

高脂肪食ラットのワカメ投与による血清・臓器への影響

谷 政八*・池田 涼子*・梅林 由佳**・百木 華奈子**・台蔵 彩子***

仁愛大学人間生活学部*・仁愛女子短期大学生活科学学科**・聖徳大学人間栄養学部***

Effects of Seaweed, Wakame on Serum and Internal Organs in Rats Fed High Fat Diets

Masahachi TANI* Ryouko IKEDA* Yuka UMEBAYASHI**
Kanao MOMOKI** Ayako DAIZOU***

*Faculty of Human Life, Jin-ai University **Department of Human Life science, Jin-ai women's college

***Faculty of Human nutrition, Seitoku University

Wakame includes a lot of alginic acid, the water soluble dietary fiber, and is the seaweed which is used very often in Japan. Alginic acid is combined with sodium in the small intestine and promotes sodium excretion to feces. Alginic acid is also known to interfere the absorption of excessive cholesterol. The purpose of this study is to examine the influence of wakame dosage on serum nutrients and bone metabolism in high-fat-diet given rats.

Male Wistar-strain of rats (n=24) were divided into four groups, the normal-diet group (n=6), the wakame-diet group (wakame powder 10% , n=6), the high fat-diet group (lard 14% , n=6), the high fat-wakame-diet group (lard 14% , wakame powder 10% , n=6). After four weeks of these dietary regimens, there were no significant in femur calcium and magnesium among the groups examined. Femur phosphorus significantly decreased ($p < 0.05$), and the Ca/P ratio significantly rose ($p < 0.01$) by the wakame dosage. However, the mineral concentrations in heart, liver and the kidney did not changed significantly among all the groups. The iron concentration significantly increased all ($p < 0.05$) by the seaweed dosage in spleen. There were no significantly differences of macro-elements in all serum tested. Serum iron significantly decreased ($p < 0.05$) in the high-fat-diet group. Though serum total cholesterol and HDL-cholesterol significantly decreased ($p < 0.05$) in the high-fat-diet group, it was not changed in the high-fat-wakame-diet group and the normal-diet group.

These results suggested that there is likely a change of the mineral concentration, and improvement of serum HDL-cholesterol concentration by wakame and high-fat-diets.

キーワード：ワカメ, 高脂肪食, 食物繊維, ミネラル, 血清, 大腿骨

key words: wakame seaweed, high-fat-diet, food dietary, mineral, serum, femur

諸 言

最近の研究からは、食物繊維や難消化性オリゴ糖などを含めた消化管空内で有用な機能を発現する食物成分をルミナコイドと呼称することを提案している¹⁾。食物繊維は「人の消化酵素では消化されない食物中の

難消化性成分の総称」と定義されており、不溶性食物繊維と、水溶性食物繊維の二つに大別されている^{2) 3)}。前者は穀類や野菜類、豆類に多く含まれ腸内内容物の体外への排出を促進する働きを持っている。後者は、藻類に多く含まれ、食後の急激な血糖値の上昇や腸管からのコレステロール吸収を抑制する働きを

持っている。

狭義に分けられている二つの食物繊維のうち、ミネラルに対する吸収阻害作用があるのは、基本的に不溶性食物繊維である。一方で、水溶性食物繊維を含む多くの難消化性糖質がむしろミネラルの吸収に対して促進的に働いていることが研究報告から分かってきている⁴⁾。また、現代の食生活の形態が欧米化傾向となり高脂質食、低複合糖質食、低食物繊維質食が指摘され、1950年代には20g/日を超えていた日本人の平均食物繊維摂取量が現在までに減少し、「平成19年国民健康・栄養調査」の結果では、男性15.5g/日、女性14.9g/日である⁵⁾。この減少を踏まえ「2005年版日本人の食事摂取基準」では、心筋梗塞、糖尿病、肥満などの疾患リスクとの関連を考慮し18～69歳男性で20g/日、18～49歳女性で17g/日、50～69歳女性で18g/日が目標量として定められた⁶⁾。さらに「2010年版日本人の食事摂取基準」では、修正されて男女ともに2005年版より1gずつ加算されることになった⁷⁾。このため食物繊維の摂取量を増やすため、食物繊維の多い食品類に関心がもたれている⁸⁾。

