泌乳マウスの飲水量と腎機能に及ぼす塩化カリウム給与水準の影響

宿院 享¹・杉本実紀¹・池田俊太郎¹・久米新一¹

¹ 京都大学大学院農学研究科, 京都市左京区 606-8502

(2014. 7. 22 受付, 2014. 9. 5 受理)

要 約 ICR 系妊娠マウス 18 匹を対照区, 2%塩化カリウム (KCl) 給与区および 5% KCl 給与区に割り当てて, KCl 給与区では交配後 6.5 日目から分娩 14 日後まで 2%あるいは 5%の KCl を添加した飼料を給与し, マウスの体重, 飼料摂取量, 飲水量, 腎臓重量, 腎組織と血液成分に及ぼす KCl 給与水準の影響を調べた. 泌乳マウスでは分娩直後から飼料摂取量と飲水量が急増した. 妊娠期と泌乳期のマウスの飼料摂取量には KCl 給与の影響は認められなかったが, KCl 給与水準の上昇とともに飲水量が増加し, なかでも 5% KCl 区の泌乳マウスの飲水量が顕著に増加した. 泌乳マウスの腎臓重量は 5% KCl 区で最大であり, 血清 K と Cl 濃度は KCl 給与区で上昇した. しかし, 泌乳マウスの腎組織には KCl 給与の影響は認められなかった. 以上の結果から, KCl 給与水準が上昇すると泌乳マウスでは飲水量と腎臓重量が増加し, 腎臓に多大な負荷を及ぼすことが推察された.

日本畜産学会報 85 (4), 503-507, 2014

家畜の栄養管理ではエネルギー, タンパク質, ビタミン, ミネラルなどの養分要求量を満たすことと, 水の適正な給与が必要である. 家畜は飼料と飲料水から水を摂取しているが, 家畜が水要求量を満たすためには飲料水の十分な供給が欠かせない. 特に, 高泌乳牛では飲水量が不足すると乳量が減少するだけでなく, 浸透圧や酸塩基平衡など, 体内の恒常性維持に悪影響を及ぼすため, 高泌乳牛では水の摂取量を充足することがきわめて重要である (Kume ら 2010 ; NRC 2001).

乳牛の栄養素のなかで尿中への排泄量が多い成分は窒素と電解質 (カリウム (K), ナトリウム (Na) および塩素 (Cl)) であるが, 乳牛は血液や尿の浸透圧を一定に保つために, タンパク質や電解質の摂取量が増加すると飲水量と尿量を増加させて過剰な窒素や電解質を尿中へ排泄する (Kohn ら 2005 ; Kume ら 2008). 特に, わが国では土壌中への糞尿の大量還元による牧草中の K の過剰蓄積が問題になっているが, K 含量の高い粗飼料を多給すると乳牛は尿中へ K を多量排泄するために飲水量と尿量が急激に増加する (Bannink ら 1999 ; Kume ら 2001 ; 久米ら 2004 ; 農業・食品産業技術総合研究機構 2006).

乳牛の飲水量と尿量の急激な増加は腎機能などに多大な影響を及ぼすが, 乳牛では腎機能への影響を詳細に調べることが困難である. 我々は雄マウス, 妊娠マウスおよび泌乳マウスをモデル動物とし, カリウムを過剰給与 (5%塩化カリウム (KCl)) して, マウスの体重, 飼料摂取量, 飲水量, 尿量, 尿中への窒素, K と Cl の排泄量, 腎重量,

腎組織, 血液成分などに及ぼす KCl 給与の影響を調べた (Murai ら 2008, 2010, 2013). その結果, 雄マウスと妊娠マウスでは KCl 給与によって飲水量と尿量の増加, 尿中への K と Cl の排泄量増加, 血清中尿素態窒素濃度の低下などが認められたが, 泌乳マウスでは飲水量の急激な増加に加えて, 泌乳マウスとその仔マウスの増体を損なうことが示され, KCl 給与の影響は泌乳マウスで甚大であった. しかし, 泌乳マウスの飲水量と腎機能に及ぼす KCl の影響を明確にするためには, KCl の添加濃度を 5%よりも低い水準にした試験を実施することが必要と考えられた.

そこで, 本研究では泌乳マウスに 2%および 5%の KCl を給与して, 泌乳マウスの体重, 飼料摂取量, 飲水量, 腎臓重量, 腎組織と血液成分に及ぼす KCl 給与水準の影響を調べ, KCl 給与水準が飲水量と腎機能に及ぼす影響を検討した.

材料および方法

交配後 6.5 日の ICR 系雌マウス 18 匹を日本クレア (東京) から購入し, マウスは室温 24 ± 2℃で一定の光周期 (明 : 暗サイクル = 14 : 10 時間) に維持された動物飼育室で, 個体ごとにプラスチックケージに収容して飼育した. これらの動物は, 京都大学における動物実験の実施に関する規程 (京都大学動物実験委員会, 2007 年) に従って管理し, 水と飼料は自由摂取させた.

マウスは対照区 ($n = 6$), 2% KCl 給与区 ($n = 6$) お

連絡者 : 久米新一 (fax : 075-753-6345, e-mail : kume@kais.kyoto-u.ac.jp)

よび 5% KCl 給与区 ($n = 6$) に割り当て、2%および 5% KCl 給与区では交配後 6.5 日目から分娩 14 日後まで KCl をマウス用標準飼料 (オリエンタル酵母工業, 東京) にそれぞれ 2%および 5%添加して給与した。NRC (1995) ではマウスの K 要求量を 0.2%に設定しているが、マウス用標準飼料の K 含量は 1.06%であり、対照区、2% KCl 給与区および 5% KCl 給与区の K 含量はそれぞれ 1.06, 2.11 および 3.68%であった。母マウスの体重、飼料摂取量および飲水量は毎日 8:00 に測定した。仔マウスは分娩 2 日後に雌雄各 5 匹ずつにした後に、仔マウスの体重を毎日 8:00 に測定した。なお、仔マウスの体重は 10 匹の合計で示した。

分娩 14 日後に母マウスから血液と両側の腎臓を前報 (Murai ら 2013) の方法で採取し、腎臓は直ちに重量を測定した。採取した血液は室温で 30 分静置後、745×g で 15 分間遠心分離し、得られた血清を -20°C で保存した。血清中尿素態窒素、クレアチニン、無機リン (Pi), Ca, Na, K および Cl 濃度は Dri-Chem (3500V; 富士フイルム, 神奈川) で測定した。採取した腎臓は常法に従ってパラフィン包埋後、薄切した組織切片をヘマトキシリン・エオジンで染色し、糸球体、尿細管などの病変を観察した (Murai ら 2008)。

分娩前と分娩後の母マウスの体重、飼料摂取量および飲水量と仔マウスの体重は、処理と日数を変数にしたモデル

式 (Murai ら 2013) を用いて SAS (1997) の GLM プロシジャーで解析し、また母マウスの血清成分と腎重量は処理を変数にして SAS (1997) の GLM プロシジャーで解析した。有意差検定は Tukey-Kramer の多重比較法で行い、有意水準は $P < 0.05$ とした。

結 果

母マウスの飼料摂取量と飲水量は分娩後急激に増加した ($P < 0.001$) が、飼料摂取量は試験期間を通じて処理による影響は認められなかった (図 1)。5% KCl 給与区の飲水量は対照区と 2% KCl 給与区よりも分娩前 ($P < 0.001$) と分娩後 ($P < 0.001$) で多く、また 2% KCl 給与区の飲水量は対照区よりも分娩前 ($P < 0.05$) と分娩後 ($P < 0.01$) で多かった。分娩前と分娩後の母マウスの増体率と仔マウスの増体率には処理による影響は認められなかったが、5% KCl 給与区では分娩後の母マウスの増体率がやや低かった ($P < 0.10$)。

分娩前の対照区、2% KCl 給与区および 5% KCl 給与区の平均飲水量は 7.6, 9.6 および 14.4 g/日であったが、分娩後の対照区、2% KCl 給与区および 5% KCl 給与区の平均飲水量は 20.1, 31.3 および 48.0 g/日であった。ここで飼料中の K 含量を指標にして平均飲水量との相関関係を調べると、分娩前のマウスでは有意な相関は認められなかったものの、分娩後のマウスでは平均飲水量 (Y_{wi})

Figure 1 Body weight (BW), feed intake and water intake of maternal mice and BW of neonatal mice in control (○), 2% KCl supplemented (□) and 5% KCl supplemented (●) mice. BW of neonatal mice was represented as the sum of 10 mice.

と飼料中の K 含量 (X_K) 間に有意な相関が認められ、以下の回帰式が得られた (図 2)。

$$Y_{WI} = 10.86(\pm 0.01)X_K^{***} + 8.60(\pm 0.02)^{***}$$

(*** $P < 0.001$)

5% KCl 給与区の腎臓重量は対照区より多かった ($P < 0.05$) (表 1) が、ヘマトキシリン・エオジン染色による腎組織の観察では各区とも糸球体、尿細管などに異常は認められなかった。また、2% KCl 給与区と 5% KCl 給与区の血清 K 濃度 ($P < 0.05$) と Cl 濃度 ($P < 0.01$) は対照区より高かったが、血清尿素態窒素、クレアチニン、Pi、Ca および Na 濃度には処理による影響は認められなかった。

考 察

動物の恒常性を維持するために浸透圧は重要な働きをしているが、5% KCl を給与した雄マウスと妊娠マウスでは体内の浸透圧を維持するために飲水量と尿量が増加し、多

Figure 2 Relationships between dietary K and water intake in pregnant mice (○) or lactating mice (■).

量の K と Cl を尿中に排泄している (Murai ら 2008, 2010, 2013)。哺乳動物では電解質と水の尿中排泄量を腎臓で調節しているが、乳牛の尿中 K 含量は尿中 K 排泄量が 150 g/日までは急激に増加し、その後はほぼ 1.3% を維持していたことから、尿中 K 排泄量が 150 g/日までは乳牛は K を濃縮した尿を生成して K の排泄を促進するものの、150 g/日を超えると腎臓でそれ以上の K 濃縮尿を生成できなくなり、飲水量と尿量の増加によって過剰な K を尿中に排泄している (Kume ら 2008)。それに対して、5% KCl を 4 週間給与した雄マウス (Murai ら 2010) では、対照区と 5% KCl 区の尿中 K 排泄量 (36 mg と 118 mg) と尿中 Cl 排泄量 (20 mg と 62 mg) は 5% KCl 区で多かったものの、尿中 K 含量 (2.5% と 2.1%) と尿中 Cl 含量 (1.4% と 1.1%) は両区とも近似した値であった。

本報の泌乳マウスの飼料摂取量と飲水量は前報 (Murai ら 2013) と同様に分娩直後から急激に増加し、同時に仔マウスの体重も出生後から増加したが、泌乳マウスの飼料摂取量には KCl 給与の影響は認められなかった。しかし、泌乳マウスの飲水量は KCl 給与水準の上昇に伴って直線的に増加し、5% KCl を給与した泌乳マウスでは分娩 1 週後には飲水量が泌乳マウスの体重を超えたが、2% KCl を給与した泌乳マウスでは分娩 2 週後に飲水量が泌乳マウスの体重に達した。さらに、泌乳マウスの血清中 K と Cl 濃度は KCl 給与水準の増加とともに上昇したが、前報 (Murai ら 2013) でも 5% KCl を給与した泌乳マウスの血清中 K 濃度が上昇した。一方、妊娠マウスの飲水量は KCl 給与水準の上昇に伴って増加したものの、その増加率は KCl 給与水準に比例しなかった。これらの結果から、泌乳マウスでは乳生産に必要な栄養素と水を充足するために飼料摂取量と飲水量が分娩直後から急増するものの、泌乳マウスでは過剰に摂取した KCl を尿中に排泄するために KCl 給与水準の上昇に比例して飲水量だけが顕著に増

Table 1 Renal weight and serum components in control, 2% KCl and 5% KCl supplemented mice at 14 days after parturition

	Diet			P
	Control	2% KCl	5% KCl	
Renal weight, mg	588 ± 25 ^b	618 ± 19 ^{ab}	732 ± 43 ^a	0.034
Serum				
Urea Nitrogen, mg/dL	42.9 ± 3.1	39.0 ± 2.4	36.1 ± 5.4	0.478
Creatinine, mg/dL	0.47 ± 0.05	0.45 ± 0.04	0.50 ± 0.08	0.854
Ca, mg/dL	9.88 ± 0.34	9.97 ± 0.27	8.28 ± 0.60	0.058
Pi, mg/dL	9.03 ± 0.56	10.27 ± 0.44	9.00 ± 0.98	0.195
Na, mEq/L	143 ± 3	150 ± 2	145 ± 5	0.119
K, mEq/L	7.35 ± 0.61 ^b	9.48 ± 0.47 ^a	11.45 ± 1.06 ^a	0.008
Cl, mEq/L	111 ± 1 ^d	118 ± 1 ^c	121 ± 2 ^c	0.001

^{a,b} $P < 0.05$

^{c,d} $P < 0.01$.

