

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：34511

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00862

研究課題名(和文) 昆布摂取および昆布と酢同時摂取による高血圧予防メカニズム

研究課題名(英文) Mechanisms of prevention from hypertension by intake of *Saccharina japonica* alone and with vinegar

研究代表者

栗原 伸公 (KURIHARA, Nobutaka)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号：10234569

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：腎血管性高血圧モデルラットに昆布を摂取させると血圧上昇が抑制され、さらに昆布と酢の同時摂取ではこの効果が増強する。本研究はこのメカニズムとして、主にアルギン酸の関与を調べた。まず真昆布においてアルギン酸含有量の異なる部位で効果を見たが、予想に反し含有量が少ない方が効果が強かった。次に、この高血圧モデルにおいて高塩分食は低塩分食より高い血圧を示したが、昆布を与えると同レベルまで血圧が低下し、アルギン酸の塩分吸着による降圧説が指示された。一方、昆布を酢に浸漬すると効果が増強されたが、含有するアルギン酸分子量分布に変化は見られなかった。以上より、主要なメカニズムへのアルギン酸の関与は示されなかった。

研究成果の概要(英文)： *Saccharina japonica* (SJ) intake attenuates hypertension, which is enhanced by the intake with vinegar, in renovascular hypertensive model rats. This study investigated the mechanisms focused on the role of alginate. First, we observed the effect of the part including lower content of alginate in SJ more strongly attenuated blood pressure (BP)-increase compared with the part including higher content in hypertensive model, contrary to expectation. Second, in the hypertensive model, high salt diet indicated higher BP than low salt diet, but SJ intake decreased both BP to the similar level, which supported the hypothesis that alginate decreased BP by adsorbing salt. Third, although SJ soaked in vinegar enhanced the attenuation of BP-increment compared with SJ alone, the distribution of molecular weight of alginate was not different between SJ and SJ soaked in vinegar. These observations did not indicate that alginate plays a major role in the mechanism of attenuation of BP-increase by SJ.

研究分野：食生活学、衛生学

キーワード：高血圧予防 昆布 酢 アルギン酸 塩分

1. 研究開始当初の背景

私たちは、本研究開始時まで 10 年余に亘って、栄養成分による高血圧予防をテーマとした研究を行い、腎血管性高血圧モデル(2K1C)ラットや高血圧自然発症ラット(SHR)などにおいて、トウガラシの辛味成分であるカプサイシン、生姜のジンゲロール、トマトのリコピン、ニンニク、ラッキョウなど、様々な栄養成分や食品等を継続的に摂取した際の血圧に対する効果を調べてきた。そのうち効果が見られたものに対してはメカニズムの検討を行ってきた。そして、カプサイシンやジンゲロールが TRPV1 を、ラッキョウが主に TRPA1 を刺激し、CGRP や SPなどを介して、血管拡張物質 NO の活性を上昇させることにより、高血圧モデルの血圧上昇を抑制する可能性を示してきた。

これとは別に、研究開始の数年前から昆布についてもその効果を観察していた。それまで血圧上昇抑制効果を示した学術論文は、国内のものに限られ、その数もきわめて限定的であったが、私たちはその時点まで 5 - 9 週間の投与実験を計 6 クール行い、いずれも昆布による血圧上昇抑制効果を確認していた。6 クールのうち 3 クールでは昆布と酢との同時摂取による効果も観察した。昆布と酢を同時摂取させた場合、その効果は両者の各々の効果を加えた場合と同等あるいはそれ以上であり、相乗効果を示している可能性もあるものと考えられた。