食物繊維の多い食品の中でも海の野菜といわれる海藻類は、生理的機能を持つ食品成分を多く含み多量の食物繊維や植物ステロールが含有していることが分かってきた。ワカメは特に食物繊維を多く含む食品であり、乾燥重量で約30%の食物繊維が含まれているため、他の食品に比べ食物繊維を効率よく摂取できる⁹⁾。

ワカメに含まれる水溶性食物繊維の大部分は粘質多糖類のアルギン酸であり、小腸でナトリウムと結合し余分なナトリウムを排泄する降圧作用や腸内の余分なコレステロールを体外に放出させ過剰な脂質の吸収を抑制する働きがある^{10) 11)}。また、カルシウム、ヨウ素などの無機質とビタミンB₁、B₂、C、ナイアシンが豊富に含まれている。国民栄養調査の結果によるとワカメに多く含まれるカルシウム摂取の現状は、男女ともに多くの年齢階層で食事摂取基準を満たしていない事から、ワカメ摂取はカルシウム不足に有用であると思われる。

そこで、我々は、水溶性食物繊維のアルギン酸やカルシウムを多く含む、地域の特産品の一つである福井県産のワカメに注目した。本研究では、基準食ラット、

高脂肪食ラットを用い飼料にワカメを10%添加することにより、ワカメの食物繊維がミネラル代謝や吸収、脂質代謝におよぼす効果を検討した。なお、本実験は、仁愛女子短期大学倫理委員会において承認を得た。

実験方法

1. 飼育条件

5週齢SD系雄ラット24匹を用い、4群各6匹で飼育をおこなった。飼育管理室は明暗12時間サイクル(室温24±1℃、湿度60%)とした。

飼育は4日間予備飼育をおこなった後、実験飼料を投与し4週間飼育をおこなった。実験飼料と飲料は自由摂取とし、飲用水は蒸留水を与えた。

4週間の実験飼料投与後、16時間以上絶食させたラットを頸動脈から採血し、ヘパリン処理後、遠心分離法(4℃、3000rpm、20分間)により血清を分離した。また、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、大腿骨を摘出し重量測定をおこなった。また、これら全ての試料は分析するまで冷凍(-30℃)保存した。

2. 飼料の調製

飼料は、AIN-93G組成に基づき作成した¹²⁾。AIN-93Gを基準としたコントロール食(C群)、ワカメ食(W群)、高脂肪食(F群)、高脂肪・ワカメ食(FW群)として各群に投与した。W食はワカメを10%添加し、F食は大豆油を7%・ラードを14%添加、FW食は大豆油を7%・ラードを14%・ワカメを10%添加した。W群、F群、FW群の飼料の全重量はコーンスターチにて調整をおこなった。表1に試料組成を示した。

ワカメは、日本海越前海岸沿いで4～5月期に収穫された福井県産ワカメを用いた。蒸留水でワカメ表面の塩分を洗い流し、真空乾燥させ500meshに粉碎したものを実験試料とした。

表1 ラットの飼料組成 (%)

	コントロール食 (C群)	ワカメ食 (W群)	高脂肪食 (F群)	高脂肪・ ワカメ食 (FW群)
ミルクカゼイン	20.0	20.0	20.0	20.0
ワカメ粉末	-	10.0	-	10.0
コーンスターチ	52.95	42.95	38.95	28.95
スクロース	10.0	10.0	10.0	10.0
L-シスチン	0.3	0.3	0.3	0.3
大豆油	7.0	7.0	7.0	7.0
ラード	-	-	14	14
ビタミン混合*	1.0	1.0	1.0	1.0
ミネラル混合**	3.5	3.5	3.5	3.5
セルロース	5.0	-	5.0	-
酒石酸コリン	0.25	0.25	0.25	0.25
BHQ	0.0014	0.014	0.0014	0.0014
Total(g)	100	100	100	100

