

高血圧モデルラットの血圧に対する塩分と昆布出汁またはかつお出汁との交互作用

栗原 伸公¹, 橋本 弘子², 大瀬良 知子³, 丸山 紗季⁴, 瀬川 悠紀子⁴

¹神戸女子大学家政学部, ²大阪成蹊短期大学, ³東洋大学食環境科学部, ⁴神戸女子大学大学院

概要

背景: 私たちは、先に腎血管性高血圧モデル(2K1C)ラットにおいて、昆布と昆布出汁の摂取による血圧上昇抑制効果を示した。また、高塩分食と標準塩分食を 2K1C ラットに与えると、前者は後者よりも血圧が上昇するが、それらに同量の昆布を与えると、血圧はほぼ同じレベルまで低下することを観察した。そこで本研究では、異なる塩分濃度の食餌を摂取した 2K1C ラットに、昆布や昆布出汁、さらには異なる機序による血圧上昇抑制が報告されているかつお出汁を摂取させて血圧の変化を観察し、このモデルで高塩分摂取によりさらに上昇する血圧が昆布出汁やかつお出汁によっても緩和されるのかを調べるとともに、尿中、糞中 Na 量を測定して、これらの効果の機序への塩分の関与について検討した。

方法: 6 週齢ラットに三種混合麻酔を施し、銀製クリップで左腎動脈を狭窄した 2K1C 群 63 匹と、疑似手術対照 (SHAM) 群 16 匹を作成した。手術後、2K1C は 8 群に分け、AIN93 を基にした高塩分食 (NaCl 6.0%, HS), 標準塩分食 (NaCl 0.7%, NS) の 2 種類の粉末飼料と、①無添加 (CTL), ②昆布添加 (SJ), ③昆布出汁添加 (SJE), ④かつお出汁添加 (DBE) の 4 種類を組合せた計 8 種類の飼料をそれぞれ pair feeding 法にて 6 週間摂取させた。SHAM は 2 群とし、高塩分と標準塩分の無添加食を与えた。飼育期間中、週 1 回 tail-cuff 法で収縮期血圧 (SBP) を測定した。飼育期間の最終週に尿及び糞中 Na 排泄量を測定した。

結果: 昆布摂取は以前と同様の効果を示した。昆布出汁摂取では、標準塩分の場合、対照食に対して SBP は有意に低下し、高塩分の場合は、血圧上昇を抑制する傾向が観察された。昆布出汁摂取では、高塩分食摂取群の SBP は、標準塩分食摂取群に比べ有意に高く、昆布摂取のように両者の血圧が同じ程度にまで下がることはなかった。昆布添加食摂取では、とくに高塩分摂取時に糞中 Na 量の増加が見られた一方、昆布出汁添加食摂取では、標準塩分摂取時に尿中 Na 量の増加傾向が見られた。かつお出汁摂取でも標準塩分、高塩分とも SBP は有意に低下したが、両者の血圧が同じ程度にまで下がることはなかった。また、かつお出汁による尿及び糞中 Na 排泄量への影響は見られなかった。

結論: 腎血管性高血圧モデルラットにおいて、昆布、昆布出汁、かつお出汁摂取はいずれも降圧効果を示し高血圧を緩和した。このモデルにおいて、高塩分摂取下では、標準塩分摂取下に比べて、昆布による降圧効果は強く現れたが、昆布出汁やかつお出汁による降圧効果では塩分による差は見られなかった。昆布摂取では、とくに高塩分摂取時に糞中 Na 量の増加が見られた一方、昆布出汁摂取では、標準塩分摂取時に尿中 Na 量の増加傾向が見られた。またかつお出汁摂取は尿中・糞中 Na 量に影響を与えなかったことから、それぞれの降圧効果の機序における塩分の役割は異なっている可能性が示唆された。

1. 目的

私たちは、これまでに腎血管性高血圧モデルラットを用いて、昆布と昆布出汁の摂取が血圧上昇抑制効果を示し、高血圧予防につながる可能性があることを示した。これら

昆布と昆布だしの血圧上昇抑制効果のメカニズムを調べるために、これまで様々な検討を行ってきたが、その中で、高塩分食と標準塩分食を高血圧モデルラットに与えると、前者は後者よりも大きく血圧が上昇するが、それらに同量

