

ラットにおけるたんぱく質摂取量が鉄利用に及ぼす影響について

前田宜昭 大塚静子 阿左美章治

Effect of Protein Intake on Iron Utilization in Rat

YOSHIAKI MAEDA, SHIZUKO OTSUKA and SHOJI AZAMI

The aim of this experiment is to determine iron (Fe) utilization resulted from protein intake in the Fischer 344 rat. Experimental diets compose of three levels: the low level (10%), normal level (20%) and high level (40%). Fecal and urinary samples are collected using metabolic cages on the final week during the 6 weeks. The measurement of Fe is performed by the method of atomic absorption spectrometry. All results are subject to an analysis of variance; critical level for all statistical analyses is set at $p < 0.05$. In all studies, a rise of the ratio of Fe absorption significantly has been increased by protein intake. The content of iron, total binding capacity, unsaturation binding capacity and saturation factor in serum was not affected by protein intake. Similarly, the content of iron in kidney has not changed significantly.

平成9年国民栄養調査¹⁾における国民1人1日当たりの栄養素等摂取量を調査対象の平均栄養所要量に対する充足率は、エネルギーはほぼ適性摂取となっており、カルシウムを除く栄養素については所要量を上回っている。しかし、性・年齢階級別にみると、女性では鉄の所要量が下回り、15~19歳、20歳代および30歳代で充足率が80%台と、摂取不足が見受けられる。また、この年齢階級のエネルギー摂取量も充足されていない。たんぱく質摂取量は充足率を上回っているものの、エネルギー摂取量が不足している現状では、摂取したたんぱく質は体たんぱく合成に寄与されにくくなり、エネルギー産生に用いられることが予想され、腎臓への負担が危惧される。

そこで今回、たんぱく質の摂取量が鉄の利用にどのような影響を示すのかを被検動物にラットを用いて実験を行った。

実験方法

1. 実験動物と実験飼料

実験動物として生後5週齢、体重70~90グラムのFischer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%カゼイン食にて1週間予備飼育した後、各群の体重が均等になるように3群(1群6匹)に分け、40日間の飼育実験を行った。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た。動物飼育室は1日12時間明暗、温度は $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度は $50 \pm$

Key Words: protein, iron, absorption, serum, kidney

5に制御した。なお、飼料および飲料水（脱イオン水）は、自由摂取させ、午前10～12時の間にその作業を行った。実験に用いた3種類の飼料組成を表1に示した。飼料はたんぱく質源にミルクカゼイン（オリエンタル酵母株）を用い、その含有量を10%（低たんぱく質）、20%（標準食）および40%（高たんぱく食）になるように調整した。

2. 出納試験の実施と試料の採取

出納試験は予備出納を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。出納実験には代謝ゲージを使用した。飼料にマーカーとしてカルミンを添加し、糞尿を分離採取した。糞は体毛を取り除き、恒量になるまで乾燥させた後、ミル粉碎器で粉末にし試料とした。また尿は、5N塩酸10mlを予め添加したビーカーに採取し、脱イオン水で定容し試料とした。さらに出納試験終了後、エテール麻酔し断頭機を用いて全身血を採取し、腎臓を摘出して試料とした。

3. 試料の処理と分析

分析に供する試料は、その一定量を分解用硬質試験管に秤量し、硝酸を加えてアルミドライブロックバスにて湿式灰化した。試料は、230℃で乾固後、0.5N塩酸溶液を加えて超音波処理した。その後、沸騰水中で20分間加熱し、冷却し同液にて一定量に定容したものを分析に供した。鉄の測定は原子吸光法、窒素の測定はゲルダール法を用いて行った。

4. 統計処理

たんぱく質の影響は、すべての群の分散が等しいことを確認した後、一元配置分散分析で統計処理された。求められたP値が危険率5%より少ない場合に、たんぱく質摂取量による影響が認められたと判定した。

