

氏名	丸山 紗季
学位の種類	博士 (食物栄養学)
学位記番号	家博甲第 16 号
学位授与の年月日	令和 4 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 家政学研究科 食物栄養学専攻
論文題目	Role of Alginate in the Mechanism by which Brown Seaweed <i>Saccharina japonica</i> Intake Alleviates an Increase in Blood Pressure in 2-Kidney, 1-Clip Renovascular Hypertensive Rats
論文審査委員	主査 教授 狩野 百合子 副査 教授 小倉 嘉夫 副査 教授 木村 万里子 副査 森ノ宮医療大学 教授 青木 元邦

論文要旨

【背景・目的】

褐藻類に属する真昆布 (*Saccharina japonica*) は、高血圧自然発症ラットに継続的に経口摂取させると、血圧上昇を抑制させることが報告されている。この効果には、これまで消化管内においてナトリウムがアルギン酸に吸着し、アルギン酸塩として排出されることによる糞便中へのナトリウム排泄量の増加が関与していると推測されてきたが、その詳細なメカニズムは未だ解明されていない。本研究では、腎血管性高血圧モデル (2K1C) ラットにアルギン酸量の異なる海藻類を摂取させ、血圧上昇抑制や尿及び糞便中ナトリウム排泄量を観察することで、このメカニズムの検討を行った。

【方法】

2K1C または偽手術を受けたラットに、アルギン酸含有量の異なる数種類の海藻類 (5.0%, w/w) あるいは昆布出汁を添加した標準塩分または高塩分餌を 6 週間与え、毎週 1 回、収縮期血圧を測定し、最後に平均血圧を測定した。また、各海藻に含まれるアルギン酸をアルギン酸ナトリウムとして抽出し、ゲルろ過クロマトグラフィーにより総量と平均分子量を測定した。それらの結果から、各海藻に含まれるアルギン酸量と 2K1C ラットでの血圧上昇

抑制との関係をスピアマンの順位相関係数を用いて評価した。さらに、24 時間の尿中および糞便中のナトリウム排泄量を原子吸光光度計により測定した。

【結果】

真昆布と、同量の真昆布からとった昆布出汁は、同程度の強さの血圧上昇抑制効果を示した。両者に加え、利尻昆布 (*Saccharina ochotensis*) の葉や根の摂取も、それぞれ 2K1C ラットの血圧上昇を抑制したが、ワカメ (*Undaria pinnatifida*) やメカブ (the sporophyll of *Undaria pinnatifida*) の摂取は血圧上昇を抑制しなかった。これら血圧上昇抑制作用の強さは海藻に含まれるアルギン酸量や平均分子量に比例しなかった。高塩分餌を与えた 2K1C ラットでは、昆布摂取により糞便中のナトリウム排泄量は増加したが、その排泄量は尿中のナトリウム排泄量の僅か約 0.02%であった。

【考察】

本研究では、1) 海藻食に含まれるアルギン酸の量は、海藻食を摂取した 2K1C ラットの血圧上昇抑制の強さには関連しないこと、2) 昆布に含まれるアルギン酸の 20%しか含まれない昆布出汁の摂取が、2K1C ラットの昆布摂取と同程度に血圧上昇を抑制したこと、3) 昆布を添加した高塩分餌を摂取した 2K1C ラットにおいては、糞中に排泄されるナトリウム量は増加するものの、その量は尿中に排泄されるナトリウム量に比べて非常に少ないこと、が示された。これらのことから、消化管内のアルギン酸にナトリウムイオンが結合することによる糞便中へのナトリウム排泄量の増加は、2K1C ラットにおいて、昆布摂取による高血圧抑制効果の主要なメカニズムではない可能性が示された。このことは昆布及び昆布出汁摂取による降圧効果のメカニズム解明の一助となると考えられる。

【結論】

2K1C ラットにおける昆布摂取による高血圧抑制効果のメカニズムとして、昆布に含まれるアルギン酸による糞便へのナトリウム排泄増加の関与は低いと考えられる。

審査結果の要旨

本論文は、腎血管性高血圧モデル動物である 2K1C ラットにおける高血圧に及ぼす真昆布摂取による血圧上昇抑制効果のメカニズムについて、特にアルギン酸塩の役割について調べたものである。論文要旨は以下のようにまとめられる。

