

## ラットにおける Ca、P および Mg 利用に及ぼす AIN-76 ならびに AIN-93G 精製飼料の影響について

前田宜昭 大塚静子 阿左美章治

### The Effect of AIN-76 and AIN-93G Refined Foods on Ca, P and Mg Utilizations in Rats

YOSHIAKI MAEDA, SHIZUKO OHTSUKA and SYOJI AZAMI

The purpose of this experiment is to investigate the difference of AIN-76 and AIN-93G refined foods on calcium (Ca), phosphorus (P) and Magnesium (Mg) utilizations in rats. The difference of AIN-76 and AIN-93G refined foods had not changed significantly weight gain, food intake and food efficiency. Ca, P and Mg absorption of AIN-93G group was significantly smaller than that of AIN-76 group. Serum P content of AIN-93G group was significantly smaller than that of AIN-76 group.

私たちの健康の保持・増進にどのような食事をどのように摂取したらよいかどうかを判断するためには、私たち自身が被験者となって栄養実験を行わなければならない。しかしながら、人道的な問題などもあるので制約が生じ、必然的に実験動物を用いて栄養実験を観察することになる。実験動物は、一般的に分類学上ヒトに近い動物が用いられ、管理の容易さや経済面から、入手しやすい白ネズミを中心とした小動物が用いられている。飼育条件の設定が異なると実験結果の再現性を失うことがある。実験動物は、その内的要素(遺伝、年齢、生理状態など)と外的要素(温度、湿度、気圧、水、飼料など)に影響を受けやすいからである。我々は、これまでに AIN-76 精製飼料をベースにしたミネラル代謝の報告をしてきた。しかし、AIN-76 精

製飼料は虫菌や賢石灰などの問題により改良が加えられ、1993 年に AIN-93G 精製飼料が提唱されるに至った。そこで今回、同一環境下で AIN-76 と AIN-96G 精製飼料の違いがミネラルであるカルシウム、リンおよびマグネシウムの利用にどのような影響を及ぼすかについてそれぞれの出納試験を中心に比較検討を行った。

#### 実験方法

実験動物として生後 4 週齢、体重 60 ~ 70g 前後の Fischer 系雌ラット 12 匹を日本チャールスリバー(株)より購入した。動物飼育室は、温度を  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $50 \pm 5\%$  に自動制御され、1 日 12 時間サイクルで明暗も調整した。ラットは、6 連結個別飼いのステンレス網製ゲージで飼育した。5 日間標準食

Key words : calcium, phosphorus, magnesium, refined food, AIN-76, AIN-93G

で予備飼育した後、各群の体重が等しくなるように1群6匹に分けて35日間飼育実験を行った。飼料組成(表1)は、AIN-76精製飼料を一部改変し、たんぱく質源にミルクカゼイン(オリエンタル酵母株)を用い、脂肪の給源には大豆油を用いた群(以下をAIN-76群とする)とAIN-93G精製飼料を用いた群(以下をAIN-93G群とする)とし、給餌様式は、飼料ならびに飲料水(蒸留水)を自由摂取させ、1日おきに取り換え、残渣量ならびに体重を記録した。出納試験は、まずラットを出納ゲージに慣らすため出納試験実施3日前に移したのち、本試験は5日間にわたり実施され毎日糞尿を分離採取した。糞は、体毛を取り除き、恒量になるまで乾燥させたのち、ミル粉碎機で粉末にして試料とした。また尿は、5N塩酸10mlを予め添加したビーカーに採取し、脱イオン水で定容し飼料とした。出納終了後、エーテル麻酔し断頭機を用いて全身血を採取し、腎臓ならびに大腿骨を摘

出して試料とした。血液以外の分析に供する試料は、その一定量を分解用硬質試験管に秤量し、硝酸を加えてアルミドライブロックバスにて湿式灰化した。試料は、230℃で乾固後、0.5N塩酸溶液を加えて超音波処理した。その後、沸騰水中で20分間過熱し、冷却し同液にて一定量に定容したものを適宜希釈して分析に供した。CaならびにMgの測定は、原子吸光分析法を用い、Pの測定は、ゴモリー法を用いて行った。統計処理は一元配置分散分析で行い、求められたp値が危険率5%より少ない場合に有意な差が認められたと判定した。

