[農化 第 39 卷, 第 1 号, p.1~4, 1965]

ハムスターにおけるコバルト出納試験*

森 文 平, 蟻川トモ子 (戸板女子短期大学食品栄養化学研究室)

昭和 39 年 6 月 3 日 受 理

緒 言

反芻動物が単胃動物に比較して Co 要求量の高いことは Co 欠乏症の存在することによっても古くから知られている⁽¹⁾. 反芻動物が Co を多量に必要とする理由については, 反芻胃内に多数生棲する微生物の, 活動との関連が指摘されており^(2,3), 山羊の反芻胃内微生物に 1 日必要な Co はおよそ 150 μg と推定され^(4,5), Co 出納試験では摂取した Co の 4~8% は尿中に, 残りの 92~96% は糞へ排泄されることが認められている⁽⁶⁾. 家兎, モルモット⁽⁷⁾, また白ねずみ⁽⁸⁾ などでは, Co 欠乏症を起させようとして成功しなかった例は報告されているが, ハムスターについての Co に関する実験はほとんどみあたらない. ハムスターには前胃と呼ばれる部分があり, そこには反芻動物の第 1 胃と類似の微生物の生棲も認められているが⁽⁹⁾, その他ハムスターは反芻動物と同じように尿素態窒素を利用することができ, ねずみとの比較実験では, 全く尿素利用の状態の異なることが松本によって報告されている⁽¹⁰⁾. また最近では合成飼料によって, パントテン酸欠乏に関する実験も行なわれている⁽¹¹⁾. 著者らはハムスターの Co に対する, 栄養的意義を研究する第 1 段階として, まずその Co 出納量とその割合を知る目的で実験を行い, また Askew ら⁽¹²⁾が羊について行ったのと同じように Co を 1 回限り経口的に与え, その

排泄割合を求めて, その 1 日当り排泄量が正常なレベルにもどるまでの経時的变化を明らかにする目的で実験を行った. 次に吸収された Co の排泄割合, 特にその腸管内への再排泄を明らかにする目的で ^{60}Co を腹腔内に注射してトレーサー実験を行ったので, それらの結果について報告する.

実 験

試験動物及び飼育管理 試験動物の糞及び尿に含有されている Co は極めて微量のため, また 1 回の分析に必要な Co 最少量は著者らの実験では 1 μg である関係上, 糞量及び尿量の多いなるべく大型の試験動物を必要とした. ハムスターは一般に雄より雌の方が大型であるから, 生後およそ 3 か月の成熟したゴールデンハムスターの雌体重 100 g 付近のもの 4 頭を用いた.

飼育は代謝箱⁽¹³⁾に 1 頭ずつ入れて, 糞及び尿を別々に採取し, 分析に供した. なお飼育は温度 $23 \pm 0.5^\circ$, 湿度 $60 \pm 3\%$ に調節された恒温恒湿実験室において行った.

実験飼料 実験飼料は市販のねずみ, ハムスター用粉末飼料を用いた. 一般化学組成及びその Co 含量は第 1 表に示す通りである. なお一般化学組成の分析は常法⁽¹⁴⁾によった.

第 1 表 飼料の一般組成 (%)

水分	粗蛋白質	粗脂肪	粗灰分	粗繊維	可溶無窒素物
8.07	26.19	5.30	7.71	3.96	48.77

飼料の Co 含量 $\left. \begin{array}{l} 36.9 \mu\text{g}/100 \text{ g} \\ 37.2 \mu\text{g}/100 \text{ g} \end{array} \right\} 37.1 \mu\text{g}/100 \text{ g}$

1 日 1 頭当りの Co 摂取量 3.7 μg

* The Blance Test of Cobalt on the Hamster.
By Bunpei MORI and Tomoko ARIKAWA (Laboratory of Food and Nutrition, Toita Women's Junior College)

また飲水の Co については, 毎日 1 回水道水を 1 l 採取してその中から 50 ml を採取し, 20 日間に合計 1 l を濃縮したものについて分析した. その結果 Co は検出されなかった. 従って飲水中の Co は極めて微量であると考えられる.

