

海藻エキスの栄養学的研究

I. 抗腫瘍効果および含有ヒ素の吸収について

青木みか・遠山和子・谷由美子

Nutritive studies on the algae-extract

I. Antitumor effect and intestinal absorption of arsen in the algae-extract

M. AOKI, K. TOYAMA and Y. TANI

はじめに

海藻は不消化性多糖類を含有するためコレステロールの吸収を阻害して血清コレステロールを低下させる^{1) 2)} 他カルシウム, ヨウ素, 鉄, カロチンなどを含有する点においてもその栄養学的効果が認められている. また最近中沢^{3) 4)} らは褐藻類から抗腫瘍性物質を分離している. しかし一方において海藻には一般にヒ素の含有量が高くコンブに20~90ppm, ヒジキには100ppm以上存在し食品許容量⁵⁾ (1~5 ppm) をはるかにこえていることが諸文献^{6) 7) 8)} にみられる.

私共は市販海藻エキスが便秘症, 貧血症, 動脈硬化症の他ある種の癌にも効果をもつという文献⁹⁾ や飲用者の経験談を見聞したため今回はまず動物実験で抗腫瘍効果を検討するとともに海藻に含有されるヒ素の吸収率ならびに体内保留率を明らかにすることを目的として本実験を行った.

実験方法

供試動物: 実験には生後4週間のdd系, ♂マウス(体重19.5g ± 1.3g) 67頭使用し, 1973年から3年間にわたり3回にわけて飼育したが, 第1回と第2回は海藻エキスの制癌作用の検討をし第3回はヒ素の吸収実験を行った. またいずれの場合も長期飼育をしてマウスの発育に及ぼす海藻エキスの効果をもしらべた. 供試動物の概要は表1のとおりである.

表1 供試動物概要

実験No.	実験期間	供試動物数 および区分	海藻エキス 投与濃度(%)	実験目的
I	1973年 6月5日~1973年 12月24日	20頭, 4群	1.5%, 0.5%	海藻エキスの制癌作用検討
II	1973年 9月21日~1974年 4月27日	21頭, 3群	2.0%, 0.5%	同上
III	1975年 6月11日~継続中	26頭, 3群	1.5%	海藻エキス含有ヒ素の吸収率の測定

供試海藻エキス: 使用した海藻エキスは市販品(サンヨウ食産K. K. 海藻研究所製)でアラ

メ、カジメ、ヒジキなどに水を加えて加熱溶解した後、布で濾過して濃縮し瓶に充填したもので供試したエキス的一般成分の分析値ならびに原子吸光分析による無機成分の含有率は表2のとおりであり炭水化物として高部¹⁰⁾の分析によればフコイダン、ラミナリン、アルギン酸などが含まれている。

表2 供試海藻エキスの成分

水分 (%)	粗たん白 (%)	粗脂肪 (%)	炭水化物 (%)	無機質 (%)	粗繊維 (%)	カルシウム (mg%)	鉄 (mg%)	カリ (mg%)	亜鉛 (mg%)	銅 (mg%)	ビタミンB ₂ (mg%)
86.7	1.54	0.21	10.32	1.23	痕跡	95	0.24	0.16	0.16	0.66	0.70

I) 抗腫瘍効果の検討

i) 実験 I

a) 動物飼育法と飼料効率の測定法

昭和48年6月から29週間マウス20頭を4群にわけ、A、B群は水、C群は水の代わりに海藻エキスを1.5%濃度に水で稀釈した溶液、D群は海藻エキスの0.5%水溶液を自由に摂取せしめいずれの群にも標準固形飼料(日本クレアK. K. CE-2)を充分量与えて25°±2°Cの飼育室で飼育した。飼育中は隔日に飼料と海藻エキスの摂取量を測定し週1回体重の測定を行った。またB、C、D群は人工的皮膚癌を負荷するため化学処理を施しA群は対照区として発癌処理を行わなかった。なお体重増加率、飼料摂取量が各群間において有意に相異したため飼育10週間を経過した時、飼料たん白の効率をみるため尿および摂取飼料中の窒素をマイクロケルダール法で測定し、発癌処理ならびに海藻エキスが飼料たん白の吸収率におよぼす影響をしらべた。

b) 人工的発癌処理法

20-メチルコランスレン(以下20-MCと略記する)0.25g/dlベンゼン溶液0.04mlずつを予め剃毛したマウス肩甲骨間部(1×1cm)の皮膚にガラス製スポイドを用いて週3回塗布し20回の塗布をもって処理完了とした。この処理により20-MCの1頭当りの塗布総量は2.0mgとなった。対照群(A)5頭の動物には何の処理も施さなかった。

c) 制癌作用の検討方法

20-MC塗布部の皮膚は硬化し次第に癌化するが、水投与群と海藻エキス投与群について肉眼的観察による症状や発癌率、死亡率および延命効果を比較した。また死亡したものについては肝、腎、脾、肺の組織標本を作成し癌転移の有無をしらべるとともに皮膚原発病巣における癌組織の異形性を比較した。

ii) 実験 II

昭和48年9月から31週飼育したが実験Iにおいて海藻エキス1.5%水溶液投与群に若干の延命効果を認めため本実験ではさらに高濃度とし海藻エキス2.0%水溶液を使用した。即ち21頭のマウスを7頭ずつ3群にわけA'群は水投与、B'群は2.0%海藻エキス、C'群は0.5%海藻エキス投与群として全群に発癌処理を実施した。発癌には20-MC0.3g/dlベンゼン溶液を使用し実験Iと同様に剃毛した肩甲骨間部の皮膚に2滴ずつ隔日に塗布し22回の処理をもって完了したが1頭当りの塗布総量は2.5mgとなった。制癌作用の検討方法は上記実験Iのとおりである。

