

海藻エキスの栄養学的研究

II. 海藻含有ヒ素の生体におよぼす影響

青木みか・谷由美子・遠山和子

Nutritive Studies on the Algae-extract

II. Effect of Certain Algae Containing Arsenic on the Body

M. AOKI, Y. TANI and K. TOYAMA

微量のヒ素は従来、医薬として用いられ古くはヒポクラテス(460~375B.C.)が疾病の治療に使用¹⁾したのをはじめ現代においても抗生物質発見以前は駆梅剤、増血剤、強壯剤として医療に長期連用した報告が多い^{2)~4)}。また動物に微量投与した場合の成長促進効果も認められている^{5)~7)}。一方ヒ素は毒性も強く殺虫剤として使用され米国では果実、野菜のヒ素は1.4ppmと規制され¹⁾、わが国においても食品添加物中のヒ素許容量は1~5ppmとされている⁸⁾。しかし褐藻類のヒ素含有量は高く乾物中 As_2O_3 として算出した場合ワカメに30~72ppm、コンブに29~91ppm、ヒジキに122~180ppm存在するという報告がある⁹⁾。わが国においては諸外国に比し海藻類の摂取量が多いが、それらに含まれるヒ素の生体内における挙動や生体におよぼす生理作用については殆ど研究されていない現状である。私共は褐藻類を加熱抽出して製造した「海藻エキス」を長期間、動物に投与した場合のヒ素の吸収率、諸組織のヒ素保留率と病理学的変化を検索するとともに1カ年以上継続して連日それを飲用した成人の毛髪中のヒ素含有量を測定し、海藻含有ヒ素の生体におよぼす影響を明かにすることを目的として本実験を行った。

実験方法

1. 海藻エキスの調整

原料は三重県志摩地方で採集したアラメを主とする褐藻類で、採集後、充分水洗して水浸し、数時間加熱して成分を抽出した後、布で濾過して濃縮したもので原料の風乾物1.0kgから2.1ℓの製品が作成できる。実験に供した海藻エキスは上記のように製造したものを業者から直接入手して供試したが、含有成分は表1に示すとおりである。これらの成分の分析方法はカ

表1 海藻エキスの一般成分および無機質含有量

水分 (%)	粗たん白 (%)	粗脂肪 (%)	炭水化物 (%)	無機質 (%)	粗繊維 (%)
86.70	1.54	0.21	10.32	1.23	痕跡

カルシウム (mg%)	臭素 (mg%)	磷 (mg%)	ヨウ素 (mg%)	鉄 (mg%)	銅 (mg%)	ヒ素 (mg%)	カリ (mg%)	亜鉛 (mg%)
95.0	26.1	11.0	4.19	2.21	0.66	0.58	0.16	0.16

ルシウム、銅、鉄、カリウム、亜鉛は原子吸光分析、ヒ素は後述(3)の方法によって測定したがヨウ素、臭素は日本医療食協会検査センターに依頼した測定結果である。

2. 実験動物ならびに飼育法

生後4週間の dd系、♂、マウス 体重 18.5 ± 0.8 g のもの27頭を3群に分け、A群は対照区として水道水を投与し、B群は1.5%の海藻エキス水溶液を給水器に入れて水の代りに自由を与え、C群はヒ素の影響をみるため特級亜ヒ酸ナトリウム NaAsO_2 のヒ素濃度50ppm の水溶液を水の代りに投与した。固形飼料はいづれの群も日本クレアk.k. 製 CE-2 を充分量与えて任意に摂取させたが、これには0.76ppm の汚染物質と推定されるヒ素が含まれていた。

飼育は $25^\circ \pm 1.0^\circ \text{C}$ の恒温室で行い肉眼的症状を観察するとともに週1回体重を測定した。またヒ素吸収率は飼育10~12週および25~27週経過の時点においてマウス用代謝ケージに1頭ずつ移し3日間の尿および糞を貯蓄し、それらに排泄されるヒ素を測定した。同時に飼料および海藻エキスの摂取量をも測定しヒ素の出納関係から吸収率を算出した。また飼育8カ月以降10カ月までの期間にマウスを屠殺解剖して、肝、腸壁、体毛と皮膚、筋肉および尾部のヒ素を定量するとともに脾、肝、腎、精巣の組織標本を作成して光学顕微鏡で病理学的変化を検索し、さらに肝組織は電子顕微鏡下に細胞構造の変化を鑑識した。

3. ヒ素の定量

ヒ素の定量に際しては海藻エキスおよび固形飼料の場合は5.0g、糞は風乾物1.0g、尿は3日分(3~6ml)、尾部および諸臓器は1頭分を湿式灰化した後、食品添加物公定試験法¹⁰⁾ に基いて定量した。すなわち前報¹¹⁾ に記載のとおりヒ素試験装置を使用して臭化第二水銀で処理した濾紙をヒ化水素で呈色させた後、島津sp.20分光光度計付属反射光測定装置によって400nmにおける反射率を測定し、予め作成した検量線から試料中のヒ素濃度を算出した。

