺刺激ホルモンや精巣の性ホルモン分泌機能に影響を与えることを報告している^{8, 9)}。そこで本研究では、鉄欠乏が性ホルモン分泌機能に及ぼす影響について、鉄不足動物を作成し、血清中の性ホルモン (テストステロン) や精巣を組織学的に検討するとともに、鉄不足による過酸化脂質や鉄を補酵素とする SOD (スーパーオキシドディスムターゼ) 活性を測定し、これらとの関連について検討したので報告する。

* 岩手大学教育学部

実験方法

(1) 実験動物及び飼料配合

離乳直後の Wister 系雄ラットを用い、鉄投与群、鉄欠乏群の 2 群にわけ、8 週間飼育した。各群ともステンレス製の網底のある飼育箱に 1 匹ずつ入れ、室温 20~25℃、湿度 60% 前後、明暗 12 時間交代 (人工光) で飼育した。飼料は自由給餌方式で、飲料水は蒸留水を用いた。鉄欠乏群の飼料組成は Table 1 に示す通りである。飼料中の鉄量は鉄投与群で 2.50mg/100g、鉄欠乏群では 0.59mg/100g である。これらの飼料は 1 週間ごとに作成し、冷蔵庫に保存した。

Table 1. Iron deficient diet

ingredients	composition (g%)
Sucrose	65.9
Casein	20.0
Oil	8.0
Mineral ¹ (except Fe)	4.0
Vitamin ²	1.0
Cellulose	1.0
Choline chloride	0.1

^{1,2} Harpar mixture

(2) 測定方法及び組織学的研究方法

ラットは飼育後 4 週目と 8 週目に解剖し、後大静脈から採血した。その一部は赤血球、ヘモグロビンなどの測定に用いた。血清を分離し、血清鉄は原子吸光で測定した。また、肝臓は硝酸分解したのち、同様に測定した。血清及び組織の過酸化脂質は、八木らの蛍光測定法¹⁰⁾によって測定した。過酸化脂質の量は TBA 値で表した。血清の SOD 活性は ESR スピントラッピング法¹¹⁾により測定した。血清のテストステロン量は¹²⁵I-testosterone radio-immunoassay Kit (英研イムノケミカル研究所) を用いて測定した。組織切片の作成は、屠殺後、ただちに精巣、心臓、脾臓などの組織を摘出し秤量した後、精巣はブアン液で固定した後、パラフィンに包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って光学顕微鏡によって観察した。

実験結果

(1) 発育および組織重量

鉄欠乏群の体重発育は、鉄投与群と比較して、飼育開始 2 週目頃より体重増加量に差が見られ、4 週目では有意に低値となり、発育の遅滞が認められた。組織重量は Table 2 に示すように、精巣では鉄投与群と比較して 4 週ではやや低い値を示し、8 週ではさらに低く有意の差が認められた。脾臓重量は鉄欠乏群では 4、8 週で、対照群に対して低値を示したが、体重比では、8 週になると鉄欠乏群では有意に高値を示し、脾臓の肥大がみられた。一方、心臓重量は、4、8 週とも鉄欠乏群が有意に高値を示すなど肥大の傾向がみられ、これらの組織に鉄欠乏による影響が認められた。

Table 2. Body and organ weights the iron deficient and supplemented rats

Groups	Body(g)		Testis(g)		Spleen(g)		Heart(g)	
	4week	8week	4week	8week	4week	8week	4week	8week
+Fe ¹	190.8±5.4	345.8±17.3	2.0±0.2	2.9±0.1	0.65±0.1	0.79±0.18	0.8±0.02	1.06±0.0
-Fe ²	113.2±13.3***	138.5±23.4***	1.8±0.1	2.4±0.2*	0.41±0.1*	0.51±0.15	1.0±0.09***	1.87±0.2**
					*P<0.05	**P<0.01	***P<0.001	

