

ラットに投与した粘度の異なるアルギン酸塩の 消化率およびその脂質代謝への影響

Wei Wang, 吉江由美子, 鈴木 健*

(2002 年 4 月 5 日受付, 2002 年 8 月 26 日受理)

東京水産大学食品生産学科

Effect of alginate viscosity on digestibility and lipid metabolism in rats

WEI WANG, YUMIKO YOSHIE AND TAKESHI SUZUKI*

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

Soluble dietary fiber is reported to have an effect on high lipid inhibition, and also to have different properties depending on the viscosity. In this study, we compared the effect of viscosity of soluble dietary fiber using high cholesterol diet rats. Rats were fed the test diets: basal (B), cholesterol (C), cholesterol plus high viscosity sodium alginate (C+H) and low viscosity sodium alginate (C+L) for 20 days.

Rats on the C+H diet showed significantly lower alginate digestibility than those on the C+L diet during the feeding period, and the C+H diet also made a bigger difference than the C+L diet in molecular weight between / Days 1-4 and /Days 17-20. Rats fed with the alginate diets showed decreased total cholesterol and LDL-cholesterol concentration in the serum, compared with those fed with the C diet. A reduction effect on liver lipid concentration was found in rats fed with the C+H diet, whereas those fed on the C+L diet did not show this effect. According to the observations images of the stained liver and adrenal tissues, high viscosity alginate was found to lower lipid accumulation.

キーワード：アルギン酸塩, 食物繊維, ネット粘度, 血清, 肝臓, コレステロール, ラット

水溶性食物繊維は様々な生理効果を持ち、脂質上昇抑制効果が不溶性食物繊維に比べ高いと報告されており^{1,2)} また不溶性食物繊維に比べ消化管内の微生物によって分解されやすい。³⁾ 前報⁴⁾ではワカメを微小化処理し、粒度の異なる試料を作成して動物実験を行った結果、微小化したワカメはラットの肝臓での脂肪蓄積の抑制効果を高めることが示された。水溶性食物繊維は生体内の脂質上昇抑制効果があることが分かったが、水溶性食物繊維の粘度や分子量による脂質代謝への影響はまだ明らかにされていない。さらに前報⁵⁾の試験管内実験では粘度の異なるアルギン酸による胆汁酸の吸着率を測定し、粘度の相違によって胆汁酸の吸着率が変化したことを明らかにした。胆汁酸はコレステロールの代謝物であるため、消化管内における粘度の異なるアルギン酸による胆汁酸塩の吸着力の違いは、胆汁酸の再吸収量の差として反映し、肝臓のコレステロールからの胆汁酸合成の促進を引き起こすなどコレステロール代謝にも影響を与

えると考えられる。このような試験管内で現れた結果が動物実験でも同様に見られると考え、食品の増粘剤としてよく用いられている海藻の水溶性食物繊維の一種であるアルギン酸ナトリウムを対象にし、その粘度によるコレステロール負荷時の血清および肝臓の脂質上昇抑制効果を本研究で調べることにした。更に脂質代謝と係わりのある組織、すなわち肝臓、副腎皮質、心臓大動脈に対する組織学的検査も行った。

試料および方法

アルギン酸試料 粘度の異なるアルギン酸ナトリウム、すなわち、粘度の大きいアルギン酸ナトリウム I-S (キミツアルギン I-S, 株式会社キミカ)、粘度の小さいソルギン (低分子化したアルギン酸ナトリウム, 共成製薬㈱) を実験試料に用いた。粘度はオストワルド粘度計を用いた測定によるとアルギン酸ナトリウム 63.35 Pas, ソルギン 8.00 Pas であり、分子量は 6.81×10^5 , および 9.6

* Tel : 81-3-5463-0584. Fax : 81-3-5463-0496. Email : suzukita@tokyo-u-fish.ac.jp

$\times 10^4$ であった。

実験動物と飼料 これまでに報告⁶⁾した方法を基に動物実験を行った。生後5週齢のウィスター系雄ラット（日本クレア）に市販粉末飼料（CE-II，日本クレア）を与えて7日間予備飼育を行った。試験区のラットの体重をほぼ同じになるように4区（各6匹）に分け、Table 1の精製飼料を用い20日間飼育した。試験区はそれぞれ基本食区（B），コレステロール食区（C），コレステロール食に粘度の高いアルギン酸ナトリウムを加えた食区（C+H），および粘度の低いアルギン酸ナトリウムを加えた食区（C+L）とした。ラットは室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ で、12時間の明暗交代の下でステンレス製ケージに入れて個別飼育し、飼料および水は自由に摂取させた。体重、飼料摂取量および糞量は毎日測定した。

アルギン酸の消化 本実験飼育開始後4日間（1～4日）と終了前4日間（17～20日）に集めた糞中のアルギン酸量は Haug⁸⁾の方法に準じて測定を行うと共に、摂食量から求めたアルギン酸摂取量に対するアルギン酸排泄量の割合として消化率を算出した。分子量は高速液体クロマトグラフ（LC-6A，島津製作所，京都）を用い、カラム Asahipak GF-510HQ（旭化成，東京，7.6 mm ID $\times$ 300 mm），温度 50°C ，移動相 50 mM NaNO_3 とし、流速 0.5 mL/min とし、示差屈折検出器（RID-6A，島津製作所，京都）により測定を行い、プルラン標準品（Shodex Standard P-82，昭和電工，東京）の検量線より算出した。

