

原 著

アデニン誘発性慢性腎臓病ラットにおける 血清銅濃度の上昇機序に関する研究

中村博範^{*1} 三宅沙知^{*1} 瀬部真由^{*1}

要 約

慢性腎臓病（CKD）患者では血清銅濃度が上昇することが報告されている。しかしながら、CKDで血清銅濃度が上昇する機序については依然として不明である。血清銅の大部分はセルロプラスミン（CP）の銅に由来することから、血清銅の上昇はCPの変化を反映している可能性がある。そこで、本研究では、アデニン誘発性慢性腎臓病ラットの血清銅とCP濃度を評価した。8週齢の雄性Wister系ラットを、0.25%アデニン添加飼料群（AD群、6匹）と標準飼料群（C群、6匹）の2群に分け、それぞれの飼料を8週間与えた。C群と比較して、AD群は血清クレアチニン、尿素窒素、リン濃度が有意に高く、全血ヘモグロビンが有意に低かった。血清銅とCPはAD群で有意に高く、またC反応性蛋白（CRP）値はAD群で有意に高かった。銅とCPはCRPと正の相関を示した。CPの合成は炎症によって亢進することから、CKDにおける血清銅の上昇は慢性炎症によるCP合成の増加と関連していると考えられた。

1. 緒言

慢性腎臓病（CKD：Chronic Kidney Disease）における腎障害の進行は、透析療法が必要な末期腎不全のリスクを増加させることに加えて、心血管疾患（CVD：Cardio Vascular Disease）の発症と死亡率を上昇させる¹⁾。CKDでのCVDの発症には炎症や酸化ストレス、貧血など様々な要因が関与すると考えられている^{2,3)}。CKDにおいては血清銅濃度が上昇することが報告されており^{4,5)}、血清銅濃度の上昇とCVDの発症との関連も報告されている^{6,7)}。それゆえ、CKDにおいて血清銅濃度を調節できればCVDの予防につながる可能性があるが、CKDで血清銅濃度が上昇する機序は不明である。

血清銅のうち、約95%がセルロプラスミンの銅に由来し、残りがアルブミンなどに結合した銅であることから⁸⁾、血清銅濃度の変化は主にセルロプラスミン濃度の変化を反映すると考えられる。

セルロプラスミンは、肝臓で合成されるたんぱく質で、分子中に6～8つの銅原子を含み⁹⁾、銅輸送に

関わっている。また、血中ではフェロオキシダーゼとして働き、細胞外に出たFe（Ⅱ）をFe（Ⅲ）に酸化し、トランスフェリンによる鉄運搬を助ける役割がある。セルロプラスミンの合成は、銅の供給量によって影響を受ける¹⁰⁾。また、急性期蛋白の1つとして知られており、その合成は炎症によって影響を受けるとされている¹¹⁾。

本研究では、CKDで血清銅濃度が上昇する機序を明らかにするため、アデニン誘発性慢性腎臓病ラットを用いて、血清銅とセルロプラスミン濃度との関係性を評価し、さらに炎症との関連について調べた。

2. 方法

2.1 飼料の作製

飼料は、オリエンタル酵母工業株式会社のMF粉末飼料を用いて作製した。標準飼料は、MF粉末飼料と純水を6対4で合わせ、ペレット状に成型して70℃で10時間乾燥させ作製した。一方のアデニン添

^{*1} 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科
（連絡先）中村博範 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学
E-mail: hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp

加飼料は、MF 粉末飼料にアデニン（富士フィルム和光純薬株式会社）を0.25%添加して標準飼料と同様に作製した。MF 飼料の成分は、100g あたりで、水分7.9g、粗たんぱく質23.1g、粗脂質5.1g、粗灰分5.8g、粗繊維2.8g、可溶性無窒素物55.3g、エネルギー359kcal、カルシウム1.07g、リン0.83g、銅0.78mgと報告されている¹²⁾。

