

# 成長期ラットのリボフラビン代謝に 及ぼす飼料タンパク質および リボフラビンレベルの影響

奥 村 ミ サ ヲ

Effect of Dietary Protein and Riboflavin Levels  
on Riboflavin Metabolism in Growing Rats

Misao Okumura

## 緒 言

前報<sup>1)</sup>において、成長期ラットにおける飼料中タンパク質レベルが体内リボフラビン（以下  $B_2$  と略記）代謝に及ぼす影響を検討し、低タンパク質飼料では蓄積される  $B_2$  量が少なく、排泄される  $B_2$  量が多いこと、次いで高タンパク質飼料でも排泄される  $B_2$  量が多く、とくに肝臓における  $FAD^*$  の分解が顕著であることを報告した。

本報は、高タンパク質飼料投与時の  $B_2$  の利用障害の原因を追求する目的で、高タンパク質飼料投与時の  $B_2$  レベルを変化させた場合の臓器内  $B_2$  蓄積量、尿および糞便中への  $B_2$  排泄量を測定し、標準タンパク質投与の場合と比較検討し、若干の知見を得たので報告する。

## 実 験 材 料

1. 供試動物：体重 50 g 前後（4 週令）の Wistar 系純系雄ラット 25 匹を用いた。
2. 試薬：前報に準ずるものを使用した。
3. 飼料

標準飼料は Harper ら<sup>2)</sup> の方法に準じて表 1 に示すごとく調製した。すなわち、22% のカゼインを対照とし、過剰のカゼインをコーンスターチで置き換え高タンパク質飼料（40%）

\*  $FAD$  Flavin adenin dinucleotide

表1 飼料組成(%)

成分	実験群	対照 I <sup>a</sup>	対照 II <sup>b</sup>	高タンパク質 飼料 I <sup>a</sup>	高タンパク質 飼料 II <sup>b</sup>	高タンパク質 飼料 III <sup>c</sup>
カゼイン		22.0	22.0	40.0	40.0	40.0
ミネラル混合物		5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合物 (水溶性)		0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
(脂溶性)		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
コーンオイル		4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
コーンスターチ		67.6	67.6	49.6	49.6	49.6
塩化コリン		0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

a 低リボフラビン 0.25mg/100g 飼料

b 標準リボフラビン 0.5 mg/100g 飼料

c 高リボフラビン 1.0 mg/100g 飼料

とした。さらに、投与 B<sub>2</sub> レベルを対照群では低および標準 B<sub>2</sub> の2群とし、高タンパク質飼料群では低、標準および高 B<sub>2</sub> の3群に分けた。

## 実験方法

### 1. 動物の飼育

上記のラット25匹を5群に分けて飼育した。飼育条件は前報<sup>1)</sup>に準じた。体重は毎日又は隔日に測定し、体重測定時に飼料の残量、尿量を測定し、また、尿、糞は1週間ずつプールして凍結保存し分析に用いた。

### 2. 試料の採取

飼育29日目にエーテル麻酔の後腹部大動脈よりヘパリナイズした遠沈管に血液を採取、次いで肝臓、腎臓を摘出し、肝臓は0°Cの生理的食塩水で灌流し血液を除去した後実験に供した。

### 3. 尿、糞、血液、肝臓および腎臓中の B<sub>2</sub> 量の測定

尿、血液、肝臓および腎臓中の B<sub>2</sub> 量の測定は前報<sup>1)</sup>のごとく行った。

糞便は少量の蒸留水を加えて乳針で磨碎の後蒸留水で74倍量にして15分間温水浸出(80°C)を行い、冷却の後遠沈して得られた上清につき常法に従って予浸を行い、ルミフラビン蛍光法<sup>3)</sup>により B<sub>2</sub> 量を求めた。B<sub>2</sub> の蛍光測定には島津微量蛍光分光光度計(RF-510)を使用した。

### 4. 血液、肝臓および腎臓中のタンパク質の定量

血液は全血 20 μl、肝臓および腎臓は16倍容の0.25 Mシヨ糖溶液で磨碎の後、そのホモジエネート 5 μl につき Lowry 法<sup>4)</sup>によりタンパク質量を求めた。