採血および臓器の摘出 飼育最終日に、ラットを18時間絶食させ、エーテル麻酔の下で開腹し、大動脈より採血したのち、肝臓、副腎、心臓大動脈を摘出し、肝臓

の重量を測定した。摘出した肝臓は正中葉の最大活面の見える部分を切り出し、副腎および心臓大動脈と共に10%のホルマリンに固定した。残りの肝臓は分析するまで -80°C に保存した。血液は採取後室温で凝固させ、 $950 \times g$ ，10分間の遠心分離によって、上澄みを血清として得て、測定するまで -80°C で保存した。

実験動物の飼育およびその処理は日本実験動物学会⁹⁾の指針に従った。

臓器の組織学的観察 10%ホルマリン液に浸けた組織は1週間以上固定させた後、摘出した各組織をパラフィン切片にし、ヘマトキシリン・エオジン（Hematoxylin-Eosine）で染色した。完成した薄切切片は光学顕微鏡で肝臓および副腎皮質中空胞の分配程度、血管壁の状態を観察した。更に、肝臓および副腎組織は凍結切片を作り、脂肪染色（Oil red O stain）を行った。ヘマトキシリン・エオジン染色で観察された空胞は脂肪沈積であることを確認した。顕微鏡観察の倍率は100倍で行った。

コレステロール、胆汁酸および脂質の分析 血清脂質については、測定用キットにより、総コレステロール（コレステロールC テストワコー，和光純薬工業），HDLコレステロール（HDL-コレステロール テストワコー，和光純薬工業），トリグリセリド（トリグリセライド テストワコー，和光純薬工業），リン脂質（リン脂質B-テストワコー，和光純薬工業），胆汁酸（総胆汁酸 テストワコー，和光純薬工業）を定量した。肝臓については、 -80°C から流水解凍した後、Kates¹⁰⁾の方法により全脂質を抽出し、粗脂質含量を求めた。肝臓中の総コレステロール含量はZak-Henly法¹¹⁾に従い測定を行った。トリグリセリド、リン脂質の含量は血清と同様に測定用キットにより測定した。血清のLDL-コレステロールはFriedewald推定式¹²⁾に従って、総コレステロールよりトリグリセリド量の20% およびHDL-コレステロール量を差し引いて求めた。

統計処理 結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で示し、*F*-test ならびに multiple *t*-test で5%水準以下（ $P < 0.05$ ）の有意差の有無を算出した。

結 果

体重増加量、飼料摂取量、排泄量および肝臓の重量 体重増加量、飼料摂取量、排泄量および肝臓の重量はTable 2に示したとおりである。

予備飼育を終了する時、各試験区ラットの体重をほぼ同じになるよう調整した。

飼育終了時に、アルギン酸添加（C+H，C+L）食区はアルギン酸を含まない基本（B）食区，コレステロール（C）食区より体重および体重増加量が有意に低下した。高粘度アルギン酸（C+H）食区のラットは低粘度

Table 1. Composition of diets

Constituents	Diets ¹			
	B	C	C+H	C+L
Casein	200	200	200	200
Corn starch	602.5	590	540	540
Sucrose	100	100	100	100
Corn oil	50	50	50	50
Vitamin mixture ²	10	10	10	10
Mineral mixture ³	35	35	35	35
Choline chloride	2.5	2.5	2.5	2.5
Sodium cholate		2.5	2.5	2.5
Cholesterol	0	10	10	10
Alginate (high)	0	0	50	0
Alginate (low)	0	0	0	50

¹ B, basal; C, cholesterol; C+H, cholesterol + high viscosity alginate; C+L, cholesterol + low viscosity alginate.

² AIN-76 vitamin mixture.⁹⁾

³ AIN-76 mineral mixture.⁹⁾

Table 2. Body weight, food intake, feces and liver weight of rats

	(mean $\pm$ S.D., $n=6$)			
	Diets			
	B	C	C+H	C+L
Initial weight (g)	170 $\pm$ 5 ^a	171 $\pm$ 6 ^a	171 $\pm$ 8 ^a	173 $\pm$ 7 ^a
Final weight (g)	292 $\pm$ 11 ^a	293 $\pm$ 12 ^a	253 $\pm$ 17 ^b	277 $\pm$ 8 ^c
Weight gain (g/20 days)	122 $\pm$ 7 ^a	122 $\pm$ 8 ^a	82 $\pm$ 11 ^b	104 $\pm$ 5 ^c
Food intake (g/20 days)	394 $\pm$ 21 ^a	400 $\pm$ 21 ^a	311 $\pm$ 28 ^b	390 $\pm$ 6 ^a
Food efficiency ratio	31 $\pm$ 1.8 ^a	31 $\pm$ 1.8 ^a	26 $\pm$ 2.2 ^b	27 $\pm$ 1.3 ^b
Feces (g/20 days)	17 $\pm$ 1 ^a	32 $\pm$ 3 ^b	88 $\pm$ 26 ^c	40 $\pm$ 8 ^d
Liver weight (g)	9.2 $\pm$ 0.7 ^a	12.9 $\pm$ 1.1 ^b	10.1 $\pm$ 0.9 ^{a,c}	10.7 $\pm$ 0.7 ^c
Liver weight/Body weight (%)	3.3 $\pm$ 0.2 ^a	4.7 $\pm$ 0.2 ^b	4.4 $\pm$ 0.3 ^{b,c}	4.1 $\pm$ 0.2 ^c

Refer to Table 1 for symbols of the diets.

