

カフェインによる尿中カルシウム排泄増大と食餌大豆たん白質との関係

EFFECT OF SOYBEAN PROTEIN ISOLATE ON CAFFEINE-INDUCED HYPERCALCIURIA IN RATS

佐伯 茂・杉山公男・杉浦由幸・山中哲央・田中由佳里（静岡大学農学部）

村松敬一郎（名古屋女子大学家政学部）

Shigeru SAEKI¹, Kimio SUGIYAMA¹, Yoshiyuki SUGIURA¹, Norio YAMANAKA¹, Yukari TANAKA¹ and Keiichiro MURAMATSU²

¹Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka 422,

²Faculty of Home Economics, Nagoya Women's University, Nagoya 467

ABSTRACT

The present study was undertaken to examine the effects of dietary proteins on caffeine-induced hypercalciuria in rats. When caffeine was added to a 25% casein diet at the graded levels (0.10–0.30%), the urinary calcium (Ca) excretion was significantly increased at the levels of 0.25 and 0.30% of caffeine. Caffeine also exhibited a decrease in breaking force of femur. When 0.30% caffeine was added to the diet containing one of various proteins such as casein, sardine protein, soybean protein isolate and wheat gluten adjusted the nitrogen content of each diet to the same level as that in the 25% casein diet, the urinary Ca excretion was significantly higher in rats fed wheat gluten than in those fed the other proteins. The addition of caffeine to a high protein diet containing casein produced a significant increase in the urinary Ca excretion in rats fed a high protein diet containing soybean protein isolate. The urinary Ca excretion was not correlated with the sulfur amino acid content of the proteins used here. These findings indicate that the caffeine-induced hypercalciuria would be modulated by the type and the level of dietary protein, although the effect of dietary protein appears not to be related to differences in the sulfur amino acid content. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **13**, 70-75, 1992.

カフェインは茶、コーヒー、清涼飲料水などに含まれ、現代人が日常的に摂取する食品成分である。カフェインには、穏やかな脳刺激作用や強心作用があり、疲労回復など生体に有益な作用を示すが¹⁾、一方で、骨粗鬆症の危険因子である尿中 Ca 排泄を増加させることがヒトや実験動物で知られている²⁻⁵⁾。尿中 Ca 排泄量は、薬物、加齢、閉経ばかりでなく、食餌たん白質の影響も受けることが指摘されている⁶⁾。明確な結論は得られていないものの、含硫アミノ酸の多いたん白

質や、高たん白質食を摂取すると尿中 Ca 排泄量が高まるという報告がある⁷⁻⁹⁾。我々の食生活を見ると、茶やコーヒーは食事中や食事の直後に摂取する機会が多く、カフェインの尿中 Ca 排泄促進作用に対して食餌たん白質がどのような影響を及ぼすかを知ることは重要であると言える。

本研究では、まず、尿中 Ca 排泄量に対するカフェインの影響を調べた後、同時に摂取する食餌たん白質の種類や量によってカフェインの作用がどのように異

なるかについて検討した。

結 果

実 験 方 法

体重100～120 g の Wistar 系雄ラットを用い、イオン交換水と AIN-76 組成のミネラル混合物を用いた実験食を3週間自由摂取させた。実験食の基本組成を Table 1 に示す。カフェインは蔗糖と置き換えて添加した。食餌たん白質の種類を変える実験では、たん白質源にカゼイン、イワシたん白質、大豆たん白質、小麦グルテンを用い、各実験食の窒素含量が25%カゼイン食と等しくなるよう調整した。小麦グルテンには Lys を0.6%, Thr を0.2%添加した。食餌たん白質の量を変える実験では、たん白質源にカゼインと大豆たん白質を用い、大豆たん白質食の窒素含量が、25%および50%カゼイン食と等しくなるよう調整した。各実験食の Ca と P 含量は、無機の Ca と P を添加することで等しくした。飼育終了前3日間の尿と右大腿骨を採取した。尿は原子吸光光度計による Ca の測定に、右大腿骨は破断特性測定装置（飯尾電気製）による破断強度の測定に、各々用いた。

実験 1

カフェインの添加量と尿中 Ca 排泄量との関係について検討した。ラットの体重増加量、飼料摂取量、飼料効率を Table 2 に示す。ラットの体重増加量は、カフェインの添加量の増加に伴って低下し、0.15%以上添加した実験群で有意差が見られた。飼料効率はカフ

Table 1. Composition of basal diet

Ingredient	<i>g/100 g diet</i>
Casein	25
α -Corn starch	15.3
Sucrose	50
Corn oil	5
Mineral mixture*	3.5
Vitamin mixture**	1
Choline chloride	0.2

* American Institute of Nutrition (1977).