実験結果

1. マウスの生育ならびに肉眼的症状におよぼすヒ素の影響

マウスの成育曲線は図1に示すとおりであり、飼育17週までは海藻エキス投与群(B)がやや良

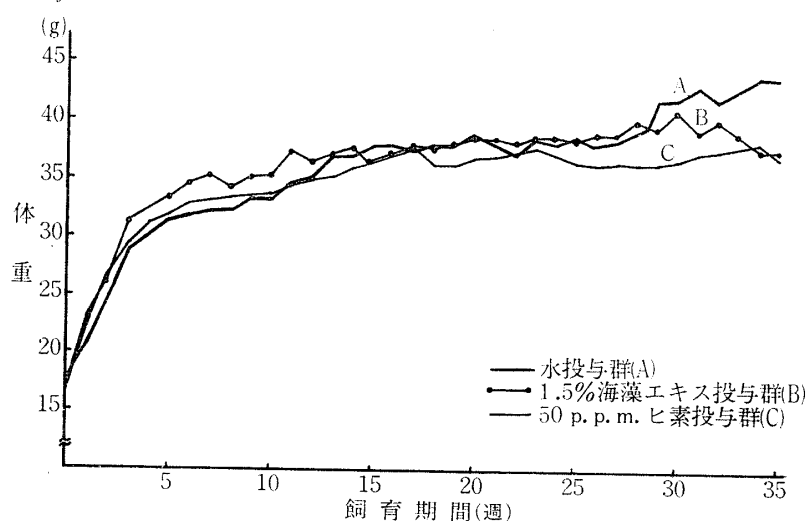


図1 マウス成育曲線

好であるが、対照群(A)、50ppmヒ素投与群(C)との間に顕著な相違を認めなかった。しかし17週以降はC群の発育が低下し、対照群が最も良好となり飼育35週における体重はA群 $43.8 \pm$

3.0g, B群37.6±7.0g, C群36.9g±3.7gで試験区と対照区の間に高度な有意差を認めた。なお飼育中B群1頭, C群2頭死亡したがA群は全部生存した。

肉眼的所見はC群においては飼育10週経過の時点から9頭中2頭のマウスに後方足部の関節および筋肉の腫張が現われ, その後徐々に病状は進行して飼育20週以降は足部の腫張増大による異形化が顕著となった。写真1は50ppmヒ素水溶液投与24週間後の足部の症状(矢印)である。B群においては飼育26週までは全く異常を認めなかったがその後1頭に上記C群と同様の足部関節の腫張が発症し, 飼育30週においてその異形化が増大した。写真2は1.5%海藻エキス投与36週の1部マウスにおける足部の症状(矢印)である。

2. マウス消化器におけるヒ素の吸収率

飼育3カ月および6カ月における1日1頭当りのヒ素摂取量と糞中ヒ素排泄量の群別平均値と標準偏差ならびにこれらから算出したヒ素吸収率および足部異常症状発現のマウス3頭のヒ素吸収率を表2に表示した。

表2 マウスによる摂取ヒ素の吸収

飼育区分	飼育期間(月)	体重(g)	測定事項					飲水および飼料によるヒ素摂取量			糞中ヒ素排泄量			ヒ素吸収率 ($\frac{A+B-C}{A+B} \times 100$)
			飲水量(ml/日/頭)	飲水中ヒ素(r/日/頭)(A)	摂取飼料(g/日/頭)	飼料中ヒ素(r/日/頭)(B)	摂取ヒ素総量(r/日/頭)(A+B)	糞量(g/日/頭)	糞中ヒ素濃度(ppm)	糞中ヒ素(r/日/頭)(C)				
対照群	3	37.0 ±1.3	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			
	6	39.8 ±3.2	13.43 ±5.46	0	7.34 ±0.73	5.58 ±0.55	5.58 ±0.55	4.57 ±1.67	1.10 ±0.77	4.85 ±3.42	17.52			
1.5% 海藻エキス 投与群	3	37.1 ±3.43	4.22 ±0.80	0.45 ±0.09	5.59 ±1.82	4.25 ±1.38	4.70 ±1.42	1.85 ±1.12	2.57 ±0.95	4.59 ±2.34	17.00			
	6	39.4 ±2.0	11.23 ±4.31	0.98 ±0.38	6.95 ±0.72	5.28 ±0.55	6.26 ±0.59	5.11 ±0.31	2.63 ±1.08	5.88 ±2.08	16.74			
50ppm ヒ素投与群	3	35.8 ±2.7	2.33 ±0.47	117.1 ±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			
	6	36.0 ±3.0	5.64 ±4.24	288.3 ±111.8	5.44 ±1.00	4.14 ±0.76	292.4 ±112.5	1.69 ±0.36	25.71 ±7.73	44.59 ±17.51	82.53			
足部腫張を呈した個体	海藻エキス 投与群	6	39.3	13.93	1.21	7.97	6.06	7.27	2.33	1.58	3.68	49.38		
	ヒ素 投与群	6	33.8	4.10	205.0	6.10	4.64	209.64	1.69	34.25	59.79	72.43		
		6	36.1	4.47	255.0	5.97	4.54	259.54	1.68	16.25	27.30	89.48		

(糞は風乾物)

表に示すとおり体重増加にともなって飲水量と固形飼料の摂取量は増加し、飼育6カ月において対照群は1日1頭当たり平均 $5.58 \pm 0.55 \mu\text{g}$ のヒ素を摂取し、1.5%海藻エキス投与群は飼料から $5.28 \pm 0.55 \mu\text{g}$ 、飲水から $0.98 \pm 0.38 \mu\text{g}$ 摂取、50ppmヒ素投与群は飼料から $4.14 \pm 0.76 \mu\text{g}$ 、飲水から $288.3 \pm 111.8 \mu\text{g}$ のヒ素を摂取した。これら摂取ヒ素から糞中ヒ素を差引いて求めたみかけの吸収率はヒ素投与群が約74%（3カ月）と83%（6カ月）の高値を示したのに反し、対照群は28%（3カ月）と18%（6カ月）、海藻エキス投与群はいつれの時も約17%と低値であった。しかし海藻エキス投与群において足部腫脹の異常を呈したものはヒ素摂取量、吸収率とも無症状のものに比し有意に高値（ $P < 0.01$ ）であった。

3. 尿および体組織におけるヒ素含有量

飼育3カ月および6カ月における1日1頭当たりの尿中ヒ素排泄量の群別平均値を表3に示し

表3 マウス尿中のヒ素排泄量

飼育区分	飼育期間(月)	測定事項			
		体重(g)	尿量(ml/日/頭)	尿中ヒ素濃度(ppm)	尿中ヒ素排泄量(μg /日/頭)
対照群	3	37.0 ± 1.3	1.58 ± 0.5	0.78 ± 0.37	1.23 ± 0.56
	6	39.8 ± 3.2	2.88 ± 2.91	0.48 ± 0.15	1.38 ± 0.17
1.5%海藻エキス投与群	3	37.1 ± 3.4	2.57 ± 1.19	0.63 ± 0.51	1.62 ± 0.19
	6	39.4 ± 2.0	2.47 ± 1.75	1.33 ± 0.82	3.29 ± 1.31
50ppmヒ素投与群	3	35.8 ± 2.7	1.73 ± 0.95	12.82 ± 6.40	22.18 ± 4.47
	6	36.0 ± 3.0	2.25 ± 1.30	40.89 ± 15.21	92.00 ± 36.49