2.2 実験動物及び飼育

実験動物として、日本クレア株式会社から7週齢のWistar系雄性ラットを12匹購入し、標準飼料で1週間予備飼育したあと実験に使用した。飼育は1匹ずつ個別ケージで行った。体重が均等になるように標準飼料群（C群、6匹）、アデニン添加飼料群（AD群、6匹）2群に分けた。AD群は0.25%アデニン添加飼料を自由摂食させ、C群は、AD群の前日の摂取量（6匹の平均）と同量の標準飼料を与えた。水は自由に摂取させた。飼育期間は、8週（56日）間とし、その間の摂食量及び飲水量は、毎日、定時（16時）に測定し記録した。また、体重は、1週間に1回測定した。

飼育環境は、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、明暗サイクル12時間（明期8:00-20:00）であった。

2.3 血液及び臓器の採取

8週（56日）間の飼育後、一晚絶食（18時以降絶食）とし、午前中に血液と臓器を採取した。イソフルラン麻酔下にてラットを開腹し、下大静脈から、採血針ホルダー（ニプロ株式会社）を用いて、凝固剤促進剤入りの真空採血管（テルモ株式会社）と抗凝固剤（EDTA-2Na）入りの真空採血管（テルモ株式会社）に採血した。抗凝固剤を含む血液は、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、血糖値の測定に用いた。凝固促進剤を含む血液は、室温で30分間室温に放置したのち遠心分離（3000rpm、10分間）して血清を分離した。血清はマイクロテストチューブに採取し冷凍保存（ -30°C ）した。臓器は、腎臓、心臓、肝臓、脾臓を採取し、それぞれ湿重量を測定した。

2.4 血中成分の測定

ヘマトクリット値は、ヘマトクリット管（EDTA・2K、東京硝子器械株式会社）に血液を採取し、ヘマトクリット遠心機（久保田商事株式会社）で遠心分離（12000rpm、5分間）して、血球成分の割合を測定した。ヘモグロビン濃度は、測定キット（ヘモグロビンB-テストワコー、富士フィルム和光純薬株式会社）を使用してラウリル硫酸（SLS）法で測定した。

血糖値は、採血直後に自己検査用グルコース測定器（ニプロフリースタイルフリーダムライト、ニプロ株式会社）を用いて血糖センサーに血液を滴下し

て測定した。

血清中のアルブミンと総たんぱく質は、測定キット（A/Gテストワコー、富士フィルム和光純薬株式会社）を用いて、それぞれBCG法（色素結合法）とビウレット法で測定した。クレアチニン（CRN）は、測定キット（ラボアッセイTMクレアチニン、富士フィルム和光純薬株式会社）を用いて、血清をリンタングステン酸溶液で除たんぱく処理し、Jaffe法で測定した。尿素窒素は、血清をトリクロロ酢酸溶液で除たんぱく処理し、上清をジアセチルモノオキシム-チオセミカルバジド法（DAMO-TSC法）¹³⁾により測定した。血清リン及びカルシウム濃度は、それぞれ測定キット（ホスファC-テストワコー、カルシウムE-テストワコー、いずれも富士フィルム和光純薬株式会社）を使用して測定した。

2.5 血清銅濃度の測定

血清中の銅濃度は比色定量法¹⁴⁾で測定した。血清0.2mLに、純水0.2mLと1.0M塩酸0.2mLを加え、混和して温浴（沸騰後火を止めた状態）で2分間加温した。放冷後、20%トリクロロ酢酸を0.2mL加え、混和し30分間放置したあと遠心分離（3000rpm、10分間）した。上清0.6mLと0.2%アスコルビン酸水溶液0.1mLと混和し、バソクプロインジスルホン酸二ナトリウム（同仁化学研究所）発色試薬（0.02g/10mL 2M酢酸ナトリウム溶液）0.3mLを加え混和した。その反応液をマイクロセルに加えて波長485nmで吸光度を測定した。標準液には、市販の銅標準液（Cu1000、富士フィルム和光純薬株式会社）を希釈して使用した。