実験結果

1. 窒素出納（表1）

窒素の摂取量、吸収量、尿中排泄量および保留量は、たんぱく質摂取量の増加に伴い有意に高値を示した。飼料摂取量に対する割合でみると、窒素の吸収率はたんぱく質摂取量

の増加に伴い有意に高値を示した。しかし、窒素の尿中排泄率もたんぱく質摂取量の増加に伴い有意に高値を示したので、窒素の保留率はたんぱく質摂取量の増加に伴い有意に低値を示した。

2. 鉄出納（表2）

鉄の吸収量は、高たんぱく質食群が他群に比べて有意に高値を示した。飼料摂取量に対する割合でみると、鉄の吸収率はたんぱく質摂取量の増加に伴い有意に高値を示した。

3. 血清中铁含有量、総鉄結合能、不飽和鉄結合能および飽和率（表3）

血清中铁含有量、総鉄結合能、不飽和鉄結合能は、低たんぱく食群で高値傾向を示したが、たんぱく質摂取量の影響が認められなかった。

4. 腎臓中铁含量（表4）

腎重量1グラム当たりの鉄含量は、たんぱく食摂取量の増加に伴い高値傾向を示したが、たんぱく質摂取量の影響が認められなかった。

考 察

からだは、鉄バランスを維持して鉄欠乏の発生を防ぐために、(1)体内で異化された細胞の鉄を連続して再利用したり、(2)成長期や妊娠後期のように多量の鉄の要求量を満たすために、フェリチン（貯蔵たんぱく質）が体内に鉄を蓄えることができたり、さらに(3)鉄欠乏により増加する吸収や、鉄過剰の状態により減少する吸収といった実際の鉄の要求に応じて鉄吸収を調節する巧みな機構を持ち合わせているにもかかわらず、鉄欠乏症は、日本のみならず世界中で最も一般的な欠乏症の一つである。

食品中には、その吸収の機構から、2種類の鉄が存在する。ヘム鉄と非ヘム鉄である。ヘム鉄は、粘膜細胞によって吸収され、ヘム分解酵素によって細胞内で分解される。遊離された鉄は、非ヘム鉄によって使用されたものと同じ細胞内の移送機構を利用して、粘膜細胞の漿膜側に移送される。非ヘム鉄は、腸粘膜細胞のレセプターによってイオン形態で

表 1 窒素出納

	C10	C20	C40
摂取量 (mg/日)	145±5 ^{a1)2)}	249±4 ^a	490±15 ^a
吸収量 (mg/日)	134±5 ^b	238±4 ^b	474±15 ^b
尿中排泄量 (mg/日)	40±2 ^c	108±6 ^c	304±20 ^c
保留量 (mg/日)	94±6 ^d	130±4 ^d	170±16 ^d
吸収率 (%)	92±1 ^e	96±1 ^e	97±1 ^e
尿中排泄率 (%)	28±3 ^f	43±2 ^f	62±3 ^f
保留率 (%)	64±2 ^g	53±2 ^g	35±3 ^g

1) 数値は、平均値±標準誤差 (n = 6)

2) 同一アルファベット間で有意差あり (P < 0.05)

表 2 鉄出納

	C10	C20	C40
摂取量 (μg/日)	477±19 ¹⁾	475±8	500±16
吸収量 (μg/日)	200±22 ^{b2)}	217±14 ^c	285±15 ^{bc}
尿中排泄量 (μg/日)	22±3	24±3	17±1
保留量 (μg/日)	178±23	193±16	268±15
吸収率 (%)	42±3 ^a	46±3	57±2 ^a
尿中排泄率 (%)	5±1	5±1	3±1
保留率 (%)	37±4	41±4	54±1

1) 数値は、平均値±標準誤差 (n = 6)

2) 同一アルファベット間で有意差あり (P < 0.05)

表 3 血清中铁濃度

	C10	C20	C40
血清鉄含有量 (μg/dl)	211±36 ¹⁾	166±10	162±23
総鉄結合能 (μg/dl)	926±130	678±41	646±102
不飽和鉄結合能 (μg/dl)	715±99	512±31	483±79
飽和率 (%)	23±2	24±1	26±1