こうしたことから、本研究では、これら昆布、および昆布と酢による血圧上昇抑制効果のメカニズムの検討を行うこととした。

2. 研究の目的

これまで昆布による血圧降下メカニズムにおいては、主要成分であるアルギン酸の役割が大きいと考えられてきた。アルギン酸は食物繊維の一種で昆布の主成分であり、水分を除くと 20 ~ 30% を占めている。アルギン酸カリウムを餌に混ぜ、塩分 1% を付加した餌を摂取させた SHR に摂取させると、アルギン酸が Na^+ を吸着し、 Na^+ の吸収抑制によって血圧を低下させたとの報告がある(辻他 1993)。一方、アルギン酸をオリゴ糖に加工して投与すると、 Na 塩でも血圧上昇抑制が見られるとの報告(桶浦他 2001)や、低塩分の餌を摂取させた SHR においても腎障害を抑制し血圧上昇を緩和するとの報告(Ueno 他 2012)もある。いずれも昆布そのものの投与ではなく、また SHR と 2K1C との違いがあり単純には結論づけられないが、昆布に含まれるアルギン酸の関与を一定の説得力をもって支持しているといえる。しかしながら、その一方で、私たちはアルギン酸が 5% 程度しか溶出しない問われる出汁の摂取によっても、もとの昆布と同程度の血圧上昇抑制効果を示すことを観察しており、アルギン酸が必ずしも主要なメカニズムに関与していない可能性を示した。

そこで、本研究では、このアルギン酸の関与について検討するために、以下の 3 点について調べることにした。

(1) アルギン酸が多く含まれる根昆布は、少ない葉昆布に比べ、2K1C において強い血圧上昇抑制効果を示すのか。

(2) アルギン酸が塩分を吸着して血圧上昇抑制効果を示すとすれば、その効果は低塩分食より高塩分食において大きくなるのか。

(3) アルギン酸が出汁を取る際の熱や、酢などによって低分子化され、血圧上昇抑制効果を高める可能性はないか。

これらに関して、2K1C モデルラットを用いて観察を行った。

上記(3)については、昆布と酢の相互作用のメカニズムについての大きな仮説の 1 つとして捉え、これを重ねて検証した。具体的には、昆布と酢の同時摂取において、昆布は食餌に混ぜ、酢は飲水中に混ぜることにより別々に摂取させた場合と、あらかじめそれらと同じ量の昆布を酢に十分に浸漬させてから摂取させた場合とで、血圧上昇抑制効果に差があるか否かを調べるとともに、浸漬前の昆布と浸漬後のアルギン酸の分子量の分布を解析した。

これらメカニズムの主体となる昆布成分酢によるその変化の検討とは別に、本研究では、蛋白・遺伝子レベルのメカニズムとして、昆布および、昆布と酢による血圧上昇抑制メカニズムに対して、renin-angiotensin (RA) 系をはじめとした血圧調節ホルモンの関与についても可能な限り検討を行った。

3. 研究の方法

すべての動物実験は、神戸女子大学動物実験研究倫理委員会(平成 29 年度より動物実験委員会と改称)の承認のもとに行った。

SD 系雄ラットに、予備飼育のあと、6 週齢時に 2K1C モデル導入手術を行った。これは麻酔下にて左腎動脈に銀製クリップを装着するものである。高血圧とはならない対照群として、クリップは装着しないがそれ以外は同じ操作をする SHAM 手術を行い、SHAM 群を作成した。手術前および手術後 6 週に至るまで計 7 回非麻酔下にてテイルカフ法により収縮期血圧(SBP)を測定するとともに、飼育終了時には麻酔下で平均血圧(MAP)を測定した。

手術後回復を待って、標準餌または特殊餌をペアフィーディング法により与えた。以下、与えた餌について述べる。なお、飲水については、とくに触れていない場合は水道水の自由摂取である。

(1) 葉昆布と根昆布の効果の検討については、各々粉末にし、標準餌に対して 5% に相当する分を混和したものをそれぞれ 2K1C 群に与えた。また、2K1C 群、SHAM 群にそれぞれ標準餌を与える群を用意し、計 4 群を観察した。

