

経産ラットの血清, 腎臓および大腿骨のカルシウム量 に及ぼす飼料中たんぱく質の質と量の影響

阿左美章治 平塚静子

Effect of Amount and Quality of Dietary Protein on Calcium Contents of Serum, kidney and Femur in Multiparous Rat

SHOJI AZAMI and SIZUKO HIRATSUKA

タンパク質摂取量の増加が尿中カルシウム(以下 Ca と略す)排泄量の増加をもたらすことは Sherman¹²⁾の報告が最初であり, その後タンパク質とミネラル代謝に関する研究が数多く発表されている。Johnson¹⁰⁾や Schuette¹¹⁾らはタンパク質の過剰摂取は Ca 出納を負にするとして報告し, Allen¹⁾や Hegsted⁹⁾は尿中 Ca 量は増加しないと報告している。ヒトとラット, 性差, 加齢および飼料中タンパク質の質と量の違いなど実験条件においてこれらの報告とは同一視しえない部分があるものの経産ラットを用いた著者らの実験では 40%カゼイン食投与で Ca 尿中排泄率が他群に比して有意に高値を示し, 加齢と共に Ca 体内保留率が低下する結果³⁾を得ている。

加齢に伴う腎臓での Ca 再吸収能の低下は Ca の体内保留量, 血液中濃度および骨組織における骨形成や骨吸収に相互的に影響を及ぼし合うと考えられる。

このことは近年, 食生活の欧風化に伴い摂取タンパク質とりわけ動物性タンパク質の摂取量が増加傾向にあることや日本人の高年令化, 骨粗鬆症を考える時の重要因子となりうるであろう。

そこで本報ではタンパク質の質と量を変えた飼料を経産ラットに与えた実験のうち Ca, リン(同 P と略す), マグネシウム(同 Mg と

略す)の尿中排泄量や体内保留率と血液, 腎臓, 骨の Ca, P および Mg 含有量との相互関係について報告する。

実験方法

1. 実験動物と飼育条件

被験動物および飼育条件, 飼育期間は既報²⁾のとおりであるが表 1 に飼料組成を, 表 2 に飼料中 Ca, P および Mg 量を示した。また飼料投与 4 群すなわち 20%カゼイン食群(以下 C-20 と略す), 40%カゼイン食群(同 C-40), 20%分離大豆タンパク質食群(同 S-20) および 40%分離大豆タンパク質食群(同 S-40)の他に飼育開始時の経産ラットの血液, 腎臓および骨中の Ca, P, Mg 含有量を知るための一群(同 cont)を参考までに用意した。

2. 試料の処理方法

飼育終了後に 12 時間の絶食をさせエーテル麻酔下にて心臓採血によりラットを殺し, 腎臓および右側の大腿骨を代表骨として摘出した。

血清は採血液を遠心分離(3000 rpm 15 分間)し分析に供し, 大腿骨は湿, 乾燥重量測定後, クロロホルム(2容):メチルアルコール(1容)混液に 24 時間浸漬させさらにエチルエーテル(1容):エチルアルコール(1容)混液に 72 時間浸漬し脱脂⁴⁾した。次いで脱脂骨を混酸(20% HCl 1

容：20% HNO₃ 1容) 4 ml にて溶解後アルミブロックバスにて乾固し、さらにこれを 400°C で灰化 (2 回繰返す) したのち灰分を少量の 0.5 NHCl にて溶かした。この溶液を沸騰水中で 20 分加熱後 0.5 NHCl にて 100 ml に定

容したもの进行分析に供した。腎臓 (1 個) は 5 ml の混酸 (HNO₃ 1 容 : HClO₄ 1 容) を加え湿式分解し 230°C で乾固後少量の 0.5 NHCl にて 20 ml に定容したものを分析に供した。

表 1 飼料組成

	(g/100g)			
	20%カゼイン食 (C-20)	40%カゼイン食 (C-40)	20%分離大豆 たんぱく質食 (S-20)	40%分離大豆 たんぱく質食 (S-40)
カゼイン	20.0	40.0	0.0	0.0
大豆たんぱく質 ¹⁾	0.0	0.0	20.0	40.0
DL-メチオニン	0.3	0.3	0.3	0.3
α-コーンスターチ	65.0	45.0	65.0	45.0
セルロースパウダー	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆油	5.0	5.0	5.0	5.0
塩混合物 ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
ビタミン混合物 ³⁾	1.0	1.0	1.0	1.0
重酒石酸コリン	0.2	0.2	0.2	0.2
	100.0	100.0	100.0	100.0

