

## [6]

|           |  |     |        |
|-----------|--|-----|--------|
| 氏 名 (本籍)  | 五十嵐 香織 (埼玉県)                                 |     |        |
| 学 位       | 博士 (学術)                                      |     |        |
| 学 位 記 番 号 | 博乙第 36 号                                     |     |        |
| 学位授与年月日   | 平成 15 年 3 月 8 日                              |     |        |
| 学位授与の要件   | 学位規則第 5 条第 2 項該当                             |     |        |
| 論 文 題 目   | <b>鉄強化剤としての NaFeEDTA の有効性に関する<br/>栄養学的研究</b> |     |        |
| 論文審査委員    | (主査)   | 教 授 | 木村 修一  |
|           |  | 教 授 | 小此木 成夫 |
|           |  | 教 授 | 戸谷 誠之  |
|           |  | 教 授 | 福場 博保  |
|           | 理化学研究所                                       |     | 榎本 秀一  |

## 論 文 要 旨

## &lt;背景・目的&gt;

鉄欠乏症は、ビタミン A およびヨウ素と並び、世界の三大微量栄養素欠乏症のひとつである。この鉄欠乏症は、乳児、幼児、受胎可能年齢の女性に多く、妊婦における鉄欠乏は、胎児の発達に悪影響を及ぼすので特に注目されている<sup>(1), (2)</sup>。これらの理由から、発展途上国においては、鉄欠乏症は、深刻な社会問題となっている。本研究は、こうした発展途上国、特にベトナムにおける栄養問題の解決を目指して活動している NGO のプロジェクトで課題となっている鉄強化に関する基礎的問題をとりあげ、国際的な栄養問題の解決に資する目的で行われたものである。

発展途上国の多くの国々では、植物性食品が食事の中心となっている。したがって、鉄給源としては吸収率の低い非ヘム鉄が多く、さらに、これらの食品は、鉄の吸収を阻害するフィチン酸やポリフェノールなどの物質を多量に含んでいるので、鉄の吸収効率は著しく低いと考えられる<sup>(3)-(5)</sup>。このことが、発展途上国における鉄欠乏症の発症の主たる原因となっているものと思われる。

鉄欠乏症の予防あるいは回復の手段として、鉄製剤を経口的に投与する方法もあるが、発展途上国のように、多くの対象者に鉄を供給するには、鉄強化食品の利用が効果的であると考えられる。また、日常的に摂取する食品への強化が効果的であることは当然である。このような観点から、ベトナムをターゲットとしたプロジェクトでは、ベトナム人が 1 日平均 20ml 消費している魚醤に鉄を添加し、強化食品として用いることとなった。

我々は、魚醤に添加する鉄強化剤として NaFeEDTA に着目した。NaFeEDTA は、吸収阻害物質の作用を受けにくいという報告もあり、発展途上国においては効果的な鉄強化剤であると考えられるからである<sup>(6)</sup>。しかし、これが果たしてベトナムにおける魚醤への鉄強化剤として適切か否かは不明であり、検討を要する課題である。また、発展途上国での経験から、EDTA

は強いキレート作用を有するため、鉄以外の元素の吸収に影響を及ぼすと考えられる。しかし、NaFeEDTA に関する体系的な研究はほとんどなく、NaFeEDTA 添加食品の実用化のため、栄養学的検討が急務であるといえる。本研究では特に、NaFeEDTA をベトナムにおける鉄強化食品として、応用するための基礎的検討を行った。

## <研究結果および考察>

### 第1章 魚醤の品質に及ぼす各種鉄強化剤の影響

魚醤は、多くの有機化合物を含み、単に鉄強化剤を添加した場合、沈殿物の形成あるいは食味の変質などの問題が生じやすい。そこで、魚醤添加に適した鉄強化剤を選択するため、各種鉄強化剤における魚醤への溶解性および安定性ならびに食味について検討した。実験の結果、NaFeEDTA は、他の鉄強化剤に比べ、魚醤に対して高い溶解性を示し、保存後においても著しい品質の低下は認められなかったことから、魚醤添加に適した強化剤であることが分かった。

