

オキナワモズク(*Cladostichon okamuraensis* Tokida)に
存在する有効成分の機能特性解明に関する研究

上原めぐみ

1996

オキナワモズク(*Cladosiphon okamuranus* Tokida) に
存在する有効成分の機能特性解明に関する研究

Studies on the Functional Properties of
Available Components in Okinawamozuku
(*Cladosiphon okamuranus* Tokida)

目次

1. オキナワモズクについて

2. アミノ酸成分について

3. 糖質

4. 脂質

5. オキナワモズクが興奮鎮痛作用を有するモデルラットの

痛覚抑制に及ぼす影響

参考文献

上原 めぐみ

1996

目次

第Ⅰ章 緒論	1
第Ⅱ章 オキナワモズクの成分特性	7
1. 緒言	7
2. 実験材料および方法	7
3. 実験結果	11
(1)一般成分について	11
(2)無機質含量について	11
(3)食物繊維含量について	11
(4)遊離アミノ酸含量について	15
4. 考察	15
5. 要約	17
第Ⅲ章 オキナワモズクが卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの Ca代謝に及ぼす影響	18
第1節 緒言	18
第2節 卵巣摘出ラットのCa代謝に及ぼす ナガコンブの影響	20
1. 実験材料および方法	20
2. 実験結果	27

(1) 体重増加量, 飼料およびCa摂取量について	-----	27
(2) 尿量, 尿中CaおよびP排泄量について	-----	27
(3) 糞重量, 糞中CaおよびP排泄量について	-----	27
(4) 見かけのCa吸収率および保留率について	-----	31
(5) 血清CaおよびP濃度について	-----	31
(6) 大腿骨の骨長および骨幅について	-----	31
(7) 大腿骨破断特性について	-----	31
(8) 大腿骨CaおよびP含量について	-----	36
3. 考察	-----	36
4. 要約	-----	39
第3節 卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす オキナワモズクの影響	-----	39
1. 緒言	-----	39
2. 実験材料および方法	-----	40
3. 実験結果	-----	45
(1) 体重増加量, 飼料およびCa摂取量について	-----	45
(2) 尿量, 尿中CaおよびP排泄量について	-----	45
(3) 糞重量, 糞中Ca, PおよびMg排泄量について	-----	45
(4) 見かけのCa吸収率および保留率について	-----	48
(5) 血清Ca, P濃度およびALP活性値について	-----	51
(6) 大腿骨の骨長および骨幅について	-----	51

	(7) 大腿骨破断特性について -----	51
	(8) 大腿骨Ca,PおよびMg含量について -----	51
4.	考察 -----	56
5.	要約 -----	59
第4節	オキナワモズク, オキナワモズクから抽出した多糖類 およびアルギン酸Ca (市販試薬) が卵巣摘出骨粗鬆症 モデルラットのCa代謝に及ぼす影響 -----	60
1.	緒言 -----	60
2.	実験材料および方法 -----	60
3.	実験結果 -----	67
	(1) 体重増加量, 飼料およびCa摂取量について -----	67
	(2) 尿および糞中Ca排泄量について -----	67
	(3) 見かけのCa吸収率および保留率について -----	70
	(4) 血清Ca,P濃度およびALP活性値について -----	70
	(5) 大腿骨の骨長および骨幅について -----	73
	(6) 大腿骨破断特性について -----	73
	(7) 大腿骨Ca,PおよびMg含量について -----	76
4.	考察 -----	76
5.	要約 -----	79
第5節	卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす アルギン酸Ca添加量の影響 -----	80

1.	緒言	80
2.	実験材料および方法	81
3.	実験結果	82
	(1) 体重増加量, 飼料およびCa摂取量について	82
	(2) 尿および糞中Ca排泄量について	82
	(3) 見かけのCa吸収率および保留率について	86
	(4) 血清Ca,P濃度およびALP活性値について	86
	(5) 大腿骨の骨長および骨幅について	89
	(6) 大腿骨破断特性について	89
	(7) 大腿骨Ca,PおよびMg含量について	89
4.	考察	93
5.	要約	96
第6節	小括	97
第IV章	オキナワモズクに存在するフコイダンの分離・同定	99
1.	緒言	99
2.	実験試料の調製および方法	100
3.	実験結果	104
	(1) オキナワモズクからフコイダンを 分離することについて	104
	(2) フコイダンの化学成分について	105

(3) フコイダンの分子量について	105
(4) 構成糖の同定について	105
(5) 旋光度について	109
(6) 赤外吸収スペクトルについて	112
4. 考察	112
5. 要約	114

第V章 高コレステロール食投与ラットの脂質代謝に及ぼす

オキナワモズク抽出多糖類の影響	116
1. 緒言	116
2. 実験材料および方法	117
3. 実験結果	123
(1) 体重増加量および飼料摂取量について	123
(2) 血清脂質濃度について	123
(3) 肝臓脂質濃度について	125
(4) 糞中中性ステロール, 胆汁酸排泄量および 胆汁酸吸着能について	130
4. 考察	133
5. 要約	136

第VI章 総括 ----- 138

謝辞 ----- 144

引用文献 ----- 146

藻類植物には、ミドリナシ科類、黄藻植物、紅藻植物、藍藻植物、緑藻植物、緑藻植物、緑藻植物、赤藻植物および紅藻植物の8門から成るとされ、その中に、一般に海藻類は、内洋域に局限して生ずる藻類類群および紅藻類の3群をさす場合が多く¹⁾、これらの海藻類は世界中では緑藻類1,000種、紅藻類1,500種、藍藻類4,000種の計6,500種が生息していることが知られている。そのうち日本沿岸には約1,300種の海藻が分布している²⁾。一方、環球列島には、緑藻類136種、紅藻類84種、藍藻類264種、計484種の海藻が確認されており、そのうち301種の海藻が生息している³⁾。海藻類は熱帯・亜熱帯域が温帯海域に比べて種類が多く、緑藻類は熱帯・亜熱帯域に、また褐藻類は温帯海域にそれぞれ分布している⁴⁾。これらの海藻類から食用に供されているのは下記に示すとおりである。なお、海藻類の科は()内に示した⁵⁾。

- 緑藻類：ヒトエダサ (アーク)、アオノリ、クビシヅタ (海ブエウ)、ウキエダ (イワヅタ (ウクダ、ウキダ)、モツレダ (アヲ))
- 紅藻類：オキナリモズク (バスイ)、モズク (イトモズク、ホリモズク)、ヒジキ (ヒシジリモ、エンジリモ)
- 藍藻類：オゴノリ (スーナ、カーチ、モー)、イバラノリ (ヒ

第I章 緒論

藻類は分類学的には、ミドリムシ植物、黄色植物、黄褐色植物、藍藻植物、褐藻植物、緑藻植物、車軸藻植物および紅藻植物の8門からなるとされているが、一般に海藻類は、肉眼的に識別できる緑藻類・褐藻類および紅藻類の3群をさす場合が多く¹⁾、これらの海藻類は世界中では緑藻類1,000種、褐藻類1,500種、紅藻類4,000種の計6,500種が生育していることが知られている。そのうち日本沿岸には約1,500種の海藻が分布している²⁾。一方、琉球列島には、緑藻類136種、褐藻類84種、紅藻類264種、計484種の海藻が確認されており、沖縄諸島海域はその中の301種の海藻が生育している²⁾。海藻類は熱帯海域の方が温帯海域に比べて種類が多く、緑藻類は熱帯・亜熱帯海域に、また褐藻類は温帯海域にそれぞれ分布している²⁾。これらの海藻類のうち食用に供されているのは下記に示すとおりである。なお、沖縄地方名は()内に示した³⁾。

緑藻植物：ヒトエグサ（アーサ）、アオノリ、クビレヅタ（海ブドウ、ウキャフ）、イワヅタ（ウクク、ウキク）、モツレミル（ビル）。

褐藻植物：オキナワモズク（スヌイ）、モズク（イトモズク、ホソモズク）、ヒジキ（ヒンジリモ、ユンジリモ）。

紅藻植物：オゴノリ（スーナ、カーナ、モーイ）、イバラノリ（ピ

ギーモーイ), カタメンキリンサイ (チヌマタ), キリンサイ (マーウル), フクロフノリ (フヌイ), マクリ (海人草, ナチョウラ), ツクシアマノリ, マルバアマノリ (シセー)。

海藻類の成分的特徴は, その種類や生育海域, 季節などによって異なっているが共通しているのは, その種類と含量の多い無機質, 多様な機能性を有する食物繊維, 多価不飽和脂肪酸を含む脂質およびアミノ酸組成の優れたタンパク質の存在などがあげられる。

海中に生育している海藻には陸上でとれる食物より多種多量の無機質が含まれており, しかも海藻には海水中に含まれている約45種の無機質から特定のものを選んでとり込むという性質がある。一般に海藻類はCa, Na, K, Fe, Zn, IおよびMn含量が多く^{4,5)}, 高等動物に必須である15種の微量元素も含まれている。海藻中の無機質は他の食品中の無機質に比べて吸収率が高いため⁶⁾, 重要な無機質供給源となっている。食物繊維のうちセルロース, ヘミセルロース, キシランおよびマンナンは細胞壁を構成し, アルギン酸, カラゲナン, フコイダン, ラミナランおよび寒天は細胞間物質として存在する。これら食物繊維の及ぼす効果は種類によって異なるものの, コレステロール低下作用, 血糖調節作用, 抗有害物質作用および降血圧作用などが知られており, 健康に及ぼす影響は多岐にわたっている⁶⁾。海藻類の脂質含量は, ほぼ1%前後と少量ではあるが, その脂肪酸組

成やステロール類には陸上植物に含まれない，アラキドン酸やエイコサペンタエン酸が多く存在している。さらにステロール類は，海藻の種類により相違はあるものの，腸管内腔にてコレステロールの吸収を競合的に阻害するものが多いため，コレステロール代謝改善や動脈硬化性疾患の誘発を抑制するとみなされている^{6,7,8)}。また海藻タンパク質中には，必須アミノ酸中最も不足しやすい含硫アミノ酸であるメチオニンとシスチンが他の陸上食用植物に比べて比較的多く含まれているため，アミノ酸の補足効果がみられ，栄養的価値を高めており^{6,9)}，タウリンやラミニンなどの特異的なアミノ酸の存在も知られている^{6,7)}。海藻中のビタミン含量は，陸上植物あるいは動物性食品などに匹敵するものが多く，ビタミン類の供給源としても役立つことが指摘されている¹⁰⁾。

海藻類の利用方法は，日本型とヨーロッパ型の二つに大別され，前者は食用，後者は飼料や肥料など工業用原料に利用されている¹¹⁾。海藻中の多糖類の中で食用として最も一般的なものは，寒天^{12,7)}，カラゲナン^{11,13)}およびアルギン酸塩^{13,14)}である。これらは，ゼリー状食品の材料として利用されるほか，食品の水分保持，粘性の増加，流動性の調節等によって，食品のテクスチャーや品質を調整し，また分散・乳化などの作用によって，食品の組織を安定化するなど広範囲な用途に使用されている。その他に医療・医薬品，化粧品等にも幅広く利用されている^{12,14)}。

モズクに関する歴史的記述では、平安朝前期、延長8年（930）に源順によって編纂された『倭名類聚抄』（和名抄）によるものでモズク（水雲）は俗に「海雲」の文字を用いるとし、後に「海蘊」の漢字も導入しており、蘊は乱れた糸の意味で、細い糸のようにたくさんの枝を持っている様子を表わしている。また「水雲」の表現は、海水中で雲のようにふんわりとしている状態を示したものであるが、乾燥しにくいいため、養老令や延喜式における貢納品には使用されなかったという記録がある¹⁵⁾。さらにモズクには「鶯の声にたなびく海雲かな」（うぐいすの鳴く初春にとるものである）や「塩梅は海の曇りや海雲汁」（煮えたった汁の上に投げ入れ、さっと美しく緑色に変わったところで火をとめたモズク汁は格別な味である）などの俳句にも残されている。ホンダワラの一種、モクの先について成長するので「藻付く」と名付けられたと云われている¹⁵⁾。

『御膳本草』は琉球王家の侍医頭であった渡嘉敷通寛の著で、1823年、王府へ献上されたものであり、琉球本草学史上、現存する唯一の食物本草書である。その中に「「海蘊」は沖縄で「スノリ」と云い、「モヅク」のことである。気味、塩寒、毒はない。咽喉の結気（ふさがり）を散じ、瘤を消し、水を下す等効能・海藻（ニギメ、ワカメ）と同じである」と記されている¹⁶⁾。

オキナワモズクの学名は (*Cladosiphon okamuranus* Tokida) の褐藻類ナガマツモ目ナガマツモ科に属している。主軸は円柱状で、

その最大部分の直径は1.5~3.5mm, 平均2.5mm, 藻体の長さは20~30cmに達する。藻体は主軸から不規則であるが通常, 側枝を互生して羽状に分岐する。側枝は一般に主軸よりやや細い円柱状で, 直径, 約1.5mm以上のものは主軸に接する腋部でくびれる。色は褐色から暗褐色である。本種は, 鹿児島県奄美大島の笠利湾を北限, 沖縄県西表島を南限とする南西諸島に分布し, 外海水の疎通のよい内湾や礁湖の低潮線下0~5mによく繁茂し, 年間の水温変動は18~31℃の黒潮流軸の東側に分布する暖海種である。本種の着生基質は, イシサンゴ類の死片を主体に, 水生植物, 小石, 杭, 空缶など多様である。奄美大島では1月に1cmの胞子体が出現し, 4~6月には30cm前後に達して, 7月上旬に消失する^{3,17~20)}。

オキナワモズクは, 南日本で古くから食用とされてきたが, 1972年以降, 本種の養殖技術が開発され, 鹿児島および沖縄両県下に普及して, 年間, 約8,000トン内外を生産する栽培漁業として定着した¹⁸⁾。その後, 沖縄県における技術普及が目覚ましく, その広大な適地漁場を開発することによって生産量の急速な伸びがみられた¹⁸⁾。

オキナワモズクが有している食品としての機能性を解明することは極めて重要であるが, 本モズクについては, 養殖およびそれに関する報告がほとんどで, 化学成分については, 一般成分およびアルギン酸含量, フコース含有多糖について報告されているだけであり^{21~23)}, その利用や機能特性についての報告は見受けられない。従って, オ

キナワモズクに含まれる成分特性を知り、それら成分の機能特性を明らかにすることによって、本モズクが沖縄県を代表する特産食品の一つとして発展的な貢献ができれば幸いである。

本論文では、はじめにオキナワモズクに含まれる一般成分、無機質、食物繊維および遊離アミノ酸等の化学成分特性を明かにし、骨粗鬆症モデルラットに及ぼすオキナワモズク投与の影響について検討を行うものである。また、褐藻類中に含まれ、近年有効な生理活性のあることで注目されているフコイタンをオキナワモズクから分離・同定し、その化学成分および物理化学的性質を明らかにした。さらに、オキナワモズクとそれから抽出したフコイタン画分およびアルギン酸Na画分が高コレステロール血症ラットに及ぼす影響について検討を行った。

第Ⅱ章 オキナワモズクの成分特性

1. 緒言

沖縄近海には、種々の食用海藻類が分布しているが、養殖または天然で量産されている代表的な海藻の一つとしてモズク（平成5年，天然：213トン，養殖：13,491トン）がある²⁴⁾。なかでもオキナワモズクは日本におけるモズク市場の9割を本県産のものが占めており，本県の重要な基幹産業の一つと考えられる。本オキナワモズクの研究に関しては，養殖に関する報告がおもで^{3, 18, 25)}，成分に関する基礎データとしては一般成分，無機質含量およびアルギン酸含量とフコース含有多糖の報告^{21~23)}がなされているだけで，その成分特性の利用についての報告は見受けられない。

そこで本章では，オキナワモズクの機能性を解明するための第一段階として，化学成分特性について検討を行なった。

2. 実験材料および方法

(1) 実験材料

本実験に供試したオキナワモズクは1991年5から6月に沖縄県国頭郡宜野座村の漁業協同組合で養殖され，塩蔵されたものを用いた。これを十分に塩抜きを行ない異物を取り除いた後，40℃の送風定温

乾燥機で乾燥させ、ミルで粉碎して実験材料とした。

(2) 一般成分の測定²⁶⁾

一般成分の測定は常法に従って行なった。すなわち、水分は常圧加熱乾燥法、灰分は直接灰化法、粗タンパク質はケルダール法、粗脂肪はソックスレー抽出法、炭水化物は100より水分、灰分、粗タンパク質、粗脂肪の測定値を差し引いて算出した。

(3) 無機質の測定

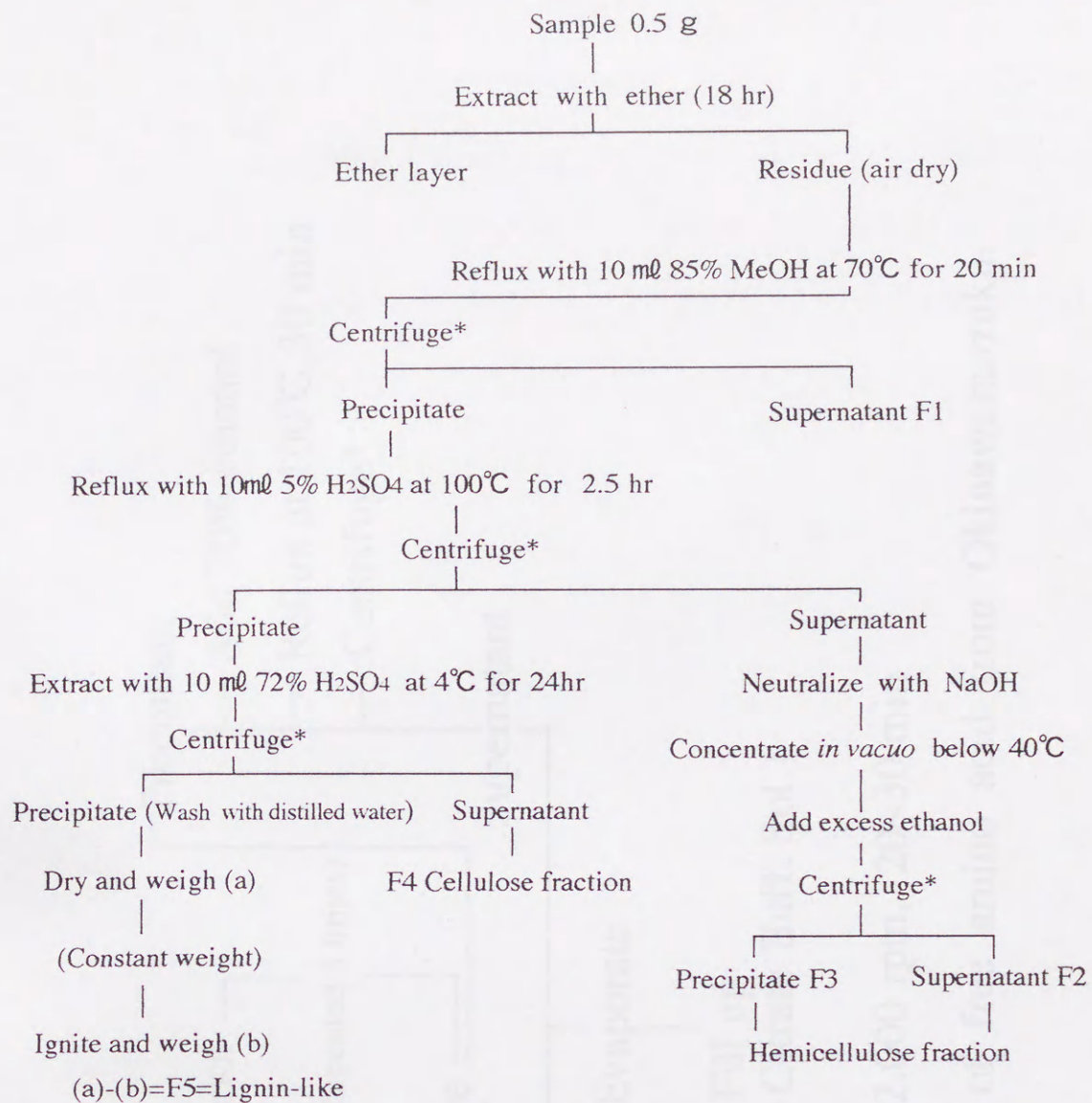
試料をユニシール中で硝酸分解後、試料液を調製し、島津原子吸光分光光度計AA-660形でCa, Mg, Na, K, Se, Fe, Zn, CuおよびPbを測定した^{27,28)}。Pはモリブデンブルー比色法²⁶⁾で、IはLarsen法²⁹⁾でそれぞれ測定を行なった。

(4) 食物繊維の測定

藻類の食物繊維含量測定は一般的に用いているSouthgate改良法³⁰⁾で行なった (Fig. 1)。食物繊維の含量は試料を5分画し、そのうちFraction(以下F)1を除くF 2からF 5を糖とみなして、F2~F4をフェノール硫酸法を用いて比色定量した。さらにF5は残渣の乾燥重量から灰化重量を差し引くことによって求めた。

(5) 遊離アミノ酸の測定³¹⁾

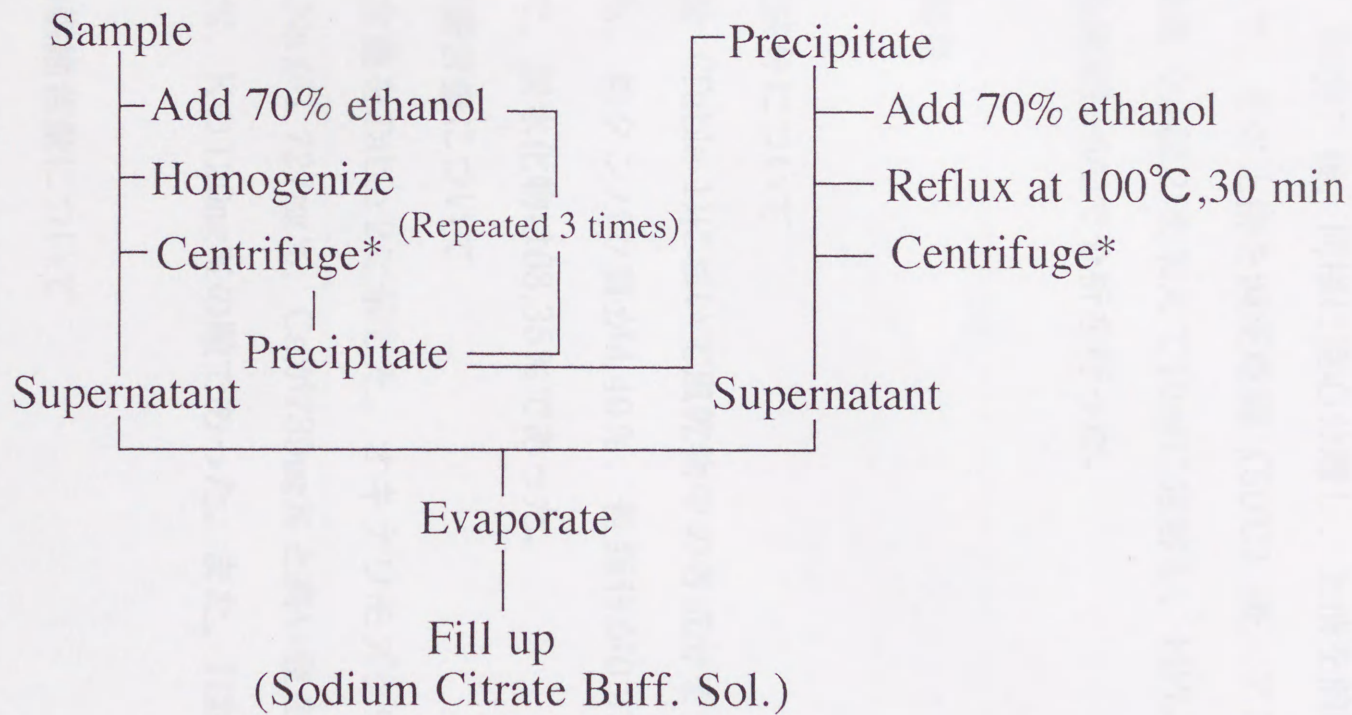
測定用試料はFig. 2に示すとおりに行なった。試料 (2~3 g) に5~10倍容の70%エタノールを加え、冷却しながらホモジナイズ (5分) 後、遠心分離 (12,000rpm, 20~30分) を行なった。沈殿には



*Centrifugation: 12,000 rpm , 20min

Fig. 1. Method of obtaining fraction.

Saccharide contents of F2, F3 and F4 fractions were determined as glucose by phenol-H₂SO₄ method. Lignin-like fraction (F5) was determined gravimetrically. The total amount of F2, F3, F4 and F5 fractions were calculated as dietary fiber.



*Centrifugation : 12.000 rpm, 20~30 min

Fig. 2. Extraction of free amino acid from Okinawamozuku.

70%エタノールを加え、同様の操作を3回行ない、上清を一つにまとめた。さらに、3回抽出後の沈殿に70%エタノールを加え、加熱還流(100℃, 30分)後、同様に遠心分離し、上清を前記の上清と合わせた。次いで、その上清を減圧乾固(50℃)後、アミノ酸分析用クエン酸緩衝液(pH2.2)を加えて10mlに定容し、HPLCアミノ酸分析システム(島津SIL-6A)で分析を行った。

3. 実験結果

(1) 一般成分について

一般成分 (Table 1)において風乾物中の各成分を分析した結果、水分17.70%、粗タンパク質が4.40%、粗脂肪が0.37%および灰分が14.18%で、炭水化物は63.35%であった。

(2) 無機質含量について

無機質含量をTable 2に示した。オキナワモズク中の風乾物の無機質含量はNaが1,727mg%、Caが739mg%と高い値を示し、次いでMgの360mg%、Kの120mg%の順であった。また、Iは6.61mg%含まれていた。

(3) 食物繊維含量について

オキナワモズクの食物繊維含量 (Table 3) はリグニン様画分が17.04%と最も高く、次いでヘミセルロース画分の15.81%、セルロー

Table 1. Proximate analysis of Okinawamozuku.

Minerals	(% on air dry matter)
Okinawamozuku	
Moisture	17.70
Crude Protein	4.40
Crude Fat	0.37
Ash	14.18
Carbohydrates	63.35

Table 2. Mineral composition
of Okinawamozuku.

(mg% on air dry matter)

Minerals	Okinawamozuku
Ca	739
P	77
Mg	360
Na	1,720
K	120
Fe	5.6
Zn	1.1
I	6.6

Table 3. Dietary fiber contents of Okinawamozuku.
(% on air dry matter)

Fraction	Okinawamozuku
Hemicellulose	15.81
Cellulose	6.63
Lignin-like	17.04
TDF*	39.48

*TDF:Total Dietary Fiber

ス画分が最も低く、6.68%を示した。従って総量 (TDF) は39.49%となった。

(4) 遊離アミノ酸含量について

17種類の遊離アミノ酸含量を測定した結果 (Table 4), アラニンが最も多く (16.09mg%), 次いでグルタミン酸 (7.15mg%) およびセリン (7.04mg%) の順で, 最も少なかったのがアスパラギン酸の0.87mg% でシスチンは検出されなかった。

4. 考察

オキナワモズクに含まれる炭水化物含量は63.35%で一般成分のうち最も高い値を示した。一般に海藻類の成分組成については, 季節や藻体の部位によって変動する³²⁾と報告されている。赤嶺ら²¹⁾によるオキナワモズクの無機質含量はCaおよびFeが890および5.0mg%とで本実験で用いたオキナワモズクとほぼ同様の値であったが, Na, KおよびMgの値は, それぞれ10,400, 3,700mg%および1,590mg%と報告しており, 本実験で用いた試料の方が4倍から30倍程度, 低い値を示していた。

藻類, 特に海藻に見い出されるセルロース以外の多糖には, 陸上食物と違ったヘミセルロースもある³³⁾とされており, 今回の測定結果から, ヘミセルロース画分とリグニン様画分の含量から, オキナワ

Table 4. Free amino acid contents
of Okinawamozuku.