Co の定量 Co の定量は鳥居のオルソニトロソレゾルシンモノメチルエーテルによる比色定量法⁽¹⁵⁾によった. 本法による飼料及び糞の分析は乾式灰化により, 尿については神立, 森⁽⁶⁾の山羊の尿中 Co 定量方法に準じて湿式灰化法を用いた. なお Co の定量についてはこれが微量元素に属し, それぞれの試料によって添加回収試験を行い, 慎重に分析する必要性が認められているが⁽¹⁶⁾, それぞれの場合添加回収率は飼料及び糞に対して各々 Co 1 μg を添加した場合, 96.2%, 94.6% であり, 尿については 1.43 μg の Co を添加した場合の回収率は 97.7% であった.

出納試験 (1) 1 日当り尿中に排泄される Co は, 極めて微量である. 1 回の分析に必要な Co は 1 μg であるから, 出納試験にあたっては, 3 日間の尿を集めて, その全量について分析を行った. 糞については 1 日 1 回その全量を集め, できるだけ共雑物を除いた後 50° に調節した電気乾燥器を用いて乾燥し, 3 日分を集め乳鉢で十分に粉碎し, 均一に混合した後分析に供した.

試験動物の給飼量については, 市販白ねずみ, ハムスター用粉末飼料を用いる場合, 白ねずみでは 1 日 1 頭当り 15~20 g, ハムスターはその半量でよいといわれているが⁽¹⁷⁾, 著者らは成熟したハムスターに 1 日 1 頭当り 10 g を与え予備実験を行ったところ, 体重変化はほとんど認められなかったので, 飼料は 1 日 1 回午後 4 時に 1 頭当り 10 g を与えた. なお試験動物は全試験期間を通じ, いずれも与えた飼料を完全に摂取した.

本実験に先だち, 10 日間の予備飼育期間をおき, その間, 体重の変化はほとんど認められなかった. 出納試験は 3 日間ずつを区切り, 連続して計 15 日間行った.

出納試験 (2) 試験動物に与えた Co は, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の形で, 1 日 1 頭当り Co として 35 μg を 1 回限り与えた. その方法としては, まず飼料に水溶液の形で散布し, 電気乾燥器により 50° 付近ですばやく乾燥して全量を動物に摂取させるようにした. 給飼時

刻その他は前実験と全く同じである. 糞については実験第 1 日より 4 日間は特に Co の排泄量が多いために, 毎日全量を集め分析した. すなわち全量を灰化し, 塩酸抽出後これを 100 ml に稀釈してその一部を採取して分析した. 尿についても, 最初は比較的多量の Co が排泄されるために, 4 日間だけは特に 2 日間ずつに区切って尿を集めて分析し, それ以後は出納試験 (1) の場合と同様, 3 日間の尿を集めてその全量について分析を行った.

^{60}Co によるトレーサー実験 本実験に限り都合により 3 頭の試験動物に対し, 予備飼育を出納試験 (1) の場合と同様に行った後, 午後 4 時に 1 回限り 0.02 μC の ^{60}Co を, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の形で生理的食塩水 0.1 ml と共に試験動物の腹腔内に注射し, 24 時間おきに糞及び尿を採取し, 糞については直ちに 50° で乾燥し, 乳鉢で粉碎後, 尿については硫酸を加え, 硫酸銅を触媒として加熱分解後⁽¹⁸⁾, それぞれ, その 1 日当り排泄全量について放射能測定用キュベットに移し容量 2 ml とし, ウェルタイプシンチレーションカンウター (科研製 model 100) を用いて全放射能を計測した. なお本計測器を用いての放射能の変化に伴う計測値との関係は, 別に報告済みである⁽¹⁸⁾.

結果及び考察

出納試験 (1) 及び (2) の結果を第 2 表, 第 1 図及び第 2 図に示す.

これらの結果を第 1 表の場合と比較すると, 試験動物は 1 日おおよそ 3.7 μg の Co を摂取したと計算され, そのおおよそ 10~14% が尿中に, 残りのおおよそ 86~90% が糞中に排泄されたことが認められ, 一方総排泄量は 3.7 μg となり, 摂取量 3.7 μg とはほぼ同量でバランスがとれていることが認められた.

ハムスターの Co 排泄割合は尿についてみると, 山羊における⁽⁶⁾ 4~8% に比較しておおよそ 2 倍にあたる.

