

大豆たん白質が尿中Ca排泄量に及ぼす影響

鴨下澄子¹・Bui Thi NHUNG²・Pham Thi Anh THO³・Nguyen Thi THUAN³・

志村二三夫^{*1}

¹十文字学園女子大学人間生活学部 ²ベトナム国立栄養研究所

³十文字学園女子大学アジアの栄養・食文化研究所

The Effect of Soybean Protein on Urinary Ca Excretion

Sumiko KAMOSHITA¹, Bui Thi NHUNG², Pham Thi Anh THO³,
Nguyen Thi THUAN³ and Fumio SHIMURA^{*1}

¹Human Life Faculty, Jumonji University, Saitama 352-8510

²National Institute of Nutrition, Hanoi, Vietnam

³Asian Nutrition and Food Culture Research Center, Jumonji University, Saitama 352-8510

ABSTRACT

Although the content of the sulfur amino acids (methionine and cysteine) in soybean protein is not deficient, it is low compared with food from animal sources, such as egg, meat, or fish. Intakes of sulfur amino acids by Japanese are much higher than the requirements. High intake of sulfur amino acids produces sulfuric acid which make the body pH lower than normal. To maintain normal pH, hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), which is a constituent of bone is used. This suggests that the prevention of over-intake of sulfur amino acids may protect against bone Ca loss. Soybean protein may be useful in preventing the over-intake of sulfur amino acids. In this study we tried to confirm this hypothesis. The study was conducted with cross-over design in Vietnamese female university students (20-day study periods and 10-day washout period). The subjects were given the same basal diet with about 30 g protein together with 30 g soybean protein or egg white protein. All the urine during the last 3 days was collected and pH and Ca concentration were measured. The egg white protein group showed a lower pH and higher Ca concentration in the urine as compared with the soybean protein group ($p < 0.01$). In conclusion the results of the study confirmed our hypothesis that soybean protein maintains normal body pH and prevents bone Ca loss. *Soy Protein Research, Japan* **15**, 103-107, 2012.

Key words : methionine, sulfur amino acids, soybean protein, Ca, urinary pH, hydroxyapatite

* 〒352-8510 埼玉県新座市菅沢2-1-28

我々が過去に行った3つの臨床試験結果から、大豆製品は牛乳に劣らない優れたカルシウムの供給源であることが示唆された¹⁻³⁾。先行研究では、若年成人女性^{1,2)}と閉経女性³⁾を対象としてカルシウム出納試験を実施し、牛乳と豆乳のカルシウム生体利用効率を比較した。試験は、15日間ずつのクロスオーバー法とし、途中に2～6週間のウォッシュアウト期間を設けた。それぞれの試験期間の最後の5日間に尿および便を採取した。試験食は、基本食（カルシウム約300 mg）の上に、大豆食品（豆腐および豆乳）あるいは乳製品（スキムミルク）を添加して、1日の総カルシウム摂取量が約600 mgとなるよう設定した。カルシウムの見かけの吸収率と出納値は、若年成人女性ではともに差はなく、閉経女性では大豆食品のほうが高くなるという結果が得られた。

その要因のひとつとして、大豆たん白質中の含硫アミノ酸の量が、動物性たん白質と比較して少ないためではないかと考えた。含硫アミノ酸が代謝されて生じる硫酸化合物は、生体をやや酸性側に傾けるため、その中和のために骨のカルシウムが利用される可能性があると考えられる。このことから、大豆たん白質中の含硫アミノ酸の量が少ないことが、大豆カルシウムの排泄抑制に影響を及ぼし、生体利用効率を高めていると推測された。

たん白質1 gに含まれている含硫アミノ酸の量を比較すると、植物性たん白質である大豆は、卵などの動物性たん白質より少ない。そのため、従来より大豆はアミノ酸スコアが低いと考えられてきた。しかしながら、FAO/WHO/UNUは1985年に、大豆のアミノ酸スコアは100であると発表した。大豆たん白質中のアミノ酸の量を3～10歳、11～14歳、成人の必要量と比較したところ、その必要量に対して不足しているものはないという報告であった。つまり大豆はアミノ酸スコアが100である、優秀なたん白質源であるといえる。ちなみに、大豆たん白質中の含硫アミノ酸の量はラットやウシなどに対しては不足している。含硫アミノ酸のひとつであるL-システインはケラチンの主成分であり、ケラチンは毛、爪、つめ、うろこ、くちばしなどの角質組織を形成しているたん白質である。それらの角質組織を多くもつ動物は含硫アミノ酸の必要量がヒトと比較して高くなるため、大豆たん白質を用いた動物実験を実施するには含硫アミノ酸を添加する必要があるといえる。