Weight gain(g)/Food intake(100 g).

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ($p<0.05$).

アルギン酸 (C+L) 食区より体重が有意に低かった。餌の摂取は C+H 食区が他の 3 食区より有意に低く、B, C, C+L 食区の間には有意差がなかった。飼料効率 (Food efficiency ratio) についてみると、C+H, C+L 食区では B, C 食区より有意に低下したが、C+H 食区と C+L 食区の間には有意差がなかった。その理由として、C+H 食区の体重増加が C+L 食区より有意に低かったため、飼料 100 g 当たりの効率としては差異が認められなかったものと考えられた。

ラットが排泄した糞量については、各試験区間に有意差が見られ、C+H 食区が最も高い排泄量を示し、これに次いで C+L 食区、C 食区、B 食区の順であった。水溶性食物繊維の摂取による便の増量は水溶性食物繊維の高い保水性によると考えられており、^{13,14)} 本実験における排泄量の相違も同様の原因によるものと考えられた。また、水溶性食物繊維の粘度が高いほど糞量が高くなった。

肝臓重量はアルギン酸の添加食区 (C+H, C+L) で C 食区より有意に減少した。C+H 食区は C+L 食区と有意差がなかったが、B 食区と近い数値となった。体重に対する肝臓の割合は、C+L 食区は C 食区より有意に低く、C+H 食区は C 食区、C+L 食区と有意差が認められなかった。

アルギン酸の消化率および糞中の分子量 アルギン酸の消化率および糞中の分子量は Table 3 に示した。

飼料に 5 % 含まれているアルギン酸の摂取量は、C+H, C+L 両食区とも飼育終期 (17~20 日) において飼育初期 (1~4 日) より有意に増加した。また、両者を比べると、飼育初期の摂取量には有意差がなかったが、

Table 3. Digestibility of alginate and molecular weight in feces (mean $\pm$ S.D., $n=6$)

Alginate:	Diets	
	C+H	C+L
Intake (g)		
Day 1~4	3.33 $\pm$ 0.19 ^{a,A}	3.30 $\pm$ 0.31 ^{a,A}
Day 17~20	4.23 $\pm$ 0.31 ^{a,B}	3.75 $\pm$ 0.18 ^{b,B}
Excretion (g)		
Day 1~4	0.72 $\pm$ 0.20 ^{a,A}	0.50 $\pm$ 0.18 ^{a,A}
Day 17~20	0.22 $\pm$ 0.09 ^{a,B}	0.07 $\pm$ 0.03 ^{b,B}
Digestibility (%)		
Day 1~4	78.2 $\pm$ 6.5 ^{a,A}	94.7 $\pm$ 2.3 ^{b,A}
Day 17~20	84.1 $\pm$ 6.9 ^{a,A}	98.2 $\pm$ 0.8 ^{b,B}
Molecular weight ($\times 10^3$):		
Day 1~4	444 $\pm$ 33 ^{a,A}	89 $\pm$ 9 ^{b,A}
Day 17~20	291 $\pm$ 26 ^{a,B}	75 $\pm$ 4 ^{b,B}

Refer to Table 1 for symbols of the diets.

Horizontal (a, b) and vertical (A, B) values not shearing the same superscript letters are significantly different ($p<0.05$).

飼育終期には C+H 食区が C+L 食区より有意に高かった。アルギン酸の排泄量については摂取量と同様の傾向が見られた。アルギン酸の摂取量と排泄量を基にアルギン酸の消化率を計算した結果、C+H 食区と C+L 食区の飼育初期の消化率はそれぞれ 78.2%, 94.7% で、飼育終期はそれぞれ 84.1%, 98.2% となった。C+L 食区では飼育初期より飼育終期のほうがアルギン酸の消化率が有意に上昇したが、C+H 食区では飼育初期と終期の間に有意差は認められなかった。また、C+H 食区と C+L 食区を比べると、飼育初期、飼育終期とも C+L 食区は C+H 食区より消化率が有意に大きいことが認められた。

ラット糞中のアルギン酸の分子量について、C+H 食区の飼育初期および飼育終期はそれぞれ 444×10^3 , 291×10^3 , C+L 食区はそれぞれ 89×10^3 , 75×10^3 であった。両食区とも糞中のアルギン酸の分子量は飼育終期において飼育初期より有意に減少し、そのうち C+H 食区の減少値は C+L 食区より大きかった。

