

鉄欠乏及び貧血の程度が筋の代謝・収縮特性
及び全身運動能力に及ぼす影響
—強度の鉄欠乏が筋及び脳の代謝に及ぼす影響—

鹿屋体育大学助教授

大 平 充 宣
刈 谷 文 彦
安 井 涉
開 発 健 一
菅 原 聡 子
小 柳 浩 二
小 林 昇
萩 田 太

鹿児島純心女子短期大学講師

田 中 美智子

日本女子体育大学教授

黒 田 善 雄

栄養又は摂取カロリー不足などによる鉄欠乏性貧血は、我が国ではほとんど見られなくなったが、特に開発途上国においては依然として深刻な健康問題の一つである。ところが、先進諸国でも特に女性や運動選手における鉄欠乏又は貧血は重大な関心事である。鉄欠乏性貧血が運動能力（特に持久力）を抑制することは数多く報告されている（1-7）。鉄欠乏は血中ヘモグロビン（Hb）のみならず、組織における鉄含有タンパク質の合成も抑制するので、血液による酸素運搬のみならず、組織における酸素利用能も制限されてしまうのが、その主たる原因である。鉄欠乏性貧血者に鉄を投与すると血中Hb濃度が次第に増加していくが、それに伴い運動能力も向上する（6）。この場合、Hbのみならず組織における鉄含有タンパク質も改善される。しかしながら、鉄欠乏性貧血者のHb濃度を輸血により一気に上昇させた場合、筋中などの鉄欠乏はすぐには改善されない。ところが運動能力はHb濃度の増加度と平行して上昇する（3）。このような結果は、運動能力を抑制する因子は組織における鉄欠乏よりも、主に貧血（血中Hb濃度の低下）であることを示唆するものである。しかしながら、

貧血の程度は同じであっても鉄欠乏の程度が異なる人で運動能力を比較すると、鉄欠乏がより強度である方が運動の持続時間が短かったり、一定負荷運動中の心拍数が高いという結果も得られている(5, 6, 8)。しかも貧血ではなくても鉄欠乏が進行した女性が慢性疲労を訴えることも知られている(9)。更には、鉄欠乏は行動(10)や学習能力(11)にも影響を及ぼすという報告もある。従って、鉄欠乏は筋のみならず、脳の機能や代謝に影響を及ぼすことが示唆される。そこで、本研究では、ラットの筋及び脳の代謝が強度の鉄欠乏及び貧血に如何に影響されるのか検討してみた。しかし、まだ全ての分析は終わっていないので、本稿では主に貧血の程度、血液ガス、及び高エネルギーリン酸含有について述べたい。

方 法

生後3週齢のウィスター系雄性ラット16匹を任意に2群(各群n=8)に分け、2匹ずつステンレススチール製のケージ内で飼育した。一群には鉄含有量が約2 mg/kgの餌(Teklad, Madison, Wisconsin)、もう一群には同一の鉄欠乏餌に1 kg当りferric citrateとしての鉄を100 mg添加した飼料を同一量ずつ与えた。餌の量は発育に応じて漸増し、3週間目から一匹当り20 g/日ずつ与えた。水は脱イオン水を与えた。飼育舎の温度及び湿度はそれぞれ約23°C及び55%に保ち、明暗のコントロールは12時間毎に実施した。

こうして8-9週間飼育した後、sodium pentobarbitalの腹腔内注入(5 mg/100 g体重)により麻酔し、後肢筋(ふくらはぎ部)及び脳の高エネルギーリン酸含有を³¹P-核磁気共鳴(NMR)装置を用いて分析した。筋での測定は剃毛し、脳での測定は、頭皮を開いて実施した。使用機器は静磁場強度4.7 teslaの横型動物実験用BEM 170/200スペクトロメーター(大塚電子社製)である。表面コイルは直径20 mm、2 trunの送受信兼用で、コイルの中心を測定部に合わせた。

測定に先立ち、付属のウェーブテックを用いて手動的にコイルのチューニング/マッチングを行い、次いで¹Hの信号により静磁場均一度調整(shimming)を行った。チューニング/マッチング及びshimmingは各測定毎に最適化を図った。