た。また飼育8~10カ月の期間に屠殺解剖したマウスについて足部の異常症状を認めたものと肉眼的所見で異常を認めなかったものに分けて尾部、足部関節部、腸管、肝、皮膚および体毛のヒ素濃度を測定し表4に示した。

表4 マウス体組織におけるヒ素含有量(ppm)

飼育区分		組織	尾部	足部関節	腸管	肝組織	皮膚および体毛
対照群			1.67	0.54	0.27	1.98	0.64
1.5%海藻エキス投与群	異常症状を認めないマウス		1.45	1.72	0.57	1.80	0.38
	足部腫瘍を認めたマウス		2.97	2.83	1.66	3.38	1.16
50ppmヒ素投与群	異常症状を認めないマウス		5.09	1.13	0.73	1.08	4.19
	足部腫瘍を認めたマウス		14.10	11.11	5.41	3.66	9.76

(体組織は新鮮物)

尿中ヒ素濃度は飼育3カ月に比し6カ月経過時において海藻エキス投与群は約2倍、50ppmヒ素投与群は3倍以上に増加し対照群0.48ppmに対し海藻エキス投与群1.33ppm、ヒ素投与群40.89であった。また飼育6カ月における1日当たりの尿中ヒ素排泄量も対照区 $1.38 \mu\text{g}$ に対し海藻エキス群 $3.29 \mu\text{g}$ 、ヒ素投与群 $92.00 \mu\text{g}$ と著増した。

ヒ素の蓄積は尾部に最も多くついで肝組織、足部関節、腸管、皮膚および体毛の順であった

が、足部に異常症状を呈した個体はいつれの部位も対照群よりヒ素濃度は有意に高値であった。またヒ素投与群は肉眼的異常症状を認めない個体においても対照群よりヒ素蓄積量は多くとくに尾部、体毛部で著増した。

4. 内臓諸組織の病理学的所見

足部関節の腫張を認めたマウスを飼育10カ月の時点で屠殺解剖し、肝、腎、脾、精巢の組織標本を作成して、その病理学的所見を表5に示し、H・E染色の脾組織像を図版3～5に掲示した。また肝細胞の電子顕微鏡写真像を図版6～12に示した。

表5 光学顕微鏡によるマウス諸組織の病理学的所見

飼育区分	肝	腎	精巢	脾
対照群	異常を認めない	異常を認めない	異常を認めない	異常を認めない。巨核球はふつうで顆粒球形成ほとんどなし
1.5%海藻エキス投与群	異常を認めない	異常を認めない	異常を認めない	赤脾髄における巨核球増生が顕著(++)であり、顆粒球形成(+)を認める。赤血球形成(-)
50ppmヒ素投与群	2核細胞がやや増加し、三極分裂など分裂細胞の異常を認める	異常を認めない	異常を認めない	赤脾髄における巨核球増生(+++)顆粒球形成(+)を認める。赤血球形成(-)

光学顕微鏡下の所見により海藻エキス投与群、ヒ素投与群とも脾組織における赤脾髄での巨核球の増生と顆粒球形成の増加を認めた(図版4, 5参照)。また脾臓重量も対照区 0.32 ± 0.8 gに対し、海藻エキス投与群の足部腫張を呈したもの 0.75 g、ヒ素投与群 0.82 ± 0.5 gとなり有意に増加していた。肝細胞の電子顕微鏡所見はヒ素投与群では核周囲が極端な凹凸を示したり(図版7参照)、核が卵円形に伸長し核小体を数個もつものが多く、グリコーゲンはほとんど消失、ミトコンドリアはやや増加し、粗面小胞体(rER)が少く滑面小胞体(sER)が増加し、2核細胞が多く出現した(図版8)。海藻エキス投与群ではrERの膨化、ミトコンドリアの伸長(図版9参照)がみられ、また脂肪球(図版10の矢印)はミトコンドリアにとりこまれ消化分解中と考えられるものが多く認められた。さらに一部のミトコンドリアにはカルシウム沈着(図版11の矢印)を認め、とくに海藻エキス投与群ではsERの顕著な拡張(図12)を認めた。

5. 海藻エキス飲用者における毛髪ヒ素含有量

表6 成人の毛髪ヒ素含有量(ppm)

海藻エキス飲用者				対照群		
被験者 (性別)	年齢	海藻エキス 飲用期間 (年)	ヒ素濃度 (ppm)	被験者 (性別)	年齢	ヒ素濃度 (ppm)
N. N. (男)	66	3.0	0.47	A. M. (女)	52	0.53
H. T. (男)	62	5.0	0.98	T. Y. (女)	33	1.01
S. A. (女)	56	4.5	1.02	N. Y. (女)	22	1.03
H. M. (男)	53	1.0	1.26	T. K. (女)	22	0.43
M ± S. D.	59	3.4	0.93 ± 0.33	M ± S. D.	32	0.75 ± 0.31

海藻エキス原液（ヒ素濃度5.8ppm）を毎日20~30mlずつ1カ年以上継続して飲用した成人の毛髪ヒ素濃度を普通食摂取の健康な成人（対照群）のそれと比較した結果を表6に示した。海藻エキス飲用の方が若干高値を示したが対照群との間に有意差を認めなかった。