血清および肝臓の脂質濃度 血清脂質濃度を Table 4 に示した。総コレステロールと LDL-コレステロールの濃度は、C 食区では 4.95 と 4.20 mmol/L であったが、C+H 食区では 3.21 と 2.15 mmol/L, C+L 食区では 3.07 と 2.46 mmol/L となり、B 食区に近づいた。アルギン酸の添加食区 (C+H, C+L) は無添加の C 食区に比べ、有意に血清中の総コレステロールおよび LDL-コレステロール濃度を低下させたが、高粘度アルギン酸食区 (C+H) と低粘度アルギン酸食区 (C+L) の間には有意差が認められなかった。HDL-コレステロール濃

Table 4. Serum lipid concentration(mean $\pm$ S.D., $n=6$)

	Diets			
	B	C	C+H	C+L
Total-cholesterol (mmol/L)	2.36 $\pm$ 0.28 ^a	4.95 $\pm$ 1.11 ^b	3.21 $\pm$ 0.53 ^c	3.07 $\pm$ 0.27 ^c
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.46 $\pm$ 0.17 ^a	0.64 $\pm$ 0.08 ^b	0.90 $\pm$ 0.16 ^c	0.53 $\pm$ 0.10 ^b
LDL-cholesterol (mmol/L)	0.90 $\pm$ 0.26 ^a	4.31 $\pm$ 1.13 ^b	2.31 $\pm$ 0.53 ^c	2.54 $\pm$ 0.22 ^c
Triglyceride (mmol/L)	1.20 $\pm$ 0.38 ^a	0.60 $\pm$ 0.10 ^b	0.82 $\pm$ 0.20 ^a	0.37 $\pm$ 0.12 ^c
Phospholipid (mmol/L)	1.92 $\pm$ 0.27 ^a	1.57 $\pm$ 0.26 ^b	1.88 $\pm$ 0.10 ^a	1.25 $\pm$ 0.22 ^c
Bile acid (μ mol/L)	13.9 $\pm$ 6.7 ^a	22.8 $\pm$ 10.7 ^{a,c}	64.0 $\pm$ 21.7 ^b	23.8 $\pm$ 6.7 ^c

Refer to Table 1 for symbols of the diets.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).**Table 5.** Liver lipid concentration(mean $\pm$ S.D., $n=6$)

	Diets			
	B	C	C+H	C+L
Total-lipid (mg/g)	58.5 $\pm$ 3.7 ^a	197.1 $\pm$ 15.0 ^b	116.0 $\pm$ 7.9 ^c	191.0 $\pm$ 21.1 ^b
Total-cholesterol (mg/g)	4.5 $\pm$ 0.4 ^a	76.3 $\pm$ 7.9 ^b	25.1 $\pm$ 8.5 ^c	79.0 $\pm$ 10.6 ^b
Triglyceride (mg/g)	13.3 $\pm$ 2.9 ^a	38.3 $\pm$ 5.8 ^b	33.0 $\pm$ 8.8 ^b	62.5 $\pm$ 12.5 ^c
Phospholipid (mg/g)	16.5 $\pm$ 2.3 ^a	20.6 $\pm$ 1.7 ^b	20.8 $\pm$ 2.1 ^b	25.3 $\pm$ 5.0 ^b

Refer to Table 1 for symbols of the diets.

Horizontal values not sharing the same superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

度については、C+H食区 (0.90 mmol/L) が C+L食区 (0.53 mmol/L) および C食区 (0.64 mmol/L) より有意に高かったが、C+L食区とC食区の間には差がなかった。また、C食区のトリグリセリドおよびリン脂質の濃度はそれぞれ 0.60 と 1.57 mmol/L であるのに対し、C+H食区はそれぞれ 0.82, 1.88 mmol/L と高く、C+L食区はそれぞれ 0.37, 1.25 mmol/L と低かった。C+H食区のトリグリセリドおよびリン脂質の濃度はC食区、C+L食区より有意に高いことが認められ、C+L食区はC食区より有意に低かった。胆汁酸の濃度は、C+H食区 (64.0 μ mol/L) で C+L食区 (23.8 μ mol/L)、C食区 (22.8 μ mol/L)、B食区 (13.9 μ mol/L) より有意に高く、C+L食区とC食区の間には差がなかった。B食区の総コレステロール、LDL-コレステロール、胆汁酸の濃度は他の3食区より低い値を示したが、トリグリセリド、リン脂質、HDL-コレステロールは3食区より高い値であった。

肝臓の脂質濃度を Table 5 に示した。総脂質、総コレステロールについて、C食区ではそれぞれ 197.1, 76.3 mg/g であるのに対し、C+H食区ではそれぞれ 116.0, 25.1 mg/g、C+L食区ではそれぞれ 191.0, 79.0 mg/g、B食区ではそれぞれ 58.5, 4.5 mg/g であった。C+H食区ではC+L食区、C食区より肝臓中の総脂質、およ

び総コレステロール濃度が有意に低下したが、B食区の水準にはいたらず、またC+L食区とC食区の間には差がなかった。トリグリセリド濃度については、C+H食区 (33.0 mg/g) とC食区 (38.3 mg/g) との間に差がなかったが、C+L食区 (62.5 mg/g) ではC+H食区、C食区より有意に高い値を示した。リン脂質濃度は、C食区、C+H食区およびC+L食区の間に有意差が見られなかった。B食区のトリグリセリドとリン脂質濃度はそれぞれ 13.3, 16.5 mg/g であり、他の3食区より有意に低い値を示した。