(2) 異なる塩分食における昆布の効果の検討

については、低塩分(NaCl 0.2%)、標準塩分(標準餌)(0.7%)、高塩分(6.0%)の3種類の塩分餌を用意し、粉末昆布(5%, W/W)を混和したものとし、計6種類を6群に分けた2K1C群に与えるとともに、SHAM群に標準餌を与える群を用意し、計7群について観察した。

(3) 酢漬けによる効果増強の有無に関する検討については、標準餌、5%(W/W)粉末昆布添加餌、5%(W/W)粉末昆布添加餌 + 5%(W/W)食酢含有水飲水、と同じ摂取量となるように、昆布を食酢に浸漬させた後、標準餌に混和した餌、をそれぞれ2K1Cに与え、併せてSHAM群に標準餌を摂取させた。

なお、(2)については、最終週に代謝ケージを用いて、糞と尿を2日間採取し、糞中ナトリウム排泄量および尿中ナトリウム排泄量を原子吸光を用いて測定した。また、(3)については、浸漬した昆布と元の昆布について、アルギン酸をアルギン酸Naとして抽出し、ゲル浸透クロマトグラフィーにて分子量分布を測定した。

加えて、これらのラットの一部を用いて、MAP測定後麻酔下のまま脱血死により安楽死させたのち、大動脈を採取し、血圧調節ホルモンの関与を調べた。すなわち、endothelial nitric oxide synthase (eNOS)のmRNA発現および蛋白の活性化に関してreal-time RT-PCRおよびWestern blotting法により測定するとともに、angiotensin converting enzyme (ACE) 1、angiotensin II type 1 receptor (AT1)、angiotensin II type 2 receptor (AT2)のmRNA発現量をreal-time RT-PCR法により測定した。

4. 研究成果

(1) 昆布の中でアルギン酸含有量が異なる根と葉の部分それぞれを投与したところ、その効果は、含有量が少ないはずの葉の部分の方が有意に強いことが明らかとなった。このことは、当研究室の別課題で行ったアルギン酸を含むワカメやモズクの効果がやはりアルギン酸含有量と関連しなかったことや、先にも述べた、昆布と、同量の昆布から得られる昆布出汁との効果が同程度であることを併せて考えるに、昆布に含まれるアルギン酸量がそのまま血圧上昇抑制効果を反映しないことが示唆されることから、アルギン酸は少なくとも単独では、必ずしも主要なメカニズムに関与しない可能性があるものと考えられた。

(2) 一方、高塩分食を与えると標準塩分食を与えた場合よりもさらに血圧が上昇するが、両者に同量の昆布を与えると血圧が同じレベルに低下したことから、アルギン酸がNaを吸着して体外排泄を行っている可能性も示唆された。しかしながら、昆布中のアルギン酸がそのような役割を果たしたという直接的な証拠はない。なお、今回、尿中、糞中のNaを原子吸光により測定したが、有意な

結果を得るには至らなかった。これについては、今後再検討を行いたい。

低塩分食については、標準塩分食と昆布添加餌、非添加餌とも有意な差は見られなかった。

(3) 昆布の単独摂取に比べ、餌中の昆布と飲水中の酢との同時摂取は、有意に強い血圧上昇抑制効果をしめしたが、昆布をあらかじめ酢漬けにしたものを投与すると、この別々の経路で摂取するよりもさらに有意に強い効果を認めたことから、仮説の通り、昆布のアルギン酸が酢漬けにより低分子化している可能性が考えられた。しかし、実際に昆布および酢漬けした昆布に含まれるアルギン酸含有量を測定すると、両者に特に差がないことが示唆されたことから、この仮説は支持されなかった。ただし、酢漬けにより効果が増強することに関しては、低分子化以外の昆布の何らかの変化によるものであると考えられることから、新たなメカニズムの追究という課題を得ることとなった。

血圧調節ホルモンの関与については、mRNA発現及び蛋白・活性化蛋白の半定量的結果、昆布による血圧上昇抑制効果のメカニズムにおいてeNOSの関与は低いと考えられた。また、ACE、AT1及びAT2についても、少なくともmRNAレベルでは、これらの関与は低いものと考えられた。