- 1) 分離大豆たんぱく質：フジプロ R (不二精油(株))
 2) AIN-76 塩類混合物
 3) AIN-76 ビタミン混合物 } J. Nutr. 107, 1340(1977)

表 2 飼料中の Ca, P, Mg 量

	(mg/100g)			
	C-20	C-40	S-20	S-40
Ca	429.8 ± 2.5*	434.9 ± 2.3	437.9 ± 2.6	449.2 ± 4.7
P	444.7 ± 3.8	586.4 ± 8.5	475.3 ± 6.5	627.0 ± 2.8
Mg	59.5 ± 1.9	63.3 ± 0.8	76.8 ± 0.8	93.2 ± 0.6

* 平均値 ± 標準誤差

3. 分析方法

分析供試液中の Ca, P, Mg の測定には次の方法を採用した。

Ca—OCPC 法⁵⁾ (血清), 原子吸光法¹⁴⁾ (大腿骨, 腎臓)。

P—Tausky 法¹³⁾ (血清), Gomori 法⁷⁾ (大腿骨, 腎臓)。

Mg—キシリジルブルー法¹⁵⁾ (血清), 原子吸光法 (大腿骨, 腎臓)

4. 結果の統計処理

結果の比較は統計学的手法によった。すなわち, 比較すべき数値の等分散性を検定の後, t 検定によって有意差を判定した。また, 等分散

性を示さなかったものについてはウエルチの t 検定によって有意差を判定した。なお危険率は 5% とした。

結 果

1. Ca, P, Mg の摂取量

表 3 に初体重 (生後 5 ヶ月令), 終体重 (生後 9 ヶ月令) および飼育期間中の日平均飼料摂取量とこれに含まれる Ca, P, Mg 量を示した。

体重についてみると初体重, 終体重において群間に差を認めず飼料総摂取量においても差は認められなかった。

表3 体重と飼料摂取量

	初 体 重 _g	終 体 重 _g	g/日	日平均飼料摂取量中のミネラル含有量 mg/日		
				Ca	P	Mg
C-20	230.5±4.0*	243.3±3.4	9.6±0.1	41.1±0.4	43.5±0.4	5.6±0.1
C-40	230.5±3.9	243.3±2.5	9.5±0.1	41.1±0.6	55.6±0.8	6.0±0.1
S-20	230.7±3.4	243.7±4.9	9.9±0.1	43.3±0.6	47.0±0.6	7.6±0.1
S-40	230.7±3.5	248.7±5.4	9.7±0.2	43.5±1.0	60.7±1.4	9.0±0.2

* 平均値±標準誤差

2. 血清のCa, P, Mg濃度

血清のCa, P, Mgの測定値を表4に示した。Ca濃度はS-20, S-40が高値を示したものの差はみられずP濃度は有意にC-20>S-40=S-20=C-40の関係がみられた。血清Mg濃度

表4 血清中Ca, P, Mg濃度

	Ca(mg/dl)	P(mg/dl)	Mg(mg/dl)
cont	10.0±0.2*	4.2±0.1	1.8±0.07
C-20	9.0±0.3	4.2±0.1	1.8±0.04
C-40	8.3±0.3	3.6±0.1	1.7±0.01
S-20	9.2±0.4	3.7±0.1	1.7±0.02
S-40	9.5±0.6	3.8±0.1	1.7±0.01

* 平均値±標準誤差

においてはS-20, S-40が高値を示した。またC-40はCa, P, Mg量のいずれにおいても4群中で低値を示した。

3. 大腿骨のCa, P, Mg量

大腿骨の重量, 比体重および骨中のCa, P, Mg量, Ca/P比を表5に示した。

湿骨重量, 脱脂骨重量, 骨中灰分量については分離大豆タンパク質群が重い傾向にあるが群間に差はみとめられなかった。また脱脂骨の比体重においても同様であった。骨中のCa, P, Mg量は総量において群間に有意の差は認められず, 骨1g当りの含有量については一定の傾向がみられなかった。