*AIN-93G ビタミン混合 **AIN-93G ミネラル混合

3. 大腿骨中のミネラル含有量の測定

i. 検体試料の調製

大腿骨はエーテル溶液に3時間浸けて脱脂し、乾燥させ重量を測定した。

るつぼには、大腿骨試料を正確に量り採り、550℃、48時間マッフル炉に入れ、灰化した。灰化後、マッフル炉から取り出し、灰が飛ばないように注意しながらるつぼの蓋を開け、超純水を少量入れて溶解させた。HCL水溶液(1:1)約1mlを駒込ピペットでるつぼに加え、マイクロケルダール窒素分解装置でるつぼを加熱した。

大腿骨の検液は、50mlのメスフラスコに入れ超純水でメスアップした。

ii. 大腿骨中カルシウム濃度の測定

カルシウム濃度は、カルシウムE-テストワコー(和光純薬工業株式会社)を使用し測定した。

iii. 大腿骨中マグネシウム濃度の測定

マグネシウム濃度は、マグネシウムB-テストワコー(和光純薬工業株式会社)を使用し測定した。

iv. 大腿骨中リン濃度の測定

リン濃度は、ホスファC-テストワコー(和光純薬工業株式会社)を使用し測定した。

v. 大腿骨中鉄濃度の測定

鉄濃度は、Fe C-テストワコー(和光純薬工業株式会社)を使用し測定した。

4. 主な臓器中のミネラル濃度の測定

心臓・肝臓・脾臓・腎臓は、試料採取後、冷凍(-30℃)保存したものを高温乾燥器で乾燥させた(80℃, 24時間)。乾燥後は、550℃, 48時間マッフル炉に入れ灰化した。以降の操作は、「3.大腿骨中のミネラル含有量の測定, i.検体試料の調製」に準じた。

5. 血清中脂質濃度の測定

富士プレインチューブに各群の血清を注入し、富士ドライケムスライドTGP-Ⅲ, TCHO-PⅢ, HDL-C-PⅢDを用いてトリグリセリド, 総コレステロール, HDLコレステロール濃度を測定した。

6. 血清中ミネラル濃度の測定

富士プレインチューブに各群の血清を注入し、富士ドライケムスライドCa-PⅢ, Mg-PⅢ, IP-P, Na-K-Cl(富士フィルム)を用いてカルシウム, マグネシウム, リン, ナトリウム, カリウム, 塩素濃度を測定した。鉄濃度については3「大腿骨中のミネラル含有量の測定」V.大腿骨中鉄濃度の測定と同様におこなった。

7. 統計処理

統計処理法に基づいて棄却検定をおこない、一元配置法およびチューキーの多重比較により群間の比較をおこなった。統計解析には、Microsoft Excel XLLアドインを使用した。有意差は「*」 $p > 0.05$, 「**」 $p > 0.01$ の記号で示した。

結 果

1) 体重増加量

図1に体重増加量を示した。

体重増加量は、C群に対し全ての群で有意に高値を示した($p < 0.05$)。

C群に対してF群では有意に増加したが、F群に対

しFW群で有意な差が認められなかったことから、ワカメ投与による影響はなかったと考えられる。

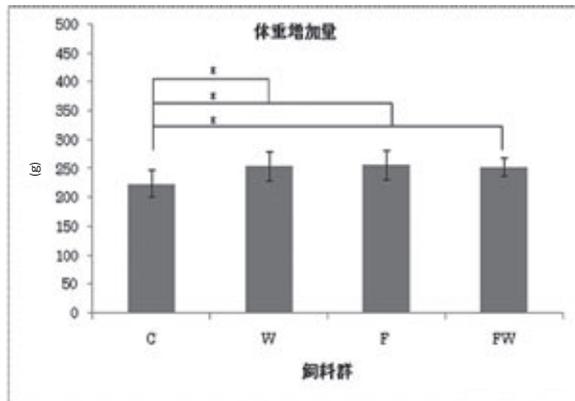


図1 体重増加量 (g)

2) 飼料効率

図2に飼料効率を示した。

飼料効率はC群に対しW群, F群で有意に高値を示し, W群, F群に対しFW群で有意に低値を認めた ($p < 0.05$) .

