

分離大豆たん白質投与妊娠ラット におけるカルシウム利用について

CALCIUM UTILIZATION IN PREGNANT RATS FED SOY PROTEIN ISOLATE

新山喜昭・坂本貞一（徳島大学医学部）

Yoshiaki NIIYAMA and Sadaichi SAKAMOTO
School of Medicine, The University of Tokushima
Tokushima 770

ABSTRACT

Calcium balance was determined in order to investigate the effect of protein sources on calcium metabolism during pregnancy. Pregnant rats of the Sprague-Dawley strain, weighing about 190 g, were fed either 20% SPI or 20% casein diet containing 0.6% calcium (most of it as CaCO_3), for 21 days. Non-pregnant rats were used as the control. As a result, no difference was observed in fetal growth and fetal calcium content between the diets. In pregnant rats, calcium absorption decreased with progress of pregnancy. The amount of calcium retained also decreased and was inconsistent with the period in which the fetal need for calcium is the greatest. Pregnant rats fed SPI diet accumulated 200 mg less calcium compared to those fed casein diet. When compared to non-pregnant animals, pregnant rats of both diets exhibited greater calcium accumulation as much as the amount needed for the fetuses, but no difference was observed in the calcium content of the femur in the dams.

カルシウム (Ca) の吸収利用には多くの食餌性因子や生体側要因が関係している。そのうち食餌たん白の影響についてはたん白レベルが増加すると Ca 吸収が促進すると同時に、その尿中排泄量が増加すること¹⁾が認められている。また、質的な面では含硫アミノ酸の差が骨成分に影響を与えることも報告^{2,3)}されている。一方、妊娠時における栄養素の代謝は非妊娠時と異なっており、母体自身の代謝以外に受胎物の成長発育を考慮せねばならない。Ca も胎仔発育に重要な栄養素であり、当然、妊娠に伴い Ca 代謝が変化すると考えられる。

今回、われわれは飼料中 Ca レベルを一定にし、たん白源としてカゼインまたは分離大豆たん白質 (SPI) を用いた際の妊娠ラットにおける Ca 利用状態を検討した。

実験方法

体重約190gのSD系妊娠白ネズミに妊娠期間中、Table 1 に示したようなたん白20%、Ca 0.6% (Ca の大部分は CaCO_3) の飼料を自由に摂取させた。水は脱Ca水を自由に飲ませた。動物は1匹ずつ代謝ケージにて飼育し、妊娠期間中の摂食量を測定する一方、採尿、採便を行い窒素およびCa出納を求めた。動物は妊娠22日目に断頭屠殺し、受胎物および母体のCa量や母体右大腿骨のCa量を測定した。窒素の測定はセミミクロキルダール法を、Ca測定は原子吸光法を用いた。

結果と考察

1. 摂食量、体重および飼料効率

妊娠期間中の摂食量および体重変化を Fig. 1 に示した。SPI食およびカゼイン食を投与された妊娠動物

Table 1. Composition of experimental diets (g)

	20% Casein	20% SPI
Casein	20.0	—
SPI(Fujipro-R)	—	20.0
Starch	44.5	44.5
Sucrose	22.2	22.2
Corn oil	5.0	5.0
Salt mixture	5.0	5.0
Vitamin mixture	1.3	1.3
Cellulose powder	2.0	2.0
L-Methionine	0.3	0.6
Calcium	0.59	0.58
Phosphorus	0.51	0.46
Ca/P	1.16	1.26