** American Institute of Nutrition (1980).

Table 2. Effects of caffeine on growth, food intake and food efficiency in rats fed a casein diet (experiment 1)

Diet	BW gain <i>g/3 wk</i>	Food intake <i>g/3 wk</i>	Food efficiency
25% Casein (C)	99 $\pm$ 6 ^a	293 $\pm$ 14 ^{ab}	0.34 $\pm$ 0.01 ^a
C+0.10% caffeine	93 $\pm$ 2 ^{ab}	308 $\pm$ 4 ^a	0.30 $\pm$ 0.00 ^b
C+0.15% caffeine	82 $\pm$ 3 ^b	304 $\pm$ 4 ^a	0.27 $\pm$ 0.01 ^c
C+0.20% caffeine	68 $\pm$ 2 ^c	292 $\pm$ 8 ^{ab}	0.23 $\pm$ 0.00 ^d
C+0.25% caffeine	61 $\pm$ 5 ^c	288 $\pm$ 16 ^{ab}	0.21 $\pm$ 0.01 ^e
C+0.30% caffeine	44 $\pm$ 4 ^d	265 $\pm$ 14 ^b	0.16 $\pm$ 0.01 ^f

Values are mean $\pm$ SEM. Values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 3. Effects of caffeine on urinary Ca, femur weight and femur breaking force in rats fed a casein diet (experiment 1)

Diet	Urinary Ca <i>mg/3 d</i>	Femur wt <i>mg</i>	Femur breaking force $\times 10^6$ <i>dyn</i>
25% Casein (C)	1.91 $\pm$ 0.10 ^b	424 $\pm$ 22 ^a	12.7 $\pm$ 0.6 ^a
C+0.10% caffeine	1.89 $\pm$ 0.15 ^b	431 $\pm$ 7 ^a	12.6 $\pm$ 0.6 ^a
C+0.15% caffeine	1.82 $\pm$ 0.24 ^b	429 $\pm$ 12 ^a	11.7 $\pm$ 0.6 ^{ab}
C+0.20% caffeine	1.64 $\pm$ 0.06 ^b	402 $\pm$ 6 ^{ab}	11.5 $\pm$ 0.2 ^{ab}
C+0.25% caffeine	9.80 $\pm$ 2.54 ^a	382 $\pm$ 11 ^{bc}	10.9 $\pm$ 0.3 ^{be}
C+0.30% caffeine	9.11 $\pm$ 3.80 ^a	361 $\pm$ 7 ^c	10.1 $\pm$ 0.4 ^c

Values are mean $\pm$ SEM. Values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

ェインを添加した全ての実験群で有意に低下した。

Table 3 に尿中 Ca排泄量と、右大腿骨の重量および破断強度を示す。尿中 Ca 排泄量は、0.25、0.30% カフェイン添加で有意に増加した。骨重量と破断強度は、0.25、0.30% カフェイン添加で有意に低下した。

実験 2

種類の異なる食餌たん白質源を摂取した時のカフェインの尿中 Ca 排泄促進作用について検討した。Table 4 に体重増加量、飼料摂取量、飼料効率を示す。カフェイン無添加時の体重増加量は実験群間で差がなかった。カフェインを添加すると、何れの実験群でも体重増加量は有意に低下したが、成長抑制の程度は食餌たん白質源の種類で異なり、小麦グルテン群では他の実験群ほど著しくなかった。カフェイン無添加時の飼料効率も、大豆たん白質群で、イワシたん白質群と小麦グルテン群に比べ有意に低かった。カフェインを添加すると、飼料効率は何れの実験群でも有意に低下した。

Table 5 に尿中 Ca 排泄量と、右大腿骨の重量およ

び破断強度を示す。カフェイン無添加時の尿中 Ca 排泄量は実験群間で大きな差はないものの、小麦グルテン群でイワシたん白質群に比べ有意に高かった。カフェイン添加時では、尿中 Ca 排泄量は何れの実験群でも有意に上昇したが、特に小麦グルテン群での上昇が著しかった。骨重量には、食餌たん白質による違いは観察されず、カフェイン添加で有意に低下した。破断強度も、カフェイン無添加時には食餌たん白質間で差はなかった。カフェインを添加すると破断強度が全実験群で有意に低下し、カゼイン群では他の実験群よりも更に有意に低下した。