(mg% on dry matter)

Amino acids	Okinawamozuku
Alanine	16.09
Arginine	4.57
Aspartic Acid	0.87
Cystine	-
Glutamic acid	7.15
Glycine	3.34
Histidine	2.28
Isoleucine	2.91
Leucine	3.69
Lysine	2.72
Methionine	1.17
Phenylalanine	3.41
Proline	4.46
Serine	7.04
Threonine	4.51
Tyrosine	3.57
Valine	3.09

-: Not detected

モズク中にはセルロース以外の多糖が、全食物繊維含量の約80%を占めていることがわかった。

一般に海藻類は、グルタミン酸、アスパラギン酸、アラニン、シスチンおよびアルギニンなどが最も多く³⁴⁾、高木ら³⁵⁾は褐藻類であるフシスジモクの遊離アミノ酸組成は、アラニン含量が乾物中278mg%と特に多く、グリシン3.7mg%、アルギニン含量は1.6mg%で微量であると報告している。含量としてはオキナワモズクがフシスジモクの約6%にしかみたなかったものの、グルタミン酸、アラニンなどが多く、海藻類のアミノ酸組成の特徴が現われていた。

5. 要約

風乾物中にオキナワモズク（水分含量、17.7%）の一般成分のうち、炭水化物が63.4%と最も多量に含有しており、ついで灰分が14.2%であった。無機質の中ではCaおよびNaを特に多く含んでいることがわかった。また乾物中の遊離アミノ酸のうち、グルタミン酸、アラニンを特に多く含んでいることが明らかとなった。

第Ⅲ章 オキナワモズクが卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの Ca代謝に及ぼす影響

第1節 緒言

第Ⅱ章において、オキナワモズクに含まれる無機成分のうちでは特にCa, Na, MgおよびKが多く存在していることを明らかにした。Caに関しては、ヒトにおいて所要量を充たすことが難しいことは周知の事実となっているが、高齢化の進展とともに、骨粗鬆症の増加が問題となり、年間60万人から90万人の骨粗鬆症患者が加療していると推定されている³⁶⁾。骨は常に骨吸収と骨新生を繰り返すかたちで代謝を行っているが、骨吸収は破骨細胞で、骨新生は骨芽細胞でそれぞれ行われ、相互に連絡をとりあいながらバランスを保っている（機能的連携・coupling）^{37,38)}。骨粗鬆症ではこの連携が崩れ、骨吸収が骨新生を上回るために骨が減少していくことから、骨がスポンジのような状態になり、脆くなることである³⁹⁾。骨粗鬆症は、加齢により骨量が減少して起こる場合と、閉経後あるいは卵巣摘出によって、女性ホルモンであるエストロゲンの分泌が低下し、骨吸収が促進されるため、骨量の減少が著しくなり起こる場合とがある。そのため特に女性は骨粗鬆症になりやすいとされ、70歳代の女性の約半数、80歳代の女性の約2/3は罹患しているといわれている⁴⁰⁾。

骨粗鬆症の治療として、エストロゲンやカルシトニン、活性型ビタ

ミンD製剤等の投与が行われているが、80歳以降の高齢者においては骨塩量を増やすための治療はあまり期待できない⁴⁰⁾。骨粗鬆症は予防が重要であり、予防方法としては、まず最大骨塩量を増やし、確保することによって、その後の加齢変化に耐えられるようにすることで、運動と食事および日光浴が重要である。なかでもCaの摂取量を多くすることで大きな効果がみられることから^{41,42)}、Ca供給源は重要である。江澤らは、乳清Caや牛骨粉末、スパイニーロブスター殻粉末等をCa給源として、骨粗鬆症モデルラットやビタミンD欠乏ラット等に給与し、その効果を検討した数多くの研究を報告している^{43~48)}。

海藻中のCa利用については、森川ら⁴⁹⁾がアマノリを一部Ca給源として骨粗鬆症モデルラットに給与し、骨代謝改善効果のあったことを報告している。アマノリは紅藻類(紅藻類ウシケノリ科アマノリ属の総称)⁵⁰⁾であり、本研究における褐藻類が骨代謝に及ぼす影響を検討した報告は見当たらない。コンブについてはコレステロール上昇抑制作用に関する報告⁵¹⁾はあるが、藻体中に含まれるCaの利用については報告されていない。そこで本章では、始めに、オキナワモズクと同様に褐藻類であり、沖縄県において消費量が全国平均の1.7倍と全国一位にある⁵²⁾コンブ、特に本県で最も食されているナガコンブ (*Laminaria angustata* var. *longissima* Miyabe)とオキナワモズクが骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす影響について検討を行った。

第2節 卵巣摘出ラットのCa代謝に及ぼすナガコンブの影響

1. 実験材料および方法

(1) 実験材料

実験に供したナガコンブは沖縄県与那原町の小売店で購入したものを、塩を洗い流した後、15分間水に浸漬して塩抜き（3回）を行い、ペーパータオルで水気を拭きとった後、冷蔵庫で一晩乾かしたものを40℃の送風定温乾燥機で乾燥させ、粉碎器で粉末にしたものを用いた。その風乾物中の無機質成分の分析結果をTable 5に示した。

(2) 実験動物および飼育条件

実験動物は、6週齢で初体重が約200 gのWistar系雌ラットを、5日間固形飼料を与えた後、卵巣摘出手術（OVX）と偽手術（Sham）を行なった。手術後、1週間固形飼料で飼育した後に、Control食およびナガコンブ（Konbu）食をそれぞれOVX（各6匹）とSham（各5匹）の4群に分け、35日間飼育を行なった。飼料組成をTable 6に示した。Control食には炭酸Caを0.5%添加し、Konbu食は風乾粉末にしたナガコンブを5%添加し、炭酸Caを加えてCa量がほぼ0.2%になるようにした。飼料および水は自由摂取とし、平均温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、平均相対湿度 $70 \pm 5\%$ の環境で個別ケージによる飼育を行なった。なお飼料は、最初に40 gずつ与え、隔日給与を行ない、最終日に残量を計り、給

Table 5. Mineral composition of Nagakonbu.

Compound	(mg% on air dry matter)
Moisture (%)	11.0
Ca	1,600.0
Mg	26.6
Na	1,033.0
K	1,603.0
Fe	8.1
Zn	2.3

Table 6. Composition of experimental diets.

Compound	(%)	
	Control (Ca:P= 0.20%:0.15)	Konbu 0.20%:0.10%
Casein	20	20
Corn oil	10	10
Vitamin mixture ¹	1	1
Ca and P free mineral mixture ²	2.75	3.375
Equimolar mixture of KH ₂ PO ₄ and K ₂ HPO ₄	0.75	0.375
CaCO ₃	0.5	0.25
Nagakonbu(Konbu)	-	5
Cellulose	4	4
α -Corn starch	61	56

¹Vitamin mixture, (in mg) : retinol acetate, 100.0 ; cholecalciferol, 0.25 ; tocopherol acetate, 500.0 ; menadione, 520.0 ; thiamine hydrochloride, 120.0 ; riboflavin, 400.0 ; pyridoxine hydrochloride, 80.0 ; cyanocobalamin, 0.05 ; L-ascorbic acid, 3,000.0 ; D-biotin, 2.0 ; folic acid, 20.0 ; calcium pantothenate, 500.0 ; ρ -amino benzoic acid, 500.0 ; nicotinic amide, 600.0 ; inositol, 600.0 ; choline chloride, 20,000.0 ; cellulose powder, 73,057.7.

²Ca and P free mineral mixture, (in %) : K₂SO₄, 16.42 ; NaCl, 9.2 ; Fe-citrate, 3.18 ; MgSO₄, 7.17 ; ZnCO₃, 0.11 ; MnSO₄ · 4-6H₂O, 0.12 ; CuSO₄ · 5H₂O, 0.03 ; KI, 0.01 ; cellulose powder, 63.76.

与全量から差し引いたものを飼料摂取量とした。

(3) 血清生化学検査

飼育実験終了後、ラットを12時間絶食させた後、断頭採血を行ない、血清を分離した。その後、CaおよびP含量は、それぞれ和光純薬工業株式会社のCa C-テストワコー、P-テストワコーを用いて測定した。

(4) 尿中CaおよびP排泄量

飼育実験開始から4週間後に24時間尿を採取し、分析実験に供した。分析方法は血清CaおよびPの測定方法に準じて行なった。

(5) 糞中CaおよびP排泄量

飼育実験の最終の第5週目に3日間分の糞をすべて採取し、個体別に湿重量と凍結乾燥後の乾燥重量を精秤した。分析方法は大腿骨CaおよびP含量の測定方法に準じて行なった。

(6) 見かけのCa吸収率および保留率

見かけのCa吸収率および保留率は以下の式に基づいて算出した。

見かけのCa吸収率(%)=

$$\frac{\text{Ca摂取量(mg/day)} - \text{糞中Ca排泄量(mg/day)} \times 100}{\text{Ca摂取量(mg/day)}}$$

見かけのCa保留率(%)=

$$\frac{\text{Ca摂取量(mg/day)} - \{\text{尿} + \text{糞中Ca排泄量(mg/day)}\} \times 100}{\text{Ca摂取量(mg/day)}}$$

(7) 骨長および骨幅の計測

解剖時に摘出した大腿骨の軟部組織を除去した後、ノギスを用いて骨長および骨幅を計測した。

(8) 破断特性試験

骨長および骨幅を計測した大腿骨で破断特性試験を行なった。

Pengら^{53,54)}の方法と同様に万能試験機（インストロン型圧縮試験機，東洋ボールドウィン製TM-3）とトランジスタ式自動平衡記録計を用いてFig. 3に示すとおり大腿骨前面を下にして，骨間中央部にプランジャーがくるように，破断応力万能型の間隔を19mmに設定し，針金で固定した（Three point bending方式）。測定条件は，荷重40 kg，スイープ速度10mm/min，チャート速度100mm/minで行なった。なお，破断特性試験の内容はFig. 4に示すようにStrength（破断時にかかった最大力で，破壊の起こりにくさを示す），Ductility（破断終了までのチャートの距離で，物体が破壊されるに至る前に，大きな伸び変形が生ずるような物質の性質を示す），Stiffness（破断終了までのチャートの傾きで，物体を折曲げる時の弾性抵抗を示す），Toughness（破断終了までのチャートの面積で，応力-歪み曲線で破壊されるまでに外力のなす仕事，破断されるまでに蓄えられたエネルギーを示す）の4項目の測定を行なった^{53,55)}。

(9) 大腿骨CaおよびP含量の測定

左大腿骨は破断特性試験を行なった後，電気炉内で550℃，48時間灰化させた。Caはユニシール内で硝酸分解し，原子吸光法²⁹⁾（島津

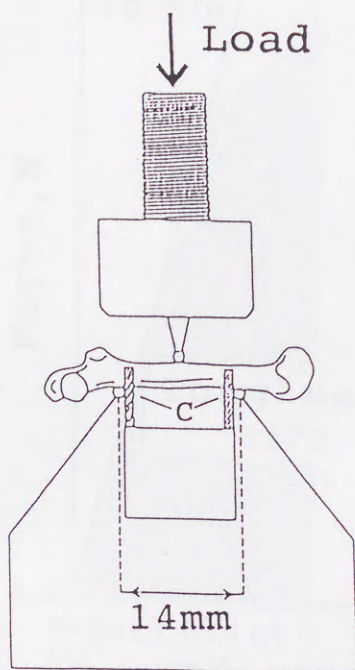


Fig. 3. Schematic illustration of the three-point bending apparatus.

The drawing shows the position of the bone on top of the metal supports and the striker as it touches the midshaft of the femur. The comb(c), which is formed by two stainless steel rods, is used to align the bone in the plane of the paper.

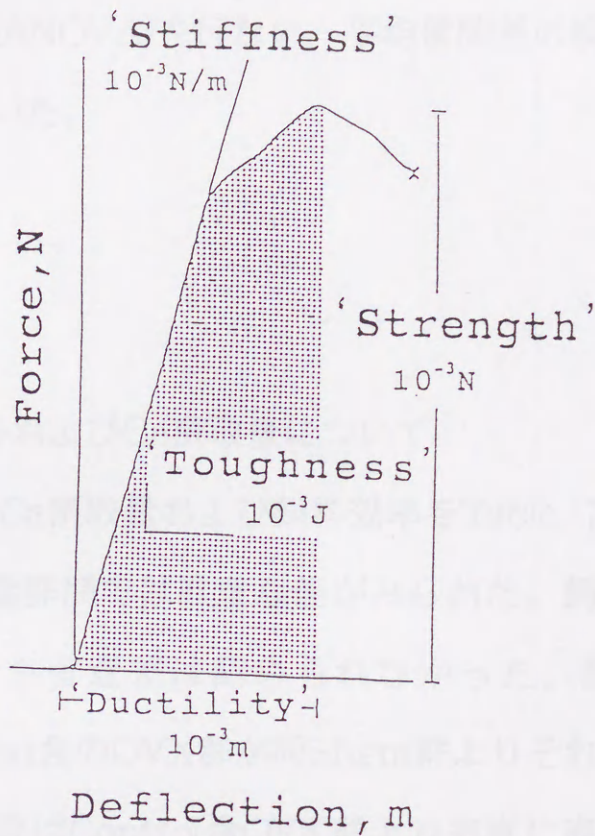


Fig. 4. Representative force-deflection trace obtained during a three-point bending test of a rat femur.

Superposed are the definition of the mechanical properties used throughout this study "Stiffness" (the slope), "Strength" (the maximum force), "toughness" (the stippled area), and "ductility" (the maximum deflection).

原子吸光分光光度計AA-660形)で、Pはバナドモリブデン酸吸光度法²⁸⁾で測定を行なった。

(10) 統計処理

一元配置分散分析 (ANOVA)を行ない、平均値間差の検定はFisher のLSD法を用いた。

2. 実験結果

(1) 体重増加量, 飼料およびCa摂取量について

体重増加量, 飼料, Ca摂取量および飼料効率をTable 7に示した。体重増加量はKonbu食群間では有意な差がみられた。飼料摂取量はいずれの群においても有意差は認められなかった。飼料効率はControl食およびKonbu食のOVX群が同Sham群よりそれぞれ有意に高く, Konbu食OVX群はControl食OVX群より有意に高い値を示した。

(2) 尿量, 尿中CaおよびP排泄量について

尿量, 尿中CaおよびP排泄量をTable 8に示した。尿量はKonbu食OVX群がControl食OVX群より有意に高い値を示した。尿中CaおよびP排泄量については有意な差がみられなかった。

(3) 糞重量, 糞中CaおよびP排泄量について

糞重量および糞中Ca排泄量をTable 9に示した。糞重量はKonbu

Table 7. Effect of experimental diets on body weight gain and food intake.

Groups		Body weight		Intake		Food efficiency *
Diet	Treatmen	Initial (g)	Gain (g/5weeks)	Food (g/day)	Ca (mg/day)	
Control	OVX	207.5±4.1	107.3± 11.2 ^{ab}	16.6±0.8	33.2±1.5 ^a	0.18±0.01 ^b
	Sham	209.8±6.5	81.4± 7.1 ^b	16.0±1.3	32.0±2.4 ^a	0.15±0.01 ^c
Konbu	OVX	208.8±2.0	130.3± 8.1 ^a	17.5±0.5	31.4±0.8 ^a	0.21±0.01 ^a
	Sham	208.0±1.7	74.4± 7.6 ^c	15.2±0.5	27.4±0.9 ^b	0.14±0.01 ^c

* Food efficiency : Body weight gain (g/day) / Food intake (g/day) . Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 8. Urine excretion of Ca and P.

Groups		Volume	Ca	P
Diet	Treatment	(mℓ/day)	(mg/day)	(mg/day)
Control	OVX	5.1 ± 0.3 ^b	9.4 ± 2.3	0.44 ± 0.06
	Sham	5.0 ± 0.6 ^b	10.3 ± 0.8	0.36 ± 0.08
Konbu	OVX	9.8 ± 3.5 ^a	8.9 ± 1.1	0.55 ± 0.07
	Sham	6.5 ± 1.8 ^{ab}	6.4 ± 1.8	0.33 ± 0.16

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $P < 0.05$.

Table 9. Fecal excretion of Ca and P.

Groups		Weight	Ca	P
Diet	Treatment	(g/day)	(mg/day)	(mg/day)
Control	OVX	0.94 ± 0.03 ^b	10.8 ± 1.1 ^{ab}	6.1
	Sham	0.99 ± 0.08 ^b	7.9 ± 1.1 ^b	5.4
Konbu	OVX	1.58 ± 0.05 ^a	12.6 ± 0.7 ^a	7.6
	Sham	1.45 ± 0.16 ^a	11.3 ± 0.9 ^{ab}	6.4

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $P < 0.05$.

食群の値が最も高く、Konbu食がControl食群との間に有意な差を示した。糞中Ca排泄量は同食間、OVX群間およびSham群間においてそれぞれ有意差が認められなかった。糞中P排泄量は、Konbu食OVX群が最も高く、Control食OVX群およびKonbu食Sham群はほぼ同様の値を示した。

(4) 見かけのCa吸収率および保留率について

見かけのCa吸収率および保留率をTable 10に示した。見かけのCa吸収率はControl食Sham群がKonbu食Sham群より有意に高い値を示した。保留率についても吸収率と同様な結果を示した。

(5) 血清CaおよびP濃度について

血清CaおよびP濃度をTable 11に示した。血清Ca濃度はいずれの群においても、ほぼ同様な値を示し、P濃度においてはKonbu食Sham群がControl食Sham群より有意に高い値を示したものの、ともに正常範囲内であった。

(6) 大腿骨の骨長および骨幅について

大腿骨の骨長および骨幅をTable 12に示した。骨長および骨幅はともにほぼ同様な値を示し、有意な差はみられなかった。

(7) 大腿骨破断特性について

大腿骨破断特性をTable 13に示した。破断特性のStrengthにおいて、Konbu食でOVX群は最も高い値を示し、同Sham群より有意に高い値を示した。Sham群間においてControl食がKonbu食より有意

Table 10. Apparent Ca absorption and retention rate.

Groups		Absorption rate*	Retention rate**
Diet	Treatment	(%)	(%)
Control	OVX	67.2 ± 1.88 ^{ab}	66.1 ± 1.88 ^{ab}
	Sham	75.2 ± 3.38 ^a	74.1 ± 3.58 ^a
Konbu	OVX	60.0 ± 1.38 ^b	58.2 ± 1.52 ^b
	Sham	58.8 ± 3.43 ^b	57.6 ± 3.65 ^b

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 11. Levels of Serum Ca and P.

Groups		Ca	P
Diet	Treatment	(mg/dl)	(mg/dl)
Control	OVX	8.09 ± 0.38 ^b	6.97 ± 0.22
	Sham	8.15 ± 0.40 ^b	6.89 ± 0.25
Konbu	OVX	8.47 ± 0.92 ^{ab}	7.35 ± 0.46
	Sham	8.51 ± 0.52 ^a	8.51 ± 0.70

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 12. Length and width of left femur.

Groups		Length	Width
Diet	Treatment	(mm)	(mm)
Control	OVX	33.4 ± 0.3	3.02 ± 0.04
	Sham	33.4 ± 0.1	3.04 ± 0.10
Konbu	OVX	33.8 ± 0.3	2.99 ± 0.06
	Sham	33.5 ± 0.4	3.04 ± 0.08

Values are expressed as means ± SE.

Table 13. Mechanical properties of left femur.

Groups		Strength	Ductility	Stiffness	Toughness
Diet	Treatment	($\times 10^{-3}$ N)	($\times 10^{-3}$ m)	($\times 10^{-3}$ N/m)	($\times 10^{-3}$ J)
Control	OVX	109.3 \pm 2.3 ^a	5.03 \pm 0.19	47.0 \pm 0.4	364.9 \pm 19.2
	Sham	111.8 \pm 3.4 ^a	5.16 \pm 0.31	47.8 \pm 0.3	380.5 \pm 29.2
Konbu	OVX	115.2 \pm 2.0 ^a	5.01 \pm 0.14	49.4 \pm 1.6	379.4 \pm 16.1
	Sham	98.2 \pm 3.9 ^b	5.30 \pm 0.30	47.2 \pm 0.1	350.5 \pm 20.8

Values (means \pm SE) in a column with different superscript letters show significant difference $p < 0.05$

に高い値を示した。

(8) 大腿骨CaおよびP含量について

大腿骨灰化重量，大腿骨CaおよびP含量についてTable 14に示した。大腿骨灰化重量およびP含量について有意差はみられなかった。大腿骨Ca含量はコンブ食が最も高い値を示し，Control食群との間に有意差が認められ，Konbu食間においてもOVXとSham群で有意差が認められた。

3. 考察

いずれの食群でもOVX群がSham群より体重増加量および飼料摂取量で高い値を示したことはエストロゲンの分泌が著しく低下したことによると考えられる^{56~58)}。また，体重と骨量には正の相関があることから⁵⁹⁾，大腿骨Ca含量はOVX群がSham群より高い値を示したと思われる。

最近，アミノ酸類やビタミンKが，骨形成を促進する要因の一つであると報告されている^{60,61)}。本実験において，Konbu食群は，Control食群に比べ，見かけのCa吸収率および保留率は低い値を示していたものの，大腿骨Ca含量は有意に高い値であった。このことは，コンブ中のアミノ酸類およびビタミンKが大腿骨のCa含量を増加させたものと推察される。なお，ビタミンKは，ヒジキ，ワカメおよびアサクサノリなどの海藻類に比較的多く含まれていることから¹⁰⁾，本

Table 14. Ca and P contents of left femur.

Groups		Ash weight	Ca	P
Diet	Treatment	(g)	(mg/g of ash femoral bone)	
Control	OVX	0.26 ± 0.01	274.9 ± 4.4 ^c	89.9 ± 10.1
	Sham	0.22 ± 0.00	207.8 ± 4.8 ^d	103.8 ± 2.2
Konbu	OVX	0.25 ± 0.02	308.3 ± 5.4 ^a	101.5 ± 1.5
	Sham	0.25 ± 0.00	290.0 ± 2.8 ^b	100.9 ± 3.5

Values (means ± SE) in a Column with different superscript letters show significant difference at $P < 0.05$.

実験に供したナガコンブのビタミンK含量と骨形成に及ぼす影響については、今後詳細に検討する必要がある。Konbu食Sham群の大腿骨Ca含量は、Control食群より有意に高値を示しているが、Strengthは有意に低い値であった。これは、Ca摂取量がKonbu食Sham群はいずれの群より有意に低かったことより、摂取したCaがすべて骨中へ吸収されたとしても、化骨して骨の強度（Strength）を高めるための絶対的なCa量が、他の群に比べて不足していたのではないかと考えられる。また、StrengthでKonbu食Sham群がOVX群より有意に低い値を示したのは、Ca摂取量でKonbu食Sham群がOVX群より有意に低かったことが理由として考えられる。

Konbu食OVX群は大腿骨のCa含量がControl食より有意に高く、またStrength、StiffnessおよびToughnessのいずれの項目についても、Konbu食OVX群はControl食OVX群と比べて約5%高い値を示した。これらの結果は卵巣摘出ラットにおいて、ナガコンブ中のCaの利用効果があったことを示唆している。破断特性においてコンブ食OVX群が最も高い値でありながら、有意差が得られる程ではなかった。これは、閉経後骨粗鬆症の組織レベルにおける特徴のひとつである石灰化時間の遅延⁽²⁾や飼育期間によるものと思われる。従って、卵巣摘出手術後、低Ca食を投与しなかったことも考慮にいれ、35日間という飼育期間を更に延長することで、骨の物理的な強さやその他の結果で顕著な差が見られたことと推察される。ナガコンブは卵

巣摘出ラットの大腿骨Ca含量を高くすることから、卵巣摘出手術によってエストロゲンの分泌が低下し、骨中のCaの血中への溶出が促進されたOVX群においては、Caの利用を高める作用があるものと示唆された。

4. 要約

本節ではナガコンブが卵巣摘出ラットのCa代謝に及ぼす影響について検討した。その結果を要約すると以下の通りである。

(1) Konbu食群はControl食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高い値を示した。

(2) Konbu食OVX群は破断特性試験のStrength, Stiffness, およびToughnessにおいてControl食群より高い値を示した。

以上の結果より、卵巣摘出ラットに対してナガコンブはCa供給源として極めて有効であることが明らかとなった。

第3節 卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼすオキナワモズクの影響

1. 緒言

第2節において、卵巢摘出ラットにナガコンブを給与し、Ca代謝に及ぼす影響について検討を行なった。その結果、ナガコンブは大腿骨Ca含量を有意に高くし、破断特性のうちStrength, StiffnessおよびToughnessの3項目で高い傾向であったことから、卵巢摘出ラットの骨代謝改善に効果のあることが示唆された。また、第II章において、オキナワモズク中にCaが多く含まれていることが明らかとなったことから、本節ではオキナワモズクが卵巢摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす影響について検討を行った。またオキナワモズクに含まれるCaの影響を確認するため、褐藻類中のCa形態であるアルギン酸Ca⁶³⁾についても同時に実験を行なった。

2. 実験材料および方法

(1) 実験材料

1) アルギン酸Ca (Ca Alginate)

アルギン酸Caのアルギン酸は、コンブやワカメなどの褐藻類に含まれ、藻体乾燥重量の10~47%を占めており、褐藻の種類、部位および季節によっても異なっている⁶³⁾。

本実験では、オキナワモズク中に含まれるCaの影響を比較するため、和光純薬工業株式会社のアルギン酸Ca (試薬第一級) を使用した。

2) オキナワモズク

オキナワモズクについては第1章に記述したとおりである。本実験に用いたオキナワモズクは、沖縄県中頭郡宜野座村の漁業協同組合で1990年4月に採取、塩蔵されたものを十分に塩抜きした後、ADVANTEC製のFC-610 FORCED CONVECTION OVENで40℃、24時間風乾したもの (ADM) と、さらに灰化処理を行なったもの (Ash) を試料に供した。なおそれらの無機質成分はTable 15に示すとおりである。

(2) 実験動物および飼育条件

生後5週齢で初体重約120 gのSD系雌ラット34匹 (日本エスエルシー株式会社, 静岡) に3日間固形試料 (オリエンタル酵母株式会社製) を与え、実験環境に慣らした後、エストロゲンの分泌低下により、骨中Caの血中への溶出を促進させるため、両側の卵巣摘出手術を行なった。その後、さらに4週間、Preliminary食 (Low Ca食) で飼育し、骨粗鬆症モデルラットを作成した。次いで体重に有意差が出ないようにPreliminary食 (6匹), Control食 (6匹), Ca Alginate食 (7匹), Mozuku Ash食 (7匹), Mozuku ADM食 (8匹) の5群に分けた。そのうちPreliminary食群については先に血清Ca, P濃度およびアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性値と、大腿骨のCa含量の分析および破断特性試験を行ない、骨粗鬆症モデルラットになっているかを確認し、残りの4群について5週間、各飼料を給与した。

Table 15. Mineral composition of Okinawamozuku. (mg%)

	Okinawamozuku	
	Ash	ADM
Moisture (%)	2.0	12.7
Ca	11,830.0	1,857.0
P	195.0	8.0
Mg	3,867.0	505.0
Na	18,407.0	2,492.0
K	199.0	24.0
Zn	3.6	0.5
Fe	92.0	7.0

実験期間中飼育室は自然採光とし、平均温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、平均湿度 $70 \pm 5\%$ に保ち、個別ケージにて飼育した。飼料および飲料水（イオン交換水）は自由摂取とした。

(3) 飼料組成

飼料組成はTable 16に示すとおりで、Preliminary食のみはCa源として炭酸CaをCa量が10mgになるように0.025%添加した。またControl食は炭酸Caを1%、Ca Alginate食はアルギン酸Caを4.7%、Mozuku Ash食は灰化粉末モズクを3.3%、Mozuku ADM食は風乾粉末モズクを8%と灰化粉末モズクを2%混合したものをそれぞれCa量が400mgになるように調製した。なお、CaとPの比率が1:1になるようにリン酸（リン酸水素一K、リン酸水素二K）を400mgずつ各群に添加した。またMozuku ADM食では風乾粉末モズクのみを添加するだけでは基準としたCaを充たすのには無理があったため、それを補う目的で灰化粉末モズクを添加した。さらにMozuku ADM食はオキナワモズク中の食物繊維の影響を考慮して、あえてセルロースを添加しなかった。Ca添加量は江澤ら^{44,64,65)}の文献を参考にしてPreliminary食0.01%、その他の食群は0.4%に設定した。

(4) 分析方法

血清アルカリフォスファターゼ活性値（以下、ALP活性値）の測定は和光純薬工業株式会社のアルカリ性ホスファK-テストワコー（フェニルリン酸基質法）を用いて行なった。大腿骨Mg含量は、Ca

Table 16. Composition of experimental diets.