II) 海藻エキス含有ヒ素の吸収率測定

i) 生後4週経過マウス26頭を3群にわけ対照(a)群8頭は水投与、b群9頭は特級亜ヒ

酸ナトリウム水溶液のヒ素濃度を50ppmに調整したものを水の代りに自由に摂取させ、c群9頭は1.5% 海藻エキス水溶液を水の代りに投与し固形飼料はいずれの群も任意に摂取させて25°±1.5°Cの飼育室で飼育、体重は週1回測定し成育に及ぼすヒ素ならびに海藻エキスの影響をしらべた。またヒ素吸収率の測定に際しては飼育10~13週経過した時、マウス用代謝ケージに1頭ずつ移し3日間尿および尿を蓄積しこの間における飼料および水分摂取量も測定し、尿および尿中ヒ素を定量してヒ素の出納関係をa, b, c 3群について比較した。尚飼育11~13週にb, c群各1頭ずつ死亡し、飼育10週の時各群1~2頭解剖したためヒ素出納は残りのマウスについて実施した。本実験は昭和50年6月から飼育を始め目下飼育継続中である。

ii) ヒ素定量法

尿、尿、海藻エキス含有のヒ素は厚生省編集の食品添加物公定書記載の方法^{11) 12)} (以下公定試験法と略称) とフリュームレスアトマイザーによるヒ素分析を併用した。即ち前者はヒ素を還元し試薬と反応させ黄色に呈色した汙紙について比色定量を行うがヒ素濃度が高い場合褐色味をおびて正確な定量が困難となるためヒ素含量の高い試料ならびに液体試料についてはフリュームレスアトマイザーによる分析を併用した。尚両者とも測定液の前処理には下記のとおり湿式灰化を実施した。

a) 試料の湿式灰化による試験溶液の調製

海藻エキスおよび固形飼料は5g、マウス尿は1g、尿は3日間の蓄積全量(3~6g)を300ml容の分解フラスコにとり特級硝酸30ml加えてよく混和し1夜放置した後おだやかに加熱する。約1時間余り加熱した後放冷し特級硫酸2mlを加えて再び加熱する。約30分加熱すれば淡黄色となるが特級硝酸5mlずつ20~30分おきに約3回加えるとほぼ無色になる。さらに液量が約2mlになり硫酸の白煙が発生するまで加熱を続け分解の完了とする。なお分解が長引く時はさらに過塩素酸1ml加えて加熱分解し過量の過塩素酸は加熱して追い出す。放冷後水5mlおよび飽和蔭酸アンモニウム10ml加えて加熱し、硝酸を完全に放散させ、硫酸の白煙が発生するまで加熱する。液量は約2ml位であるがビーカーに移し濃アンモニア水で中和し50mlに定容してヒ素定量に供試した。

b) 公定試験法によるヒ素の定量

本法はヒ素試験装置を使用し臭化第二水銀で処理した汙紙をヒ化水素で黄色に呈色させるが比色定量に際し今回は400m μ における反射率を島津 spec. 20 附属反射光測定装置によって測定し予め作成した検量線から試料中のヒ素濃度を求めた。試薬ならびに実施法の概要は下記のとおりである。

試薬：1N ヨウ化カリウム、亜鉛(無ヒ素)、塩化第一スズ塩酸溶液($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4gをHCl 250mlに溶かしたもの)、酢酸鉛溶液($[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ 9.5gを純水100mlに酢酸1滴を加えた液に溶かす)、臭化第二水銀紙(クロマトグラフィー用汙紙を3cm×10cmに切り、これを臭化第二水銀5gを95%アルコール100mlに溶かした液に浸し約1時間暗所に放置したのち暗所で自然乾燥し直径約18mmの円形に切り2日以内に使用する)、ヒ素標準溶液(As_2O_3 0.1gを20% NaOH 5mlに溶かし無炭酸水約400mlを加えたのち10% H_2SO_4 で中和しさらに10% H_2SO_4 10ml および水を加えて全量を1lとし保存溶液とする。保存溶液10mlに10% H_2SO_4 10ml 加えたのち無炭酸水を加えて全量を1lとして1ml中As 0.001mgを含む標準溶液を作成した)

実施法：ヒ素測定装置の下部ガラス管内約30mmの高さまでガラス繊維をつめ酢酸鉛溶液で均

等に潤おし，上方ガラス管接続部は臭化水銀紙をはさみ，クリップで両管を固定する．上記(a)の調製液は 50ppm ヒ素水溶液投与群マウスの尿および尿の場合のみ 2~5 ml を使用，他の試料は 20ml (As 0.2~1.0 μ g) を測定装置の発生ビンに入れる．ついで 1N ヨウ化カリウム溶液 5 ml および塩化第一スズ溶液 5 ml を加えて 10 分間放置したのち水を加えて 40ml とする．つぎに亜鉛 2 g を加え上記のガラス繊維と沓紙を入れたガラス管をつけたゴム栓を発生ビンにつけ，25°C の恒温器で 1 時間静置する．ついで呈色試験紙をとりはずし 30 分以内に光電比色計を用い 400m μ における反射率を測定し別に作成した検量線 (As 0.8~2.2 μ g の間においてほぼ直線となる) からヒ素の含量を求めた．

c) フレームレスアトマイザーによるヒ素の定量

ヒ素についてフレームレス法による原子吸光分析を行う場合多量の塩類が干渉して正確な実験値が得難いため今回は山本，熊丸¹³⁾ の溶媒抽出法でヒ素を分離した後，原子吸光分析に供した．抽出法および測定条件は下記のとおりである．

抽出法：総ヒ素 (Ⅲ価 + V 価) を定量する場合は前記 (Ⅱ-ii-a) のとおり湿式灰化によって調製した供試液 20ml，海藻エキスの場合は原液 10ml を使用し，これに濃塩酸 0.87ml 加え約 0.5N の塩酸酸性とし，20% ヨウ化カリ 1 ml 加えて 30 分放置しヒ素 V 価をⅢ価に還元する．ついで 1% チオ硫酸ナトリウムを加え遊離したヨウ素を還元し脱色するこれに 5% Ethylene diamine tetra acetate (EDTA) 溶液 5 ml 加えアンモニア水で pH 5.0~5.3 にし 1% Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) 1 ml，1M 酢酸緩衝液 (pH 5.2) 5 ml 加えた後全量を 40ml にする．ついで Methyl isobutylketone (MIBK) 5 ml 加え 2 分間振とうした後 3000 r. p. m. で 5 分間遠心分離を行って有機相を分析に供試した．

Ⅲ価のヒ素を定量する場合は湿式灰化した検液 20ml，海藻エキスは原液 10ml を分液ロートにとり 5% EDTA 溶液 5 ml，1% APDC 1 ml，1M 酢酸緩衝液 (pH 5.2) 5 ml 加え，これに MIBK 5 ml 加えて 2 分間振とうして有機相を遠心分離し分析に供試した．