組織学的検査 ヘマトキシリン・エオジン染色法で染色した肝臓切片中の脂肪沈積状況は Table 6 に示し、その Oil red O での脂肪染色写真は Fig. 1 に示した。肝臓へ送られる栄養分は肝小葉周辺部の門脈域 (Fig. 1, a) から入り、中心静脈 (Fig. 1, b) へ流れ、小葉の外へ出る。¹⁵⁾ そのため、脂肪の沈積範囲は栄養分に富む門脈域から中心静脈へ拡大して行く。肝臓に蓄積した脂肪滴はヘマトキシリン・エオジン染色法の脱パラフィン操作により、パラフィンと共に溶出され染められず、空胞の形になる。この空胞について肝臓内での分布状態を5段階に分けて判定した。空胞のある肝細胞が肝小葉内にごく少なく不規則に見られたのが±段階、一部の肝小葉の周辺部 (a) に脂肪沈着が見られたのが+段階、ほとん

Table 6. Lipid deposition in hepatic lobule

Grade	Diets			
	B	C	C+H	C+L
±	4	0	0	0
+	2	0	2	0
++	1	0	3	0
+++	0	5	1	1
	0	1	0	5
Incidence	1/6	6/6	4/6	6/6

Refer to Table 1 for symbols of the diets.

Sum of grade ++, grade +++ and grade ||||/Sum of sample

±: Small amount of vacuole was found in hepatic lobule.

+: Small amount of hepatic lobule had lipid deposition in periportal hepatocytes.

++: Large amount of hepatic lobule had lipid deposition in periportal hepatocytes.

+++ : Lipid deposition was found in half of hepatic lobule.

||||: Lipid deposition was found throughout hepatic lobule.

どの肝小葉の周辺部 (a) に脂肪沈着が見られたのが ++ 段階, ほとんどの肝小葉の半分に脂肪沈着が見られたのが +++ 段階, ほとんどの肝小葉全体に脂肪沈着がみられたのが |||| 段階とした。± 段階と + 段階は正常な肝細胞にも見られる現象のため, ++ 段階以上が現れたラットの数の 1 食区のラットの総数に対する出現率を求めた。B, C, C+H, C+L 4 試験区での出現率はそれぞれ 1/6, 6/6, 4/6, 6/6 であった。高粘度アルギン酸食 (C+H) による肝臓での脂肪沈着抑制効果が認められ, 低粘度アルギン酸食 (C+L) ではこのような効果が見られなかった。更にヘマトキシリン・エオジン染色で観察された空胞が Oil red O 染色により赤く染められ, 脂肪沈着であることが確認された。B 食区の肝小葉には脂肪沈着がほとんど見られないのに対し (Fig. 1, B), C 食区には中心静脈 (b) まですべての肝細胞に油滴状の脂肪の沈着が認められた (Fig. 1, C)。高粘度アルギン酸を添加した C+H 食区では肝小葉の周辺門脈 (a) 域の脂肪沈着は軽減される傾向が見られたが, 低粘度アルギン酸添加食 (C+L) ではこのような軽減傾向は見られなかった。

副腎凍結切片の皮質部 (e) の脂肪染色写真は Fig. 2 に示した。コレステロール食区 (C) と比べ, 高粘度アルギン酸食区 (C+H) は副腎皮質部の細胞中の脂肪蓄積を抑え, 回復させたことが明らかとなったが, 低粘度アルギン酸食区 (C+L) ではこのような回復現象がなかった。

また, 心臓大動脈の組織切片について観察したところ, 4 試験区とも血管壁の脂肪沈着は見られなかった。

考 察

水溶性食物繊維に関する研究については, これまで主に陸上植物の食物繊維を対象として検討されてきた。小

田ら¹⁶⁾はオーツガムと大麦ガムを用いてラットの脂質代謝に及ぼす影響を検討し, 野村ら²⁾はデキストリンをラットに投与した際の脂質と糖の代謝を調べた。これらの研究から陸上植物の水溶性食物繊維は脂質代謝と糖代謝に影響を与え, 高脂血および高血糖の降下作用があることが認められた。アルギン酸は褐藻の水溶性食物繊維の一種で, 水中で生育する褐藻の合成成分であるため, 陸上植物の粘質多糖類と異なるウロン酸残基を有し, この独特な構造に由来する機能が期待されている。しかしながら, 粘度の異なるアルギン酸による生理効果の違いについてあまり多くの検討はされていなかった。久田ら¹⁷⁾は低粘度および高粘度のアルギン酸をラットに短期間 (7 日間) 投与して, 血清中の総コレステロールおよびトリグリセリド濃度の違いを検討した。短期間投与においては, 低粘度アルギン酸による血清のコレステロール上昇抑制効果が有意に見られたが, 高粘度アルギン酸による効果が認められなかったと報告している。このような短期間の投与による結果と比べ, 本研究ではこの約 3 倍の期間 (20 日間) 高粘度および低粘度アルギン酸をラットに投与した。その結果, 高粘度アルギン酸食区 (C+H) と低粘度アルギン酸食区 (C+L) は同様にラット血清中のコレステロール濃度を有意に低下させることが認められた (Table 4)。この結果から, 低粘度アルギン酸は高粘度アルギン酸より短い期間で血清のコレステロール上昇抑制効果を示し, 高粘度アルギン酸が効果を示すまでにはさらに時間がかかることが分かった。Rudel *et al.*¹⁸⁾は血清中の LDL-コレステロールがアテローム動脈硬化に多く関与すると報告しているため, 我々の結果と合わせて考察すると, 低粘度アルギン酸は短期間, 高粘度アルギン酸は比較的長期間摂取することでアテローム動脈硬化の予防効果や進行の抑制などが期待される。陸上植物に含まれる水溶性食物繊維の粘度の相異なる効果について, 武野ら¹⁹⁾はグアーガムの部分分解物はグアーガムと同様に血漿中のコレステロールを低下させると述べており, また Sugano *et al.*²⁰⁾はキトサンによる血清でのコレステロール低下効果がキトサンの粘度と無関係であると報告している。褐藻の水溶性食物繊維のアルギン酸による血清コレステロールへの影響は, 陸上植物の水溶性食物繊維のグアーガムやキトサンとほぼ同様の傾向があることが分かった。