の昆布を与えると血圧はほぼ同じレベルまで低下することを観察した。すなわち、昆布摂取による血圧上昇抑制効果は、高塩分食摂取に対する場合の方が大きいことが示唆され、これを日常生活に応用すれば、人体に必須の塩分の摂取において、少々多めに摂取してしまった場合でも、日頃昆布を含む食品を一定以上摂取していれば、少なくとも血圧への悪影響は抑制される可能性があるものと考えられる。

昆布による降圧作用のメカニズムとしては、昆布に含まれるアルギン酸が腸管内でNaを吸着し、吸収抑制をすることも考えられるが、私たちの他の実験データでは、昆布による効果は必ずしもアルギン酸とは関連せず、別のメカニズムが関与していることを示すものもいくつか見られた。たとえば、昆布に比べてアルギン酸が僅かしか含まれない昆布出汁でも元の昆布と同レベルの血圧上昇抑制効果が見られることもその一つである。

そこで本研究では、高血圧モデルにおいて塩分摂取でさらに上昇する血圧が昆布出汁によりどの程度緩和されるのか、つまり塩分を多めにとっても昆布のようにその分血圧を低下させるのか、について検討することとした。この検討は、昆布出汁による高血圧予防の可能性を拓げるとともに、高血圧モデルにおける昆布や昆布出汁の降圧効果のメカニズムにアルギン酸や塩分がどの程度関与しているかを示唆する可能性がある。さらに、昆布出汁以外の出汁として、近年異なるメカニズムによる血圧上昇抑制が報告され、私たちもその効果を確認したかつお出汁についてもその効果を調べることにした。具体的には、異なる塩分濃度の食餌を摂取している腎血管性高血圧モデルラットに、昆布、昆布出汁やかつお出汁を摂取させて、血圧の変化を観察するとともに、それぞれのラットの糞中、尿中ナトリウム排泄量を測定し、群間の比較を行った。

2. 方法

2.1 実験動物および飼料

実験動物として用いたラットは個別ケージに入れ、明暗12時間サイクル、室温 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度40~60%で飼育した。本研究は、神戸女子大学の「実験動物の使用及び保管等に関する基準」に従い、神戸女子大学動物実験倫理委員会の承認(承認番号:A200, A207)を得て行った。予備飼育の3週間は、粉末飼料(CE-2, 日本クレア株式会社、

東京)と水を自由摂取で与えた。

予備飼育後、6週齢ラットに、三種混合(塩酸メドミジン 0.15 mg/kg + ミダゾラム 2 mg/kg + 酒石酸ベトリフェール 2.5 mg/kg)麻酔を施し、銀製クリップ(内径 0.254 mm)で左腎動脈を狭窄した腎血管性高血圧モデル(2K1C)群63匹と、同様の手技を行うがクリップを設置しない疑似手術(SHAM)群16匹を作成した。手術後、ラットの状態が回復したことを確認して、2K1Cは8群に分け、AIN93をベースにした高塩分食(NaCl 6.0%, high-salt diet; HS)、標準塩分食(NaCl 0.7% normal-salt diet; NS)の2種類の粉末飼料と、①無添加(Control diet; CTL)、②5%(w/w)昆布添加(Saccharina japonica diet; SJ)、③昆布出汁添加(SJ extract; SJE)、④かつお出汁添加(dried bonito extract; DBE)の4種類を組合せた計8種類の飼料をそれぞれにペアフィーディング法にて6週間摂取させた。SHAMは2群とし、高塩分・無添加食と標準塩分・無添加食を与えた。昆布は北海道鹿部産の真昆布を用いて、凍結乾燥した。かつお節は花かつお(ヤマキ株式会社、愛媛)を使用した。昆布出汁添加、かつお出汁添加については、出汁をとる一般的な方法(昆布出汁は昆布を30分間水に浸漬させ、その後弱火にかけて沸騰直前で火を止め、出しがらを取り出す。かつお出汁は水を中火にかけ、沸騰したら火を止め、かつお節を入れて2分間置いたのち、ぬれ布巾でこす。それぞれ昆布及びかつお節30gにつき1,000mlの水を使用する。)で出汁をとり、それぞれ凍結乾燥したうえで、高・標準塩分粉末飼料100gに対してもとの昆布及びかつお節が5gとなるように、各粉末飼料に均一に混和することにより作成した。飼料組成はTable 1の通りである。