考 察

ヒ素はカドミウム、鉛とは異り医薬として数千年前から使用され微量では症状が現れないといわれている¹²⁾¹³⁾。また小島¹⁴⁾は100ppmのAs₂O₃を12週間ラットに投与したが妊娠、出産、哺育、発育に影響なく病理学的異常所見も認めなかったことを報告し、日高⁹⁾はラットに6μgのヒ素をストリキニーネと共に週1回皮下注射してわずかながら延命効果を認め、一方ではラット1日当たり2μgのヒ素が必要であるとの報告もある。しかしこれら多くの報告はラットを使用し飼育期間も短いため、今回はマウスを使用しヒ素濃度5.8ppmの1.5%海藻エキスを水の代りに与えて10カ月飼育したところ9頭中1頭に肉眼症状ならびに脾組織の病理学的所見に異常を認めた。今回の動物実験においてはマウスのヒ素吸収率は個体差が大きく、異常症状を呈したものはとくに吸収率高く1日当たり3.6μgのヒ素を吸収した。これはラット1日当たりのヒ素必要量を2μgとした場合、単位体重当たり約40倍のヒ素を摂取したことになり、このため脾臓肥大、赤脾髄における巨核球増生とともに肝細胞の滑面小胞体の膨大等の所見のほかミトコンドリア内の円形黒色基質凝集物 Matrix-aggregate を認めたがこの現象は成書¹⁵⁾によるとカルシウム沈着であり四塩化炭素投与時にも誘発される肝細胞の中毒症状と考えられる。

一方成人が海藻エキス原液30mlを毎日飲用した場合、これから0.17mgのヒ素を摂取したことになるが1カ年以上5カ年継続飲用した場合も毛髪ヒ素の増加は認められず成人の亜ヒ酸中毒量を5~50mg¹⁷⁾とすれば海藻エキスからの摂取ヒ素はその30分の1であり常用の飲量では人体に害作用を及ぼさないものと推察される。海藻のヒ素は蛋白と結合しているため人体への影響が少いともいわれるがヒ素の型態については今後追求すべき課題である。

要 約

5.8ppmのヒ素を含む海藻エキスを1.5%に希釈したものを水の代りに投与して10カ月飼育したマウスの成長と肉眼的症状および組織の病理学的変化を観察するとともに諸組織のヒ素含有量を測定した。また同エキスを1カ年以上連日飲用した成人の毛髪ヒ素含有量を一般成人のそれと比較した。これらの実験結果は次のとおりである。

1) 1日当たり海藻ヒ素7.3μgを摂取したマウスは飼育6カ月で9頭中1頭に足部関節の腫張を呈したが、その症状は50ppmの無機態ヒ素投与3カ月で出現した症状と同様であった。

2) 足部の異常症状を呈したマウスは無症状のものよりヒ素吸収率、尿中ヒ素濃度、諸組織のヒ素含有量高くとくに尾部、肝組織のヒ素が腸壁、皮膚および体毛より高値であった。また赤脾髄での巨核球の増生、肝細胞におけるミトコンドリアの膨化と伸長、滑面小胞体の増加と拡張等の現象を認めた。

3) 連日20~30mlの海藻エキス（ヒ素含量5.8ppm）を1年以上5カ年飲用した成人の毛髪ヒ素含有量は対照区的一般成人に対し有意差を認めなかった。

Effect of Certain Algae Containing Arsenic on the Body

A specimen of algae extract containing 5.8 p.p.m. arsenic was given perorally

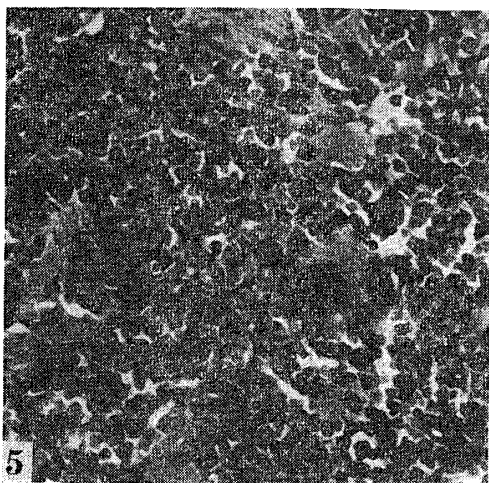
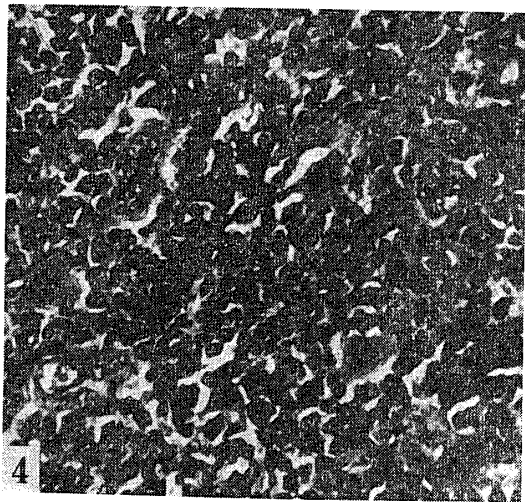
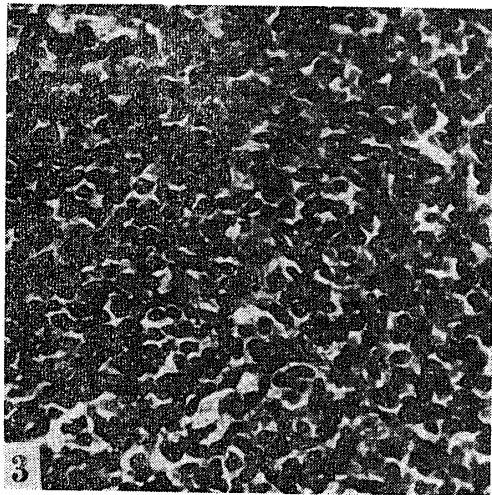
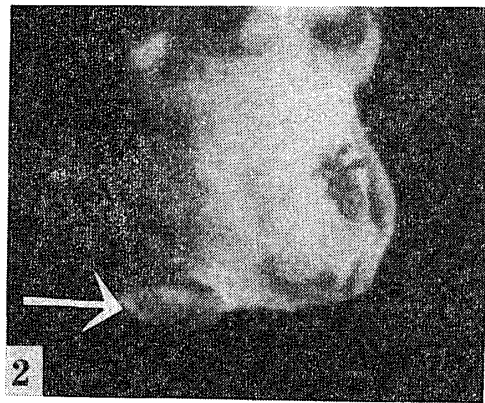
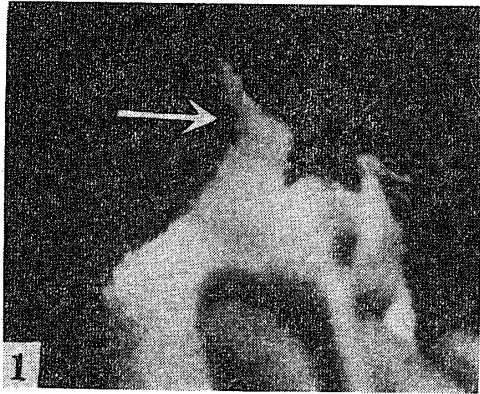
to the mice to examine its effect on the growth and any sign of intoxication of the animals. Each groups consisting of 9 mice respectively were fed commercial solid stock diet together with a sample solution of 1.5% algae extract. After 10 months feeding, the animals were killed and several organs and tissues were excised to assay their arsenic contents and also to investigate their ultrafine structure by electron microscopy. The results were as the following.