実験 3

たん白質レベルの異なるカゼインと大豆たん白質を摂取した時のカフェインの尿中 Ca 排泄促進作用について検討した。Table 6 に体重増加量、飼料摂取量、飼料効率を示す。カフェイン無添加時の体重増加量は、50%カゼイン群で有意に抑制されたが、52.2%大豆たん白質群では抑制されなかった。カフェインを添加す

Table 4. Effects of caffeine on growth, food intake and food efficiency in rats fed diets containing various dietary proteins (experiment 2)

Diet	BW gain <i>g/3 wk</i>	Food intake <i>g/3 wk</i>	Food efficiency
25% Casein (C)	108±4 ^a	299±7 ^b	0.36±0.01 ^{ab}
24% Sardine Protein (SP)	115±4 ^a	304±6 ^{ab}	0.38±0.01 ^a
26.1% Soy Protein Isolate (SPI)	108±4 ^a	320±7 ^a	0.34±0.01 ^b
28.1% Wheat Gluten (WG)	113±5 ^a	296±6 ^b	0.38±0.01 ^a
C+0.30% caffeine	42±3 ^c	237±6 ^c	0.18±0.01 ^d
SP+0.30% caffeine	50±3 ^c	227±6 ^c	0.22±0.01 ^c
SPI+0.30% caffeine	52±1 ^c	232±7 ^c	0.23±0.01 ^c
WG+0.30% caffeine	62±2 ^b	244±5 ^c	0.25±0.01 ^c

Values are mean±SEM. Values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 5. Effects of caffeine on urinary Ca, femur weight and femur breaking force in rats fed diets containing various dietary proteins (experiment 2)

Diet	Urinary Ca <i>mg/3 d</i>	Femur wt <i>mg</i>	Femur breaking force $\times 10^6$ <i>dyn</i>
25% Casein (C)	2.78±0.23 ^{de}	442±12 ^a	14.3±0.4 ^a
24% Sardine Protein (SP)	2.04±0.28 ^e	456± 6 ^a	14.8±0.6 ^a
26.1% Soy Protein Isolate (SPI)	3.03±0.47 ^{de}	437± 9 ^a	14.1±0.4 ^a
28.1% Wheat Gluten (WG)	4.20±0.92 ^d	447± 8 ^a	14.6±0.5 ^a
C+0.30% caffeine	7.94±0.77 ^{bc}	375± 7 ^b	11.0±0.1 ^c
SP+0.30% caffeine	6.45±0.50 ^c	381± 8 ^b	12.5±0.4 ^b
SPI+0.30% caffeine	9.30±0.87 ^b	387± 5 ^b	12.7±0.4 ^b
WG+0.30% caffeine	12.13±0.63 ^a	400± 8 ^b	12.8±0.3 ^b

Values are mean±SEM. Values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 6. Effects of caffeine on growth, food intake and food efficiency in rats fed diets containing either casein or soybean protein isolate at different levels (experiment 3)

Diet	BW gain g/3 wk	Food intake g/3 wk	Food efficiency
25% Casein (25C)	107±3 ^a	292± 9 ^b	0.37±0.01 ^b
50% Casein (50C)	95±2 ^b	265± 4 ^c	0.36±0.01 ^{bc}
26.1% Soy Protein Isolate (26.1 SPI)	111±4 ^a	320± 8 ^a	0.35±0.00 ^{bc}
52.2% Soy Protein Isolate (52.2 SPI)	105±3 ^a	265± 5 ^c	0.40±0.01 ^a
25C+0.30% caffeine	42±2 ^d	208± 6 ^f	0.20±0.01 ^e
50C+0.30% caffeine	51±3 ^{cd}	230± 7 ^{ef}	0.22±0.01 ^{de}
26.1 SPI+0.30% caffeine	56±5 ^c	235±15 ^{de}	0.24±0.01 ^d
52.2 SPI+0.30% caffeine	86±3 ^b	258± 6 ^{cd}	0.34±0.01 ^c

Values are mean±SEM. Values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 7. Effects of caffeine on urinary Ca, femur weight and femur breaking force in rats fed diets containing either casein or soybean protein isolate at different levels (experiment 3)