腎血管性高血圧ラット（2K1C）または偽手術を受けたラットにアルギン酸塩含有量の異なる数種類の海藻類（5.0%, w/w）あるいは昆布出汁を添加した標準塩分餌（0.7%NaCl）または高塩分餌（6.0%NaCl）を 6 週間与え、毎週 1 回 tail-cuff 法で収縮期血圧（SBP）を測定し、実験期間終了時に麻酔下で平均血圧（MAP）を測定し、血圧上昇抑制効果を調べた。特に高塩分餌摂取においては、尿中・糞中ナトリウム排泄量の測定を行うことにより、アルギン酸塩のナトリウム排泄における役割について検討された。

まず、標準塩分餌（0.7%NaCl）についての検討がなされた。4 週齢 SD 系雄性ラットを市販飼料（クレア社製 CE-2）で予備飼育を行った後、6 週齢時に左腎動脈をクリップで狭窄させた 2K1C の群と偽手術を施した（SHAM : CE-2 摂取）群に分け、2K1C 群の中でのコントロール（CE-2）食群に対し、さらにアルギン酸塩含有量の異なる数種類の海藻類をコントロール食（CE-2）に添加（5.0%, w/w）した真昆布葉摂取群、真昆布根摂取群、真昆布出汁（真昆布と同量の真昆布から獲った出汁）摂取群、利尻昆布葉摂取群、利尻昆布根摂取群、ワカメ摂取群、及びワカメ葉摂取群とし、ペアーアーフィーディングにより 6 週間飼育した。毎週一回 tail-cuff 法で収縮期血圧（SBP）を測定し、実験期間終了時に麻酔下で平均血圧（MAP）を測定した。その結果、真昆布摂取群と真昆布出汁摂取群は、同程度の強さの血圧上昇抑制効果を示した。さらに、利尻昆布葉摂取群及び利尻昆布根摂取群でも、それぞれ 2K1C ラットの血圧上昇抑制を抑制した。一方、ワカメ摂取群やメカブ摂取群では、血圧上昇を抑制しなかった。また、これらの海藻類におけるアルギン酸塩含有量と粘度とアルギン酸塩分子量に対する血圧上昇抑制効果の相関関係を調べたが、いずれも相関していないことが示された。

次に、高塩分餌（6.0%NaCl）についての検討がなされた。4 週齢 SD 系雄性ラットを 2 週間予備飼育後、6 週齢時に 2K1C と偽手術を施した群（SHAM 群）に分けた。2K1C 群を高塩分コントロール（AIN93G+6.0%NaCl）食群と真昆布摂取群の 2 群に対し、SHAM 群を標準塩分食（AIN93G）群、高塩分食（AIN93G+6.0%NaCl）群及び真昆布摂取群の 3 群とし、合計 5 群で 6 週間ペアーアーフィーディングにより飼育した。血圧の測定方法は先の標準塩分餌の場合と同様に行った。その結果、高塩分餌においても、昆布摂取により血圧上昇抑制効果が示された。その時の尿中ナトリウム排泄量を調べた結果、標準塩分餌に比較して、高塩分餌では尿中ナトリウム排泄量は有意に高くなり、そのナトリウム摂取量にはほぼ相当（一致）していることが分かった。また、高塩分餌を与えた 2K1C ラットでは、尿中ナトリウム排泄量には昆布摂取により有意差はなかったが、昆布摂取により糞中ナトリウム排泄量は有意

に増加していた。しかし、その糞中ナトリウム排泄量は尿中ナトリウム排泄量の僅か0.02%であることが分かった。

以上の研究結果より、

1) 海藻食に含まれるアルギン酸塩の量は、海藻食を摂取した2K1Cラットの血圧上昇抑制の強さには関連しないこと、2) 昆布に含まれるアルギン酸塩の20%しか含まれない昆布出汁の摂取が2K1Cラットの昆布摂取と同程度に血圧上昇抑制をしたこと、3) 昆布を添加した高塩分餌を摂取した2K1Cラットにおいては、糞中に排泄されるナトリウム量は有意に増加したものの、その量は尿中に排泄されるナトリウム量に比べて、非常に少ないことが示された。

