

機関番号：33906

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21700770

研究課題名（和文） 牛乳中の体液保持因子の解明と中高年の熱中症予防のための飲料創生

研究課題名（英文） Studies of milk components to develop a novel rehydration fluid for aged people with body water loss.

## 研究代表者

石原 健吾（ISHIHARA KENGO）

梶山女学園大学・生活科学部・講師

研究者番号：70329647

研究成果の概要（和文）： 脱水状態において、摂取した溶液が短時間のうちに排尿されない方が望ましいと考え、実験動物用の高精度の尿量測定系を開発しました。牛乳摂取後の4時間の排尿量は、水、スポーツドリンクの約50%と低くなりました。その作用の内訳は、牛乳の高分子量画分、低分子量画分が、各25%でした。牛乳摂取後の血漿水分量は長時間高い状態を維持して、その原因はナトリウム摂取量が高くないにも関わらず、溶液摂取後に血漿中のナトリウムが低下しないためと考えられました。

研究成果の概要（英文）： For a rapid and efficient rehydration, ingested fluid should stay in plasma for a long time after drinking. We developed a novel and precise metabolic cage for rats to analyze urine volume after drinking. Urine volume was about 50% lower after drinking milk compared to water sports drink for 4 hr. The difference of urine volume among drinks was explained by two equivalent fractions, such as high molecular and low molecular fraction. Plasma volume was sustained on higher level after drinking milk and which can be elucidated by plasma sodium level.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：栄養生理学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食と栄養、熱中症、水分補給

## 1. 研究開始当初の背景

近年、熱中症による死者数が増加しています。なかでも、高齢者の割合が高いことが特徴です。水分の適切な補給は、熱中症予防のために重要です。しかし、科学的に開発されたスポーツドリンクは、水分の吸収が速い一方で、排尿後に脱水を引き起こす可能性が指

摘されています。脱水を引き起こさないためには、高い濃度のナトリウム溶液を摂取することも有効です。しかし、発汗によるナトリウム損失量とバランスがとれてなければ、高ナトリウム血症や長期的には高血圧を誘発してしまいます。興味深いことに、牛乳のナトリウム濃度は余り高くないのですが、脱水

症状を引き起こしません。本研究では、牛乳が脱水症状を引き起こさない原因を栄養学的に解明し、脱水症状の予防につながる研究を行います。超高齢化社会での高い QOL をめざす我が国にふさわしい学術研究です。

## 2. 研究の目的

我々は、実験動物を用いて水分の出納を高精度で評価できる採尿ケージを独自に構築しました。本実験系を用いて、牛乳の成分分画から体水分保持に強い作用を持つ成分を見出すことを目指しました。さらにそのメカニズムの一端を解析するために、溶液摂取後の血漿浸透圧、細胞内外液分布、血中の利尿・電解質排泄を測定しました。

## 3. 研究の方法

実験系は、絶水、運動で脱水状態にした 180～250g の Wistar 系雄性ラットに、試料 6 mL を経口投与与え、独自開発の採尿ケージで 4 時間の採尿を行ないました。

試料は、水、牛乳、市販の乳タンパク質溶液、スポーツドリンク、レンニンで調製した乳清（レンニンホエイ）と沈殿（レンニン沈殿）、酸で調製した乳清（酸ホエイ）と沈殿（酸沈殿）、さらに各種の塩を混合した牛乳中電解質再構成溶液とした。4 時間の排尿量に基づき、体液維持作用を評価した。

独自に開発した採尿ケージ、呼気ガス成分分析による胃排出速度の測定、採取した血液、尿を用いて、ヘマトクリット値、浸透圧、電解質濃度、利尿・電解質排泄に関与するホルモン濃度などを測定しました。牛乳の他には、各種溶液の体水分保持作用をスクリーニング的に評価しました。