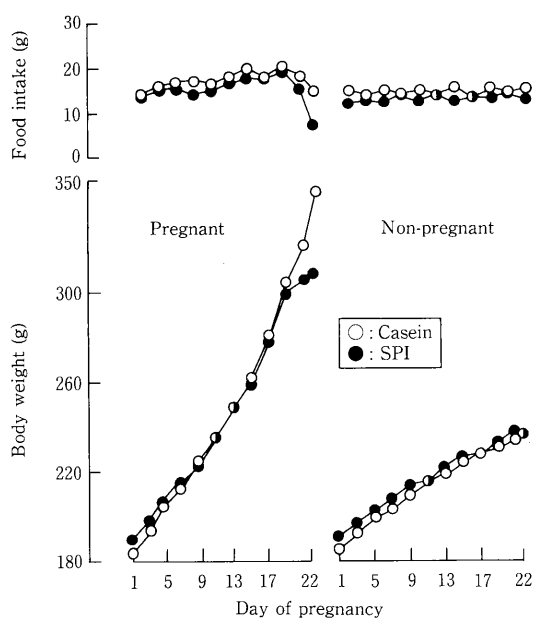


Fig. 1 Changes in food intake and body weight

の摂食量はいずれも妊娠日齢が進むにつれ増加したが19日目以後は減少し、その程度はSPI群がカゼイン群より大きく、これが体重増加にも影響を与えた。

Table 2に妊娠各期の摂食量および妊娠全期間中の摂食量を示した。SPI群の摂食量は各期とも、カゼイン群より若干少なく、また妊娠群は非妊娠群より多かった。その結果、妊娠全期間の摂食量はカゼイン妊娠群の369gに比しSPI群は324gであった。また非妊娠動物ではSPI群がカゼイン群より30g低かった。

Table 3に妊娠期間中の体重変化と飼料効率を示した。妊娠16日目まではSPI群、カゼイン群とも飼料効

率は0.33で同じであったが、SPI群がカゼイン群より妊娠末期の摂食量減少が大きかったことから、妊娠期全体の飼料効率はカゼイン食より低値を示した。一方、非妊娠動物の飼料効率はいずれも0.17であった。

2. 窒素出納

妊娠期間中の窒素出納と飼料たん白の栄養価をTable 4に示した。SPI群はカゼイン群に比し摂取窒素量は低かったにもかかわらず窒素蓄積量は両群間で差はなく約3gであった。従って、生物価はSPIがカゼインより4%高値を示した。真の消化吸収率は両群間に差はなく約95~96%であった。

3. 胎仔発育

Table 5に受胎物総量と胎仔1匹当たりのCa量を示した。受胎物総量はカゼイン群の84gに比しSPI群は胎仔数が少なかったことから73gとやや低値であった。胎仔のCa量は1匹当たり約11mg弱、1腹の全胎仔のCa量は130mg前後で両飼料群間に差はなかった。関⁹⁾はわれわれの実験とほぼ同量のCa量を摂取した親から生まれた新生仔1匹のCa量は11.6mgで1腹の胎仔全量は104mgであったとし、またKaren^{ら⁵⁾}は0.6%のCaを含む16~32%のカゼイン食を投与した親から摘出した胎仔のCa含量は10.38mgで総量は141mgであったとしており、胎仔1匹のCa含量は在胎日数や胎仔数が関係するようである。

4. カルシウム出納

妊娠期間の違いがCa代謝にどのような影響を与えるかをみるため妊娠期間をI期(妊娠1日目~6日目)、II期(妊娠7日目~15日目)、III期(妊娠16日目~21日目)に分けCa出納をみた。その結果をTable 6に示した。()内にCa-freeの%SPI食投与動物の値を示した。

Table 2. Food intake during pregnancy

Day	1 – 6	7 –15	16–21	Total
	(g/day)			(g/21 days)
20% Casein				
P (7)	15.9	18.2 ²	18.5 ²	369 ²
NP (7)	14.4	14.7	15.0	309
20% SPI				
P (5)	14.7	16.2 ¹	15.0	324 ¹
NP (4)	12.5	13.5	13.7	278 ³

1, 2 : p<0.05, p<0.01 to NP group.

3 : p<0.05 to casein group.

Table 3. Changes in body weight during pregnancy

		Day			Food efficiency
		1	16	22	
20% Casein					
P	(7)	183	268 ¹	345 ¹	0.44 ¹
NP	(7)	185	225	237	0.17
20% SPI					
P	(5)	189	265 ¹	308 ^{1, 2}	0.36 ^{1, 2}
NP	(4)	191 ²	226	237	0.17

1 : p<0.01 to NP group.

2 : p<0.05 to casein group.

Table 4. Nitrogen balance and nutritive values

	Intake	Urine	Feces	Balance	B V	T D
	g/21 days					%
20% Casein						
P	10.19 ¹	6.32	0.77 ¹	3.09 ¹	45 ¹	96
NP	8.52	6.29	0.63	1.60	33	96
20% SPI						
P	8.84 ²	5.16 ²	0.81	2.87	49 ^{1, 2}	95
NP	7.69 ²	5.05 ³	0.75 ²	1.88	41 ³	94 ³

1 : p<0.01 to NP group. 2,3 : p<0.05, p<0.01 to casein group.

Table 5. Reproductive performance

	Wt of products of conception	Litter size	Fetus			
			Weight	Calcium		
				Conc.	Amount	Total
	g		g	mg/g	mg	mg
20% Casein	83.7	13.0	4.91	2.13	10.46	135
20% SPI	72.6	11.4	4.59	2.39	10.93	127

Table 6. Calcium balance in different periods of pregnancy

		Intake + Feces		Urine	Balance	Absorption	
						Apparent	Net
				mg/day		%	
20% Casein							
P	I	93.0	50.8	6.9	36.2	46	52
	II	107.6 ³	63.6	6.4 ³	35.6	41	42
	III	109.2 ³	73.2 ²	7.2 ³	28.8	33	34
NP	I	85.4	50.7	5.4	29.3	41	57
	II	86.9	57.0	3.6	26.4	34	37
	III	88.9	60.3	3.7	25.0	32	33
20% SPI							
P	I	85.2	51.7(6.3) ¹	2.3 (1.3)	31.2 ²	39	47
	II	94.2 ²	65.9(1.2)	2.3 ^{3,5} (0.9)	26.0	31	32
	III	87.0	69.7(0.5)	3.6 ^{3,5} (0.9)	13.7 ⁴	17 ⁴	18
NP	I	72.4 ⁴	51.9(13.5)	1.5 (1.1)	19.0	29 ⁴	48
	II	78.0	55.7(2.1)	1.1 ⁴ (0.4)	21.2	29	31
	III	79.2	62.3(0.9)	1.7 (0.2)	15.2 ⁵	21	22

1: Values obtained from rats fed calcium-free diet.

2, 3: $p < 0.05$, $p < 0.01$ to NP group. 4, 5: $p < 0.05$, $p < 0.01$ to casein group.

I: Days 1-6. II: Days 7-15. III: Days 16-21.

Table 7. Calcium balance during pregnancy

						Absorption	
						Apparent	Net
mg/21 days						%	
20% Casein							
P	2187 ²	1337	141 ¹	709	39	41	
NP	1828	1174	87	568	36	42	
20% SPI							
P	1880 ³	1322	55 ^{1,4}	503 ³	30	33 ³	
NP	1612 ³	1186	29 ³	396 ⁴	27 ⁴	33	

1, 2: $p < 0.05$, $p < 0.01$ to NP group.

3, 4: $p < 0.05$, $p < 0.01$ to casein group.

カゼイン食投与妊娠群ではCa摂取の増加がIII期まで続くのに比し、SPI群ではIII期の摂食量減少のためCa摂取も低下した。糞中のCa量はいずれの群においても妊娠日齢が進むと増加し、みかけの消化吸収率も次第に低下し、関⁹⁾の妊娠ラットのCa出納の結果と同傾向を示した。また尿中のCa量はいずれも妊娠III期に増加傾向がみられた。このようにカゼイン食群に比しSPI食群の糞中Caが多く、尿中Ca量が低い傾向は吉田⁷⁾の発育期ラットを用いた結果と一致し、飼料たん白がCa代謝に何らかの影響を与えていること

を示唆している。

妊娠時のCa蓄積量は妊娠日齢が進むにつれ減少しCa出納やCa吸収率からみた限りにおいては母体のCa蓄積、利用の時期と胎仔のCa要求の時期とは一致しなかった。以上の妊娠各期の結果を一括して妊娠全期間の値としてTable 7に示した。

SPI食投与妊娠群の摂取Ca量はカゼイン群に比し低いが糞中Ca量は両群に差はなく、従ってSPI群のみかけのCa吸収率は30%でカゼイン群の39%より低い傾向にあった。尿中Ca量はカゼイン群の約1/2であ

Table 8. Weight, composition and calcium content of femur

	Weight		Water	Fat	Ash	Calcium		
	Wet	Dry				Conc ¹	Conc ²	Total
	mg		%	dry	%	mg/g		mg
20% Casein								
P	489	325	33.4	2.0	64.6 ³	210	214	68.4
NP	486	336	30.9	2.1	65.8	220	223	73.9
20% SPI								
P	595 ^{3,4}	357 ⁴	40.0 ⁴	3.7 ⁴	59.4 ⁴	187	195	66.7
NP	548 ⁴	340	37.9 ⁴	2.9 ⁴	60.8 ⁴	190	194	64.8
Day 1	424	276	34.8	1.5	63.7	209	214	57.8

1: Ca/dry weight.

