

## 幼若期ラットのミネラル出納に及ぼす飼料中脂肪量の影響

平塚静子 前田宜昭 阿左美章治

## Effects of Dietary Fat on Mineral Balance in Young Female Rats.

SHIZUKO HIRATSUKA YOSHIAKI MAEDA and SHOJI AZAMI

The purpose of the present study was to investigate the effect of dietary fat levels on calcium, phosphorus and magnesium balance in rats. Young female Fischer 344 rats were fed the AIN-76 diets modified to contain 20% (normal) milk casein. Each of casein diets were given to three level of soybean oil of 5% (normal), 10% (high) and 20% (excess) diets.

The calcium, phosphorus and magnesium intake were decreased significantly by the increase of the dietary fat level from 5% and 10% to 20%. The calcium, phosphorus and magnesium absorption were increased significantly by the increase of the dietary fat level from 10% to 20%. The increase of the dietary fat level from 5% and 10% to 20% increased significantly urinary calcium excretion. However, the calcium and phosphorus retention were increased by increasing the dietary fat level from 10% to 20%. The contents of calcium, phosphorus and magnesium in kidney were significantly increased as the dietary fat levels were increased.

These results suggested that calcium balance in rats was especially affected by dietary fat levels.

## 結 言

わが国のカルシウム（以下Caと略）摂取量は成人の所要量である1日600mg<sup>1)</sup>を下回る状態にあり、Caはその充足率が100%に満たない唯一の栄養成分である。また、近年では高齢化に伴い、骨粗鬆症をはじめとするCaの摂取不足を主要因とする疾患の増加が大きな問題となっており若年期からの配慮が重要とされている。このことは、日本人にとってCaが、いかにとりにくい栄養素であることを示している。

この改善策としてCaやビタミンDを多く

含む食品を摂取すること、運動や日常生活活動を高めることにより骨密度の上昇をはかることなどがあげられる。Caが骨の形成など体内での機能にあずかるには、まず摂取されたCaが腸管での吸収という過程をふまねばならない。この腸管よりのCa吸収に関する因子として種々のものがある。活性型ビタミンD、リジン、アルギニン、リン（以下Pと略）との適正な割合などは吸収上昇に作用しリン酸、フィチン酸、シュウ酸、食物繊維などは吸収に阻害的に作用する。

特に、著者らはたんぱく質の質と量<sup>2)</sup>の観点からのCaへの影響を検討してきたが、摂取

Key Words: Mineral balance, Fat

たんぱく質の増加はCaの吸収を増加させる反面、尿中排泄量の増加をもたらし、さらに加齢<sup>3)</sup>も尿中排泄を助長することを明らかにしてきた。また、Caの利用は食生活の欧米化がすすむ今日では、脂肪摂取との関わりについても検討されなければならなくなってきている。平成6年国民栄養調査<sup>1)</sup>によると脂肪の摂取量は58.0gであり脂肪エネルギー比では20~25% (第五次栄養所要量<sup>2)</sup>による適正量) を越える状況にある。このことは、脂肪の多量摂取とCaの関係を明らかにした知見が最近でも見当たらないことからさらに検討する必要があると思われる。

そこで現在の食生活において危惧される高たんぱく質・高脂肪食の及ぼすCaの利用性への影響について検討を行った。本稿では、このうち標準たんぱく質飼料中の脂肪量を増加させた場合の影響について報告する。

## 実験方法

### 1. 実験動物

実験動物として生後5週齢、体重70~90gのフィシャー系雌ラット18匹を日本チャールスリバー社(株)より購入し、AIN-76精製飼料を一部改変した20%カゼイン食5%脂肪食にて1週間予備飼育した後、各群の体重がほぼ等しくなるように1群6匹ずつの3群にわけ、41日間の実験を行った。

### 2. 実験飼料

実験に用いた3種類の飼料組成を、Table 1に示した。飼料はたんぱく質源をミルクカゼイン(オリエンタル酵母(株))とし、その含有量を各群とも20%にあわせた。脂肪の給源には大豆油を用い、脂肪量を変化させた。すなわちC20-F5 (Casein20%、Fat5%) を標準食群とし、脂肪量を2倍量にした飼料C20-F10 (Fat10%)、脂肪量を4倍量にした飼料C20-F20 (Fat20%) の3種類を用意した。また、各飼料中のCa量、P量、マグネシウム量(以下Mgと略)はCa0.52%、P0.40%、Mg0.05%に調製し、その実測値も示した。