2.6 血清セルロプラスミン濃度

血清セルロプラスミンは、測定キット（Rat CP（Ceruloplasmin）ELISA Kit、E-EL-R0182、Elabscience社）を使用して免疫学的測定法（ELISA、サンドイッチタイプ）により測定した。

2.7 血清C反応性蛋白質（CRP）

血清CRPは、測定キット（Rat CRP（C-Reactive Protein）ELISA Kit 96T、E-EL-R0506、Elabscience社）を使用し免疫学的測定法（ELISA、サンドイッチタイプ）で測定した。

2.8 肝臓中銅含量の測定

肝臓中銅含量は、肝臓約1gをガラスホモジナイザーに量り入れ、そこに4倍量のリン酸緩衝生理食塩水（pH7.4）を加えてホモジネートを調製した。次に、栓付きガラス試験管に、ホモジネート4.0mLと1M塩酸2.0mLを加えて攪拌し、栓をして湯浴中で3分間加温した。放冷後、20%トリクロロ酢酸2.0mLを加えて攪拌し、遠心分離（3000rpm、10

分間)して上清を回収し、測定に使用した。銅濃度は、血清銅と同様の方法で測定し、上清の吸光度の影響を除くため、発色させた上清の吸光度から、上清のみの吸光度をブランクとして差し引いて算出した。

2.9 統計分析

統計分析は、統計解析ソフト R の R コマンダー (Rcmdr パッケージ) を用いて行った。数値は、平均値 ± 標準誤差で示した。2群間の差の検定は、対応のない t 検定で行った。相関関係は、ピアソンの積率相関関係を用いて分析した。いずれの統計処理も、有意水準は5%未満 ($p < 0.05$) とした。

3. 結果

3.1 体重、摂食量、飲水量

表1に飼育期間中の体重変化を示した。各飼料条件で8週間飼育し、前半の4週は体重が有意に増加したが、後半の4週は体重の増加はなかった。終了時体重は、AD 群が低い傾向にあったが両群間での有意な差はなかった。

表2に飼育期間中の摂食量と飲水量を示した。摂食量は、AD 群では前半と比較して後半は有意な減

少となった。C 群は AD 群の摂食量に合わせたため、AD 群と同様に後半は有意な減少となった。C 群と AD 群の期間中の摂食量は両群間での差はなかった。一方、飲水量は、AD 群が C 群と比較して、前半、後半ともに有意に高値であった。C 群は前半と比較して後半で有意に低下したのに対し、AD 群は前半と比較して後半で有意な増加がみられた。

3.2 臓器重量

表3に各群の臓器湿重量(g)を示した。腎臓、心臓、脾臓は AD 群が C 群と比較して有意に高値であった。一方、肝臓は AD 群が有意に低値であった。

3.3 血中成分

表4に各群の血中成分の比較を示した。クレアチニン、尿素窒素、C 反応性蛋白、リンは AD 群が C 群と比較して有意に高値であった。ヘマトクリット、ヘモグロビンは AD 群が C 群と比較して有意に低値であった。アルブミン、総たんぱく質、カルシウムは AD 群と C 群で差はなかった。血糖値は AD 群が C 群と比較して高い傾向にあった。

3.4 血清銅およびセルロプラスミン濃度

図1と図2にそれぞれ血清銅、セルロプラスミン濃

表1 飼育期間中の体重変化

		C	AD
開始時	(g)	235 ± 2	235 ± 2
4週終了時	(g)	329 ± 4 #	328 ± 8 #
8週終了時	(g)	320 ± 1 #	304 ± 4 #

値は、各群6匹の平均値 ± 標準誤差を示す。

a) 平均体重が同じになるように2群に分けて飼育を開始した。

開始時体重と比較して有意差あり ($p < 0.05$)

