

高リン給餌時のラット腎臓ミネラル濃度およびミネラル出納に及ぼす 魚肉たんぱく質の影響

宮内 一 匡, 須田 理子, 中澤 知奈美, 細見 亮太[†],
吉田 宗弘, 福永 健治
(関西大学化学生命工学部食品栄養化学研究室*)

Influence of Fish Protein on Kidney Mineral Concentrations and Mineral Balance in Rats Fed a High Phosphorus Diet

Kazumasa MIYAUCHI, Satoko SUDA, Chinami NAKAZAWA, Ryota HOSOMI,
Munehiro YOSHIDA and Kenji FUKUNAGA
*Laboratory of Food and Nutritional Science, Faculty of Chemistry Materials
and Bioengineering, Kansai University*

Summary

Phosphorus (P) is used as a phosphate in a wide variety of processed foods, such as fish cakes, processed meat, cheese, frozen bakery products, and carbonated beverages. Phosphates are added to surimi and processed meat in order to improve water retention and prevent alterations during freezing. The effects of the proteins of fish (FP) and meat, which are contained in surimi and processed meat, on the calcium (Ca) and P balance have not yet been examined in vivo. Therefore, we herein investigated the influence of FP on the Ca and P balance in rats fed a high P diet. Experimental diets were formulated as follows: a normal-P (0.3% P wt/wt, potassium dihydrogen phosphate) diet, high-P (1.5% P wt/wt, potassium dihydrogen phosphate) diet, and high-polyphosphate (1.5% P wt/wt, sodium polyphosphate) diet. The protein source of each experimental diet was FP or chicken breast protein (CP). Male Wistar rats were fed the experimental diets for 4 weeks. Kidney weights and mineral concentrations were significantly higher in rats fed the high-P and high-polyphosphate diets than in rats fed the normal-P diet. While Ca and P concentrations in the kidney were significantly higher in rats fed the high-P and high-polyphosphate diets, no significant difference was observed when FP or CP was provided as the dietary protein source. Furthermore, no significant differences were observed in the effects of FP and CP on the Ca and P balance. These results suggested that FP or CP did not exert significantly different effects on mineral concentrations or the mineral balance in the kidney.

近年、日本人の食生活は生鮮食品から加工食品消費増大へと推移しており、加工食品に添加されるリン酸塩の影響により、リン (P) の過剰摂取が問題視されている。平成25年国民健康・栄養調査において、P摂取量は男性で平均1,056 mg/1人1日、女性で平均908 mg/1人1日であると報告されている¹⁾。ただし、この調査では加工食品に添加されているPは加算されていないため、実際にはこれ以上のPが摂取されていると考えられている²⁾。武田らは食品需給表を用いてP含有輸入食品およびP含有食品添加物を計算に加えると、1995年で日本人は1人1日当たり1,500 mg以上のPを消費していると報告してい

る³⁾。長期にわたり慢性的にPを過剰摂取すると、カルシウム (Ca) の吸収抑制、腎機能の低下、副甲状腺機能亢進などの健康被害を引き起こす可能性が高くなる⁴⁾。

結着剤やpH調整剤として加工食品に用いられている食品添加物として使用が許可されているリン酸塩には大きく分けて正リン酸塩と重合リン酸塩がある。日本の伝統的食品であるかまぼこなどの水産練り製品の原料として用いられる冷凍すり身には、保存時の変性防止や製品の食感向上を目的にピロリン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウムなどの重合リン酸塩が添加されている。またハムやソーセージにも、保水性、結着性、弾力性を向上させる目的として

*所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

†連絡先 (Corresponding Author), Tel: 06-6368-1765, E-mail: hryotan@kansai-u.ac.jp

正リン酸塩が用いられている。消費者の食品添加物への関心の高まりから正リン酸塩や重合リン酸塩を使用した加工製品は忌避される傾向にあるが、これらの代替となる添加物が開発されていないことから、依然としてリン酸塩の使用が続けられている。