### 第2章 各種鉄強化剤による貧血回復効果の検討

植物性食品を主に摂取する場合における NaFeEDTA の貧血回復効果を明らかにするため、貧血ラットを用い、鉄強化剤である硫酸第一鉄、クエン酸第一鉄、および日本で開発された乳化ピロリン酸第二鉄と比較検討した。飼料の基礎構成は、AIN-93 と発展途上国における食生活を参考にした植物性飼料 (rice-based diet) の2種類を用いた。ラットに、NaFeEDTA またはその他の鉄強化剤を添加した飼料を与え、1ヶ月間飼育したところ、ヘモグロビン濃度において、NaFeEDTA を摂取した群は、他の鉄強化剤投与群とほぼ同じ回復を示した。しかし、肝臓中鉄含有量では、AIN-93 に NaFeEDTA を添加した飼料を摂取した群は、硫酸第一鉄を摂取した群に比べ低値であったことに対し、植物性飼料に NaFeEDTA を添加した飼料を摂取した群は、硫酸第一鉄群に比べ差は認められず、クエン酸第一鉄群に比べ高値を示した。このことから、NaFeEDTA は、植物性食品を主に摂取する場合、高い貧血回復効果を有することが示唆された。また、NaFeEDTA は、硫酸第一鉄とほぼ同等の貧血回復効果を有し、その他の鉄強化剤に比べ、高い効果を有することが分かった。しかし、NaFeEDTA は、鉄以外の微量元素の吸収に影響を与える可能性が示唆された。

### 第3章 NaFeEDTA の鉄吸収に対する吸収阻害物質の効果：Cannulation 法による検討

第2章の結果から、植物性食品を主に摂取する場合、NaFeEDTA は高い貧血回復効果を有することが示されたことより、これを確かめるため、NaFeEDTA からの鉄の吸収、および鉄吸収時における阻害物質の作用について、カニュレーション法を用いて、経時的な血清鉄濃度の変化を検討した。カニュレーション手術を施したラットに、NaFeEDTA または対照として硫酸第一鉄を添加した飼料を摂取させ、摂食中にペリスタポンプを用い、胃部カニュレより鉄吸収阻害物質であるタンニン酸を投与した。実験の結果、吸収阻害物質が存在しない場合、NaFeEDTA 投与後の血清鉄濃度は、硫酸第一鉄に比べ低いことが分かった。しかし、飼料摂食中にタンニン酸を含ませた場合、硫酸第一鉄に比べ鉄の吸収率は高く、NaFeEDTA の血清鉄濃度は、ほぼ同

等になることが分かり、NaFeEDTA は、吸収阻害物質が存在する場合、鉄強化剤として優れていることを立証した。

#### 第4章 各種微量元素の経口吸収に対する NaFeEDTA の影響：マルチトレーサー法による検討

第2章で示唆された NaFeEDTA が微量元素の吸収・代謝を阻害する可能性を検討する目的で、多元素同時代謝解析法であるマルチトレーサー法を用いて、NaFeEDTA 投与時の微量元素の動態を検討した。飼料に、NaFeEDTA または対照として硫酸第一鉄を添加してマルチトレーサーを混合し、貧血ラットに摂取させた結果、NaFeEDTA は、セレン、マンガンなど多くの微量元素の臓器への取り込みにおいて、硫酸第一鉄と比べて変化が認められなかったが、いくつかの微量元素の取り込みに対して影響することが分かった。すなわち、NaFeEDTA は、亜鉛およびコバルトの臓器への取り込みを阻害することが分かった。しかし、吸収阻害物質であるタンニン酸が存在する場合における、各元素の取り込みの変化について検討したところ、対照とした硫酸第一鉄を摂取した場合には、亜鉛およびルビジウムの臓器への取り込みが阻害されることが分かった。しかし、NaFeEDTA では、元素の取り込みは阻害されなかった。NaFeEDTA は、種々の微量元素の取り込みにおいて、タンニン酸の阻害作用より保護する働きを有することが示されたことから、吸収阻害物質を多く含む食事においては、むしろ微量元素の吸収に有利であると推測された。

#### 第5章 NaFeEDTA の生体内挙動のメカニズム：NaFeEDTA と吸収阻害物質の相互作用

鉄強化剤としての NaFeEDTA は、食品中の阻害物質の存在下で、元素の吸収に対して保護作用のあることがこれまでの実験で明らかになったが、EDTA も、タンニン酸およびフィチン酸などの吸収阻害物質も、いずれもキレート形成化合物である。従って、NaFeEDTA とその吸収阻害物質の間では、キレート同士の反応における相互作用が想定できる。そこで、NaFeEDTA と鉄吸収阻害物質の共存下における鉄の錯体形成状態を分析検討した。結果より、pH4.8 において、0.1mM NaFeEDTA に対し吸収阻害物質であるフィチン酸 10mM を添加しても、90% 以上の鉄は、EDTA と結合していることが分かった。pH11 においても、フィチン酸と結合している鉄は、数%であることが分かった。EDTA は、フィチン酸に比べ鉄結合能が強いため、消化管から吸収される直前まで、鉄と結合していると推定できた。消化管での吸収の場合、EDTA からどのようなメカニズムで鉄が離れるかについては未だ明らかではないが、ラットを用いた飼育実験、カニュレーション法による実験の結果、および EDTA の代謝から考慮すると、鉄は、スムーズに吸収されていると推定された<sup>(7)</sup>。