いずれも2群間で有意差はなかった。

表2 飼育期間中の摂食量及び飲水量

		C	AD
摂食量 ^{a)}	前半 (28日)	562 ± 0	576 ± 18
	(g) 後半 (28日)	433 ± 0 #	453 ± 33 #
	全期 (56日)	995 ± 1	1029 ± 47
飲水量 ^{b)}	前半 (28日)	776 ± 42	1504 ± 66 *
	(mL) 後半 (28日)	633 ± 17 #	1716 ± 53 * #
	全期 (56日)	1409 ± 56	3220 ± 86 *

値は、各群6匹の平均値 ± 標準誤差を示す。

a) AD群は0.25%アデニン添加飼料を自由摂取とし、C群はAD群の平均摂食量に合わせて標準飼料を与えた。

b) 両群とも飲水は自由摂取とした。

* C群と比較して有意差あり ($p < 0.05$)

前半と比較して有意差あり ($p < 0.05$)

表3 臓器湿重量の比較

		C	AD
腎臓	(g)	2.12 ± 0.07	4.44 ± 0.25 *
心臓	(g)	0.99 ± 0.02	1.24 ± 0.03 *
肝臓	(g)	10.53 ± 0.17	9.4 ± 0.28 *
脾臓	(g)	0.70 ± 0.02	0.89 ± 0.04 *

値は、各群6匹の平均値±標準誤差を示す。

*C群と比較して有意差あり (p<0.05)

表4 血中成分の比較

		C	AD
血糖値	(mg/dL)	103.0 ± 18.0	155 ± 16
ヘマトクリット	(%)	44.0 ± 0.9	23.7 ± 1.2 *
ヘモグロビン	(g/dL)	16.0 ± 0.3	9.6 ± 0.4 *
アルブミン	(g/dL)	3.9 ± 0.1	3.7 ± 0.1
総たんぱく質	(g/dL)	7.3 ± 0.1	6.6 ± 0.3
クレアチニン	(mg/dL)	0.46 ± 0.01	3.78 ± 0.45 *
尿素窒素	(mg/dL)	12.1 ± 0.6	170 ± 20.5 *
C反応性蛋白	(mg/dL)	0.65 ± 0.05	1.53 ± 0.07 *
リン	(mg/dL)	7.8 ± 0.5	12.0 ± 0.8 *
カルシウム	(mg/dL)	10.9 ± 0.4	10.8 ± 0.1

値は、各群6匹の平均値±標準誤差を示す。

*C群と比較して有意差あり (p<0.05)

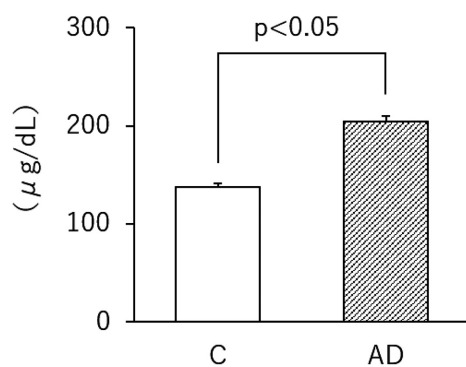


図1 血清銅濃度の比較

バーは各群6匹の平均値, 誤差線は標準誤差を示す。

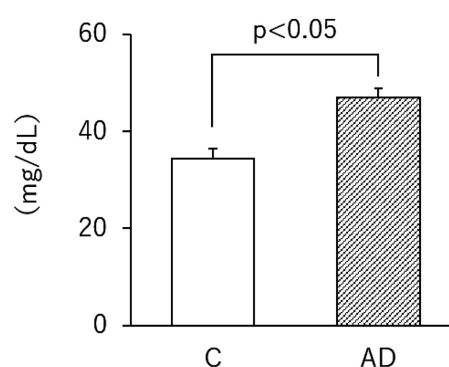


図2 血清セルロプラスミン濃度の比較

バーは各群6匹の平均値, 誤差線は標準誤差を示す。

度の結果を示した。血清銅とセルロプラスミンはいずれもAD群がC群より有意に高値であった。

3.5 肝臓中銅含量

図3に肝臓中銅含量を示した。AD群とC群に差はなかった。

3.6 相関分析

表5に相関分析により得られた相関係数を示した。

血清銅とセルロプラスミンは有意な正の相関があった。また血清銅とセルロプラスミンはクレアチニン, CRPと有意な正の相関があり, ヘモグロビンとの間には有意な負の相関があった。