## 実験結果及び考察

### 1. 体重の変化と摂食量

表2に示すごとく、増体重において対照群と高タンパク質飼料群、また、夫々の群間においても有意な差は認められなかった。また、摂食量においても有意な差はなく5群とも平均して同程度の値を示した。

表2 体重の変化と摂食量

実験群	体重 (g)		増体重 (g)	摂食量 (g/日)	
	初体重	終体重			
対照飼料	I	59.0±2.3	215.4±13.7	156.4±13.5	14.0±0.7
	II	59.8±1.9	209.0±9.8	151.0±8.9	14.4±0.5
高タンパク質飼料	I	59.0±3.3	234.4±6.8	175.4±7.1	13.5±0.4
	II	60.4±2.8	244.8±12.1	185.0±11.5	14.4±0.5
	III	60.4±3.0	214.0±13.1	153.6±10.8	14.7±0.7

### 2. 肝臓および腎臓中 B<sub>2</sub> 量

表3にみるごとく、肝臓の mg タンパク当りの総 B<sub>2</sub> 量は低 B<sub>2</sub> 投与の対照 I 群と高タンパク質飼料 I 群において有意に低く ( $p < 0.05$ )、標準 B<sub>2</sub> 投与の対照 II 群、高タンパク質飼料 I, III 群においては有意な差が認められなかった。また、三型 B<sub>2</sub> 量をみると対照群において FAD 量が有意に高いが ( $p < 0.05$ )、高タンパク質飼料群では有意に低く ( $p < 0.05$ )、高タンパク質飼料群間では高 B<sub>2</sub> 投与の III 群でやや高いが対照群より低値を示した。

表3 肝臓のリボフラビン含量

実験群	総リボフラビン量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)	三型リボフラビン (%)			
		FAD	FMN	FR	
対照飼料	I	0.122±0.01 <sup>a,A</sup>	82.0±1.3 <sup>a</sup>	16.5±1.3	1.5±0.1 <sup>a</sup>
	II	0.163±0.01 <sup>b,A</sup>	80.6±0.8 <sup>a</sup>	17.8±0.8	1.6±0.2 <sup>a</sup>
高タンパク質飼料	I	0.120±0.01 <sup>a,A</sup>	75.8±1.7 <sup>c</sup>	21.8±1.3	2.4±0.4 <sup>a</sup>
	II	0.175±0.01 <sup>b,B</sup>	76.7±1.2 <sup>c</sup>	21.1±1.3	2.2±0.5 <sup>a</sup>
	III	0.164±0.01 <sup>b,A</sup>	78.8±1.7 <sup>b</sup>	18.3±1.6	2.9±0.5 <sup>b</sup>

平均値±標準誤差 (n=5)

異符号間に有意差あり (大文字  $p < 0.01$ , 小文字  $p < 0.05$ )

腎臓中の B<sub>2</sub> 量を表4に示した。表にみるごとく肝臓ほど顕著な差は認められなかったが、やはり対照群でやや低く、高タンパク質飼料群でやや高く、夫々の群間では投与 B<sub>2</sub> 量が多い程高い値を示した。三型 B<sub>2</sub> 量については対照 II 群で高く、他の4群間では同程度の値を示した。

表4 腎臓のリポフラビン含量

実 験 群	総リポフラビン量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)	三型リポフラビン (%)			
		FAD	FMN	FR	
対 照 飼 料	I	0.177 $\pm$ 0.01	46.0 $\pm$ 2.1	52.1 $\pm$ 2.0	1.9 $\pm$ 0.2 <sup>a,A</sup>
	II	0.188 $\pm$ 0.01	50.1 $\pm$ 2.7	48.2 $\pm$ 2.5	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>a,A</sup>
高タンパク質飼料	I	0.171 $\pm$ 0.01	46.8 $\pm$ 0.8	51.4 $\pm$ 1.0	1.8 $\pm$ 0.2 <sup>a,A</sup>
	II	0.198 $\pm$ 0.01	45.0 $\pm$ 1.1	52.7 $\pm$ 1.1	2.3 $\pm$ 0.3 <sup>a,A</sup>
	III	0.192 $\pm$ 0.02	45.1 $\pm$ 1.3	51.3 $\pm$ 1.3	3.6 $\pm$ 0.2 <sup>b,B</sup>