## 実験結果

体重、飼料摂取量および飼料効率(表2)には、2群間において有意な差が認められなかった。Ca出納(表3)は、Ca吸収率がAIN-76群に比べAIN-93G群が有意に高値を示した。尿中Ca排泄率には、2群間におい

表1 飼料組成

%	AIN-76群	AIN-93G群
ミルクカゼイン	20.0	20.0
$\alpha$ -コーンスターチ	65.0	53.0
ショ糖	—	10.0
大豆油	5.0	7.0
セルロース	5.0	5.0
ミネラル混合	3.5	3.5
ビタミン混合	1.0	1.0
DL-メチオニン	0.3	—
L-シスチン	—	0.3
重酒石酸コリン	0.2	0.25
第3プチルフィドロキノン	—	0.0014
総計	100.0	100.0

表2 体重、飼料摂取量および飼料効率

	AIN-76群	AIN-93G群
初体重(g)	65.6 ± 1.1	65.5 ± 0.8
終体重(g)	124.8 ± 0.9	126.1 ± 1.5
体重増加量(g)	59.2 ± 0.9	60.6 ± 1.0
飼料摂取量(g)	299.6 ± 4.5	302.4 ± 12.1
飼料効率	0.19 ± 0.01	0.2 ± 0.01

数値は、平均値±標準誤差(n=6) ※は、有意差あり(p<0.05)

表3 カルシウム出納

	AIN-76群	AIN-93G群
Ca 摂取量 (mg/日)	37.5 ± 0.7	37.6 ± 0.5
Ca 吸収量 (mg/日)	7.5 ± 1.4	15.5 ± 0.9*
尿中 Ca 排泄量 (mg/日)	0.6 ± 0.2	0.9 ± 0.1
Ca 保留量 (mg/日)	6.9 ± 1.5	14.6 ± 0.9*
Ca 吸収率 (%)	20.0 ± 4.1	41.2 ± 2.3*
尿中 Ca 排泄率 (%)	1.6 ± 0.5	2.4 ± 0.3
Ca 保留率 (%)	18.5 ± 4.3	38.9 ± 2.2*

数値は、平均値±標準誤差 (n=6) ※は、有意差あり (p<0.05)

表4 リン出納

	AIN-76群	AIN-93G群
P 摂取量 (mg/日)	27.8 ± 0.4	27.7 ± 0.4
P 吸収量 (mg/日)	16.2 ± 0.4	19.6 ± 0.3
尿中 P 排泄量 (mg/日)	8.8 ± 0.8	3.8 ± 0.4*
P 保留量 (mg/日)	7.4 ± 0.8	15.7 ± 0.4*
P 吸収率 (%)	58.2 ± 1.3	70.6 ± 0.9*
尿中 P 排泄率 (%)	31.7 ± 3.1	13.9 ± 1.5*
P 保留率 (%)	26.4 ± 2.7	56.7 ± 0.9*

数値は、平均値±標準誤差 (n=6) ※は、有意差あり (p<0.05)

表5 マグネシウム出納

	AIN-76群	AIN-93G群
Mg 摂取量 (mg/日)	2.6 ± 0.1	3.3 ± 0.1*
Mg 吸収量 (mg/日)	1.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1*
尿中 Mg 排泄量 (mg/日)	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Mg 保留量 (mg/日)	0.3 ± 0.1	1.0 ± 0.1*
Mg 吸収率 (%)	40.4 ± 2.7	57.2 ± 3.5*
尿中 Mg 排泄率 (%)	27.1 ± 3.1	27.5 ± 4.1
Mg 保留率 (%)	13.3 ± 2.9	29.7 ± 3.6*

数値は、平均値±標準誤差 (n=6) ※は、有意差あり (p<0.05)