1. In the animals which had taken for 6 months daily $7.3\mu\text{g}$ arsenic in the form of algae extract developed some swelling of their paws, the symptom of which was similar to that shown by the animals which had taken 50 p.p.m. arsenic for 3 months daily.
2. In the animals with paw swelling, the arsenic content of the tail, liver, and pawjoints were found higher than those of the intestinal wall, skin and hair.
3. The electron micrograph of the hepatic cells revealed swelling and elongation in some of the mitochondria and an increase in number of smooth microsoma and nuclei.
4. The hair from the adult persons who were given 20~30 ml sample solution of algae extract for 1~5 years daily showed on an average a similer arsenic value to that of the hair from normal adult persons as a standard

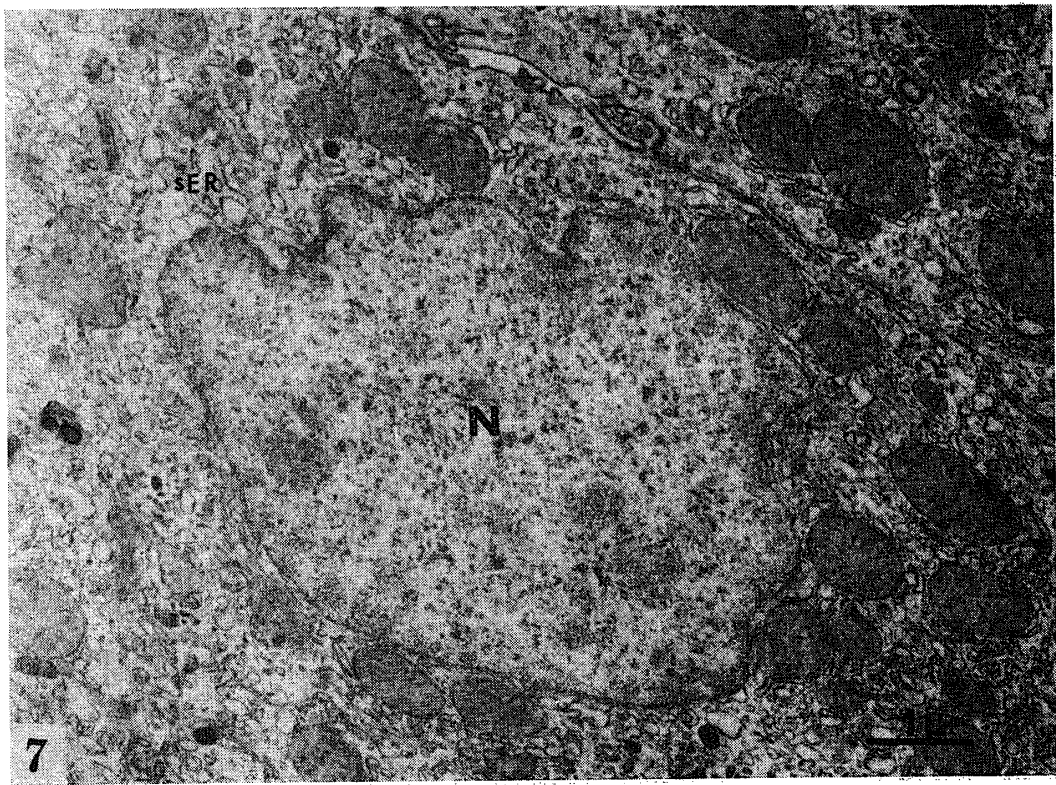
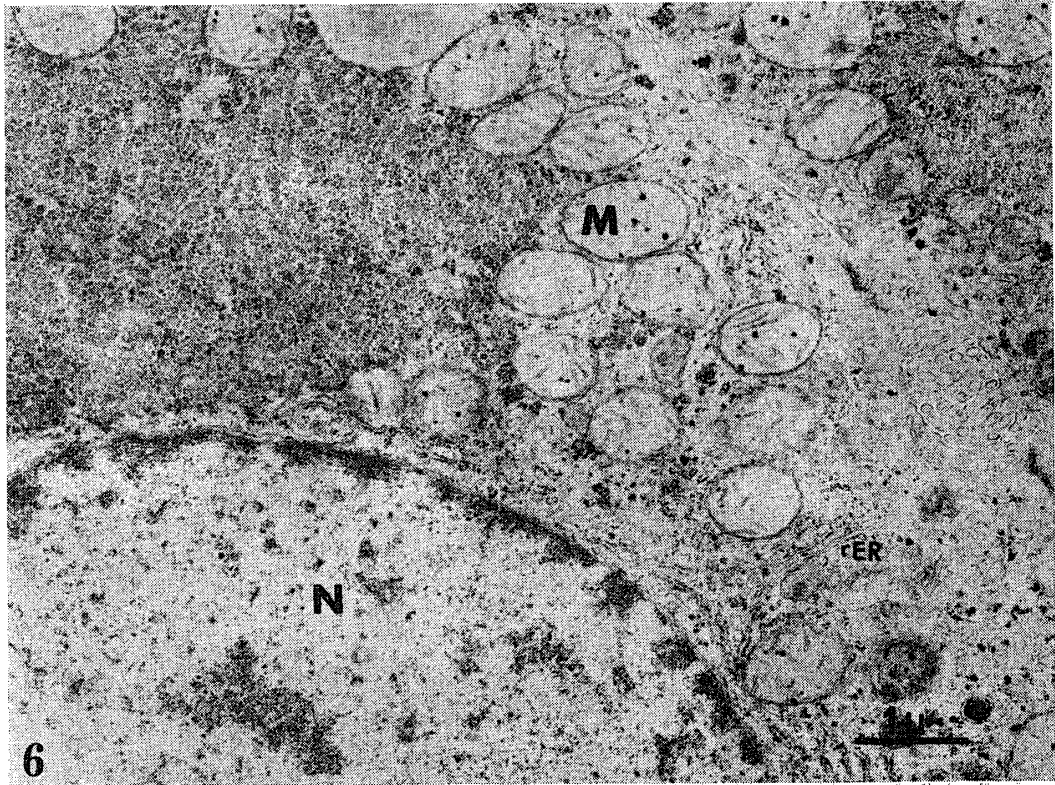
本研究にあたり光学顕微鏡写真の鑑定を賜った三重大学医学部病理学, 伊豆津公作教授ならびに電子顕微鏡写真の作成と鑑識をいただいた同大学解剖学, 坂下栄助手に深く感謝いたします。