2.2 収縮期血圧の測定

飼育期間中は、毎週1回、tail-cuff法にてMK-1030 NIBP Monitor(室町機械株式会社、京都)を用いて無麻酔下での収縮期血圧(SBP)を測定した。

2.3 平均血圧の測定

各投与期間終了時、手術時と同じ麻酔下にて、左鼠径大動脈にPE-10カテーテル(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)を挿入し、平均血圧(MAP)を測定した。MAPは圧トランスデューサー(AR611G; 日本光電、東京)を用いて、血圧を10分間安定させた後最後の3分間をPower Lab System(AD Instruments, Belle Vista, Australia)を通じ

Table 1. Compositions of Experimental Diets

Ingredient	Normal salt diet				High salt diet			
	CTL	SJ	SJE	DBE	CTL	SJ	SJE	DBE
Casein	19.9	19.0	19.5	19.7	18.9	18.1	18.5	18.8
L-Cystine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Corn Starch	39.6	37.8	38.7	39.2	37.6	36.0	36.8	37.3
α -Corn Starch	13.1	12.6	12.9	13.0	12.5	11.9	12.2	12.4
Sucrose	10.0	9.5	9.7	9.9	9.5	9.1	9.3	9.4
Soybean Oil	7.0	6.7	6.8	6.9	6.6	6.3	6.5	6.6
Cellulose	5.0	4.8	4.9	4.9	4.7	4.5	4.6	4.7
Mineral Mix	3.5	3.3	3.4	3.5	3.3	3.2	3.2	3.3
Vitamin Mix	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9
Choline Bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
t-butylhydroquinone	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NaCl	0.439	0.096	0.437	0.440	5.429	4.977	5.402	5.430
SJ powder		4.73				4.50		
SJE powder			2.20				2.09	
DBE powder				0.85				0.81
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
The ratio of being fed [※]	1.00	1.03	1.01	1.00	1.05	1.08	1.06	1.05

※The rats in each group received equal amounts of energy and salt content for 6 weeks.

て記録し、その平均値を測定値とした。なお、ヒートパッド (BWT-100; Bioresearch Center, 愛知) 上で体温を 38°C に維持させながら測定を行った。その後、麻酔下のまま脱血死させた。

2.4 試料中のアルギン酸ナトリウム量の測定

飼料に用いた昆布粉末及び昆布出汁粉末 0.5 g に 50 mM 硫酸溶液 30 mL を加えて、室温で一晩振とう抽出した (150 rpm)。抽出液を遠心分離 (3,500 rpm, 30 min, 20°C) し、上清を除去した。得られた沈殿物に 1% 炭酸ナトリウム溶液 20 mL を加え、80°C で 2 時間加熱した。その後、遠心分離し、得られた上清をアルギン酸ナトリウム溶液とした。アルギン酸ナトリウム量は、カルバゾール硫酸法によって測定した。この結果、飼料に用いた昆布には、乾燥重量 100mg あたり 22±0.3 mg、昆布だしには同じく 3±0.1 mg のアルギン酸ナトリウムが含まれていた。

2.5 尿及び糞中ナトリウム排泄量の測定

飼育期間の最終週には、代謝ケージを用いて、糞と尿を 3 日間採取し、尿及び糞中ナトリウム排泄量を測定した。尿は濾過後、100 ml に定容し試料溶液とした。糞は 550°C で灰化した後、灰化物に 20% 塩酸溶液 1 ml を入れて加温しながら溶解し、蒸発乾固した。その後、1% 塩酸溶液 8 ml を入れて加温し、濾過した。濾液を 1% 塩酸溶液で 50 ml に定容し、試料溶液とした。試料中のナトリウム量の測定には、Z-2010 形の偏光ゼーマン原子吸光度計を用いた。

2.6 統計分析

得られたデータは平均値±標準誤差で表した。統計分析は ANOVA を用いた後に、多重比較を行った。有意水準は 0.05 とした。

3. 結果

3.1 塩分と昆布・昆布出汁との交互作用

3.1.1 体重

飼育期間全体を通じてペアフィーディングを行った結果、体重は、各週において各群間に有意差はみられなかった (Fig. 1)。

3.1.2 収縮期血圧

飼育期間中、無麻酔下にて tail-cuff 法で測定した収縮

期血圧 (SBP) について、4 元配置分散分析を行った結果、術後期間 ($P < 0.001$)、動物モデル (SHAM, 2K1C; $P < 0.001$)、塩分濃度 (NS, HS; $P < 0.01$)、飼料 (CTL, SJ, SJE; $P < 0.001$) において有意な差異が認められ、さらに術後期間と動物モデルとの間において有意な交互作用 ($P < 0.01$) が認められた (Fig. 2)。