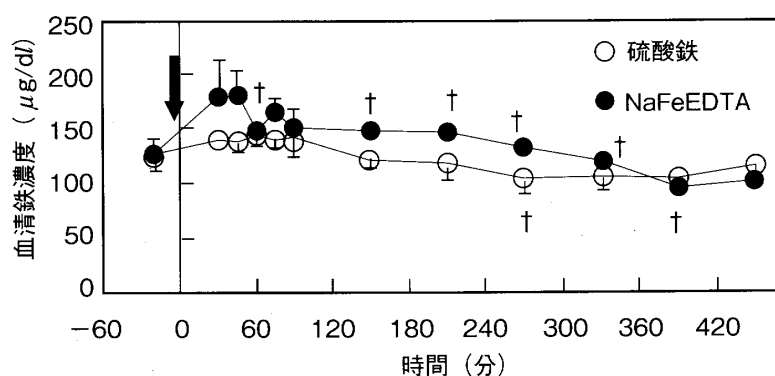
#### <まとめ>

以上のことから、NaFeEDTA は、魚醬への添加に適しており、植物性食品を主に摂取する食生活では、効率の良い貧血回復効果を有していることが分かった。また、EDTA が有するキレート作用は、必須微量元素の吸収にほとんど阻害作用を与えないことが明らかになった。さらに、NaFeEDTA は、吸収阻害物質が存在する場合、その作用から元素の吸収を保護する働きを有す

る可能性が示唆された。NaFeEDTA は、植物性食品を多く摂取している発展途上国の人々における鉄欠乏症の改善に、有効な鉄強化剤であると結論される。

### 第1章 鉄強化剤の魚醤および醤油への溶解性

| 鉄強化剤              | 硫酸第一鉄 |    |      | NaFeEDTA |    |      | クエン酸第一鉄 |    |      | 乳化ピロリン酸<br>第二鉄 |
|-------------------|-------|----|------|----------|----|------|---------|----|------|----------------|
| 添加量<br>(所要量に多する%) | 50    | 25 | 12.5 | 50       | 25 | 12.5 | 50      | 25 | 12.5 | 50             |
| 醤油                | ×     | ×  | ○    | ○        | ○  | ○    | ×       | ×  | ×    | ×              |
| 魚醤 Nha trnag      | ×     | ×  | ○    | ○        | ○  | ○    | ×       | ×  | ×    | ×              |
| 魚醤 Tuonglai       | ×     | ×  | ×    | ○        | ○  | ○    | ○       | ×  | ×    | ×              |
| 魚醤 Hung Thinh     | ×     | ×  | ×    | ○        | ○  | ○    | ○       | ×  | ×    | ×              |



† : タンニン酸投与vsタンニン酸非投与 (p<0.05)

### 第3章 NaFeEDTA または硫酸鉄摂取時における血清鉄濃度の変化 (タンニン酸 2mg 投与)

- (1) 桜井弘, 田中英彦: 生体微量元素, 廣川書店 (1994)
- (2) National Plan of Action for Nutrition 1995-2000, Medical Publishing House HANOI (1995)
- (3) Hallberg L. Annu Rev Nutr. L, 123-147 (1981)
- (4) Hallberg L. Rossander L. and Skanberg A. B. Am. J. Clin. Nutr., 49 988-996 (1987)
- (5) Gillooly M., Bothwell TH. and Torrance JD.: Br. J. Nutr. 49, 331-342 (1983)
- (6) International Nutritional Anemia Consultative Group.: Iron EDTA for food fortification. A report of the International Anemia Consultative Group (1993)
- (7) Candela E et al.: J. Nutr., 114, 2204-2211 (1984)

## 審査報告要旨

鉄欠乏症は、ビタミン A およびヨウ素と並び、世界の三大微量栄養素欠乏症の一つとなっている。とくに妊婦における鉄欠乏は、胎児・乳幼児の脳や身体の発育に深刻な影響をもたらしている。発展途上国では乳幼児および受胎可能年齢の女性の鉄欠乏症が著しく多く、深刻な社会問題となっている。

著者は、こうした発展途上国、特にベトナムにおける栄養問題の解決を目指して活動している

国際的 NGO のプロジェクトで課題となっている鉄強化に関する基礎的問題にとりくみ、その解決に資する目的でこの研究に着手したのである。

一般に発展途上国では、植物性食品が食事の中心となっている。したがって、鉄給源としては吸収率の低い非ヘム鉄が多く、さらに、これらの食品は、鉄の吸収を阻害するフィチン酸やポリフェノールなどの物質を多量に含んでいるので、鉄の吸収効率は著しく低いと考えられている。この研究の開始時のターゲット国がベトナムであったことから、この研究では、このような食事条件下での鉄欠乏症の発症を抑える基本的な方法の検討が中心をなしている。