測定装置は日立 208 形原子吸光光度計とフレームレスアトマイザーを使用し測定条件は波長 1976.5A，電流 15mA，スリット 2-2，感度 8，プログラム 4，電圧 9V，乾燥時間 10 秒，灰化時間 20 秒，原子化時間 10 秒とし，N₂ 流量は auto change で 1.5~3 l/min とした．注入量 20 μ l でヒ素 5~20 γ の検量線を試料測定時に同条件で作成して試料中のヒ素含量を求めた．

実験結果および考察

1. マウス発育におよぼす海藻エキスの影響

実験 I のマウス成育曲線は図 1 に示したが，飼育 14 週以降発癌マウスは順次死亡したため残存マウスの平均体重の消長を表示した．すなわち飼育開始時はいずれの群も 18.4 \pm 0.3 g であったが 26 週飼育時においては対照 (A) 群のみ順調な発育を示し平均体重 37.8 \pm 2.8 g となった．B, C, D 群の発癌区は 20-MC 処理終了 (飼育 10 週経過) 後ほとんど成長がみられず 19 週以降体重は減少した．これら発癌区の中では 1.5% 海藻エキス投与 (C) 群の成育が最も良好で 0.5% 海藻エキス投与 (D) 群がついでよく水投与 (B) 群が最低であったが飼育 16 週以降は B, D 両群間には有意差を認めなかった．即ち飼育終了 (死亡) 時における群別平均体重は C 群 25.16 \pm 1.20 g，D 群 24.52 \pm 5.54 g，B 群 23.28 \pm 5.24 g となり 1.5% 海藻エキス投与群が最高で群内の標準偏差は最小であった．

飼育期間中の 1 日 1 頭当りの海藻エキスおよび固形飼料摂取量は表 3 に飼料たん白の吸収率は表 4 に表示した．すなわち水摂取量は 1 日平均 4.5 ml，海藻エキス摂取量は C, D 群とも 5.7 ml

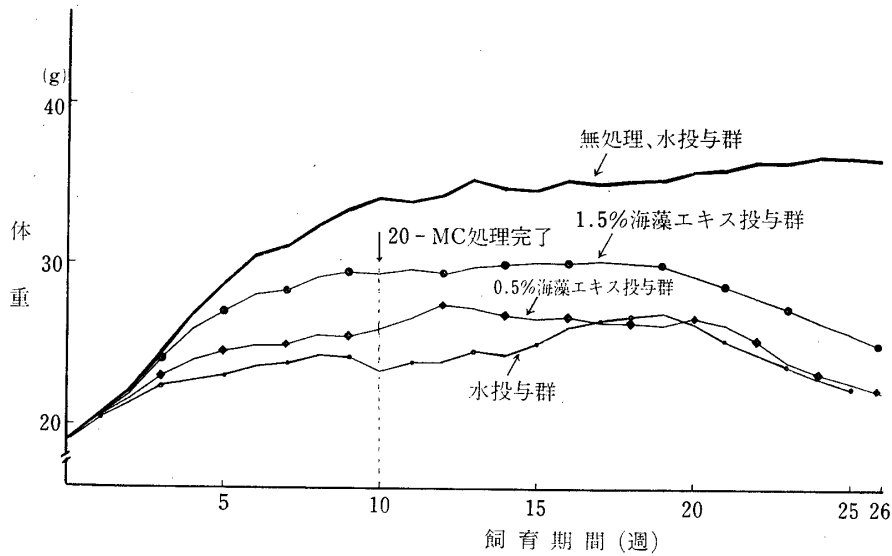


図1 発癌処理マウス体重の消長(実験I)

となった。海藻エキス1.5%濃度の場合風味の悪化をまねかず摂取量はむしろ水より多くなるが固形飼料摂取量も増加し対照群3.42gに対し海藻エキス1.5%群は4.10g、エキス0.5%投与群は3.99gとなった。なお飼料含有たん白のみかけの吸収率は無処理の

表3 海藻エキスおよび固形飼料摂取量(実験I)

測定年月日	1973 6/22	6/29	7/6	7/13	8/3	8/10	8/17	8/24	8/31	9/7	平均値	
飼育期間(週)	3	4	5	6	9	10	11	12	13	14	M±S.D.	
対照群	水摂取量 (ml/日/頭)	5.0	4.6	4.0	5.8	5.1	4.2	6.1	5.1	5.5	5.9	4.5 ±0.68
	固形飼料 (g/日/頭)	3.7	3.1	3.1	3.4	3.9	3.0	3.1	3.1	3.7	4.1	3.42 ±0.36
1.5% エキス 投与 群	1.5%エキス溶液 (ml/日/頭)	5.4 (0.08)	5.0 (0.08)	5.4 (0.08)	6.6 (0.10)	5.0 (0.08)	6.2 (0.09)	6.5 (0.10)	6.0 (0.09)	5.7 (0.09)	5.8 (0.09)	5.7 ±0.52 (0.09)
	固形飼料 (g/日/頭)	4.4	4.0	4.3	3.9	4.1	3.9	3.9	4.2	4.3	4.3	4.10 ±0.16
0.5% エキス 投与 群	0.5%エキス溶液 (ml/日/頭)	4.4 (0.02)	5.5 (0.03)	5.2 (0.03)	5.2 (0.03)	5.9 (0.03)	6.6 (0.03)	6.8 (0.03)	6.6 (0.03)	5.6 (0.03)	5.4 (0.03)	5.7 ±0.78 (0.03)
	固形飼料 (g/日/頭)	3.4	3.4	3.6	3.3	4.2	4.3	4.3	4.6	4.6	4.2	3.99 ±0.42

() 内は海藻エキス原液換算量

表4 飼料含有たん白のみかけ吸収率(実験I)

測定事項	飼育区分	20-MCによる発癌処理群			
	無処理	水投与群	1.5%海藻エキス 投与群	0.5%海藻エキス 投与群	
固形飼料摂取量(g/日/頭)	無処理	4.25	3.42	4.10	3.99
粗蛋白摂取量(mg/日/頭)	無処理	1020	821	984	958
尿排泄量(mg/日/頭)	無処理	513	725	780	778
尿中粗蛋白含有率(%)	無処理	17.92	25.50	26.00	19.71
尿中粗蛋白量(mg/日/頭)	無処理	91.9	184.8	202.8	153.2
飼料含有たん白吸収率(%)	無処理	90.98	77.43	79.45	84.02