¹ +Fe=iron-supplemented diet, ad libitum² -Fe=iron-deficient diet, ad libitum

(2) 血清、肝臓の鉄量及び血液のヘモグロビン量等

血清と肝臓の鉄量は Table 3 に示すように、血清鉄量は鉄欠乏群では鉄投与群に比べ著しく減少し、また肝臓鉄も有意に低値を示し、血清、肝臓の鉄の減少が認められた。赤血球数、ヘモグロビン量やヘマトクリット値は Table 4 に示すように、4週、8週ともに鉄欠乏群が対群に対して濃度が低下し、また赤血球数1個当たりのヘモグロビン濃度を示す MCH (平均赤血球ヘモグロビン量) や MCV (赤血球1個の平均容積) は対照群に対し、鉄欠乏群では濃度が低下し、色素性小球性貧血の特徴が認められた。一方、血小板は鉄欠乏群では有意に増加することが認められた。白血球数は投与群と比較して、有意差は認められなかったが低値であった。

Table 3. Iron concentration of serum and liver in the iron deficient and supplemented rats

Groups	Serum (g/mg)		Liver (μg/g)	
	4week	8week	4week	8week
+Fe	3.8±0.9	2.4±0.4	35.5±9.9	71.9±16.6
-Fe	0.8±0.3**	1.2±0.2**	19.7±9.0*	23.6±3.3***
		*P<0.05	**P<0.01	***P<0.001

Table 4. Concentrations of blood component in the iron deficient and supplemented rats

Groups	RBC (10 ⁴ /μℓ)		Hemoglobin (g/dℓ)		Hematocrit (%)		WBC (10 ³ /μℓ)		Platelet (10 ⁴ /μℓ)	
	4week	8week	4week	8week	4week	8week	4week	8week	4week	8week
+Fe	588±12.1	663.7±50.0	12.3±0.2	12.8±1.0	52.0±2.8	39.8±2.8	4.7±1.5	8.6±3.2	53.0±6.3	83.0±6.2
-Fe	264±24.2***	205.7±28.7***	3.1±0.2***	1.7±0.3**	12.6±1.6***	7.5±1.1**	3.1±1.0	2.0±0.9*	72.0±5.6*	340.5±96.5*
					*P<0.05	**P<0.01	***P<0.001			

(3) 血清テストステロン量と精巣の組織学的変化

血清中のテストステロン量は Table 5 に示すように、対照群は4週で190ng/dℓ、8週では417ng/dℓと成長につれ増加するが、鉄欠乏群では、4週で30.5ng/dℓ、8週では37ng/dℓと低値であり、対照群と有意の差が認められた。精巣の組織学的変化は対照群と鉄欠乏群の組織を顕微鏡写真で撮影し観察した。精巣のライジッヒ細胞は間質内に存在する細胞集団で、ホルモンの

産生及び分泌を行う組織である。8週間飼育した鉄投与群と鉄欠乏群の精巣の精細胞及びライジッヒ細胞を比較すると、鉄投与群の精巣は良く発達し、精細胞では発育各期の精細胞の発達が認められる。またライジッヒ細胞の発育は正常であった。一方鉄欠乏群では、一部の精細胞がやや萎縮し、一部が管区内に脱落が見られた。精細胞は退行的変化を示し、精巣はやや萎縮したものが認められた。また、ライジッヒ細胞の萎縮も認められた。ライジッヒ細胞は、テストステロンを分泌する組織であり、これが変性することによってテストステロンの分泌に影響を及ぼしていることが考えられた。鉄欠乏群では鉄投与群に比べ後述するような鉄の欠乏による酸化促進が生じ、そのことが精巣の正常な発達を阻害し、性ホルモン分泌機能の低下に関連してくることが考えられた。

Table 5. Serum concentration of testosterone in the iron deficient and supplemented rats

Groups	Testosterone (ng/dℓ)	
	4 week	8 week
+Fe	190.7± 70.7	417.7±360.4
-Fe	30.5± 14.2**	37.9± 13.4*