1) 数値は、平均値±標準誤差 (n = 6)

表 4 腎臓中铁濃度

	C10	C20	C40
腎臓重量 (mg)	477±19 ¹⁾	475±8	500±16
鉄含量 (μg)	22±3	24±3	17±1
鉄含量 (μg/g)	178±23	193±16	268±15

1) 数値は、平均値±標準誤差 (n = 6)

吸収されるか、もしくはこれらの細胞の管腔面に存在する輸送たんぱく質によって吸収される²⁾。鉄の生体利用率、すなわち食事からの吸収された鉄の割合は、1%以上~50%以下

の値にまで変化する^{15,16)}。非ヘム鉄の吸収は、多くの食事の要因によって著しく影響を受ける。肉・魚およびビタミンC (アスコルビン酸) は吸収を高め、フィチン酸塩やタンニン

は、吸収を妨げる³⁻¹¹⁾。乳酸、コハク酸、クエン酸のような有機酸も非ヘム鉄の吸収を促進する¹²⁾。お茶に含まれているタンニン^{13,14)}が、鉄の吸収を阻害することが報告されている。

我々の実験では、たんぱく質源にカゼインを用いた。カゼインは牛乳に含まれるたんぱく質ではあるが、たんぱく質摂取量を増加させると鉄の吸収率を上昇させた。肉、魚、鶏肉のような吸収を促進する物質を含有する代表的な食品から吸収される非ヘム鉄の量は、同量のたんぱく質が牛乳、チーズ、卵によって置き換えた場合の4倍以上に達する⁶⁾という報告がある。食物中には、先ほど述べたとおり、2つの型の鉄、すなわち、主に動物性食品に含まれるヘム鉄と主に植物中食品に非ヘム鉄がある。ヘム鉄と非ヘム鉄の構成割合などが影響し反映したものと考えられた。また本実験では、たんぱく質摂取量が減少すると鉄の吸収率が低下したが、血清中铁含量、総鉄結合能、不飽和鉄結合能および飽和率には、たんぱく質の摂取量による影響がみられなかった。主な鉄貯蔵性化合物にはフェリチンとヘモシデリンがあり、大部分は肝臓、細網内皮系および骨髄中に分布している。貯蔵鉄の量は、鉄の吸収に影響する。すなわち、貯蔵が減少すると、吸収が増加する。この自己調節作用は、鉄のホメオスタシス維持に役立ち、長期的には、鉄欠乏と鉄過剰を防止するため、血清中铁含量、総鉄結合能、不飽和鉄結合能および飽和率の変化にたんぱく質の摂取量が影響しなかったものと考えられた。ところで、たんぱく質摂取量がカルシウムバランスに影響する。もし、食事中カルシウムとリンを一定してたんぱく質摂取の上昇は尿中カルシウム排泄量を増加させることが報告されている¹⁷⁻²⁴⁾。本実験の鉄出納や腎臓の成績みるかぎりでは、カルシウムと同じ挙動を示さなかった。鉄の場合、体内で異化された鉄をリサイクルする機構があるため、尿中への排泄が抑えられたことが推察される。

要 約

たんぱく質摂取量が増加すると、窒素の吸収率は増加したが、尿中排泄率も増加するので、最終的には保留率は減少した。鉄の吸収率はたんぱく質の摂取量の増加に伴い上昇するが、血清中铁含量、総鉄結合能、不飽和鉄結合能は、低たんぱく食で増加傾向を示したものの優位な差が認められなかった。また腎臓中铁含量は、たんぱく食摂取量の増加に伴い増加したが、たんぱく質摂取量の影響が認められなかった。