Diet	Urinary Ca mg/3 d	Femur wt. mg	Femur breaking force $\times 10^6$ dyn
25% Casein (25C)	2.70±0.12 ^{cd}	532±21 ^a	12.7±0.5 ^a
50% Casein (50C)	3.68±0.29 ^{bcd}	507±11 ^a	12.6±0.7 ^a
26.1% Soy Protein Isolate (26.1 SPI)	2.08±0.23 ^{cd}	517±12 ^a	12.8±0.8 ^a
52.2% Soy Protein Isolate (52.2 SPI)	1.87±0.19 ^d	513± 7 ^a	13.4±0.3 ^a
25C+0.30% caffeine	4.92±0.68 ^{ab}	437± 5 ^c	11.1±0.3 ^b
50C+0.30% caffeine	6.74±1.47 ^a	437±10 ^c	10.5±0.2 ^b
26.1 SPI+0.30% caffeine	3.99±0.60 ^{bc}	457±20 ^{bc}	10.9±0.2 ^b
52.2 SPI+0.30% caffeine	2.98±0.38 ^{bcd}	490±16 ^{ab}	13.0±0.2 ^a

Values are mean±SEM. Values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

ると、全実験群で有意に体重増加量が抑制されたが、52.2%大豆たん白質群では他の実験群に比べると顕著ではなく、カフェイン無添加時の50%カゼイン群と同程度の成長を示した。飼料効率もカフェイン添加によって有意に低下したが、52.2%大豆たん白質群ではあまり低下せず、カフェイン無添加時の50%カゼイン群や26.2%大豆たん白質群と有意差がなかった。

Table 7 に尿中 Ca 排泄量と、右大腿骨の重量および破断強度を示す。カフェイン無添加時の尿中 Ca 排泄量は、50%カゼイン群で高い傾向にあるものの実験群間に有意な差は認められなかった。25%カゼイン群や50%カゼイン群にカフェインを与えると、尿中 Ca 排泄量は有意に増加したが、増加の程度は大きくなかった。26.1%大豆たん白質群や52.2%大豆たん白質群の尿中 Ca 排泄量は、カフェインによって増加傾向を示すものの有意ではなかった。骨重量と破断強度は、カフェイン無添加時には実験群間で有意差がなく、カフェインを添加すると52.2%大豆たん白質群を除き有意に低下した。

考 察

カフェインが尿中 Ca 排泄を増加させることは、ヒトやラットで報告されており²⁻⁵⁾、本研究でもこのことを確認した。カフェインの尿中 Ca 排泄促進の作用機構は現在のところ明らかにされていないが、Whiting と Whitney⁵⁾ は、カフェインの尿中 Ca 排泄がプロスタグランジンの合成阻害剤であるインドメタシンの投与によって抑えられたことから、カフェインの作用にプロスタグランジンが関与することを示唆している。プロスタグランジンが Ca 代謝にどの様に関わっているかは明らかではないが、興味深い指摘であると考えられる。また、Ca 代謝にビタミンDが関与しており、活性型ビタミンDは消化管からの Ca 吸収、血漿から骨への Ca 沈着、そして腎尿細管での Ca 再吸収を、それぞれ促進させる作用を有することが知られている。従って、カフェインによる尿中 Ca 排泄の増加に、ビタミンDが関与している可能性もあると考える。

カフェインによる尿中 Ca 排泄の促進作用が、摂取

する食餌たん白質の種類や量の影響を受けることが本研究で初めて明らかになった。特に、高大豆たん白質食にカフェインを添加しても、成長抑制や尿中 Ca 排泄量の増加の程度が少なく、非常に興味深い現象であると思われる。機構は不明であるが、大豆たん白質がカフェインの消化管からの吸収を抑制している可能性もあると考え、カフェインを非経口投与することにより検討することを予定している。

本研究では、カフェインが尿中 Ca 排泄を促進させるだけでなく、大腿骨の強度を低下させることを見出した。カフェインが尿中 Ca 排泄を増加させることから、骨粗鬆症を誘導する危険性が指摘されている。しかし、カフェインが骨の強度を低下させることを直接的に指摘したのは、筆者らの本研究が初めてであると思われる。カフェイン摂取時に、成長と骨重量の低下が観察された。従って、カフェインによる骨の強度の低下は骨重量の低下による可能性もある。しかし、別の実験で、カフェイン無添加25%カゼイン食とカフェイン添加25%カゼイン食の摂取量を等しくした時、大腿骨重量には両者で有意差は見られないが、破断強度はカフェインにより有意に低下することを確認している(データ未掲載)。従って、骨強度の低下は、成長抑制だけでなく Ca など骨の構成成分にカフェインが影響を与えたため発現した可能性がある。