Compound	Low Ca (Ca:P= 0.01:0.40%)	Control	Ca Alginate (Ca:P=0.40:0.40%)	Mozuku (%)	
				Ash	ADM
Casein	20	20	20	20	20
Corn oil	10	10	10	10	10
Cellulose	4	4	4	4	-
Vitamin mixture ¹	1	1	1	1	1
Ca and P free mineral mixture ²	1.975	2	2	2	2
Equimolar mixture KH ₂ PO ₄ and K ₂ HPO ₄	2	2	2	2	2
CaCO ₃	0.025	1.0	-	-	-
Ca Alginate	-	-	4.7	-	-
Mozuku Ash	-	-	-	3.3	2
Mozuku ADM	-	-	-	-	8
α -Corn starch	61.0	60.0	56.3	57.7	55.0

1 Vitamin mixture, (in mg) : retinol acetate, 100.0 ; cholecalciferol, 0.25 ; tocopherol acetate, 500.0 ; menadione, 520.0 ; thiamine hydrochloride, 120.0 ; riboflavin, 400.0 ; pyridoxine hydrochloride, 80.0 ; cyanocobalamin, 0.05 ; L-ascorbic acid, 3,000.0 ; D-biotin, 2.0 ; folic acid, 20.0 ; calcium pantothenate, 500.0 ; ρ -amino benzoic acid, 500.0 ; nicotinic amide, 600.0 ; inositol, 600.0 ; choline chloride, 20,000.0 ; cellulose powder, 73,057.7.

2 Ca and P free mineral mixture, (in %) : K₂SO₄, 16.42 ; NaCl, 9.2 ; Fe-citrate, 3.18 ; MgSO₄, 7.17 ; ZnCO₃, 0.11 ; MnSO₄ · 4-6H₂O, 0.12 ; CuSO₄ · 5H₂O, 0.03 ; KI, 0.01 ; cellulose powder, 63.76.

含量と同様に原子吸光法²⁹⁾で測定した。大腿骨破断特性の測定条件は、破断応力万能型の間隔14mm、荷重40kg、スイープ速度10mm/min、チャート速度100mm/minで行なった。さらに尿および糞は24時間および3日間分をそれぞれ、飼育期間開始から1週間目のうち1回と5週間目のうち1回の計2回採集した。なお、糞中Mg排泄量は大腿骨Mg含量の測定方法に準じた。その他の分析方法および統計処理は第2節と同様に行なった。

3. 実験結果

(1) 体重増加量、飼料およびCa摂取量について

Table 17に体重増加量、飼料およびCa摂取量を示した。各項目ともいずれの群においても有意差は認められなかった。

(2) 尿量、尿中CaおよびP排泄量について

Table 18に飼育1週間目と5週間目の24時間尿量、尿中CaおよびP排泄量を示した。尿量、尿中P排泄量は1週間目と5週間目ともいずれの群においても有意差は認められなかった。尿中Ca排泄量については1週間目でMozuku食がControl食およびCa Alginate食群より有意に高く、5週間目においてはMozuku Ash食群がその他の3群より有意に高い値を示した。

(3) 糞量、糞中Ca、PおよびMg排泄量について

Table 17. Effect of experimental diets on body weight gain and food intake.

Groups	Body weight		Intake	
	Initial (g)	Gain (g)	Food (g/day)	Ca (mg/day)
Preliminary	123.0 ± 3.6	115.5 ± 1.9*	14.4 ± 0.2	1.4 ± 0.0
Control	240.2 ± 6.7	70.2 ± 2.3**	17.9 ± 0.6	71.5 ± 2.4
Ca Alginate	240.7 ± 8.8	70.7 ± 5.6	17.0 ± 0.8	67.9 ± 3.3
Mozuku Ash	240.7 ± 8.5	68.0 ± 5.8	18.2 ± 0.8	70.9 ± 3.1
Mozuku ADM	240.0 ± 4.9	72.0 ± 3.5	17.5 ± 0.5	67.4 ± 1.8

Values are expressed as means ± SE. * Weight gain for 28 days on preliminary diet. ** Weight gain for 35 days on experimental diets.

Table 18. Urine excretion of Ca and P.

Period (week)	Groups	Volume (mℓ/day)	Ca (mg/day)	P (mg/day)
	Preliminary	13.6±2.1	0.23±0.03	43.8± 6.4
1st	Control	10.7±2.2	0.40±0.04 ^a	62.6± 4.2
	Ca Alginate	11.2±3.0	0.50±0.07 ^a	50.8± 6.1
	Mozuku Ash	14.9±5.1	1.22±0.22 ^b	57.9± 4.7
	Mozuku ADM	11.0±2.6	0.90±0.10 ^b	59.2±11.5
5th	Control	7.5±1.6	0.46±0.05 ^b	41.4± 2.3
	Ca Alginate	8.3±1.0	0.59±0.10 ^b	50.0± 3.1
	Mozuku Ash	7.3±0.8	1.25±0.27 ^a	43.6± 3.8
	Mozuku ADM	6.0±1.0	0.77±0.12 ^b	42.1± 6.5

Values (means ± SE) in a column different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

1日当たりの糞量、糞中Ca、PおよびMg排泄量をTable 19に示した。糞量はMozuku ADM食群が最も高い値を示し、1週間目、5週間目ともに他の群との間に有意な差が認められ、またMozuku Ash食群が5週間目でControl食群より有意に高い値を示した。糞中Ca排泄量は1週間目および5週間目ともにMozuku食がControl食、Ca Alginate食群より有意に高い値を示し、1週間目ではMozuku食群間でも有意差が認められた。糞中P排泄量については1週間目でMozuku ADM食が他の3群より有意に高く、最も低い値のCa Alginate食とControl食およびMozuku Ash食群との間にそれぞれ有意な差が認められた。5週間目のP排泄量ではMozuku食群が他の2群より有意に高く、一方、1週間目と同様に、最も低い値のCa Alginate食群がControl食群との間に有意な差を示した。糞中Mg排泄量は1週間目、5週間目ともにMozuku食が有意に高い値を示し、1週間目ではMozuku食群間においても有意差がみられ、糞中Ca排泄量と同様の傾向がみられた。

(4) 見かけのCa吸収率および保留率について

Table 20に飼育開始1週間目および5週間目の見かけのCa吸収率と保留率を示した。1週間目の見かけCa吸収率と保留率はともにMozuku食群がControl食およびCa Alginate食群より有意に低く、Mozuku食間ではADM食群が低い値を示し、有意差が認められた。5週間目ではMozuku食群が見かけのCa吸収率、保留率ともにControl食およびCa Alginate食群より有意に低い値を示した。

Table 19. Fecal excretion of Ca, P and Mg.

Period (week)	Groups	Dry weight (g/day)	Ca (mg/day)	P (mg/day)	Mg (mg/day)
	Preliminary	1.04±0.05	0.3±0.1	22.3±1.8	3.63±0.31
1st	Control	1.28±0.06 ^b	16.5±1.7 ^c	11.6±1.6 ^b	0.92±0.03 ^c
	Ca Alginate	1.39±0.10 ^b	12.4±1.2 ^c	5.8±0.6 ^c	1.42±0.20 ^c
	Mozuku Ash	1.35±0.09 ^b	33.5±2.8 ^b	12.1±1.0 ^b	14.42±1.08 ^b
	Mozuku ADM	2.17±0.06 ^a	40.6±2.2 ^a	21.3±1.6 ^a	17.87±0.71 ^a
5th	Control	1.06±0.03 ^c	31.7±0.6 ^b	20.8±0.6 ^b	1.69±0.14 ^b
	Ca Alginate	1.25±0.08 ^{bc}	30.9±2.3 ^b	16.7±0.9 ^c	2.01±0.14 ^b
	Mozuku Ash	1.34±0.07 ^b	50.2±3.0 ^a	24.8±1.2 ^a	15.27±1.07 ^a
	Mozuku ADM	1.83±0.07 ^a	48.0±2.3 ^a	25.3±1.5 ^a	16.59±0.75 ^a

Values (means ± SE) in a column different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 20. Apparent Ca absorption and retention

Groups	1st week		5th week	
	Absorption rate (%)	Retention rate (%)	Absorption rate (%)	Retention rate (%)
Preliminary	-	-	76.9±5.1	59.8±6.0
Control	76.9±2.2 ^a	76.0±2.3 ^a	52.0±1.2 ^a	51.3±1.3 ^a
Ca Alginate	81.9±1.3 ^a	81.4±1.2 ^a	51.9±2.3 ^a	51.0±2.4 ^a
Mozuku Ash	52.1±2.6 ^b	51.3±2.6 ^b	22.6±2.0 ^b	20.9±1.9 ^b
Mozuku ADM	40.4±3.1 ^c	39.0±3.2 ^c	26.5±3.8 ^b	25.3±3.8 ^b

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

(5) 血清Ca, P濃度およびALP活性値について

Table 21に血清Ca, P濃度およびALP活性値を示した。血清Ca, P濃度およびALP活性値ともに, いずれの群においても有意差は認められず, 正常値範囲内であった。

(6) 大腿骨の骨長および骨幅について

Table 22に大腿骨骨長および骨幅を示した。各項目ともにいずれの群においても, 有意差は認められなかった。

(7) 大腿骨破断特性について

大腿骨破断特性をTable 23に示した。破断特性のStiffnessでControl食が他の3群より有意に低い値を示したが, その他のStrength, DuctilityおよびToughnessにおいて有意差は認められなかった。

(8) 大腿骨Ca, PおよびMg含量について

左大腿骨Ca, PおよびMg含量をTable 24に示した。大腿骨Ca含量はCa Alginate食群が最も高い値を示し, 他の3群との間に有意差が認められた。一方, Mozuku Ash食群は最も低い値を示し, Control食, Mozuku ADM食群との間にそれぞれ有意差が認められた。大腿骨P含量はMozuku ADM食群が最も高い値を示し, Control食およびCa Alginate食群との間にそれぞれ有意な差がみられ, さらにCa Alginate食およびMozuku Ash食群はともにControl食群との間にそれぞれ有意差が認められた。大腿骨Mg含量はMozuku食群がControl

Table 21. Levels of serum Ca, P and ALP.

Groups	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	ALP (KAU)
Preliminary	10.91 ± 0.47	8.73 ± 0.21	61.6 ± 6.8
Control	9.81 ± 0.24	6.25 ± 0.40	17.2 ± 0.9
Ca Alginate	9.40 ± 0.21	6.66 ± 0.41	20.3 ± 2.6
Mozuku Ash	9.30 ± 0.24	6.46 ± 0.31	18.4 ± 1.3
Mozuku ADM	9.57 ± 0.12	6.53 ± 0.25	17.8 ± 1.4

Values are expressed as means ± SE.

Table 22. Length and width of left femur.

Groups	Length	Width(diameter)	
		Long (mm)	Short
Preliminary	32.1 ± 0.3	3.43 ± 0.02	2.79 ± 0.03
Control	34.3 ± 0.2	3.69 ± 0.10	2.93 ± 0.05
Ca Alginate	34.6 ± 0.3	3.66 ± 0.05	2.92 ± 0.06
Mozuku Ash	34.6 ± 0.5	3.74 ± 0.07	3.00 ± 0.06
Mozuku ADM	34.0 ± 0.2	3.64 ± 0.06	2.89 ± 0.05

Values are expressed as means \pm SE.

Table 23. Mechanical properties of left femur.

Groups	Strength ($\times 10^3$ N)	Ductility ($\times 10^{-3}$ m)	Stiffness ($\times 10^3$ N/m)	Toughness ($\times 10^3$ J)
Preliminary	33.3 ± 2.7	1.12 ± 0.05	95.7 ± 12.0	30.7 ± 2.5
Control	140.0 ± 4.1	1.19 ± 0.05	58.9 ± 6.0^b	65.2 ± 4.1
Ca Alginate	136.7 ± 3.2	1.16 ± 0.06	75.4 ± 5.9^a	70.3 ± 7.0
Mozuku Ash	136.7 ± 5.5	1.07 ± 0.03	78.5 ± 2.6^a	65.8 ± 3.9
Mozuku ADM	133.5 ± 5.1	1.08 ± 0.05	73.0 ± 1.9^a	58.0 ± 5.4

Values (means \pm SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 24. Ca, P and Mg contents of left femur.

Groups	Ash weight (g)	Content		
		Ca (mg/g of ash femoral bone)	P	Mg
Preliminary	0.12 ± 0.00	314.8 ± 10.9	181.4 ± 1.8	5.39 ± 0.14
Control	0.25 ± 0.01	353.8 ± 5.6 ^b	176.8 ± 1.1 ^c	5.10 ± 0.10 ^b
Ca Alginate	0.26 ± 0.01	365.9 ± 4.1 ^a	179.0 ± 0.9 ^b	5.35 ± 0.06 ^b
Mozuku Ash	0.26 ± 0.01	337.7 ± 2.5 ^c	180.5 ± 0.3 ^{ab}	6.30 ± 0.12 ^a
Mozuku ADM	0.24 ± 0.00	353.2 ± 2.1 ^b	181.6 ± 0.6 ^a	6.15 ± 0.07 ^a

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

食, Ca Alginate食群より有意に高い値を示した。

4. 考察

ヒトの骨粗鬆症の診断基準において血中Ca, P濃度およびALP活性値は正常であるとされているが, まれに血中ALP活性値が上昇することがある⁶⁶⁾。本実験のALP活性値においては望月ら⁴⁸⁾の行った, 酢卵が卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの骨塩減少に及ぼす影響を検討した報告と同様な傾向がみられた。

糞量でMozuku ADM食群が最も高値を示したことは, Mozuku ADM食群の飼料中の食物繊維含量が高いことによると考えられる。これは奥⁶⁷⁾の食物繊維は腸管内容物の‘カサ’を増大する効果を持っているために糞量を増大させるという報告と一致する結果であった。

Ca Alginate食群は見かけのCa吸収率, 保留率ともにControl食群とほぼ同様であったが, 大腿骨Ca含量においてはControl食群より有意に高く, 破断特性のToughnessにおいては7%高く, 最も高い値を示した。辻⁶⁸⁾は食物繊維の機能とCa利用の関係について, 陽イオン全量を吸収阻害するわけではなく, 一部の吸収阻害に留まる。むしろ, あらかじめCa, Kなどの有用な無機質を結合させておくとその利用が高まることは, イオン交換反応の原理から明らかであるとしている。本実験においてCa Alginate食群でCa利用が最も高かった理由

として、既に抽出された純度の高い試薬の状態で飼料中に配合して与えたこと、あらかじめアルギン酸とCaを結合させたアルギン酸Caの形だったこと等、生体にとって有利な条件が一致していたためだと考えられる。さらに食物繊維の無機質利用に対して、美濃輪ら⁶⁹⁾は小麦フスマをラットに与え、食物繊維結合の無機質は重要な無機質供給源であるとし、江澤ら⁷⁰⁾はバガスが糖尿病ラットの骨代謝に及ぼす影響を検討し、食物繊維が糖尿病に対してだけでなく、飼料効率および骨石灰化に効果的であることや、Seyedら⁷¹⁾もCa吸収に対して食物繊維は影響を及ぼさなかったことを報告している。またHarmuth-hoeneら⁷²⁾は、正常な発育期のラットにおいて、同じく10%の食物繊維を与え、Caの無機質吸収を検討し、その吸収が食物繊維の種類によって異なることを報告している。しかしOkura⁷³⁾によると利用できない食物繊維の長期間摂取は骨粗鬆症の原因になるかもしれないとしているように、食物繊維の無機質吸収に及ぼす影響については二つの説がある。Mozuku食群は、見かけのCa吸収率、保留率ともに低い値を示したが、大腿骨のCa含量はAsh食の方がADM食より有意に低いのに対し、破断特性のStrengthでは2%、Toughnessでは11%、Ash食群の方がADM食群より高い値を示した。

Mozuku Ash食群のモズクは灰化させたために無機質だけの状態になり、Ca形態が酸化Caに変化したことが利用効率を低下させたのではないかと思われる。風乾モズクは他の栄養成分と共存しているこ

とで、Caの利用効率がAshに比べて高くなったと考えられた。藤森ら⁷⁴⁾によるとワカメの灰分の消化吸収率は添加量が増加しても変化が少なく、5~10%程度の添加ではワカメの可消化エネルギーにあまり変動がみられないという報告を参考にして、Mozuku ADM食群の風乾モズクを8%添加としたが、やはりこの添加量だと食物繊維の影響が大きくなり、Caの吸収阻害に傾いたと思われる。Mozuku食間においてADM食群はAsh食群に比べて大腿骨Ca含量が高いにもかかわらず、破断特性は逆の傾向を示した。これは風乾モズクには骨にCaの沈着を促進させる何らかの物質が存在し、それが骨中Ca含量を高くしたと考えられる。しかし風乾モズクのCa形態は石灰化するのに時間を要するが、灰化モズクのCaは酸化Caであるため、風乾モズクに比べて、石灰化速度が速いことが予測されることより、ADM食群はAsh食群より破断特性のStrength, StiffnessおよびToughnessが低い傾向を示したと考えられる。Ca Alginate食は、先に述べたように予めCaとアルギン酸が結合しており、さらに精製されたものであったため、Ca吸収がよくなり、骨代謝改善が見られたと思われる。CaとPは、骨の中でヒドロキシアパタイトというリン酸Ca結晶となって存在することから、Caが骨から血中へ放出されると同時に、相当量のPも放出される⁷⁵⁾が、本実験において、大腿骨Ca含量とP含量は同様な傾向をみることはできなかった。一方、大腿骨Mg含量およびCa含量とは負の相関関係 ($r=-0.404$, $p<0.05$) が認められた。また、

大腿骨Mg含量でMozuku Ash食およびADM食群がCa Alginate食およびControl食群より高値を示したのは、Mozuku食群において、風乾および灰化モズクを添加した分だけ飼料中のMg含量が多くなったことが関係していると思われる。

5. 要約

本節においてオキナワモズクが卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす影響について検討した。その結果を要約すれば、下記の通りである。

(1) Mozuku食群間において大腿骨Ca含量はADM食群の方が有意に高い値を示したが、破断特性のStrengthでは2%、Toughnessでは11%、Ash食群の方が高い値を示した。

(2) Ca Alginate食群はControl食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高い値を示し、破断特性試験のToughnessにおいては、7%高い値を示した。

以上の結果より、灰化したモズクは骨代謝改善効果が低いということ、風乾モズクは添加量を考慮する必要があるということがわかった。一方、アルギン酸Caは骨代謝改善に対して高い効果を有することが明らかとなった。

第4節 オキナワモズク，オキナワモズクから抽出した多糖類および アルギン酸Ca（市販試薬）が卵巣摘出骨粗鬆症 モデルラットのCa代謝に及ぼす影響

1. 緒言

これまで、風乾モズク粉末、灰化モズク粉末およびアルギン酸Caを卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットに給与し、Ca代謝に及ぼす影響について検討を行った。その結果、アルギン酸Caを給与した群において、大腿骨Ca含量がControl食およびMozuku食より有意に高い値を示した。風乾モズク粉末を8%添加した結果、モズク中の食物繊維による無機質の吸収阻害に及ぼす影響が考えられた。そこで本節においては、飼料のCa含量に対する風乾粉末モズクの添加割合を変化させることと、アルギン酸Caの骨代謝に対する効果を確認すること、さらにモズクの子多糖類についても検討を行った。

2. 実験材料および方法

(1) 実験材料

1) オキナワモズク

オキナワモズクは、沖縄県国頭郡宜野座村，漁業協同組合で養殖さ

れ1991年5月から6月にかけて採取され、塩蔵保存されていたものを水洗いして十分に塩抜きした後、送風定温乾燥器 (ADVANTEC, FC-62D)で40℃, 48時間乾燥させ、粉末にしたものを用いた。

2) オキナワモズクの多糖類の抽出法

多糖類の抽出はHaugの方法⁷⁶⁾を参考にFig. 5に示すとおり、モズク粉末 (4g) を1%炭酸ナトリウム溶液 (750ml) で一晩室温にて攪拌抽出し、濾過後、1Nの塩酸で中和した。次いで、エタノールを抽出液の2~3倍量を攪拌しながら加え、多糖類を得た。得られた多糖類はアルコール脱水し、減圧乾燥後粉末にして試料に用いた。なお抽出した多糖類の収量は風乾物重量中、約3.3%で、全糖量、ウロン酸含量および無機質成分についてはフェノール硫酸法⁷⁷⁾、カルバゾール硫酸法⁷⁸⁾および原子吸光法²⁷⁾で測定し、その結果をTable 25に示した。

3) アルギン酸Ca

アルギン酸Caは和光純薬工業株式会社の試薬 (一級) を用いた。

(2) 実験動物および飼育条件

実験動物は、SD系5週齢雌ラット60匹 (有限会社, NRC榛名, 群馬) を3日間固形試料CE-2 (日本クレア株式会社製) を与え、実験環境に慣らした後、麻見らの方法⁷⁹⁾に従い卵巣摘出手術を行ない、低Ca食を32日間与え骨粗鬆症モデルラットを作成した。次いで体重に有意差が出ないようにPreliminary食 (7匹), Low Ca食 (Low, 8

Okinawamozuku
(*Cladosiphon okamuranus* Tokida)

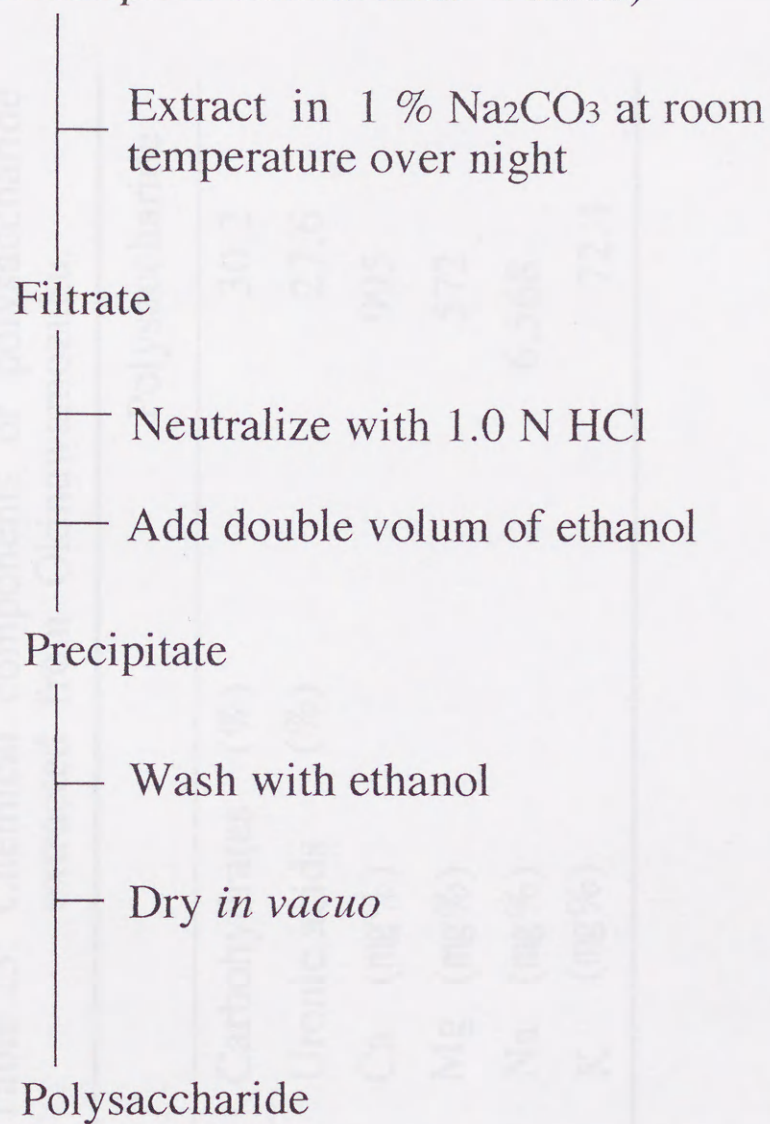


Fig. 5. Extraction of polysaccharide from Okinawamozuku.

Table 25. Chemical components of polysaccharide extracted from Okinawamozuku.