### 3. 飼育条件

ラットは6連の個飼いステンレス網製のケージを使用し1日12時間明暗(午前7時~午後7時)、飼育温度 $23 \pm 1$ ℃、湿度 $50 \pm 5$ %の動物室で飼育した。なお、飼料および飲料水(脱イオン水)は自由摂取させ、午前10時~12時の間に給餌、給水、体重測定等の作業を行った。

### 4. 出納実験

出納実験は、予備出納を3日間行った後、飼育開始5週目から5日間にわたり実施した。出納実験期間には代謝ケージを使用し、飼料はカルミンをマーカーに用い糞尿を分離採取した。糞尿は毎日採取し、糞については体毛を除去し、乾燥機で恒量になるまで乾燥した後、コーヒーミルで粉末にした。尿は5N塩酸10mlを予め添加したビーカーに採取し、脱イオン水で一定容としたものをそれぞれの試料とした。飼料摂取量と飼料中のCa、P、Mgの含有率、および糞、尿中へのミネラル排泄量から次式によりCa、P、Mgの見かけの吸収率(以下吸収率)および体内保留量を算出した。

$$\text{ミネラル摂取量} = \text{飼料摂取量} \times \text{ミネラル含有率}$$
$$\text{見かけの吸収率} = \{ (\text{摂取量} - \text{糞中排泄量}) / \text{摂取量} \} \times 100$$
$$\text{保留率} = \{ (\text{摂取量} - \text{糞中排泄量} - \text{尿中排泄量}) / \text{摂取量} \} \times 100$$

### 5. 分析方法

出納実験終了後エーテル麻酔し腹部大静脈より採血屠殺し、腎臓を採取した。腎臓は重量測定を行い、左の腎臓についてはミネラル量を測定した。分析に供する飼料、糞、および尿はその一定量を分解用硬質試験管に採取し、硝酸を加え、アルミドライブロックバスにて湿式分解した。230℃で乾固後0.5N塩酸を加え、超音波処理したのち沸騰水中で20分間加熱、放冷し同液にて一定量に定容したものを分析に供した。Ca、Mgの測定は原子吸光法<sup>5)</sup>、PはGOMORI法<sup>6)</sup>を用いて定量した。腎臓は糞尿と同様の処理を行い分析に供した。

### 6. 腎臓組織標本の作成

10%中性ホルマリン固定を実施した右腎臓はパラフィン包埋切片とし、ヘマトキシリン・エオシン染色をした後、病理組織学的観

察を行った。

## 7. 統計処理

実験結果の統計処理は、比較すべき数値の等分散性を検定後、t検定により有意差を判定した。等分散性を示さなかったものについては、ウェルチのt検定によって有意差を判定し、危険率5%で求めた。

## 結 果

### 1. 飼料摂取量、体重増加量および飼料効率

飼育期間中の体重増加量、飼料摂取量および飼料効率はTable 2に示した。飼料摂取量は脂肪含有量が高いC20-F20ほど低値を示し、3群間に有意の差が認められた。逆に飼料効率においては脂肪含有量が高いC20-F20が高値を示した。しかし、飼料効率、体重増加量とも3群間に有意差は認められなかった。

### 2. Ca出納

Ca出納結果をTable 3に示した。

Ca摂取量は飼料摂取量と同様に脂肪量の最も多いC20-F20が最低値を示した。

各群間の比較する数値についてはミネラル摂取量に差があることから摂取量に対する割合(%)として取り扱った。Caの吸収率はC20-F5で $36.4 \pm 2.9\%$ 、C20-F10で $33.2 \pm 1.5\%$ 、C20-F20で $40.4 \pm 2.4\%$ であった。3群間に有意差は認められなかったがC20-F20が他の2群より高値を示した。尿中排泄率については $C20-F5 < C20-F10 < C20-F20$ の関係にあり脂肪含有量が高いC20-F20が他の2群に対し有意に高値を示した。

体内保留率は吸収率と同様にC20-F20が高値を示した。

### 3. P出納及びMg出納

PおよびMg出納結果はTable 4、Table 5に示した。

Pの摂取量および吸収率はCaと同様の傾向を示した。尿中排泄率は脂肪摂取量の増加

Table 1 Composition of experimental diets (g/100g)

Ingredients	group		
	C20-F5	C20-F10	C20-F20
Casein	20.0	20.0	20.0
$\alpha$ -Corn starch	63.2	58.2	48.2
Soy bean oil	5.0	10.0	20.0
Cellulose powder	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture <sup>1)</sup>	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
DL-methionine	0.3	0.3	0.3
CaHPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	1.27	1.27	1.27
CaCO <sub>3</sub>	0.37	0.37	0.37
MgO	0.08	0.08	0.08
Total	100.0	100.0	100.0
Mineral content (mg/100g)			
Calcium	493.5	508.8	515.5
Phosphorus	422.6	427.9	426.3
Magnesium	48.8	47.4	47.6

1) AIN-76 Mineral mixture (J. Nutr. 107. 1340. (1977)), without CaHPO<sub>4</sub> and MgO.