平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=5)

異符号間に有意差あり (大文字  $p < 0.01$ , 小文字  $p < 0.05$ )

高タンパク質投与の場合、それに見合った  $B_2$  量を投与すれば臓器内に蓄積されるであろうと期待したが、標準量を上まわって与えても比例して蓄積されず、排泄される  $B_2$  量も多いものと推察される。

### 3. 血液中 $B_2$ 量

高タンパク質飼料 III 群で有意に高く ( $p < 0.01$ ), 他の 4 群間では有意な差は認められなかった (表 5)。しかし、肝臓、腎臓と同様に投与タンパク質量、投与  $B_2$  量の多い群において高い傾向を示した。三型  $B_2$  量については、対照 I の低  $B_2$  投与において FAD 量が高く、次いで高タンパク質飼料 I, II 群であり、対照 II と高タンパク質飼料 III 群で低い値を示した。

表5 血液中のリポフラビン含量

実 験 群	総リポフラビン量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)	三型リポフラビン (%)			
		FAD	FMN	FR	
対 照 飼 料	I	0.103 $\pm$ 0.09 <sup>a,A</sup>	85.2 $\pm$ 7.4	9.6 $\pm$ 0.7	5.2 $\pm$ 0.5
	II	0.126 $\pm$ 0.01 <sup>a,A</sup>	64.9 $\pm$ 5.2	16.7 $\pm$ 1.4	18.4 $\pm$ 1.4
高タンパク質飼料	I	0.091 $\pm$ 0.01 <sup>a,A</sup>	73.1 $\pm$ 6.7	13.4 $\pm$ 1.2	13.5 $\pm$ 1.2
	II	0.130 $\pm$ 0.01 <sup>a,A</sup>	73.3 $\pm$ 6.3	9.4 $\pm$ 0.8	17.3 $\pm$ 1.5
	III	0.155 $\pm$ 0.01 <sup>b,B</sup>	67.1 $\pm$ 6.0	13.5 $\pm$ 1.2	19.4 $\pm$ 1.8

平均値 $\pm$ 標準誤差 (n=5)

異符号間に有意差あり (大文字  $p < 0.01$ , 小文字  $p < 0.05$ )

血液レベルでは、投与タンパク質に見合った  $B_2$  量を投与すれば血中濃度は上昇するが既報に示したごとく<sup>1)</sup>, 細胞の FAD 分解酵素活性も強化され FAD の残存率は低下するものと思われる。

### 4. 尿中 $B_2$ 量

総  $B_2$  量の変化を図 1 に示した。体重当りの値 (A) でみると、低  $B_2$  投与の対照 I と高タンパク質飼料 I では 28 日間を通じて排泄  $B_2$  量が少なく、投与  $B_2$  量が多くなると排泄される  $B_2$  量も多くなるが、対照 II 群と高タンパク質飼料 II 群を比較すると後者で少なく、尿中  $B_2$

の排泄量は投与タンパク質と  $B_2$  量のバランスにより異なることを示唆するものと思われる。また、排泄  $B_2$  量は対照 I 群では 3 週でピークになり以降減少の傾向を示すのに対し、高タンパク質飼料 I, II 群ではさらに増加の傾向を示した。また、体重 100 g 当りに換算してみると (B)、体重当たりほど顕著ではないが同様の傾向がみられた。さらに、尿中の三型  $B_2$  量の動態をみると図 2 にみるごとく、総  $B_2$  量の少なかった対照 I 群と高タンパク質飼料 I 群に FAD, FMN の排泄割合が多く、他の 4 群ではほとんど遊離の  $B_2$  であった。

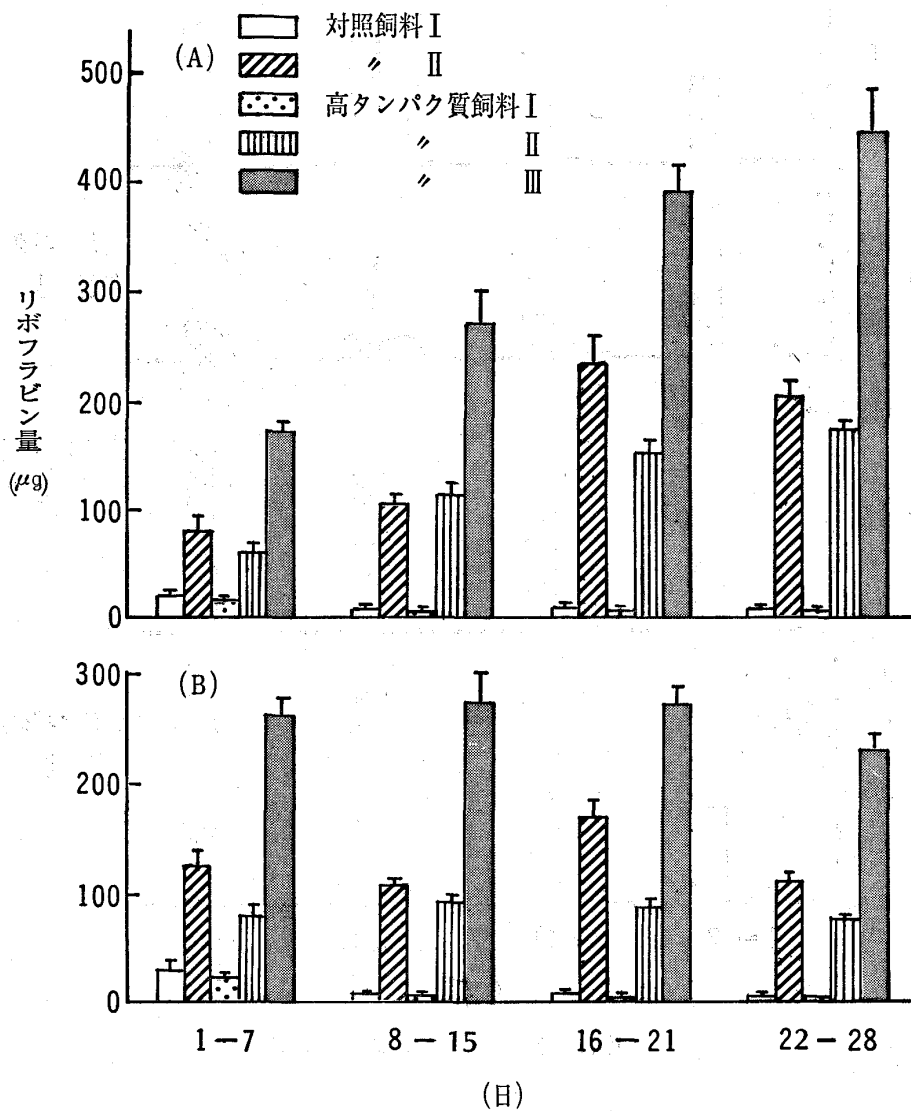


図 1 尿中総リボフラビン量の変化

## 5. 糞便中 $B_2$ 量

糞便中総  $B_2$  量は図 3 に示すごとく、尿中ほど顕著な差は認められず、尿中排泄量の少なかった対照 I 群、高タンパク質飼料 I 群においても多くの  $B_2$  が排泄されており、高タンパク質

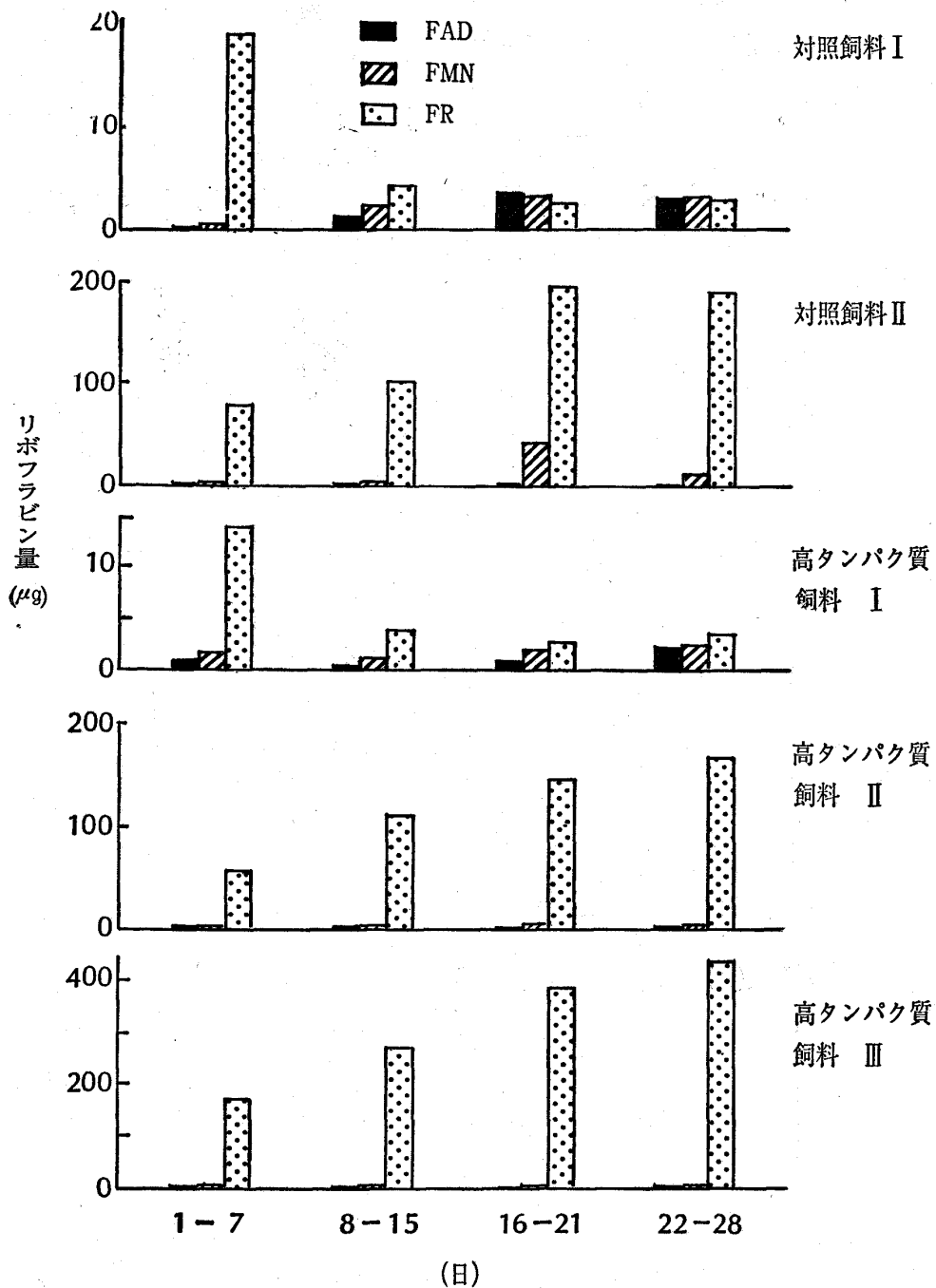


図2 尿中における三型リボフラビンの動態

飼料Ⅲ群では尿中と同様最も多い値であった(A)。これを体重100g当りに換算すると(B), 尿への排泄のピークが3週以降であるのに対し糞では1週目にあることがわかる。次に糞中における三型B<sub>2</sub>の動態をみると図4にみるごとく, 尿中に比較して各群とも平均してFAD, FMNの排泄が多く, その排泄割合は尿中と同様投与B<sub>2</sub>量の少なかった対照Ⅰ群と高タンパク質飼料Ⅰ群で高いこと, 対照群, 高タンパク質飼料群とも投与B<sub>2</sub>量が多いとFAD, FMN等の結合型B<sub>2</sub>の排泄割合が少なくなることが伺われる。これは適量のB<sub>2</sub>量投与によ

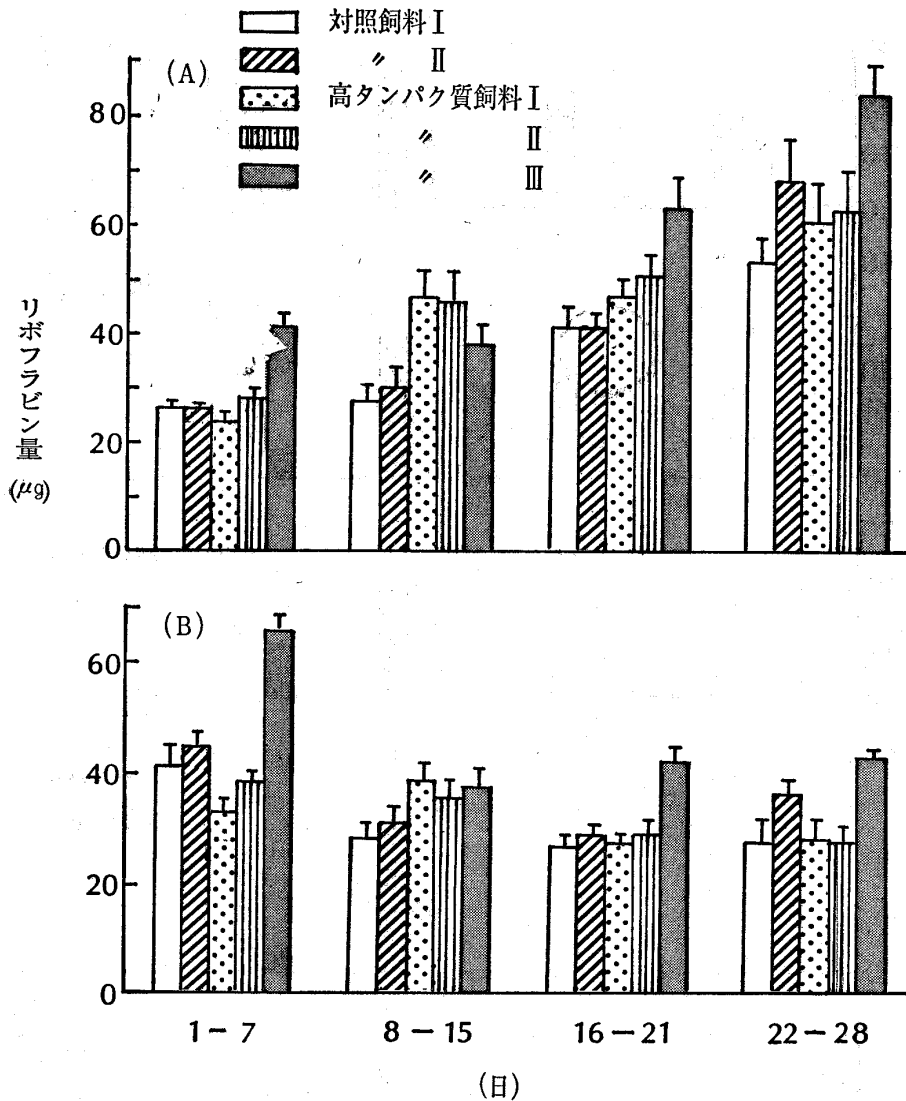


図3 糞中総リボフラビン量の変化

って結合型  $B_2$  の分解が抑制されるものと思われる。

## 6. $B_2$ の出納

以上の結果をもとに 28 日間飼育ラットの  $B_2$  出納を計算すると表 6 に示すごとく、 $B_2$  の出

表 6 28 日間飼育ラットのリボフラビン出納

実験群	摂取リボフラビン量 ( $\mu\text{g}$ )	尿中リボフラビン量 ( $\mu\text{g}$ )	糞中リボフラビン量 ( $\mu\text{g}$ )	リボフラビン出納 ( $\mu\text{g}$ )	リボフラビン蓄積率 (%)
対照飼料 I	981 $\pm$ 48 <sup>a,A</sup>	42 $\pm$ 3 <sup>a,A</sup>	150 $\pm$ 9 <sup>a,A</sup>	813 $\pm$ 35 <sup>a,A</sup>	81 $\pm$ 1 <sup>b,B</sup>
対照飼料 II	2010 $\pm$ 65 <sup>b,B</sup>	624 $\pm$ 39 <sup>c,B</sup>	167 $\pm$ 11 <sup>a,A</sup>	1219 $\pm$ 44 <sup>b,B</sup>	61 $\pm$ 2 <sup>a,A</sup>
高タンパク質飼料 I	947 $\pm$ 31 <sup>a,A</sup>	34 $\pm$ 5 <sup>a,A</sup>	178 $\pm$ 13 <sup>a,A</sup>	735 $\pm$ 25 <sup>a,A</sup>	78 $\pm$ 1 <sup>b,B</sup>
高タンパク質飼料 II	2014 $\pm$ 77 <sup>b,B</sup>	490 $\pm$ 33 <sup>b,B</sup>	189 $\pm$ 15 <sup>a,A</sup>	1335 $\pm$ 71 <sup>b,B</sup>	66 $\pm$ 2 <sup>a,A</sup>
高タンパク質飼料 III	4102 $\pm$ 200 <sup>c,C</sup>	1279 $\pm$ 34 <sup>b,C</sup>	228 $\pm$ 18 <sup>b,B</sup>	2532 $\pm$ 186 <sup>c,C</sup>	62 $\pm$ 1 <sup>a,A</sup>

平均値  $\pm$  標準誤差 (n=5)

異符号間に有意差あり (大文字  $p < 0.01$ , 小文字  $p < 0.05$ )

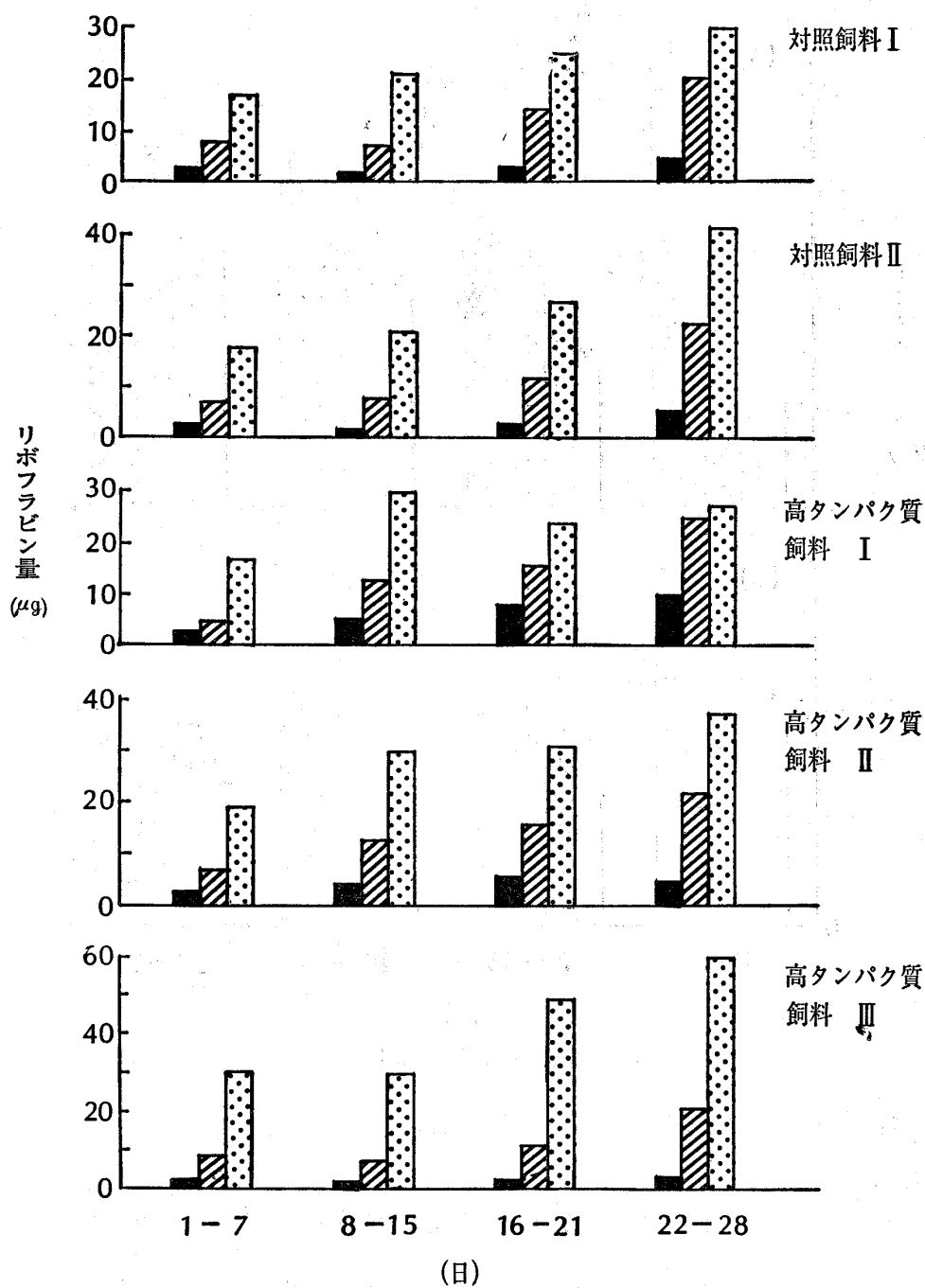


図4 糞中における三型リボフラビンの動態

納は投与  $B_2$  量の少ない対照 I 群と高タンパク質飼料 I 群で有意に低い ( $p < 0.01$ ) が体内蓄積率に換算してみると対照 I 群で最も高く、次いで高タンパク質飼料 I 群となり対照 II 群と高タンパク質 III 群では排泄される  $B_2$  量が多いために蓄積率が低くなる。このことは、体内に蓄積される  $B_2$  量は Sarett<sup>5)</sup>, Unna<sup>6)</sup>, 高橋<sup>7)</sup> がのべている摂取タンパク質の多少のみならず、同時に摂取  $B_2$  量とのバランスにより異なることを意味し、高タンパク質飼料投与の場合添加する  $B_2$  量を高濃度にすると逆に体内における  $B_2$  の利用性を減ずることになる。従って



高タンパク質のみならず、標準タンパク質投与時においても  $B_2$  の利用率を高めるためには、投与タンパク質量に見合った適量の  $B_2$  が必要であると思われる。なお、これらの生化学的メカニズムについては今後の検討課題としたい。

## 要 約

幼若ラットを用い、2種のタンパク質量、さらに  $B_2$  量を3段階に分けた5種の飼料を投与し28日間飼育した。その体重変化および肝臓、腎臓、血液中の  $B_2$  量ならびに尿、糞便中の  $B_2$  量を測定し、以下のことが判明した。

1. 増体重と摂食量においては、各群間における有意な差は認められなかった。
2. 肝臓および腎臓中  $B_2$  量は投与タンパク質量が同じ場合、投与  $B_2$  量が多いほど蓄積される  $B_2$  量は多くなるが、対照（標準タンパク質+標準  $B_2$ ）と高タンパク質飼料（標準  $B_2$  および高  $B_2$ ）群の間では有意な差が認められなかった。