		Polysaccharide
Carbohydrates	(%)	30.2
Uronic acids	(%)	27.6
Ca	(mg%)	995
Mg	(mg%)	572
Na	(mg%)	6,568
K	(mg%)	72.4

匹), Control食(6匹), Mozuku I食 (M I, 6匹), Mozuku II食 (M II, 6匹), Polysaccharide I食 (P I, 6匹), Polysaccharide II食 (P II, 6匹), Ca Alginate I食 (A I, 6匹), Ca Alginate II食 (A II, 6匹) およびCa Alginate III食 (A III, 6匹) の10群に分けた。そのうちのPreliminary食は第三章3節2.(2)と同様に先に分析を行ない, 骨粗鬆症モデルラットとして本実験に供試できることを確認した。その後, 残りの9群について各飼料を給与し, 30日間飼育を行なった。

実験期間中, 飼育室は, 室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 相対湿度 $65 \pm 5\%$, 12時間毎の明暗サイクル (AM8:00~PM8:00, PM8:00~AM8:00)下で個別ケージにて飼育を行った。

飼料および水 (イオン交換水) は自由摂取させた。

(3) 飼料組成

飼料組成はTable 26に示すとおりで, Low Ca食のみCa : Pの割合が0.01 : 0.30%になるように混合し, その他の試験食はCa : Pが0.3 : 0.3%になるように調製した。なお, Low Ca食およびControl食は炭酸CaをCa源として用いた。Mozuku食のうちM I食群はCa量の1割を, M II食はCa量の2割を風乾粉末モズクとし, 炭酸Caで0.3%になるように調製した。またPolysaccharide食のP I, P II食群およびCa Alginate食のA I, A II食群についてもMozuku食と同様の割合で, モズクから抽出した多糖類と市販のアルギン酸Caをそれぞれ, 1割な

Table 26. Composition of experimental diets. (%)

Compound	Low Ca (Low) (Ca : P = 0.01 : 0.30%)	Control (Con)	Mozuku(M)		Polysaccharide(P) (Ca : P = 0.30 : 0.30%)		Ca Alginate(A)		
			I	II	I	II	I	II	III
Casein	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Corn oil	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cellulose	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture ¹	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ca and P free mineral mixture ²	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Epuimolar mixture KH ₂ PO ₄ and K ₂ HPO ₄	1.500	1.500	1.484	1.468	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500
CaCO ₃	0.025	0.750	0.675	0.600	0.675	0.600	0.675	0.600	-
Okinawamozuku	-	-	4.090	8.180	-	-	-	-	-
Polysaccharide	-	-	-	-	3.020	6.030	-	-	-
Ca Alginate	-	-	-	-	-	-	0.404	0.808	4.040
α -Corn starch	61.475	60.750	56.751	52.752	57.805	54.870	60.420	60.090	57.460

1 Vitamin mixture, (in mg) : retinol acetate, 100.0 ; cholecalciferol, 0.25 ; tocopherol acetate, 500.0 ; menadione, 520.0 ; thiamine hydrochloride, 120.0 ; riboflavin, 400.0 ; pyridoxine hydrochloride, 80.0 ; cyanocobalamin, 0.05 ; L-ascorbic acid, 3,000.0 ; D-biotin, 2.0 ; folic acid, 20.0 ; calcium pantothenate, 500.0 ; ρ -amino benzoic acid, 500.0 ; nicotinic amide, 600.0 ; inositol, 600.0 ; choline chloride, 20,000.0 ; cellulose powder, 73,057.7.

2 Ca and P free mineral mixture, (in %) : K₂SO₄, 16.42 ; NaCl, 9.2 ; Fe-citrate, 3.18 ; MgSO₄, 7.17 ; ZnCO₃, 0.11 ; MnSO₄ · 4~6H₂O, 0.12 ; CuSO₄ · 5H₂O, 0.03 ; KI, 0.01 ; cellulose powder, 63.76.

いし2割添加した。AⅢ食群はアルギン酸Caのみで0.3%Caを含むものとした。

(4) 血清生化学検査

飼育終了時にラットを12時間絶食後、ネンブタール麻酔を行ない、腹腔内大静脈より採血し、遠心分離により得た血清を分析に供した。分析方法は第3節2.(4)に準じて行った。

(5) 大腿骨Ca, P, Mg含量測定および破断特性試験

大腿骨Ca含量の測定方法は第2節1.(8)に準じて行い、P含量はモリブデンブルー法(ダブルビーム分光光度計日立200-10型)で測定を行なった²⁶⁾。また破断特性についても第3節2.(4)の方法に準じ、同様の測定条件で行った。

(6) 尿および糞中Ca含量の測定

尿および糞は、飼育期間終了直前に代謝ケージで24時間尿と2日間分の糞を採取した。なお、尿はCaが沈殿するのを防ぐために、6N塩酸1mlを予め採尿瓶に入れ、塩酸酸性の条件で採取した⁸⁰⁾。採取後直ちに遠心分離を行ない、その上清を血清同様の方法で尿中Caを測定した。糞は採取した後、湿重量と凍結乾燥後の乾燥重量を精秤し、乳鉢で粉末にしたものを大腿骨Ca含量と同様の方法で測定した。

(7) 統計処理

各データは、一元配置分散分析(ANOVA)を行なった後、フィッシャーのLSD法で水準間の検定を行ない、平均±標準誤差で表わし、 $p <$

0.05を有意とした。

3. 実験結果

(1) 体重増加量，飼料およびCa摂取量について

Table 27に体重増加量，飼料およびCa摂取量を示した。体重増加量については，Low食およびPⅡ食群が低値を示し，Control食群を除く6群との間で有意な差が認められた。飼料摂取量については有意差が認められなかった。Ca摂取量については，Low食（Low Ca食は飼料中のCa添加量を低く設定している）を除くと，PⅡ食群は最も低値を示し，他の7群との間に有意差が認められた。また次に低い値を有するMⅠ食群は，MⅡ食群，Control食群およびCa Alginate食群との間でそれぞれ有意な差を示した。さらに最も高い値を有するAⅢ食群はAⅠ食，AⅡ食群およびPⅠ食群との間でそれぞれ有意差がみられた。

(2) 尿および糞中Ca排泄量について

Table 28に尿量，尿中Ca排泄量，糞量および糞中Ca排泄量を示した。尿量はLow食群が最も高い値を示し，その他の8群との間に有意な差がみられた。尿中Ca排泄量は，最も低い値のLow食群が，Ca Alginate食群と有意な差を示した。また最も高い値のAⅢ食群は，Control食，MⅠ食群およびPⅡ食群との間でそれぞれ有意差が認め

Table 27. Effect of experimental diets on body weight gain and food intake.

Groups	Body weight		Intake	
	Initial (g)	Gain (g/32days)	Food (g/day)	Ca (mg/day)
Preliminary	138.4 ± 3.8	116.7 ± 10.9*	16.2 ± 0.5	3.8 ± 0.1
Low Ca	263.3 ± 5.3	85.3 ± 5.5 ^b	20.9 ± 0.7	5.7 ± 0.2 ^e
Control	263.0 ± 7.4	104.3 ± 6.1 ^{ab}	21.5 ± 0.2	65.3 ± 0.7 ^{ab}
Mozuku I	263.0 ± 9.4	104.3 ± 8.6 ^a	21.2 ± 0.5	59.1 ± 1.3 ^c
Mozuku II	262.7 ± 7.3	115.3 ± 7.4 ^a	21.3 ± 0.1	65.6 ± 0.3 ^{ab}
Polysaccharide I	263.0 ± 7.4	101.3 ± 3.5 ^a	21.4 ± 0.2	60.3 ± 0.6 ^{bc}
Polysaccharide II	263.0 ± 9.9	83.0 ± 12.3 ^b	20.2 ± 0.8	55.8 ± 2.2 ^d
Ca Alginate I	263.0 ± 10.4	115.7 ± 8.0 ^a	21.3 ± 0.3	63.1 ± 1.0 ^b
Ca Alginate II	263.0 ± 8.8	110.7 ± 4.6 ^a	21.6 ± 0.4	63.2 ± 1.1 ^b
Ca Alginate III	263.0 ± 11.6	111.7 ± 8.5 ^a	21.0 ± 0.4	67.0 ± 1.3 ^a

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 28. Urine and fecal excretion of Ca.

Groups	Urine		Feces	
	Volume (mℓ/day)	Ca (mg/day)	Dry weight (g/day)	Ca (mg/day)
Preliminary	30.3±7.9	0.12±0.03	1.06±0.13	0.3±0.1
Low Ca	34.1±6.1 ^a	0.13±0.02 ^c	1.24±0.09 ^e	0.7±0.2 ^d
Control	16.3±2.5 ^b	0.33±0.07 ^{bc}	1.53±0.09 ^{de}	18.5±2.9 ^{abc}
Mozuku I	12.5±1.6 ^b	0.37±0.09 ^{bc}	2.20±0.09 ^b	20.2±2.1 ^{abc}
Mozuku II	11.7±1.4 ^b	0.55±0.12 ^{abc}	3.06±0.17 ^a	20.8±3.0 ^{abc}
Polysaccharide I	14.0±3.0 ^b	0.53±0.29 ^{abc}	1.83±0.21 ^{bcd}	16.5±2.9 ^{bc}
Polysaccharide II	13.5±2.2 ^b	0.36±0.11 ^{bc}	2.00±0.23 ^{bc}	14.8±2.8 ^c
Ca Alginate I	15.4±2.7 ^b	0.74±0.28 ^{ab}	1.46±0.11 ^{de}	24.8±3.5 ^a
Ca Alginate II	15.8±1.5 ^b	0.66±0.17 ^{ab}	1.56±0.11 ^{de}	25.6±3.6 ^{ab}
Ca Alginate III	13.3±2.0 ^b	0.94±0.33 ^a	1.62±0.17 ^{cde}	25.4±5.2 ^a

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

られた。

糞量についてはMⅡ食群が最も高値を示し、その他の群間と、次いで高い値を示したMⅠ食群についてもLow食、Control食、AⅠ食、AⅡ食およびAⅢ食群との間でそれぞれ有意差が認められた。PⅡ食群はLow食、Control食、AⅠ食およびAⅡ食群との間で、PⅠ食群はLow食との間でそれぞれ有意な差がみられた。糞中Ca排泄量については、Low食群は最も低い値を示し、すべての群との間で有意差が認められた。また糞中Ca排泄量はAⅡ食、AⅢ食群が最も高い値を示し、PⅠ食、PⅡ食群との間でそれぞれ有意差がみられ、AⅠ食群もPⅡ食群との間で有意な差が認められた。

(3) 見かけのCa吸収率および保留率について

Table 29に見かけのCa吸収率および保留率を示した。吸収率、保留率ともにLow食群が最も高い値を示し、その他の8群との間にそれぞれ有意差が認められた。

(4) 血清Ca、P濃度およびALP活性値について

Table 30に血清Ca、P濃度およびALP活性値を示した。血清Ca濃度は有意差が認められなかったが、P濃度についてはLow食群が最も低い値を示し、MⅠおよびMⅡ食群とAⅡ食群との間で有意な差がみられた。ALP活性値は、Low食が最も高い値を示し、その他の8群との間で有意な差を示した。次に高い値を示したMⅠ食群は、MⅡ、PⅡ食、AⅠ食、AⅡ食およびAⅢ食群との間で、一方、最も低い値のA

Table 29. Apparent Ca absorption and retention rate.

Groups	Absorption rate (%)	Retention rate (%)
Preliminary	92.8 ± 3.84	89.2 ± 2.37
Low Ca	86.4 ± 3.73 ^a	87.3 ± 3.66 ^a
Control	71.8 ± 4.18 ^b	71.2 ± 4.19 ^b
Mozuku I	65.9 ± 3.13 ^b	65.3 ± 3.04 ^b
Mozuku II	68.3 ± 4.47 ^b	67.5 ± 4.33 ^b
Polysaccharide I	72.6 ± 4.80 ^b	71.7 ± 4.70 ^b
Polysaccharide II	73.8 ± 4.73 ^b	73.2 ± 7.87 ^b
Ca Alginate I	65.5 ± 3.06 ^b	64.2 ± 3.36 ^b
Ca Alginate II	63.7 ± 4.60 ^b	62.5 ± 4.47 ^b
Ca Alginate III	67.1 ± 7.15 ^b	65.5 ± 7.71 ^b

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 30. Levels of serum Ca, P and ALP.

Groups	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	ALP (KAU)
Preliminary	7.99±0.25	7.13±0.17	65.4±8.0
Low Ca	9.18±0.67	4.70±0.27 ^b	55.4±5.0 ^a
Control	8.70±0.07	5.37±0.29 ^{ab}	37.7±3.2 ^{bc}
Mozuku I	8.85±0.37	5.78±0.15 ^a	41.8±4.3 ^b
Mozuku II	8.81±0.35	5.84±0.44 ^a	27.3±1.4 ^{cd}
Polysaccharide I	9.11±0.17	5.27±0.31 ^{ab}	37.5±3.7 ^{bc}
Polysaccharide II	8.46±0.12	5.48±0.41 ^{ab}	29.7±3.7 ^{cd}
Ca Alginate I	8.65±0.34	5.43±0.17 ^{ab}	25.3±1.7 ^{cd}
Ca Alginate II	8.88±0.20	5.59±0.19 ^a	28.0±1.9 ^{cd}
Ca Alginate III	8.72±0.38	5.26±0.58 ^{ab}	28.0±3.8 ^{cd}

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

I 食群はP I 食群との間でそれぞれ有意な差が認められた。

(5) 大腿骨の骨長および骨幅について

Table 31に大腿骨の骨長および骨幅を示した。骨長および骨幅の長径は、いずれの群においても同様の値を示し、有意差は認められなかったが、骨幅の短径においてはLow食群が最も高い値を示し、P II 食およびA I 食群との間でそれぞれ有意差がみられた。

(6) 大腿骨破断特性試験について

Table 32に破断特性試験の結果を示した。Strengthについては、Low食群が最も低い値を示し、他の食群との間で有意差が認められ、最も高い値を示したM II 食群はP I 食群との間で有意な差がみられた。Ductilityについては、Low食群が最も高い値を示し、M II 食、P I 食、A I 食、A II 食およびA III 食群との間でそれぞれ有意な差がみられ、さらにControl食およびM I 食群はP I 食とA I 食、A II 食およびA III 食群との間でそれぞれ有意差が認められた。Stiffnessは、Low食群がStrengthと同様の傾向を示し、高い値を有するA I 食、A II 食およびA III 食群が、Control食およびM I 食群との間にそれぞれ有意な差を示した。ToughnessについてもLow食は、StrengthおよびStiffnessと同様の結果を示していた。高い値を示したControl食およびM I 食群は、P I 食群、A I 食、A II 食およびA III 食群との間に、それぞれ有意差が認められた。M II 食群はA II 食、A III 食およびP I 食群との間で、またP II 食群はP I 食群およびA III 食群との間にそれぞれ

Table 31. Length and width of left femur.

Groups	Length	Width(diameter)	
		Long (mm)	Short
Preliminary	34.1±0.0	3.96±0.08	2.96±0.03
Low Ca	36.2±0.4	4.28±0.12	3.34±0.13 ^a
Control	36.1±0.3	4.32±0.14	3.15±0.08 ^{ab}
Mozuku I	36.1±0.4	4.17±0.12	3.08±0.08 ^{ab}
Mozuku II	36.4±0.7	4.23±0.09	3.18±0.10 ^{ab}
Polysaccharide I	35.7±0.2	4.12±0.10	3.22±0.10 ^{ab}
Polysaccharide II	35.8±0.3	4.23±0.06	3.03±0.02 ^b
Ca Alginate I	35.5±0.3	4.20±0.10	3.05±0.03 ^b
Ca Alginate II	35.6±0.4	4.27±0.13	3.22±0.13 ^{ab}
Ca Alginate III	35.5±0.2	4.18±0.08	3.12±0.08 ^{ab}

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 32. Mechanical properties of left femur.

Groups	Strength ($\times 10^{-3}$ N)	Ductility ($\times 10^{-3}$ m)	Stiffness ($\times 10^{-3}$ N/m)	Toughness ($\times 10^{-3}$ J)
Preliminary	27.8 \pm 1.9	2.05 \pm 0.09	13.8 \pm 1.5	37.7 \pm 2.3
Low Ca	33.8 \pm 2.9 ^c	1.80 \pm 0.07 ^a	19.2 \pm 1.9 ^c	35.8 \pm 2.7 ^e
Control	115.3 \pm 5.7 ^{ab}	1.73 \pm 0.09 ^{ab}	67.3 \pm 3.5 ^b	99.0 \pm 9.1 ^a
Mozuku I	112.4 \pm 4.5 ^{ab}	1.70 \pm 0.06 ^{ab}	66.2 \pm 2.5 ^b	98.9 \pm 6.8 ^a
Mozuku II	121.7 \pm 6.2 ^a	1.60 \pm 0.07 ^{bc}	76.0 \pm 1.8 ^{ab}	96.0 \pm 10.1 ^{ab}
Polysaccharide I	103.2 \pm 5.2 ^b	1.37 \pm 0.05 ^{cd}	75.6 \pm 2.7 ^{ab}	68.7 \pm 4.3 ^d
Polysaccharide II	116.9 \pm 4.3 ^{ab}	1.65 \pm 0.07 ^{abc}	71.4 \pm 3.4 ^{ab}	91.2 \pm 6.0 ^{ac}
Ca Alginate I	114.7 \pm 8.2 ^{ab}	1.47 \pm 0.06 ^c	78.0 \pm 4.3 ^a	78.1 \pm 8.0 ^{bcd}
Ca Alginate II	116.3 \pm 9.2 ^{ab}	1.47 \pm 0.07 ^c	79.9 \pm 6.4 ^a	76.5 \pm 5.7 ^{cd}
Ca Alginate III	105.5 \pm 7.7 ^{ab}	1.36 \pm 0.07 ^{cd}	77.6 \pm 3.9 ^a	67.9 \pm 7.1 ^d

Values (means \pm SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

有意差が認められた。

(7) 大腿骨Ca, PおよびMg含量について

Table 33に大腿骨の乾燥および灰化重量とCa, PおよびMg含量を示した。大腿骨の乾燥重量は, Low食群が他の8群に比較して有意に低い値を示した。灰化重量についてもLow食群は乾燥重量と同様に他の8群に比較して有意に低い値を示した。また, 最も高い値を示したAⅢ食群はPⅡ食群との間に有意差が認められた。大腿骨中のCa含量については, Low食群は最も低い値を示し, 骨重量と同様の結果であり, 最も高い値を示しているAⅠ食群はPⅡ食群との間に有意差が認められた。P含量についても, Low食群は最も低い値を示し, Control食, MⅡ食およびAⅠ食はMⅠ食, PⅡ食およびAⅡ食群との間にそれぞれ有意な差が認められた。Mg含量についても, Low食群が他の8群に比較して有意に低い値を示した。MⅠ食およびMⅡ食群はともに最も高い値を示し, Control食, AⅠ食, AⅡ食およびPⅠ食の4群との間でそれぞれ有意な差がみられた。

4. 考察

本実験において, 大腿骨Ca含量とP含量との間に正の相関関係 ($r=0.852, p<0.01$) が認められ, 両者の比率はいずれの群においても2:1であった。さらに大腿骨Mg含量においても, 大腿骨Ca含量

Table 33. Ca, P and Mg contents of left femur.

Groups	Weight		Content		
	Dry	Ash	Ca	P	Mg
	(g)		(mg/100mg of dry femoral bone)		
Preliminary	0.29±0.01	0.12±0.01	13.2±0.6	7.46±0.22	0.26±0.01
Low Ca	0.36±0.01 ^b	0.14±0.01 ^c	11.8±0.5 ^c	6.34±0.23 ^d	0.22±0.01 ^c
Control	0.54±0.02 ^a	0.28±0.01 ^{ab}	17.4±0.6 ^{ab}	9.39±0.23 ^a	0.29±0.01 ^b
Mozuku I	0.52±0.02 ^a	0.28±0.01 ^{ab}	18.1±0.2 ^{ab}	8.58±0.10 ^{bc}	0.33±0.01 ^a
Mozuku II	0.54±0.02 ^a	0.29±0.02 ^{ab}	17.4±0.2 ^{ab}	9.62±0.09 ^a	0.33±0.01 ^a
Polysaccharide I	0.52±0.01 ^a	0.27±0.01 ^{ab}	16.5±0.3 ^b	9.11±0.11 ^{ab}	0.29±0.02 ^b
Polysaccharide II	0.52±0.02 ^a	0.27±0.01 ^b	17.0±0.1 ^{ab}	8.44±0.18 ^c	0.31±0.00 ^{ab}
Ca Alginate I	0.51±0.01 ^a	0.27±0.01 ^{ab}	18.3±0.3 ^a	9.55±0.09 ^a	0.29±0.01 ^b
Ca Alginate II	0.53±0.02 ^a	0.28±0.01 ^a	17.6±0.4 ^{ab}	8.36±0.10 ^c	0.29±0.01 ^b
Ca Alginate III	0.55±0.02 ^a	0.30±0.02 ^a	17.3±1.3 ^{ab}	9.09±0.33 ^{ab}	0.30±0.02 ^{ab}

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

との間に正の相関関係 ($r=0.799$, $p<0.01$) が認められたが、第3節の傾向とは異なっていた。これは骨粗鬆症の実験飼料調製でCaとPの添加量は同一になるようにしたが、試料中のMg含量の違いの大きさによって、Mg添加量を揃えることが不可能であったためと思われる。

Low食群は他の食群に比べて飼料摂取量に差がみられなかったものの、Ca摂取量が低いために大腿骨中のCa含量および破断特性も低い値を示した。ALP活性値は、骨粗鬆症の場合でも正常範囲内にある⁸¹⁾とされているが、閉経後骨粗鬆症の場合は、骨代謝回転が高回転型となり、ALP活性値が上昇することがある⁸²⁾ことから、Low食およびMI食群は、閉経後骨粗鬆症の特徴が表われたものと思われる。また、多糖類食群間の中でPI食とPII群との間で差がみられた。すなわち、PI食群はControl食群と比較すると、大腿骨Ca含量、StrengthおよびToughnessの値において有意に低くなっていた。一方、PII食群は、Control食群と比べてCa摂取量が有意に低いにもかかわらず、大腿骨Ca含量、StrengthおよびToughnessの値において差がみられなかった。この結果はPolysaccharide食群のCa摂取量が他の群より低かったことが、要因の一つとして考えられる。骨組成にはCaとPがヒドロキシアパタイトの形態となって沈着する以外に、Mgやその他の無機質、さらにアミノ酸やビタミン等、種々の要因が影響することから、モズクから抽出した多糖に骨を強くする因子を

含んでおり、その結果、ToughnessでPⅡ食群が、Ca Alginate食群より高い値を示したと考えられる。さらにアルギン酸はマンヌロン酸とグルロン酸の比率の違いで、生理活性の強さにも差が出てくることから、市販アルギン酸とモズクから抽出した多糖類中に含まれるアルギン酸組成の違いもToughnessに影響を及ぼしたとも考えられる。本実験でToughnessにおいてCa Alginate食群がControl食群に比べて有意に低い値を示したのは、第Ⅲ章3節の考察にも述べた通り、食物繊維の機能とCa利用において陽イオン全量を吸収阻害するわけではなく、一部の吸収に留まるとしたが、本実験では飼料中のCa量0.3%としたことで、アルギン酸CaのCa吸収と阻害のバランスが後者に傾いたためではないかと考えられる。

Mozuku食とCa Alginate食群とを比較すると、大腿骨Ca含量では差がなかったが、破断特性のToughnessでCa Alginate食群が有意に低い値を示した。このことから、Ca Alginate食群より飼料中のCa添加量の1割ないし2割をオキナワモズクで添加した方が骨代謝改善に対して有効に作用することが示唆された。

5. 要約

本節において、モズク、モズクより抽出した多糖類およびアルギン酸Ca(市販試薬)が卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす

影響について検討した。その結果を要約すると以下の通りである。

(1) Ca量が0.3%で、そのうち1割ないし2割、オキナワモズクを添加した Mozuku食とCa Alginate食群を比較すると、大腿骨Ca含量では差が見られなかったが、ToughnessでCa Alginate食群が有意に低い値を示した。

(2) Control食、Mozuku食およびP II食の各群は、Ca Alginate食群とP I食群に比べ破断特性のToughnessにおいて有意に高い値を示した。

以上の結果、Mozuku食群のToughnessは炭酸CaにCa量の1割ないし2割、オキナワモズクを添加することで、アルギン酸Caより骨代謝への改善効果が高まることがわかった。またP II食群のToughnessにみられるように、モズクから抽出した多糖類もオキナワモズクよりやや劣るが、同様の効果が期待された。

第5節 卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす

アルギン酸Ca添加量の影響

1. 緒言

第3および第4節で卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に及ぼす

アルギン酸Caの影響を検討した結果、市販アルギン酸Caはその添加量と飼料のCa量によって、骨代謝への改善効果の異なることがわかった。本節では、アルギン酸Caの飼料中への添加量を変化させることで、骨代謝の改善効果に及ぼす影響を検討した。

2. 実験材料および方法

(1) 実験動物および飼育条件

供試動物として、5週齢のSD系雌ラット33匹を使用した。始めに固形試料を3日間給与し、飼育環境下に慣らした後、卵巣摘出手術を行ない、Low Ca食を30日間与え、骨粗鬆症モデルラットを作成した。その後、体重に差がないように、Preliminary食群（5匹）、CaCO₃ I食群、同II食群、Ca Alginate I食群、同II食群、同III食群（各6匹）の6群に分けた。先にPreliminary食群を解剖し、骨粗鬆症モデルラットになっているかを確認するため第3節2.(2)と同様に分析実験に供した。その後、残りの5群について各飼料を給与し、30日間飼育を行なった。飼育は、室温24±2℃、相対湿度65±5%、12時間毎の明暗サイクル（AM8:00～PM8:00、PM8:00～AM8:00）の条件で個別ケージで行なった。なお飼料および水（イオン交換水）は自由摂取とした。

(2) 飼料組成

飼料組成についてはTable 34に示すとおりで、Low Ca食については第4節と同様にした。アルギン酸Caの添加量を約7%および10%としたことより、飼料中のCa添加量は0.50%および0.75%となった。Ca量が0.50%である、CaCO₃ I食およびCa Alginate I食とCa量が0.75%である、CaCO₃ II食、Ca Alginate II食およびIII食を調製した。またセルロース添加の有無によってCa Alginate II食群およびIII食群とした。さらにCaとPの割合は1:1とした。

(3) 分析方法および統計処理

分析項目および方法と統計処理は第3節、2.と同様に行なった。

3. 実験結果

(1) 体重増加量、飼料およびCa摂取量について

Table 35に体重増加量、飼料およびCa摂取量を示した。体重増加量はCaCO₃ I食群が最も高い値を示し、CaCO₃ II食、Ca Alginate II食およびIII食群との間に有意差が認められた。飼料摂取量はCa Alginate I食群が同III食群より有意に高い値を示した。Ca摂取量については、CaCO₃ I食およびCa Alginate I食群がその他の3群より有意に低い値を示した。

(2) 尿および糞中Ca排泄量について

尿量、尿中Ca排泄量、糞重量および糞中Ca排泄量をTable 36に示

Table 34. Composition of experimental diets.

(%)

Compound	Low Ca	CaCO ₃ (C)		Ca Alginate(A)		
		I	II	I	II	III
	(Ca : P = 0.01:0.30)	0.50 : 0.50	0.75 : 0.75	0.50 : 0.50	0.75 : 0.75%	
Casein	20	20	20	20	20	20
Corn oil	10	10	10	10	10	10
Cellulose	4	4	4	4	4	-
Vitamin mixture ¹	1	1	1	1	1	1
Ca and P free mineral mixture ²	2	2	2	2	2	2
Equimolar mixture KH ₂ PO ₄ and K ₂ HPO ₄	1.500	2.504	3.706	2.504	3.706	3.706
CaCO ₃	0.025	1.338	1.984	-	-	-
Ca Alginate	-	-	-	6.820	10.230	10.230
α - Corn starch	61.475	59.158	57.260	53.676	49.014	53.014

¹ Vitamin mixture, (in mg) : retinol acetate, 100.0 ; cholecalciferol, 0.25 ; tocopherol acetate, 500.0 ; menadione, 520.0 ; thiamine hydrochloride, 120.0 ; riboflavin, 400.0 ; pyridoxine hydrochloride, 80.0 ; cyanocobalamin, 0.05 ; L-ascorbic acid, 3,000.0 ; D-biotin, 2.0 ; folic acid, 20.0 ; calcium pantothenate, 500.0 ; ρ -amino benzoic acid, 500.0 ; nicotinic amide, 600.0 ; inositol, 600.0 ; choline chloride, 20,000.0 ; cellulose powder, 73,057.7.