## 4. 研究成果

実験動物を用いて飲料の体水分保持作用を解明するために、正確に排尿量を測定するための採尿ケージと実験条件を確立した。その回収率は、市販ケージを 25% も上回るものでした（図 1）。

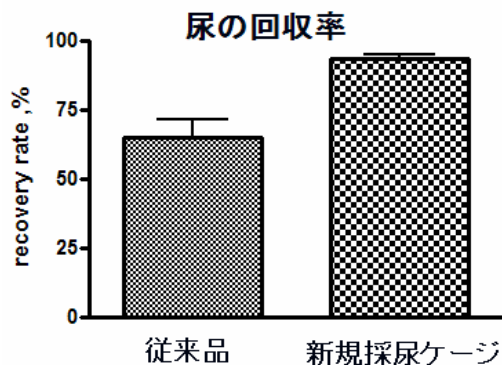


図 1 開発した採尿ケージでの尿回収率

このケージを利用して、牛乳摂取後の尿量は水やスポーツドリンクよりも有意に少ないことを確認しました（図 2）。

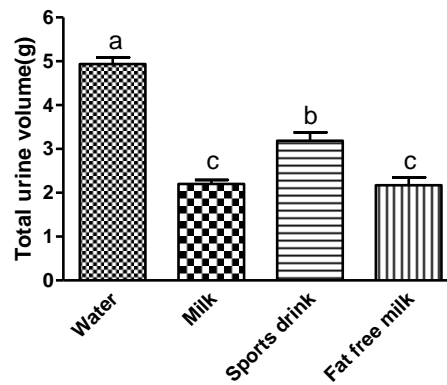


図 2 溶液摂取 4 時間の総尿量

摂取した溶液が、胃内に滞在して、消化管での吸収が遅れているようでは、意味がありません。そこで、胃排出速度のマーカである安定同位体標識酢酸 [2-<sup>13</sup>C] と質量分析装置を内蔵した呼気ガス分析装置を用いて、溶液摂取後の胃内滞在時間を測定しましたが、牛乳と他の飲料との間に差は認められませんでした。すなわち、牛乳の体水分保持作用は、牛乳摂取後の胃内滞在時間によっては説明出来ないことを示しました（図 3）。

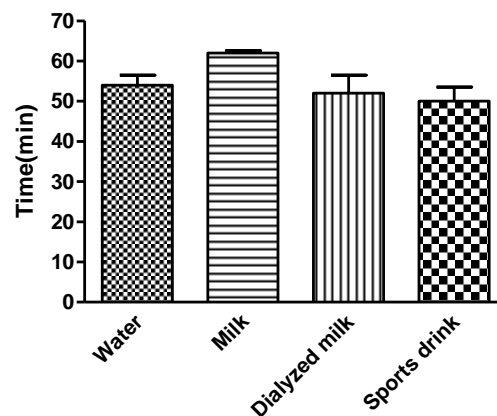


図 3 溶液摂取後の胃排出速度

摂取した溶液が、尿に出ないだけでなく、血漿中に滞在していることを確認する必要があります。血漿中に牛乳を投与したラットから、経時的に採血を行い、飲料の投与によ

って、血漿水分量が増加していることを確認しました (図 4)。

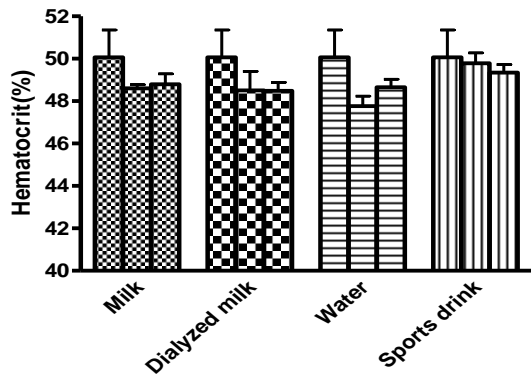


図 4 溶液摂取後のヘマトクリット値 (各飲料において左から、0, 30, 60 分後)

