

高タンパク質摂取による尿中カルシウムと リンの排泄量の比較

伊佐保香*, 角間祥子*, 亀岡千紘*, 藤井優奈*,

古澤千晶*, 堀江咲彩*, 三嶋智之**

*岐阜女子大学, **岐阜医療科学大学

(2022 年 1 月 28 日受理)

Urinary calcium and phosphorus excretion in high protein diet

Isa Yasuka*, Kakuma Shouko*, Kameoka Chihiro*, Fujii Yuna*,
Furusawa Chiaki*, Horie Saya* and Mishima Tomoyuki**

*Department of Health and Nutrition, Faculty of Home Economics,
Gifu Women's University, 80 Taromaru, Gifu 501-2592, Japan

**School of Health Science, Gifu University of Medical Science,
795-1 Nagamine Ichihiraga, Seki, Gifu 501-3892, Japan

(Received January 30, 2019)

Experiments with humans and rats have reported that high protein intake increases urinary calcium excretion. In this study, we carried out to determine the effect of dietary protein quantity and quality on urinary calcium and phosphorus excretion in rats. As protein sources casein or soy protein and gluten were used, to give protein contents in the diet of 60%. Urinary calcium excretion was significantly increased in the high protein diet group, and urinary phosphorus excretion was also significantly increased in the high protein diet group. On the other hand, no difference in protein quality was observed in urinary calcium excretion or phosphorus excretion. The urinary phosphorus excretion rate was higher under high protein diet, and more was higher for casein diet. These results indicated that the excretion of calcium and phosphorus was promoted by high protein diet intake, and the excretion of phosphorus was promoted by casein diet.

キーワード: カルシウム (calcium), リン (phosphorus), 高タンパク質食 (high protein diet), 排泄 (excretion), 飼料組成 (diet composition)

1 緒言

高タンパク質の摂取は、尿中へのカルシウム排泄を増加させることがヒトやラットを用いた実験で報告されている^{1,2)}。雄ラットを用いた Bell³⁾や Whiting⁴⁾らの研究では、高タンパク質摂取によりカルシウムの排泄が増加することを報告している。一方で、高タンパク質の摂取によりカルシウム出納が正を示すという報告もある。このカルシウムの排泄に対してリンの摂取の増加により、カルシウム排泄を抑制できるとの報告もある⁵⁾。これはタンパク質には多くのリンが含まれるため、高タンパク質であることはカルシウム排泄の抑制につながると報告されているが、リンは過剰摂取によりカルシウムの吸収を抑制することや、ラットにおいてはカルシウムの利用への有効性よりも腎臓への沈着が懸念されている⁶⁾。このように高タンパク質摂取下におけるカルシウムやリンの動態については様々な結果が報告されているが、カルシウムやリンの利用に対し、タンパク質の量や質に関しては報告が少なくさらに検討していく必要がある。

本研究では、高タンパク質摂取条件下にて、尿中カルシウムとリンの排泄量を比較し、タンパク質摂取の量的および質的相違がこれらの排泄量に影響するのか、検討することが目的である。

2 材料と方法

1) 実験飼料

飼育時の飼料組成を Table 1 に示した。実験群は、20%カゼイン食群 (C 群)、60%高カゼイン食群 (HC 群) および 60%植物性タンパク質食群 (HS 群) とした。基本組成は AIN-93G に従い、植物性タンパク質食群は、グルテン (小麦由来) (富士フイルム和光純薬株式会社、大阪) と大豆たんぱく質 (日本クレア株式会社、東京) を 1 : 1 の割合で混合した。HC 群と HS 群は、タンパク質含量を 60%とし、 α -コーンスターチおよびコーンスターチにて割合を調製した。飼料成分は、特に記載がない場合はナカライテスク株式会社 (京都、日本) より購入した。

Table 1 Composition of the experimental diets

Ingredients (%)	C	HC	HS
Casein	20.0	60.0	—
Gluten	—	—	36.14* ¹
Soy protein	—	—	32.89* ²
L-cystine	0.3	0.9	0.9
Cornstarch	39.8	9.2	2.57
α -Cornstarch	13.2	3.2	0.8
Sucrose	10.0	10.0	10.0
Soy Oil	7.0	7.0	7.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0
AIN-93G vitamin mixture	1.0	1.0	1.0
AIN-93G mineral mixture	3.5	3.5	3.5
<i>tert</i> -Butylhydroquinone	0.0014	0.0014	0.0014
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25

*¹ The amount of protein was adjusted from 83mg /100g of protein contained in gluten.

*² The amount of protein was adjusted from 91.2mg /100g of protein contained in soy protein.

2) 動物実験方法

実験動物は4週齢のWistar ST/Clean雄ラット（体重80～100g）を日本エスエルシー株式会社（浜松、日本）より購入した。ラットは実験環境に慣らすため、個別ケージにて3日間の予備飼育を行った後、体重が等しくなるように各群6匹からなる3群に分けた。予備飼育期間中は、AIN-93Gに従ったコントロール食を与え、本飼育期間中は各組成に従った試料を28日間自由摂取させた（Table 1）。飼育期間中は毎日、体重および飼料摂取量を測定した。ラットは室温（24±1℃）および湿度（55±5%）がコントロールされた施設にて、明暗12時間サイクルの条件下で飼育した。飼育開始より21日目に、24時間尿を回収し、尿量を測定した。尿は、1,500×g、4℃にて15分間遠心分離後上清を採取し、カルシウムおよびリンの測定に供した。

ラットは飼育28日目にセボフルラン（富士フイルム和光純薬株式会社、大阪、日本）による麻酔下にて開腹し、腹部大動脈よりヘパリンナトリウム処理したシリンジにて採血し、脱血死させた。

なお本動物実験は、「動物実験の飼育及び保管などに関する基準（昭和55年3月、総理府告示第6号）」を遵守し、岐阜女子大学動物実験委員会の承認（承認番号第23号-4）を得て行った。

3) カルシウム排泄量の測定法

尿中カルシウム排泄量の測定は、アルカリ性条件下でメチルキシレノブルー（MXB）と結合するMXB法を用いたカルシウムE-テストワコー（富士フイルム和光純薬株式会社）を用いた。

4) リン排泄量の測定法

回収した尿は、1mLをビーカーにはかり取り、濃硝酸5mLを加え時計皿をかぶせホットプレートで加熱後、過酸化水素水（30%）を5mL加えてさらに加熱し湿式灰化した。灰化物に、1M塩酸5mL加えて灰分を溶解させ、リン測定に供した。尿中リン排泄量は、モリブデンブルー比色法を用いて測定した。

5) 統計処理

結果はすべて平均値±標準誤差で表し、Tukeyの多重比較により危険率5%にて有意性の判定を行った。検定にはExcel統計（株式会社 社会情報サービス、東京）を用いた。

3 結果

飼育結果は、Table 2に示した。終体重、体重増加量は、各群間で有意な差は見られなかったが、総飼料摂取量は、HS群がC群より有意に低値を示した。腎臓重量は、HC群およびHS群でC群よりも有意に高値を示した。タンパク質摂取量が多くなると、腎臓が肥大することが報告されており^{7,8)}、今回も同様の結果であった。尿量はタンパク質摂取量の増加に伴い、排泄量が有意に増加した。

Table 2 Growth parameter, kidney weight and urine volume

Group	C	HC	HS
Final body weight (g)	301±22	299±21	294±10
Body weight gain (g/28d)	189±18	187±19	182±7
Food intake (g/28d)	456±33 ^a	433±29 ^{ab}	411±17 ^b
Kidney weight (g)	1.95±0.17 ^b	2.60±0.22 ^a	2.47±0.12 ^a
Urine volume (mL/24h)	10.9±3.5 ^c	32.0±5.2 ^b	43.8±4.5 ^a

Values are means ± standard error for six rats. Rats were received experimental diet (Table 1). Values in the same row without common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

尿中カルシウム排泄量を Fig. 1 に、尿中リン排泄量を Fig. 2 に示した。カルシウム排泄量は、摂取タンパク質量に伴い、増加することが報告されている。今回の結果も高タンパク質群である HC 群と HS 群で C 群より有意に高値を示した。HC 群と HS 群はタンパク源が異なっており、カゼインよりもグルテンなどの植物性タンパク質の方が、カルシウムの排泄量が減少するとの報告があるが⁸⁾、今回はタンパク質の種類の違いによる相違は見られなかった。リンは、過剰に摂取するとカルシウムの吸収を阻害するが、高タンパク質摂取によりリンの摂取も高まることから、尿中カルシウムの排泄に影響をおよぼさないことが報告されている⁹⁾。尿中リン排泄量は、HC 群および HS 群の方が C 群より有意に高値であった。尿中へのリンの排泄量は、消化管でのリンの吸収量にほぼ等しいといわれることより摂取量に相関すると考えられている。今回の結果も高タンパク質摂取群において、リン排泄量が増加しており、同様の結果となった。

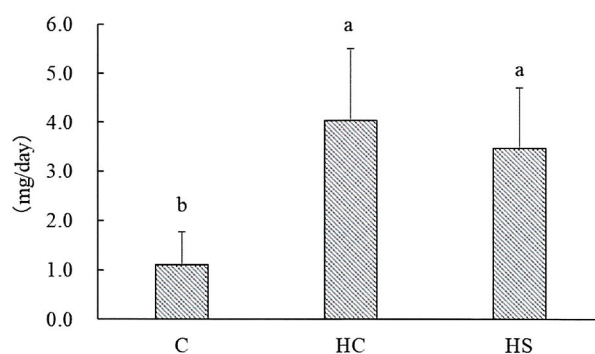


Fig. 1 Urinary calcium excretion

Values in the same row without common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

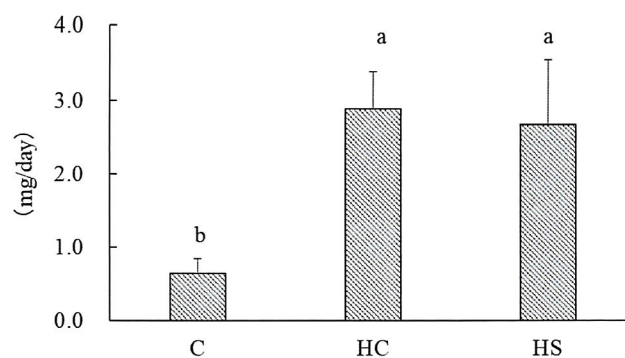


Fig. 2 Urinary phosphorus excretion

Values in the same row without common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

尿中カルシウム排泄率を Fig. 3 に、尿中リン排泄率を Fig. 4 に示した。尿中カルシウム排泄率は、C 群が他の 2 群より有意に低値を示したが、タンパク質の種類による違いは見られなかった。リン排泄率は、C 群で有意に低値であり、HC 群が最も高値を示した。HC 群と HS 群を比較すると、HS 群の方が有意に低値を示しており、高カゼイン摂取によりリンの排泄率が促進された。

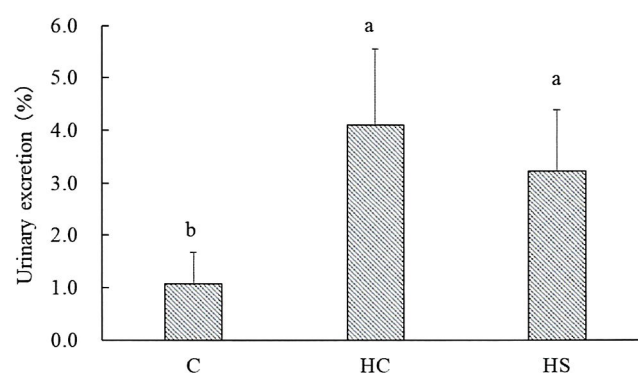


Fig. 3 Urinary calcium excretion relative to intake

Values in the same row without common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

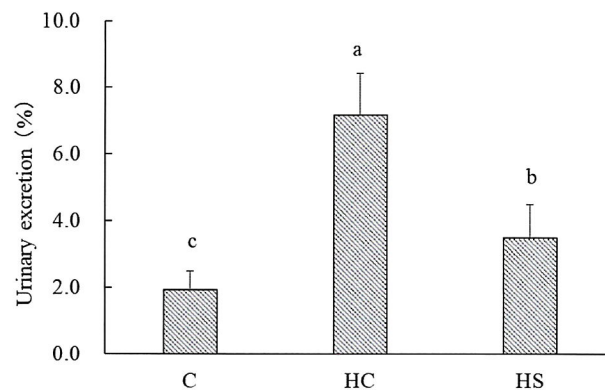


Fig. 4 Urinary phosphorus excretion relative to intake

Values in the same row without common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

4 考察

高タンパク質の摂取における、カルシウムやリンの排泄量に対する報告は、ヒトやラットを用いた実験で多数報告がされているが、タンパク質の摂取量や種類の違いなどにより、結果も異なって報告されている。

今回の実験では、60%の高タンパク質摂取条件でさらにタンパク質の種類として、動物性タンパク質ではカゼインを、植物性タンパク質では大豆タンパク質と小麦のグルテンを用いた。これまでに、植物性タンパク質である大豆タンパク質やグルテンを用いた報告はあるが、どちらも単独で用いられており両者を混合して用いた報告はない。植物性タンパク質である大豆は、アミノ酸バランスに優れており栄養価の高いタンパク源である。一方でパンなど多くの食品に使用されている小麦は、リジンが不足するためタンパク質の栄養価が低い。タンパク質の栄養価が低い場合には、不足するアミノ酸を補足することで栄養価を補うことが可能である。本研究では、植物性タンパク質として大豆タンパク質とグルテンを同量の割合で混合させたものを植物性タンパク質として使用した。大豆タンパク質とグルテンを同量の割合で混合してラットを飼育した場合に、成長に問題がないことを確認している（未発表）。

尿中カルシウムの排泄量は、高タンパク質摂取で高値となり阿左美らの報告⁹⁾と一致する。動物性タンパク質であるカゼインには、含硫アミノ酸の量が多い。含硫アミノ酸の代謝時に生じる亜硫酸は、亜硫酸オキシダーゼによって硫酸に変えられ、尿中に排泄される¹⁰⁾。含硫アミノ酸の摂取が多くなれば H^+ の排泄量が増加するため、体液のpHがやや酸性に傾くと考えられ、その中和のためにカルシウムが利用される可能性が考えられる。これを補うため骨からカルシウムが溶け出し尿中へのカルシウム排泄量の増加につながる。また、多量のタンパク質摂取により、腸管からのカルシウム吸収が促進され、カルシウム排泄が糞から尿に変換されるため尿中への排泄量が増加するとの報告もある⁹⁾。今回は体内のカルシウム量および糞中への排泄量については測定していないため、今後検討が必要である。一方で大豆タンパク質には含硫アミ

ノ酸が少なく、大豆タンパク質を 40%用いた群において尿中カルシウム排泄量の増加がみられなかったと報告されているが⁷⁾、今回はその結果とは一致しなかった。本研究においては、植物性タンパク質に大豆タンパク質とグルテンを用いるが、彼らの報告では大豆タンパク質のみを用いている点や用いたタンパク質量が異なる。グルテンには比較的多くの含硫アミノ酸が含まれているため、尿中へのカルシウムの排泄が抑制されなかったのかもしれない。

リンの排泄量に関しては、高タンパク質群において有意に高値を示し、尿中への排泄率はタンパク質が多いほど高く、さらに動物性タンパク質であるほど高値であった。これは高タンパク質摂取のカゼイン群で尿中リンの排泄が最も高値を示した阿左美らの報告⁸⁾と一致する。また、摂取したリンの多くが尿中に排泄されることが報告されているが、今回の結果では排泄率に違いがみられたことより、タンパク質の量や質によって排泄率に影響をおよぼすことが推察された。

また今回、高タンパク質摂取により腎臓の肥大がみられたが、Whiting らの¹¹⁾タンパク質量が 35%での実験や、40%のタンパク質を用いた阿左美らも同様の報告⁸⁾をしている。腎肥大は、Rugiu¹²⁾らによると高タンパク質摂取による糸球体過値の高まりによるものであり、Berenner¹³⁾らは糸球体内圧の上昇に対応するものと報告している。いずれにせよ腎臓への負担が増加していると考えられるが、今回もこれらの可能性は否定できない。本実験では、カルシウムおよびリンの排泄量のための測定であるため、今後は吸収量も含めた出納を測定し、カルシウムとリンの体内動態について詳細に検討する必要がある。

5 要約

高タンパク質摂取および動物性タンパク質と植物性タンパク質の質の違いによる条件下において、尿中カルシウムとリンの排泄量の違いを比較した。実験動物は 4 週齢 Wistar 系雄ラットを用い、20%カゼイン食 (C 群)、60%カゼイン食 (HC 群)、60%植物性タンパク質食 (HS 群) の 3 群に分け、飼育 3 週目に 24 時間尿を採取した。

尿中カルシウム排泄量は、高タンパク質群である HC 群および HS 群において有意に増加し、尿中リン排泄量も高タンパク質群である HC 群と HS 群において有意に増加した。一方で、動物性タンパク質であるカゼインと植物性タンパク質との相違は、尿中カルシウム排泄量および尿中リン排泄量において確認できなかった。尿中リンの排泄率は、高タンパク質群ほど高く、さらに動物性タンパク質であるほど高値となった。以上の結果より、高タンパク質摂取条件下において、カルシウムやリンの排泄は促進され、特にリンは動物性タンパク質で排泄が促進される結果であったため、腎臓での再吸収や体内の保留量なども含めた出納について詳細に検討する必要がある。

参考文献

- 1) Linkswiler HM, Zemel MB, Hegsted M, and Schuette S. Fed Proc., 40, 1981, 2429.
- 2) Kitano T, Esashi T, and Azami S. J Nutr Sci Vitaminol. 34, 1988, 387.
- 3) Bell RR, Engelman DT, Sie TL, and Drapper HH. J Nutr. 105, 1975, 475.

- 4) Whiting SJ, and Drapper HH. J Nutr. 110, 1980, 212.
- 5) Hegsted M, Schuette SA, Zemel MB, and Linkswiler HM. J Nutr. 111, 1981, 553.
- 6) 秋元誠, 鈴木和春, 遠藤幸江, 五島孜郎. 栄養学雑誌. 44, 1986, 79.
- 7) 阿左美章治, 平塚静子, 北野隆雄, 江指隆年. 栄養学雑誌. 47, 1989, 103.
- 8) 阿左美章治, 平塚静子, 北野隆雄, 江指隆年. 日本栄養・食糧学会誌. 43, 1990, 427.
- 9) 北野隆雄, 二塚信, 大塚陽一郎, 江指隆年, 平塚静子, 阿左美章治. 日本栄養・食糧学会誌. 42, 1989, 235.
- 10) 産賀俊彦, 矢尾謙三郎, 益岡典芳, 絹田正裕, 太田潤, 姚文彬, 阿部匡史. 岡山医学会雑誌. 103, 1991, 57.
- 11) Whitting SJ, and Drapper HH. J Nutr. 111, 1981, 178.
- 12) Rugiu C, Oldrizzi L, and Maschio G. Kidney Int. 32, 1987, S-29.
- 13) Bernner BM, Meyer TW, and Hostetter, TH. N Engl J Med. 307, 1982, 652.