² Ca and P free mineral mixture, (in %) : K₂SO₄, 16.42 ; NaCl, 9.2 ; Fe-citrate, 3.18 ; MgSO₄, 7.17 ; ZnCO₃, 0.11 ; MnSO₄ · 4~6H₂O, 0.12 ; CuSO₄ · 5H₂O, 0.03 ; KI, 0.01 ; cellulose powder, 63.76.

Table 35. Effect of experimental diets on body weight gain and food intake.

Groups	Body weight		Intake	
	Initial (g)	Gain (g/30days)	Food (g/day)	Ca (mg/day)
Preliminary	142.2 ± 4.0	157.2 ± 10.3	18.3 ± 1.0	4.2 ± 0.2
CaCO ₃ I	289.3 ± 7.5	98.3 ± 4.7 ^a	20.4 ± 0.8 ^{ab}	102.2 ± 4.1 ^b
CaCO ₃ II	289.0 ± 7.4	76.8 ± 7.9 ^{bc}	20.4 ± 0.8 ^{ab}	153.2 ± 5.7 ^a
Ca Alginate I	289.3 ± 6.9	89.7 ± 5.3 ^{ab}	20.8 ± 0.4 ^a	101.0 ± 2.1 ^b
Ca Alginate II	288.8 ± 9.3	81.0 ± 5.6 ^{bc}	20.4 ± 0.8 ^{ab}	154.8 ± 6.0 ^a
Ca Alginate III	289.3 ± 6.1	70.8 ± 5.7 ^c	18.7 ± 0.7 ^b	143.4 ± 5.7 ^a

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 36. Urine and fecal excretion of Ca.

Groups	Urine		Feces	
	Volume (mℓ/day)	Ca (mg/day)	Dry weight (g/day)	Ca (mg/day)
Preliminary	27.4±8.8	0.62±0.16	1.09±0.10	0.2±0.0
CaCO ₃ I	13.8±2.1	0.06±0.53	1.52±0.10 ^c	58.5±3.9 ^c
CaCO ₃ II	19.4±3.1	0.64±0.06	1.71±0.11 ^c	98.3±8.0 ^{ab}
Ca Alginate I	9.8±1.2	0.68±0.14	2.08±0.09 ^b	64.9±2.0 ^c
Ca Alginate II	13.3±0.9	0.63±0.08	2.67±0.16 ^a	108.4±5.5 ^a
Ca Alginate III	19.0±6.5	0.62±0.08	1.78±0.08 ^{bc}	92.7±4.9 ^b

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

した。尿量および尿中Ca排泄量で、いずれの群においても有意な差は認められなかった。糞重量において、Ca Alginate II 食群は最も高い値を示し、その他の4群との間に有意差が認められた。またCa Alginate I 食群はCaCO₃食群より有意に高い値を示した。糞重量の最も高かったCa Alginate II 食群は、糞中Ca排泄量においても最も高い値を示し、CaCO₃II 食群を除く、その他の群との間で有意差が認められた。またCa Alginate III 食群とCaCO₃ I 食およびCa Alginate I 食群との間でそれぞれ有意差が認められた。

(3) 見かけのCa吸収率および保留率について

Table 37に見かけのCa吸収率および保留率を示した。見かけのCa吸収率においては、CaCO₃ I 食群が最も高い値を示し、他の4群との間に有意な差が認められ、Ca Alginate II 食群では、CaCO₃II 食群に比べ有意に低い値を示した。Ca保留率においても吸収率と同様な結果が得られた。

(4) 血清Ca, P濃度およびALP活性値について

血清Ca, P濃度およびALP活性値をTable 38に示した。血清Ca濃度は、最も高い値を示したCa Alginate I 食群と最も低い値を示したCa Alginate II 食群との間に有意差が認められた。P濃度は、Ca Alginate III 食群がCaCO₃食群より有意に高い値であった。ALP活性値については、CaCO₃ I 食群が同II食, Ca Alginate II および同III 食群に比べ有意に高い値を示した。

Table 37. Apparent Ca absorption and retention rate.

Groups	Absorption rate (%)	Retention rate (%)
Preliminary	94.9 ± 0.9	80.5 ± 3.0
CaCO ₃ I	43.7 ± 1.8 ^a	42.6 ± 1.6 ^a
CaCO ₃ II	36.2 ± 3.4 ^b	35.8 ± 3.4 ^b
Ca Alginate I	35.8 ± 1.2 ^{bc}	35.1 ± 1.3 ^{bc}
Ca Alginate II	30.1 ± 1.8 ^c	29.7 ± 1.9 ^c
Ca Alginate III	35.5 ± 1.1 ^{bc}	35.1 ± 1.1 ^{bc}

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 38. Levels of serum Ca, P and ALP.

Groups	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	ALP (KAU)
Preliminary	9.25 ± 0.29	7.66 ± 0.43	39.4 ± 2.0
CaCO ₃ I	9.48 ± 0.16 ^{ab}	5.66 ± 0.16 ^b	36.8 ± 3.9 ^a
CaCO ₃ II	9.24 ± 0.23 ^{ab}	5.74 ± 0.18 ^b	20.1 ± 2.6 ^b
Ca Alginate I	9.78 ± 0.24 ^a	6.61 ± 0.40 ^{ab}	28.4 ± 3.7 ^{ab}
Ca Alginate II	8.82 ± 0.38 ^b	6.85 ± 0.81 ^{ab}	23.2 ± 2.5 ^b
Ca Alginate III	9.50 ± 0.26 ^{ab}	8.09 ± 0.69 ^a	22.2 ± 2.0 ^b

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

(5) 大腿骨の骨長および骨幅について

Table 39に骨長および骨幅を示した。骨長および骨幅の短径は、いずれの群においても同様な値を示し、有意な差はみられなかった。骨幅の長径は、Ca Alginate I 食群が最も高い値を示し、他の4群との間に有意な差がみられた。

(6) 大腿骨破断特性について

大腿骨破断特性をTable 40に示した。StrengthはCaCO₃ I 食群、ついでCa Alginate II 食群が高い値を示していた。DuctilityはCa Alginate I 食群は最も高い値で、CaCO₃ II 食群との間に有意差が認められた。StiffnessではCa Alginate I, 同II 食群がCaCO₃ II 食およびCa Alginate III 食群との間にそれぞれ有意差を示した。ToughnessはCaCO₃ II 食群がCa Alginate食群より有意に高い値を示した。

(7) 大腿骨Ca, PおよびMg含量について

Table 41に大腿骨重量, Ca, PおよびMg含量を示した。大腿骨重量については、乾燥および灰分ともに、いずれの群においても有意差は認められなかった。大腿骨Ca含量は、Ca Alginate III 食群が最も高く、CaCO₃ I 食およびCa Alginate I 食群との間に有意な差を示し、一方、Ca Alginate I 食群は最も低い値を有し、CaCO₃ I 食およびCa Alginate II 食群との間にそれぞれ有意な差を示した。大腿骨P含量は、最も高い値を示したCaCO₃ I 食群が、Ca Alginate I お

Table 39. Length and width of left femur.

Groups	Length	Width(diameter)	
		Long (mm)	Short
Preliminary	33.9 ± 0.3	4.06 ± 0.14	2.98 ± 0.12
CaCO ₃ I	36.3 ± 0.4	4.29 ± 0.07 ^b	3.28 ± 0.05
CaCO ₃ II	36.4 ± 0.4	4.15 ± 0.04 ^b	3.30 ± 0.06
Ca Alginate I	36.5 ± 0.4	4.59 ± 0.10 ^a	3.22 ± 0.09
Ca Alginate II	36.6 ± 0.4	4.17 ± 0.13 ^b	3.21 ± 0.04
Ca Alginate III	36.3 ± 0.4	4.28 ± 0.11 ^b	3.19 ± 0.06

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 40. Mechanical properties of left femur.

Groups	Strength ($\times 10^3$ N)	Ductility ($\times 10^3$ m)	Stiffness ($\times 10^3$ N/m)	Toughness ($\times 10^3$ J)
Preliminary	27.6 \pm 2.0	2.41 \pm 0.11	30.6 \pm 2.7	44.5 \pm 4.1
CaCO ₃ I	131.4 \pm 6.3	0.75 \pm 0.04 ^{ab}	216.6 \pm 6.3 ^{ab}	60.1 \pm 7.4 ^{ab}
CaCO ₃ II	123.8 \pm 6.4	0.88 \pm 0.10 ^a	207.4 \pm 9.0 ^a	79.3 \pm 10.8 ^b
Ca Alginate I	121.5 \pm 5.3	0.62 \pm 0.07 ^b	233.0 \pm 10.7 ^b	50.3 \pm 9.1 ^a
Ca Alginate II	124.7 \pm 5.1	0.73 \pm 0.08 ^{ab}	236.5 \pm 7.8 ^{ab}	59.7 \pm 9.0 ^a
Ca Alginate III	128.8 \pm 5.9	0.81 \pm 0.07 ^a	205.9 \pm 6.2 ^{ab}	70.3 \pm 9.2 ^b

Values (means \pm SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 41. Ca, P and Mg contents of left femur.

Groups	Weight		Content		
	Dry	Ash	Ca	P	Mg
	————(g)————		————(mg/100mg of dry femoral bone)————		
Preliminary	0.30±0.01	0.12±0.01	13.9±0.3	6.46±0.15	0.22±0.01
CaCO ₃ I	0.56±0.01	0.30±0.01	18.5±0.2 ^{bc}	7.91±0.33 ^a	0.25±0.01 ^a
CaCO ₃ II	0.56±0.01	0.30±0.01	18.8±0.4 ^{ab}	7.61±0.25 ^{ab}	0.19±0.01 ^b
Ca Alginate I	0.58±0.02	0.30±0.01	18.0±0.2 ^c	7.01±0.17 ^b	0.24±0.01 ^a
Ca Alginate II	0.56±0.02	0.29±0.01	19.1±0.4 ^{ab}	7.23±0.25 ^b	0.18±0.01 ^b
Ca Alginate III	0.57±0.02	0.30±0.01	19.5±0.2 ^a	7.68±0.11 ^{ab}	0.18±0.01 ^b

Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

よび同Ⅱ食群との間で有意差が認められた。大腿骨Mg含量は、CaCO₃Ⅰ食およびCa Alginate Ⅰ食群が、その他の3群との間にそれぞれ有意な差を示した。

4. 考 察

Ca Alginate Ⅲ食群で体重増加量が最も低い値を示したのは、飼料摂取量でも低い値を示したことから、飼料100g当りのエネルギー量が低かったためと思われる。本実験では、飼料中のCa添加量が、0.50および0.75%であったことからCa摂取量の差がみられた。Ca Alginate Ⅱ食群において、糞重量および糞中Ca排泄量ともに高い値を示したが、これはCa Alginate Ⅱ食中のアルギン酸Ca添加量が10.23%、さらにセルロースが4%と食物繊維分を他の4群より多く含んでいたためと考えられる。またCa添加量が0.75%のCaCO₃Ⅱ食、Ca Alginate Ⅱ食および同Ⅲ食はCa摂取量が多くなる分、排泄量も多くなったと考えられる。CaCO₃Ⅰ食群の見かけのCa吸収率と保留率が最も高くなったのは、尿および糞中への排泄量が少なかったこと、またCa Alginate Ⅱ食群が最も低い値を示したのは、糞中Ca排泄量が高いことと関連しており、ここでもやはり飼料中の食物繊維含量が他の群と比べて3~10%と多かったためと思われる。血清CaおよびP濃度において、いずれの食群も正常値範囲内であったが、血

清Ca濃度でCa Alginate II食と同I食群間に有意差が認められた。これはCa Alginate II食と同I食群を比較すると、Ca Alginate II食群はCa摂取量がCa Alginate I食群より有意に高いが、糞中Ca排泄量も有意に高いことから、Ca吸収率が低くなり、血清Ca濃度が低値を示したと思われる。0.5%Ca添加のCaCO₃I食およびCa Alginate I食群は、0.75%Ca添加した群より血清中のALP活性値が高く、糞中Ca排泄量は、これと逆の結果を示し、両者間で負の相関関係 ($r=-0.399$, $p<0.05$) が認められた。一般に骨疾患があると、血清中のALP活性値は上昇するが、0.5%Ca添加群であるCaCO₃I食およびCa Alginate I食群は、0.75%Ca添加群よりCa摂取量が有意に低いため、骨中から血液中へのCa溶出が進み、それにともなって、血清中のALP活性値が上昇し、また同時に血清中のCa濃度を維持しようとするため、糞中へのCa排泄量が低くなったと推察される。また大腿骨Ca含量は糞中Ca排泄量との間に正の相関 ($r=0.496$, $p<0.01$) が認められたが、これは糞中に排泄されたCaが、小腸腸管内に吸収されずそのまま排泄されたもので、糞中Ca排泄量が高いと吸収率は下がることから、生体は吸収したCaを効率よく利用しようとするため、大腿骨Ca含量が高くなったと推察される。Ca摂取量と大腿骨Ca含量との間に相関関係は認められなかったものの、同食群間においては0.75%Ca添加した群が0.5%Ca添加した群より高い値を示した。大腿骨Ca含量が、0.5%Ca添加した群ではCaCO₃食群の方が

高い傾向を示すが、0.75%Ca添加した群では逆にCa Alginate食群の方が高くなる傾向を示した。本実験において、ToughnessはStrengthおよびDuctilityとそれぞれ正の相関関係 ($r=0.491$, $p<0.01$, $r=0.915$, $p<0.01$) を示し、Stiffnessとは負の相関関係 ($r=-0.531$, $p<0.01$) にあったことから、Toughnessは骨の物理的強さを表わす総合評価の指標になるものと考えられる。また、StiffnessはDuctilityとの間においても負の相関関係 ($r=-0.575$, $p<0.01$) を示していた。Ca Alginate食群は、0.5%Ca添加群間ではCaCO₃食群より大腿骨Ca含量、Strength、Ductility、Toughnessともに低い値を示すが、0.75%Ca添加群でセルロース無添加のCa Alginate III食群になると、同じCa添加量のCaCO₃食群より大腿骨Ca含量が高く、破断特性のいずれの項目についても、ほぼ同様の値を示す傾向がみられた。従って、用いるCa給源によって、その生体（本実験では卵巣摘出骨粗鬆症モデルラット）にとって、最も骨代謝改善効果を示す適量があると考えられた。また、大腿骨Ca含量およびP含量との間に正の相関関係 ($r=0.491$, $p<0.01$) が認められ、第4節と同様の傾向を示し、骨中におけるCaとPの動態はほぼ同じであることが示唆されたが、Mg含量についてはCa含量と相関関係はみられなかった。これはMgが骨のリン酸Ca結晶の表面に存在しており、さらに骨で1 mmolのCa出納があるとき、Pは0.6mmol、Mgはわずかに0.03mmolの出納にすぎないことと、大腿骨のほとんどがリン酸

Caの形態である⁷⁵⁾ことから、骨におけるCaとMgの変動傾向が異なっているのではないかと考えられる。

5. 要約

本節においては、アルギン酸Caの飼料中への添加量を変化させることで、卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす影響を検討した。その結果を要約すると下記の通りである。

(1) Ca添加量が同じ場合は、大腿骨Ca含量に差を示さないが、同食群間で比較するとCa Alginate食群で、0.75%Ca添加群が0.5%Ca添加群より有意に高い値を示していた。

(2)さらに、Ca添加量が同じ場合、大腿骨Ca含量において、0.75%Ca添加群間ではCa Alginate食が、0.5%Ca添加群間ではCaCO₃食群の方が高くなる傾向がみられた。

(3)Toughnessの値はStrengthおよびDuctilityの各値とそれぞれ正の相関関係がみられたが、Stiffnessの値とは負の相関関係がみられた。

以上のことから、用いるCa給源によって、その生体（本実験では卵巣摘出骨粗鬆症モデルラット）にとって、最も骨代謝改善効果を示す適量があるものと考えられた。

第6節 小括

本章で得られた結果を要約すると以下の通りである。

- 1) Konbu食群はControl食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高い値を示し、OVX群間においては、Konbu食は破断特性試験のStrength, Stiffness, およびToughnessにおいてControl食群より高い値を示したことから、ナガコンブは卵巣摘出ラットに対してCa供給源として有効であることが明らかとなった。
- 2) Mozuku食群間において大腿骨Ca含量はADM食群の方が有意に高い値を示したが、破断特性のStrengthでは2%、Toughnessでは11%、Ash食群の方が高い値を示したことより、風乾モズクは添加量を考慮する必要があるということがわかった。またCa Alginate食群はControl食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高い値を示し、破断特性試験のToughnessにおいては、7%高値を示したことより、アルギン酸Caは骨代謝改善に対して高い効果を有することが明らかとなった。
- 3) Ca量が0.3%で、そのうち1割ないし2割、オキナワモズクを添加したMozuku食とCa Alginate食群を比較すると、大腿骨Ca含量では差が見られなかったが、ToughnessでCa Alginate食群が有意に低い値を示したことより、Mozuku食群のToughnessは炭酸CaにCa量の1割ないし2割、オキナワモズ

クを添加することで、アルギン酸Caより骨代謝への改善効果が高まることがわかった。また、Control食、Mozuku食およびP II食の各群は、Ca Alginate食群とP I食群に比べ破断特性の Toughnessにおいて有意に高い値を示したことよりP II食群の Toughnessにみられるように、モズクから抽出した多糖類もオキナワモズクよりやや劣るが、同様の効果が期待された。

- 4) さらに、Ca添加量が同じ場合、大腿骨Ca含量において、0.75 %Ca添加ではCa Alginate食が、0.5%Ca添加ではCaCO₃食群の方が高くなる傾向がみられたことより、用いるCa給源によって、その生体（本実験では卵巣摘出骨粗鬆症モデルラット）にとって、最も骨代謝改善効果を示す適量があるものと考えられた。

第IV章 オキナワモズクに存在するフコイダンの分離・同定

1. 緒言

海藻に含まれる多糖類は種類が多く、なかでも寒天、カラゲナン、アルギン酸等は食品工業、医薬品および化粧品など幅広く利用されている^{12~14)}。さらに褐藻類の細胞間粘質多糖には、L-フコースとエステル化硫酸が主体となり、これにガラクトース、キシロース、グルクロン酸等を少量含む硫酸化多糖のフコイダンがある⁸³⁾。フコイダンの含量は、コンブ科の1~2%からヒバマタ科の20%まで（対乾量）あり、海藻の種類によっても違いがあり、また生育場所によっても異なる。乾燥状態に長くさらされるような場所に生育するものは、フコイダンの成分含量が高く、季節による変動の差や海藻の種類によって異なることが報告されている⁸⁴⁾。これまで、富士川ら^{85,86)}や西出ら²³⁾によって、モズク、フトモズク、オキナワモズクを含む褐藻類におけるフコイダンの分離・抽出が行われ、フコイダンの含有量とその構成成分について報告されているが、上述のように同じ藻体でも様々な要因によって組成が変わることが知られていることから、本章でもオキナワモズクからフコイダンを分離・同定し、その化学成分と物理化学的性質について検討を行った。

2. 実験材料の調製および分析方法

(1) 実験材料の調製

1) 粗フコイダンの調製方法

Blackらの方法⁸⁷⁾を参考にしてFig. 6に示すとおり、乾燥オキナワモズクから粗フコイダンを抽出した。すなわち乾燥試料を5g採取し、0.2N塩酸750mlを加え、一夜室温にて攪拌抽出し、吸引ろ過後、抽出液を1.0N水酸化Naで中和し、セライト545を通した後、減圧濃縮(40℃)を行ない、その2倍量のエタノール加え、遠心分離(6,000rpm, 15分)後、沈殿物をエタノールで脱水し、減圧乾燥させ粗フコイダンを調製した。

2) フコイダンの精製方法⁸⁸⁾

フコイダンの精製はFig. 7に示す方法で行なった。すなわち粗フコイダン1gを100mlの蒸留水に溶解し、一夜蒸留水中で透析を行なった後、4M塩化Caを加え沈殿ができないのを確認後、セライト545を通した。そのろ液に2%CPC(セチルピリジニウムクロライド)溶液を加え、遠心分離(6,000rpm, 20分)を行ない白濁沈殿物を得た。得られた沈殿物を蒸留水で洗浄し、4M塩化Ca溶液(100ml)中で一晩攪拌後、吸引ろ過し、再度透析した後濃縮して凍結乾燥を行ない以下の実験に供した。

(2) 分子量の測定

Okinawamozuku
(*Cladosiphon okamuranus* Tokida)

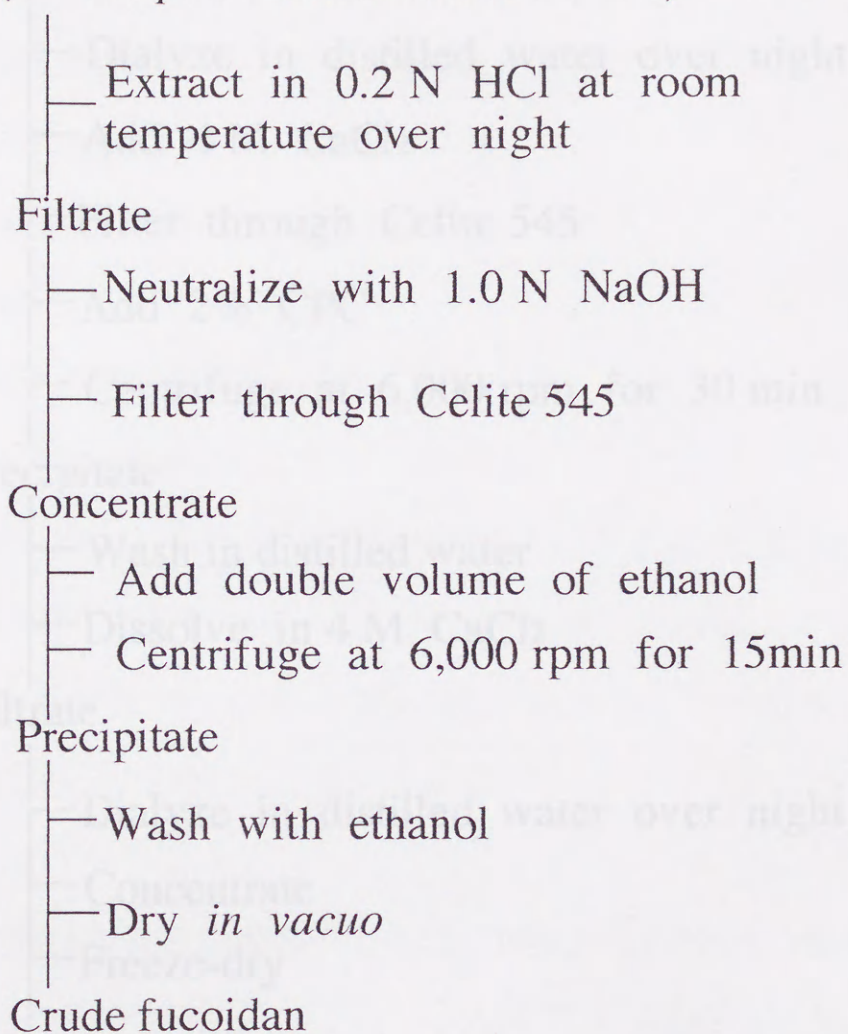


Fig. 6. Extraction of crude fucoidan from Okinawamozuku.

Crude fucoïdan

- Dissolve in distilled water over night
- Dialyze in distilled water over night
- Add 4 M CaCl₂
- Filter through Celite 545
- Add 2% CPC
- Centrifuge at 6,000 rpm for 30 min

Precipitate

- Wash in distilled water
- Dissolve in 4 M CaCl₂

Filtrate

- Dialyze in distilled water over night
- Concentrate
- Freeze-dry

Purified fucoïdan

Fig. 7. Purification of fucoïdan.

オキナワモズクから抽出した精製フコイダン（以下フコイダンとする）の分子量は高速ゲル濾過法によって行なった。分析条件は下記のとおりである。

機 種：高速液体クロマトグラフSCL-6B（島津製作所）

カラム：Superose12HR(10×300mm)

溶出液：50mMリン酸緩衝液（pH7.0）

流 速：0.2ml/min

発色法：システイン硫酸法⁸⁹⁾

(3)フコイダンの加水分解

精製フコイダン50mgを20mlの蒸留水に溶解し、2.0N硫酸になるように調製して100℃で2時間加熱した。加水分解液を炭酸Baで中和して、陰イオン交換樹脂IRA-400でウロン酸を除去し、その溶液の濃縮を行ない構成糖の同定に供した。

(4)構成糖の同定

フコイダン加水分解物の構成糖の同定は、Whatman No.5の濾紙を使用して、下記の条件でペーパークロマトグラフィーを行なった。

溶 媒： n -ブタノール：エタノール：水=4：1：5

展開法： 上昇法

発色剤： アニリン水素フタレート試薬

さらに、高速液体クロマトグラフ（島津SCL-6B）を使用して、構成糖の同定を行なった。分析条件は下記の通りである。

分析カラム：Shim-pack ISA-07 (4.0×250mm)

移動相：A液 0.1Mホウ酸 (pH8.0)

B液 0.1Mホウ酸 (pH9.0)

A液100%からB液100%へ2%/minの

直線グラジエント溶出

流量：0.6ml/min

温度：65℃

検出：ポストカラム蛍光検出

反応試薬：1%L-アルギニン，3%ホウ酸

(5)全糖，ウロン酸，硫酸および水分の定量

全糖およびウロン酸の定量はフェノール硫酸法⁷⁷⁾およびカルバゾール硫酸法⁷⁸⁾で行なった。硫酸の定量はバリウム沈殿法⁸⁰⁾で行ない，水分は恒温器で100℃，24時間乾燥後定量した。

(5)旋光度および赤外吸収スペクトル

旋光度は自動旋光計DIP-180 (日本分光) で，赤外吸収スペクトルは赤外分光光度計IR-440 (島津製作所) を使用し，KBr錠剤にして測定した。

3. 実験結果

(1)オキナワモズクからフコイダンを分離することについて

オキナワモズクを水道水で洗浄・脱塩後、通風乾燥器（38℃）で24時間乾燥を行なうと、重量が約6.0%に減少した。乾燥したオキナワモズク5 gに750mlの蒸留水を加え、0.2N塩酸溶液で抽出を行なうと、1.8~2.3 gの粗フコイタンを得た。粗フコイタンの精製はCPC法を2回繰り返して行なったが、湿潤モズクから1.5から1.8%の収率でフコイタンを調製した。

(2)フコイタンの化学成分について

精製フコイタンの化学成分をTable 42に示した。全糖およびウロン酸含量をフェノール硫酸およびカルバゾール硫酸法で測定すると、それぞれ67.8および13.5%であった。また灰分は23.0%存在することが認められ、硫酸含量は11.9%であった。さらに水分は3.2%含まれていた。

(3)フコイタンの分子量について

精製フコイタンの分子量を明らかにするため、高速ゲル濾過を行ない、結果をFig. 8に示した。クロマトグラムは単一の明瞭なピークを示した。分子量の異なるデキストランについて比較を行なった結果から、本フコイタンの分子量は500,000以上と推定された。

(4)構成糖の同定について

フコイタンの酸加水分解物のペーパークロマトグラムをFig. 9に示した。比較のため標品のフコイタン（*Fucus vesiculosus*より抽出，Sigma Chemical CO.）についても同様に加水分解を行ない、クロマ

Table 42 Chemical components of fucoidan isolated from Okinawamozuku.

	% (W/W)				
	Carbohydrates	Uronic acids	Ash	Sulfuric acid	Moisture
Fucoidan	67.2	13.5	23.0	11.9	3.2

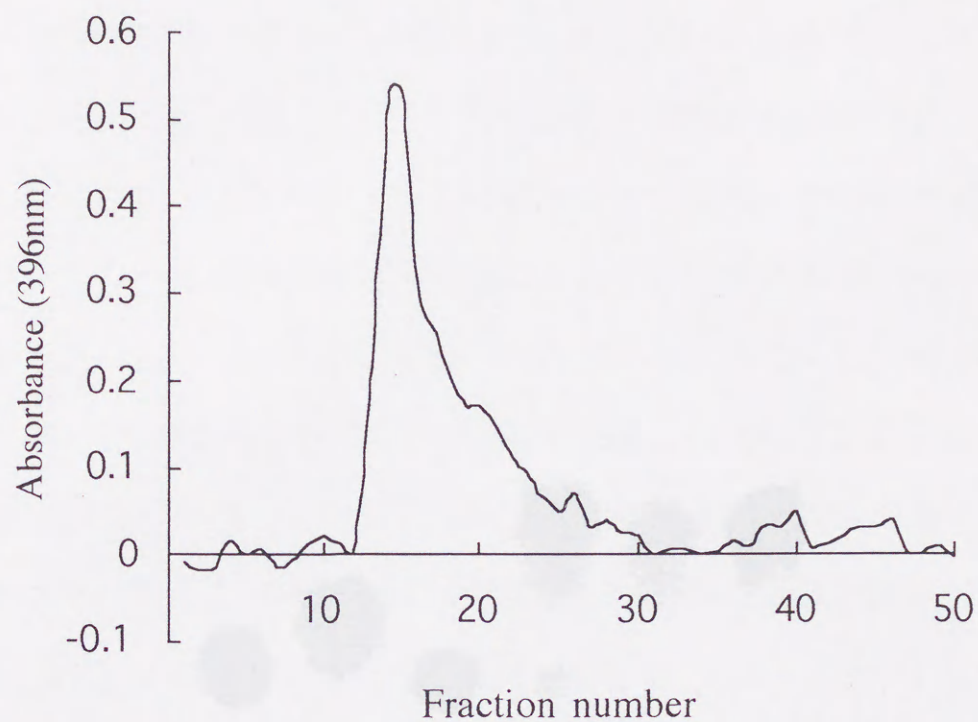


Fig. 8. Gel chromatogram of fucoidan isolated from Okinawamozuku.

Instrument, SCL-6B (Simadzu Seisakusho Co., Ltd) ;
 Column, Superose 12HR 10/30 ; Eluent, 50mM
 phosphate buffer (pH 7.0) ; Eluent speed, 0.2ml/min.

トグラム4に示した。いずれのクロマトグラムにも標品のL-フコースのR_F値と完全に一致するスポットが認められた。標品のフコイダンの分解物にはほかにD-ガラクトースと一致するスポットが認められたが、オキナワモズクから分離したフコイダンの分解物には認められなかった。Fig. 10にフコイダンの加水分解物の高速液体クロマトグラムを示した。クロマトグラムに著しく大きいピークが認められ、標品のL-フコースの保持時間と完全に一致した。また前述のペーパークロマトグラム (Fig. 9) には認められなかった小さいピークが検出されたが、これはD-キシロースの保持時間と一致した。さらにピーク面積比から、L-フコースとD-キシロースの割合が10:1であった。液体クロマトグラム (Fig. 10) とThin Layer Chromatography (Fig. 9) の結果 (11.9%) から、L-フコースとD-キシロースの割合は39:10:0.9:0.1であった。以上の結果から、オキナワモズク由来のフコイダンの加水分解物であることが明らかになった。

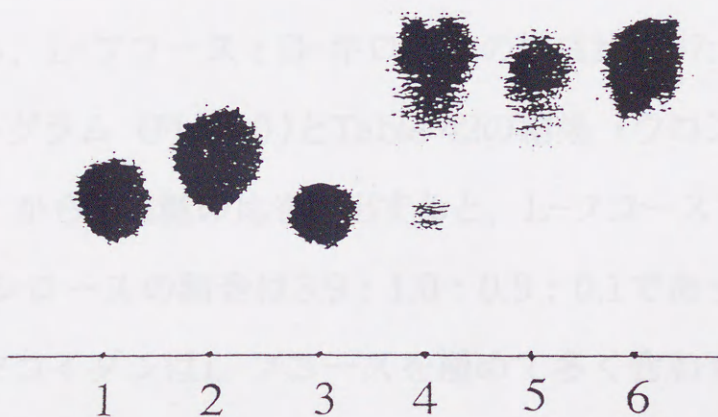


Fig. 9. Paper chromatogram of hydrolyzed fucoidan isolated from Okinawamozuku.

1. D-glucose; 2. D-mannose; 3. D-galactose;
4. Standard (Fucoidan from *Fucus vesiculosus*, Sigma Chemical Co.); 5. Sample; 6. L-fucose.

Solvent system : *n*-butanol: ethanol:water (4:1:5)

Sprayed with conc. Aniline hydrogen phthalate

トグラム4に示した。いずれのクロマトグラムにも標品のL-フコースのRf値と完全に一致するスポットが認められた。標品のフコイダンの分解物にはほかにD-ガラクトースと一致するスポットが認められたが、オキナワモズクから分離したフコイダンの分解物には認められなかった。Fig. 10にフコイダンの加水分解物の高速液体クロマトグラムを示した。クロマトグラムに著しく大きいピークが認められ、標品のL-フコースの保持時間と完全に一致した。また前述のペーパークロマトグラム (Fig. 9) には認められなかった小さいピークが検出されたが、これはD-キシロースの保持時間と一致した。さらにピーク面積比から、L-フコース : D-キシロースの構成比は97:3であった。液体クロマトグラム (Fig. 10) とTable 42の結果 (ウロン酸 13.5%, 硫酸 11.9%) から構成糖の比を算出すると、L-フコース : ウロン酸 : 硫酸 : D-キシロースの割合は3.9 : 1.0 : 0.9 : 0.1であった。以上の結果から、フコイタンはL-フコースを極めて多く含む多糖であることが明らかになった。

(5) 旋光度について

フコイタン (0.2%) の測定結果をTable 43に示した。フコイタンを70℃で溶解後、徐々に温度を低下させながら589nmの波長で測定した。旋光度は、60℃で -0.364° を有し、温度の低下に伴って徐々に減少し、10℃で -0.351° を示した。この結果は、標品のフコイタンのそれらとほぼ一致した。

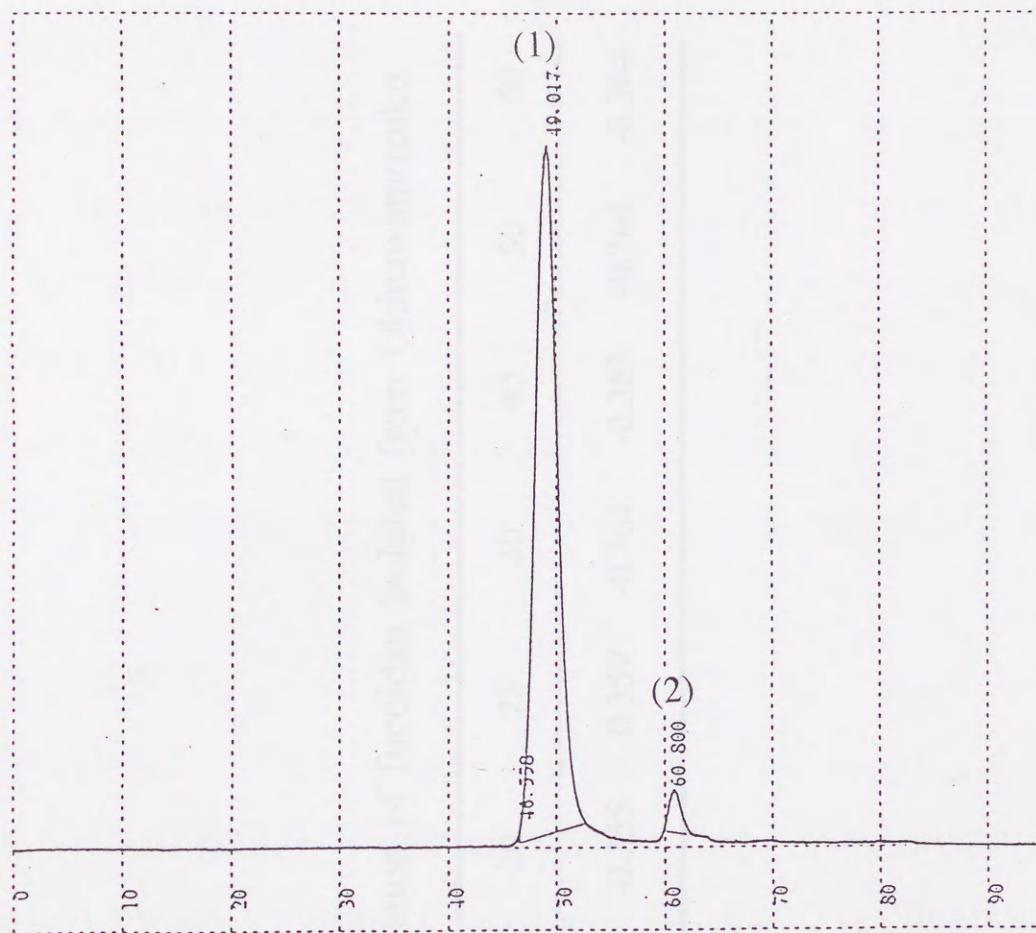


Fig. 10. Liquid chromatogram of hydrolyzed fucoidan isolated from Okinawamozuku.

(1) L-fucose; (2) D-xylose.

Instrument, SCL-6B (Shimadzu Seisakusho Co., Ltd);
 Column, Shin pack ISA-07 (4.0×250 mm) ; Eluent, 0.1-
 0.4 M borate ; Eluent speed, 0.6ml/min ; Temperature,
 65°C

Table 43. Optical rotation of fucoidan isolated from Okinawamozuku.

Temperature(°C)	10	20	25	30	40	50	60
α degrees	-0.351	-0.355	-0.359	-0.361	-0.363	-0.364	-0.364

c, 0.2% in water. 589nm.

(6)赤外吸収スペクトルについて

フコイダンおよびその標品 (Sigma Chemical CO.) の赤外吸収スペクトルをFig. 11に示した。3,400および2,900 cm^{-1} の吸収はそれぞれOHおよびCHに起源するものである。カルボン酸由来の吸収は1,620と1,420 cm^{-1} に認められ⁹¹⁾、フコイダンはウロン酸を含むことが化学分析の結果に加え、ここでも認められた。また1,240 cm^{-1} の吸収でエステル結合が存在していることが示された。標品についても同様に1,240 cm^{-1} で吸収が認められた。フコイダンは広い波数領域(5,000から700 nm)で標品のフコイダンとほぼ一致した。

4. 考察

今回用いたオキナワモズクの湿潤試料から、1.5~1.8%の収率でフコイダンを調製した。褐藻類にはアルギン酸も多量存在することが知られている¹⁾が、本藻からの抽出において0.2N塩酸で攪拌することによって、アルギン酸は溶出されないことがわかった。CPC溶液で沈殿させたフコイダンを水溶性に変換する際にもアルギン酸の混入を防ぐため、4.0Mの塩化Caに溶解して本多糖を調製した。オキナワモズクから、このような方法で精製したフコイダンは、分子量が500,000以上であった。また本多糖はL-フコース：ウロン酸：硫酸が3.9：1.0：0.9の比率で構成することおよびD-キシロースを含んでいることが明らかとなり、西出ら²³⁾の報告したオキナワモズクではD-

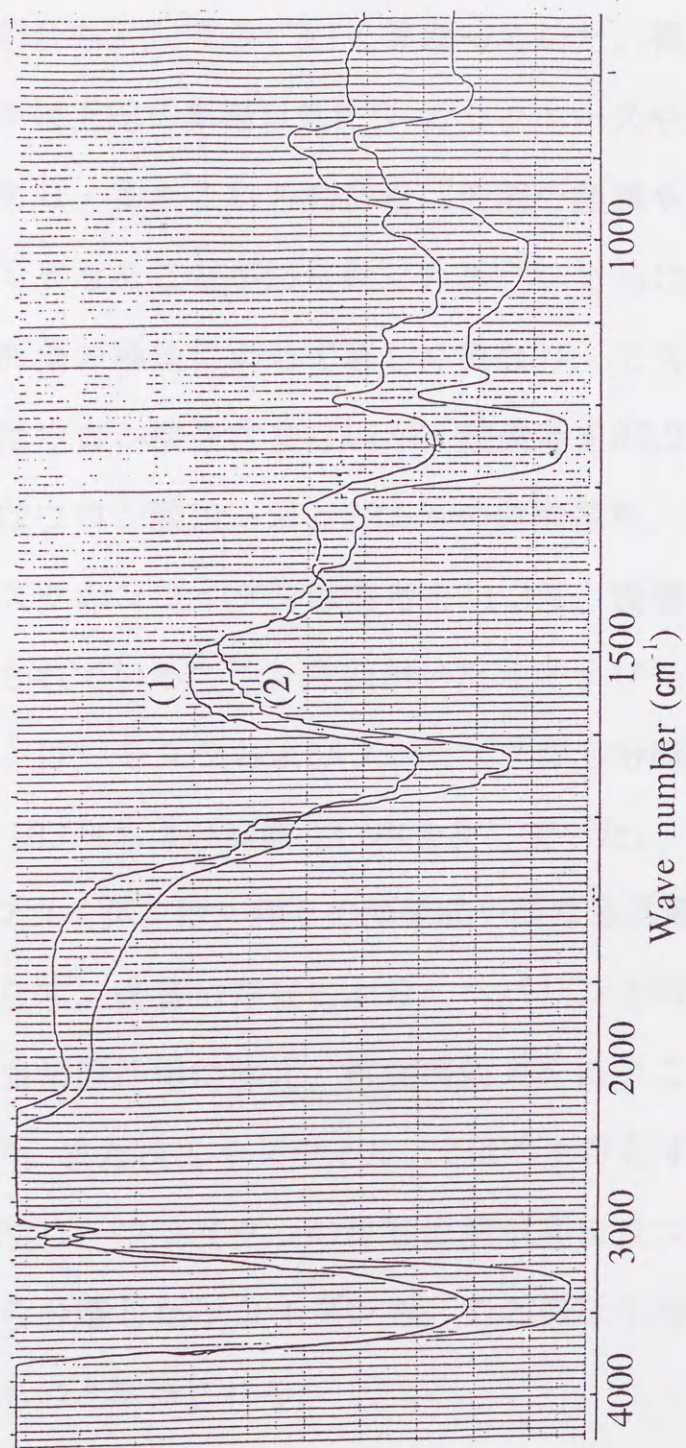


Fig. 11. Infrared spectra of fucoidan isolated from Okinawamozuku.

(1) Fucoidan from Okinawamozuku; (2) Standard (Fucoidan from
Fucus vesiculosus, Sigma Chemical Co.) .

キシロースが確認されておらず、さらにフコース：ウロン酸：硫酸の割合も3.5：1.0：3.1と異なっていた。褐藻類から得られるフコイタンは上記の単糖以外にD-ガラクトースやD-マンノースを含むものがあり、またこれらの含量は海藻の種類や、収穫した時期により著しく異なることが知られている^{1,92)}。さらに硫酸およびウロン酸含量も海藻の種類によって著しく異なり、モズクから分離したフコイタンはウロン酸を含まないが、硫酸基を35.2%含み、フトモズクの場合はウロン酸11.5%と22.5%の硫酸基を、西出の抽出したオキナワモズクのフコイタンは前者を11.3%、後者を33.5%有することが報告されている^{85,86)}。今回用いたオキナワモズクから分離したフコイタンは、モズクおよびフトモズクから分離したそれと異なりウロン酸 13.5%および硫酸 11.9%を有していた。

フコイタンは、種々の糖組成や異なる含量の硫酸基を持つにもかかわらず、後者の存在により、ヘパリンと同様の血液凝固阻止作用や脂血清澄作用に加え、抗腫瘍効果を持つことが明らかにされている^{93,94)}。また抗エイズウィルス作用⁹⁵⁾も存在することが報告されるようになり、フコイタンの付加価値が高まりつつある。オキナワモズクから分離したフコイタンも、このような生理活性を有する可能性があるものと期待される。

5. 要約

沖縄県で、養殖により生産されているオキナワモズクからフコイダンを分離し、その化学成分と物理化学的性質を調べ、以下の結果を得た。

オキナワモズク（湿潤）から1.5~1.8%の収率で薄褐色のフコイダンを分離した。本フコイダンの全糖、ウロン酸、灰分、硫酸、および水分含量は、それぞれ67.2, 13.5, 23.0, 11.9および3.2%であった。また分子量は500,000以上であることが推定された。またペーパーおよび高速液体クロマトグラフィーの結果よりL-フコースとD-キシロースを同定した。さらに本フコイダンの水溶液（0.2%）の旋光度は、60℃で -0.364° を有し、温度の低下に伴って徐々に減少した。赤外吸収スペクトルは硫酸を含む多糖の特性を示し、広い波数領域で標品のフコイダンとほぼ一致した。従って、オキナワモズクのフコイダンはL-フコース、ウロン酸、硫酸およびD-キシロースから成ることがわかった。

第V章 オキナワモズクから分離抽出した多糖類がラットの 脂質代謝に及ぼす影響

1. 緒言

第IV章において、オキナワモズク中には精製フコイダンが湿潤重量中に1.5~1.8%含んでおり、その組成はL-フコース、ウロン酸およびD-キシロースから成り、ウロン酸含量13.5%、硫酸含量11.9%で分子量が500,000以上であることがわかった。フコイダンには血液凝固阻止作用^{96,97)}、高脂清澄作用⁹⁸⁾、抗腫瘍活性^{99~101)}、抗エイズウイルス活性⁹⁵⁾など多様な生理活性作用があることが確認されている。また食物繊維の多様な生理的・栄養的効果はヒトおよび動物実験で明らかにされており、その一つとしてコレステロール改善作用が報告されている¹⁰²⁾。なかでも水溶性食物繊維は糞中への中性ステロールおよび胆汁酸排泄を促進させることによってコレステロールを低下させることが知られている^{103,104)}。金田ら⁵¹⁾は海藻のコレステロール低下作用について緑藻類はその効果が認められるが、コンブ、ヒジキ、ワカメなどの褐藻類やオゴノリのような紅藻類にはその作用がほとんど認められないとしている。一方、入谷¹⁰⁵⁾のワカメ、石井ら¹⁰⁶⁾のキリンサイを有効とする報告例がある。またMiyagiら¹⁰⁷⁾は沖縄フトモズクにコレステロール低下作用のあることを認め、

Fahrenbach¹⁰⁸⁾はフコイダン2%をニワトリに給与することで血漿コレステロールが低下することを報告している。そこでオキナワモズク（以下モズク）、モズクから抽出したフコイダン画分（以下フコイダン）と、同時に得られるアルギン酸Na画分（以下アルギン酸Na）がラット脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

2. 実験材料および方法

(1) 実験材料

モズクは沖縄県中頭郡宜野座村の漁業共同組合より入手したものを使用した。モズクは水洗いして完全に塩抜きを行ない、通風乾燥（40℃、48時間）後、冷蔵保存していたものを実験に供した。モズクのフコイダンおよびアルギン酸Naの調製法はFig. 12に示した。なお、抽出したフコイダンおよびアルギン酸Naの全糖量、ウロン酸およびL-フコース含量についてTable 44に示した。グアーガムはシグマ社、セルロースはオリエンタル酵母株式会社のものを実験試料として用いた。

(2) 実験動物および実験方法

生後4週齢のWistar系雄ラット（日本エスエルシー株式会社、静岡）32匹を10日間、固形飼料で予備飼育した後、セルロース食（5匹）、グアーガム5%食（5匹）、モズク食（5匹）、グアーガム

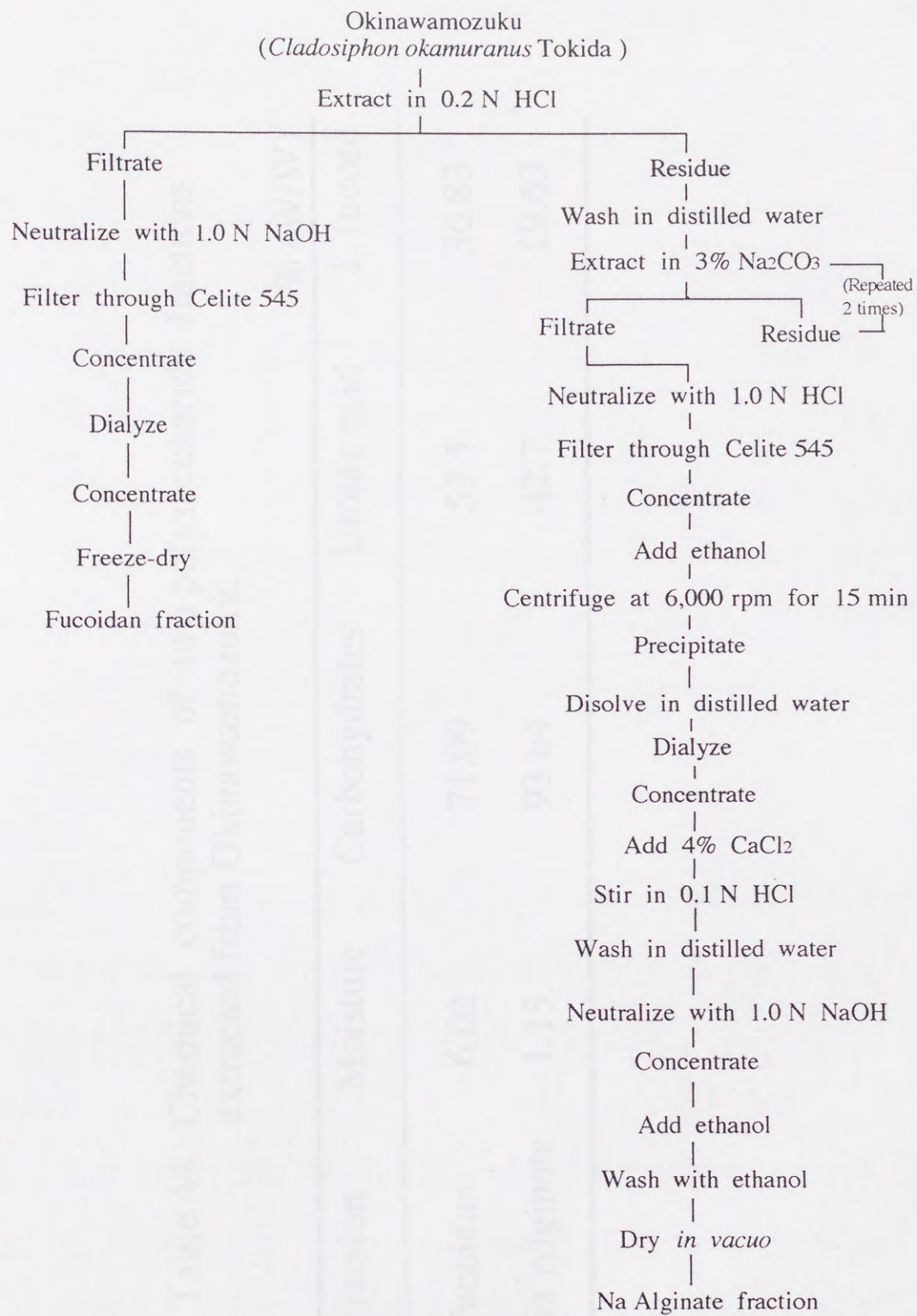


Fig. 12. Extraction of two polysaccharide fractions from Okinawamozuku.

Table 44. Chemical components of two polysaccharide fractions extracted from Okinawamozuku.

Fraction	Moisture	Carbohydrates	Uronic acid	% (W/W)
				L-fucose
Fucoidan	6.02	71.09	53.5	36.83
Na Alginate	1.15	93.64	42.7	19.63

2%食(6匹), フコイダン食(6匹), アルギン酸Na食(5匹)の6群に分け, 個別ケージで, 24日間飼育を行なった。飼育環境は室温 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 相対湿度 $60\pm 5\%$, 12時間毎の明暗サイクル(AM8:00~PM8:00, PM8:00~AM8:00)とした。飼料および飲料水は自由摂取とした。体重および飼料摂取量は1日おきに測定し, 飼育開始直前および飼育終了時に糞を採取した。血清中脂質の経日変化を調べるため, 飼育開始日および1,2および3週間目に尾静脈より採血を行った。また, 飼育最終日は12時間絶食後, ネンブタール麻酔を行ない, 腹腔内大静脈より採血し, 遠心分離により得た血清を分析に供した。同時に肝臓および盲腸(内容物を含む)を摘出後, 重量を測定し, 冷凍保存した。

(3)飼料組成

飼料組成はTable 45に示したとおりで, フコイダンおよびアルギン酸Naの添加量は, 乾燥モズク中の含量とほぼ同一にし, 食物繊維給源が各群とも5%になるようにセルロースで調製した。

(4)血清脂質分析

血清中の脂質分析には和光純薬工業株式会社の臨床検査用キットを用いた。血清中の総コレステロール濃度はコレステロールE-テストワコー, 遊離コレステロール濃度は遊離コレステロールE-テストワコー, HDL-コレステロール濃度はHDL-コレステロールE-テストワコー, トリグリセリド濃度はトリグリセリドE-テストワコー, リ

Table 45. Composition of experimental diets.

(%)

	Cellulose	Guar Gum 5%	Mozuku	Guar Gum 2%	Fucoidan*	Na Alginate*
Casein	20	20	20	20	20	20
Lard	5	5	5	5	5	5
Corn oil	5	5	5	5	5	5
Mineral mixture ¹	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture ²	1	1	1	1	1	1
Cholesterol	1	1	1	1	1	1
Sodium Colate	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Cellulose	5	-	-	3	3	4.8
Guar Gum	-	5	-	2	-	-
Mozuku	-	-	5	-	-	-
Fucoidan*	-	-	-	-	2	-
Na Alginate*	-	-	-	-	-	0.2
Sucrose	58.75	58.75	58.75	58.75	58.75	58.75

* Fraction

- ¹ Vitamin mix.,(in mg) : retinal acetate, 100.0 ; cholecalciferol, 0.25 ; tocopherol acetate, 500.0 ; menadione, 520.0 ; thiamine, 120.0 ; riboflavin, 400.0 ; pyridoxine hydrochloride, 80.0 ; cyanocobalamine, 120.0 ; riboflaobalamine, 0.05 ; L-ascorbic acid, 3,000.0 ; D-biotin, 2.0 ; folic acid, 20.0 ; calcium pantothenate, 500.0 ; *p* - amino benzoic acid, 500.0 ; nicoinic amide, 600.0 ; inositol, 600.0 ; choline chloride, 20,000.0 ; cellulose powder, 73,057.7.
- ² Mineral mix., (in %) : CaHPO₄ · 2H₂O, 14.56 ; KH₂PO₄, 25.72 ; NaH₂PO₄, 9.35 ; NaCl, 4.66 ; Ca-lactate, 35.09 ; Fe-citrate, 3.18 ; MgSO₄, 7.17 ; ZnCO₃, 0.11 ; MnSO₄ · 4-6H₂O, 0.12 ; CuSO₄ · 5H₂O, 0.03 ; KI, 0.01.