³¹P-NMRの測定条件は、共鳴周波数81.4 MHz、繰り返し時間3.0秒、rfパルス幅

26 μ sec、観測帯域5,000Hz、サンプリング間隔は200 μ secで、1,024ポイント測定した。通常100~150回のFID (free induction decay) を加算平均したスペクトルを20 Hzのexponential window関数にてノイズ軽減を行った後、フーリエ変換してスペクトルを得た。

その後、ヘパリンコーティングしたシリンジに頸静脈より採血し、直ちに血液ガス (Corning社製pH/血液ガスアナライザー、Model 158)、乳酸 (YSI社製ラクテートアナライザー、Model 23 L) 及びHb、赤血球 (RBC) ヘマトクリット (Hct)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球Hb量 (MCH)、平均赤血球Hb濃度 (MCHC) を分析した (日本テクニコン社製 血液自動分析装置、H-1)。なお、肩甲骨間の褐色脂肪組織 (BAT) 及び両側の副腎を採取し、質重量を測定した。

結果及び考察

強度な鉄欠乏食の摂取により、有意な発育抑制が見られ、コントロール群に比べ、鉄欠乏群の体重は有意に低値であった (Table 1. $p < 0.05$)。ところがBAT重量は逆に鉄欠乏群が多かった ($p < 0.05$)。副腎の絶対重量はむしろ鉄欠乏群が低い傾向にあり ($p > 0.05$)、体重比の相対重量にも差は認められなかった。従って、BAT重量の増大はストレスによるものではなく、代謝の亢進に起因していることが示唆される。貧血の程度はTable 2に示してあるが、Hb濃度、Hct値、RBC数共に鉄欠乏群が顕著に低かった ($p < 0.001$)。更にはMCVも低値であり ($p < 0.001$)、血球容積も小さいことがわかる。MCVとほぼ平行してMCHも鉄欠乏ラットが低く ($p < 0.001$)、しかもMCHCには両群間に差がなかったことより、血球容積の縮小は血球内Hb量の低下と深く関係していると推察される。安静時血中乳酸値は、コントロール群より鉄

Table 1

The weight of whole body, inter-scapular brown adipose tissue, and adrenals

	Body weight (g)	BAT (mg)	Adrenals (mg)
100 ppm Fe	215 \pm 8	210 \pm 20	47.6 \pm 3.4
2 ppm Fe	* 183 \pm 9	* 343 \pm 35	40.0 \pm 2.5

Mean \pm SEM. *: $p < 0.05$ by unpaired *t*-test vs. 100 ppm Fe (normal control) group. BAT: Brown adipose tissue. The weight of adrenals is the sum from both sides.

Table 2

Hematological characteristics

	Hb (g/dl)	Hct (%)	RBC ($\times 10^9/\text{mm}^3$)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	LA (mmol/l)
100 ppm Fe	12.8 \pm 0.8	40.9 \pm 1.6	652 \pm 55	59.0 \pm 1.4	20.0 \pm 0.5	34.0 \pm 0.6	2.29 \pm 0.43
2 ppm Fe	3.4 \pm 0.4	14.1 \pm 1.3	305 \pm 29	36.6 \pm 0.8	11.2 \pm 0.5	30.8 \pm 1.8	6.00 \pm 0.33

Mean \pm SEM. ***: $p < 0.001$ by unpaired *t*-test vs. 100 ppm Fe (normal control) group. Hb: Hemoglobin, Hct: Hematocrit, RBC: Red blood cell, MCV: Mean corpuscular volume, MCH: Mean corpuscular hemoglobin, MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration, and LA: Lactate in whole blood.