鉄欠乏症をなくすには、鉄剤を経口的に投与する方法もあるが、より多くの人を対象にするには、日常食に鉄剤を強化することが効果的である。魚醬を一日平均 20ml 摂取するベトナムでは、この食品を強化することが最良であるということで、このプロジェクトでは、鉄強化の対象として魚醬が選ばれることとなった。

本論文は魚醬への NaFeEDTA (エチレンジアミン・テトラアセテート・鉄ナトリウム塩) 強化が鉄欠乏症を防ぐ適切な方法となりうるか否かを基礎研究により示したものと見える。

第 1 章 (魚醬の品質に及ぼす各種鉄強化剤の影響) では、JECFA (JECFA : The Joint Food and Agricultural Organization / World Health Organization Expert Committee on Food Additives.) に栄養強化を目的とした使用が承認された NaFeEDTA およびその他の各種鉄強化剤の魚醬への溶解性、安定性そして味やにおいに及ぼす影響について検討した。その結果、NaFeEDTA は他の鉄強化剤に比べ、魚醬に対して高い溶解性を示し、保存後においても著しい品質の低下は認められず、ベトナムにおける鉄強化剤として適していることが確認された。

第 2 章 (各種鉄強化剤による貧血回復効果の検討) では、植物性食品を主に摂取する場合における NaFeEDTA の貧血回復効果を明らかにするため、通常のミルクカゼインをたんぱく質源とする飼料を対照とし、コメたんぱく質を主にした米粉をベースとした飼料を作成し、両者の食餌条件において、貧血ラットを用い、鉄強化剤として選ばれた NaFeEDTA および他の鉄強化剤による貧血回復効果について比較検討した。その結果、NaFeEDTA は、植物性食品を主に摂取する場合、硫酸第一鉄とほぼ同等の貧血回復効果を有し、その他の鉄強化剤に比べ、高い効果を有することが示された。なお、NaFeEDTA は、そのキレート化合物としての性質から、鉄以外の微量元素の吸収に影響を与える可能性が示唆された。

第 3 章 (NaFeEDTA の鉄吸収に対する吸収阻害物質の影響) では、とくに腸管および血管へのカニュレーション法を用いて阻害物質の影響が検討された。

NaFeEDTA を添加した飼料または対照として硫酸第一鉄を添加した飼料を摂取させ、摂食中にペリスタポンプを用い、胃部カニュレより鉄吸収阻害物質であるタンニン酸を流入させ、血管カニュレから採取した血清鉄濃度を比較検討した。その結果、鉄吸収阻害物質のない条件では、NaFeEDTA の鉄吸収は硫酸第一鉄の鉄吸収に比べ低いのが、食餌中にタンニン酸を含ませた場合は、硫酸第一鉄に比べむしろ高い傾向にあり、NaFeEDTA は吸収阻害物質が存在する場合に鉄強化剤として優れていることを立証した。

第 4 章 (各種微量元素の経口吸収に対する NaFeEDTA の影響) では、NaFeEDTA がキレート作用を有する化合物であることから、微量元素の吸収を阻害する可能性を検討する目的

で、多元素同時代謝解析法であるマルチトレーサー法を用いてその影響を調べた。その結果、NaFeEDTA は、若干の微量元素の臓器への取り込みを阻害することが分かった。しかし、吸収阻害物質であるタンニン酸が存在する場合においては、その作用は微弱となり、硫酸第一鉄で見られたタンニン酸によるある種の微量元素取り込みの阻害も見られなかった。このことから、NaFeEDTA は、種々の元素の取り込みにおいて、植物に多く含まれるタンニン酸などによる吸収阻害作用から保護する働きを有することが分かった。

第5章 (NaFeEDTA の生体内挙動のメカニズム) では、NaFeEDTA と吸収阻害物質の間の相互作用を明らかにするため、単純化モデルを構築して検討を試みた。EDTA も、タンニン酸およびフィチン酸などの吸収阻害物質も、いずれもキレート形成化合物であることから、鉄化合物と吸収阻害物質の同時存在下における鉄の錯体形成状態について分析した。その結果、pH の高低にかかわらず、フィチン酸と EDTA の共存下では大部分の鉄が EDTA 側に結合していることが分かり、EDTA は鉄を阻害剤から保護していることが示された。しかし NaFeEDTA からの腸管への鉄の吸収の実態は本実験から明らかにすることはできず、今後の課題として残された。

以上をまとめて、著者は、NaFeEDTA は植物性食品を多く摂取している発展途上国の人々における鉄欠乏症の改善に、ことに魚醤への鉄強化剤として用いる地域で極めて有効なものであると結論した。

本研究は、現在ベトナムで行われている介入試験の基礎的データとして役立つなど貴重な役割を果たしているだけでなく、栄養学の分野における実践的な進歩に貢献したといえよう。

よって審査委員一同は、本論文の提出者にたいし、学術博士を授与するにふさわしいと結論した。