Each value expresses mean ± SE.

加することが認められた。また、哺乳動物は体内の酸塩基平衡を維持するために血清中 K と Cl 濃度を一定に維持している (Lina ら 2004) が、5% KCl を給与した泌乳マウスでは飲水量の顕著な増加に加えて、血清中 K と Cl 濃度が高値を示したため、5% KCl の給与は泌乳マウスの酸塩基平衡を阻害すると考えられた。

過剰に摂取した KCl は腎臓を経由して尿中に排泄されるが、3%KCl を 18 ヶ月間給与したラットでは尿細管の膨大など、腎組織の病変が観察された (Lina ら 2004)。本報では 5% KCl を給与した泌乳マウスの腎臓重量が増加し、前報 (Murai ら 2013) でも 5% KCl を給与した泌乳マウスの体重あたりの腎臓重量の比率が高まったが、泌乳マウスの腎組織には KCl 給与による異常は認められなかった。一方、血清中尿素態窒素とクレアチニン濃度は腎機能の指標として用いられ、8% KCl を 8 ヶ月間給与したラットでは腎機能の低下によって血清中尿素態窒素とクレアチニン濃度が約 2 倍に上昇した (Manger ら 2003) が、5% KCl を 4~8 週給与した雄マウスでは血清中尿素態窒素あるいはクレアチニン濃度が低下した (Murai ら 2008, 2010)。しかし、本報と前報 (Murai ら 2013) とともに泌乳マウスの血清中尿素態窒素とクレアチニン濃度には KCl 給与の影響は認められなかった。したがって、5% KCl を給与した泌乳マウスでは飲水量の急激な増加によって腎臓重量が増加したものの、短期間の KCl 給与では泌乳マウスの腎機能を著しくは阻害しないことが推察された。

3%KCl を給与したラットでは飲水量と尿量の増加だけでなく、増体率の低下が報告されている (Lina ら 2004) が、前報 (Murai ら 2013) では 5% KCl 給与によって泌乳マウスと仔マウスの増体率が低下し、本報でも有意差は認められなかったものの、5%KCl 給与によって泌乳マウスの増体率がやや低下した。ここで、泌乳マウスの飼料摂取量には KCl 給与の影響は認められなかったことから、5% KCl 給与による増体率の低下は飲水量の増加に伴って飼料の消化管通過速度が速まり、小腸からの栄養素の吸収率が低下したことが原因と考えられる (Holgate と Read 1983 ; Chapman ら 1985)。

わが国では糞尿の大量還元により、牧草中の K 含量が 3%を超えることも多い (農業・食品産業技術総合研究機構 2006) が、NRC (2001) では乳牛の K 過剰摂取を乳熱、グラスステアニー、乳房浮腫の発生要因の一つにあげている。本報と前報 (Murai ら 2013) の結果から、KCl などの電解質の多量給与は飲水量の急増などによって泌乳マウスの腎臓に多大な負荷を及ぼすことが認められたが、長期にわたって K を多量給与した泌乳牛では腎機能の阻害が危惧される。したがって、泌乳初期の高泌乳牛では飼料中の K 水準と腎機能、栄養素の利用効率などとの関係を検討することが今後の課題といえる。