第 2 表 Co の出納試験 (出納試験 1)
各頭平均による Co 排泄量とその割合 ($\mu\text{g}/\text{日}$)

	糞 (μg)	尿 (μg)	総排泄量 (μg)	全体を 100 とした 場合の糞中割合 (%)	全体を 100 とした 場合の尿中割合 (%)
1	3.25 $\pm$ 0.59	0.42 $\pm$ 0.05	3.67 $\pm$ 0.57	88.2 $\pm$ 2.58	11.8 $\pm$ 2.60
2	3.20 $\pm$ 0.44	0.39 $\pm$ 0.02	3.59 $\pm$ 0.44	89.0 $\pm$ 1.64	11.0 $\pm$ 1.63
3	3.42 $\pm$ 0.19	0.47 $\pm$ 0.03	3.89 $\pm$ 0.27	88.0 $\pm$ 0.81	12.0 $\pm$ 0.81
4	3.10 $\pm$ 0.54	0.49 $\pm$ 0.06	3.59 $\pm$ 0.53	86.0 $\pm$ 2.83	14.0 $\pm$ 2.84
5	3.04 $\pm$ 0.43	0.44 $\pm$ 0.08	3.48 $\pm$ 0.41	87.1 $\pm$ 2.96	12.9 $\pm$ 2.96

(注) 1. 1~3 日, 2. 4~6 日, 3. 7~9 日, 4. 10~12 日, 5. 13~15 日, 各 4 頭平均
± は標準偏差を示す.

第 1 図 塩化コバルト経口投与後の排泄量の変化 (μg)
(出納試験 2)

平均排泄量とは第 2 表に示す試験動物の各個体別の平均値を示す。

飼料にふくまれる Co の吸収利用は、その摂取レベルや与えた飼料の種類、質を考慮にいれて考察しなくてはならないが、先に山羊 (雌) に用いた実験飼料中 Co レベルと^(4,5)、今回のハムスターによるものとを比較すると、ハムスターに与えた飼料の方がおよそ 20% 高い値となる。しかし尿中排泄割合はおよそ 2 倍となるから、この点からは Co 出納に対し雌雄の差はないものと仮定して類推すれば、ややハムスターの方がまさると考えら

れる。また体重 100 g 当りの尿中排泄量をみてもほぼ同様なことが推定できる。

出納試験 (2) の結果について経口実験の場合は、糞の Co は、いずれの場合も Co 投与後 2 日目が最も高く、以後 4 日目にかけて急激に減少し、投与後 5 日間で正常の平均排泄レベルを示し、尿については 1~2 日目に排泄量の増加が認められ、3~4 日目以後はほとんど正常の場合の平均排泄量と等しくなった。

この尿中排泄量の少ないことは、Co が他の反芻動物などで認められている⁽¹⁹⁾のと同様に、比較的吸収されにくい金属であることを示している。第 1 図における尿中 Co 排泄量の増加を吸収量の増加と考えれば、摂取レベルを 10 倍とすれば吸収量はおおよそ 3 倍になったと計算され

る。著者らの実験では、試験動物は実験期間中 1 日だけおおよそ 39 μg の Co を摂取したことになりこれを飼料 10 g と共に与えているから、飼料の Co 含量は 390 $\mu\text{g}/100\text{g}$ と計算され、この程度の Co 含量の飼料は時折報告⁽²⁰⁻²²⁾されているから、特に異常含量とは考えられない。また Askew⁽¹²⁾は羊を用いて摂取レベルをおおよそ 40 倍として実験をしているが、摂取後尿については 5 日目、糞については 5~6 日後に正常なレベルにもどる

第 2 図 注射後の ^{60}Co の排泄割合 (%) (出納試験 2)

ことを認めている。次に ^{60}Co によるトレーサー実験の結果について、第 2 図は全実験期間を通じ排泄された糞及び尿の、全放射能に対する各々毎日排泄される糞及び尿の示す全放射能の百分率とその変化を示している。

まず尿については、注射後 24 時間で全体の 75~80% が排泄された。Comar によれば⁽¹⁹⁾、牛の静脈に ^{60}Co を注射すると注射後 1 時間 15 分で尿中濃度はもっとも高くなり、32 時間後には与えたおおよそ 65% が尿中に排泄されるといわれるから、これよりやや高い値を示したことになる。著者らの結果でも 2 日目からその割合は急激に減少する。4 日目ではほとんど放射能は認められなかった。しかし 5 日目になるといずれも、わずかに ^{60}Co の排泄増加が認められた。このことは組織等に入った Co が再びこの時期に尿中に排泄されたものと推定される。この点についてはさらにコプロファージ（糞食性）を完全に防止する飼育法を採用することにより、またさらに注射する ^{60}Co の量を増加させることによって追究を続ける予定である。次に注射した ^{60}Co のおおよそ 10% が、いずれも糞中にあらわれる。これらは先の Comar⁽¹⁹⁾ の牛の静脈に ^{60}Co を注射した実験でも明らかなように、注射した ^{60}Co のおおよそ 7% が全実験期間を通じ糞中に出て、また、Comar による別の実験でも⁽²³⁾ 胆汁等に比較的多量の ^{60}Co が認められる事実は、飼料中 Co が一度吸収されて胆汁その他ダエキ等に入り、再び腸管を通して排泄されたものと推定される。著者らの結果からこの割合は 1 日最高 4% 付近であることから、先の Co の出納試験の結果を考慮に入れ、尿中に排泄された 1 日当りの Co のおおよそ 0.44 μg から計算して、0.02 μg が一度吸収された後、腸管等に再排泄された Co であると計算される。これらの点についてはハムスターについて体内各部分の Co 分布について実験を行うことによりさらに追究する予定である。