ン脂質濃度はリン脂質C-テストワコーを用いてそれぞれ測定を行なった。

(5)肝臓脂質分析

肝臓脂質の抽出は、Folchら¹⁰⁹⁾の方法に準じ、コレステロールおよび遊離コレステロール濃度はSperry & Webb法¹¹⁰⁾、トリグリセリド濃度はFletcher法¹¹¹⁾、リン脂質濃度はGomori法¹¹²⁾にてそれぞれ測定を行なった。コレステロールエステル比は総コレステロールおよび遊離コレステロールの差を総コレステロールで除して、パーセントで示した。

(6)糞中中性ステロールおよび胆汁酸排泄量

採取した糞は凍結乾燥し、エタノール抽出を行なった。中性ステロール排泄量は、エタノール抽出液を蒸発乾固後鹼化し、ヘキサンの抽出を行い、GLC法で測定した。一方、胆汁酸排泄量はエタノール抽出液を蒸発乾固後バッファー (pH9.4) に再溶解し、酵素液 (Hydroxysteroid dehydrogenase(Grade II), Sigma) と反応させ340nmで測定した¹¹³⁾。

(7)胆汁酸吸着能の測定

セルロース、グアーガム、モズク、フコイダンおよびアルギン酸Naの各試料20mgと胆汁酸 2 mM濃度を含む、0.1Mリン酸塩緩衝液 (pH8.0) 3mlを加え、37°C、2時間インキュベート後、遠心分離 (1800×g, 1時間) を行ない¹¹⁴⁾、その上清を酵素法¹¹³⁾で測定し、試

料の胆汁酸吸着割合で示した。

(8)統計処理

結果は平均±標準誤差で表わし、一元配置分散分析を行なった後、フィッシャーのLSD法で水準間の検討を行ない、 $p < 0.05$ を有意とした。

3. 実験結果

(1)体重増加量および飼料摂取量について

体重増加量、飼料摂取量、飼料効率、肝臓および盲腸重量をTable 46に示した。体重増加量および飼料効率は、モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群はセルロース食群とほぼ同様の値を示したが、グアーガム5%食群が他の5群に比べ有意に低い値を示した。飼料摂取量においてもグアーガム食は他の4群より有意に低く、グアーガム食群間においても有意な差が認められた。肝臓重量についてはグアーガム食群が他の4群より有意に低く、また、盲腸重量で、フコイダン食群が最も高い値を示し、グアーガム5%を除く他の4群との間で有意差が認められた。さらにグアーガム食はセルロース食、アルギン酸Na食群との間に有意な差を示した。

(2)血清脂質濃度について

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経日変化

Table 46. Effect of experimental diets on body weight gain, food intake and liver weight.

Groups	Body weight		Food		Liver weight (g/100 g B.W.)	caecum weight
	Intial	Gain	Intake	Efficiency		
	(g)		(g/day)			
Cellulose	108.2±1.5	106.2±4.9 ^a	15.2±0.4 ^a	29.1±1.1 ^a	5.4±0.0 ^a	1.2±0.0 ^a
Guar Gum 5%	107.8±1.9	76.4±7.7 ^b	12.6±0.7 ^c	25.0±1.2 ^b	4.2±0.1 ^c	2.0±0.3 ^{bc}
Mozuku	107.8±1.4	114.8±6.7 ^a	16.4±0.7 ^a	29.1±0.5 ^a	5.1±0.3 ^a	1.5±0.0 ^{ab}
Guar Gum 2%	107.5±2.7	102.2±4.3 ^a	14.7±0.4 ^b	28.9±0.8 ^a	4.6±0.1 ^b	1.9±0.1 ^b
Fucoidan*	107.7±2.0	109.7±1.9 ^a	16.3±0.3 ^a	28.0±0.2 ^a	5.0±0.0 ^a	2.4±0.1 ^c
Na Alginate*	107.8±2.4	113.8±2.1 ^a	16.6±0.2 ^a	28.6±0.4 ^a	5.2±0.1 ^a	1.2±0.1 ^a

* Fraction. Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

をFig.13と14に示した。総コレステロール濃度の変化は、いずれの群も2週間目まで上昇したが、3週目になってセルロース食群以外の各5群はすべて低下した。トリグリセリド濃度においては、2週目まで減少傾向にあったが、3週目にはいずれの群も増加した。

血清中のコレステロール、トリグリセリドおよびリン脂質濃度をTable 47に示した。総コレステロール濃度は、セルロース食群が最も高い値を示し、他の5群との間に有意差が認められた。遊離コレステロール濃度についてもセルロース食群はグアーガム5%食群を除く、他の4群との間で有意に高値を示した。エステル比はグアーガム5%が他の5群より有意に低値を示した。トリグリセリド濃度はフコイダン食群が高い値を示し、セルロース、グアーガム5%およびモズク食群との間で有意差が認められた。リン脂質濃度は、セルロース食群が最も高い値を示し、フコイダン食およびアルギン酸Na食群を除く、他の3群との間で有意差が認められ、グアーガム5%食群では他の5群に比べ有意に低い値を示していた。

(3)肝臓脂質濃度について

肝臓中の脂質濃度をTable 48に示した。総コレステロール濃度はセルロース食群が他の5群に比べて有意に高い値を示した。遊離コレステロールおよびエステル比については、いずれの群においても有意差は認められなかった。トリグリセリド濃度はモズク食群が、セルロース、グアーガム食群およびアルギン酸Na食群より有意に高い

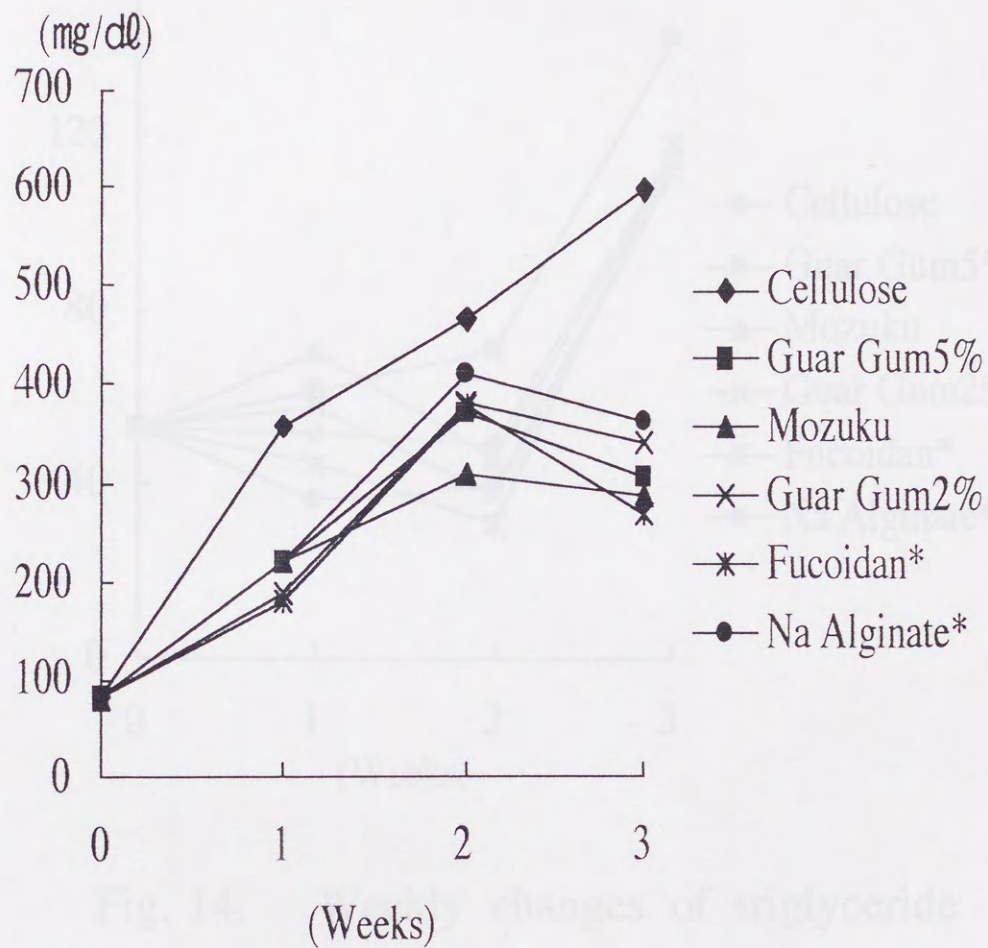


Fig. 13. Weekly changes of total-cholesterol concentration in serum.

*Fraction

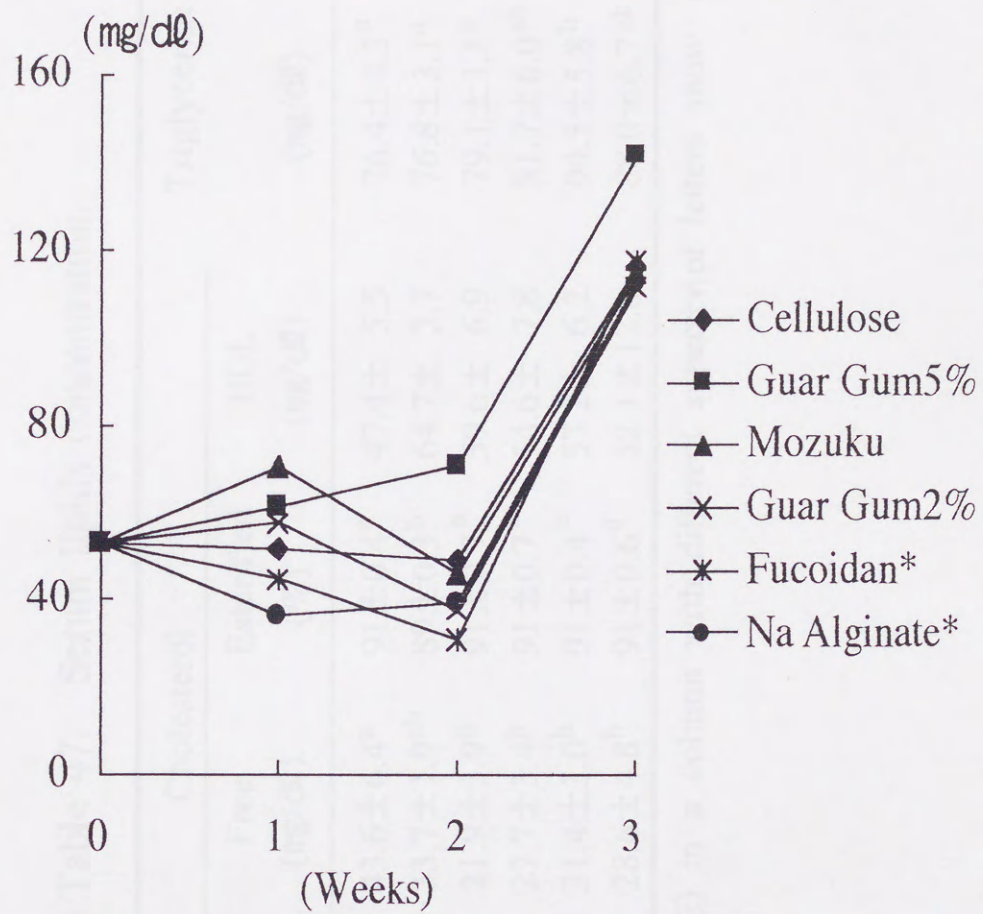


Fig. 14. Weekly changes of triglyceride concentration in serum.

* Fraction

Table 47. Serum lipids concentration.

Groups	Cholesterol				Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
	Total (mg/dl)	Free (mg/dl)	Esterified (%)	HDL (mg/dl)		
Cellulose	478 ± 47.8 ^a	43.6 ± 6.4 ^a	91 ± 0.4 ^a	47.4 ± 5.5	76.4 ± 4.3 ^a	209 ± 19.2 ^a
Guar Gum 5%	299 ± 9.5 ^b	33.7 ± 1.9 ^{ab}	89 ± 0.3 ^b	64.7 ± 3.7	76.8 ± 3.1 ^a	142 ± 5.2 ^c
Mozuku	253 ± 37.9 ^b	21.9 ± 3.9 ^b	91 ± 0.7 ^a	59.6 ± 6.9	79.1 ± 3.3 ^a	148 ± 13.2 ^{bc}
Guar Gum 2%	289 ± 15.8 ^b	27.7 ± 3.4 ^b	91 ± 0.7 ^a	54.6 ± 7.8	81.7 ± 6.0 ^{ab}	148 ± 7.5 ^{bc}
Fucoidan*	338 ± 19.9 ^b	31.4 ± 3.0 ^b	91 ± 0.4 ^a	57.2 ± 6.2	94.5 ± 5.8 ^b	177 ± 5.0 ^{ab}
Na Alginate*	315 ± 33.0 ^b	28.6 ± 4.8 ^b	91 ± 0.6 ^a	52.1 ± 12.0	88.0 ± 6.7 ^{ab}	176 ± 14.0 ^{ab}

* Fraction. Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 48. Liver lipids concentration.

Groups	Cholesterol			Triglycerid (mg/ g)	Phospholipid (mg/ g)
	Total (mg/ g)	Free (mg/ g)	Esterified (%)		
Cellulose	73.8±3.0 ^a	6.84±0.79	91±1.1	35.0±2.2 ^{ab}	21.8±0.8 ^a
Guar Gum 5%	63.5±1.7 ^b	6.63±0.53	90±0.9	22.6±2.5 ^c	17.9±0.3 ^{bc}
Mozuku	61.7±1.7 ^b	6.41±0.69	90±1.1	40.6±6.3 ^a	18.8±1.2 ^{bc}
Guar Gum 2%	62.6±1.6 ^b	5.73±0.58	91±1.0	26.7±3.0 ^{bc}	19.9±0.7 ^{ab}
Fucoidan*	63.3±1.2 ^b	7.09±0.49	89±0.7	30.3±3.5 ^{abc}	17.4±0.8 ^c
Na Alginate*	62.3±0.8 ^b	6.99±0.55	89±1.0	26.5±5.6 ^{bc}	18.1±0.8 ^{bc}

* Fraction. Values (means±SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

値を示し、セルロース食群とグアーガム5%食群間でも有意差が認められた。リン脂質濃度はセルロース食群が最も高く、グアーガム2%食群を除く他の4群との間で有意差が見られ、さらに最も低い値を示したフコイダン食群とグアーガム2%食群間でも有意差が認められた。

(4)糞中中性ステロール,胆汁酸排泄量および胆汁酸吸着能について
糞重量, 糞中中性ステロールおよび胆汁酸排泄量をTable 49に示した。糞重量はモズク食群が最も高い値を示し, アルギン酸Na食群を除く他の4群との間で有意差が認められた。糞中へのコレステロール排泄量は, グアーガム5%食群が他の5群より有意に低く, グアーガム2%食群についても, アルギン酸Na食およびセルロース食群との間に有意な差を示した。糞中へのコプロスタノール排泄は, フコイダン食群では検出されず, モズク食, アルギン酸Na食およびセルロース食群との間に有意差が認められた。またグアーガム食群についてもフコイダン食群と同様の傾向を示した。さらに総中性ステロール排泄量は, グアーガム5%食群が他の5群より有意に低い値を示した。胆汁酸排泄量においてもグアーガム5%食群は, 中性ステロール排泄量と同様の傾向を示し, 最も高い値を示したアルギン酸Na食群とセルロース食群およびフコイダン食群との間にもそれぞれ有意差が認められた。Fig. 15にセルロース, グアーガム, モズク, フコイダンおよびアルギン酸Naの胆汁酸吸着能を示した。グアーガムが

Table 49. Fecal excretion of neutral sterols and bile acid.

Groups	Dry weight (mg/day)	Neutral sterols (mg/day)			Bile acid (mg/day)
		Cholesterol	Coprostanol	Total	
Initial	2.43±0.11	2.9±0.3	1.74±0.19	4.65±0.24	1.2±0.6
Final					
Cellulose	1.24±0.07 ^b	46.5±4.1 ^b	3.39±0.56 ^a	49.8±3.69 ^a	59.6±4.4 ^b
Guar Gum 5%	0.52±0.07 ^c	32.4±3.0 ^c	0.02±0.02 ^b	32.4±3.01 ^b	35.6±2.8 ^c
Mozuku	1.63±0.07 ^a	51.0±2.6 ^a	3.08±0.40 ^a	53.9±2.89 ^a	64.9±2.7 ^{ab}
Guar Gum 2%	1.11±0.08 ^b	57.8±5.2 ^{ab}	0.05±0.03 ^b	57.8±5.21 ^a	65.0±6.1 ^{ab}
Fucoidan*	1.31±0.10 ^b	49.0±2.1 ^{ab}	0.00±0.00 ^b	49.0±2.11 ^a	56.3±4.8 ^b
Na Alginate*	1.50±0.09 ^{ab}	47.3±2.7 ^b	2.55±0.97 ^a	49.9±2.42 ^a	75.7±5.3 ^a

* Fraction. Values (means ± SE) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

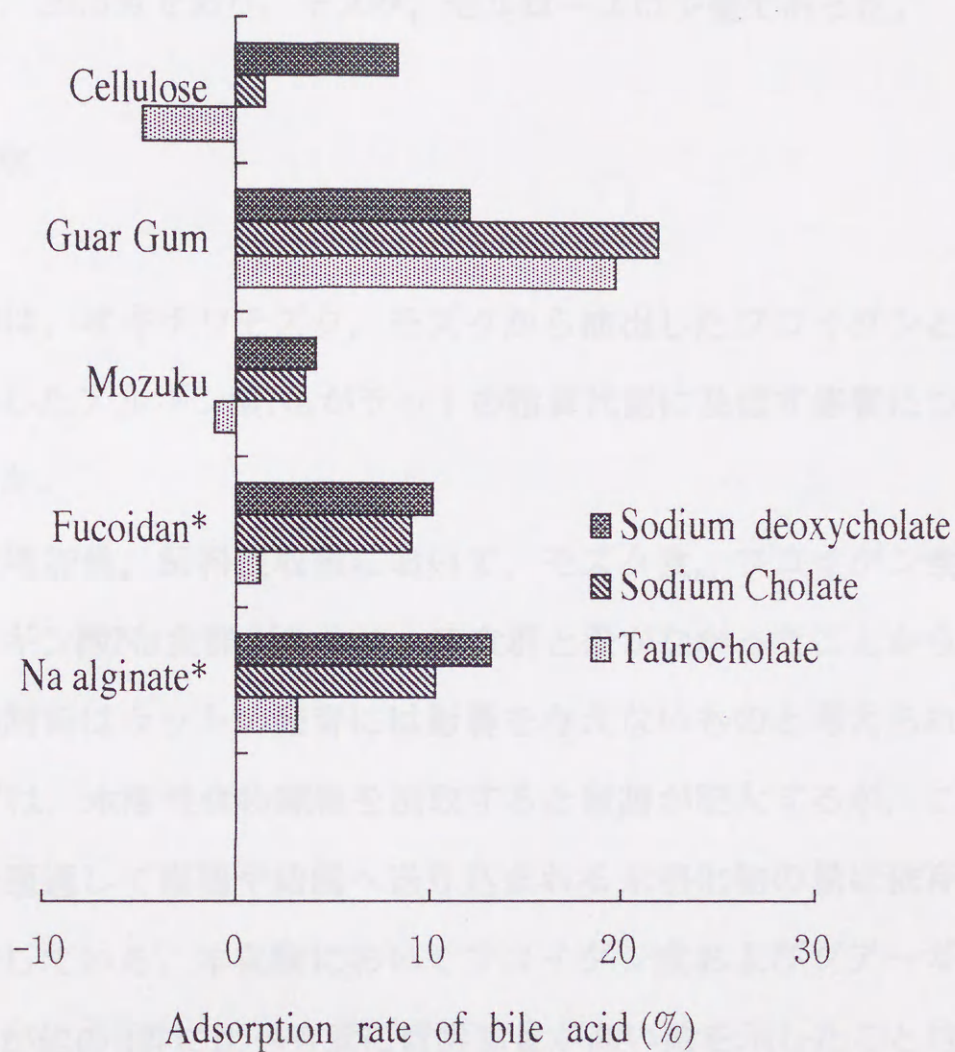


Fig. 15. Amount of bile acid adsorbed to Okinawamozuku extract.

Adsorption of sodium cholate, sodium deoxycholate and taurocholate (2 mM) to 20 mg samples at 0.1 M phosphate buffer (pH8.0) at 37°C. * Fraction

53.6%と最も高く、次いでアルギン酸Naおよびフコイダンがそれぞれ26.8, 20.5%であり、モズク、セルロースは少量であった。

4 考察

本節は、オキナワモズク、モズクから抽出したフコイダンと同時に抽出したアルギン酸Naがラットの脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

体重増加量、飼料摂取量において、モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群がセルロース食群と差がなかったことから、これらの飼料はラットの発育には影響を与えないものと考えられた。奥ら¹¹⁵⁾は、水溶性食物繊維を摂取すると盲腸が肥大するが、これは小腸を通過して盲腸や結腸へ送り込まれる未消化物の量に依存すると報告している。本実験においてフコイダン食およびグアーガム5%食群が他の3群に比べ有意に盲腸重量が高い値を示したことは、これらの食群では未消化物の量が多かったためと考えられた。

血清および肝臓脂質に関してはモズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食の各群はコレステロール上昇抑制作用のあることが明らかになった。モズク食群は肝臓のトリグリセリド濃度がセルロース食群より有意に高い値を示した。また、アルギン酸Na食群の肝臓中のトリグリセリド濃度はセルロース食群とは差がみられなかった

が、モズク食群との間には有意差が認められた。このことよりモズク中のアルギン酸含量と肝臓中のトリグリセリド濃度と関係しているのではないかと思われる。アルギン酸はモズクの細胞壁間または細胞間を充填しているが、骨格多糖であるセルロースやヘミセルロースに覆われている³²⁾。一方モズク中のアルギン酸はセルロースやヘミセルロースと共存しており、ラットにモズクに給与した場合、それらが消化されないため、モズクのアルギン酸が、抽出したアルギン酸Naと同様にトリグリセリド上昇抑制を示すことが困難だったと推察される。モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群のHDL-コレステロール濃度はセルロース食群より高い値を示す傾向が認められたことより、総コレステロール濃度の減少はLDL-コレステロール濃度の減少を伴うものと推察される。フコイダン食群の血清トリグリセリド濃度の上昇抑制効果がセルロース食およびモズク食群に比べてみられなかったのは、フコイダンにはヘパリンと同様にリポタンパク質リパーゼの働きを助ける作用がある¹¹⁶⁾ことから、血清中のトリグリセリド上昇抑制に作用するよりも、リポタンパク質を分解することに効果を発揮したためと考えられる。アルギン酸Naのコレステロール上昇抑制作用については辻ら¹¹⁷⁾によって報告されており、本実験においても同様な結果が得られた。

Arjinandiら¹⁰³⁾や石橋ら¹⁰⁴⁾は水溶性食物繊維の血清コレステロール上昇抑制作用は糞中への中性ステロール排泄促進によるものと、糞

中への胆汁酸排泄促進が考えられると報告している。すなわち、胆汁酸としてより多くのコレステロールを排泄することより、コレステロールの胆汁酸への異化を促進して、その結果、血清および肝臓中のコレステロール濃度を低くするという機構である。本実験においてはアルギン酸Na食群のコレステロール濃度低下は、おもに糞中への胆汁酸排泄によるものと推察される。しかしながら、今回*in vitro*での胆汁酸吸着能試験では、それを明らかにする結果は得られなかった。血清および肝臓の総コレステロール濃度と糞中中性ステロールおよび胆汁酸排泄量との相関関係は認められなかったことから、アルギン酸Na食群を除く、他の5群の血清および肝臓のコレステロール低下の要因は明確にはできなかった。Andersonら¹¹⁸⁾は血清総コレステロールを低下させるにもかかわらず、胆汁酸をほとんど増加させない難消化性多糖類があると報告しており、中川ら¹¹⁹⁾はこの様な多糖類のコレステロール代謝を検討する場合、大腸内でのステロイド貯留を考慮すべきことを指摘している。本実験におけるフコイダン食群では糞中コプロスタノール排泄が認められなかった。従って摂取したコレステロールは腸内細菌によって分解されなかったことを示しており、フコイダンが難消化性多糖類の一つであると考えられる。さらにフコイダン食群において盲腸重量が最も高い値を示したことより、コレステロール上昇抑制されたコレステロールは盲腸内へ貯留しているものと推察される。

本実験でフコイダンおよびアルギン酸Na食群のフコイダンおよびアルギン酸Naの添加量は、乾燥モズク中のこれらの含量と同様にしたため、両食群にセルロースを3%、4.8%添加したが、今後これらの混合割合を変えることによって、さらに明らかなコレステロール上昇抑制作用が認められるものと思われる。また、モズク食群におけるコレステロール上昇抑制作用はモズク中のフコイダンとアルギン酸の相乗効果によるものか、あるいはコレステロール上昇を抑制する他の物質の存在も考えられる。コレステロール低下に及ぼす食物繊維の影響を検討する上で、物理的因子も関与している¹⁰²⁾ことから、特にアルギン酸Naの場合、高粘度の方がコレステロール上昇抑制作用が強いと報告されている¹¹⁷⁾。このことから、今後、今回用いたフコイダンおよびアルギン酸Naの物理的な性質について明らかにする必要がある。

5. 要約

オキナワモズクおよびそれから抽出したフコイダンとアルギン酸Naがラットの脂質代謝に及ぼす影響を24日間飼育を行い検討した。その結果は以下に示すとおりである。

(1) モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群は、セルロース食群に比べ、血清中の総コレステロール、遊離コレステロールお

よびリン脂質濃度を低下させる作用のあることが認められた。

(2) モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群は、セルロース食群に比べ、肝臓中の総コレステロール濃度を低下させることが認められた。

(3) モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群は、セルロース食群に比べ、HDL-コレステロール濃度が高い値を示した。

(4) フコイダン食群の盲腸重量増加は、コレステロール低下作用と関連がある事が示唆された。

(5) アルギン酸Na食群のコレステロール濃度の低下は、糞中への胆汁酸排泄によるとことがわかった。

以上のことより、オキナワモズクは高脂血症の抑制に有効な生理機能を有することが確認され、そのコレステロール上昇抑制にフコイダンとアルギン酸Naが関与しているものと示唆された。

第VI章 総括

沖縄諸島海域には301種類の海藻が分布していると云われている²⁾。オキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus* TOKIDA) は、これら海藻類の一つとして挙げられ、褐藻類ナガマツモ目ナガマツモ科に属している。