文 献

- Bannink A, Valk H, Van Vuuren AM. 1999. Intake and excretion of sodium, potassium, and nitrogen and the effects on urine production by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **82**, 1008-1018.
- Chapman RW, Sillery JK, Graham MM, Saunders DR. 1985. Absorption of starch by healthy ileostomates : effect of transit time and of carbohydrate load. *The American Journal of Clinical Nutrition* **41**, 1244-1248.
- Holgate AM, Read NW. 1983. Relationship between small bowel transit time and absorption of a solid meal. Influence of metoclopramide, magnesium sulfate, and lactulose. *Digestive Diseases and Sciences* **29**, 812-819.
- Kohn RA, Dinneen M, Russek-Cohen. 2005. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. *Journal of Animal Science* **83**, 879-889.
- Kume S, Nonaka K, Oshita T, Kozakai T. 2010. Evaluation of drinking water intake, feed water intake, and total water intake in dry and lactating cows fed silages. *Livestock Science* **128**, 46-51.
- Kume S, Nonaka K, Oshita T, Kozakai T, Hirooka H. 2008. Effects of urinary excretion of nitrogen, potassium and sodium on urine volume in dairy cows. *Livestock Science* **115**, 28-33.
- 久米新一, 野中和久, 大下友子, 小酒井貴晴, 小島英紀, 2004. 自給粗飼料多給時における乾乳牛, 妊娠牛および泌乳牛のカリウム排泄量. 日本畜産学会報 **75**, 179-184.
- Kume S, Toharmat T, Nonaka K, Oshita T, Nakui T, Ternouth JH. 2001. Relationships between crude protein and mineral concentrations in alfalfa and value of alfalfa silage as a mineral source for periparturient cows. *Animal Feed Science and Technology* **93**, 157-168.
- Lina BA, Kuijpers MH. 2004. Toxicity and carcinogenicity of acidogenic or alkalogenic diets in rats; effects of feeding NH₄Cl, KHCO₃ or KCl. *Food and Chemical Toxicology* **42**, 135-153.
- Manger WM, Simchon S, Stier CT Jr, Loscalzo J, Jan KM, Jan R, Haddy F. 2003. Protective effects of dietary potassium chloride on hemodynamics of Dahl salt-sensitive rats in response to chronic administration of sodium chloride. *Journal of Hypertension* **21**, 2305-2313.
- Murai I, Imanishi S, Sugimoto M, Kume S. 2008. Effects of high potassium chloride supplementation on growth rate and renal function in mice. *Animal Science Journal* **79**, 243-247.
- Murai I, Shukuin S, Sugimoto M, Ikeda S, Kume S. 2013. Effects of high potassium chloride supplementation on water intake and bodyweight gains in pregnant and lactating mice. *Animal Science Journal* **84**, 503-507.
- Murai I, Sugimoto M, Ikeda S, Kume S. 2010. Effects of high potassium chloride supplementation on water intake, urine volume and nitrogen balance in mice. *Animal Science Journal* **81**, 80-84.
- 農業・食品産業技術総合研究機構. 2006. 日本飼養標準 乳牛

(2006 年版). 中央畜産会, 東京.
National Research Council (NRC). 1995. *Nutrient Requirements of laboratory Animals*, 4th revised edn. National Academy Press, Washington, DC.
National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Require-*

ments of Dairy Cattle, 7th revised edn. National Academy Press, Washington, DC.
Statistical Analysis Systems (SAS). 1997. *SAS/STAT Software: Changes and Enhancement Through Release 6.12*. SAS Institute, Cary, NC.

Effects of potassium chloride level on water intake and renal function in lactating mice

Susumu SHUKUIN¹, Miki SUGIMOTO¹, Shuntaro IKEDA¹ and Shinichi KUME¹

¹ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo, Kyoto 606-8502, Japan

Corresponding : Shinichi KUME (fax : +81 (0) 75-753-6345, e-mail : kume@kais.kyoto-u.ac.jp)

Eighteen ICR pregnant mice were assigned to control, 2% potassium chloride (KCl) or 5% KCl groups to clarify the effects of KCl level on body weight, feed intake, water intake, renal weight and renal function in pregnant and lactating mice, and 2% or 5% KCl was supplemented in KCl groups from 6.5 days post coitus to 14 days after parturition. Feed intake and water intake in mice increased rapidly immediately after parturition. Feed intake and body weight in mice during pregnancy and lactation was not affected by treatment, but water intake in lactating mice was accelerated with increased KCl level. Supplemental 5% KCl increased renal weights and serum K and Cl in lactating mice, but histological alteration using hematoxylin-eosin staining was not found in the kidneys of any mouse. These results suggest that feeding high KCl level accelerates water intake and renal weights in lactating mice and prevents renal function.

Nihon Chikusan Gakkaiho 85 (4), 503-507, 2014

Key words : lactating mice, potassium chloride, renal function, water intake.