尿中 Ca 排泄量は、食餌たん白質の質と量の影響を受け、この原因が含硫アミノ酸 (Met, Cys) 含量の違いによるとの指摘がある⁷⁻⁹⁾。含硫アミノ酸に由来する硫酸塩が腎尿細管での Ca 再吸収を阻害するという考えである。本研究で用いた食餌たん白質の Met と Cys 含量は、カゼイン、イワシたん白質、小麦グルテンではほぼ等しく、大豆たん白質の約1.5倍である。本研究では、カフェイン無添加時の尿中 Ca 排泄量には摂取する食餌たん白質の種類により大きな差は見られないものの、小麦グルテン群がイワシたん白質群に比べ有意に高かった。また、カゼインと大豆たん白質の飼料中レベルを各々50、52.2%にすると、尿中 Ca 排泄量は高カゼイン食では上昇する傾向にあったが、高大豆たん白質食では全く上昇しなかった。従って、尿中 Ca 排泄量と Met と Cys 含量とは相関が認められなかった。尿中 Ca 排泄量と、食餌たん白質レベルまたは含硫アミノ酸との関係について疑問視する報告¹⁰⁻¹³⁾もあり、統一的な見解は未だ得られていないようである。食餌たん白質の種類や量の違いによる尿中 Ca 排泄量の差異が、夾雑する P 含量の違いによるとの指摘¹²⁾があるが、本研究では食餌中 P 含量が等しくなるように無機塩で調整しているので、その可能性は少

ないように思われた。しかし、食餌たん白質中 P の存在形態は各々異なる可能性があり、今後はこの点について検討する必要があると考える。

最後に、骨の破断強度の測定にご便宜を賜りました日本女子大学家政学部教授江澤郁子先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 満利敬一郎 (1991): 茶の科学, 朝倉書店, 東京.
- 2) Massey LK and Wise KL (1984): The effect of dietary caffeine on urinary excretion of calcium, magnesium, sodium and potassium in healthy young females. *Nutr Res*, **4**, 43-50.
- 3) Yano K, Heilbrun LK, Wasnich RD, Hankin JH and Vogel JM (1985): The relationship between diet and bone mineral content of multiple skeletal sites in elderly Japanese-American men and women living in Hawaii. *Am J Clin Nutr*, **32**, 877-888.
- 4) Yeh JJ, Aloia JF, Semla HM and Chen SY (1986): Influence of injected caffeine on the metabolism of calcium and the retention and excretion of sodium, potassium, phosphorus, magnesium, zinc and copper in rat. *J Nutr*, **116**, 273-280.
- 5) Whiting SJ and Whitney HL (1987): Effect of dietary caffeine and theophylline on urinary calcium excretion in the adult rat. *J Nutr*, **117**, 1224-1228.
- 6) 細井孝之, 折茂 肇 (1991): 骨粗鬆症治療と今後の展望. 代謝, **28**, 41-48.
- 7) Whiting SJ and Draper HH (1980): The role of sulfate in the calciuria of high protein diets in adult rats. *J Nutr*, **110**, 212-222.
- 8) Schuette SA, Zemel MB and Linkswiler HM (1980): Studies on the mechanism of protein-induced hypercalciuria in older men and women. *J Nutr*, **110**, 305-315.
- 9) Calvo MS, Bell RR and Forbes RM (1982): Effect of protein-induced calciuria on calcium metabolism and bone status in adult rats. *J Nutr*, **112**, 1401-1413.
- 10) Block GD, Wood RJ and Allen LH (1980): A comparison of the effects of feeding sulfur amino acids and protein on urine calcium in man. *Am J Clin Nutr*, **33**, 2128-2136.

- 11) Zemel MB, Schuette SA, Hegsted M and Linkswiler HM (1981): Role of the sulfur-containing amino acids in protein-induced hypercalciuria in men. *J Nutr*, **111**, 545-552.
- 12) Spencer H, Kramer L and Osis D (1988): Do protein and phosphorus cause calcium loss? *J Nutr*, **118**, 657-660.
- 13) Funaba M, Kawashima T, Yano H and Kawashima R (1990): Effects of a high protein diet on bone formation and calcium metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, **36**, 559-567.