排尿を促進する要因としては、血漿浸透圧の低下があります。溶液摂取によって、牛乳摂取後は、血漿浸透圧の低下が抑制されることが示されました。また、透析によって牛乳中の電解質を除去した高分子量画分 (透析牛乳) では、牛乳と同等あるいはそれ以上の血漿浸透圧を低下させない作用が認められました。一方、牛乳よりも排尿量が多かったスポーツドリンク、水においては、溶液摂取後に血漿浸透圧の明白な低下が観察されました (図 5)。

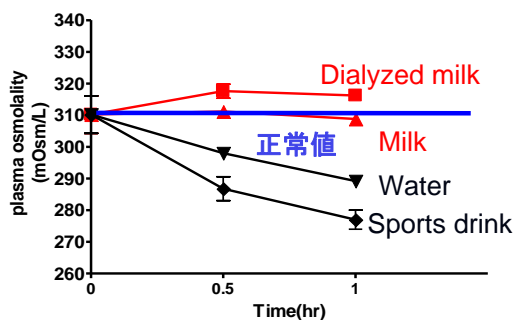


図 5 溶液摂取後の血漿浸透圧

溶液摂取後の血漿浸透圧は、血漿ナトリウム濃度によって、ほぼ (約 50%) 説明できます。そこで、HPLC を用いて、溶液摂取後の血漿ナトリウム濃度を測定しました。すると、牛乳摂取後には、投与 30 分後までは、一時的に血漿  $\text{Na}^+$  濃度が低下する一方、その低下は、スポーツドリンク、水と異なり、投与 30 分から 1 時間後では、変化しないことがしめされました。むしろ、透析牛乳においては、

投与 30 分後から 1 時間後にかけては、血漿ナトリウム濃度は上昇する傾向にありました。透析牛乳は、透析によってナトリウムなどの電解質を除去しているため、試料中にはナトリウムを含まないことを考えると、これは興味深い結果です (図 6)。

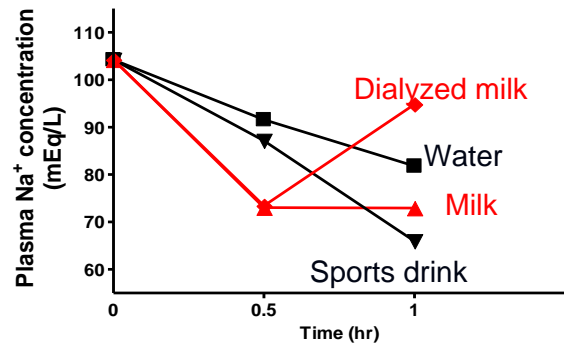


図 6 溶液摂取後の血漿ナトリウム濃度

このように見出された牛乳の作用は、牛乳中の高分子量画分に存在している可能性が考えられるため、代表的な牛乳タンパク質の市販精製品について、投与後の排尿量を測定したところ、カゼインに若干尿量を抑制する作用が認められましたが、その差は有意なものではありませんでした (図 7)。

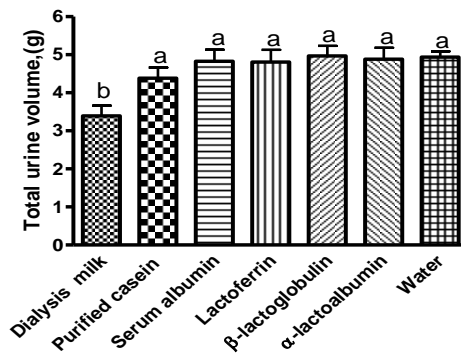


図 7 カゼインおよび代表的な乳清タンパク質 ( $\alpha$  ラクトアルブミン、 $\beta$  ラクトグロブリン、ラクトフェリン、血清アルブミン) 投与後の排尿量