欠乏群が2.6倍も高かった ($p < 0.001$)。安静時ですら解糖系代謝が亢進していることが示唆される。

貧血の影響は、血液ガスにおいても顕著であった (Table 3)。低い傾向にあったが PO_2 レベルには有意差が認められなかったものの、 O_2 飽和度は鉄欠乏群が有意に低かった ($p < 0.05$)。 PCO_2 ($p < 0.05$) 及び $0.031 \times \text{PCO}_2 + \text{HCO}_3^-$ によって算出された Total CO_2 ($p < 0.001$) も鉄欠乏群の方が有意に低値であった。静脈血中の O_2 飽和度はコントロールより低くても、 PO_2 は critical level を下回るものではなく、 O_2 欠乏が乳酸産生を高めているのではないと言える。似たような結果は、Jobsis と Stainsby (12) によっても報告されている。ところが貧血が強度な場合、静脈血中の CO_2 レベ

Table 3

The characteristics of blood gas

	PO_2 (mmHg)	O_2 Sat (%)	PCO_2 (mmHg)	TCO_2 (mmol/l)	pH	HCO_3^- (mmol/l)	BE (mmol/l)
100 ppm Fe	37.5 \pm 3.4	65.3 \pm 6.3	57.3 \pm 1.7	33.9 \pm 0.3	7.36 \pm 0.02	32.1 \pm 0.3	5.25 \pm 0.60
2 ppm Fe	25.8 \pm 4.5	38.8 \pm 7.4	50.1 \pm 1.9	27.1 \pm 0.9	7.32 \pm 0.01	25.6 \pm 0.9	-0.96 \pm 0.83

Mean \pm SEM. *: $p < 0.05$ and ***: $p < 0.001$ by unpaired *t*-test vs. 100 ppm Fe (normal control) group. PO_2 and PCO_2 : The partial pressure of oxygen and carbon dioxide, O_2 Sat: Oxygen saturation, TCO_2 : Total CO_2 , HCO_3^- : Bicarbonate, and BE: Base excess.

ルが低いことでもわかるように、CO₂運搬能の抑制が起こることはヒトを対象とした我々の以前の研究でも認められている (13)。

静脈血中pHはコントロールより鉄欠乏群が低かった (Table 3, $p < 0.05$)。しかし、上述したようにCO₂レベルは鉄欠乏群が低い訳であるから、pHの低下はCO₂レベルの亢進によるものではない。Bicarbonate及びBase excess値も鉄欠乏により低下しており ($p < 0.001$)、これらに加え乳酸値の上昇がpH低下に大きく関与しているものと思われる。

クレアチンリン酸 (PCr) の相対的値を示すPCr / (PCr + Pi) 比は脳より筋の方が高かった (Fig. 1, $p < 0.001$)。PCr / total ATP比 (ATP: adenosine triphosphate) も筋の方が顕著に高値であった (Fig. 2, $p < 0.001$)。逆にPi / PCr比 (Pi: inorganic phosphate) は筋より脳の方が高かった (Fig. 3, $p < 0.001$)。

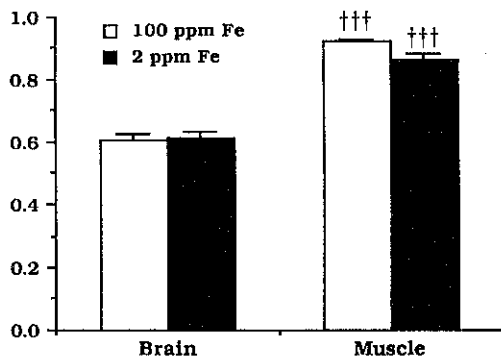


Fig.1 NMRスペクトルより求めたPCr/(PCr+Pi)比。Mean±SEM. †††: $p < 0.001$ vs. Brain by unpaired *t*-test.

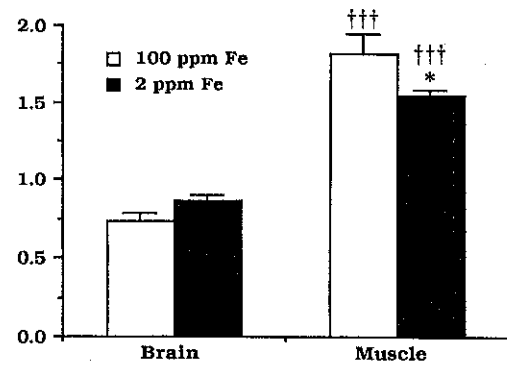


Fig.2 NMRスペクトルより求めたPCr/total ATP比。Mean±SEM. †††: $p < 0.001$ vs. Brain and *: $p < 0.05$ vs. 100 ppm Fe (Normal control) group by unpaired *t*-test.

強度な鉄欠乏性貧血によっても、脳におけるエネルギーリン酸レベルにはほとんど変化がなかった (Fig. 1 - 3)。ところが筋では鉄欠乏群-PCr / total ATPが有意に低く ($p < 0.05$)、PCr / (PCr + Pi) 比もコントロールより低い傾向にあった ($p > 0.05$)。逆にPi / PCr比は鉄欠乏による上昇傾向が認められた ($p > 0.05$)。生化学的に分析した我々の以前の研究では、遅筋であるヒラメ筋ではこのような変化が有意であったが、速筋である足底筋では有意でなかった (14)。鉄欠乏の影響は、速筋

よりも遅筋の方が受けやすいと言える。今回のNMRによる測定は、腓腹筋表層部で実施したため、おそらく腓腹筋における高エネルギーリン酸値を反映していると思われる。腓腹筋も速筋であるため、有意な変化は認められなかったものと思われる。しかし、ヒラメ筋と似たような傾向が認められたということは、遅筋ではより顕著な変化が起きたものと推察される。

NMRスペクトルにおけるPCr及びPiのピーク高を用い、 $1 / (1 + 0.6 \times \text{PCr} / \text{Pi})$ によって求めた V/V_{max} (15, ATP合成速度を示唆する)は脳の方が筋よりも高かった (Fig. 4, $p < 0.001$)。ATPやPCr含有は低いにもかかわらず、脳におけるATP産生又はturnoverが活発であることが示唆される。脳における V/V_{max} は鉄欠乏の影響を受けなかったが、筋では上昇する傾向が見られた ($p > 0.05$)。クレアチンアナログである β -guanidinopropionic acidを経口投与し、ATPやPCr含有が低下したラットの筋では V/V_{max} が上昇するように (16)、強度の鉄欠乏でも骨格筋には似たような反応が起こることが示唆される。ところが鉄欠乏の場合、鉄に依存したミトコンドリア酵素活性が抑制されている (14)。従って、ATP合成は刺激されても、効率よくは進行しないために、 V/V_{max} 値の変化が有意ではないものと推察される。

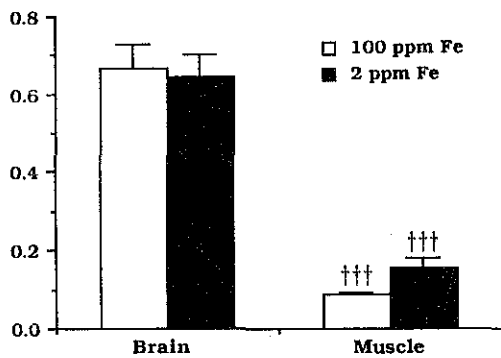


Fig.3 NMRスペクトルより求めたPi/PCr比。Mean±SEM. †††: $p < 0.001$ vs. Brain by unpaired *t*-test.

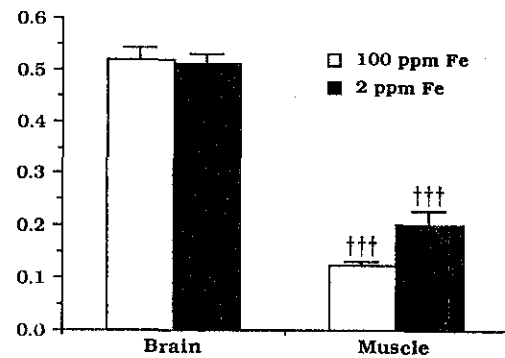


Fig.4 NMRスペクトルより求めた V/V_{max} 。Mean±SEM. †††: $p < 0.001$ vs. Brain by unpaired *t*-test.

