

発育期ラットのカルシウム利用に対する分離大豆たん白質，カゼイン，卵白の影響

EFFECT OF SOY PROTEIN ISOLATE, CASEIN AND EGG WHITE ON CALCIUM UTILIZATION IN GROWING RATS

新山喜昭・坂本貞一・上西一弘（徳島大学医学部）

Yoshiaki, NIIYAMA, Sadaichi SAKAMOTO and Kazuhiro UENISHI

Department of Nutrition, School of Medicine, The University of Tokushima,
Tokushima 770

ABSTRACT

Effects of different sources of protein and calcium on calcium utilization in growing rats were investigated by a balance method. Rats of the Wistar strain, weighing about 90 g, were fed on one of the six diets containing SPI, casein or egg white as a protein source and crystalline CaCO_3 or egg shell as a calcium source for 3 weeks. Levels of protein and calcium in the diets were 20% and 0.6%, respectively. L-Methionine was supplemented to casein and SPI diets at levels of 0.3% and 0.6%, respectively. Food consumption of rats receiving SPI diet with pure CaCO_3 was less than that of rats on casein diet with CaCO_3 . However, food intakes were comparable in both protein diet groups when egg shell was used as the calcium source. Rats fed on egg white diets showed least food intake among three protein diet groups, regardless of dietary calcium sources. Although calcium intakes of the respective groups of animals were varied appreciably from 1550 to 2250 mg/21 days in proportion to their food intakes, differences in calcium retention among the groups were relatively slight and the rats retained about 1000 to 1100 mg of calcium during the period. This is partly due to increased absorption in animals showing less calcium intake. Calcium absorption rates of pure CaCO_3 in casein, SPI and egg white diets were 52, 56 and 67%, respectively and those of egg shell were 54, 59 and 70%, respectively. Reasons why calcium in egg shell was efficiently utilized are obscure. Average calcium contents in femur of respective diet groups of animals were identical, however, significant correlations between absorbed calcium and retained calcium and between retained calcium and calcium contents in femur were observed. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn* 6, 45-50, 1985.

前報¹⁾で妊娠ラットとその対照非妊娠ラットに対し分離大豆たん白質 (SPI) 食にカルシウム (Ca) 源として卵殻を用いた飼料を投与した場合、結晶炭酸カルシウム使用時より Ca の見掛けの吸収率や Ca 蓄積量が大きく、大腿骨への Ca 蓄積も高くなる傾向にあることを示した。

今回 Ca 源は前回同様（炭酸カルシウムと卵殻粉）

とし、たん白質源として SPI、カゼイン及び卵白の 3 種を用い、これらを組み合わせた実験食の一つを発育期のラットに投与して Ca の吸収利用に及ぼすたん白質源や Ca 源の違いを観察した。

実験方法

体重約 90 g の Wistar 系雄ラットに Table 1 に示し

Table 1. Composition of experimental diets

Calcium source	Pure CaCO ₃			Egg shell		
Protein source	Casein ¹	SPI ²	EW	Casein ¹	SPI ²	EW
Designation	CaCO ₃ -C	CaCO ₃ -S	CaCO ₃ -E	Es-C	Es-S	Es-E
Casein	20.0	—	—	20.0	—	—
SPI (Fujipro-R)	—	20.0	—	—	20.0	—
Egg white (EW)	—	—	20.0	—	—	20.0
		{ Starch 44, sucrose 22, corn oil 5, vitamin mixture 1.3, cellulose 2 }				
Salt mixture	5.0	5.0	5.0	3.5 ³	3.5 ³	3.5 ³
Egg shell ⁴	—	—	—	1.6	1.6	1.6
Found (%)						
Ca	0.60	0.59	0.56	0.56	0.55	0.55
P	0.50	0.50	0.41	0.52	0.52	0.40
Ca/P	1.2	1.2	1.4	1.1	1.0	1.4
N	2.74	2.74	2.73	2.74	2.68	2.73

1: 0.3% Methionine supplemented.

2: 0.6% Methionine supplemented.

3: Harper's mineral mixture without CaCO₃ and CaHPO₄.

4: Contained (%) Ca, 37.7; P, 0.11; Mg, 0.38 and Na, 0.1.

た 0.6% の Ca を含む 20% たん白質食を 3 週間自由に摂取させた。実験食のたん白質源には、SPI (S)、カゼイン (C) 及び卵白 (E) を、Ca 源に炭酸カルシウム (CaCO₃) 及び卵殻粉 (Es) を用い、これらを組み合わせた合計 6 種 (炭酸カルシウム-カゼイン, CaCO₃-C; 炭酸カルシウム-SPI, CaCO₃-S; 炭酸カルシウム-卵白, CaCO₃-E; 卵殻-カゼイン, Es-C 卵殻-SPI, Es-S, 卵殻-卵白, Es-E) のうちの一つを動物に投与した。

塩混合はハーバー組成のものを用いた。飼料中の Ca 量は 0.6% を目標としたが実測値は 0.55~0.60% であった。また卵白のリン (P) 量が少なかったので卵白食の Ca/P 比は 1.4 と他に比べ僅かに高くなった。

ラットは実験期間中、代謝ケージ内で飼育し、この間毎日体重と摂食量を測定するとともに 3 日単位で採尿、採便し、窒素 (N)、P 及び Ca 出納を求めた。

動物は 22 日目に断頭、採血した後、大腿骨を摘出して Ca 及び P 量を測定した。各測定法は前回¹⁾と同様である。

結 果

1. 摂食量、体重増加量及び飼料効率

各種実験食投与動物の摂食量及び体重の経日変化を Fig. 1 に示した。各群共、発育に伴い摂食量を増加した。しかし、卵白群は他の 2 群に比し摂食量も少なく体重増加も劣っていた。

Table 2 に実験期間 (21 日間) 中の摂食量、体重増加量及び飼料効率を示した。炭酸カルシウムを用いた場

合、SPI 投与群 (CaCO₃-S) の総飼料摂取量は 317 g でカゼイン群 (CaCO₃-C) の 373 g より低く、卵白群 (CaCO₃-E) の 274 g より高かった。各群の体重増加量は摂食量に比例しており、従って飼料効率は 3 群間で差はなく 0.44~0.46 であった。

一方、卵殻を用いた場合、SPI 群 (Es-S) は 349 g を摂食し、167 g の体重増加を示したが、これはカゼイン群 (Es-C) のそれと大差なく飼料効率は 0.48 であった。この効率は炭酸カルシウムを用いた時よりやや高値であった。これらに対し卵白群 (Es-E) の摂食量、体重増加量及び飼料効率はいずれも他の 2 群に比べて低く、炭酸カルシウムを用いた際と同じであった。

2. 窒素出納

炭酸カルシウムを用いた際、SPI 群 (CaCO₃-S) の N 摂取量 (8660 mg)、N 蓄積量 (4402 mg) は CaCO₃-C 群のそれら (10220 mg 及び 4952 mg) より少なかったが、卵殻食では Es-S 群、Es-C 群の摂取量、蓄積量はほぼ同じであった。一方、いずれの Ca 源を用いた際にも卵白群の摂取量は SPI 群やカゼイン群より低かったが、見掛けの消化吸収率は 94~95% と高く、N 蓄積量は SPI 群やカゼイン群に近い量を示した。SPI の見掛けの消化吸収率は Ca 源に関係なく約 91% でカゼインや卵白より低かったが、N 蓄積率は卵白 > SPI > カゼインの順であった。