また、高分子量画分に含まれる活性成分を取得する方法として、透析以外にレンニンや酸によって、得られた画分の排尿量に対する作用を評価しました。酢酸によって等電点沈殿を形成し、得られた上清を酸ホエーとしました。酸ホエーにも尿量を抑制する作用は認められたものの、その作用は透析牛乳よりも弱くなりました (図 8)。

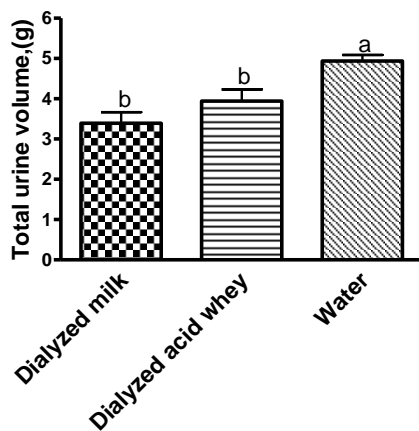


図8 酸ホエイ投与後4時間の合計尿量

また、凝乳酵素レンニンを用いて、同様に得られた上清(レンニンホエイ)についても、尿量抑制作用は認められたが、その作用はレンニンホエイを透析することによって消失しました。もとの牛乳については、透析によって作用が消失しなかった一方、レンニンホエイについては、透析によって作用が消失した理由については、今後、さらに検討が必要です(図9)。

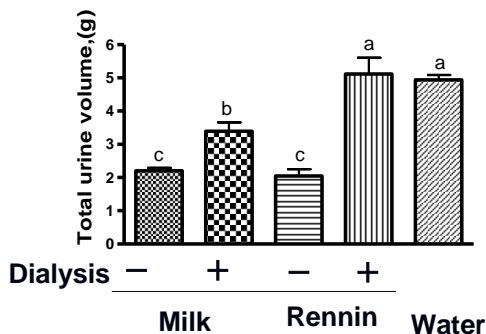


図9 レンニンホエイおよび、その透析内液投与後4時間の排尿量

以上より、今回の研究によって、牛乳は、投与後の血漿ナトリウム濃度の低下を防止して、血漿浸透圧の変動を抑えた結果、投与後の排尿を抑制する作用を有すると考えられました。その作用は、牛乳中の電解質を除去した画分にも存在しますが、一般的な乳清タンパク質では、その作用は説明することが出来ず、カゼインには、わずかながらも、そ

の作用があるように考えられました。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計4件)

石原健吾、加藤美穂、稲垣圭、橋本里穂、脊山洋右、ラット脱水モデルにおける牛乳ホエイの体液維持作用に関する研究、日本栄養・食糧学会、2011年5月14日、お茶の水女子大学、東京

加藤美穂、宇佐美絢子、山田麻理、山村明日香、高根澤亜美、石原健吾、脊山洋右、脱水症予防における体水分保持のための機能性飲料の研究、日本栄養・食糧学会、2009年5月22日、長崎ブリックホール、長崎

加藤美穂、宇佐美絢子、山田麻理、山村明日香、高根澤亜美、石原健吾、脊山洋右、ラット脱水モデルにおける牛乳の高分子量画分の体水分保持作用に関する研究、2009年3月、日本体力医学会東海地方会学術集会、名古屋大学、名古屋

加藤美穂、宇佐美絢子、山田麻理、山村明日香、高根澤亜美、石原健吾、脊山洋右、「ラット脱水モデルにおける牛乳の高分子量画分の体水分保持作用に関する研究」、2009年3月家政学会中部支部会 第9回家政学関連院生・学生研究発表会、岐阜女子大学、岐阜

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

○雑誌総説 (計1件)

石原健吾、身体活動後の水分補給には、スポーツドリンクより、牛乳?、ファルマシア、44(4)、355-356、2008

### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

石原 健吾 (ISHIHARA KENGO)

椋山女学園大学・生活科学部・講師

研究者番号：70329647

(2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし