

豆乳摂取が鉄欠乏ラットの血清トリグリセリド値に及ぼす影響

赤澤 典子*・山崎 薫*・古川 由子*

保坂 史代*・田中 祥子*・小林 早苗*

川村美笑子**・世良耕一郎***・二ツ川章二****

(1995年10月14日受理)

1 緒 言

近年、食生活が豊かになり動物性食品などの摂取により、日本人の体位は向上した。しかしその反面、過剰栄養や動物性脂質による肥満や成人病などの発症は若年化の傾向にあり、すでに子ども時代から肥満を防ぐ必要があると言われている。しかし、一方では成長期における貧血が指摘されている。Swanson ら¹⁾は鉄欠乏により血清トリグリセリドが高くなることを指摘している。

豆乳の原料である大豆は、植物性たんぱく質源としてすぐれ、脂肪は必須脂肪酸に富み、コレステロールレベルの上昇を抑制する成分に富んでいる^{2,3)}。都築ら⁴⁾は豆乳摂取により、ラットの血清コレステロールとともに、血清トリグリセリドが減少することを報告している。また大豆は鉄分やマグネシウムなどが多く、これらの成分はほとんど豆乳に移行する。

そこで、本実験では、鉄欠乏動物において血清トリグリセリドがどのように変動するかを明らかにするとともに、鉄欠乏動物に鉄分を多く含み、さらに血清コレステロールや血清トリグリセリドの上昇を抑制する効果が指摘されている豆乳を投与し、鉄欠乏動物において血清トリグリセリド上昇の抑制効果があるかどうかを明らかにするために実験を行った。

2 実験方法

1) 実験動物及び飼料配合

実験 I 血清トリグリセリド値に及ぼす鉄欠乏の影響を検討するため、実験動物として離乳直後の体重 35 g 前後の Wistar 系雄ラットを各群 6 匹の 3 群に分け、1 群は鉄を投与した対照群 (20% カゼイン, +Fe), 2 群は Pair-fed 対照群, 3 群は鉄欠乏群 (20% カゼイン, -Fe) とし、室温は 22°C 前後、湿度 60% 前後で 7 週間飼育した。飼料、蒸留水は自由に摂取させた。飼料配合は表 1 に示す。飼料は 1 週間毎に作製し、冷蔵庫に保存した。

* 岩手大学教育学部

** 東北大学農学部

*** 岩手医科大学サイクロtronセンター

**** (社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロtronセンター

表1 鉄欠乏飼料（飼料100中）

シュークロース	67.9
カゼイン	20.0
植物油	5.0
無機塩類（-Fe）	5.0
ビタミン混合	1.0
粉末濾紙	1.0
塩化コリン	0.1

無機塩類（ハーバー配合）%

KH_2PO_4 34.31, CaCO_3 29.29, NaCl 25.06, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 9.98, $\text{Fe} (\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.623, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.43, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.156
 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.121, ZnCl_2 0.02, $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0025, KI 0.005

表2 豆乳投与実験の飼料配合（飼料100g中）

	1 群 20%豆乳	2 群 20%豆乳+0.3%メチオニン
シュークロース	71.1	70.8
豆乳	20.0	20.0
植物油	1.8	1.8
無機塩類（-Fe）	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0
粉末濾紙	1.0	1.0
メチオニン	—	0.3
塩化コリン	0.1	0.1

1 群（20% 豆乳） 蛋白質 8.84 g, 窒素レベル 1.55, 脂肪 4.24 g, Fe 1.26 mg

2 群（20% 豆乳+0.3% メチオニン） 蛋白質 8.92 g, 窒素レベル 1.58,
脂肪 4.24 g, Fe 1.26 mg

実験 II 鉄欠乏動物における豆乳の血清トリグリセリド上昇の抑制効果を検討するため、離乳直後の体重 35 g 前後の Wister 系雄ラットを鉄欠乏飼料で2週間飼育した。この時点で鉄欠乏状態を見るため5匹解剖し、残りのラットは2群に分けた。1群は20% 豆乳, 2群は20% 豆乳+0.3% メチオニンとし, 23日間飼育した。飼料配合は表2に示す。鉄欠乏飼料は表1の飼料配合と同じ組成である。用いた豆乳の成分は表3に示す。

2) 測定方法

(1) ヘモグロビン量, ヘマトクリット値の測定

ラットは開腹し, 後大静脈から採血し, 血清を分離し測定までフリーザーで凍結保存した。血中のヘモグロビン量とヘマトクリット値は血球自動計数機で測定した。

(2) 血清鉄, トリグリセリド, 総コレステロール量の測定

血清鉄はニトロソーPSAP法で測定し, トリグリセリドと総コレステロールは酵素法によって測定した。

(3) 飼料の豆乳無機質含量の測定はPIXE法でおこなった。試料は密封容器内で硝酸灰化し, 1g 当たり 1,000 μg の硝酸銀を内部標準として添加した後, その 5 μl を 4 μm ポリプロピ

表 3 無調整豆乳 (粉末) の成分

水分	3.1 g
蛋白質	44.2 g
脂質	21.2 g
灰分	5.7 g
カルシウム	158.7 mg
リン	571.0 mg
鉄	6.3 mg
ナトリウム	3.3 mg
カリウム	2398.3 mg
マグネシウム	154.9 mg
亜鉛	4.2 mg
銅	1.6 mg

レン膜上に滴下し、ターゲットとした。PIXE 分析は、日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターで行なった。入射粒子としては陽子 2.9 MeV を使い、平均 20 nA の電流で一試料当たり 15~20 分間の測定を行った。発生する X 線は、2 台の Si (Li) 検出器で測定された。

(4) 統計処理

各区間の有意差の検定は t 検定を用い、危険率が 5% 以下 ($p < 0.05$) を有意とした。

3 実験結果

実験 I 血清トリグリセリド値に及ぼす鉄欠乏の影響

(1) 発育と臓器重量

体重と臓器重量 (体重 100 g 当たりの重量) は表 4 に示した。体重変化をみると、鉄欠乏群は 1 群の対照群や 2 群の pair-fed 対照群に比べ 2~3 週ごろから体重差が現れ、7 週の最終体重は有意の差で低値を示した。3 群の鉄欠乏群は 1 群の対照群や 2 群の pair-fed 対照群に比べて肝臓重量は低値を示したが、脾臓と副腎重量は有意に増加し鉄欠乏による変化が顕著であった。

(2) ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血清鉄、総コレステロール量およびトリグリセリド値

血清鉄、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値は表 5 に、総コレステロール量およびトリグリセリド値は表 6 に示した。3 群の鉄欠乏は 1 群の対照群や 2 群の pair-fed 対照群に比べて血清

表 4 鉄欠乏ラットの体重及び組織重量 (体重 100 g 当たり)

	匹数	体重 (g)	肝臓 (g)	脾臓 (mg)	副腎 (mg)
1 対照群	6	304.8 \pm 10.1 ¹⁾	4.93 \pm 0.24	220 \pm 14	7.33 \pm 1.96
2 pair-fed 対照群	6	280.8 \pm 6.5	3.80 \pm 0.27	190 \pm 16	8.50 \pm 1.37
3 鉄欠乏群	5	208.3 \pm 12.6**	3.35 \pm 0.19**	406 \pm 47**	9.20 \pm 0.57*

¹⁾M \pm SD *P<0.05 **P<0.01 (1 群に対しての有意差検定)

表5 鉄欠乏ラットの血清鉄・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値

	血清鉄 ($\mu\text{g/dl}$)	ヘモグロビン量 (g/dl)	ヘマトクリット値 (%)
1 対照群	$238.2 \pm 24.2^{\text{a)}$	14.7 ± 1.3	45.4 ± 1.5
2 pair-fed 対照群	193.7 ± 29.2	15.1 ± 0.7	44.4 ± 3.9
3 鉄欠乏群	$39.6 \pm 3.4^{**}$	$3.4 \pm 0.1^{**}$	$12.6 \pm 0.2^{**}$