*P<0.05 **P<0.01

(4) 血清と肝臓の過酸化脂質量 (TBA 値) 及び SOD 活性

血清と肝臓の過酸化脂質量は TBA 値で示している。Table 6 に示すように、鉄欠乏群では鉄投与に比べ、血清の過酸化脂質量は増加する傾向が認められる。また、肝臓の過酸化脂質は有意に増加していることが認められた。一方 TBA 値は鉄を十分投与されている群でも、加齢がすすむと増加することが指摘される。

鉄を補酵素とする SOD 活性は鉄欠乏群が対照群に対し有意に低値を示すことが認められた。SOD 活性の低下は生体内の酸化状態に影響をおよぼすことが指摘される。鉄欠乏群では鉄の欠乏による酸化促進が認められ、そのことが精巣の正常な発達を阻害し、性ホルモン分泌機能の低下に関連してくることが考えられた。

Table 6. Concentrations of malondialdehyde and Serum SOD activity in the iron deficient and supplemented rats

Groups	Malondialdehyde				Serum SOD activity	
	Serum (n mol/mℓ)		Liver (n mol/g)		(U/mℓ)	
	4week	8week	4week	8week	4week	8week
+Fe	6.8±0.7	8.5±1.0	153.7±20.3	194.0±27.4	4.15±0.35	3.89±0.94
-Fe	7.5±1.6	8.8±1.2	202.8±25.1**	244.5±52.2	2.46±0.34***	2.12±0.51***

P<0.01 *P<0.001

考 察

摂取する鉄の量が不足してくると、貧血が生じることは良く知られているが、鉄成分は生体内で重要な役割を果たしており、生体内の酸化還元酵素として必須元素であり、その不足は代

謝や内分泌腺に影響を与える。鉄は精巣の精細管に集まり、セルトリ細胞の生殖細胞 (germ cells) の成熟に関与することが報告されている⁴⁾。鉄の不足は、性ホルモン分泌機能に影響を及ぼすことが懸念されるが、一方、鉄欠乏の血漿テストステロン分泌に対する影響は少ないのではないかとの報告⁵⁾も見られ、その結果は必ずしも一致はしていない。本研究は鉄欠乏が性ホルモン分泌機能に及ぼす影響について検討したものである。

体重発育についてみると、鉄欠乏群では有意に低値を示し、鉄欠乏により成長遅延が見られた。また精巣の重量は、鉄欠乏群では、4、8週とも対照群に比べて小さく発育が不良であることが認められる。鉄不足動物では、血清中の鉄量が、鉄欠乏群で有意に低く、また赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値は減少し、また平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度の低下が認められ、鉄の不足による低色素性貧血小血球の状態を示していることが確認された。血小板は、4週、8週においてともに鉄欠乏群では、有意に高値を示し、鉄欠乏時に血小板が通常より増加してくる。白血球は4週では減少がみられたが、有意差が認められなかった。しかし、8週目では鉄欠乏群で白血球の減少が認められ、鉄欠乏状態による免疫系等に対する影響が推察される。Dallman¹²⁾は感染に対する抵抗力の低下が鉄欠乏と関連すると述べている。