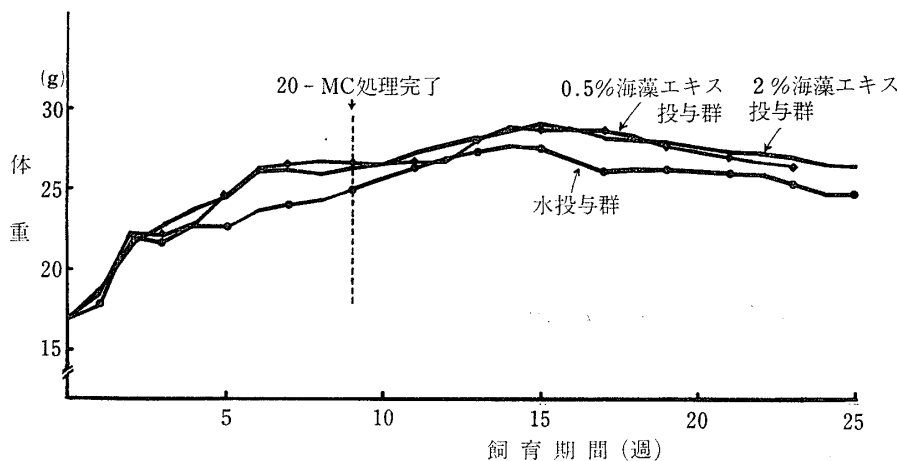


図2 発癌処理マウス体重の消長(実験Ⅱ)

水投与群が90.98%で最高であるが担癌区はいずれも低く水投与群77.43%, 海藻エキス1.5%投与群79.45%, 0.5%投与群84.02%となった。しかし担癌群の中では海藻エキス投与群が固形飼料摂取量, たん白吸収率ともに水投与群より高

値を示した。即ち海藻エキスは不消化性多糖類を含み人体に対して整腸作用のあることが知られているが海藻エキス投与群の摂取飼料の増加分は無駄に排泄されるものでなく一部は体たん白として保留されるものと考えられる。

実験Ⅱの成育曲線は図2に示した。飼育開始時の体重は各群とも $17.3 \pm 0.2g$ で水投与(A')群, 2%海藻エキス投与(B')群, 0.5%エキス投与(C')群いずれにも20-MC塗布による発癌処理を行った結果飼育25週における体重はA'群 $24.5 \pm 2.3g$, B'群 $26.3 \pm 1.9g$, C群 $26.0 \pm 2.1g$ となり海藻エキス投与によりわずかに成育の向上が認められたが群間に有意差を認めなかった。すなわち海藻エキス濃度2.0%以上になると溶液は微かに海藻臭を生じマウスの嗜好に適合しないためか飲水量も1日当り $3.0ml$ 以下に減少し, 海藻エキスの生体におよぼす影響が明確に出現しなかったものと推察される。

2. 海藻エキスの制癌効果の検討

20-MC処理による発癌症状と死亡率について水投与の対照群と海藻エキス投与群間の相異を比較して海藻エキスの制癌効果を検討した結果, 実験Ⅰにおける発癌症状を表5に, 死亡率を図3に, 死亡マウスの組織標本の病理学的所見を表6に表示した。発癌過程の皮膚症状は脱毛, 肥厚にはじまり, 20-MC塗布完了2~3週後, 多くのものに乳頭腫の形成あるいは炎症性変化の発現を認め, その後乳頭腫は大きさおよび数を増す。炎症部は多くは糜爛し潰瘍化するが潰瘍部は20-MC塗布部以外の体表全般や頭部におよぶこともあり大部分は潰瘍状になった後死亡する。実験Ⅰにおいては各群とも100%発癌し, 水投与群と海藻エキス投与群の間に肉眼的症状は顕著な差を認めなかった。

実験Ⅰにおける死亡率は0.5%海藻エキス投与群において1頭のみ飼育直後に死亡したが他はいずれも担癌により死亡した。水投与(B)群は飼育24週で全部死亡したがその当時1.5%エキス投与(C)群は5頭中3頭, 0.5%海藻エキス投与(D)群は5頭中2頭生存し全部死亡したのはC群は飼育29週, D群は25週の時であった。すなわち1.5%エキス投与群は対照区に比べ5週間の延命効果を認めた。従来, 海藻, 茸, 地衣類に認められるSarcoma 180に対する抗潰瘍性物質はスルホン化ラミナランでその分子内に β -1,3結合を有するものと報告¹⁴⁾されている。今回供試した海藻エキスから高部¹⁰⁾は約8%のフィコイダンとラミナランを分離しているためこれら多糖類の抗腫瘍効果が推測されるがその構造解明については今後の課題である。

死亡したマウスは癌化皮膚組織, 肝, 腎, 肺, 脾臓などの内臓諸臓器を10%ホルマリンで固

表5 20-MC 処理後発癌過程における肉眼的所見 (実験 I)

飼育 区分	20-MC 処理後 経過日数 マウス No.	1	2	3~4	5~6	7~9	10~12	13~15	16~20
		水 投 与 群	1	脊部約70%脱毛 乳頭腫 1			→潰瘍		→死亡
2	脱毛, 肥厚		→炎症, 死亡						
3	脱毛, 乳頭腫 1		→乳頭腫 2		→潰瘍, 死亡				
4	脱毛, 乳頭腫 2		→乳頭腫 4, 潰瘍 2		→死亡				
5	脱毛, 肥厚		→糜爛		→炎症	→潰瘍	→死亡		
1.5 % 海藻 エキス 投与 群	1	脱毛, 乳頭腫 3	→乳頭腫 6	→潰瘍, 死亡					
	2	脱毛, 肥厚, 乳頭腫 1		→潰瘍				→死亡	
	3	脱毛, 肥厚, 乳頭腫 1	→乳頭腫 8	→頭部 潰瘍	→死亡				
	4	乳頭腫 2	→乳頭腫 3	→糜爛	→潰瘍, 死亡				
	5	脱毛, 乳頭腫 3	→乳頭腫 4	→潰瘍, 死亡					
0.5 % 海藻 エキス 投与 群	1	脱毛, 肥厚, 乳頭腫 2, 潰瘍 2	→死亡						
	2	脱毛, 肥厚, 乳頭腫 1	→乳頭腫 3	→糜爛, 潰瘍	→死亡				
	3	乳頭腫 3	→乳頭腫 7				→死亡		
	4	脱毛, 乳頭腫 2	→乳頭腫 3	→潰瘍, 死亡					
	5	(飼育直後死亡)							

数字は乳頭腫個数を示す

表6 組織の病理学的所見 (実験 I)

組織 供試動物	皮膚 癌 組 織	肝 臓	腎 臓	脾 臓
20-MC 処理 水 投 与 群 (18週飼育)	角化性扁平上皮癌。 上部：壊死, 好中球多数。 下部：リンパ球中等度。	転移なし。 類洞およびグリソン鞘 に好中球, リンパ球が 多数認められる。 (敗血症)	細血管周囲に 白血球浸潤が みられる。	多数の好中球 がみられる。
20-MC 処理 1.5% 海藻エ キス投与群 (18週飼育)	水投与群に比し, 角化と壊 死が強い。 癌細胞の異型性がやや強い。 分裂増殖細胞は少い。 炎症性細胞浸潤の程度は水 投与群と大差がない。	転移なし。 類洞およびグリソン鞘 に好中球, リンパ球が 多数浸潤している。	同 上	同 上

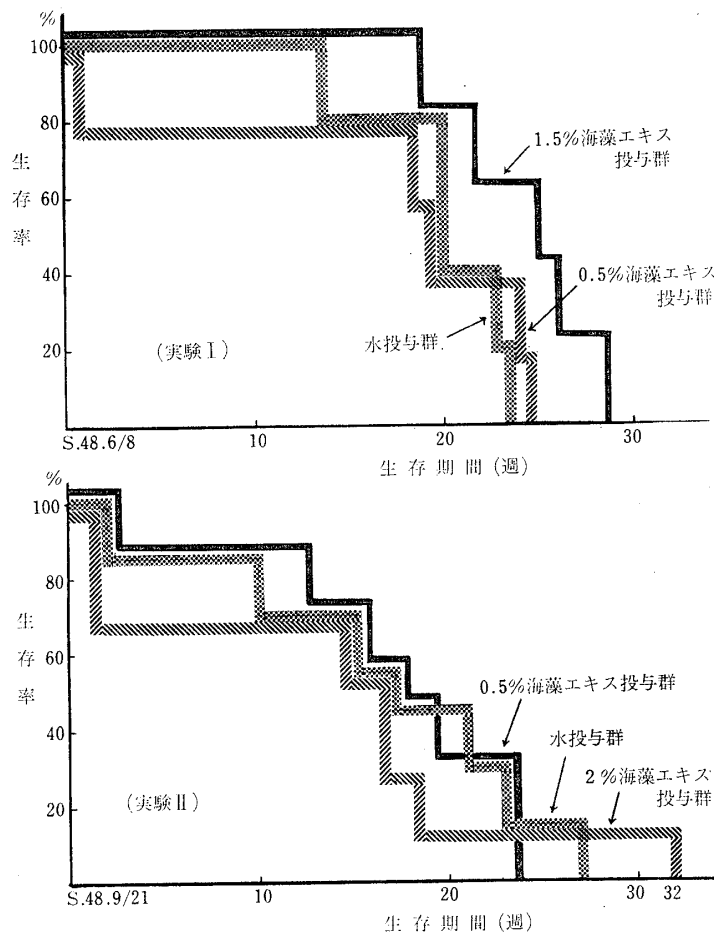


図3 発癌マウスの生存率に及ぼす海藻エキスの影響

投与した。海藻エキスのヒ素濃度はフレームレスアトマイザーおよび公定試験法で定量した結果製造時期によって若干の相異があり平均 $7.18 \pm 2.3 \text{ppm}$ (うちⅢ価のヒ素 1.8ppm) であったため1.5%のエキス溶液中ヒ素濃度は 0.108ppm となった。またヒ素の生体におよぼす影響を確認し比較するため前記実験方法(Ⅱ-i)のように特級亜ヒ酸ナトリウム水溶液のヒ素濃度 50ppm の溶液を水の代りに投与したものをb群(9頭)とし対照区a群(8頭)には水を投与し

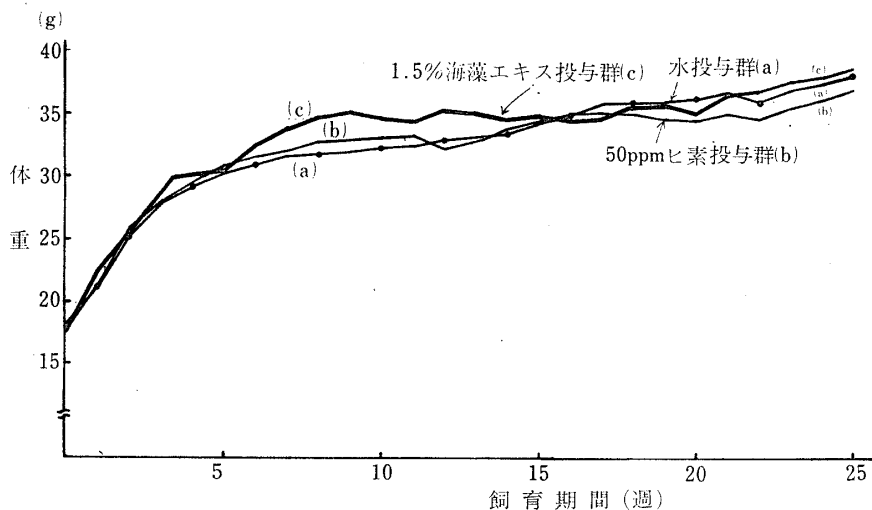


図4 供試動物体重の消長(実験Ⅲ)

定し常法により組織標本を作成し、ヘマトキシリン、エオシンで染色して病理学的変化を検索した。表6は病理学的所見の代表的1例で海藻エキス投与群は皮膚部の原発病巣における癌細胞の異形性が強い反面水投与群に比べ分裂増殖細胞の少いことが認められた。また一部の肺に癌組織の転移を認めたが、肝、腎、脾臓には転移を認めず群間における顕著な相異をみなかった。

3. 海藻エキス含有ヒ素の生体におよぼす影響

a) マウス発育試験

前記実験Ⅱにおいて海藻エキス濃度2.0%以上になると海藻臭をおびてマウスの摂取量が減少することを認めたため今回の試験区C群9頭は1.5%濃度の海藻エキス水溶液を水の代りに

投与した。海藻エキスのヒ素濃度はフレームレスアトマイザーおよび公定試験法で定量した結果製造時期によって若干の相異があり平均 $7.18 \pm 2.3 \text{ppm}$ (うちⅢ価のヒ素 1.8ppm) であったため1.5%のエキス溶液中ヒ素濃度は 0.108ppm となった。またヒ素の生体におよぼす影響を確認し比較するため前記実験方法(Ⅱ-i)のように特級亜ヒ酸ナトリウム水溶液のヒ素濃度 50ppm の溶液を水の代りに投与したものをb群(9頭)とし対照区a群(8頭)には水を投与し

いずれの群にも標準固形飼料を充分量投与して自由に摂取させたが固形飼料中に汚染物質として 0.76ppm のヒ素が含有されていた。これら3群のマウスを25週飼育した場合の体重の消長を図4に表示した。成育曲線はa, b, c群間に高度な有意差を認めなかったが、飼育17週までは対照群より海藻エキス投与群の方が発育は若干良好であり、

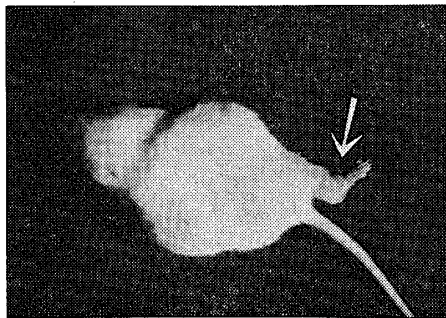


図5-a 50ppm ヒ素24週間投与
マウスの足部腫張 (矢印)

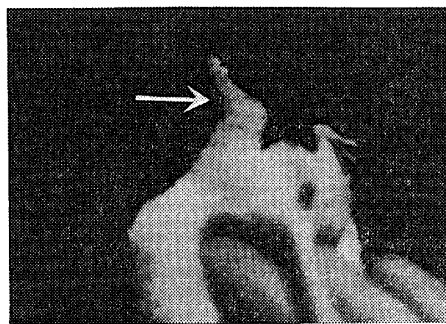


図5-b 同上マウス足部腫張 (矢印)
右足はほぼ正常

つ代謝ケージに移して飼育する場合環境の変化によって飼料摂取量や尿排泄量が非常に低下するものがあったためこれらを省き対照群とヒ素投与群各5頭、海藻エキス投与群6頭についての実験結果を表示した。

投与した固形飼料はヒ素 0.76ppm 含有したため水投与の対照群においても1日1頭当り平均 $3.79 \pm 1.42\gamma$ のヒ素を摂取し尿中排泄ヒ素 $2.93 \pm 1.70\gamma$ を差引いてみかけの吸収率を求めると 28.46% となった。対照群のうち1頭の検体は摂取ヒ素より尿中排泄ヒ素の方が高値を示したが、今回の実験においては内生因子によるヒ素を無視しているため消化器内に残留するヒ素又は腸内細菌の影響などによってこのような結果がでたものと推察する。50ppmヒ素投与群において固形飼料に由来する摂取ヒ素は対照群とほぼ同量1日1頭当り $3.72 \pm 0.82\gamma$ であるが、飲水から $117 \pm 23.6\gamma$ の多量のヒ素を摂取するため摂取総量は $120 \pm 23\gamma$ となり尿中ヒ素排泄量 $31.7 \pm 9.9\gamma$ を差引いて吸収率を求めると $73.63 \pm 5.89\%$ となった。1.5%海藻エキス投与群は上記実験 I および II と同様対照群に比して固形飼料摂取量が多いため、1日1頭当り飼料から $4.25 \pm 1.38\gamma$ 、海藻エキスから $0.45 \pm 0.09\gamma$ のヒ素を摂取し総摂取ヒ素量 $4.70 \pm 1.42\gamma$ となった。しかし尿中ヒ素排泄量 $4.59 \pm 2.34\gamma$ でありみかけの吸収率は 17.00% となって3群中最低であった。また6頭中3頭は摂取ヒ素より排泄ヒ素がわずかに多く対照群同様内生因子の影響と考えこれらのヒ素吸収率を一応零とした。以上の結果海藻エキス投与群は固形飼料中のヒ素を含めて対照群に比し1.23倍のヒ素を摂取するにもかかわらず尿中ヒ素濃度が高いため排泄ヒ素が多く摂取ヒ素/尿中ヒ素の比は対照群1.29に対し海藻エキス群1.10となり興味ある結果を示した。50ppmヒ素投与群はヒ素吸収率73%となり亜ヒ酸の吸収率の高いことが認められた。海藻エキス含有ヒ素ならびに同時摂取の飼料中ヒ素の吸収率の低いことは海藻中のヒ素が生体に吸収され難い形態で存在するかまたは海藻含有の不消化性多糖類が飼料中のヒ素をも消化器

50ppmヒ素投与(b)群においても発育阻害を認めなかった。しかし17週以降b群の発育はやや低下し、飼育25週において1.5%エキス投与群 $38.7 \pm 2.96g$ 、対照群 $38.1 \pm 4.42g$ 、ヒ素投与群 $37.0 \pm 3.00g$ となった。

なお肉眼的所見でb群は飼育10週経過の時期から6頭中2頭のマウスの足部に脱毛と関節および筋肉の腫張を認め、その後徐々に症状が進行し20週経過時には足部の腫張増大のため異形化が顕著となった。図版5のaおよびbは50ppmヒ素投与マウスの飼育24週における足部の写真である。1930年 Saxony¹⁵⁾において産業公害による土壌、牧草のヒ素汚染のためシカの脱毛、骨奇形、関節腫張などを誘発したとの報告があり今回みられた足部の異状症状は投与したヒ素に由来するものと推察される。

b) 摂取ヒ素の吸収率

飼育10~13週におけるマウスの固形飼料と飲水中から摂取したヒ素総量と尿中に排泄されたヒ素を測定し両者の出納関係からヒ素のみかけの吸収率を算出したがこれらの測定値を表7に示した。なおマウスを1頭ずつ