2K1C-NS-CTL 群の SBP は SHAM-NS-CTL 群と比較して、2K1C 導入手術 3 週間後より有意に上昇した。また、

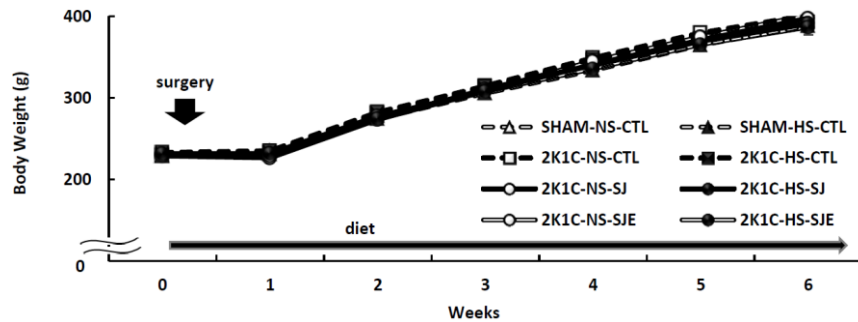


Fig.1. Body weight in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL, SJ or SJE diet for 6 weeks

Values are mean \pm SE, $n=7-9$. Four-way ANOVA showed $P < 0.05$ for time. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; SJ, a diet with Saccharina japonica, SJE; a diet with SJ extract.

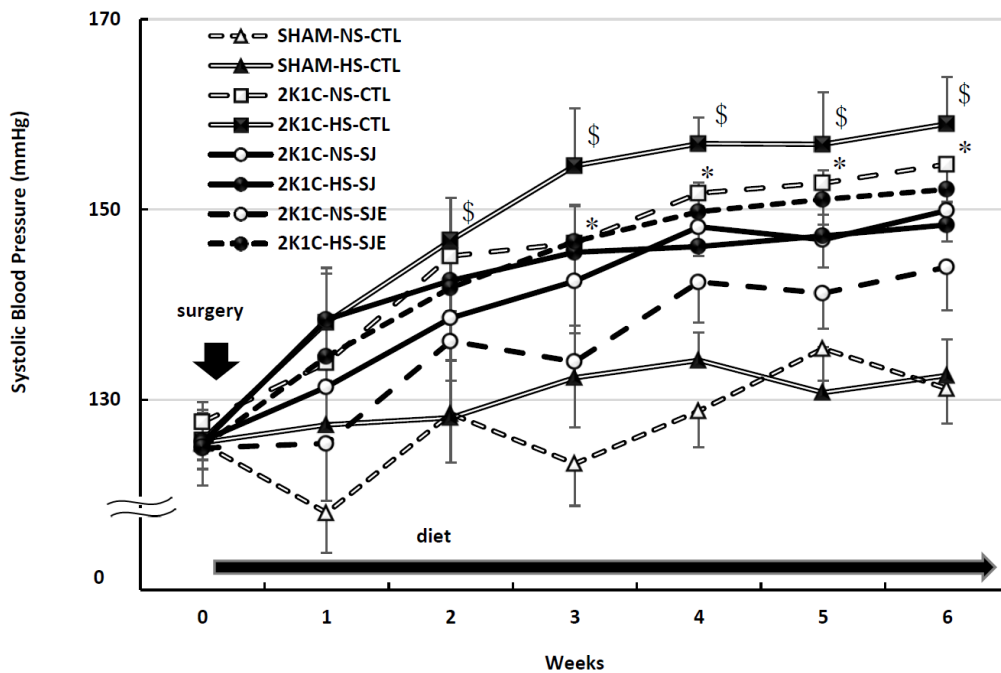


Fig.2. Systolic blood pressure by a tail-cuff method in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL, SJ or SJE diet for 6 weeks

Values are mean \pm SE, $n=7-9$. Four-way ANOVA showed $P < 0.05$ for time, animal (SHAM vs 2K1C), salt (NS vs HS), diet (CTL, SJ or SJE), time \times animal. Two-way ANOVA between 2 groups: $P < 0.05$ for SHAM-NS-CTL vs 2K1C-NS-CTL, SHAM-HS-CTL vs 2K1C-HS-CTL, 2K1C-NS-CTL vs 2K1C-NS-SJE, 2K1C-NS-SJE vs 2K1C-HS-SJE, 2K1C-HS-CTL vs 2K1C-HS-SJ. * $P < 0.05$ vs SHAM-NS-CTL, \$ $P < 0.05$ vs SHAM-HS-CTL. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; SJ, a diet with Saccharina japonica, SJE; a diet with SJ extract.

2K1C-HS-CTL 群の SBP においても、SHAM-HS-CTL 群と比較して、2K1C 導入手術 2 週間後より有意に上昇した。2K1C-NS-CTL 群に対して、2K1C-HS-CTL の SBP は統計学的な有意な上昇を認められなかった ($P=0.16$)。SHAM-NS-CTL 群と SHAM-HS-CTL 群の SBP に有意な差は認められなかった (**Fig. 2**)。

昆布添加食を摂取させたとき、標準塩分食の場合、2K1C-NS-CTL 群に対して 2K1C-NS-SJ の SBP は有意ではないものの低下傾向 ($P=0.10$) を示した。また高塩分食の場合は、2K1C-HS-CTL 群に対し 2K1C-HS-SJ 群は有意な血圧上昇抑制効果 ($P<0.05$) が観察された。一方、2K1C-NS-SJ 群と 2K1C-HS-SJ 群の SBP に有意な差は認められず、2K1C-HS-SJ 群の SBP は 2K1C-NS-SJ 群と同じレベルまで血圧が低下したことから、2K1C ラットに 5% 昆布添加食を摂取させた場合、高塩分における降圧効果が標準塩分における効果よりも大きく、標準塩分食、高塩分食に関わらず、血圧を一定のレベルまで低下させる可能性が示唆された (**Fig. 2**)。

昆布出汁添加食を摂取させたとき、標準塩分食では、2K1C-NS-CTL 群に対して、2K1C-NS-SJE の SBP は有意に低下し ($P<0.01$)、高塩分食では、2K1C-HS-CTL 群に対して、2K1C-HS-SJE 群で血圧上昇を抑制する傾向が観察された ($P=0.05$)。2K1C-HS-SJE 群の SBP は、2K1C-NS-SJE 群に比べ有意に高い値 ($P<0.01$) を示した

ことから、昆布出汁添加食では、昆布添加食の場合のように、高塩分における降圧効果が標準塩分における効果よりも大きいという現象は観察されなかった (**Fig. 2**)。

3. 1. 3 平均血圧

実験期間の最終週に麻酔下で観血的に測定した平均血圧 (MAP) について、3 元配置分散分析を行なった結果、動物モデルにおいて有意な差異が認められた ($P<0.01$) が、塩分濃度 (NS, HS) や飼料 (CTL, SJ, SJE) において有意な差異を認めなかった (**Fig. 3**)。

動物モデルについて、SHAM 群に比べて 2K1C 群の MAP は有意に上昇した ($P<0.01$)。2K1C-NS-CTL 群の MAP は SHAM-NS-CTL 群と比較して有意に上昇し ($P<0.05$)、2K1C-HS-CTL 群においても、SHAM-HS-CTL 群と比較して有意に上昇した ($P<0.05$, **Fig. 3**)。

SBP で観察された昆布、昆布だしの効果は MAP では観察されなかった。

3. 1. 4 尿中ナトリウム量

実験期間の最終週に回収した尿中のナトリウム量について、3 元配置分散分析を行なった結果、塩分濃度 (NS, HS) に関して有意な差があることが認められ ($P<0.05$)、さらに動物モデルと塩分濃度、塩分濃度と飼料 (CTL, SJ, SJE) との間において有意な交互作用 ($P<0.05$) が認められた (**Fig. 4**)。