過去に行った臨床試験から、必須アミノ酸の推奨量と若年成人女性の日常的な摂取量を比較したところ、どの必須アミノ酸もほぼ推奨量の1.5～2倍多く摂取し

ていることが示唆された⁴⁾が、含硫アミノ酸の過剰摂取によって引き起こされる障害が特に重要な問題だと考える。含硫アミノ酸は硫黄を含んでいるため、過剰摂取による障害を引き起こしやすい。その障害として、ヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) を主とする骨塩からカルシウムが溶出し、尿中へのカルシウム排泄量が増加することが考えられる。摂取した含硫アミノ酸の多くは体たん白質合成の素材として用いられるが、体たん白質は動的平衡状態にあるため、その再合成に必要な分だけ利用される。そのため、摂取量とほぼ同量の含硫アミノ酸はすべて分解され、排泄されることになる。メチオニンがホモシステインやシスタチオニン、システインなどを経て、システインデオキシゲナーゼによってシステインスルフィン酸となる。そこにアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼが作用してスルフィニルピルビン酸となり、非酵素的反応によってピルビン酸と同時に亜硫酸ができる。亜硫酸に亜硫酸オキシダーゼが作用することによって硫酸が生じる⁵⁾。この経路がヒトにおける含硫アミノ酸代謝の主経路であり⁶⁾、体たん白質の分解に由来する分も含めて、摂取量のおよそ80%程度がこの経路をたどると推測されている⁷⁾。硫酸は水素イオン (H^+) と硫酸イオン (SO_4^{2-}) に分解されるが、含硫アミノ酸の摂取量が過剰になれば、代謝産物である H^+ も過剰になり、生体に酸負荷をもたらすと考えられる。生体は酸・塩基平衡によって、体液のpHが大きく偏らないように調節しているが、過剰な H^+ による酸負荷が長期にわたると、ヒドロキシアパタイトを主とする骨塩がリン酸緩衝系物質として利用され始めると考えられる。

方 法

健常な若年成人女性（年齢20歳前半）を対象として、尿pHおよび尿中カルシウム排泄量の測定により、大豆たん白質と卵たん白質のカルシウム排泄抑制効果を比較した。日常的にサプリメントを摂取している者やカルシウム代謝に影響のある疾患の既往歴がある者、大豆・大豆製品および卵・卵製品にアレルギーのある者、月経不順のある者などは除外し、34名を被験者とした。試験デザインをFig. 1に示す。被験者は17名ずつA群とB群に分け、クロスオーバー法で実施した。試験第1期としてA群は大豆食を、B群は卵白食を20日間摂取し、10日間のウォッシュアウト期を経たのち、試験第2期は1期と逆になるよう実施した。試験食は、大豆食もしくは卵白食とした。1日3食で3日間のサイクルメニューを用い、被験者が飽きないように工