血清テストステロン量をみると、対照群では、4週、8週とも正常な増加が認められたが、鉄欠乏では4週目で鉄投与群に対して低値を示し、さらに8週でもほぼ同じ値を示しており、鉄欠乏による影響が認められる。また、精巣の組織切片は、鉄欠乏群においてテストステロンを分泌するライジッヒ細胞の萎縮が認められ、テストステロンの分泌に影響することが推察される。Intragumtornchai⁹⁾らは、鉄不足でも血漿テストステロン量や血漿 LH ホルモン量は、影響されないと報告している。本実験と比較すると、鉄欠乏群における鉄の量は、ほぼ同じであるが、鉄欠乏食の投与開始時期に違いがある。早期に栄養不足に遭遇するほどその影響は大きく、血清中の性ホルモンが増加する年齢以前の栄養不足は分泌する組織や機能に影響を与えると考えられる。またテストステロン量の変化がノーマルな範囲である場合は、LH ホルモン分泌の変化は回避されると考えられる。テストステロンの分泌の調節は、下垂体から分泌される精腺刺激ホルモン (LH ホルモンや FSH ホルモン) により行われ、LH ホルモンは精巣のライジッヒ細胞からのテストステロンの分泌を促進する。一方、テストステロンは、そのフィードバックにより、LH ホルモン分泌をコントロールするので、テストステロン量が変化しない時点では、血漿 LH ホルモンへの影響はすくないと思われる。著者は、抗酸化ビタミン E の欠乏ラットで、血清のテストステロンは低下傾向を示すが、下垂体の性腺刺激細胞 (LH ホルモンや FSH ホルモン分泌細胞) は活性化し、血中の性腺刺激ホルモン濃度はむしろ増加することを認めている。また、ビタミン A 欠乏動物では、血中の副腎脂質ホルモン濃度が低下するが、下垂体の副腎脂質刺激ホルモン陽性細胞は増加することを報告している。

鉄欠乏群においては、肝臓中の血清脂質の上昇が確認された。過酸化脂質反応には、鉄がイニシエーターとして重要な役割を持っており、千葉⁷⁾は、ラットの生体で枯渇してくる時期、4週目から、肝臓中のリン脂質の過酸化脂質が増加すると報告している。SOD は、活性酸素のスーパーオキシドを過酸化水素に変える働きを持ち、鉄、銅、亜鉛を含む酵素で、SOD の酵素反応により発生した過酸化水素は、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシターゼ (GPX) により無毒化される。鉄欠乏では、肝細胞内の生成系酵素キサンチンオキシターゼは増加し、逆に SOD 活性や GPX が減少することが知られている。本実験でも SOD は鉄欠乏群で、活性が

著しく低下していることが認められ、GPX などの酵素も鉄欠乏で低下していると考えられる。Ishihara ら¹³⁾は、ジ(2-エチルヘキシル)フタレート (DEHP) と共に抗酸化ビタミンであるビタミン E および C を投与した場合に精巣萎縮が抑制されることを報告しており、生体内の酸化促進は、精巣や性ホルモン分泌機能に影響を与えられとされる。鉄は酸化還元酵素として必須の元素であり、酸化の過程でおこるフリーラジカルが除去されないことによって、細胞膜の組織的変化を引き起こす可能性が指摘される。生体内の酸化促進は、精巣の細胞の退行的変化を促進し、精巣の細胞膜にある性腺刺激ホルモン受容体の感受性に問題が生じ、その結果として、下垂体前葉から分泌されたペプチドホルモンを精巣の細胞膜にある受容体がうまく受容できないため、テストステロンの合成が十分に出来なくなると考えられる。鉄の作用は、鉄自体の作用のみならず、鉄によりおこる過酸化作用や鉄関連タンパク質の作用も考慮する必要がある。鉄は数多くの神経伝達物質の合成にも関与しており、精神身体的症状と鉄欠乏との報告¹⁴⁾がみられる。今、生活習慣病の予防の視点から生活習慣病の発生とその人のもつ素因との関連が研究され、胎児期の栄養の問題が指摘されている。近年、日本でも「やせ願望」による低栄養・栄養不良の可能性、さらに低栄養・栄養不良の妊婦の増加が推測されている。栄養バランスのとれた食事を適正量摂取することの大切さなど食生活における正しい指導の必要性が指摘される。