表6 血清ならび臓器中カルシウム、リンおよびマグネシウム量

	AIN-76群	AIN-93G群
血清中 Ca 量 (mg/dl)	10.3 ± 0.2	10.2 ± 0.1
血清中 P 量 (mg/dl)	7.0 ± 0.2	7.9 ± 0.1*
血清中 Mg 量 (mg/dl)	2.6 ± 0.1	2.4 ± 0.1
腎臓中 Ca 量 (mg/g)	0.97 ± 0.09	0.14 ± 0.01
腎臓中 P 量 (mg/g)	3.36 ± 0.05	3.00 ± 0.05*
腎臓中 Mg 量 (mg/g)	0.23 ± 0.01	0.21 ± 0.01
大腿骨中 Ca 量 (mg/g)	209.6 ± 0.8	207.7 ± 1.2
大腿骨中 P 量 (mg/g)	109.0 ± 0.9	110.0 ± 0.8
大腿骨中 Mg 量 (mg/g)	3.84 ± 0.02	3.85 ± 0.05

数値は、平均値±標準誤差 (n=6) ※は、有意差あり (p<0.05)

て有意な差が認められなかった。Ca 保留率は AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示した。

P 出納 (表 4) は、P 吸収率が AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示した。尿中 P 排泄率が AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示したが、P 保留率は AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示した。Mg 出納 (表 5) は、Ca 出納と同様に Mg 吸収率が AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示した。尿中 Mg 排泄率には、2 群間において有意な差が認められなかった。Mg 保留率は AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示した。血清中 P 量 (表 6) は、AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が有意に高値を示したが、血清中 Ca、P 量は、2 群間において有意な差が認められなかった。腎臓中 Ca 量 (表 6) は、2 群間において有意な差が認められなかったが、AIN-76 群に比べ AIN-93G 群が低値傾向を示した。腎臓中 P、Mg 量は、2 群間において有意な差が認められなかった。大腿骨中 Ca、P および Mg 量 (表 6) は、2 群間において有意な差が認められなかった。

## 考 察

Ca 吸収は、妊婦や加齢<sup>1-3)</sup>などの生理的要因や、乳糖<sup>4-6)</sup>、カゼイン部分水解物<sup>7)</sup>、アミノ酸などの食事要因、さらには血中ビタミン D 濃度の変化などにより影響を受ける。さらに食事要因は、たんぱく質・アミノ酸<sup>8, 9)</sup>、脂肪<sup>10-14)</sup>、ビタミン D、乳糖、CPP、牛乳中の CaBP などが Ca 吸収を促進させ、リン<sup>15)</sup>、マグネシウム、食物繊維、フィチン酸、シュウ酸などが Ca 吸収を抑制する要因として分けられている。飼料中脂肪量が AIN-76 精製飼料では 5% に対し、AIN-93G 精製飼料が 7% に改良されたが、飼育期間中の成長度合については、飼料摂取量、体重増加および飼料効率では 2 群間で有意な差が認められなかった。しかし、一部改変を施した AIN-76 精製飼料と AIN-93G 精製飼料の違いにより Ca、P および

Mg 利用に変化が生じ、Ca、P および Mg の吸収率が低下することが報告されている<sup>10, 11)</sup>が、少量の脂肪は腸管内容を酸性化するためにかえって Ca の吸収を促進し、もっともよいのは、脂肪カルシウム比が 17 である<sup>12)</sup>。AIN-76 精製飼料が 5%、AIN-93G 精製飼料が 7% に増加したことが Ca 吸収の増加に影響を及ぼした可能性は高い。アミノ酸のうちリジン、アルギニン、トリプトファン、ロイシン、ヒスチジン、メチオニン、イソロイシンなどは食事中に加えると Ca の吸収が促進されることが知られている<sup>8, 9)</sup>。また AIN-76 精製飼料にはメチオニンが添加され、AIN-93G 精製飼料ではシスチンが添加されている。シスチンは、酸化や還元でシステインに可逆的に変化し、システインは、含硫アミノ酸で体内ではメチオニンからつくられるので、Ca 吸収率に添加するアミノ酸が及ぼす影響とも考えにくい。食事中の糖質源で、乳糖が存在するときは Ca の吸収は促進され、これは、乳糖が局所的に Ca の吸収を促進するからだと考えられている。その他にも sorbose, xylose, raffinose, melibiose, glucosamine, mannitol, sorbitol は Ca 吸収を促進するが、ブドウ糖、果糖、ガラクトースおよびショ糖には効果がなかったとされている<sup>6)</sup>。AIN-93G の糖質源には一部ショ糖が添加されているが、Ca 吸収率に影響しないと考えたほうが妥当であると思われた。食事中のリン、Mg が Ca 吸収に影響を及ぼすことは古くから知られている。リンの摂取量が過剰になると Ca 吸収が抑制されることが確認されており、高リン食摂取と続けると血中の PTH が増加し、骨からの Ca 溶出を生じることが報告されている<sup>16-18)</sup>。リンとカルシウムの吸収は、お互いの量・割合によって影響しあい、もっともよいのが Ca : P 比 = 1 : 1 ~ 2 である。今回行った飼育実験の AIN-76 群の Ca : P 比が 0.75 で、AIN-93G 群が 1.30 になり、P 含量が 0.4% と 0.3% になっている。AIN-93G 精製飼料のほうが AIN-76 精製飼料よりも Ca 吸収率が増加を示した要因として食事中の P 含量の減少ある