慢性的なP摂取によって懸念されているCa出納に影響を及ぼす要因として、たんぱく質の量と質があげられる。これまでに高たんぱく質食の摂取による尿中Ca排泄の増加、低たんぱく質食の摂取によるCa吸収率および体内保留率の低下、大豆たんぱく質食はカゼイン食と比べて尿中Ca排泄が高まることなどが報告されている⁵⁻⁷⁾。また近年では、大豆たんぱく質や小麦胚芽たんぱく質の加水分解物から、Caと複合体を形成し可溶化を促すペプチドが発見されている^{8,9)}。しかし、P含有添加物がよく利用されているかまほこやソーセージといった加工食品中のたんぱく質がCaおよびP吸収および出納に及ぼす影響について報告はない。前報において、スケトウダラたんぱく質(FP)またはトリささ身たんぱく質(CP)を用いた高重合リン酸塩(P濃度=1.5% wt/wt)飼料を人工消化しCaおよびP可溶性を検討した結果、FP飼料においてCa可溶性が高まる傾向が観察された¹⁰⁾。そこで本研究では、たんぱく質源の違いによるCaおよびP吸収に及ぼす影響を明らかにするため、正リン酸塩および重合リン酸塩をP源とする高P飼料を調製し、ラットを用いた動物実験によりCaおよびPの体内利用に及ぼす影響を検討した。

実験方法

1. 飼料調製

AIN-93G組成¹¹⁾をもとに、リン酸二水素カリウム(KH_2PO_4)でP量を全体の0.3%(通常P飼料)、 KH_2PO_4 でP量を1.5%(高P飼料)、ポリリン酸ナトリウム(重合度、3および4)でP量を1.5%(高PP飼料)に調製した飼料を作製した。前報の飼料組成と同様にFPおよびCPを各飼料のたんぱく質源とし、PおよびCa濃度は同等となるように調製した¹⁰⁾。

2. 動物実験

本実験は関西大学化学生命工学部実験動物実験委員会の承認を受けて実施した。実験動物には4週齢Wistar系雄ラット(日本エスエルシー株式会社)を用いた。36匹を6匹ずつ6群に分け、その各々に調製した飼料を与えた。ラットは1ゲージに3匹で、室温 $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ の飼育室内で、明暗12時間サイクル(8:00~20:00)の条件下で飼育した。飼料および水は自由摂取とし、21日間飼育した。また、飼育終了前3日間に出納試験を実施した。出納試験にはステンレス製代謝ケージ(株式会社夏目製作所)を使用し、糞尿を毎日分離採取した。飼育期間終了後、ソムノベンチル(共立製薬株式会社)による深麻酔下で腹部大動脈より採血し、肝臓、腎臓、脛骨を採取した。血液は

$1,500 \times \text{g}$, 15分間遠心分離し血清を得た。肝臓、腎臓、脛骨は液体窒素にて凍結し、 -80°C で分析まで保管した。

3. 分析方法

血清生化学検査(アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、Ca、無機P(Pi)、マグネシウム(Mg))は日本医学株式会社に依頼した。採取した臓器と糞は濃硝酸で灰化後、Ca濃度はフレイム式原子吸光法で、P濃度はモリブデンブルー法¹²⁾で測定した。尿のCaとP濃度はカルシウムE-テストワコーとホスファC-テストワコー(共に和光純薬工業株式会社)を用いて測定した。CaおよびPの摂取量および糞と尿への排泄量をもとに、両ミネラルの見かけの吸収率と保留率をもとめた。

4. 統計処理

得られた測定値は平均値 \pm 標準誤差で示した。各飼料群間の差については、一元配置分散分析とTurkey-Kramer法による多重間比較で検定を行った。統計解析はStat View J-5.0(ヒューリンクス社製)を用いた。なお、有意水準は $p < 0.05$ とした。