図4に血清銅とセルロプラスミン, 図5にC反応性蛋白とセルロプラスミンの相関図を示した。いずれも有意な相関が認められた。

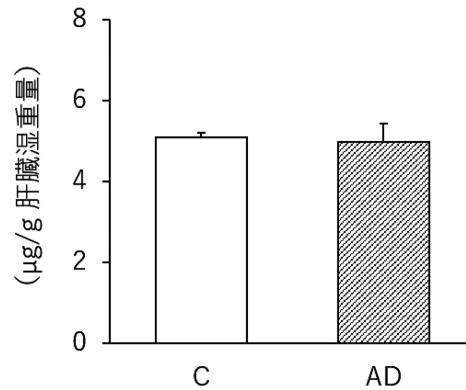


図3 肝臓中銅含量の比較

バーは各群6匹の平均値，誤差線は標準誤差を示す。

表5 相関分析

		Cu	CP	CRN	CRP	Hb
血清銅	Cu	—				
セルロプラスミン	CP	0.763*	—			
クレアチニン	CRN	0.878*	0.755*	—		
C反応性蛋白	CRP	0.895*	0.763*	0.916*	—	
ヘモグロビン	Hb	-0.856*	-0.878*	-0.872*	-0.899*	—

C群とAD群の12匹で相関分析した際の相関係数を示した

* $p < 0.05$

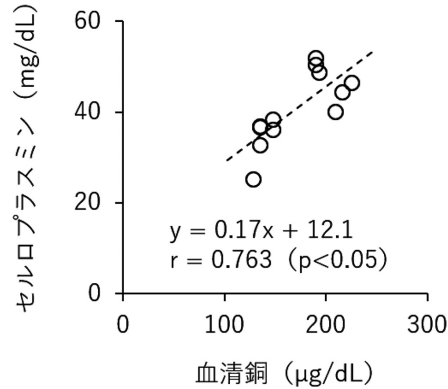


図4 血清銅とセルロプラスミンの関係

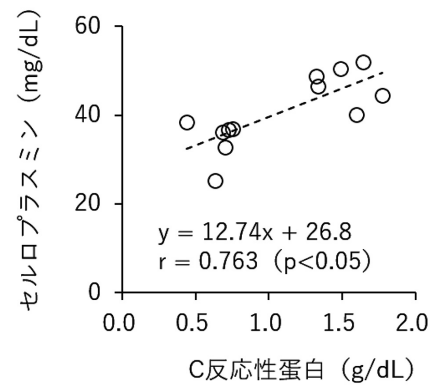


図5 C反応性蛋白とセルロプラスミンの関係

4. 考察

4.1 アデニン誘発性慢性腎臓病モデルラットの栄養状態と腎機能の評価

アデニン誘発性慢性腎臓病モデルラットは、腎不全モデルラットとして1986年に横澤らによって報告された¹⁵⁾。このモデルラットは外科手術を必要とせずに作製できることから腎臓病の研究に広く用いられている。通常、このモデルラットの作製は0.75%アデニン添加飼料が用いられるが、この条件では、摂食量が急激に低下し、それにともない体重減少が