^{a)}M \pm SD **P<0.01 (1群に対しての有意差検定)

表6 鉄欠乏ラットの血清総コレステロール及びトリグリセリド値

	総コレステロール (mg/dl)	トリグリセリド (mg/dl)
1 対照群	$88.0 \pm 6.0^{\text{a)}$	406.2 ± 181.0
2 pair-fed 対照群	73.7 ± 14.8	$208.3 \pm 107.5^*$
3 鉄欠乏群	81.2 ± 13.3	559.0 ± 135.5

^{a)}M \pm SD *P<0.01 (1群に対しての有意差検定)

表7 体重および臓器重量 (体重100g当たり)

	匹数	体重 (g)	肝臓 (g)	脾臓 (mg)	副腎 (mg)
鉄欠乏群 (20% カゼイン・-Fe) ^{a)}	5	$94.4 \pm 3.4^{\text{a)}$ **	3.95 ± 0.32	$368.2 \pm 39.8^{**}$	$9.40 \pm 1.35^*$
1 20% 豆乳群 ^{b)}	6	134.0 ± 14.4	4.44 ± 1.38	220.8 ± 23.3	7.23 ± 1.49
2 20% 豆乳+0.3% メチオニン群	6	$173.3 \pm 9.0^{**}$	4.34 ± 0.57	$289.8 \pm 32.5^{**}$	7.55 ± 1.49

^{a)}離乳直後のラットを鉄欠乏飼料で2週間飼育後の値^{b)}鉄欠乏飼料で2週間飼育後、2群に分け各飼料を投与し3週間飼育後の値^{a)}M \pm SD *P<0.05 **P<0.01 (1群に対しての有意差検定)

鉄は有意に減少した。またヘモグロビン量やヘマトクリット値も有意に減少し著しい貧血の状態を示した。血清総コレステロールは各群の間に有意差は認められなかった。一方、血清トリグリセリドは鉄欠乏により明らかに増加した。

実験II 豆乳投与実験

(1) 発育と臓器重量

体重と臓器重量 (体重100g当たりの重量) は表7に示した。体重は1群の豆乳群と比較して、2群のメチオニン添加群では有意に増加した。臓器重量 (体重100g当たりの重量) は1群の豆乳群と比較して、2群のメチオニン添加群では脾臓の重量が有意に増加していることが認められた。

(2) 血清鉄量、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値

血清鉄量、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値は表8に示した。血清鉄量、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値とも2週目の鉄欠乏時に比べて豆乳投与により著しい増加が認められた。1群の豆乳群と2群のメチオニン添加群とを比較すると、血清鉄量は1群の豆乳群

表8 血清鉄・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値

	血清鉄 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	ヘモグロビン量 (g/dl)	ヘマトクリット値 (%)
鉄欠乏値 (20% カゼイン・-Fe) ^{a)}	35.2 \pm 4.8 ¹⁾ **	4.75 \pm 0.6**	12.1 \pm 2.2**
1 20% 豆乳群 ^{b)}	67.8 \pm 19.9	9.35 \pm 1.1	30.5 \pm 3.7
2 20% 豆乳+0.3% メチオニン群	61.7 \pm 17.3	8.38 \pm 1.0	28.2 \pm 3.6

^{a)}離乳直後のラットを鉄欠乏飼料で2週間飼育後の値^{b)}鉄欠乏飼料で2週間飼育後、2群に分け各飼料を投与し3週間飼育後の値¹⁾M \pm SD **P<0.01 (1群に対しての有意差検定)

表9 血清総コレステロール量およびトリグリセリド値

	総コレステロール (mg/dl)	トリグリセリド (mg/dl)
鉄欠乏値 (20% カゼイン・-Fe) ^{a)}	93.5 \pm 20.7 ¹⁾ *	1243.0 \pm 841.0**
1 20% 豆乳群 ^{b)}	73.0 \pm 5.2	98.2 \pm 19.0
2 20% 豆乳+0.3% メチオニン群	77.5 \pm 14.4	110.7 \pm 49.4