3. リン出納

Table 3 に P 出納の成績を示した。P 蓄積量はいずれのたん白質においても卵殻群が炭酸カルシウム群よ

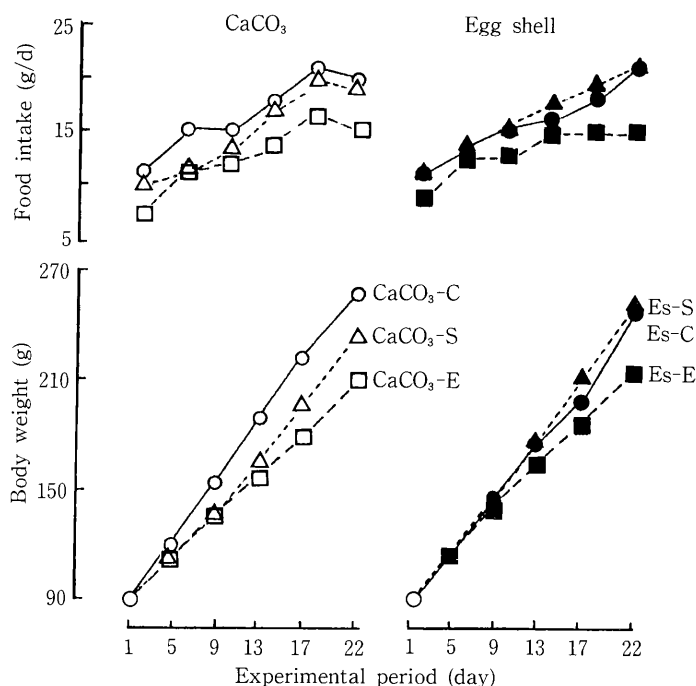


Fig. 1. Food intake and changes in body weight

Table 2. Food intake, body weight gain and food efficiency

	No.	Body weight		Weight gain	Food intake	Food efficiency
		Day 1	Day 22			
		g	g	g/21 days		
CaCO ₃ -C	(8)	91±2	259± 9	168± 9	373±12	0.45±0.02
CaCO ₃ -S	(8)	90±1	234±22 ¹	145±22 ¹	317±26 ¹	0.46±0.05
CaCO ₃ -E	(7)	90±1	210±22 ²	120±23 ²	274±36 ²	0.44±0.03
Es-C	(7)	89±2	251±18	161±17	338±26 ⁵	0.48±0.02 ⁵
Es-S	(7)	90±2	257±19	167±18	349±25 ⁵	0.48±0.03
Es-E	(7)	91±2	214±16 ³	123±16 ³	287±18 ⁴	0.43±0.04 ⁴

Each value represents the mean±SD. 1, 2: $p<0.05$, $p<0.01$ to CaCO₃-C group. 3, 4: $p<0.05$, $p<0.01$ to Es-C group. 5: $p<0.05$ to CaCO₃-E group.

り多く、また卵白を用いた際には吸収率を高め糞中排出量を減じることにより、SPI、カゼインと比肩すべき量の蓄積を示すことが明らかとなった。

4. カルシウム出納

Table 3 に出納データを示した。炭酸カルシウムを与えた各群のCa摂取量はCaCO₃-C群>CaCO₃-S群>CaCO₃-E群の順であったが、Caの見掛けの吸収率は逆にCaCO₃-E群>CaCO₃-S群>CaCO₃-C群であり、その結果、3群の蓄積量はそれぞれCaCO₃-C群、1100 mg; CaCO₃-S群、1003 mg; CaCO₃-E群、972 mg となり摂取量で見られる程の大きな差はなかった。

一方、卵殻を用いた場合、Es-S群の見掛けのCa吸

収率は59%であり、ほぼ同量のCaを摂取したカゼイン群(Es-C)の56%より高い傾向にあった。このことはSPI食投与妊娠ラットにおいて卵殻をCa源に用いると炭酸カルシウム使用時よりCa利用が良かったという前回¹⁾の結果と相通じる所見である。

さらに卵白群ではCa摂取量は他の2群より有意に低かったが、見掛けの吸収率を上げることにより他の2群とほぼ同量のCaを蓄積した。またいずれのたん白質源においても卵殻カルシウムの見掛けの吸収率や蓄積率はCaの摂取量と無関係に炭酸カルシウムを用いた時より3~4%高くなる傾向にあった。