まとめ

生後3週齢のラットに約2 mg/kgの鉄を含む餌を8-9週間与えた場合、血中Hb濃度が約3.4 g/dl (コントロール群は約12.8 g/dl) に達する強度の貧血が発生した。

その場合、MCV及びMCHもコントロール群より有意に低値であった。又、静脈血中の安静時O₂飽和度、PCO₂、Total CO₂、pH、Bicarbonate、Base excessもコントロール群よりも有意に低かった。乳酸濃度は逆に高レベルであった。能における高エネルギーリン酸レベルはコントロールと変わらなかったが、骨格筋では減少し、ATP合成は逆に亢進していることが示唆された。骨格筋には、鉄欠乏及び貧血に対しある種の適応が起きているものと思われる。

参考文献

- 1) Davies, K.J.A., C.M. Donovan, C.J. Refino, G.A. Brooks, L. Packer, and P.R. Dallman: Distinguishing effects of anemia and muscle iron deficiency on exercise biogenesis in the rat. Am. J. Physiol. 246 (Endocrinol. Metab. 9): E535-E543, 1984.
- 2) Edgerton, V.R., S.L. Bryant, C.A. Gillespie, and G.W. Gardner: Iron deficiency anemia and physical performance and activity of rats. J. Nutr. 102: 381-399, 1972.
- 3) Edgerton, V.R., Y. Ohira, J. Hettiarachchi, B. Senewiratne, G.W. Gardner, and R.J. Barnard: Elevation of hemoglobin and work tolerance in iron-deficient subjects. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 27: 77-86, 1981.

- 4) Gardner, G.W., V.R. Edgerton, B. Senewiratne, R.J. Barnard, and Y. Ohira: Physical work capacity and metabolic stress in subjects with iron deficiency anemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 30: 910-917, 1977.
- 5) Ohira, Y., V.R. Edgerton, G.W. Gardner, K.A. Gunawardena, B. Senewiratne, and S. Ikawa: Work capacity after iron treatment as a function of hemoglobin and iron deficiency. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 27: 87-96, 1981.
- 6) Ohira, Y., V.R. Edgerton, G.W. Gardner, B. Senewiratne, R.J. Barnard, and D.R. Simpson: Work capacity, heart rate and blood lactate responses to iron treatment. *Brit. J. Haematol.* 41: 365-372, 1979.
- 7) Ohira, Y., B.J. Koziol, V.R. Edgerton, and G.A. Brooks: Oxygen consumption and work capacity in iron-deficient anemic rats. *J. Nutr.* 111: 17-25, 1981.
- 8) Ohira, Y., V.R. Edgerton, G.W. Gardner, B. Senewiratne, and D.R. Simpson: Non-hemoglobin related effects on heart rate in iron deficiency anemia. *Nutr. Rep. Int'l.* 18: 647-651, 1978.

- 9) Beutler, E., S.E. Larsh, and C.W. Gurney: Iron therapy in chronically fatigued, nonanemic women: A double blind study. *Ann. Intern. Med.* 52: 378-394, 1960.
- 10) Weinberg, J.: Behavioral and physiological effects of early iron deficiency in the rat. In "Iron Deficiency : Brain Biochemistry and Behavior", ed. by E. Pollitt and R.L. Leibel. Raven Press, New York, pp. 93-123, 1982.
- 11) Massaro, T.F.: Effect of iron deficiency on learning. In "Iron Deficiency : Brain Biochemistry and Behavior", ed. by E. Pollitt and R.L. Leibel, Raven Press, New York, pp. 125-140, 1982.
- 12) Jöbsis, F.F. and W.N. Stainsby: Oxidation of NADH during contractions of circulated mammalian skeletal muscle. *Resp. Physiol.* 4: 292-300, 1968.
- 13) Ohira, Y., D.R. Simpson, V.R. Edgerton, G.W. Gardner, and B. Senewiratne: Characteristics of blood gas in response to iron treatment and exercise in iron-deficient and anemic subjects. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 29: 129-139, 1983.

- 14) Ohira, Y., L.-J. Cartier, M. Chen, and J.O. Holloszy: Induction of an increase in mitochondrial matrix enzymes in muscle of iron-deficient rats. *Am. J. Physiol.* 253 (Cell Physiol. 22): C639-C644, 1987.
- 15) Chance, B., J.S. Leigh, Jr., J. Kent, K. McCully, S. Nioka, B.J. Clark, J.M. Maris, and T. Graham: Multiple controls of oxidative metabolism in living tissues as studied by phosphorus magnetic response. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 83: 9458-9462, 1986.
- 16) Wakatsuki, T.: Effects of creatine content and/or suspension-unloading on contractile and metabolic properties in rat hindlimb muscles.平成4年度
鹿屋体育大学 修士論文。