いは脂肪量の増加、もしくは相乗的に働いたことが示唆された。

## 要 約

生後4週齢のFischer系雌ラットを用いて、AIN-76ならびにAIN-93G精製飼料の違いがCa、PおよびMg利用に及ぼす影響について検討したところ、Ca、PおよびMgの吸収率は、AIN-76精製飼料に比べてAIN-93G精製飼料が有意に高値を示した。尿中P排泄率は、AIN-76精製飼料に比べてAIN-93G精製飼料が有意に低値を示した。Ca、PおよびMgの保留率は、AIN-76精製飼料に比べてAIN-93G精製飼料が有意に高値を示した。また血清中P量は、AIN-76精製飼料に比べてAIN-93G精製飼料が有意に高値を示した。腎臓中Ca量は、有意な差が認められなかったが、AIN-76精製飼料に比べてAIN-93G精製飼料が有意に低値傾向を示した。

## 文 献

- 1) ALBANESE, A. A. : Nutrition for the Elderly : Alan R. Liss., NY : 187 (1980)
- 2) IRELAND, P. and FORDTRAN, J.S. : J. Clin. Invest., **52** : 2672 (1973)
- 3) GALLAGHER, J. C., RIGGS, B. L., EISMAN, J. et al : J. Clin. Invest., **64** : 729 (1979)
- 4) KOBAYASHI, A., KAWAI, S., OBE, Y. et al : Am J. Clin. Nutr., **28** : 681 (1975)
- 5) WASSERMAN, R. H. : Nature **201** : 997 (1964)
- 6) 藤田拓男 : 最新医学 **20** : 3123 (1965)
- 7) 内藤 博 : 日本栄養・食料学会誌, **39** : 433 (1986)
- 8) WASSERMAN, R. H., COMAR, C. L. and NOLD, M. M. : J. Nutr., **59** : 371 (1956)
- 9) WASSERMAN, R.H., COMAR, C.L. and SCHOOLEY, J.C. : J. Nutr., **62** : 367 (1957)
- 10) TELFER, S.V. : Q.J. Med. **16** : 45 (1923)
- 11) TELFER, S.V. : Q.J. Med. **17** : 45 (1924)
- 12) KNUDSON, A. and FLOODY, R.J. : J. Nutr., **20** : 317 (1940)
- 13) FRENCH, C.E. : J. NUTR., **23** : 375 (1942)
- 14) CALVERLEY, C.E. and KENNEDY, C. : J. Nutr., **38** : 165 (1949)
- 15) DRAPER, H. H., SIE, T. E. and BERGON, J. G. : J. Nutr., **102** : 1133 (1972)
- 16) 前田宜昭, 上原万里子, 鈴木和春, 五島牧郎 : マグネシウム, **8** : 143 (1989)
- 17) 前田宜昭, 上原万里子, 鈴木和春, 五島牧郎 : マグネシウム, **9** : 191 (1990)
- 18) 前田宜昭, 上原万里子, 鈴木和春, 五島牧郎 : マグネシウム, **10** : 211 (1991)