標準塩分食摂取の場合、2K1C-NS-CTL 群の尿中ナト

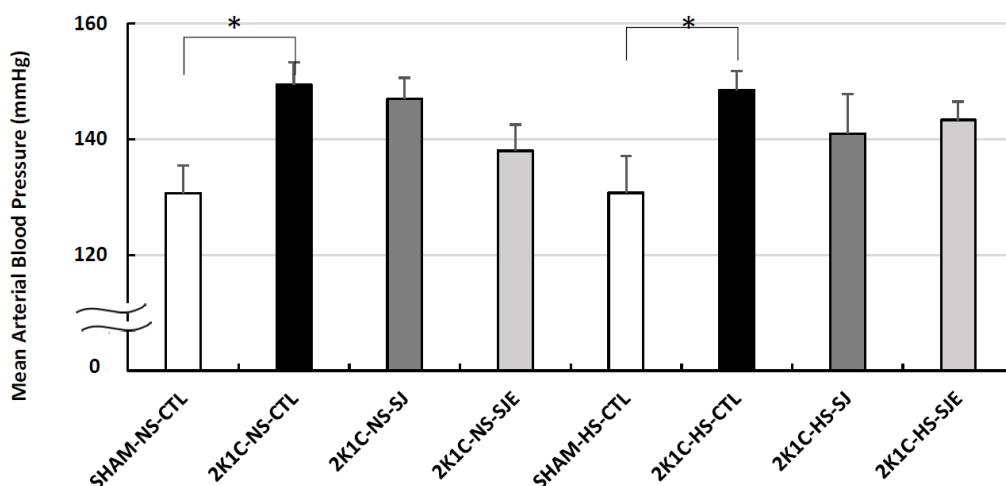


Fig. 3. Mean arterial blood pressure in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL, SJ or SJE diet for 6 weeks

Values are mean \pm SE, $n=6-9$. Three-way ANOVA showed $P<0.05$ for animal (SHAM vs 2K1C). * $P<0.05$. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; SJ, a diet with *Saccharina japonica*, SJE; a diet with SJ extract.

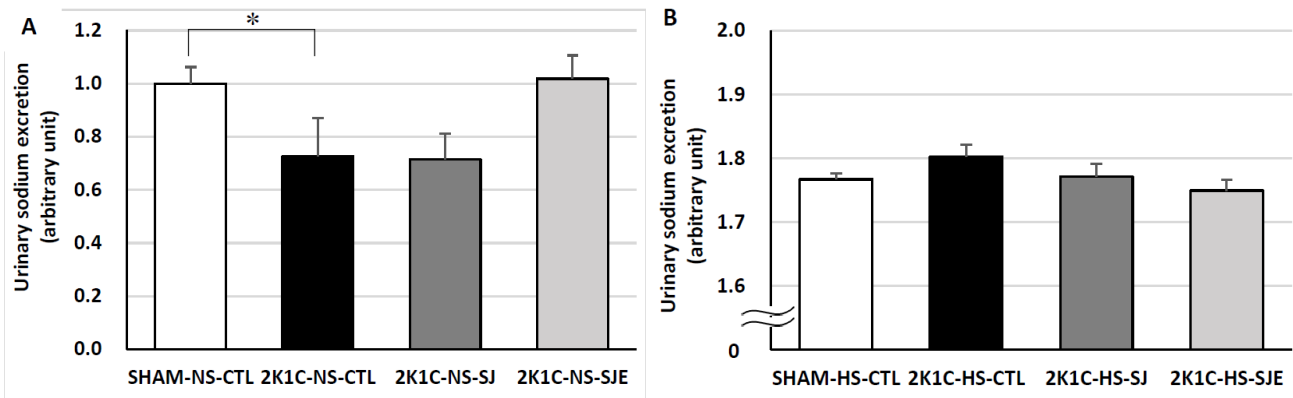


Fig. 4. Urinary sodium excretion in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL, SJ or SJE diet with a normal salt (A) or high salt (B) diet. Data are expressed as relative values (mean \pm SE, n=6), with SHAM-NS-CTL being 1. * P<0.05. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; SJ, a diet with *Saccharina japonica*, SJE; a diet with SJ extract.