2) AIN-76 Vitamin mixture (J. Nutr. 107. 1340. (1977)).

に伴い低下する結果であったが3群間には有意差は認められなかった。体内保留率は吸収率と同様にC20-F20が高値を示した。

Mgについては摂取量および吸収率ともCaやPと同様の傾向を示した。尿中排泄率、体内保留率とも3群間に有意差は認められず脂肪増加の影響は認められなかった。

#### 4. 腎臓重量および腎臓中ミネラル量

腎臓重量および体重100g当たりの腎臓重量、腎臓中のCa、P、Mg量の総量と腎臓1g

当たりの量をTable 6に示した。腎臓重量(1個)については3群間に有意の差は認められなかった。Ca量は総量においてC20-F5<C20-F20であった。P、Mgの腎臓1g当たりの量については、C20-F5<C20-F20の関係にあった。

#### 5. 腎臓の形態観察

Caの沈着は尿細管に認められたが、Caが沈着している尿細管の数と腎臓の組織変性箇所およびその変性程度について観察し、その

Table 2 Body weight gain, total food intake and food efficiency

	C20-F5	C20-F10	C20-F20
Body weight gain (g)	76.58±1.80※	70.62±2.11	73.67±2.92
Total food intake (g)	431.78±2.96 <sup>a</sup>	357.65±6.50 <sup>ab</sup>	321.00±9.47 <sup>ab</sup>
Food efficiency (g)	0.18±0.005 <sup>c</sup>	0.20±0.004 <sup>c</sup>	0.23±0.005 <sup>c</sup>

※: M±SE; n=6.

Matching superscript letters denote significant difference (p<0.05, b: p<0.01).

Table 3 Calcium balance

	C20-F5	C20-F10	C20-F20
Intake (mg/day)	50.5±1.7※ <sup>a</sup>	47.0±1.7 <sup>b</sup>	41.1±1.4 <sup>ab</sup>
Absorption (%) (mg/day)	36.4±2.9 (18.5±1.7)	33.2±1.5 <sup>c</sup> (15.6±0.9)	40.4±2.4 <sup>c</sup> (16.6±1.1)
Urinary excretion (%) (mg/day)	1.2±0.1 <sup>d</sup> (0.6±0.1)	1.3±0.2 <sup>e</sup> (0.6±0.1)	1.7±0.2 <sup>de</sup> (0.7±0.1)
Retention (%) (mg/day)	35.1±2.9 (17.8±1.7)	32.0±1.5 <sup>f</sup> (15.0±0.8)	38.7±2.4 <sup>f</sup> (15.9±1.1)

※: M±SE; n=6. ( ): Average value of the absolute quantity.

Matching superscript letters denote significant difference (p<0.05, a: p<0.01).

Table 4 Phosphorus balance

	C20-F5	C20-F10	C20-F20
Intake (mg/day)	43.2±1.5※ <sup>a</sup>	39.5±1.5※ <sup>b</sup>	33.9±1.1 <sup>ab</sup>
Absorption (%) (mg/day)	58.1±1.5 (25.2±1.3)	56.9±0.8 <sup>c</sup> (22.5±0.7)	62.5±1.8 <sup>c</sup> (21.2±1.0)
Urinary excretion (%) (mg/day)	28.9±1.2 (12.4±0.3)	27.6±1.0 (10.9±0.5)	25.4±1.7 (8.6±0.7)
Retention (%) (mg/day)	29.2±2.5 (12.7±1.3)	29.3±1.2 <sup>d</sup> (11.6±0.6)	37.1±2.5 <sup>d</sup> (12.6±0.9)

※: M±SE; n=6. ( ): Average value of the absolute quantity.

Matching superscript letters denote significant difference (p<0.05).