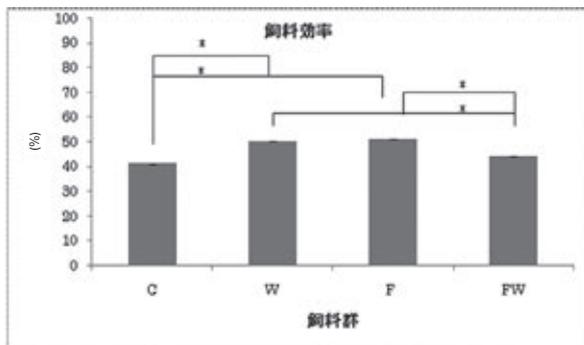


図2 飼育効率 (%)

3) 臓器重量

表2に臓器の重量を示した。

大腿骨, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓などの重量は, すべて群間で有意な差は認められなかった。

4) 大腿骨中ミネラル濃度

図3に大腿骨中カルシウム量を示した。

大腿骨中カルシウム濃度について, C群に対しW群で高値傾向を認め, F群に対しFW群で高値傾向を認めたが, 有意な差は認められなかった。

表2 主な臓器の重量

	コントロール食 (C群)	ワカメ食 (W群)	高脂肪食 (F群)	高脂肪・ワカメ食 (FW群)
大腿骨脱脂前 (g)	0.92 ± 0.07	0.91 ± 0.05	0.91 ± 0.07	0.91 ± 0.06
大腿骨脱脂後 (g)	0.56 ± 0.03	0.56 ± 0.01	0.55 ± 0.03	0.57 ± 0.03
心臓 (g)	0.95 ± 0.05	1.01 ± 0.09	1.00 ± 0.06	1.05 ± 0.07
肝臓 (g)	7.93 ± 1.77	7.68 ± 1.04	7.98 ± 1.88	9.56 ± 3.57
脾臓 (g)	0.86 ± 0.09	0.85 ± 0.06	0.87 ± 0.10	0.79 ± 0.07
腎臓 (g)	2.39 ± 0.18	2.70 ± 0.21	2.63 ± 0.24	2.62 ± 0.31

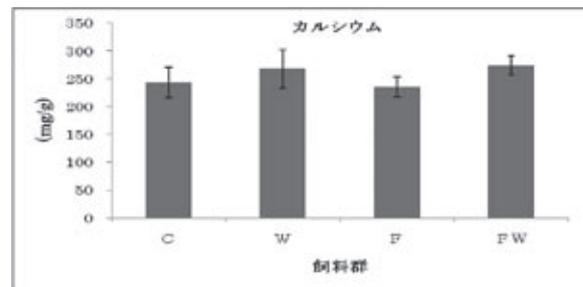


図3 大腿骨中カルシウム量 (mg/g)

図4は大腿骨中マグネシウム量を示した。

大腿骨中マグネシウム濃度について, 全ての群において有意な差は認められなかった。

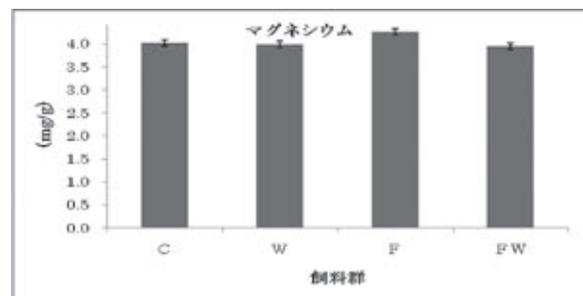


図4 大腿骨中マグネシウム量(mg/g)

図5に大腿骨中リン量を示した。

大腿骨中リン濃度について, C群に対しW群, F群, FW群で有意に低値を示した ($p < 0.01$) . また, W群に対しF群, FW群で有意に低値を認めた ($p < 0.05$) .

図6に大腿骨中铁量を示した。

大腿骨中铁濃度について, C群に対しW群で高値傾向を示し, F群に対しFW群で高値傾向を示したが有意な差は認められなかった。

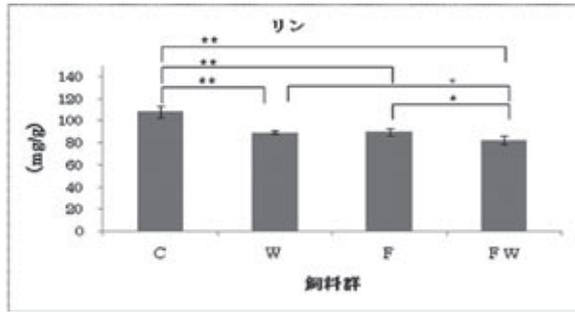


図5 大腿骨中リン量 (mg/g)