生じること¹⁶⁾、また血漿アルブミン濃度が有意に低下することが報告¹⁷⁾され、腎機能低下だけでなく栄養不良になることが問題であった。著者らは、ラットを0.25%アデニン添加飼料で4週間飼育した結果、標準飼料の自由摂食での摂食量と比較して、0.25%添加飼料では摂食量が8割程度に減少するものの、体重は飼育開始時の体重の1.5倍に増加することを確認した¹⁸⁾。そのため、本研究においても0.25%アデニン添加飼料を用いて検討を行った。

0.25%アデニン添加飼料でラットを8週間飼育し、

前半4週間は体重増加がみられたが、後半4週間は体重の増加はなく、また前半と比較して摂食量の低下がみられた。摂食量の低下が腎機能の低下によるものかは不明であるが、体重及びアルブミンは維持されており、0.25%アデニン添加飼料では、0.75%アデニン添加飼料を用いた実験で報告されているような摂食量の急激な減少や体重減少はなく栄養状態の悪化はなかった。

AD群では腎機能障害の指標となる血清クレアチニン、尿素窒素、リンが異常な高値を示し、ヘマトクリット値とヘモグロビンの値は貧血を示す低値となっていた。また、多飲多尿がみられ尿濃縮力が低下していた。慢性腎臓病の病期のステージ4では、糸球体の濾過機能の低下による血中クレアチニン、尿素窒素の上昇、赤血球合成能の低下による貧血、尿濃縮力障害による多尿などの腎機能の低下が認められること¹⁹⁾から、AD群は慢性腎臓病の病期としてはステージ4に相当すると考えられた。

4.2 血清銅とセルロプラスミン濃度の評価

血清銅とセルロプラスミン濃度は、AD群がC群より有意に高値を示し、また、血清銅とセルロプラスミンに有意な相関がみられた。

セルロプラスミンは、肝臓で合成される銅輸送たんぱく質で、その合成は銅の供給¹⁰⁾や炎症¹¹⁾によって影響を受けると考えられる。

まず、摂食による銅の供給については両群で飼料中の銅含量と摂食量を統一したため、銅供給量に差はなかったと考えられる。また、肝臓には飼料からの外因性の銅に加え、赤血球の分解により生じる内因性の銅も供給される可能性がある。慢性腎臓病では赤血球合成が低下する一方で、赤血球の寿命短縮によって赤血球分解が亢進する。本研究でも脾臓の湿重量がAD群で高かったことから、赤血球の分解が亢進していたと考えられる。脾静脈は門脈につながっており、分解で生じた銅は肝臓に流入する。本研究では、肝臓中銅含量に差はなかったが、内因性の銅の供給増加が、セルロプラスミンの合成に影響

する可能性は考えられる。

次に、セルロプラスミンはCRPと同様に急性期反応蛋白質として知られており、炎症性疾患で増加する。CKDではCRPや炎症性サイトカインが高く、血清セルロプラスミンと相関する^{20,21)}という報告がある。本研究においても、セルロプラスミン濃度とCRPに有意な正の相関がみられたことから、CKDでの炎症を反映してセルロプラスミン合成が増加した可能性がある。

その他の要因として、銅の体外排泄の影響が考えられるが、腎臓から尿中へ排泄される銅の量はわずかで²²⁾、銅は主に胆汁を通じて腸管へ排泄される。したがって、尿中への銅排泄の低下が血清銅やセルロプラスミン濃度の上昇に影響した可能性は低いと考えられる。

銅は、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)やリシルオキシダーゼ、シトクロムCオキシダーゼなどの成分として、抗酸化作用やたんぱく質の架橋形成、エネルギー産生など多方面で機能を果たしている²³⁾。一方で、銅は、抗酸化に関わるシステインなどのチオール化合物の酸化触媒となる²⁴⁾ほか、過酸化水素やヒドロキシラジカルなどの活性酸素種の生成促進や酸化LDLの生成、血管拡張物質である一酸化窒素(NO)の酸化に関与すると考えられており²⁵⁾、銅はこれらの作用を介して動脈硬化の発症に関与する可能性がある。