Table 5 Magnesium balance

	C20-F5	C20-F10	C20-F20
Intake (mg/day)	5.0±0.2※ <sup>a</sup>	4.4±0.2 <sup>a</sup>	3.8±0.1 <sup>a</sup>
Absorption (%) (mg/day)	58.1±2.3 <sup>b</sup> (2.9±0.2)	58.6±2.5 <sup>c</sup> (2.6±0.2)	69.3±2.3 <sup>bc</sup> (2.7±0.1)
Urinary excretion (%) (mg/day)	34.7±3.5 (1.7±0.2)	28.3±4.3 (1.3±0.2)	34.6±4.0 (1.3±0.2)
Retention (%) (mg/day)	23.4±4.6 (1.2±0.2)	30.3±3.2 (1.3±0.2)	34.7±5.6 (1.3±0.2)

※ : M±SE ; n = 6. ( ) : Average value of the absolute quantity.

Matching superscript letters denote significant difference (p<0.05), b and c : P<0.01).

結果を Table 7 に示した。表中の Ca 沈着 (Deposit of Ca) の数値は腎臓の長径切片上に認められた Ca 沈着した尿細管の数を示している。Ca 沈着が認められた尿細管の平均数は C20-F5 で 265、C20-F10 で 310、C20-F20 で 411 であった。Ca が沈着した尿細管の数は飼料中の脂肪量の増加で多く認められた。

## 考 察

本研究では、飼料中のたんぱく質を 20% の一定量とし、脂肪摂取量を 5%、10%、20% と増加させ、高脂肪摂取時におけるミネラルの利用性について Ca を中心に検討した。

本実験の飼料摂取量は飼料中の脂肪含有量

Table 6 Kidney weight and mineral content

	C20-F5	C20-F10	C20-F20
Wet wt. (mg)	593±24※	528±17	545±12
mg/100g body wt.	387±12	359±8	363±5
Ca whole (mg)	0.71±0.04 <sup>a</sup>	0.82±0.15	0.94±0.07 <sup>a</sup>
mg/tissue 1g	1.19±0.04 <sup>b</sup>	1.56±0.28	1.73±0.12 <sup>b</sup>
P whole (mg)	1.97±0.06	1.92±0.08	2.01±0.07
mg/tissue 1g	3.34±0.04 <sup>c</sup>	3.69±0.15	3.69±0.07 <sup>c</sup>
Mg whole (mg)	0.12±0.01	0.12±0.01	0.12±0.01
mg/tissue 1g	0.20±0.01 <sup>de</sup>	0.22±0.01 <sup>d</sup>	0.23±0.01 <sup>e</sup>

※ : M±SE ; n = 6. Matching superscript letters denote significant difference (p<0.05, c and d : P<0.01).

Table 7 Renal pathological findings

Group	Deposit of Ca	Glomerulus	Cortex		Medulla			Cell Infiltration	Fibrosis
			Pro. tub.	Dis. tub.	Outer st.	Inner st.	Inner zone		
C20-F5	146~305 (265)	—	—	—	++	+	±	—	—
C20-F10	182~480 (310)	—	—	—	++	+	±	—	—
C20-F20	277~590 (411)	—	—	—	++	+	±	—	—

( ) : Mean

— (Normal), ±, + and ++ : Magnitude of Abnormality (± < + < ++).

Pro. Tub. : proximal tubule. Dis. tub. : distal tubule. Outer st. : Outer stripe.

Inner st. : Inner stripe.

の違いで異なり、脂肪含有量の最も多いC20-F20が3群中最低の値を示した。

ラットなど一般に動物の成長は飼料摂取量に大いに影響を受けるにもかかわらず、今回の実験では飼料摂取量やエネルギー摂取量の違いがラットの体重増加や飼料効率などには影響を与えないという結果であった。3飼料群の脂肪エネルギー比率は11.9%、22.3%、39.8%であり、これを飼育期間中の総エネルギー摂取量でみると、C20-F5で1631Kcal、C20-F10で1441Kcal、C20-F20で1454Kcalであることから、C20-F20においてはエネルギーやたんぱく質の供給が充分量であり、体重増加等に好影響を与えたと推察できる。

Caの摂取量と体重の関係を調べた研究ではCaの摂取量の増加は窒素の吸収や保留を低下させ、体重を減らすという報告<sup>7)8)</sup>がある。

著者らの実験においては、飼育期間中のCa摂取量のC20-F20(1655mg) < C20-F10(1820mg) < C20-F5(2131mg)という違いが、3群間の体重増加に差が起きない原因の一つにも考えられる。さらに、今回の実験では、Caの要求度が高い幼若ラットを用いたことがCaの腸管からの吸収を良好にしたと考えられる。