2: Ca/fat-free dry weight.

3: p<0.05 to NP group.

4: p<0.01 to casein group.

Table 9. Calcium distribution of pregnant and non-pregnant animals

	20% Casein		20% SPI	
	P	NP	P	NP
	mg	mg	mg	mg
Carcass	2263	2275	2317	2365
Organs	0.56	0.40	0.46	0.33
Conception products : Fetuses	135		127	
Others	0.71	0.03	0.71	0.03
Total	2399	2276	2445	2365

った。Ca 蓄積量は SPI 群がカゼイン群に比べ妊娠群で200mg, 非妊娠群で約170mg低かった。またいずれの飼料群においてもみかけの Ca 吸収率は妊娠時には亢進した。

5. 母体大腿骨の Ca 含量と体内 Ca 分布

Table 8 に母体右大腿骨の Ca 分析値を示した。SPI 群の大腿骨重量は湿, 乾ともカゼイン群に比し重く, 灰分率は低かった。また大腿骨中の Ca 量はカゼイン群に比し乾あるいは脱脂乾重量でも低い傾向にあった。大腿骨中の Ca 含量と妊娠の有無との関係は明確にはできなかった。

Table 9 に屠体および臓器等の Ca を分析し whole body としての値を示した。SPI 群の屠体中の Ca 量はカゼイン群に比し妊娠群54mg, 非妊娠群で90mg多かった。しかし, 他部分の Ca 量はほぼ同じであった。また妊娠群の Ca 量は非妊娠群よりほぼ胎仔分だけ多く蓄積していた。しかし Ca 出納の結果 (Ca 蓄積量は

SPI 群<カゼイン群) とは一致せずこれらの原因については現在検討中である。

要 約

飼料中たん白源の差が妊娠動物の Ca 代謝に与える影響を検討するため, 飼料中の Ca 量を0.6%にした20% SPI 食または20%カゼイン食を妊娠動物に投与し, 妊娠期間中の Ca 出納や胎仔 Ca 量を測定した。その結果,

1. SPI 食妊娠群はカゼイン群に比し, 妊娠後期の摂食量低下が大きく, 体重増加量や飼料効率が低下した。
2. SPI 食およびカゼイン食投与動物の胎仔形成に差はなく, また胎仔中の Ca 量にも差はなかった。
3. SPI 群の妊娠期間中の窒素蓄積量はカゼイン群より若干低かったが生物価は高値を示した。
4. 妊娠動物の Ca 吸収率は妊娠日齢とともに低下し,

また Ca 蓄積量も低下して胎仔の Ca 要求の時期とは一致しなかった。

- 5) SPI 群の妊娠期間中の Ca 蓄積量はカゼイン群より約200mg低く、また妊娠群は非妊娠群よりほぼ胎仔分だけ多く蓄積したが、母体大腿骨の Ca 量に差は認めなかった。

文 献

- 1) 五島孜郎(1979) : カルシウムの腸管吸収とその影響因子. 栄養と食糧, **32**, 1-11.
- 2) Whiting, S.J. and Draper, H.H. (1981) : Effect of a chronic acid load as sulfate or sulfur amino acids on bone metabolism in adult rats. *J. Nutr.*, **111**, 1721-1726.
- 3) Zemel, M.B., Schvette, S. A., Hegsted, M. and Linkswiler, H.M. (1981) : Role of the sulfur-containing amino acids in protein-induced hypercalciuria in men. *J. Nutr.*, **111**, 545-552.
- 4) 関博磨(1971) : 飼料中のカルシウム含量が妊娠白ネズミのカルシウム, リンおよびマグネシウム代謝におよぼす影響. 第2報 胎仔の無機質含量. 栄養学雑誌, **29**, 129-132.
- 5) Graves, K.L. and Wolinsky, I. (1980) : Calcium and phosphorus metabolism in pregnant rats ingesting a high protein diet. *J. Nutr.*, **110**, 2420-2432.
- 6) 関博磨(1971) : 白ネズミの妊娠時におけるカルシウム, リンおよびマグネシウム代謝. 栄養と食糧, **24**, 263-268.
- 7) 吉田勉, 枝川純子(1978) : ちっ素および無機質の出納に及ぼすカゼインと分離大豆たん白質の影響. 栄養学雑誌, **36**, 245-252.