以上のことから、高血圧モデルラットにおける昆布摂取による血圧上昇抑制効果のメカニズムとして、アルギン酸が関与している直接的な証拠は得られず、むしろ主要なメカニズムへの関与は否定的であると考えられた。しかし、昆布に含まれるアルギン酸以外の何らかの成分、あるいはアルギン酸を含めた各成分の組合せが、例えば高塩分食に対する効果の増強や、酢漬けによる効果の増強をもたらしている可能性があることから、今後は本研究で得られた多くの知見をベースとして、さらにメカニズムの追究を続けていきたい。併せて、renin-angiotensin系以外も含めて血圧調整ホルモンの関与についても、その分子メカニズムの探究を行っていきたい。

本研究は、かつては主に日本と中国の研究者を中心に関心を集めていたが、近年は国際学会などにおいて、両国以外にも他の様々な国や地域の研究者たちから質問を受ける機会がとて多くなってきたことを実感しているところである。今後も本研究を続けることで、この研究が目指してきたメカニズムの解明が達成できれば、そのメカニズムは様々な形での応用が可能となることから、昆布をはじめとする褐藻類摂取による高血圧・循環器系疾患の実用的な予防法開発に繋がることを期待できる。したがって、近い将来、本研究に対して、わが国での関心はもちろんのこと、国際的な関心がさらに高まり、広がっていくことを確信している。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 6 件)

Maruyama S, Segawa Y, Hashimoto H, Osera T, Kurihara N. Role of the Renin-Angiotensin-System on Remarkable Decrements in Blood Pressure by Combined Intake of Saccharina Japonica and Vinegar in 2-Kidney, 1-Clip Renovascular Hypertensive Rats. 1st International Congress of Hypertension in Children and Adolescents, Valencia, Spain. Feb 9-11, 2018.

Maruyama S, Segawa Y, Hashimoto H, Osera T, Kurihara N. Exploration of the Mechanism in Which Saccharina Japonica Alleviates an Increase in Blood Pressure in Renovascular Hypertensive Rats, the 69th High Blood Pressure Research Conference, American Heart Association, Orlando, FL, September 14-17, 2016.

Maruyama S, Segawa Y, Hashimoto H, Osera T, Kurihara N. Saccharina Japonica Soaked in Vinegar Remarkably Decreases Blood Pressure In 2-kidney, 1-clip Renovascular Hypertensive Rats. the 69th High Blood Pressure Research Conference, American Heart Association, Orlando, FL, September 14-17, 2016.

瀬川悠紀子、丸山紗季、橋本弘子、大瀬良知子、梶原稚英、栗原伸公 腎血管性高血圧モデルラットにおける昆布摂取による血圧上昇抑制効果の機序 日本衛生学会, 旭川, 2016.

丸山紗季、瀬川悠紀子、橋本弘子、梶原稚英、大瀬良知子、栗原伸公 腎血管性高血圧モデルにおける昆布と食酢の相互作用 - 異なる投与形態による検討 - 日本衛生学会, 旭川, 2016.

Segawa Y, Hashimoto H, Osera T, Kurihara N. Alginate Acid May Not Play a Major Role in the Mechanism of Alleviating Hypertension by Dietary Saccharina Japonica in 2-kidney, 1-clip Renovascular Hypertensive Rats, the 68th High Blood Pressure Research Conference, American Heart Association, Washington, DC, September 14-17, 2015.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

栗原 伸公 (KURIHARA, Nobutaka)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号 : 10234569

(4)研究協力者

瀬川 悠紀子 (SEGAWA, Yukiko)

丸山 紗季 (MARUYAMA, Saki)

大瀬良 知子 (OSERA, Tomoko)

橋本 弘子 (HASHIMOTO, Hiroko)