文 献

- 1) 国民栄養の現状 平成9年国民栄養調査結果, 厚生省保険医療局地域保健・健康増進栄養課生活習慣病対策室監修, 第一出版 (1999)
- 2) H. HUEBERS, E. HUEBERS, W. RUMMEL and R.R.: Eur. J. BIOCHEM., **66**, 447-455 (1976).
- 3) M.H. SAYERS, S.R. LYNCH, R.W. CHARLTON, T.H. BOTHWELL, R.B. WAKER and F. MAYET: Br. J. Nutr., **31**, 367-375 (1974).
- 4) M.H. SAYERS, S.R. LYNCH, R.W. CHARLTON, T.H. BOTHWELL, R.B. WAKER and F. MAYET: Br. J. HAEMATOL, **28**, 483-495 (1974).
- 5) M. LAYRISSE, C. MRTINEZ-TORRES and M. ROCHE: Am. J Clin. Nutr., **21**, 1175-1183 (1968).
- 6) J.D. COOK and E.R. MONSEN: Am. J. Clin. Nutr., **29**, 859-867 (1976).
- 7) E. BJORN-RASMUSSEN and L. HALLBERG: Effect of animal proteins on the absorption of food iron in man Nutr. Metab., **23**, 192-202 (1979).
- 8) E. BJORN-RASMUSSEN and L. HALLBERG: Nutr. Metab., **16**, 94-100 (1974).
- 9) L. HALLBERG and E.

- BJORN-RASMUSSEN, L. GARBY, R. PLEEHACHINDA and R. SUWANIK: *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 1403-1408 (1978).
- 10) E. BJORN-RASMUSSEN: *Nutr. Metab.*, **16**, 101-110 (1974).
- 11) J.D. COOK and E.R. MONSEN: *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 235-241 (1977).
- 12) D.P. DERMAN, T.H. BOTHWELL, J.D. TORRANCE, W.R. BEZWODA, A.P. MACPHAIL, M.C. KEW, M.H. SAYERS, P.B. DISLER and R.W. CHARLTON: *Br. J. Nutr.*, **43**, 271-279 (1980).
- 13) P.B. DISLER, S.R. LYNCH, R.W. CHARLTON, J.D. TORRANCE, T.H. BOWTHWELL, R.B. WAKER and F. MAYET: *Gut*, **16**, 193-200 (1975).
- 14) P.B. DISLER, S.R. LYNCH, J.D. TORRANCE, M.H. SAYERS, T.H. BOWTHWELL, and R.W. CHARLTON: *S. Afr. J. Med. Sci.*, **40**, 109-116 (1975).
- 15) L. HALLBERG: *Annu. Rev. Nutr.*, **1**, 123-147 (1981).
- 16) R.W. CHARLTON and T.H. BOTHWELL: *Annu. Rev. Med.*, **34**, 55-68 (1983).
- 17) M. HEGSTED, S.A. SCHUETTE, M.B. ZEMEL and H.M. LINKSWILER: *J. Nutr.*, **111**, 553-562 (1981).
- 18) S. MARGEN, J-Y CHU, N.A. KAUFMANN and D.H. CALLOWAY: *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**, 584-589 (1974).
- 19) L.H. ALLEN, R.S. BARTLETT and G.D. BLOCK: *J. Nutr.*, **109**, 1345-1350 (1979).
- 20) S.A. SCHUETTE, M.B. ZEMEL and H.M. LINKSWILER: *J. Nutr.*, **110**, 305-315 (1980).
- 21) H.M. LINKSWILER, C.L. JOYCE and C.R. ANAND: *Trans. N.Y. Acad. Sci.*, **36**, 333-340 (1974).
- 22) R.A. MCCANCE, E.M. WIDDOWSON and H. LEHMANN: *Biochem. J.*, **36**, 686-691 (1942).
- 23) J-Y CHU, S. MARGEN and F.M.COSTA: *Am. J. Clin. Nutr.*, **28**, 1028-1035 (1975).
- 24) A.A. LICATA, E. BOU, F.C. BARTTER and J. COX: *Metablism*, **28**, 895-900 (1979).