総 括

(1) ハムスター雌を用い Co の出納試験を行った。試験動物は 1 日におおよそ 3.7 μg の Co を摂取し、その中で 86~90% が糞中に、残りは尿中に排泄された。なおこの程度で摂取量と排泄量とはほぼバランスがとれていた。

(2) おおよそ 35 μg の Co を 1 頭当たり 1 回限り経口投与すると、糞中 Co は 2 日目をもっとも多く、5 日目で正常なレベルにもどった。尿中にはっきりした増加のみられるのは、投与後 1~2 日間である。

(3) ^{60}Co のトレーサー実験により 1 度吸収された Co のおおよそ 4% が糞中に出ることをたしかめた。

本研究にあたり種々御指導を賜った東京大学教授神立誠先生、シンチレーションカウンタを使用させていただいた東京大学医学部栄養学教室、実験に便宜を与えられた本学生物科研究室各位に厚く感謝の意を表する。

本研究の要旨は 1962 年 4 月、本学会大会において講演した。

- (1) E. J. Underwood, J. F. Filmer : *Ann. Rev. Biochem.*, **8**, 570 (1939).
- (2) R. A. Cance, E. M. Widdowson : *ibid.*, **13**, 326 (1944).
- (3) D. P. Cuthberston : "J. Hammond's progress in the physiology of Farm animals.", **1**, 155 (1954).
- (4) 神立 誠, 森 文平, 尾崎敏男 : 本誌, **33**, 249 (1959).
- (5) 神立 誠, 森 文平, 尾崎敏男 : 本誌, **35**, 87 (1961).
- (6) 神立 誠, 森 文平, 尾崎敏男 : 生化学, **28**, 571 (1956).
- (7) J. F. Tompson, G. H. Ellis : *J. Nutrition.*, **34**, 121 (1947).
- (8) A. E. H. Houk et al. : *ibid.*, **31**, 609 (1946).
- (9) E. Mangold : "Handbuch der Ernährung und des Stoffwechsels der Landwirtschaftlichen Nutztiere.", **2**, Verlag von Julius Springer, p. 321 (1929).
- (10) T. Matsumoto : *Tohoku J. Agr. Res.*, **1**, 127 (1955).
- (11) N. L. Cohen : *J. Nutrition.*, **80**, 142 (1963).
- (12) H. O. Askew, S. W. Josland : *New Zealand J. Sci. & Tech.*, **18**, 888 (1937).
- (13) 山口迪夫, 神立 誠 : 生化学, **33**, 549 (1961).
- (14) 東京大学農芸化学教室 : 実験農芸化学, 上巻, 朝倉書店, p. 112 (1961).
- (15) 鳥居鉄也 : 日化, **76**, 328 (1956).
- (16) 上坂章次, 中西 登, 福島豊一, 井上 良, 神立 誠, 森 文平 : 日本畜産学会大会講演 (昭 36 年 4 月).
- (17) 東京大学農芸化学教室 : 実験農芸化学, 上巻, 朝倉書店, p. 170 (1961).
- (18) 神立 誠, 森 文平 : 本誌, **38**, 337 (1964).
- (19) C. L. Comar : *J. Nutrition*, **32**, 61 (1946).
- (20) R. S. Young : *Cobalt.*, **150**, 137 (1948).
- (21) G. Fujimoto, G. D. Sherman : *C. A.*, **45**, 2125 (1951).
- (22) 神立 誠, 森 文平 : 本誌, **30**, 100 (1956).
- (23) C. L. Comar : *J. Biol. Chem.*, **170**, 379 (1947).