一方, 海藻水溶性食物繊維の粘度が異なることによって, 肝臓の脂質代謝に及ぼす影響についての報告はまだ見当たらない。本研究のラット肝臓の分析結果およびその組織切片の観察結果から, 高粘度アルギン酸は肝臓での脂質上昇抑制効果があり, 低粘度アルギン酸はこのような効果がないことが認められた。高粘度アルギン酸と低粘度アルギン酸の肝臓脂質蓄積の抑制効果に大きな差が存在した。陸上植物の水溶性食物繊維を用いた武野

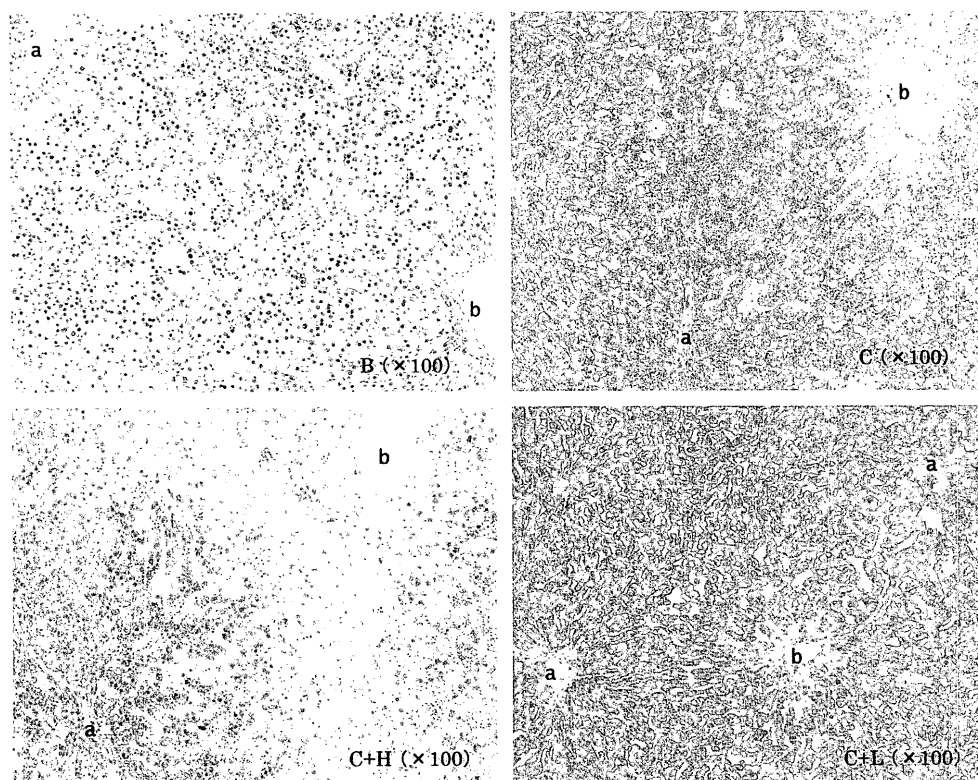


Fig. 1. Staining of liver tissue slice (Red oil stain). a: Peribiliary portal vessels, b: Central vein. Refer to Table 1 for symbols of the diets.