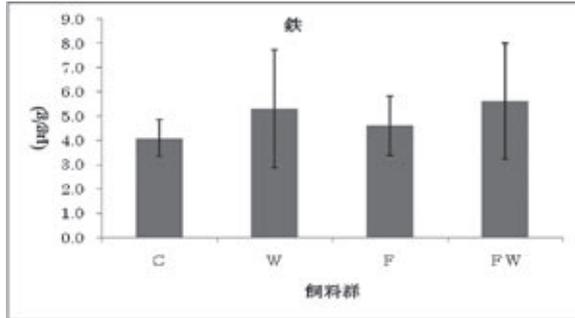


図6 大腿骨中鉄量 (μg/g)

図7に大腿骨中のCa/P比を示した。

骨中Ca/P比について、C群に対しW群、FW群で有意に高値を認めた ($p < 0.01$)。

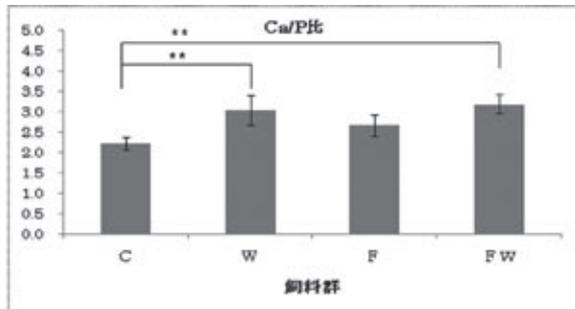


図7 大腿骨中Ca/P比

5) 心臓中ミネラル濃度

心臓中カルシウム、マグネシウム、リン、鉄濃度においてすべての群で有意な差は認められなかった。

6) 肝臓中ミネラル濃度

肝臓中カルシウム、マグネシウム、リン、鉄濃度においてすべての群で有意な差は認められなかった。

7) 脾臓中ミネラル濃度

図8に脾臓中鉄量を示した。

脾臓中カルシウム、マグネシウム、リン濃度におい

て、有意な差は認められなかった。

しかし、脾臓中铁濃度については、W群に対しF群で有意に低値を示し ($p < 0.01$)、F群に対しFW群で有意に高値を認めた ($p < 0.05$)。

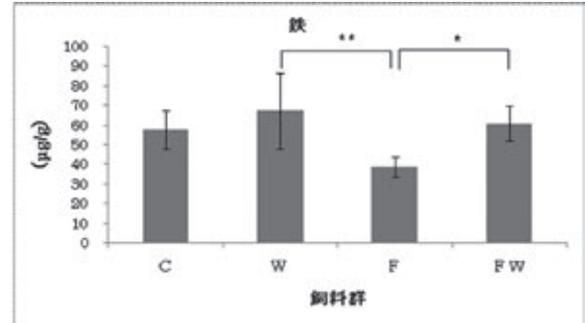


図8 脾臓中铁量 (μg/g)

8) 腎臓中ミネラル濃度

腎臓中カルシウム、マグネシウム、リン、鉄濃度においてすべての群で有意な差は認められなかった。

9) 血清中脂質濃度

図9に血清中総コレステロール量を示した。

血清中トリグリセリド濃度について、全ての群において有意な差は認められなかった。総コレステロール濃度については、W群に対しF群で有意に低値を認めた ($p < 0.05$)。

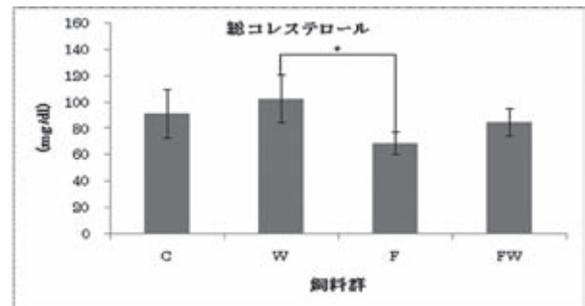


図9 血清中総コレステロール量 (mg/dl)

図10に血清中HDLコレステロール濃度を示した。

血清HDLコレステロール濃度については、W群に対しF群で有意に低値を認めた ($p < 0.01$)。

図11に血清中HDL-cho/T-cho比を示した。

血清中総コレステロール濃度に対する血清中HDLコレステロール濃度の割合は、C群に対しW群で有意に高値を認め ($p < 0.01$)、W群に対しF群で有意に

低値を認めた ($p < 0.05$) .