本研究で、アデニン誘発性慢性腎臓病ラットにおいて、ヒトと同様に血清銅濃度が上昇し、その原因が炎症によるセルロプラスミン合成の増加と関連することが示唆された。今後、この動物モデルを用いて、血清銅とCVDとの関連性を解明をしていきたい。

5. 結論

慢性腎臓病における血清銅濃度の上昇は、慢性炎症によるセルロプラスミンの合成の増加と関連していると考えられた。

倫理的配慮

本研究は、川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認(承認番号:22-006)を得て行った。

謝 辞

本研究は、令和3年度川崎医療福祉大学医療福祉研究費の助成を受け実施した。

利益相反

本研究で開示すべき利益相反(COI)関係にある企業等はない。

文 献

- 1) 二宮利治：慢性腎臓病と心血管病の関係。日本循環器病予防学会誌, 57(1), 20-34, 2022.
- 2) 伊藤貞嘉：CKDと心血管病の関連機序。心臓, 41(7), 733-738, 2009.
- 3) Jankowski J, Floege J, Fliser D, Böhm M and Marx N : Cardiovascular disease in chronic kidney disease: Pathophysiological insights and therapeutic options. *Circulation*, 143(11), 1157-1172, 2021.
- 4) Sondheimer JH, Mahajan SK, Rye DL, Abu-Hamdan DK, Migdal SD, Prasad AS and McDonald FD : Elevated plasma copper in chronic renal failure. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 47(5), 896-899, 1988.
- 5) Navarro-Alarcon M, Reyes-Pérez A, Lopez-Garcia H, Palomares-Bayo M, Olalla-Herrera M and Lopez-Martinez MC : Longitudinal study of serum zinc and copper levels in hemodialysis patients and their relation to biochemical markers. *Biological Trace Element Research*, 113, 209-222, 2006.
- 6) Palaniswamy S, Piltonen T, Koironen M, Mazej D, Jarvelin MR, Abass K, Rautio A and Sebert S : The association between blood copper concentration and biomarkers related to cardiovascular disease risk-analysis of 206 individuals in the Northern Finland Birth Cohort 1966. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 51, 12-18, 2019.
- 7) Huang L, Shen R, Yu J and Rong H : Association between serum copper and heart failure: A meta-analysis. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 28(4), 761-769, 2019.
- 8) Manto M : Abnormal copper homeostasis: Mechanisms and roles in neurodegeneration. *Toxics*, 2(2), 327-345, 2014.
- 9) 宮沢光瑞, 大津信博：セルロプラスミン(Cp)。臨床検査, 34(11), 1555-1558, 1990.
- 10) 齊藤昇：銅代謝と加齢。 *Biomedical Research on Trace Elements*, 20(1), 3-18, 2009.
- 11) Panichi V, Taccola D, Rizza GM, Consani C, Migliori M, Filippi C, Paoletti S, Sidoti A, Borracelli D, Panicucci E and Giovannini L : Ceruloplasmin and acute phase protein levels are associated with cardiovascular disease in chronic dialysis patients. *Journal of Nephrology*, 17(5), 715-720, 2004.
- 12) オリエンタル酵母工業株式会社：主要成分一覧。 <https://www.oyc.co.jp/bio/LAD-equipment/LAD/ingredient.html>, 2023. (2023.9.1確認)
- 13) Rahmatullah M and Boyde TR : Improvements in the determination of urea using diacetyl monoxime: Methods with and without deproteinization. *Clinica Chimica Acta*, 107, 3-9, 1980.
- 14) 株式会社同仁化学研究所：比色試薬／金属指示薬。 <https://www.dojindo.co.jp/products/B002/>, 2023. (2023.9.1確認)
- 15) Yokozawa T, Zheng PD, Oura H and Koizumi F : Animal model of adenine-induced chronic renal failure in rats. *Nephron*, 44, 230-234, 1986.
- 16) Diwan V, Brown L and Guberats GC : Adenine-induced chronic kidney disease in rats. *Nephrology*, 23(1), 5-11, 2018.
- 17) Yokozawa T, Yasui T, Ishii S and Oura H : Decrease in the level of albumin mRNA with progression of renal failure in rats. 日本腎臓病学会誌, 36(4), 317-321, 1994.
- 18) 中村博範, 三宅沙知：アデニン誘発性慢性腎臓病モデルラットにおける血漿アルブミンの酸化還元状態の評価。川崎医療福祉学会誌, 31(1), 139-149, 2021.
- 19) 富野康日己：慢性腎不全の病態と治療。日本内科学会雑誌, 99(9), 2068-2079, 2010.
- 20) Kennedy DJ, Fan Y, Wu Y, Pepoy M, Hazen SL and Tang WW : Plasma ceruloplasmin, a regulator of nitric oxide activity, and incident cardiovascular risk in patients with CKD. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 9(3), 462-467, 2014.
- 21) Panichi V, Taccola D, Rizza GM, Consani C, Migliori M, Filippi C, Paoletti S, Sidoti A, Borracelli D, ...Giovannini L : Ceruloplasmin and acute phase protein levels are associated with cardiovascular disease in chronic dialysis patients. *Journal of Nephrology*, 17(5), 715-720, 2004.
- 22) Pawlak K, Pawlak D and Mysliwiec M : Cu/Zn superoxide dismutase plasma levels as a new useful clinical biomarker of oxidative stress in patients with end-stage renal disease. *Clinical Biochemistry*, 38(8), 700-705, 2005.
- 23) 岡部雅史, 蔵崎正明, 齋藤健：「銅」研究の最前線。ビタミン, 75(12), 557-563, 2001.
- 24) Hanaki A and Kamide H : The Copper-catalyzed autoxidation of cysteine. The amount of hydrogen peroxide produced under various conditions and the stoichiometry of the reaction. *Bulletin of the Chemical Society of*