5. 血清カルシウム濃度及びそ大腿骨カルシウム量

各種実験食を投与した動物の血清Ca及びP濃度と

Table 3. Nitrogen, phosphorus and calcium balances

	Intake	Feces	Urine	Balances	Apparent absorption	Retention
	mg/21 days				%	%
Nitrogen						
CaCO ₃ -C	10220±332	689±24	4579±201	4952±233	93±0.2	48±2
CaCO ₃ -S	8660±705 ²	775±55 ²	3484±419 ²	4402±590 ¹	91±0.3 ²	51±5
CaCO ₃ -E	7470±984 ²	443±59 ²	2630±367 ²	4397±633 ¹	94±1 ²	59±2 ²
Es-C	9256±707 ⁶	604±62 ⁶	3811±317 ⁶	4841±357	94±1	52±1 ⁶
Es-S	9355±661	813±64 ⁴	3506±370	5036±346 ⁵	91±0.3 ⁴	54±2
Es-E	7829±493 ⁴	422±59 ⁴	2887±149 ⁴	4520±404	95±0.4 ⁴	58±2 ⁴
Phosphorus						
CaCO ₃ -C	1859±60	529±29	691±34	639±30	72±1	34±1
CaCO ₃ -S	1592±130 ²	414±39 ²	618±60 ¹	560±81 ¹	74±2 ¹	35±3
CaCO ₃ -E	1113±147 ²	174±27 ²	256±52 ²	683±96	84±3 ²	61±3 ²
Es-C	1768±135	426±41 ⁶	555±45 ⁶	786±73 ⁶	76±2 ⁶	44±2 ⁶
Es-S	1852±128 ⁶	471±43 ⁵	597±74	783±32 ⁶	75±6	42±2 ⁶
Es-E	1155±73 ⁴	178±20 ⁴	234±21 ⁴	743±59	85±2 ⁴	64±2 ^{4,5}
Calcium						
CaCO ₃ -C	2247±73	1077±56	70±22	1100±38	52±1	49±2
CaCO ₃ -S	1864±152 ²	812±68 ²	50±6 ¹	1003±101 ¹	56±2 ²	54±2 ²
CaCO ₃ -E	1542±203 ²	510±56 ²	60±22	972±124 ¹	67±3 ²	63±4 ²
Es-C	1880±143 ⁶	858±82 ⁶	33±10 ⁶	989±110 ⁵	54±3	53±3 ⁶
Es-S	1910±135	779±93	38±7 ⁶	1093±110	59±4	57±4 ³
Es-E	1582±100 ⁴	474±56 ⁴	44±20	1064±69	70±3 ⁴	67±3 ⁴

Each value represents the mean±SD. 1, 2: p<0.05, p<0.01 to CaCO₃-C group. 3, 4: p<0.05, p<0.01 to Es-C group. 5, 6: p<0.05, p<0.01 to CaCO₃ group.

大腿骨の Ca, P の分析結果を Table 4 に示した。血清 Ca 濃度は CaCO₃-C 群で若干高かったが、10.9~11.9 mg/100 ml の範囲にあった。また血清 P 濃度は 8.8~10.2 mg/100 ml の範囲にあった。

骨への Ca 沈着状況を知るための大腿骨を分析した結果、乾燥重量、脱脂乾燥重量や灰分重量は CaCO₃-E 群が他の 5 群に比し幾分低い傾向にあった。しかし、大腿骨の平均 Ca 含量は 6 群間に差はなく 58 mg 前後であった。

6. カルシウム摂取とカルシウム蓄積の関係

Fig. 2 は実験に用いた発育期ラットの全例(n=44)