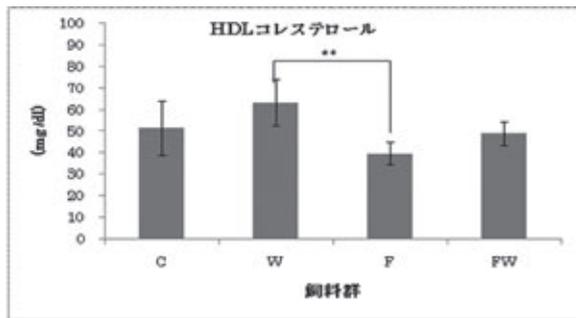


図10 血清中HDLコレステロール濃度 (mg/dl)

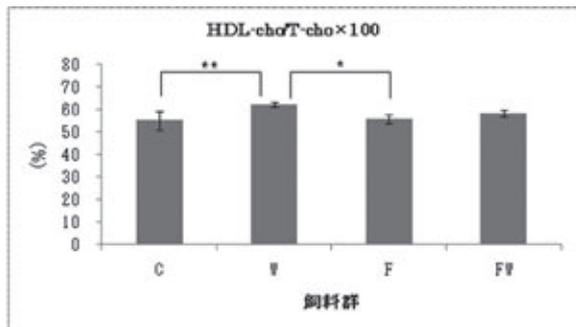


図11 血清中HDL-cho/T-cho比 (%)

10) 血清中ミネラル濃度

図12に血清中铁量を示した.

血清中铁濃度についてC群に対しF群で有意に低値を認めた ($p < 0.05$) . なお, カルシウム, マグネシウム, リン, ナトリウム, カリウム, 塩素濃度においてすべての群で有意な差は認められなかった.

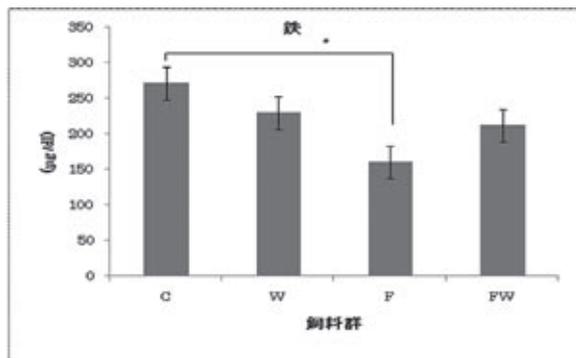


図12 血清中铁量 (µg/dl)

考 察

大腿骨中カルシウム濃度はC, F群に対しW群, FW群で高値傾向を認め, 大腿骨中リン濃度はC群に対しW群, FW群で有意に低値を認めた. 大腿骨中カルシウム/リン比は, C群に対しW群, FW群で有意

に高値を認めた. ワカメ中のミネラル含有量は, カルシウムが多く, リンが少なく, そのリンとカルシウムのバランスが良いのが特徴である¹³⁾. このことからワカメ投与はラット大腿骨中のカルシウム/リン比を上昇させたと考えられる. 骨格形成の基本は, カルシウムとリンの組成比が重要である³⁾. 志賀ら¹⁴⁾は, ラット試験で高脂肪摂取は, 消化管内の見かけのカルシウム吸収率を上昇させると報告しており, 著者もその傾向を報告した⁹⁾.

心臓, 肝臓, 腎臓および血清のミネラル濃度について, 有意差は認められなかった. しかし, 脾臓中の鉄濃度はF群に対しW群, FW群では有意に高値を認めた. 鉄は腸管より吸収され, 細胞に取り込まれて, 貯蔵鉄のフェリチンとして肝臓や脾臓に貯蔵され, 必要に応じて動員されるといわれている. そのことから飼料にワカメ添加群では, 血清鉄が移行することにより, 脾臓中のFe濃度が高値を認めたものと考えられる.