Japan, 56, 2065-2068, 1983.

- 25) Bagheri B, Akbari N, Tabiban S, Habibi V and Mokhberi V : Serum Level of copper in patients with coronary artery disease. *Nigerian Medical Journal*, 56(1), 39-42, 2015.

(2024年11月12日受理)

Study on the Mechanism of Elevated Serum Copper Levels in Rats with Adenine-induced Chronic Kidney Disease

Hironori NAKAMURA, Sachi MIYAKE and Mayu SEBE

(Accepted Nov. 12, 2024)

Key words : copper, ceruloplasmin, chronic kidney disease, rat, adenine

Abstract

Serum copper levels have been reported to be elevated in patients with chronic kidney disease (CKD). However, the mechanism of elevated serum copper concentrations in CKD is not yet clear. Since most of the copper in serum is derived from copper in ceruloplasmin (CP), elevated serum copper levels may reflect changes in CP. In this study, serum copper and CP levels were evaluated in adenine-induced chronic kidney disease rats. Eight-week-old male Wistar rats were divided into two groups: a 0.25 % adenine supplemented diet group (AD group, 6 rats) and a standard diet group (C group, 6 rats), and each diet was fed for 8 weeks. Compared with group C, the AD group had significantly higher serum creatinine, urea nitrogen, and phosphorus concentrations, and significantly lower whole blood hemoglobin. Serum copper and CP were significantly higher in the AD group, and C-reactive protein (CRP) levels were also significantly higher in the AD group. Copper and CP showed a positive correlation with CRP. Since CP synthesis is enhanced by inflammation, the increase in serum copper in CKD was thought to be due to the increase in CP associated with inflammation.

Correspondence to : Hironori NAKAMURA

Department of Clinical Nutrition

Faculty of Health Science and Technology

Kawasaki University of Medical Welfare

288 Matsushima, Kurashiki, 701-0193, Japan

E-mail : hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp

(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.34, No.2, 2025 237 – 244)