表5 大腿骨中のCa, P, Mg量

	cont	C-20	C-40	S-20	S-40	
湿骨重量 mg	501.5±8.0*	520.2±9.2	529.0±13.8	551.8±15.2	559.2±15.3	
脱脂骨重量 mg	337.3±3.6	352.2±7.9	352.3±8.2	360.0±9.1	363.8±10.0	
脱脂骨比体重 mg	146.4±1.9	144.9±3.8	144.9±4.1	147.8±3.8	146.4±3.8	
灰分量 mg	246.3±1.2	252.5±6.4	252.3±6.3	269.0±12.4	262.3±9.2	
Ca	総量 mg	84.4±1.2	83.1±2.3	83.3±1.9	86.3±2.4	84.4±2.2
	mg/脱脂骨1g	250.3±2.7	236.0±2.2	236.4±1.4	239.8±1.9	232.2±0.6
P	総量 mg	35.7±0.6	38.2±0.7	37.5±0.8	37.6±0.7	38.5±1.1
	mg/脱脂骨1g	105.8±1.2	107.0±1.2	106.4±1.5	104.7±2.3	105.8±1.5
Mg	総量 mg	1.5±0.04	1.9±0.03	1.8±0.03	1.9±0.04	1.9±0.04
	mg/脱脂骨1g	4.4±0.09	5.3±0.03	5.2±0.05	5.2±0.02	5.2±0.04
Ca/P	2.40±0.05	2.21±0.02	2.22±0.03	2.30±0.05	2.20±0.03	

* 平均値±標準誤差

4. 腎臓のCa, P, Mg量

腎重量, 腎の比体重および腎臓中Ca, P, Mg量の総量と腎1g当りの量を表6に示した。腎重量には有意にC-40=S-40>S-20=C-20の関係がみられ比体重においても同様であった。

Ca量は総量, 腎1g当りの量いずれの場合でも有意にS-40>C-40であった。P量およびMg量は総量においてS-40=C-40>S-20=C-20の差がみられ腎1g当りの量ではそれぞれC-20=S-20>S-40=C-40であった。

表6 腎臓中のCa, P, Mg量

	cont	C-20	C-40	S-20	S-40	
腎重量(1個) mg	736.2±24.4*	729.7±12.6	886.0±18.2	762.2±29.1	883.6±27.0	
腎比体重 mg	647.3±19.6	604.3±16.3	726.3±12.0	617.8±20.1	695.0±14.2	
Ca	総量 mg	0.13±0.01	0.11±0.01	0.12±0.01	0.13±0.01	0.18±0.03
	mg/腎1g	0.17±0.01	0.16±0.01	0.13±0.01	0.17±0.02	0.21±0.03
P	総量 mg	0.88±0.01	2.03±0.02	2.34±0.04	2.09±0.07	2.41±0.06
	mg/腎1g	1.21±0.04	2.79±0.05	2.65±0.03	2.74±0.05	2.72±0.03
Mg	総量 mg	0.11±0.01	0.17±0.00	0.18±0.00	0.18±0.00	0.20±0.01
	mg/腎1g	0.14±0.01	0.23±0.01	0.21±0.01	0.23±0.01	0.22±0.01

※平均値±標準誤差

考 察

著者らのこれまでの実験では高タンパク質食摂取が尿中Caの排泄量を高めその体内保留率を低下させることが判明した。高タンパク質食のCa尿中排泄量の増加は腎臓におけるCa再吸収能力の低下とされている⁸⁾。

したがってCa, Pの血清中濃度や骨代謝の維持は腎機能の良否に影響を受けることになる。

尿中排泄率の高いC-40の血清Ca濃度についてみると他群に比して有意の差を認める程の低値は示さずかつその値も正常範囲内であった。Ca出納は飼料中のCaやP量の影響を受けるが双方の摂取量が同時に高い時は正の出納を示す。本実験では飼料中Ca, P量は生体にとって十分量であり尿中Ca排泄増に伴う腎機能の亢進はあったにせよ結果として正出納を示した。このことからC-40の血清Ca濃度は低下しなかったものと考えられる。

血清中P濃度についてはC-20>S-40=S-20=C-40の関係がみられた。腎臓のP再吸収能が低下し尿中排泄量が増加した場合には骨吸収による血清Pの維持が考えられる。しかし、今回の出納実験ではC-20にC-40, S-40を上回る尿中の排泄は認められないことからC-20の腎での再吸収能力が低下したとは考えにくい。このことに関しては今後さらにPやCaの腎での再吸収能に関与する副甲状腺ホルモンの測定をはじめとして結果の再現性を含めて十分に検討しなければならないと考える。