血清中脂質については, 血清中トリグリセリド濃度はすべての群で有意差は認められなかった. 総コレステロール濃度およびHDLコレステロール濃度については, F群に対しW群で有意に高値を認めた. また, 総コレステロール濃度に対するHDLコレステロール濃度の割合からみると, C群, F群に対しW群は有意に高値を認め, FW群も高値傾向にあった. よって, この事よりワカメ投与による総コレステロール濃度の上昇は, HDLコレステロール濃度の増加によるものと考察される. HDLコレステロールは, 遊離コレステロールのエステル化に関与し, コレステロールエステルを末梢組織から肝臓へ輸送する機能を持つ高密度リポタンパク質である¹⁵⁾. HDLコレステロール濃度を上昇させる事は抗動脈硬化にも作用することから¹⁶⁾, ワカメ成分には抗動脈硬化作用がある事が示唆される.

現在, 日本人の食生活は高脂肪食を多く摂取し, 食物繊維をあまり摂取しない傾向にある事から, 大腿骨中のミネラル濃度, 血清中の脂質濃度に何らかの影響を与える食品として福井県産のワカメ摂取は有効な成分を含んでいると考えられる.

要 約

本研究のC食, F食にワカメを添加することにより, 大腿骨中カルシウム/リン比の上昇, 脾臓中の鉄濃度の上昇, 血清中の総コレステロール値に対するHDLコレステロール値の上昇が観察されたことから, ワカメ添加は骨成分に有効な作用, 抗動脈硬化作用があると示唆された。

現在日本人の食生活は高脂肪食傾向にあり, 脂肪摂取量の増加, 低食物繊維食と同時にミネラル摂取不足が問題になっているため, 福井県産ワカメは有効な食品の一つであるといえる。

本研究は, 平成19年度仁愛学園共同研究助成によるものである。

なお, 第64回日本栄養・食糧学会大会, 平成22年5月徳島市アスティとくしまにて報告した。

参考文献

- 1) 桐山修八他: 食物繊維の定義・用語・分類の探索と日本からの新たな提案 日本食物繊維学会誌 10, 1 (2006)
- 2) 木村修一 他監修: 最新栄養学 (第9版), 建帛社 (2007)
- 3) 西澤一俊, 大野正夫: 海藻由来の水溶性食物繊維の化学構造と薬理的機能 日本食物繊維学会誌 8, 1 (2004)
- 4) 岸本太郎: 食物繊維およびその他ルミナコイドのミネラル吸収促進効果 日本食物繊維学会誌 12, 1 (2008)
- 5) 国民健康・栄養の現状—平成19年厚生労働省国民健康・栄養調査 報告より
- 6) 第一出版編集部編: 厚生労働省策定 日本人の食事摂取基準【2005年版】, 第一出版 (2007)
- 7) 第一出版編集部編: 厚生労働省策定 日本人の食事摂取基準【2010年版】, 第一出版 (2009)
- 8) 印南敏他: 食物繊維 —基礎と応用— (第3版) 第一出版 (2008)
- 9) 谷政八: 天然ワカメがラットの脂質代謝に与える影響 ~血清・肝臓・糞便について~, 仁愛女子短期大学研究紀要 (第34号), (2001)
- 10) 大石圭一編: 海草の科学, 朝倉書店 (2003)
- 11) 伊田善光 他監修: 食の医学問, 小学館 (2002)
- 12) 米国国立栄養研究所 (AIN) から1993年 (AIN-93) に発表されたマウス・ラットを用いた栄養研究のための標準精製飼料
- 13) 辻啓介: わかめ・ひじき, 日本放送出版協会 (1993)
- 14) 志賀一希 他: 脂肪摂取はカルシウム吸収率を増加させる, 日本農芸化学会誌 (第70号 臨時増刊), (1996)
- 15) 小林修平 他編: 人体栄養学の基礎, 建帛社 (2007)
- 16) 川崎雅志 他: ラットの血漿および肝臓脂質レベルに対する食餌紫黒米の作用, 岩手県立大学盛岡短期大学部研究論集 (第9号), (2007)