表7 摂取ヒ素の吸収率

飼育区分	測定項目 マウスNo.	水・飼料含有ヒ素摂取量					尿中ヒ素排泄量			ヒ素吸収率 $\frac{[C]-[D]}{[C]} \times 100$
		飲水量 (ml/日/頭)	飲水中ヒ素 (γ /日/頭) [A]	摂取飼料 (g/日/頭)	飼料中ヒ素 (γ /日/頭) [B]	摂取ヒ素総量 (γ /日/頭) A+B=[C]	尿量 (g/日/頭)	尿中ヒ素濃度 (ppm)	尿中ヒ素 (γ /日/頭) [D]	
対照群	3	1.73	0	2.26	1.72	1.72	0.49	2.90	1.42	17.44
	4	3.50	0	5.33	4.05	4.05	1.71	3.15	5.39	0
	5	5.13	0	6.63	5.04	5.04	3.14	1.30	4.08	19.05
	6	3.43	0	4.43	3.37	3.37	1.83	0.95	1.74	48.37
	7	4.00	0	6.27	4.77	4.77	2.18	0.93	2.03	57.44
	M± S.D	3.56 ±1.46	0	4.98 ±1.88	3.79 ±1.42	3.79 ±1.42	1.87 ±1.14	1.85 ±0.88	2.93 ±1.70	28.46 ±20.76
50ppmヒ素投与群	5	1.80	90	4.00	3.04	93.04	0.86	23.4	20.12	78.37
	6	2.60	130	5.43	4.13	134.13	1.81	23.9	43.26	67.75
	7	2.90	145	3.60	2.74	147.74	1.13	24.2	27.35	81.48
	8	1.87	94	6.10	4.64	98.64	1.59	17.6	27.98	71.63
	9	2.50	125	5.30	4.03	129.03	1.88	21.2	33.86	69.11
	M± S.D	2.33 ±0.47	117 ±23.6	4.87 ±1.07	3.72 ±0.82	120.52 ±23.48	1.45 ±0.44	22.1 ±2.83	31.71 ±9.93	73.67 ±5.89
1.5%海藻エキス投与群	3	3.00	0.32	4.07	3.09	3.41	0.70	2.40	1.68	50.73
	4	3.93	0.42	8.67	6.59	7.01	1.95	3.75	7.31	0
	5	4.67	0.50	5.23	3.97	4.47	1.32	3.55	4.69	0
	6	4.03	0.44	5.20	3.95	4.39	1.90	1.35	2.57	41.46
	8	4.63	0.50	4.70	3.57	4.07	1.67	2.20	3.67	9.83
	9	5.03	0.54	5.67	4.31	4.85	3.53	2.15	7.59	0
M± S.D	4.22 ±0.80	0.45 ±0.09	5.59 ±1.82	4.25 ±1.33	4.70 ±1.42	1.85 ±1.12	2.57 ±0.95	4.59 ±2.34	17.00 ±20.28	

内で吸着して排泄するためと考えられる。従来アルギン酸のような酸性多糖類は重金属による体内汚染を防ぎストロンチウム、バリウム、亜鉛などと結合し体外に排出するためアルギン酸を前もって投与したラットにこれら金属を致死量以上投与しても害を示さないという報告¹⁴⁾もあり今回の実験事実が支持される面もあるが対照群、エキス投与群とも個体差が大であるためさらに検体数を増加し追試して有意差検定をし比較検討する必要がある。

c) 尿中のヒ素排泄量

上記実験方法(II-i)のように飼育し10~13週における水投与群、50ppmヒ素投与群、1.5%海藻エキス投与群の尿中ヒ素濃度と排泄量を表8に示した。1日1頭当りの尿中ヒ素排泄量平均値は対照区 $1.35 \pm 0.56\gamma$ 、50ppmヒ素投与群 $19.40 \pm 4.47\gamma$ 、1.5%海藻エキス投与群 $1.26 \pm 0.19\gamma$ であり、エキス投与群は対照群に比しヒ素摂取量は多いが尿中ヒ素濃度低く、排泄量も少ない。上記(b)の実験結果で海藻エキス投与群はヒ素吸収率の低いことを認めたがこれは

表8 尿中のヒ素排泄量

飼育区分	マウスNo.	マウス体重	測定事項			尿および尿中ヒ素総排泄量 (r/日/頭)
			尿量 (ml/日/頭)	尿中ヒ素濃度 (ppm)	尿中ヒ素排泄量 (r/日/頭)	
対照区	3	36.3	1.08	1.27	1.37	2.79
	4	38.7	2.25	0.84	1.89	7.28
	5	36.2	1.74	0.84	1.46	5.54
	6	34.3	1.37	1.06	1.45	3.19
	7	39.3	1.45	0.41	0.59	2.62
	M±S. D	37.0 ±1.3	1.58 ±0.53	0.88 ±0.37	1.35 ±0.56	4.46 ±1.65
50 ppm ヒ素投与群	5	32.7	0.94	22.15	20.82	41.00
	6	34.4	1.19	10.41	12.39	55.65
	7	35.3	1.58	13.15	20.78	48.13
	8	39.1	1.81	11.16	20.20	48.18
	9	38.3	3.15	7.24	22.81	62.67
	M±S. D	36.0 ±2.7	1.73 ±0.95	12.82 ±6.40	19.40 ±4.47	51.13 ±9.30
1.5% 海藻エキス投与群	3	35.2	3.99	0.26	1.04	2.72
	4	36.1	0.99	1.55	1.53	8.84
	5	33.1	2.46	0.57	1.40	6.09
	6	37.9	2.48	0.57	1.41	3.98
	8	38.4	3.38	0.32	1.08	4.75
	9	41.8	2.12	0.52	1.10	8.69
	M±S. D	37.1 ±3.4	2.57 ±1.19	0.63 ±0.51	1.26 ±0.19	5.76 ±2.42

尿中ヒ素の低値によってさらに確認されるものと考えられる。すなわち尿は血液が腎糸球体で濾過されたのち尿細管で生体に必要な成分が再吸収され尿管を経て膀胱に貯蔵された後、排出されるため泌尿器管に障害がなければ尿中ヒ素濃度は血清ヒ素濃度に比例するものと考えられる。今後マウスを屠殺解剖し血清ならびに内臓諸臓器のヒ素蓄積量を測定する計画であるが、対照群に比し海藻エキス投与群はヒ素吸収率低く、尿中ヒ素含量の少いことならびに亜ヒ酸のヒ素は吸収率高く尿中にも多量のヒ素が排泄されることを確認した。また摂取ヒ素から尿および尿中総排泄ヒ素量を差引いた残部を体内保留ヒ素とすれば対照群と海藻エキス投与群はほとんどの個体が零となるがヒ素投与群は $81.5 \pm 21 \gamma/\text{日/頭}$ となり相当量のヒ素が体内に蓄積されていることを推定した。