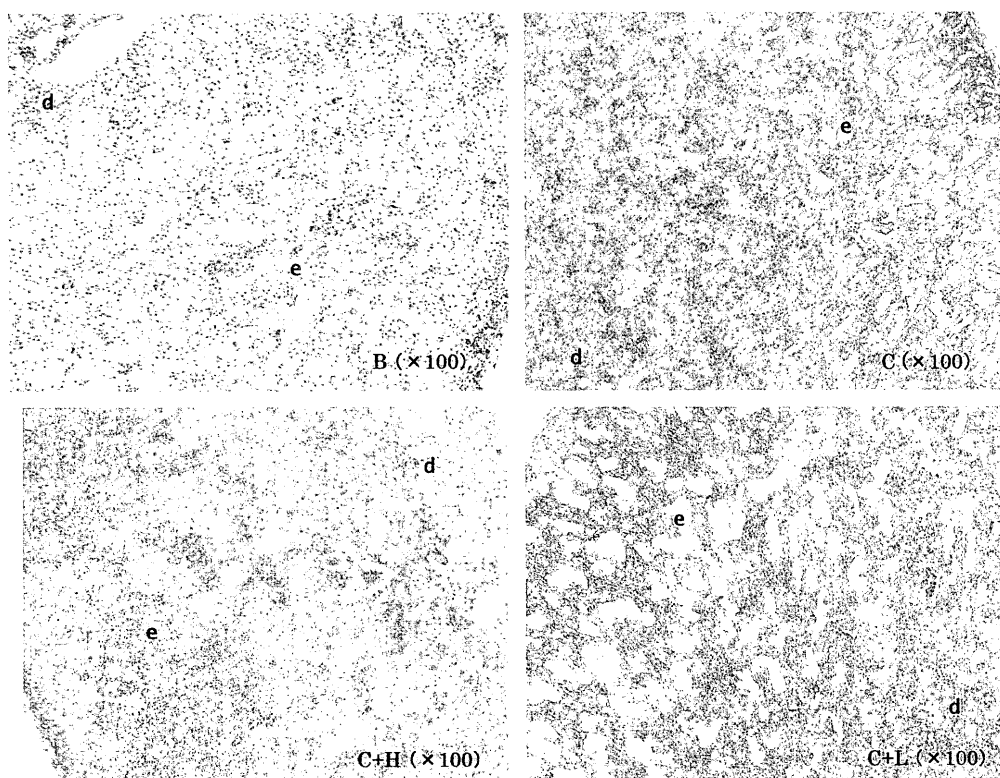


Fig. 2. Staining of adrenal tissue slice (Red oil stain). d: Adrenal medulla, e: Adrenal cortex. Refer to Table 1 for symbols of the diets.

ら¹⁹⁾の報告では、グアーガムが肝臓でのコレステロール含量を有意に低下させたが、グアーガムの部分分解物はこのような低下効果を示さなかった。一方、Sugano *et al.*²⁰⁾は低粘度キトサンが高粘度キトサンと同様に肝臓でのコレステロール上昇抑制効果を示したと報告した。上記の結果から、アルギン酸はキトサンと異なり、グアーガムと同様の働きにより肝臓の脂質代謝に影響を与えると考えられる。粘度が異なることによる肝臓脂質代謝の変化について、Johnson *et al.*²¹⁾は高粘度のグアーガムは栄養分の吸収を遅らせ、低粘度のアラビアガムは直接腸粘膜内分泌腺細胞に刺激を与えるため、異なる粘度の水溶性食物繊維による生理効果が異なると解説している。この説によると、本研究に用いた低粘度アルギン酸および武野ら¹⁹⁾が検討したグアーガムの部分分解物は分子量が小さくなったため、腸粘膜を通して内分泌腺細胞に刺激を与え、肝臓にコレステロールを合成させるホルモンに影響を与えることがありとえられる。

副腎の皮質部分がコレステロールの代謝ホルモンを分泌するため、本研究では副腎の皮質部分の組織状態についても観察した (Fig. 2)。肝臓組織で見られたと同様に、C+H 食区では C 食区より皮質部分の脂肪沈積が少なくなったが、C+L 食区は C 食区より回復したことが見られなかった。また、4 試験区の心臓大動脈の壁に脂肪沈積は観察されず、3 週間の高コレステロール摂取はラットの心臓大動脈に影響がないことが分かった。

本研究では高粘度 (アルギン酸 I-S) および低粘度アルギン (ソルギン) をラットに 20 日間与え、飼育初期 (1~4 日) および飼育終期 (17~20 日) の糞中アルギン酸の消化率について調べた。これまで海藻水溶性食物繊維の粘性や分子量の相違による消化率の変化についての研究は行われていない。陸上植物の食物繊維に関して、Yamamoto *et al.*²²⁾は単子葉植物や細菌に存在する粘質レバンの加水分解産物を対象に、分子量 6.0×10^3 と分子量 2.0×10^6 による消化率の違いを試験管内実験で調べ、低分子量となったレバン加水分解物のほうが消化率が高いことを報告した。前報⁴⁾では大粒子および微粒子のワカメに含まれるアルギン酸の分子量はほぼ同様に、それぞれ 6.53×10^5 , 6.31×10^5 であった。ワカメ含有飼料の飼育初期 (1~3 日) の消化率は 26.5~28.6% で、飼育終期 (12~14 日) の消化率は 45.9~57.2% であった。本実験の高粘度アルギン酸の分子量は 6.81×10^5 で、ワカメに含まれるアルギン酸の分子量とはほぼ同様であったが、飼育初期のアルギン酸の消化率を比べると、高粘度アルギン酸食区 (78.2%) の消化率はワカメ添加食区 (26.5~28.6%) よりはるかに高かった。これはワカメの植物細胞壁による消化阻害が一つの原因と考えられた。