リウム量は SHAM-NS-CTL 群と比較して、有意に低下した(P<0.05)。この場合、餌に昆布を添加(2K1C-NS-SJ 群)しても、対照食群(2K1C-NS-CTL 群)に比べ、尿中ナトリウム量に変化は見られなかった。一方、昆布出汁を添加した場合(2K1C-NS-SJE 群)、対照食群に比べ尿中ナトリウム量はわずかに上昇傾向を示し(P=0.08)、昆布添加群(2K1C-NS-SJ 群)に対してもわずかに高い傾向を示した(P=0.07, Fig. 4A)。

高塩分食摂取の場合は、2K1C-HS-CTL 群の尿中ナトリウム量は、SHAM-HS-CTL 群と比較して有意な差は認められず、2K1C-HS-CTL 群と 2K1C-HS-SJ 群、2K1C-HS-SJE 群との間に有意な差は認められなかった。

3. 1. 5 糞中ナトリウム量

実験期間の最終週に回収した糞中のナトリウム量について、3 元配置分散分析を行なった結果、塩分濃度(NS, HS)、飼料(CTL, SJ, SJE)に関して有意な差異が認められた(P<0.05, Fig. 5)。

標準塩分食摂取の場合、2K1C-NS-CTL 群の糞中ナトリウム量は SHAM-NS-CTL 群と比較して有意な差は認められなかった。餌に昆布を添加(2K1C-NS-SJ 群)しても、昆布出汁を添加(2K1C-NS-SJE 群)しても対照食群(2K1C-NS-CTL 群)に比べ糞中ナトリウム量に変化は見られなかった。

高塩分食摂取の場合も、糞中ナトリウム量は 2K1C-HS-CTL 群と SHAM-HS-CTL 群との間に有意な差は認められなかった。餌に昆布を添加(2K1C-HS-SJ 群)

すると対照食群(2K1C-NS-CTL 群)に比べ、糞中ナトリウム量は有意に上昇した(P<0.05)が、昆布出汁を添加(2K1C-NS-SJE 群)しても変化は見られなかった。なお、昆布添加(2K1C-HS-SJ)群は、昆布出汁添加食(2K1C-HS-SJE)群と比べても、糞中ナトリウム量は有意に高い値となった(P<0.01)。

3. 2 塩分とかつお出汁との交互作用

3. 2. 1 体重

飼育期間全体を通じてペアフィーディングを行った結果、SHAM-NS-CTL, SHAM-HS-CTL, 2K1C-NS-CTL, 2K1C-HS-CTL (これら 4 群は上記 A と同じ群)、2K1C-NS-DBE, 2K1C-HS-DBE, の 6 群の体重は、各週において群間に有意差がみられなかった。

3. 2. 2 収縮期血圧

飼育期間中、無麻酔下にて tail-cuff 法で測定した収縮期血圧(SBP)について、4 元配置分散分析を行なった結果、実験期間、動物モデル(SHAM, 2K1C)、飼料(CTL, DBE)に関して有意な差異が認められ(P<0.01)、さらに実験期間と動物モデルとの間において有意な交互作用(P<0.01)が認められた(Fig. 6)。

標準塩分及び高塩分食にかつお出汁を添加した食餌を摂取させた場合、2K1C-NS-CTL 群に対して、2K1C-NS-DBE の SBP は有意に低下し(P<0.05)、2K1C-HS-CTL 群に対して、2K1C-HS-DBE 群でも SBP は有意に低下した(P<0.05)。すなわち 2K1C ラットにかつお

出汁を添加した標準塩分及び高塩分食を摂取させると、どちらも血圧上昇抑制効果が認められた。なお、2K1C-NS-DBE 群及び 2K1C-HS-DBE 群の SBP に有意差は認められなかった (Fig. 6)。

3. 2. 3 平均血圧

実験期間の最終週に麻酔下で観血的に測定した平均血圧 (MAP) について、3 元配置分散分析を行なった結果、

動物モデルにおいて有意な差が認められた (Fig. 7) が、塩分濃度 (NS, HS) や飼料 (CTL, DBE) において有意な差異を認めなかった (Fig. 3)。