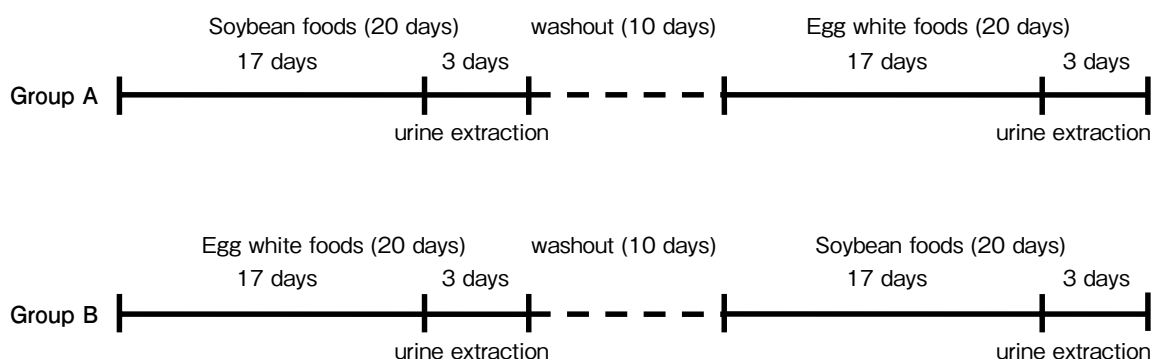


Fig 1. Design of the study. The subjects were randomly allocated to 20 days on basal diets with Ca fortified Soybean foods or Egg White foods separated by a 10 day washout interval in a crossover design. Urine of the last 3 days was collected in both studies and Ca was analyzed.

夫して献立を作成した。両群から摂取するたん白質、カルシウム、エネルギー量はそれぞれ約60 g (そのうち、大豆もしくは卵白由来のたん白質は約30 g)、約400 mg、約1,700 kcalと設定した。カルシウム摂取量を等しくするため、卵白食摂取群にサプリメントを摂取させてカルシウムを補充した。また、試験開始日は各被験者の月経周期と尿採取日が重ならないように考慮して、個別に対応した。それぞれの試験期間20日間の最後の3日間は尿採取日として24時間蓄尿を実施した。採取した尿は、その一部を取って各日の尿pHを測定し、被験者一人一人の3日間の平均値を算出した。残りの尿は冷蔵庫で3日分をプールし、比色法によって尿中カルシウム排泄量を測定した。また、暴飲・暴食をせずに規則正しい生活を送るよう指示し、試験食以外の飲食物は摂取しないように指示した。

結 果

大豆食と卵白食の一日分のエネルギーと主栄養素摂取量は、含硫アミノ酸の量にのみ差があり、エネルギーやその他の栄養素はほぼ同量となった。

尿pHと尿中カルシウム排泄量の測定結果をTable 1に示す。尿pHでは、介入後における大豆食と卵白食の比較では、卵白食の方が大豆食より有意に低くなった ($p<0.01$)。介入前後の変化では、大豆食も低下したが、卵白食の方がより大きく低下した ($p<0.01$)。尿中カルシウム排泄量では、介入後における大豆食と卵白食の比較では、卵白食の方が大豆食より有意に増加した ($p<0.01$)。介入前後の変化では、卵白食は有意に増加 ($p<0.01$) し、大豆食は有意に減少 ($p<0.01$) した。

考 察

尿pHと尿中カルシウム排泄量の結果から、大豆たん白質は、卵白たん白質と比較して、尿pHの低下およびカルシウムの排泄を抑制していた。

本試験の最大の問題点は、カルシウムの吸収率を測定していないことである。カルシウムの吸収率は一定ではない。同時に摂取する他の栄養素の量、年齢や性別、生活習慣、妊娠・授乳中であるか否かなどによって変化する。そのため、カルシウムを対象としたヒト試験を実施する際には、その吸収率を考慮する必要がある。我々は過去に3つの研究¹⁻³⁾を実施した。第1の研究は、閉経期女性における豆腐カルシウムの吸収率および必要量に関する研究で、被験者を2群に分け、基本食の上に豆腐あるいは脱脂粉乳をクロスオーバー法で15日間ずつ与えた。尿および便を採取してカルシウムを分析した結果、その吸収率は豆腐を摂取した群が上回った。第2の研究は、若い女性におけるカルシウム強化7S調製豆乳のカルシウム生体利用効率に関する研究で、被験者を2群に分け、基本食の上にカルシウム強化7Sグロブリン調製豆乳あるいは牛乳をクロスオーバー法で15日間ずつ与えた。尿および便を採取し

Table 1. Urine pH and Ca excretion (mg/day)

	Before intervention	After intervention
pH	6.54 ± 0.30	5.86 ± 0.31** (SP Group)
		5.32 ± 0.28** (EW Group)
Ca	113 ± 20	82 ± 28** (SP Group)
		144 ± 34** (EW Group)