本研究では高粘度および低粘度アルギン酸が生体の血

清および肝臓の脂質代謝に異なる影響を与えることを初めて明らかにした。粘度の高いアルギン酸は血清コレステロールおよび肝臓脂質の上昇を有意に抑制したが、低粘度アルギン酸は血清のみで有意なコレステロール上昇抑制効果が見られた。低粘度アルギン酸による生体への影響は、多糖類による働きだけではなく、分子量が小さくなったため、腸粘膜の内分泌腺細胞に刺激され、ホルモン代謝系に影響を与えることが考えられる。今後低分子量の多糖類が生体に対しどのように作用するかについて、さらに追究したいと思っている。

謝 辞

本研究の組織学的検査については東京都立衛生研究所の青木直人参事研究員、大縣昭夫病理研究科長および同研究科職員の方々からご指導をいただき、心より感謝します。また、アルギン酸試料を手配してくださった榊キミカ技術本部の宮島千尋氏に深く感謝の意を申し上げます。本研究は、平成 13 年度日本学術振興会奨励研究 (A) (2) No. 13760154 によって援助され、行われました。

文 献

- 1) 古市幸生, 谷口 愛, 堀部敦子, 梅川 逸, 高橋孝雄, 勝呂公明, 今井照夫. トウモロコシ外皮より調製した水溶性食物繊維のラット脂質代謝に及ぼす影響. 栄養食糧誌 1994; **47**: 29-34.
- 2) 野村 誠, 中島泰子, 阿部 裕. 水溶性食物繊維長期投与時における脂質と糖代謝に与える影響の検討. 栄養食糧誌 1992; **45**: 21-25.
- 3) Nyman M, Asp NG. Fermentation of oat fiber in the rat intestinal tract: a study of different cellular areas. *Am. J. Clin. Nutr.* 1988; **48**: 274-279.
- 4) Wang W, 吉江由美子, 鈴木 健. ラットに投与した超微粒化海藻粉末の消化率およびその脂質代謝への影響. 日水誌 2002; **68**: 172-179.
- 5) Wang W, Onnagawa M, Yoshie Y, Suzuki T. Binding of bile salts to soluble and insoluble dietary fibers of seaweeds. *Fisheries Sci.* 2001; **67**: 1169-1173.
- 6) Suzuki T, Nakai K, Yoshie Y, Shirai T, Hirano T. Effect of sodium alginates rich in guluronic and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats. *Fisheries Sci.* 1993; **59**: 545-551.
- 7) American Institute of Nutrition: Report of the American Institute of Nutrition and hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 1977; **107**: 1340-1348.
- 8) Haug A. Alginic acid. Isolation and fractionation with potassium chloride and manganese ions. In: Whistler RL (ed) *Method in Carbohydrate Chemistry* Vol. 5. Academic Press, New York. 1965; 69-73.
- 9) 日本実験動物学会. 動物実験に関する指針. 実験動物 1987; **36**: 285-288.
- 10) Kates M. *Techniques of Lipidology*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. 1972.
- 11) 上田英雄. 「臨床検査法」, 杏林書院, 東京. 1959; 398.
- 12) Friedewald WT, Levy RL, Fredrickson DS. Estimation of Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in

- Plasma, without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin. Chem.*, 1972; **18**: 499-502.
- 13) 武田秀敏, 桐山修八. 食物繊維の物理化学的性質. 「食物繊維」(印南敏, 桐山修八編) 第一出版, 東京. 1995; 59-79.
 - 14) 奥 恒行. 食物繊維の生理作用(1)—機能への影響. 「食物繊維」(印南敏, 桐山修八編) 第一出版, 東京. 1995; 80-101.
 - 15) 藤田尚男, 藤田恒夫. 「標準組織学 (各論)」医学書院, 東京. 1976.
 - 16) 小田泰士, 青江誠一郎, 真田宏夫, 綾野雄幸. ラットの脂質代謝に及ぼすオーツガム脂質ならびに大麦ガム脂質の影響. 栄養食糧誌 1993; **46**: 147-153.
 - 17) 久田 孝, 横山理雄, 藤井建夫. 粘度の異なるアルギン酸ナトリウムのラット血清脂質レベルおよび盲腸内フローラへの影響. 食科工誌 1997; **44**: 226-229.
 - 18) Rudel LL, Johnson FL, Sawyer JK, Wilson MS, Parks JS. Dietary polyunsaturated fat modifies low-density lipoproteins and reduces atherosclerosis of nonhuman primates with high and low diet responsiveness. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995; **62**: 463s-470s.
 - 19) 武野史朗, 山田祐之, 関谷啓治, 藤谷武一, 大津啓嗣. グアーガム部分分解物が高コレステロール負荷ラットおよび無繊維食ラットに与える影響について. 栄養食糧誌 1990; **43**: 421-425.
 - 20) Sugano M, Watanabe S, Kishi A, Izume M, Ohtakara A. Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats. *Lipids* 1988; **23**: 187-191.
 - 21) Johnson IT, Gee JM, Brown JC. Plasma enteroglucagon and small bowel cytokinetics in rats fed soluble nonstarch polysaccharides. *Am. J. Clin. Nutr.* 1988; **47**: 1004-1009.
 - 22) Yamamoto Y, Takahashi Y, Kawano M, Iizuka M, Matsumoto T, Saeki S, Yamaguchi H. *In vitro* digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J. Nutr. Biochem.* 1999; **10**: 13-18.