^{a)}離乳直後のラットを鉄欠乏飼料で2週間飼育後の値^{b)}鉄欠乏飼料で2週間飼育後、2群に分け各飼料を投与し3週間飼育後の値¹⁾M \pm SD *P<0.05 **P<0.01 (1群に対しての有意差検定)

67.8 $\mu\text{g}/\text{dl}$ に対して、メチオニン添加区は 61.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$ であり同ような値を示した。メチオニン添加群では体重発育と共に血清鉄量の増加が認められた。

(3) 血清総コレステロール量およびトリグリセリド値

血清総コレステロール量およびトリグリセリド値は表9に示した。2週目の鉄欠乏時では血清総コレステロール量は 93.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、トリグリセリド値は 1243.0 mg/dl と高値を示した。1群の豆乳群と2群のメチオニン添加群とも鉄欠乏時に比べて血清総コレステロール量及びトリグリセリド値は有意に低下した。

4 考 察

鉄欠乏動物では肝臓中の貯蔵鉄が減少し、ついで血清鉄が減少する。鉄欠乏によりヘモグロビン量、ヘマトクリット値が減少し、鉄欠乏性貧血を示すことは良く知られている。本実験においても鉄欠乏群は2～3週ごろから体重発育が緩慢になり、また脾臓は対照群の2倍近くに肥大した。また血清鉄、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値が著しく減少することが認められた。一方、血清トリグリセリドは鉄欠乏により明らかに増加することが認められた。鉄欠乏ラットで血清トリグリセリドが高くなることは Swanson ら¹⁾により指摘されているが、本実験においても同様な結果であった。

Cunnane ら⁵⁾は鉄の摂取量をかえたラットの脂肪酸組成を調べたところ、鉄の低摂取群では血中のりん脂質、トリアシルグリセロール中のリノール酸量が多く、アラキドン酸量が少なく脂質代謝が若干阻害されたことを報告している。また、Sherman ら⁶⁾は鉄欠乏の母親と新生児

ラットにおける脂質代謝について検討し、母親では正常と鉄欠乏との差は少ないが、子供では差が大きく鉄欠乏では血清トリグリセリド、コレステロールが増量し、脂肪酸組成も変化したことを報告している。今回は血清総コレステロールは各群の間に有意差は認められなかったが、いつの時期から鉄欠乏にあったかが大きく影響してくると思われる。本実験でも鉄欠乏は脂肪酸代謝に影響を与えることが認められたので、今後さらに鉄欠乏による脂肪酸代謝に対する影響について検討する必要がある。

豆乳投与実験では鉄欠乏飼料を投与しその後、20% 豆乳または20% 豆乳+0.3% メチオニン飼料を投与した。体重発育は豆乳の第一制限アミノ酸であるメチオニンを組み合わせる事により良くなった。血清鉄量、ヘモグロビン量やヘマトクリット値は20% 豆乳投与群と20% 豆乳+0.3% メチオニン群とも同じように増加した。またメチオニン添加群では体重発育が良くなる場合に鉄の需要が増し血清鉄量が低値を示す現象は認められず、血清鉄量の増加と共に体重発育の改善が認められた。今回の実験ではタンパク源として20% 豆乳のみを用いたため、20% 豆乳からの鉄量は1.26 mg であり、血清鉄量、ヘモグロビン量やヘマトクリット値は豆乳投与により増加したが必ずしも充分とはいえない。今後供与する豆乳量を増やすか、豆乳と鉄を多く含む食品を組み合わせる実験が必要であると考えられる。

大豆のタンパク質⁷⁾、ペプチド⁸⁾、脂質⁹⁾は血清コレステロールレベルの上昇を抑制すると報告されている。今回の実験では豆乳群や豆乳とメチオニン添加群とも血清総コレステロール量及びトリグリセリド値は有意に低下した。大豆や豆乳の脂質の主成分はリノール酸である。リノール酸の多い植物性油は血清コレステロール低下作用のあることが知られており、このことがプラスに作用していることが考えられる。さらに豆乳中のオリゴ糖による腸内菌叢等への影響や豆乳摂取による腸内吸収系の変化がコレステロールの吸収を阻害している可能性も指摘されている⁴⁾。また、大豆や豆乳のミネラルの特徴としてカリウム、マグネシウム、鉄の多いことが挙げられる。今回の実験では豆乳飼料中の鉄が鉄の不足を補い鉄欠乏状態を改善することにより血清コレステロールや血清トリグリセリド値の上昇を抑制したことも考えられる。近藤¹⁰⁾は大豆中の鉄の availability に対するフィチン酸の作用について、フィチン酸が鉄の availability を低下させる作用を見いだすことはできなかったと報告し、フィチン酸は鉄と不溶性のコンプレックスを形成する可能性は少ないのではないかと述べている。いずれにしても本実験では豆乳投与は鉄欠乏動物におけるトリグリセリドの上昇を抑制させる効果のあることが示唆された。

要 約

血清トリグリセリドレベルに及ぼす鉄欠乏の影響を検討した。さらに鉄欠乏動物に豆乳を投与し、血清鉄、ヘモグロビン量とヘマトクリット値の改善や血清トリグリセリド上昇の抑制効果について検討した。その結果、(I) 鉄欠乏動物では血清鉄、ヘモグロビン量やヘマトクリット値が著しく減少し、一方血清トリグリセリド値は著しく増加することが認められた。(II) 鉄欠乏動物に20% 豆乳飼料または20% 豆乳+0.3% メチオニン飼料投与することにより、血清鉄、ヘモグロビン量とヘマトクリット値は両群とも同様に増加した。また、血清総コレステロール量と血清トリグリセリド値は両群で同様に減少することが認められ、豆乳投与は鉄欠乏動物の血清トリグリセリドの上昇を著しく抑制させる効果のあることが示唆された。

本研究は日本豆乳協会の研究助成を受けて行いました。記して謝意を表します。

- 1) Swanson J.E. and Parker R.S.: Effect of iron deficiency on liver vitamin A and β -carotene stores in rats fed β -carotene as sole source of vitamin A, *FASEB.*, J7 (3-4). 1993. A276.
- 2) 斎尾恭子: 古くて新しい食品・豆乳: 食の科学, **71**, 58-71 1983.
- 3) 石井孝彦, 山口迪夫: 成長期ラットにおける豆乳たんぱく質の栄養価と豆乳の血清コレステロール上昇抑制作用, *栄養学雑誌*, **6**, 347-353 1992.
- 4) 都築公子, 飯野久和, 浅尾弘明, 本多芳孝, 福場博保: 豆乳摂取がラットの血清コレステロール値に及ぼす影響, *栄養学雑誌*, **53**, 127-134 1995.
- 5) Cunnane S.C. and Mcadoo K.R.: Iron intake influences essential fatty acid and lipid composition of rat plasma erythrocytes, *J. Nutr.*, **117**, 1514-1519 1987.
- 6) Sherman A.R., Bartholmey S.J. and Perkins E.G.: Fatty acid patterns in iron deficient maternal and neonatal rats, *Lipids*, **17**, 639-643 1982.
- 7) 菅野道博: 食品たんぱく質と血液コレステロール, *化学と生物*, **20**, 155-163 1982.
- 8) Iwami K. Sakakibara K. and Ibuki F.: Involvement of post-digestion 'hydrophobic' peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins, *Arg. Biol. Chem.*, **50**, 1217-1222 1986.
- 9) 小島義樹, 黒田圭一, 斎藤衛郎, 西出英一, 山口迪夫: ラットの血液性状および血清脂質に及ぼす大豆レシチンと大豆混合リン脂質投与の影響の差異について, *日本栄養・食糧学会誌*, **41**, 457-463 1988.
- 10) 近藤博信: 大豆中ミネラルの利用性, *金城学院大学論集*, **22**, 57-62 1982.