したがって、本研究では、昆布に含まれるアルギン酸塩による糞中へのナトリウム排泄量が有意な増加を示したものの、尿中ナトリウム排泄量の僅か0.02%に相当しないことから、2K1Cラットにおける昆布摂取により高血圧抑制効果の主要なメカニズムではないことを結論として、導き出している。また、本研究で使用した実験動物について、その倫理的な側面についても十分な配慮がなされていることを確認した。先行研究に関しても十分把握した上で、研究結果を論じており、周辺領域の知識も十分あることが伺われる。加えて、論文の記述、図表についても適切である。

以上の点から、本論文は博士（食物栄養学）の学位論文に十分相当するものと判断する。

試験の結果又は学力の確認の要旨

2022年1月に各審査委員は、提出された論文に関して研究設定の妥当性、方法、結果の解釈について質疑を行い、関連領域の知識についても諮問を行うことで学力を確認した。いずれの質疑に対しても、適確でわかりやすい説明・回答がなされ、博士としての学力は十分であると判断した。

公開博士論文討論発表会の結果

公開博士論文発表会は、2022年2月10日午後1時より、オンライン形式（Zoomミーティング）により行われた。家政学研究科教員、院生、その他教職員等の出席のもと、事前に作成されたパワーポイントによる発表動画（30分間）をオンライン上で再生することで発表が行われた。その発表動画は、他の先行研究による研究背景を最初に示した上で、自己の研究の目的・結果を示し、随所に工夫がみられた理解しやすい発表構成であった。

申請論文に記載されていたように、本研究では2K1Cまたは偽手術を受けたラットにアルギン酸塩含有量の異なる数種類の海藻類（5.0%, w/w）あるいは昆布出汁を添加した標準塩分または高塩分餌を6週間与え、毎週1回収縮期血圧を測定し、最後に平均血圧を測定した。さらに、2K1Cラットでのアルギン酸塩量の異なる海藻類を摂取させ血圧上昇抑制や尿・糞中ナトリウム排泄量を観察すると共に、その上で、各海藻に含まれるアルギン酸塩を抽出し、ゲルろ過クロマトグラフィーによる総量と平均分子量を測定し、血圧との相関

関係について調べることで、メカニズムの検討を行っている。

動画再生後、約 50 分間にわたって主査、副査を含む教員、その他出席された多数の教員から活発な質疑が行われた。質疑の主な内容は以下の通りである。

2K1C モデルラット使用理由及びその意義、昆布の容量設定、昆布摂取による血中へのアルギン酸塩の吸収及び消化管中での動態、昆布にあってワカメにない物は何か、Arginate の日本語表記及び標品使用への考え方、アルギン酸塩量と血圧との関係、アルドステロンやアンジオテンシン等ホルモン測定の有無、尿・糞中ナトリウム排泄量の収支についての妥当性、昆布中カリウム、及び食物繊維による代謝物による血圧への影響、高塩分餌による飲水量の状況、2K1C モデルラットへの高塩分摂取による血圧上昇との関係等について非常に多岐にわたり質問が行われた。

いずれの質問に対しても、自分の考えを落ち着いてわかりやすく説明するという回答がなされた。また、後日、提出された口頭試問の回答書（別紙）でさらに詳細に適切な回答が得られている。

これらの発表及び質疑応答の状況から、当該領域の博士に必要な知識とプレゼンテーション能力があることが確認された。

総合結果

すでに、口頭試問の回答書は、外部審査委員である青木元邦氏に送付されており、青木氏より論文は博士（食物栄養学）の学位に相応しいものであると返答を得ている。2022 年 2 月 24 日に内部の委員である主査 1 名、副査 2 名による論文審査委員会を開催した。学位論文の審査結果、及び公開博士論文討論発表会の結果を総合して審議したところ、全員一致で、提出された論文は博士（食物栄養学）の学位に相当するものと判断した。