3. 血液中  $B_2$  量は投与タンパク質量、投与  $B_2$  量の多い高タンパク質飼料Ⅲ群で有意に高く、他の4群間では有意な差は認められなかった。
4. 尿中  $B_2$  量は投与タンパク質量の多少にかかわらず投与  $B_2$  量が多くなると排泄される  $B_2$  量も多くなる傾向がみられた。
5. 糞便中  $B_2$  量については、尿中ほど群間において顕著な差は認められず平均的な  $B_2$  量（体重 100 g 当り 40  $\mu$ g）の排泄が認められた。
6. 以上の結果より、 $B_2$  の出納は対照群（低  $B_2$  投与）と高タンパク質飼料群（低  $B_2$  投与）において蓄積率が最も高かった。

なお、本報は日本家政学会第38回大会において発表したものである。

## 文 献

- 1) 奥村ミサヲ, 宮崎幸恵: 東海学園女子短期大学紀要, **21**, 33-42 (1986)
- 2) Harper, A. E.: J. Nutr., **68**, 405-418 (1959)
- 3) Yagi, K.: Method in Enzymology, **17** (B), 290-296 (1971)
- 4) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951)
- 5) Sarett, H. P. & Perlzweig, W. A.: J. Nutr., **25**, 173 (1942)
- 6) Unna, K., Singher, H. O., Kensler, C. J., Tayler, H. C. & Rhoads, C. P.: Proc. Soc. Exp. Biolog. Med., **55**, 254 (1944)
- 7) 高橋通夫: 内科宝函, **4**(9), 743-746 (1957)