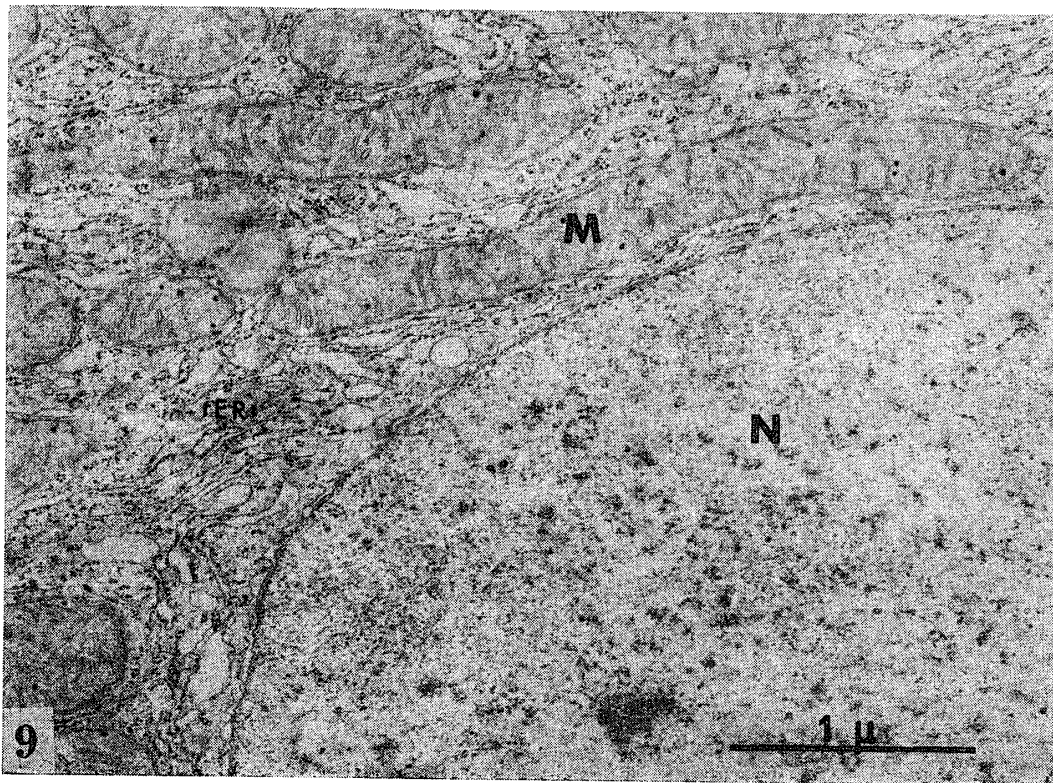
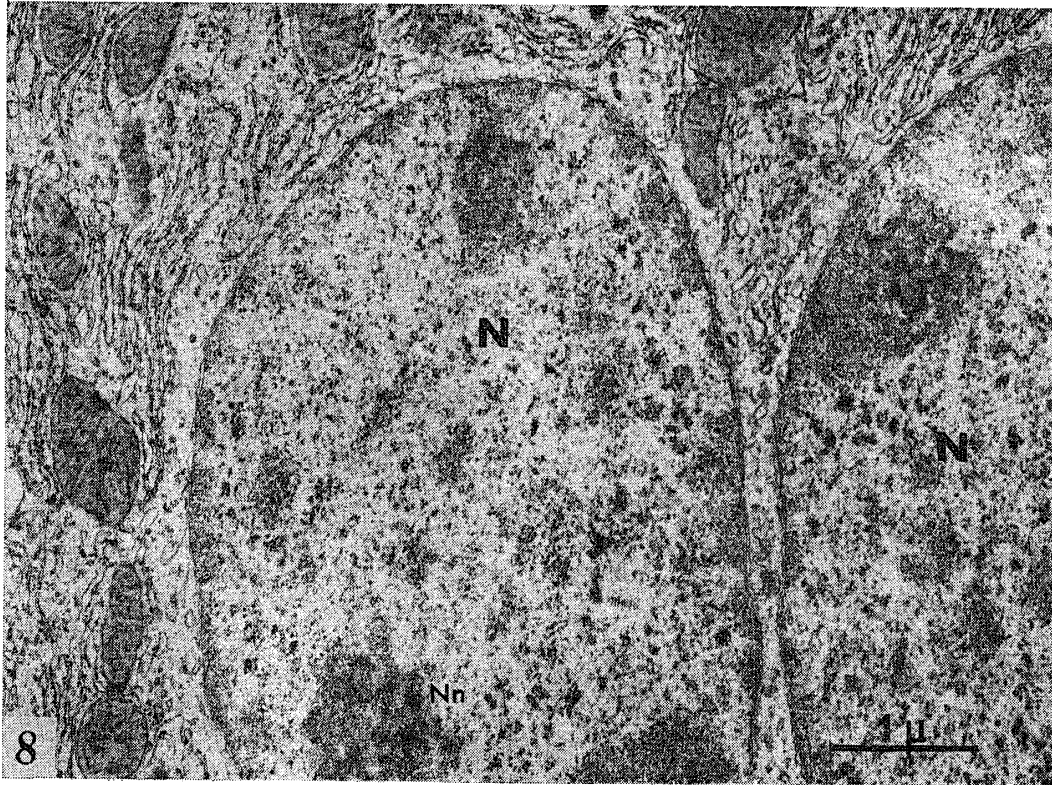
文 献

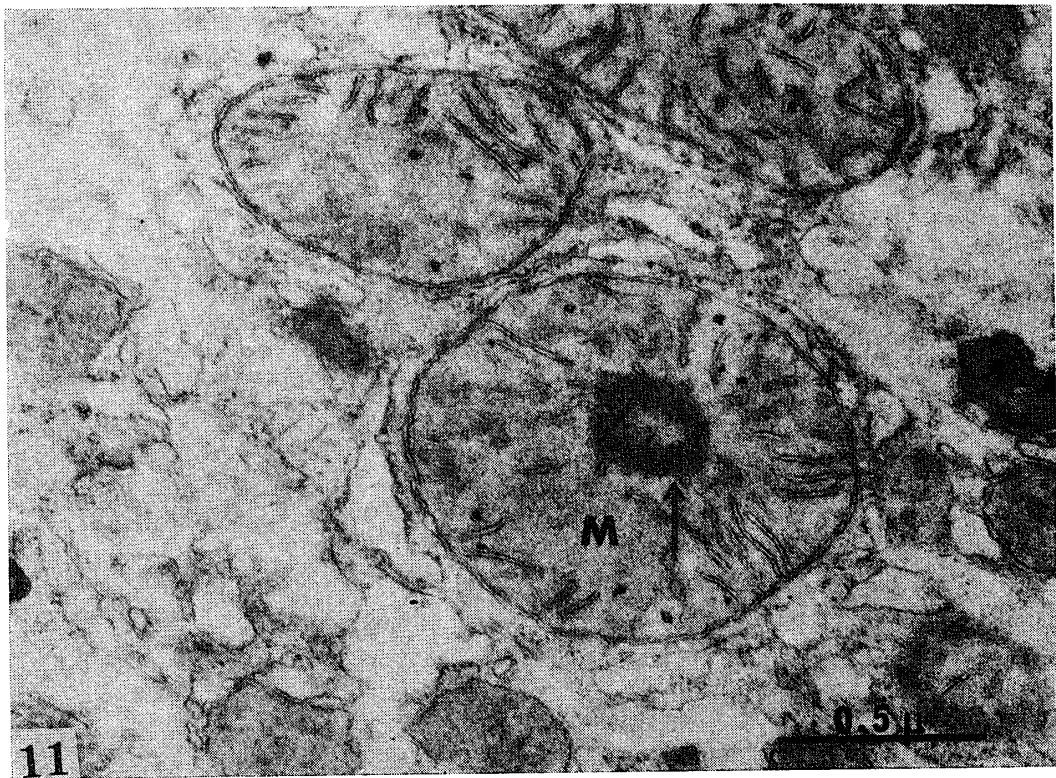
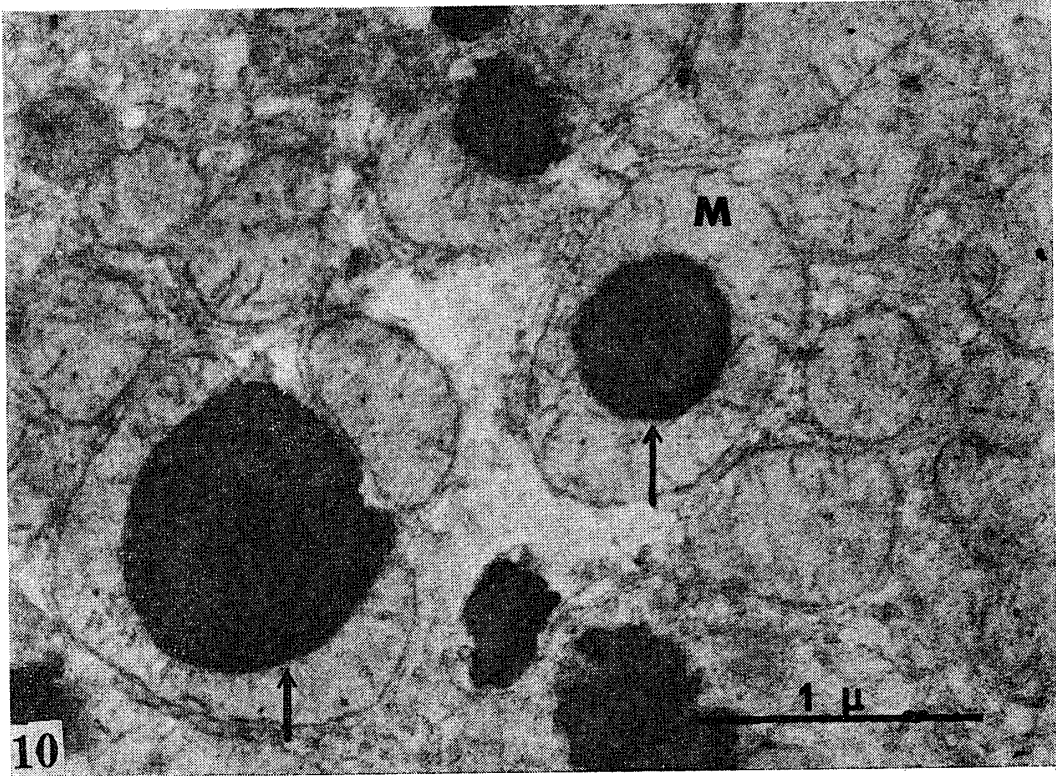
- 1) E. J. Underwood : Trace element in human and animal nutrition II. p. 327, (1962) (Academic press)
- 2) H. R. Bird, A. C. Grocshke and M. Rubin : J. Nutr. **37**, p.213 (1949)
- 3) D. V. Frost, L. R. Overly and H. C. Spruth : Agr. and Food chem. **3**, p.235 (1955)
- 4) 堤璋二 : 日児誌, **75**, p.897 (1971)
- 5) 日高欧子 : 医と生, **67**, p.12, (1963)
- 6) N. F. Morehouse : Poultry Sci., **28**, p.375 (1949)
- 7) D. V. Frost, L. R. Overly and H. C. Spruth : Agr. and Food Chem. **3**, p.235 (1949)
- 8) 藤井清次, 細貝祐太郎 : 食品衛生の化学 p.40, 恒星社厚生閣 (1967)
- 9) 下川洪平 : 食衛誌, **12** p.330 (1971)
- 10) 厚生省編 : 食品添加物公定書注解, p.1082, 金原出版 (1969)
- 11) 青木みか, 谷由美子, 遠山和子 : 名女大紀要, **22**. p.1 (1976)
- 12) 堤璋二, 梅原征四郎 : 日児誌, **75**, p.973 (1971)
- 13) 堤璋二, 後藤和義, 木津弘司 : 日児誌, **76**, p.973 (1971)
- 14) 小島久史 : 日薬理誌, **70**, p.149 (1974)
- 15) W. Saudritter, 東大医病理学教室訳 : 組織病理学 p.315 (医学書院)
- 16) 浦久保五郎 : 食衛誌, **16**, p.334 (1975)
- 17) 豊川行平他 : 新編食品衛生学 p.127, 朝倉書店 (1972)

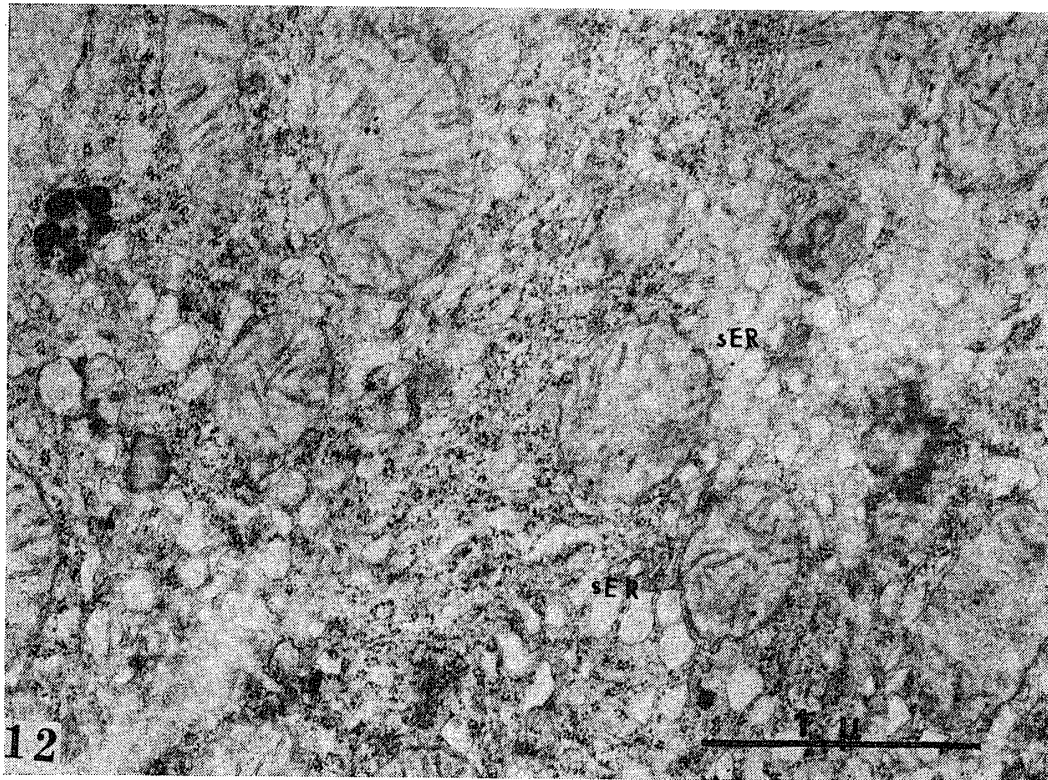


1. 50ppmヒ素投与24週間経過マウス
2. 1.5%海藻エキス投与36週間経過マウス
3. 対照群マウス脾組織像10×40
4. 50ppmヒ素投与10カ月経過マウス
脾組織像 10×40
5. 1.5%海藻エキス投与36週間経過マウス
脾組織像 10×40









図版説明

6. 対照群マウス肝細胞
7. 50ppmヒ素投与10カ月経過マウス肝細胞
8. 同 上
9. 1.5%海藻エキス投与（ヒ素摂取量 $7.3\mu\text{g}/\text{頭}/\text{日}$ ）10カ月経過マウス肝細胞
10. 同 上
11. 同 上
12. 同 上