結果と考察

Table 1に飼育期間中の体重変化、飼料および水分摂取量と解剖時の体重100g当たりの臓器重量を示した。通常Pおよび高P飼料に比べ、高PP飼料CP群で終体重および体重増加量の有意な低下がみられた。また飼料摂取量と飼料効率については、統計的有意差は確認できなかった。水分摂取量は高Pおよび高PP飼料で通常P飼料と比較し、有意に高い値を示した。また解剖時の体重100g当たりの腎臓重量は、高PP飼料において通常Pおよび高P飼料に比べ有意な上昇がみられた。しかし、体重100g当たりの肝臓および脾臓重量には各群間で有意な差はみられなかった。Siu *et al.* は成長期Wistar系ラットを用いて、飼料中P濃度を0.1%から1.8%までの飼料を調製し14日間の飼料摂取量の変化を観察したところ、飼料中P濃度が増加すると飼料摂取量が減少することを報告している¹³⁾。またMatsuzaki *et al.* も KH_2PO_4 またはリン酸二水素ナトリウムをP源に用いて調製した通常P飼料(P=0.3%)と高P飼料(P=1.5%)を比較すると終体重と飼料摂取量の減少と腎臓重量の増大を報告している。加えて、 KH_2PO_4 によって調製したP濃度1.2%飼料においては通常P飼料と比較し、飼料摂取量と腎臓重量は変化しないとも報告している^{14,15)}。本研究において通常Pおよび高P飼料を比較した場合に終体重や飼料摂取量の有意な低下や腎臓重量の増加が確認されなかった原因の一つとして、飼料中のたんぱく質源が異なることがあげられる。これまでの報告ではカゼインをたんぱく質源とする飼料を給餌させているが、本研究ではFPおよびCPをたんぱく質源とし

Table 1 Growth parameters and relative organ weights of rats fed experimental diets

	Normal-phosphorous diet		High-phosphorus diet		High-polyphosphate diet	
	FP	CP	FP	CP	FP	CP
Growth parameters						
Initial body weight (g)	88.2 ± 2.7	90.7 ± 0.8	90.2 ± 2.0	90.8 ± 1.5	90.0 ± 2.2	90.7 ± 1.6
Final body weight (g)	251.3 ± 4.7 ^b	250.7 ± 3.7 ^b	240.3 ± 13.0 ^b	247.1 ± 3.9 ^b	206.2 ± 17.1 ^{ab}	184.9 ± 15.1 ^a
Body weight gain (g/day)	7.42 ± 0.20 ^b	7.27 ± 0.16 ^b	6.82 ± 0.52 ^b	7.10 ± 0.17 ^b	5.28 ± 0.80 ^{ab}	4.28 ± 0.74 ^a
Food intake (kcal/day)	17.3 ± 0.9	16.5 ± 1.2	16.5 ± 0.8	17.7 ± 0.8	15.8 ± 1.9	14.2 ± 1.7
Food efficiency (g/kcal)*	0.429 ± 0.013	0.442 ± 0.010	0.412 ± 0.031	0.402 ± 0.009	0.334 ± 0.051	0.302 ± 0.052
Water intake (mL/day)	32.4 ± 2.2 ^a	34.0 ± 1.5 ^a	45.0 ± 1.8 ^b	45.3 ± 1.9 ^{bc}	54.7 ± 3.2 ^c	48.0 ± 2.7 ^{bc}
Relative organ weight (g/100g BW)						
Liver	3.78 ± 0.10	3.86 ± 0.09	4.00 ± 0.10	4.05 ± 0.09	3.76 ± 0.24	3.87 ± 0.30
Kidney	0.72 ± 0.01 ^a	0.68 ± 0.02 ^a	1.26 ± 0.18 ^a	1.09 ± 0.05 ^a	3.41 ± 0.53 ^b	3.97 ± 0.58 ^b
Spleen	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.24 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.46 ± 0.17

Data are presented as the mean ± SEM (n = 7). Values not sharing a common letter were significantly different at $p < 0.05$. Data were analyzed using the Tukey-Kramer test.

* Food efficiency = Body weight gain (g/day) / Food intake (g/day).