一方、生体のCaやPの恒常性維持のための標的器官が骨であることは江澤⁹⁾らの実験からも明らかである。すなわち低Ca飼料(0.003%Ca)を成長期ラットに投与した場合血清Ca濃度は標準食飼料(0.47%Ca)投与群に比して有意の低下がみられ、骨からのCa溶出が進んだ結果として骨重量の低下がもたらされたという。しかし著者らの実験においては経産ラットを用いたことや、飼料組成が異なることから同一視はできないが、大腿骨の骨重量(湿骨重量, 脱脂骨重量)、比体重、骨中灰分量に群間の差は認められなかった。このことから各群とも飼料中のCa, P量が十分量だったことが好影響し骨中の総Ca, P量や骨1g当りのCa, P量に、差を認めるほどの骨吸収がおこらなかったと考えられる。

要するに骨は生体最大のCa, Pプールであり、よほど極端な飼料組成としないかぎり骨中Ca, P量に差を見出すことは無理なのかも知れない。

腎臓についてみると、腎重量においては有意にC-40=S-40>S-20=C-20の関係がみられ比体重においても同様であった。このことは4群間の終体重に差のないことからみるとC-40, S-40では腎臓が機能対応、すなわち高タンパク質摂取によるCa, Pの再吸収能低下に伴う尿中排泄増加を最少限に抑え腎機能の効率を高めるための肥大化と考えられる。

本実験結果からは長期間にわたる高タンパク質食の摂取は腎重量を増加させ、ひいてはCa, Pの腎蓄積を招きかねず腎結石症などへ

の移行の可能性も考えられる。今後は尿中ハイドロキシプロリン、ミネラル代謝関連物質などについてさらに観察を続ける必要がある。

要 約

生後5ヶ月令のフィシャー系経産ラットに20%および40%のタンパク質含有飼料(タンパク質源としてミルクカゼインと分離大豆タンパク質の2種類)をそれぞれ与えた時の血清、腎臓および大腿骨中のCa, Pなどの含有量を調べた結果次のことが明らかとなった。

1. 大腿骨は骨重量、比体重および骨中Ca, P, Mg量において飼料による差は認められなかった。
2. 腎臓重量は高タンパク質食群が高値を示した。Ca, P, Mg量は総量においてS-40群が高値を示した。

最後に、本研究を行うにあたり御指導を賜りました国立栄養研究所江指隆年博士、および御助言くださった熊本大学北野隆雄氏に深く謝意を表します。

文 献

- 1) ALLEN, L.H., ODDOYE, E.A. and MARGAN, S.: *Am.J.Clin.Nutr.*, **32**, 741 (1979) .
- 2) 阿左美章治, 平塚静子: 聖徳栄養短期大学紀要, **14**, 1 (1983).
- 3) 阿左美章治他: 第39回日本栄養食糧学会講演要旨集, 10 (1985).
- 4) CALVO, M.S., BERR, R.R. and FORBES, R.M.: *J.Nutr.* **112**, 1401 (1982) .
- 5) CONERTY, H.V., BRIGGS, A.R.: *Am.J.Clin.Path.*, **45**, 290 (1966) .
- 6) 江澤郁子他: 栄養と食糧., **32**, 329 (1979).
- 7) GOMORI, G.: *J.Lab. Clin. Med.*, **27**, 955 (1942) .
- 8) HEGSTED, M., SCHUETTE, S.A., ZEMEL, M.B. and LINKSWILER, H.M.: *J.Nutr.* **553** (1979) .
- 9) HEGSTED, M. and LINKSWIHER, H.M.: *Federation Proc.*, **39**, 901 (1980) .
- 10) JOHNSON, N.E., ALEANTARA, E.N. and LINKSWIRER, H.M.: *J.Nutr.* **100**, 1425 (1970) .
- 11) SOHUETEE, S.S et al: *J.Nutr.*, **111**, 2106 (1981) .
- 12) SHERMAN, H.C.: *J.Biol. Chem.*, **44**, 21 (1920) .
- 13) TAUSKY, H.H. and SHORR, E.: *J.Biol. Chem.*, **202**, 675 (1953) .
- 14) 武内次夫, 鈴木正己: 原子吸光分光分析, 改稿第一版, (南江堂), p.101 (1978).
- 15) YOUNG, A., SWEET, T.R. and BAKER, B.B.: *Anal. Chem.*, **27**, 356 (1955)