Ovanguren たちの報告¹⁶⁾ によると1940年代チリ北部の銅鉱山付近で生じたヒ素中毒事件で住民に色素沈着症や鼻中隔穿孔の症状が発生したがその時の尿中ヒ素は $0.3 \sim 0.26 \text{ ppm}$

(対照区住民0.04ppm)とのべられており今回の尿中ヒ素測定値に比し非常に低値である。マウスは人体に比較し単位体重当りの代謝量が高く尿成分も濃厚になることが推定されるとともに摂取ヒ素がアルシン (AsH_3) の場合毒性が顕著に現われ亜ヒ酸 (As_2O_3) の場合長期摂取によって中毒症状が誘発されるといわれているため摂取ヒ素の形態によってその吸収率、代謝系、体内保留量ならびに尿中排泄量なども相異なるものと考えられる。

また Schroeder (1971) たちの報告¹⁷⁾ によれば 5 ppm 濃度のヒ素水溶液を経口投与して白ネズミを 3 代にわたって飼育したが異常を認めず仔の体重がわずかに減少した程度であるとのことである。今回はその 10 倍濃度 (50ppm) の亜ヒ酸溶液によって明かに足部脱毛と腫張の症状を認めた。ヒ素の生体におよぼす毒性に関しわが国においては 1955 年調製粉乳に混入した約 30ppm 濃度のヒ素含有乳を飲用した乳児 128 名の死亡事件があり As_2O_3 の中毒量¹⁸⁾ は 1 日当り成人 50mg, 乳児の場合 5~6.7mg とされ、医薬品としての常用量は成人 5 mg/日, 乳児 0.33~0.67mg/日 といわれている。一方海藻エキス (ヒ素含量 7.18ppm) の一般摂取量は成人 1 日当り 20~30ml であるためこれに含有されるヒ素は 0.14~0.22mg の微量となるがさらに上記の実験において海藻エキスは同時に摂取する他の食品のヒ素の吸収をも抑制する可能性があるため海藻エキスの生体に対する効果はこの点においても認め得るものと思う。海藻エキスにはたん白、脂肪、糖質などの熱量素が少くこれのみで動物を飼育することができず、固形飼料を投与するため飼料含有のヒ素の影響が加算されエキス由来のヒ素のみの吸収率を測定することは困難であるが、人体においても同様に海藻エキスは補助食品として少量飲用するため今回の実験成績が該当するものと考えられる。尚今回の飼育実験におけるエキス投与量は平均体重約 35g のマウス 1 日当り 1.5% の海藻エキス 4 ml であるため体重 60kg の成人に換算すれば 1 日当り海藻エキス原液約 100ml 摂取することになる。これは一般の摂取量に比較し多量であるが飼育 5 カ月現在においてはマウス生体にヒ素による異常症状を認め得なかったことから海藻エキスのヒ素は一般成人に対し常用量では顕著な害作用を及ぼさないものと考えられる。しかし一般食品の許容量 (5 ppm) 以上のヒ素の含まれることは食品衛生的見地から一考すべき問題であり、ヒ素含量 1 ppm 以下といわれる寒天原藻テングサ、オニクサ、ヒラクサ、アミクサ、エゴノリ、オゴノリなどを原料として海藻エキスを製造することも今後の課題として考慮すべきであると思う。

要 約

1. 海藻エキス 0.5%, 1.5%, 2.0% 水溶液を水の代わりにマウスに投与して発育状態を水投与の対照群と比較したところエキス投与により体重増加率が向上した。また 20-メチルユランスレン処理による人工的皮膚癌を負荷し海藻エキスの発癌抑制作用を検索した結果、担癌動物において最大 5 週間の延命効果を認めた。
2. 海藻エキス中には約 7 ppm, 固形飼料には 0.76ppm のヒ素が含まれているが、50ppm 亜ヒ酸水溶液投与群, 1.5% 海藻エキス投与群, 水投与の対照群についてヒ素の吸収率を測定したところ海藻エキス投与群は吸収率低く、エキス投与により同時に摂取する食餌中のヒ素の吸収をも抑制することを推察した。比較のため行った亜ヒ酸水溶液投与群においてはヒ素吸収率高く飼育 10 週以降 1/3 のマウスに足部関節と筋肉の腫張を認めた。
3. 尿中ヒ素排泄量は 50ppm ヒ素水溶液投与群が最高であり、海藻エキス投与群は対照群より低く、エキス投与によって尿中へのヒ素排泄量が増加するため飼育 5 カ月現在においては生

体への吸収量が少く血清中ヒ素濃度が低下し尿中への排泄量も減少するものと推察した。

本実験に際し組織の病理学的鑑定を賜った三重大学医学部病理学伊豆津公作教授および実験に協力頂いた庄田節子、沢田京子様へ感謝の意を表す次第である。

文 献

- 1) 入谷信子：栄養と食糧，**22**，258（1969）
- 2) 金田尚志，阿部重信：栄養と食糧，**23**，638（1970）
- 3) 中沢昭三他：日本薬学会総会講演要旨 p.252（1971）
- 4) S. Nakazawa：Chemotherapy **23**，1435（1974）
- 5) 藤井清次，細貝祐太郎：食品衛生の化学（恒星社厚生閣）p.40（1967）
- 6) 下川洪平，堀部信好他：食衛誌 **12**，330（1971）
- 7) 能谷昌士：ジャパンフードサイエンス，**10**，83（1971）
- 8) 岩田久敬：食品化学各論（養賢社）p.193（1965）
- 9) 新栄養編集部：新栄養 **66**，(1)，48（1975）
- 10) 高部登：私信（1974）
- 11) 厚生省編：第二版食品添加物公定書注解（金原出版）p.1082（1969）
- 12) 日本薬学会編：衛生試験法注解（金原出版）p.293（1965）
- 13) 山本勇麓，熊丸尚宏，鎌田俊彦：日本化学会総会講演要旨 p.661（1975）
- 14) 原田篤也，三崎旭：総合多糖類科学（講談社）p.327，p.310（1974）
- 15) Georgel, Waldbott 著，横橋五郎，鈴木庄亮訳：環境汚染病（医師薬出版）p.78（1974）
- 16) Ovanguren, H. and Perez, E. : Arch, Environ, Health, **13**，185（1966）
- 17) Schroeder H. A. and Mitchener, M. : Arch Environ, Health, **23**，102（1971）
- 18) 川城巖：食衛誌 **6**，318（1965）