オキナワモズクは、南日本で古くから食用とされてきており、1972年以降、本種の養殖技術が開発され、鹿児島および沖縄両県下に普及して、年間約8,000トン内外を生産する栽培漁業として定着した¹⁸⁾。その後、沖縄県での技術普及は目覚ましく、その広大な適地漁場を開発して生産量の急速な伸びがみられた¹⁸⁾。

本藻については、養殖を目的とした生態および養殖技術に関する報告がほとんどで、化学成分については、一般成分およびアルギン酸含量、フコース含有多糖について報告されているのみであり²¹⁻²³⁾、その利用や機能についての報告は見受けられない。このことから、オキナワモズクに含まれる各種成分の機能特性について明らかにすることは、本藻が沖縄県を代表する特産食品の一つであることから、極めて重要であると考えられる。

本論文では、第II章においてオキナワモズク中の一般成分、無機質、食物繊維、遊離アミノ酸等の化学成分を測定し、第III章で、高齢化社会の進展とともに深刻な問題となっている骨粗鬆症に及ぼす

オキナワモズクの影響についても検討を行なった。さらに第IV章において、褐藻類中に含まれ、近年、有効な生理活性のあることで注目されているフコイタンをオキナワモズクから分離・同定した。次いで第V章では、モズク、フコイタン画分および同時に抽出できるアルギン酸Na画分がラットの脂質代謝に及ぼす影響について検討し、いくつかの新しい知見が得られた。本研究で得られた結果を要約すると以下の通りである。

1. オキナワモズクの成分特性 (第II章)

本章においてはオキナワモズクの成分特性について検討した結果、風乾物中にオキナワモズク(水分含量, 17.7%)の一般成分のうち、炭水化物が63.4%と最も多く含有しており、ついで灰分が14.2%であった。無機質の中では特にCaおよびNaを多く含んでいることが分かった。また乾物中の遊離アミノ酸のうち、グルタミン酸、アラニン含量を特に多く含んでいることが明らかとなった。

2. オキナワモズクが卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす影響 (第III章)

ナガコンブ (*Laminaria angutata* var. *longissima* Miyabe), オキナワモズク, オキナワモズクから抽出した多糖類および市販アルギン酸Caが骨粗鬆症モデルラットのCa代謝に及ぼす影響について検

討した。その結果,

- (1) Konbu食群はControl食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高い値を示し, OVX群間においては, Konbu食は破断特性試験のStrength, Stiffness, およびToughnessにおいてControl食群より高い値を示したことから, ナガコンブは卵巣摘出ラットに対してCa供給源として極めて有効であることが明らかとなった。
- (2) Mozuku食群間において大腿骨Ca含量はADM食群の方が有意に高い値を示したが, 破断特性のStrengthでは2%, Toughnessでは11%, Ash食群の方が高い値を示したことより, 風乾モズクは添加量を考慮する必要があるということがわかった。またCa Alginate食群はControl食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高い値を示し, 破断特性試験のToughnessにおいては, 7%高値を示したことより, アルギン酸Caは骨代謝改善に対して高い効果を有することが明らかとなった。
- (3) Ca量が0.3%で, そのうち1割ないし2割, オキナワモズクを添加したMozuku食とCa Alginate食群を比較すると, 大腿骨Ca含量では差が見られなかったが, ToughnessでCa Alginate食群が有意に低い値を示したことより, Mozuku食群のToughnessは炭酸CaにCa量の1割ないし2割, オキナワモズクを添加することで, アルギン酸Caより骨代謝への改善効果が高まることがわかった。また, Control食, Mozuku食および

P II 食の各群は、Ca Alginate食群とP I 食群に比べ破断特性の Toughnessにおいて有意に高い値を示したことより、P II 食群の Toughnessにみられるように、モズクから抽出した多糖類もオキナワモズクよりやや劣るが、同様の効果が期待された。

- (4) さらに、Ca添加量が同じ場合、大腿骨Ca含量において、0.75%Ca添加ではCa Alginate食が、0.5%Ca添加ではCaCO₃食群の方が高くなる傾向がみられたことより、用いるCa給源によって、その生体（本実験では卵巣摘出骨粗鬆症モデルラット）にとって、最も骨代謝改善効果を示す適量があると考えられた。

3. オキナワモズクからフコイダンの分離・同定（第IV章）

沖縄県で養殖されているオキナワモズクからフコイタンを分離し、その化学成分と物理化学的性質を調べ、以下の結果が得られた。

オキナワモズク（湿潤）から1.5~1.8%の収率で薄褐色のフコイタンを分離した。本フコイダンの全糖、ウロン酸、灰分、硫酸、および水分含量は、それぞれ67.2、13.5、23.0、11.9および3.2%であった。また分子量は500,000以上であることが推定された。またペーパーおよび高速液体クロマトグラフィーの結果よりL-フコースとD-キシロースを同定した。さらに本フコイダンの水溶液（0.2%）の旋光度は、60℃で-0.364°を有し、温度の低下に伴って徐々に減少した。赤外吸収スペクトルは硫酸を含む多糖の特性を示し、広い波数領域で標

品のフコイダンとほぼ一致した。従って、オキナワモズクのフコイダンはL-フコース、ウロン酸、硫酸およびD-キシロースから成ることがわかった。

4 高コレステロール食投与ラットの脂質代謝に及ぼすオキナワモズク抽出多糖類の影響 (第V章)

オキナワモズクおよびそれから抽出したフコイダン画分とアルギン酸Na画分を高脂血症ラットに24日間給与し、脂質代謝に及ぼす影響を検討した。得られた結果は、以下に示すとおりである。

- (1) モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群は、セルロース食群に比べ、血清中の総コレステロール、遊離コレステロールおよびリン脂質濃度を低下させる作用のあることが認められた。
- (2) モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群は、セルロース食群に比べ、肝臓中の総コレステロール濃度を低下させることが認められた。
- (3) モズク食、フコイダン食およびアルギン酸Na食群は、セルロース食群に比べ、HDL-コレステロール濃度が高い値を示した。
- (4) フコイダン食群の盲腸重量増加は、コレステロール低下作用と関連がある事が示唆された。
- (5) アルギン酸Na食群のコレステロール濃度の低下は、糞中への

胆汁酸排泄によることがわかった。

以上のことより、オキナワモズクは高脂血症の抑制に有効な生理機能を有することが確認され、そのコレステロール上昇抑制にフコイダンとアルギン酸Naが関与しているものと示唆された。

本論文の作成に際し、心より感謝の意を表します。

また、何かのご指導を賜りました琉球大学農学部 川島清次教授、鹿児島大学農学部 福永隆生教授、佐賀大学農学部 中川清敏教授、宮崎大学農学部 山内 博教授にお礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、適切なご指導・ご助言をいただき、実験に多大なご協力をいただきました琉球大学農学部 田中正邦助教授に心謝いたします。

万単位試験を貸してくださいました琉球大学農学部 秋永幸義教授ならびに生産システム工学教室の方々にお礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、ご助言を賜りました琉球大学助教授 長 宮典助教授、金城一彦先生、永田純一先生にお礼申し上げます。

また、実験実施にあたりご協力いただきました、沖縄県立北部農林高等学校 田中真理教授、琉球大学農学部資源利用科学科 農林資源利用科学講座 制御化学教室の永江友毅氏、山口 哲氏、小森良史氏、宮里智穂氏ならびに教室の皆さんに心から感謝いたします。

本論文のご査閲の労をお取りいただきました琉球大学農学部

謝 辞

本研究の遂行にあたり、終始ご懇切なるご指導・ご鞭撻を賜わり、さらにご校閲の労をお取りいただきました琉球大学農学部

本郷富士弥教授に対し、心より感謝の意を表します。

また、温かいご指導を賜りました琉球大学農学部 川島由次教授、鹿兒島大学農学部 福永隆生教授、佐賀大学農学部 中川浩毅教授、宮崎大学農学部 山内 清教授にお礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、適切なお指導・ご助言をいただき、実験に多大なご協力をいただきました琉球大学農学部 田幸正邦助教授に心謝いたします。

万能試験機を貸してくださいました琉球大学農学部 秋永孝義教授ならびに生産システム工学教室の方々にお礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、ご助言を賜りました琉球大学助教授 屋 宏典助教授、金城一彦先生、永田純一先生にお礼申し上げます。

また、実験実施にあたりご協力いただきました、沖縄県立北部農林高等学校 田仲真理教諭、琉球大学農学部資源利用科学科 農林資源利用科学講座 利用化学教室の永江友親氏、川口 哲氏、小森良史氏、宮里哲善氏ならびに教室の皆さんに心から感謝いたします。

本論文のご校閲の労をお取りいただきました琉球大学農学部

屋我嗣良教授，城間定夫助教授に心より感謝申し上げます。

また，温かいご指導・ご助言くださいました，鹿児島大学名誉教授古賀克也先生，鹿児島大学農学部 富田裕一郎教授，琉球大学農学部 知念 功教授，に心より感謝申し上げます。

最後に，本研究の実施にあたり，公私にわたりご協力頂きました放送大学沖縄地域学習センター，尚 弘子センター長に心より感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 前田昌徹, 西澤一俊: 総合多糖類科学 (下), 原田篤也, 三崎旭編, 講談社 (東京), p.289-348 (1976).
- 2) 諸喜田茂充: サンゴ礁の増養殖, 諸喜田茂充編, 緑書房 (東京), p.18-25 (1988).
- 3) 当間 武: サンゴ礁の増養殖, 諸喜田茂充編, 緑書房 (東京), p.37-40, p.56-67(1988).
- 4) 西澤一俊: 食品開発, 18(9), 31-39 (1983).
- 5) 新崎盛敏, 新崎輝子: 海藻のはなし, 東海大出版会 (東京), p.88-116 (1980).
- 6) 辻 啓介: 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉書店 (東京), p.132-148 (1993).
- 7) 佐藤孜郎: 海藻の生化学と利用, 日本水産学会編, 恒星社厚生閣 (東京), p.46-60 (1983).
- 8) 西澤一俊: 食品開発, 18(7), 27-35 (1983).
- 9) 西澤一俊, 大房 剛, 辻 啓介: 食品開発, 18(5), 11-20 (1983).
- 10) 金沢照夫: 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉書店 (東京), p.148-157 (1993).
- 11) 西出英一: 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉書店 (東京),

- p.183-187 (1993).
- 12) 松橋鉄治郎：海藻の科学，大石圭一編，朝倉書店（東京），
p.92-97 (1993).
 - 13) 永沢 信：総合多糖類科学（下），原田篤也，三崎旭 編，
講談社（東京）， p.520-526 (1976).
 - 14) 小林良夫：海藻の科学，大石圭一編，朝倉書店（東京），
p.187-196 (1993).
 - 15) 宮下 章：ものと人間の文化史・海藻，法政大学出版局（東京），
p.53-71, p.276-277 (1974).
 - 16) 渡嘉敷通寛：御膳本草，当間清弘編，三ツ星印刷所（沖縄），
p.48 (1961).
 - 17) 新村 巖：藻類の生活史集成 第2巻 褐藻・紅藻類，堀 輝三編，
内田老鶴圃（東京）， p.20-21 (1993).
 - 18) 新村 巖：鹿児島水試紀要11,1-64 (1977).
 - 19) 新村 巖：食用海藻の栽培(Cultivation of Edible Algae in
Japan), 三浦昭雄編，恒星社厚生閣（東京）， p.52-60 (1991).
 - 20) 瀬川宗吉：原色日本海藻図鑑，保育社（大阪），
p.32-33 (1991).
 - 21) 赤嶺欣哉，田村博三，照屋比呂子：沖工試研究報告，20，
87-91 (1992).
 - 22) 山城利枝子，小島樹彦，照屋比呂子：沖工試研究報告，21，

- 41-44 (1993).
- 23) 西出英一, 安齋 寛, 内田直行: 日水誌, 53, 1083-1088 (1987).
- 24) 沖縄県企画開発部統計課: 第38回沖縄県統計年鑑 平成6年版, p.179 (1995).
- 25) 当間 武: 平成5年度 沖縄水試事報, p.120-122 (1995).
- 26) 前田安彦: 初学者のための食品分析法 (増補6版), 弘学出版 (神奈川), p.21-25, p.30-32, p.36-42, p.46-48, p.75-78 (1990).
- 27) 安井明美, 堤 忠一: 食品分析法, 日本食品工業学会, 食品分析法編集委員会編, 光琳 (茨城), p.269-278 (1982).
- 28) 堤 忠一: 食品分析法, 日本食品工業学会, 食品分析法編集委員会編, 光琳 (茨城), p.257-267, p.278-310, p.360-363 (1982).
- 29) 菊地 嶺: 食品分析法, 日本食品工業学会, 食品分析法編集委員会編, 光琳 (茨城), p.413-416 (1982).
- 30) 森 文平, 久島和美, 岩崎富生, 大宮弘道: 農化誌, 55, 787-791 (1981).
- 31) 田島 真: 食品分析法, 日本食品工業学会, 食品分析法編集委員会編, 光琳 (茨城), p.491-495, p.506-507 (1982).
- 32) 野田宏行: 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉書店 (東京), p.14-29 (1993).

- 33) 今堀和友, 山川民夫 (監修) : 生化学辞典 (第2版) ,
東京化学同人 (東京) , p.1207 (1992) .
- 34) 村田喜一 : 日水誌, 29, 189-197 (1963).
- 35) 高木光造, 大石圭一, 奥村彩子 : 日水誌, 33, 669-673 (1967).
- 36) 串田一博 : 整・災外, 33, 1221-1229 (1990).
- 37) 松本俊夫 : 代謝, 28, 27-31 (1991).
- 38) 福本誠二, 松本俊夫 : 臨床栄養, 74, 571-579 (1989).
- 39) 中塚喜義, 西沢良記, 森井浩世 : 代謝, 28, 3-14 (1991).
- 40) 白木正孝 : 臨床栄養, 74, 640-650 (1989).
- 41) C. J. Lee, G.C.lawler and G.H. Johnson: Am. J. Clin. Nutr.,
34,819-823 (1981).
- 42) M. Horowitz. A. G. Need, J. C. Philcox and B. E. C. Nordin :
Am. J. Clin. Nutr., 39, 857-859 (1984).
- 43) 五十嵐千恵, 江澤郁子, 尾形悦郎 : 栄食誌, 43, 437-443
(1990).
- 44) 江澤郁子, 荒井富佐子 : 家政誌, 34, 555-559 (1983).
- 45) 岡野登志夫, 津川尚子, 東野雷太, 小林 正, 五十嵐千恵,
江澤郁子 : 栄食誌, 44, 479-485 (1991).
- 46) Omi, N., Morikawa, N. and Ezawa, I. : J. Nutr. Sci.
Vitaminol., 38,555-563 (1992).
- 47) 菊地武夫, 藤井祐二, 福永仁夫 : 栄食誌, 47, 11-14 (1994).

- 48) 望月 聡, 正井裕之, 江澤郁子 : 家政誌, 37, 833-839 (1986).
- 49) 森川尚美, 麻見直美, 星名 綾, 五十嵐千恵, 江澤郁子 :
第45回栄養食糧学会講演要旨集, 87 (1991).
- 50) 小原哲二, 細谷憲政 (監修) : 簡明食辞林, 樹村房 (東京) ,
p.13 (1993).
- 51) 金田尚志, ペントラ・V・カマサストリ, 徳田節子 : Bull.
Jap. Soc. Sci. Fisheries, 31, 1026-102 (1965).
- 52) 総務庁統計局編 : 家計調査年報 平成3年, 日本統計協会 (東京) ,
p. 288 (1992).
- 53) Peng, T. C., Kusy, R. P., Garner, S. C. , Hirsch, P. F. and
De Blanco, M. C. : J. Bone Mine. Res., 2, 249-257 (1987).
- 54) Peng, T. C., Kusy, R. P., Garner, S. C. , Hirsch, P. F. :
J. Bone Mine. Res., 1, 80 (1986).
- 55) 西村典久 : バイオメカニクスよりみた整形外科, 島津 晃, 浅
田莞爾編, 金原出版 (東京) , 131 (1993).
- 56) Smith, Q. T. and Alloson, D. J. : Endocrinology, 79,
486-492 (1966).
- 57) 梅原千治, 佐藤武雄 : ステロイドホルモンⅢ, 南江堂 (東京) ,
p.407 (1972).
- 58) Glasser, S. R. : Amer. J. Physiol., 179, 421-428 (1954).
- 59) 折茂 肇 : カルシウム・ビタミンと骨粗鬆症,

- メディカルビュー社（東京），p.42-51（1990）.
- 60) 江澤 郁子：骨粗鬆症＝基礎と臨床＝，藤田拓男編，共和企画
通信（東京），p.111-118（1988）.
- 61) N. C. Binkley and J. W. Suttie : J. Nutr., 125, 1812-1821
（1995）.
- 62) 奥村秀雄：整形外科，43.1051-1057（1992）.
- 63) 阿武喜美子，瀬野信子：糖化学の基礎，講談社（東京），
p.138-139（1991）.
- 64) 江澤郁子：家政誌，31，712-715（1980）.
- 65) 江澤郁子：家政誌，32，37-40（1981）.
- 66) 岡野一年：臨床栄養，74，620-626（1989）.
- 67) 奥 恒行：食物繊維，第一出版（東京），89-91（1982）.
- 68) 辻 啓介：食生活研究，12. 3-9（1991）.
- 69) 美濃輪和代，桐山修八：第39回栄養食糧学会講演要旨集，10
（1985）.
- 70) 江澤郁子，菅原 園，山下亀次郎：家政誌，33，326-328
（1982）.
- 71) S. M. Bagheri and L. Guenuen :J. Nutr., 112, 2047-2051
（1982）.
- 72) A. E. Harmuth-Hoene and R. Schelenz :J. Nutr., 110,
1774-1784（1980）.

- 73) T. Oku, F. Konishi and N. Hosoya : J. Nutr., 112, 410-415 (1982).
- 74) 藤森直江, 平野千鶴, 菊野恵一郎, 高橋真理子, 亀高正夫 : 日本家政学会 第42回研究要旨集, 17 (1990).
- 75) 大畑雅洋 : 骨粗鬆症=基礎と臨床=, 藤田拓男編, 共和企画通信 (東京) , p.207-214 (1988).
- 76) 松田和雄 (編) : 多糖の分離・精製法, 学会出版センター (東京) , p.145-146 (1989).
- 77) M. Dubois, K. A. Gilles, J. k. Hamilton, P. A. Berbers and F. Smith : Anal. Chem., 28, 350-356 (1956).
- 78) J. T. Calambos: Anal. Biochem., 19, 119-132 (1967).
- 79) 麻見直美, 江澤郁子 : 医学のあゆみ, 165, 577-580 (1993).
- 80) 麻見直美, 森川直美, 星名 綾, 江澤郁子 : 栄食誌, 45, 271-276 (1992).
- 81) 富田明夫, 根来良材 : Modern Physician, 11, 175-178 (1991).
- 82) 折茂 肇 : Modern Physician, 11, 135-137 (1991).
- 83) 佐藤 実 : 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉出版 (東京) , p.164-181 (1993).
- 84) W. A. P. Black : J. Sci. Food Agric., 5, 445-448 (1954).
- 85) 富士川龍郎, 中島克子 : 農化誌, 49, 455-461 (1975).

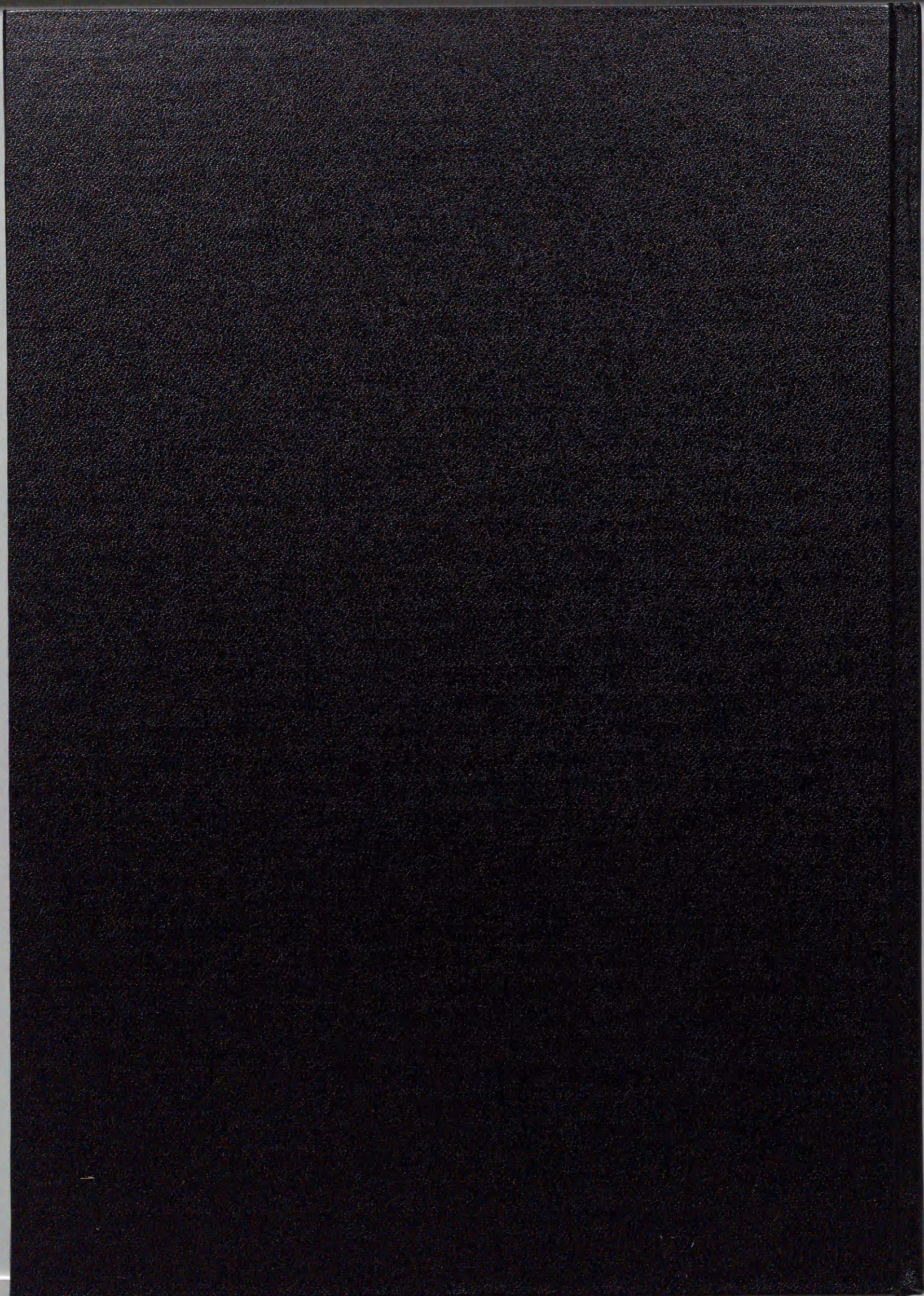
- 86) T. Fujikawa and M. Wada : *Agric. Biol. Chem.*, 39,
1109-1114 (1975).
- 87) W. A. Black, E. T. Dewar & F. N. Woodward :
J. Sci. Fd. Agric. , 3, 122-129 (1952).
- 88) K. Anno, H. Terahara, Y. Hayashi & N. Seno :
Agric. Biol. Chem., 30, 495-499 (1966).
- 89) 西澤一俊 : 藻類研究法, 西澤一俊, 千原光雄編, 共立出版
(東京) , p.623 (1992).
- 90) 東京大学 : 東京大学農芸化学実験書 上巻, 朝倉書店 (東京) ,
p.9-10 (1966).
- 91) 富士川龍郎, 阿武尚彦, 和田正太 : *農化誌*, 49, 667-669
(1975).
- 92) 森 宏枝 : 海藻の生化学と利用, 日本水産学会編,
恒星社厚生閣 (東京) , p.33-45 (1983).
- 93) T. A. AcCaffrey, D. J. Falcone, W. Borth, C. F. Brayton and
B. Weksler: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 184, 773-781
(1992).
- 94) H. Itoh, H. Noda, H. Amano, C. Zhuaug, T. Mizuno and
H. Itoh : *Anticancer Res.*, 13, 2045-2052 (1993).
- 95) 酒井 武, 木村ひとみ, 児島 薫, 中山信司, 中西芳邦, 加藤

- 郁乃進：第17回 糖質シンポジウム要旨集, 209 (1995).
- 96) G. Bernardi and G. F. Springer : J. Biol. Chem., 237, 75-80 (1962).
- 97) T. Usui, K. Asari and T. Mizuno : Agric. Biol. Chem., 44, 1965-1966 (1980).
- 98) G. F. Springer, H. A. Wursei, G. M. McNeal. Jr. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 94, 404-409 (1957).
- 99) 梅崎 勇 : Chemotherapy, 22, 1435-1442 (1974).
- 100) 中沢昭三, 阿部史紀, 黒田浩之, 河野啓三, 東 忠英 : Chemotherapy, 24, 443-447 (1974).
- 101) 鈴木勇司, 山本一郎, 梅沢 巖 : Chemotherapy, 28, 165-170 (1974).
- 102) 辻 啓介 : 食物繊維, 印南 敏, 桐山修八編, 第一出版 (東京) , p.132-155 (1995).
- 103) B. H. Arjmandi, J. Ahn, S. Nathani and R. D. Reeves: J. Nutr., 122, 246- 253 (1992).
- 104) 石原源次, 石松茂子, 沖田卓雄, 堀 康二 : 家政誌, 45,579-584 (1994).
- 105) 入谷信子 : 栄食誌, 22, 258-261 (1969) .
- 106) 石井静江, 長谷川忠男, 鈴木隆雄 : 栄食誌, 33, 277-281 (1980) .

- 107) S. Miyagi and H. Sho : J. Home Econ. Jpn., 41,
965-973 (1990).
- 108) M. J. Fahrenbach, B. A. Riccardi and W. C. Grant : Pros.
Soc. Exp. Biol. Med., 123, 321-326 (1966).
- 109) J. Folch, M. Lees and G. H. Sloane-Stanley :
J. Biol. Chem., 226, 497-509 (1957).
- 110) W. M. Sperry and M. Webb : J. Biol. Chem., 187, 97-106
(1950).
- 111) M. J. Fletcher : Clin. Chim. Acta, 22, 393-397 (1968).
- 112) G. Gomori : J. Lab. Chem. Med., 27, 995-600 (1942).
- 113) D. L. Eaton and C. D. Klassen : Proc. Soc. Exp. Biol.
Med., 151, 198-202 (1976).
- 114) J. A. Story and D. Kritchevsky : J. Nutr., 106, 1292-1294
(1976).
- 115) 奥 恒行, 小西史子, 細谷憲政 : 栄食誌, 34, 437- 443
(1981).
- 116) 西澤一俊 : 海藻と成人病予防, 研成社 (東京), p.77-82
(1993).
- 117) 辻 啓介, 辻 悦子, 鈴木慎次郎 : 栄養と食糧, 31, 485-489
(1978).
- 118) J. W. Anderson, L. Story and B. Sieling : Am. J. Clin.

Nutr.,40, 1146-1155 (1984).

119) 中川靖枝, 辻 啓介, 辻 悦子, 鈴木慎次郎 : 栄養誌, 39,
47- 58 (1981).



inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