まとめ

- 1) 鉄成分は、生体内で重要な役割を果たしており、その不足は代謝や内分泌腺に影響を与える。本実験は、鉄欠乏が性ホルモン分泌機能に及ぼす影響について鉄欠乏動物を作成し、血清中の性ホルモン (テストステロン) と生殖腺の精巣組織学的変化を検討すると共に、生体内過酸化脂質量、血中の SOD 活性を測定し、これらとの関連について検討したものである。
- 2) 離乳直後の Wister 系雄ラットを鉄投与群と鉄欠乏群とに分け飼育を行い、8 週間飼育を行った。飼料中铁量は鉄投与群では 2.50mg/100g、鉄欠乏群では 0.59mg/100g である。
- 3) 鉄欠乏群では、対照群に比べ血清ヘモグロビン量、ヘマトクリット値や血清や組織中の鉄量は明らかに低値を示し、鉄欠乏貧血の状態を示した。
- 4) 鉄欠乏群の精ライジッヒ細胞は萎縮が見られ、血清のテストステロン量の低下が認められた。
- 5) 鉄欠乏群では血清中の過酸化脂質 (TBA 値) は高値を示し、SOD 活性は低値を示した。
- 6) 鉄欠乏動物では鉄欠乏による酸化促進が、性ホルモン分泌機能の低下に影響を与えていると推測された。栄養バランスのとれた食事を適正量摂取することの重要性和、また正しい指導の必要性が指摘される。

本研究にあたり、血清の SOD 活性の測定に御指導、ご協力下さいました東北大学大学院生命科学科吉城由美子氏と組織標本の作製と観察にご指導を頂きました (元) 岩手大学農学部獣医科解剖学研究室の加納 聖先生に深謝いたします。また実験にご協力頂きました当研究室の諸姉に感謝いたします。

引用文献

- 1) 健康・栄養情報研究会編：『平成15年国民健康・栄養調査報告』第一出版、(2003) 290.
- 2) Beard J., Finch CA., Green WL.: Interaction of iron deficiency, anemia and thyroid hormone levels in the response of rats to cold exposure, *Life Sci.*, 30, (1982) 691-697.
- 3) Beard J., Green W., Finch C.: Effect of iron deficiency anemia on hormone levels and thermoregulation during cold exposure, *Am. J. Physiol.*, 237R, (1984) 114-119.
- 4) Skinner MK., Griswold MD.: Sertoli cells synthesize and secrete transferrin-like protein, *J Biol. Chem.*, 255, (1980) 9523-9525.
- 5) Intragumtornchai T., Steiner R. A., Finch C. A.: Iron deficiency, effect on plasma luteinizing hormone and testosterone levels in the adult male rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, (1988) 641-644.
- 6) 上原万里子、鈴木和春、五島孜郎： *Biomed. Res. Trase Elem.*, 1, (1990) 181-182.
- 7) 千葉大成、高嵯みさお、上原万里子、鈴木和春、五島孜郎：鉄欠乏ラット肝中過酸化脂質量の経時的変動の性差、第51回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集、(1997) 2C-a12.
- 8) 赤沢典子：ビタミンE欠乏がラットの下垂体・性腺系の機能に及ぼす影響、 *ビタミン*, 52, (1978) 271-277.
- 9) Akazawa N., Mikami S., Kimura S.: Effects of vitamin E deficiency on the hormone secretion of the pituitary-gonadal axis of the rat, *Tohoku J. Exp. Med.*, 52, (1987) 221-229.
- 10) 八木国夫：血漿および血清中の過酸化脂質の定量、 *ビタミン*, 49, (1975) 403-405.
- 11) Librado A., Stantiago L. A., Hiramatsu M., Mori A., Japanese Soybean paste miso scavenges free radicals and inhibits peroxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 38, (1992) 297-304.
- 12) Dallman PR.: Iron deficiency and the immune response. *Am. J. Clin. Nutr.*, 46, (1996) 329-334.
- 13) Ishihara M, Itoh M, Miyamoto K, Suna S, Takeuchi Y, Takenaka I, Jitsunari F.: Supermatogenic disturbance induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate is significantly prevented by treatment with antioxidant vitamins in the rat. *International J. Andrology* 23, (2000) 85-94.
- 14) 北島晴夫：古くて新しい問題、鉄欠乏、 *日本小児血液学会雑誌*, 14, (2000) 51-50.