Data: means ± SD

**Significantly different by paired *t*-test at $p<0.01$, respectively.

てカルシウムを分析した結果、その吸収率はほぼ等しかった。第三の研究は、大豆製食品のカルシウム生体利用効率に関する研究で、被験者を2群に分け、基本食の上に大豆製品あるいは牛乳をクロスオーバー法で与えた。尿および便を採取してカルシウムを分析した結果、その吸収率は年齢層の異なる女性において差がないことが示された。これら3つの研究結果から、食品によってカルシウムの吸収率が大きく異なることはないと考えられたため、本試験ではカルシウムの吸収率を測定しなかった。

カルシウムを対象としたヒト試験を実施する際には、適応期間も考慮する必要がある。本試験では、カルシウムの摂取量に対して被験者が適応する期間が重要と考えた。カルシウムの吸収率は、摂取量が少なくと高くなり、摂取量が増加すると低くなるため、最低でも6～7日間の適応期間が必要であると報告されている⁸⁾。試験食によって介入する期間が短いと、被験者のカルシウム吸収率はそれ以前の食事からのカルシウム摂取量に適応しているため、結果を見誤る原因になると考えられる。1990年に金子ら⁹⁾が報告した研究がある。その方法は、3つの試験をクロスオーバー法で実施したものである。第1試験は被験者7名を2群に分け、5日間の基礎食摂取に続けて一方は肉食、他方は大豆食を9日間摂取後、9日間以上のウォッシュアウト期間を経て、逆の試験食を9日間摂取するという方法である。第2試験は被験者6名を2群に分け、5日間の基礎食摂取に続けて一方は肉食+りんご、他方は大豆食+りんごを9日間摂取後、9日間以上のウォッシュアウト期間を経て、逆の試験食を9日間摂取するという方法である。第3試験は被験者14名を2群に分け、両群ともに大豆食を8日間摂取後、9日間以上のウォッシュアウト期間を経て、一方は大豆食+含硫アミノ酸2 g、他方は大豆食+含硫アミノ酸2 g+重炭酸カリウム3 gを7日間摂取後、続けて逆の試験食を7日間摂取するという方法であった。各介入期間の最後の4日間を尿と便

の採取日としている。この研究は、含硫アミノ酸摂取量の違いによるカルシウムの利用効率やカリウムの及ぼす影響を尿と便を採取することによって調査したものであり、注目すべき結果が得られている。しかし、介入期間が5～9日間と短く、そのうち最後の4日間尿と便を採取しているため、被験者が試験食からのカルシウム摂取量に適応していないのではないかと考えられた。本試験は金子らの実験の介入期間が短い点を改正して、介入期間を20日間とし、最後の3日間尿を採取したので、被験者は十分に適応することができていると考えられる。

尿pHの変化では、卵白食は大きく低下しているが、大豆食も低下していることがわかる。被験者の日常のたん白質摂取量と試験食のたん白質量はほぼ同量であるため、たん白質の摂取量が急激に増加することによる尿pHの低下ではないといえる。このことから、試験食からのたん白質摂取量約60 gのうち、大豆由来のたん白質は30 gであり、残りの30 gは基本食（動物性たん白質）由来となっているためではないかと考えられる。

本試験結果では、尿pH、尿中カルシウム排泄量ともに有意差が得られた。したがって、本試験の仮説に間違いはないと考えられる。含硫アミノ酸の摂取量と骨への悪影響との関係にはさまざまな意見がある。たん白質摂取量が増加するとふつうはカルシウム摂取量も増加し、さらにたん白質には骨形成の促進効果もあることから骨の損失につながるとは考えられないという報告¹⁰⁾とともに、たん白質の骨密度に対する有益な影響は、含硫アミノ酸によって抑制されるという報告¹¹⁾もある。しかしながら、本試験結果より、大豆・大豆製品をおもなたん白質源とすることによってカルシウムの排泄を抑制し、カルシウムの不足しやすい現代社会において、その損失予防に有効であることが示唆された。

要 約

植物性食品である大豆の含硫アミノ酸（メチオニンやシステイン）の含量は、不足ではないものの、卵・肉・魚などの動物性食品に比べると低い。現代の日本人の食生活は、含硫アミノ酸摂取量が推奨量よりもかなり高い。過剰に摂取した含硫アミノ酸が代謝された結果生じる過剰の硫酸化合物は、生体を酸性側に傾ける。その中和のためにヒドロキシアパタイトを主とする骨塩がリン酸緩衝系物質として働きだし、その結果、尿中へのCa排泄量が増加する。以上から、含硫アミノ酸摂取量の過剰を防ぐことで尿中への骨のCa損失を抑制できると考えられる。含硫アミノ酸量の少ない大豆たん白質を利用することで、骨のCa損失を抑制できる可能性がある。本研究は、その仮説を証明するた

めに行った。被験者はベトナムの女子大学生で、クロスオーバー法（試験食期間20日間、ウォッシュアウト10日間）で実施した。食事は豆腐食あるいは卵白食で、それぞれ20日間与えられた。試験食は2群に共通の基礎食のうえに、豆腐あるいは卵白を等量たん白質となるように与えた。20日間の介入期間のうち、最後の3日間で全尿採取を実施した。尿pHと尿中Ca排泄量を測定し、含硫アミノ酸の含量が比較的少ない大豆たん白質が、Ca排泄の抑制効果に影響をおよぼしているかどうかについて検討した。なお、我々のこれまでの3回の臨床試験では、大豆Caの吸収率は、最も高いとされる牛乳Caのそれと変わらなかったことから、今回の試験では測定しなかった。その結果、尿pHは卵白群で有意に低下（ $p<0.01$ ）し、Ca排泄量は卵白群で有意に増加（ $p<0.01$ ）した。このような結果は、大豆たん白質は生体のpHを正常に保ち、骨からのCaの損失を防ぐという我々の仮説を証明するものである。

文 献

- 1) Tarumizu C, Wakikawa N, Thithu HV, Sarukura N, Wakita A and Yamamoto S (2009): Bioavailability of Ca Fortified 7S Globulin Rich Soy Milk in Young Women. *Soy Protein Research*, **12**, 1-10.
- 2) Tarumizu C, Hien VTT, Sarukura N, Wakikawa N, Wakita A and Yamamoto S (2010): Studies on Ca Bioavailability of Soybean Products. *Soy Protein Research*, **13**, 16-22.
- 3) Tarumizu C, Hien VTT, Sarukura N and Yamamoto S (2008): Absorption Rate and Requirement of TOFU Ca in Post-Menopausal Women. *Soy Protein Research*, **11**, 15-19.
- 4) Sarukura N, Ogama A, Wakikawa N and Kamoshita S (2011): Effect of Soybean Protein on Urinary Ca Excretion. *Soy Protein Research*, **14**, 77-80.
- 5) Ubuka T (2002): Assay methods and biological roles of labile sulfur in animal tissues. *J Chromatogr B*, **781**, 227-249.
- 6) 中村博範 (2009)：ヒト尿中タウリンおよび硫酸排泄量測定による含硫アミノ酸代謝の評価。川崎医療福祉学会誌, **18**, 558-558.
- 7) 山口みち夫 (1993)：アルカリ性食品・酸性食品の誤り。国立健康・栄養研究所監修, 国民栄養振興会, 日本栄養士会・栄養指導研究所編, 第一出版.
- 8) Bullamore JR, Marshall DH, Nordin BE, Oldefield WA and Wilkinson R (1970): Measurement of calcium balance and bone turnover by new techniques. *Calcif Tissue Res*, **4**, 93-94.
- 9) Kaneko K, Masaki U, Aikyo M, Yabuki K, Haga A, Matoba C, Sasaki H and Koike G (1990): Urinary calcium and calcium balance in young women affected by high protein diet of soy protein isolate and adding sulfur-containing amino acids and/or potassium. *J Nutr Sci Vitaminol*, **36**, 105-116.
- 10) Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation (2007): Protein and amino acid requirements in human nutrition. *World Health Organ Tech Rep Ser* **935**, WHO, Geneva.
- 11) Thorpe M, Mojtahedi MC, Chapman-Novakofski K, McAuley E and Evans EM (2008): A positive association of dietary protein with lumbar spine bone mineral density is suppressed by a negative association of protein sulfur. *J Nutr*, **138**, 80-85.