につき Ca 摂取量と見掛けの Ca 吸収率、Ca 吸収量と Ca 保留量及び Ca 保留量と大腿骨 Ca 量との関係について示したものである。

まず、Ca 摂取量 (Y) と見掛けの吸収率 (X) の関係をみると両者間に負の相関関係 (r=-0.72) がみられた。このことは Ca 摂取量の低い場合には腸管からの Ca 吸収を高めることによりなるべく多くの Ca を確保しようとしていることを示すものである。次に吸収 Ca 総量 (Y) と体内保留 Ca 総量 (X) との関係をみると有意の正相関 (r=0.98) がみられる。この所見は吸収 Ca のうちごく一部しか尿中に排泄されないことから

Table 4. Calcium and phosphorus contents in serum and femur

	Serum		Femur			Femur Ca		Femur P	
	Ca	P	Dry wt.	Defat. wt.	Ash wt.	Conc. ¹	Total	Conc. ¹	Total
	mg/100 ml		mg			mg/g	mg	mg/g	mg
CaCO ₃ -C	11.9±0.4	10.1±0.3	308±7	298±7	163±4	197±6	58.6±2.5	98±2	29.3±1.2
CaCO ₃ -S	11.5±0.4	10.2±0.5	294±22	288±22	163±14	196±2	56.4±4.1	100±3	28.6±1.6
CaCO ₃ -E	10.9±0.4 ³	8.8±0.5 ³	285±25 ²	278±23 ²	153±12 ²	206±4 ³	57.4±4.5	93±17	25.7±2.0 ³
Es-C	10.9±0.4 ⁶	10.0±0.5	294±16 ⁵	288±16	155±10	199±4	56.3±3.4	91±8 ⁶	26.3±1.5 ⁶
Es-S	11.2±0.2	9.7±0.3	297±13	291±13	158±8	201±5	58.5±3.1	92±13	26.7±1.3 ⁵
Es-E	11.2±0.3	9.8±0.3 ⁶	289±13	282±14	158±8	210±4 ⁴	59.2±2.4	93±18	26.3±1.3

Each value represents the mean±SD. 1: amount per fat free dry weight. 2, 3: p<0.05, p<0.01 to CaCO₃-C group. 4: p<0.01 to Es-C group. 5, 6: p<0.05, p<0.01 to CaCO₃ group.

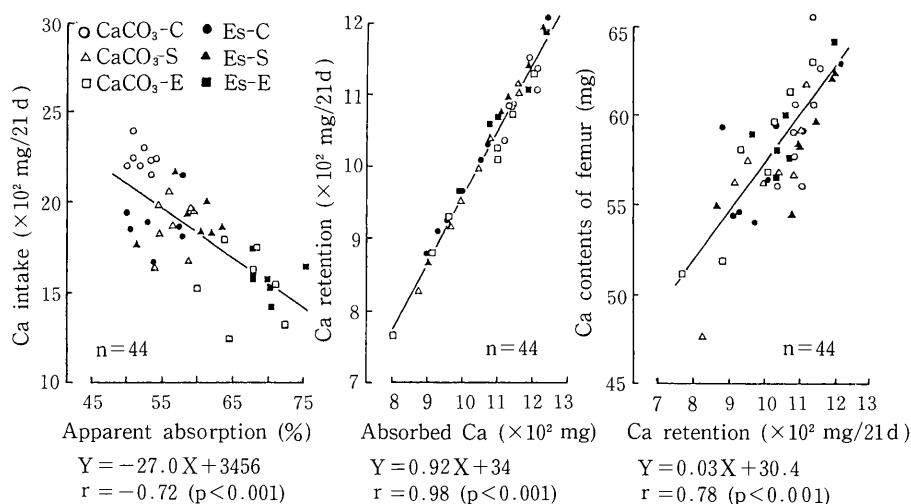


Fig. 2. Relation of Ca intake to Ca retention

十分予測される結果である。更に大腿骨の Ca 含量 (Y) と体内保留 Ca 総量 (X) との間に正相関 ($r=0.78$) がみられたことは骨が重要な Ca 貯蔵源であることを示している。前述したように出納実験や大腿骨の分析結果の平均値からは群間に大差はみられなかったが、個々にみると出納結果を反映し Ca 蓄積の多い動物では骨 Ca も多いことがわかった。

考 察

Ca 吸収利用に対する生体側の生理的要因や食事性因子との関係については従来いくつかの報告があり、我々も妊娠時の Ca 利用について既に報告²⁾を行い、妊娠前期に母体に蓄積した Ca が後期の胎仔形成に利用されることを示した。また食事性因子としては、たん白質、脂肪、フィチン酸や脂肪酸等の共存化合物やまた Ca 塩の形態等が関係することが知られている。本実験では発育期ラットの Ca の吸収利用に及ぼすたん白質の質及び Ca 源の影響について検討した。

Ca の吸収利用にはたん白質の量及び質が関与している。まず量的な面については食餌たん白質レベルを上げると Ca の体内蓄積量が増加するという五島と関³⁾や Frandsen ら⁴⁾の報告がある。しかし Allen ら⁵⁾は高たん白質食摂取は負の Ca 出納値を与えることを示している。

次にたん白質の質と Ca 代謝との関係をみた吉田ら⁶⁾は SPI 食投与ラットの Ca の吸収利用はカゼイン食投与群に比し劣るとしている。内藤ら⁷⁾はカゼイン食摂取ラットの Ca 吸収が SPI のそれより高いのは小腸内でのカゼインホスホペプチドによる Ca 不溶化阻止作用が大きいことによるとした。黒田⁸⁾は犬の腸管

を用いて各種たん白質加水分解物と Ca 吸収との関係を求め、森⁹⁾の個々のアミノ酸と Ca 吸収の結果と照合し、たん白質のアミノ酸組成が Ca 吸収に影響することを示した。我々の実験では SPI、カゼインに対し第 1 制限アミノ酸のメテオニン (Met) を補足し、たん白質の質的改善を計った結果、摂食量の異なる炭酸カルシウム食では単純に比較できないが摂食量のはぼ等しい卵殻食では SPI 群より若干高い傾向にあった。またこの Met 補足群の Ca 吸収率や蓄積率はその後行った Met 未添加 SPI 群のそれらより高い傾向にあった (未発表)。速水ら¹⁰⁾と Chang ら¹¹⁾によるとグルテン食に第 1 制限アミノ酸のリジン (Lys) を補足するとたん白質の質的改善に伴い骨への Ca 蓄積が増すという。Met⁹⁾や Lys¹²⁾は Ca の吸収促進作用をもっとされているが添加量の増加だけでは説明できず、むしろ Met や Lys の添加によるたん白質の質的改善効果が Ca の吸収利用になんらかの影響を及ぼしたと考えられる。

Ca 塩とその利用度についてもこれまでいくつかの報告¹³⁻¹⁵⁾があるが、炭酸カルシウムや乳酸カルシウムなどの純 Ca 化合物でもその利用については一定の結論が得られていない。一方 Ca の複合体についての研究で、Lawrence ら¹⁶⁾は人において粉乳の Ca は硫酸カルシウムに比し利用度が大であるとし、速水¹⁷⁾のカキガラ粉末や脱脂粉乳の Ca 利用のデータも純 Ca 化合物に比し低値を示していない。前回の妊娠ラット実験の結果¹⁾、あるいは今回の発育期のラットの実験結果はいずれも卵殻カルシウムは炭酸カルシウムより Ca の吸収利用が良い傾向にあった。卵殻カルシウムの有効性の原因については現在のところ不明で今後の検討課題である。

要 約

Ca 要求の高い発育期のラットにたん白質源として SPI, カゼイン及び卵白を, Ca 源として炭酸カルシウム又は卵殻粉を用い, それらを組み合わせた合計 6 種類の 0.6% Ca を含む 20% たん白質食を 3 週間投与し, Ca 吸収利用に及ぼすたん白質源, Ca 源の影響を主に出納実験で検討した。

その結果,

1. SPI 群の摂食量はカゼイン群に比し炭酸カルシウム食で少なく, 卵殻食では差は無かった。しかし, Ca 源と無関係に卵白群よりはいずれも大であった。
2. 各群の Ca 摂取量は摂食量の差に応じ異なっていたが, 吸収率をかえることにより, いずれの群も約 1000 mg/3 週間の Ca 蓄積を示した。
3. 見掛けの Ca 吸収率及び Ca 蓄積率は Ca 源とは無関係に卵白 > SPI > カゼインの順であったが, Ca 源に卵殻を用いると炭酸カルシウム使用時よりこれらは 3 ~ 4% 高くなる傾向にあった。
4. 大腿骨の Ca 含量は出納結果を反映し, 全群共, 58 mg 前後でたん白質源や Ca 源による差は認められなかったが個々には出納結果を反映し, 蓄積量の多い動物では骨 Ca が多いことがわかった。

文 献

- 1) 新山喜昭, 坂本貞一(1984): 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, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **5**, 53-58.
- 2) Lai, A., Ito, K., Komatsu, K. and Niiyama, Y. (1984): Effects of various levels of dietary calcium during pregnancy on maternal calcium utilization and fetal growth in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 285-295.
- 3) 五島孜郎, 関 博磨(1968): ラットの Ca, P 代謝におよぼす食餌性たん白質および Mg レベルの影響. (第 1 報) 出納試験成績について. 栄養と食糧, **20**, 382-386.
- 4) Frandsen, A. M., Nelson, M. M., Sulon, E., Becks, H. and Evans, H. M. (1954): The effects of various levels of dietary protein on skeletal growth and endochondral ossification in young rats. *Anat. Rec.*, **119**, 247-265.
- 5) Allen, L. H., Oddoye, E. A. and Margen, S. (1979): Protein-induced hypercalciuria: a longer term study. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 741-749.
- 6) 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.
- 7) Lee, Y. S., Noguchi, T. and Naito, H. (1983): Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein or amino acid mixture: the role of casein phosphopeptides. *Br. J. Nutr.*, **49**, 67-76.
- 8) 黒田正清(1955): Ca の腸管吸収に就いて. たん白質の Ca 吸収に及ぼす影響. 生化学, **27**, 99-100.
- 9) 森 昭胤(1955): Ca の腸管内吸収に就いて (第 2 報). Ca の腸管内吸収に及ぼすアミノ酸, 糖, 脂肪酸及び有機酸の影響について. 生化学, **26**, 656-660.
- 10) 速水 決, 篠 閑彦, 下斗米敦子, 松野ゆき(1968): たん白質の優劣がラットの骨形成に及ぼす影響について. 国立栄養研究所報告, 昭和 41 年度, 34-37.
- 11) Chang, Y. O. and Chao, N. (1969): Influence of various levels of lysine intake on weight gain and body composition of rats. *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 48-50.
- 12) Wasserman, R. H., Comar, C. L. and Nold, M. M. (1956): The influence of amino acids and other organic compounds of the gastrointestinal absorption of calcium⁴⁵ and strontium⁸⁹ in the rat. *J. Nutr.*, **59**, 371-392.
- 13) Patton, M. B. (1946): Further experiments on the utilization of calcium from salts by college women. *J. Nutr.*, **55**, 519-526.
- 14) 沢村経子, 五島孜郎(1973): 投与 Ca 塩の形態と Ca, P 吸収の関係. 栄養と食糧, **26**, 365-369.
- 15) Spencer, H., Scheck, J., Lewin, I. and Samachson, J. (1966): Comparative absorption of calcium from calcium gluconate and calcium lactate in man. *J. Nutr.*, **89**, 283-292.
- 16) Lawrence, J. S., William, M. C. and Arthur, H. S. (1946): The utilization of calcium in soybean products and other calcium sources. *J. Nutr.*, **32**, 413-422.
- 17) 速水 決(1964): カルシウム代謝をめぐる諸問題. 栄養学雑誌, **22**, 71-93.