Caの吸収率はC20-F10(33.2%) < C20-F5(36.4%) < C20-F20(40.0%)を示す結果であった。栄養素の吸収はその栄養素の摂取量や身体の要求性などの諸条件によって変わるものであり、今回の結果からは脂肪の影響が考えられる。

脂肪はCaの吸収に影響をおよぼす因子の一つであり、摂取する脂肪の量<sup>9)</sup>や質<sup>10)</sup>が関係している。またこれは小児や成人など摂取する生体側の機能(胆汁分泌や吸収能)の成熟度<sup>11)12)</sup>なども影響している。特に、脂肪の多量摂取は腸内に残留した脂肪酸とCaの結合を生じ不溶性の石鹼を作ることからCaの吸収にとっては負の影響を与える報告<sup>13)14)</sup>もある。

しかし、今回の実験ではCaの吸収は脂肪の摂取増加で高まるという結果であった。本実験においては前述したCaの要求性や摂取量

の違いが認められることからさらに検討する必要がある。

一方、尿中Ca排泄についてみると、C20-F5=C20-F10 < C20-F20の関係にあり、C20-F20が高値を示した。高たんぱく質がCaの尿中排泄を増加させることは明らかなことであるが、この結果からは脂肪量の増加も尿中Caに影響をおよぼすことが示唆される。このことについても今後さらに検討する必要がある。

尿中Ca排泄率に群間の差が認められることから腎臓への影響についても検討した。腎臓重量は3群間に差が無く脂肪の影響は認められなかった。C20-F20の腎臓Ca量やCaの沈着した尿細管の数は他の2群より高値を示した。

Caの沈着は、主として腎髄質のouter st.部の尿細管に認められその程度は3群とも同じであった。糸球体や皮質尿細管には細胞湿潤やFibrosisの組織形態学的な変化は認められなかった。

## 要 約

飼料中の脂肪レベルを5%、10%、20%に増加させた標準たんぱく質飼料(20%カゼイン食)を生後5週齢のフィシャー系雌ラットに与えた。その時のCa出納に対する影響について検討した。

1. 飼料摂取量は3群中C20-F20が最低値を示した。
2. Ca吸収率はC20-F20がC20-F10に対し有意に高く、3群中最高値を示した。
3. 尿中排泄率はC20-F20が有意に高値を示した。
4. 腎臓中Ca量C20-F20がC20-F10に対し有意に高く、3群中最高値を示した。

以上の結果から、脂肪の多量摂取がCaの利用に影響を与えることが明らかとなった。

組織標本の作製と観察をしていただきました熊本大学医学部、北野隆雄博士に深謝致します。

## 文 献

- 1) 厚生省保健医療局健康増進栄養課編：国民栄養の現状，平成6年国民栄養調査成績，第一出版（東京），P33(1996).
- 2) 阿左美章治，平塚静子，北野隆雄，江指隆年：栄養学雑誌，**47**，103(1989).
- 3) 阿左美章治，平塚静子，北野隆雄，江指隆年：栄養学雑誌，**43**，427(1990).
- 4) 厚生省保健医療局健康増進栄養課編：日本人の栄養所要量，第一出版（東京），P56(1994).
- 5) 竹内次夫，鈴木正己：原子吸光分光分析，改稿第一版，南江堂（東京），P101(1978).
- 6) GOMORI, G. : J. Lab. Clin. Med., **27**, 955(1942).
- 7) GOTO, S. and SAWAMURA, T. : J. Nut. Sci. Vitaminol., **19**, 355(1973).
- 8) GOTO, S. and SUGAI, T. : J. Nut. Ret. Int., **11**, 49(1975).
- 9) 五島孜郎：日本栄養食糧学会誌，**7**，180(1954).
- 10) TANTIBHEDHYANGKUL, P., HASHIM, S.A. : Pediatrics., **61**, 537(1965).
- 11) 五島孜郎，石原照代：日本栄養食糧学会誌，**8**，29(1954).
- 12) H.D. WELLACE, R.L. SHIRLEY, G.K. DAVIS : J. Nutr., **43**, 469(1951).
- 13) BAHRDT, H. : Tahr. Kinderheilk., **71**, 249(1910).
- 14) J.R. BEADLES, H.H. MITCHELL, T.S. HAMILTON : J. Nut., **45**, 399(1951).