ている。今後、従来の実験でよく用いられているカゼインと比較し、動物性たんぱく質の違いによる高P飼料給餌の影響を評価する必要があると考える。

Table 2に血清生化学検査および臓器中のCaとP濃度を示した。肝機能指標であるASTおよびALT値は、高PP飼料で通常Pおよび高P飼料と比較し、AST値の有意な増加がみられたが、ALT値の変化はみられなかった。ASTは肝臓以外の組織にも多く存在することから、ASTのみが高い値の場合は肝疾患以外の心・骨格筋疾患や血液疾患が疑われる。今後AST値のみ上昇した原因を調べていく必要があると考える。血清Ca濃度は高PP飼料において通常P飼料よりも低値を示した。血清PiおよびMgは各群間で有意な変化は観察されなかった。腎臓CaおよびP濃度ともに通常P飼料と比較した際に高Pおよび高PP飼料で有意な増加が確認された。これまでに過剰なP摂取による悪影響の一つとして腎臓のCa蓄積による石灰化が知られており、近位尿細管への障害の指標である尿中N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼやβ₂-マイクログロブリン量の増大が報告されている¹⁶⁾。本研究においても同様に、高PおよびPP飼料給餌によって腎臓中のCa濃度が有意に増加していることから、腎臓の石灰化が引き起こされたと考えられる。またMatsuzaki *et al.*は、正リン酸塩またはトリポリリン酸塩を用いた高P飼料をラットに給餌した場合、トリポリリン酸塩飼料で腎臓重量、CaおよびP濃度が増加することを報告している¹⁵⁾。本研究においても高PP飼料において腎臓CaおよびP濃度の増加がみられたことから、P化学形態の違いが影響したと考えられる。本研究で用いた正リン酸はカリウム塩、ポリリン酸はナトリウム塩で異なる。ナトリウム摂取量の増加は、Ca吸収と尿中Ca排泄の増加などCa代謝に影響を及ぼすことが報告されているが¹⁷⁾、本研究で用いた濃度ではCa代謝に大きな影響を及ぼさないことが報告されている¹⁸⁾。また高P投与による腎臓石灰化の度合いは、リン酸のカリウム塩およびナトリウム塩の影響よりも化学形態の

方が大きいことが報告されている¹⁴⁾。そのために本研究での塩の形態の違いはそこまで大きな影響はないと考えられる。一方、高PP飼料のFPおよびCP群間を比較すると、腎臓単位重量あたりのCaおよびP濃度に有意な差は見られないが、腎臓1個あたりのCaおよびP量においてCP群で有意に低下していた。飼料中のたんぱく質源の違いがこの影響を生み出したと考えることもできるが、高PP飼料CP群では通常P飼料と比較し有意な終体重の減少がみられており、栄養素欠乏による二次的な影響を受けている可能性が否定できない。今後ペアフィーディングを行うなどして、飼料摂取量をそろえた上での評価が必要と考える。一方、高P飼料の給餌によって骨Ca濃度の低下が報告されているが¹⁹⁾、本研究では有意な変化は確認されなかった。

Table 3にCaおよびPの見かけの吸収および体内保留に関するデータを示した。尿中Ca排泄量は高PP飼料CP群において通常P飼料CP群に比べ有意に低かった。この結果は、先に述べた腎臓中Ca濃度の増加と関係があると考えられ、糸球体で濾過されたCaが尿細管内に沈着したため尿中には排泄されず、そのため高Pおよび高PP飼料給餌により尿中Ca排泄量の低下が引き起こされたと考えられる。また尿中P排泄量は高Pおよび高PP飼料で通常P飼料と比較し有意に高い値を示し、高P飼料のFPとCP群間で有意な変化が観察された。前報においてFPおよびCPの主要なたんぱく質の分子量およびアミノ酸組成に大きな相違はみられないことを報告している¹⁰⁾。そのために現段階で高P飼料FPとCP群で尿中P排泄量に変化が生じた原因は不明である。Caの見かけの吸収率は高P飼料CP群および高PP飼料では通常P飼料CP群よりも有意に低くだったが、Pは各群間で有意な差はみられなかった。Caの体内保留率は高Pおよび高PP飼料において通常P飼料CP群と比べ有意に低く、一方Pの体内保留率は高Pおよび高PP飼料で有意に低下した。これまで報告されている高P給餌によるCaおよびP出納のデータ^{14, 16)}と同様に、高Pおよび高PP飼料の給餌による

Table 2 Biochemical parameters and mineral contents in the serum, kidney, and tibia of rats fed experimental diets

	Normal-phosphorous diet		High-phosphorus diet		High-polyphosphate diet	
	FP	CP	FP	CP	FP	CP
Serum						
AST (IU/L)	102 ± 10 ^a	92 ± 10 ^a	91 ± 9 ^a	95 ± 12 ^a	154 ± 43 ^b	159 ± 29 ^b
ALT (IU/L)	47 ± 5	46 ± 5	46 ± 6	50 ± 5	41 ± 14	38 ± 11
Ca (mg/dL)	11.5 ± 0.7 ^{bc}	12.0 ± 0.6 ^c	10.8 ± 0.8 ^{abc}	11.8 ± 0.5 ^{bc}	10.1 ± 1.2 ^{ab}	9.5 ± 1.4 ^a
Pi (mg/dL)	9.9 ± 0.4	10.9 ± 1.0	12.4 ± 1.1	12.4 ± 1.9	11.9 ± 1.7	11.3 ± 2.1
Mg (mg/dL)	2.2 ± 0.2	2.1 ± 0.2	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.2	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.4
Kidney						
Ca (mg/g)	0.027 ± 0.001 ^a	0.023 ± 0.001 ^a	10.07 ± 1.7 ^b	9.35 ± 0.51 ^b	18.47 ± 2.44 ^c	13.06 ± 1.79 ^{bc}
P (mg/g)	1.74 ± 0.03 ^a	1.76 ± 0.02 ^a	7.07 ± 1.11 ^b	7.01 ± 0.36 ^b	11.48 ± 1.18 ^c	8.73 ± 1.02 ^{bc}
Ca (mg/kidney)	0.024 ± 0.001 ^a	0.021 ± 0.001 ^a	15.13 ± 3.31 ^b	12.59 ± 0.98 ^b	59.64 ± 10.66 ^d	39.13 ± 1.72 ^c
P (mg/kidney)	1.56 ± 0.04 ^a	1.55 ± 0.03 ^a	10.62 ± 2.22 ^b	9.41 ± 0.65 ^b	36.76 ± 5.26 ^c	26.44 ± 1.28 ^c
Tibia						
Ca (mg/g)	126 ± 2	124 ± 1	122 ± 2	120 ± 2	122 ± 2	120 ± 2
P (mg/g)	58.1 ± 0.7	57.1 ± 0.3	57.7 ± 0.4	56.6 ± 0.6	55.8 ± 0.9	55.6 ± 1.1

Data are presented as the mean ± SEM (n = 7). Values not sharing a common letter were significantly different at $p < 0.05$. Data were analyzed using the Tukey-Kramer test.

Table 3 Mineral balances and apparent mineral absorption in rats fed experimental diets

	Normal-phosphorous diet		High-phosphorus diet		High-polyphosphate diet	
	FP	CP	FP	CP	FP	CP
Intake (mg/day)						
Ca	77 ± 5 ^{ab}	65 ± 10 ^a	92 ± 6 ^{ab}	98 ± 4 ^b	76 ± 7 ^{ab}	72 ± 8 ^b
P	43 ± 3 ^a	37 ± 5 ^a	260 ± 16 ^{bc}	276 ± 10 ^c	215 ± 19 ^{bc}	203 ± 23 ^b
Urine excretion (mg/day)						
Ca	0.32 ± 0.06 ^{ab}	0.41 ± 0.08 ^b	0.25 ± 0.02 ^{ab}	0.31 ± 0.02 ^{ab}	0.15 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.03 ^a
P	3.6 ± 0.5 ^a	9.6 ± 2.9 ^a	111.3 ± 9.9 ^b	168.7 ± 7.8 ^c	124.6 ± 9.6 ^b	117.7 ± 14.0 ^b
Fecal excretion (mg/day)						
Ca	21.5 ± 3.0	14.5 ± 2.5	34.3 ± 4.1	37.0 ± 1.4	27.1 ± 1.6	25.0 ± 2.7
P	6.9 ± 0.6 ^a	5.4 ± 0.9 ^a	38.0 ± 5.3 ^c	35.1 ± 2.9 ^c	27.4 ± 2.1 ^{bc}	21.5 ± 3.9 ^b
Apparent absorption						
Ca (mg/day)	60.1 ± 5.6	62.2 ± 6.0	57.6 ± 1.8	60.6 ± 3.9	52.4 ± 5.6	46.6 ± 5.9
(%)	70.7 ± 3.4 ^{ab}	80.4 ± 3.9 ^b	63.3 ± 2.8 ^{ab}	62.1 ± 2.0 ^a	64.8 ± 2.5 ^a	64.2 ± 2.5 ^a
P (mg/day)	39.7 ± 3.4 ^a	38.0 ± 3.9 ^a	221.8 ± 11.4 ^b	241.0 ± 9.3 ^b	200.1 ± 15.9 ^b	181.0 ± 20.2 ^b
(%)	83.2 ± 1.7	85.6 ± 2.6	85.6 ± 1.3	87.2 ± 0.9	87.7 ± 1.0	89.2 ± 1.6
Retention						
Ca (%)	70.1 ± 3.6 ^{ab}	77.0 ± 2.1 ^b	63.0 ± 2.8 ^a	61.8 ± 2.0 ^a	64.6 ± 2.5 ^a	63.9 ± 2.5 ^a
P (%)	78.3 ± 3.6 ^b	71.7 ± 5.6 ^b	41.9 ± 2.7 ^a	36.0 ± 5.4 ^a	30.6 ± 2.2 ^a	30.7 ± 2.9 ^a

Data are presented as the mean ± SEM (n = 7). Values not sharing a common letter were significantly different at $p < 0.05$. Data were analyzed using the Tukey-Kramer test.

Apparent absorption (mg/day) = Intake - Fecal excretion

Apparent absorption (%) = (Intake - Fecal excretion) / Intake × 100

Apparent retention (%) = (Intake - Fecal excretion + Urine excretion) / Intake × 100

Pの見かけの吸収量および尿中P濃度の増加が確認された。

前報の人工消化試験において、高P餌料と比較し、高PP餌料では遊離Ca濃度が高いため、ポリリン酸は正リン酸と比較しCaと結合しにくくCaの可溶化を阻害する作用は小さいと考えられた¹⁰⁾。しかし、動物実験の出納試験では、高PPおよび高P餌料間で見かけのCa吸収には変化が見られなかった。また人工消化試験において高PP餌料のFP群でCa可溶化を促す傾向がみられたが ($p =$

0.10)、本実験においてはたんぱく質源による有意な差はみられなかった。そのため前報の人工消化試験の条件は生体内の消化を再現できていなかったと考えられる¹⁰⁾。Ivey *et al.* はラットの小腸を用いた *in vitro* 実験において、小腸内のポリリン酸塩が1時間で82%減少し、小腸内で加水分解されることを認め、この原因の1つとして小腸内にホスファターゼがあることを示唆している²⁰⁾。そのため、ポリリン酸を含む餌料を用いて人工消化試験を行う際には、腸管アセトン粉末を加えるなどしてホスファターゼを添加

すること、また上清のCaおよびPを限外濾過などで分画して体内の吸収条件に近づける必要があると考えられる。

以上の結果から、高P飼料と高PP飼料では腎臓重量、腎臓CaおよびP濃度の有意な増加がみられ、とくに高PP飼料では高P飼料よりもこれらの度合いが大きく、給餌P化学形態の違いが観察された。しかし、たんぱく質源の違いがPおよびCaの吸収に及ぼす影響については大きな変化はみられず、P濃度およびP形態の影響が大きかった。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成金を供与頂きました公益財団法人浦上食品・食文化振興財団に対し厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 厚生労働省 (2015) 平成 25 年国民健康・栄養調査報告. <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyoudl/h25-houkoku.pdf> : pp. 58-65, 2015 年 8 月 16 日 アクセス.
- 2) 厚生労働省 (2014) 日本人の食事摂取基準 [2015 年版], 第一出版, 東京 : pp. 201-217.
- 3) 武田英二, 坂本恭子, 横田貴美, 篠原麻衣子, 竹内豊, 森田恭子, 山本浩範, 宮本賢一 (2002) 1960 年から 1995 年の食糧需給表を用いた食品からの日本人 1 人当たりのリン消費量. 日本栄養・食糧学会誌 55 : 200.
- 4) 鈴木和春 (2003) リン. ミネラルの辞典 (糸川嘉則編), 朝倉書店, 東京 : pp. 184-195.
- 5) Linkswiler HM, Zemel MB, Hegsted M, Schuette S (1981) Protein-induced hypercalciuria. *Fed Proc* 40: 2429-2433.
- 6) Hegsted M, Schuette SA, Zemel MB, Linkswiler HM (1981) Urinary calcium and calcium balance in young men as affected by level of protein and phosphorus intake. *J Nutr* 111: 553-562.
- 7) 阿左美章治, 平塚静子 (1983) 経産ラットの尿中カルシウムの排泄におよぼす飼料中のたんぱく質の質と量の影響. 聖徳栄養短期大学紀要 14 : 1-5.
- 8) Bao XL, Lv Y, Yang BC, Ren CG, Guo ST (2008) A study of the soluble complexes formed during calcium binding by soybean protein hydrolysates. *J Food Sci* 73: C117-C121.
- 9) Liu FR, Wang L, Wang R, Chen ZX (2013) Calcium-binding capacity of wheat germ protein hydrolysate and characterization of Peptide-calcium complex. *J Agric Food Chem* 61: 7537-7544.
- 10) 須田理子, 宮内一匡, 細見亮太, 吉田宗弘, 福永健治 (2014) 魚肉タンパク質がリン過剰存在下におけるカルシウムの可溶性に及ぼす影響. 微量栄養素研究 31 : 6-11.
- 11) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
- 12) 松本和子, 酒井健 (1987) モリブデン・ブルーの発色とリン定量への応用 (化学への招待). 化学と教育 35 : 420-423.
- 13) Siu GM, Hadley M, Draper HH (1981) Self-regulation of phosphate intake by growing rats. *J Nutr* 111: 1681-1685.
- 14) Matsuzaki H, Kikuchi T, Kajita Y, Masuyama R, Uehara M, Goto S, Suzuki K (1999) Comparison of various phosphate salts as the dietary phosphorus source on nephrocalcinosis and kidney function in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 45: 595-608.
- 15) Matsuzaki H, Masuyama R, Uehara M, Nakamura K, Suzuki K (2001) Greater effect of dietary potassium tripolyphosphate than of potassium dihydrogenphosphate on the nephrocalcinosis and proximal tubular function in female rats from the intake of a high-phosphorus diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 65: 928-934.
- 16) 松崎広志, 上原万里子, 鈴木和春, 佐藤茂, 五島孜郎 (1995) 高リン食投与時の腎石灰化と腎機能との関係. 日本栄養・食糧学会誌 48 : 217-223.
- 17) Breslau NA, McGuire JL, Zerwekh JE, Pak CY (1982) The role of dietary sodium on renal excretion and intestinal absorption of calcium and on vitamin D metabolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 55: 369-373.
- 18) 松崎広志, 中村カホル (2000) 雌ラットにおける腎臓中ミネラル濃度, 腎機能及びミネラル出納に及ぼす食餌性リン濃度とリン酸塩の影響. 栄養学雑誌 6 : 253-259.
- 19) 松崎広志, 上原万里子, 鈴木和春, 菅家祐輔, 五島孜郎 (1996) 尿中 N-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼ活性と尿中 β 2-マイクログロブリン排泄量に及ぼす高リン食投与の影響. 日本栄養・食糧学会誌 50 : 37-41.
- 20) Ivey FJ, Shaver K (1976) Enzymic hydrolysis of polyphosphate in the gastrointestinal tract. *J Agric Food Chem* 25: 128-130.