SHAM 群に比べて 2K1C 群の MAP は有意に上昇した ($P < 0.01$)。SBP で観察されたかつおだしの効果は MAP では観察されなかった。

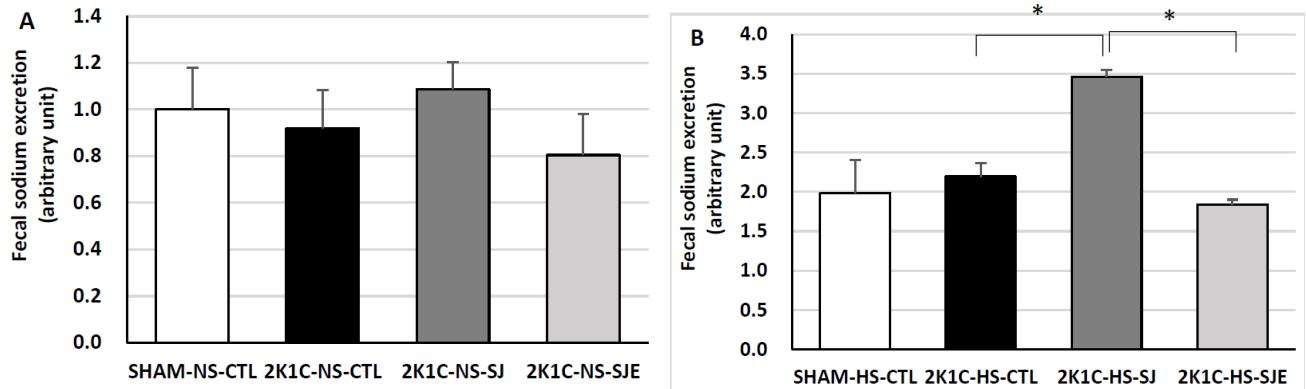


Fig. 5. Fecal sodium excretion in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL, SJ or SJE diet with a normal salt (A) or high salt (B) diet. Data are expressed as relative values (mean \pm SE, $n=4-6$), with SHAM-NS-CTL being 1. * $P < 0.05$. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; SJ, a diet with Saccharina japonica, SJE; a diet with SJ extract.

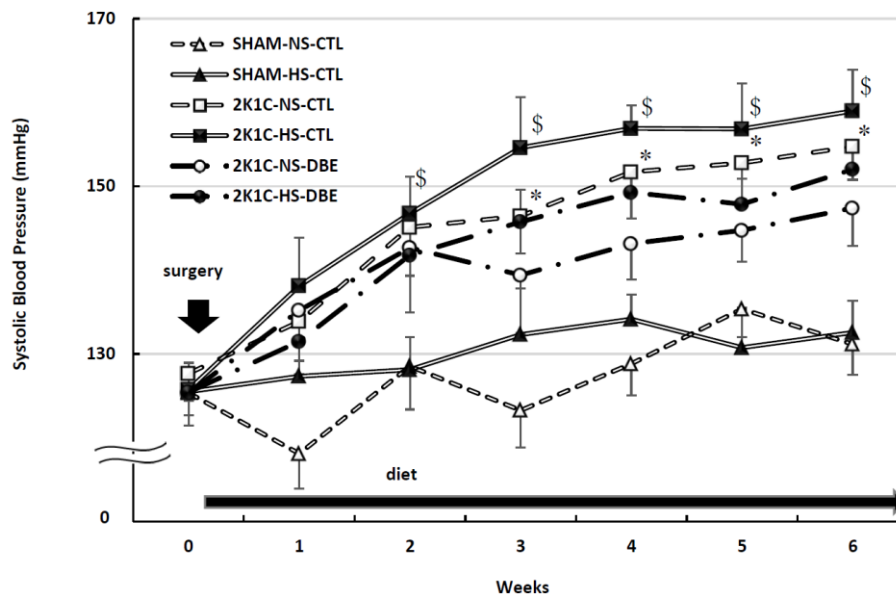


Fig. 6. Systolic blood pressure by a tail-cuff method in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL or DBE diet for 6 weeks

Values are mean \pm SE, $n=7-9$. Four-way ANOVA showed $P < 0.05$ for time, animal (SHAM vs 2K1C), salt (NS vs HS), diet (CTL vs DBE), time \times animal. Two-way ANOVA between 2 groups: $P < 0.05$ for SHAM-NS-CTL vs 2K1C-NS-CTL, SHAM-HS-CTL vs 2K1C-HS-CTL, 2K1C-NS-CTL vs 2K1C-NS-DBE, 2K1C-HS-CTL vs 2K1C-HS-DBE. * $P < 0.05$ vs SHAM-NS-CTL, \$ $P < 0.05$ vs SHAM-HS-CTL. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; DBE; a diet with dried Bonito extract.

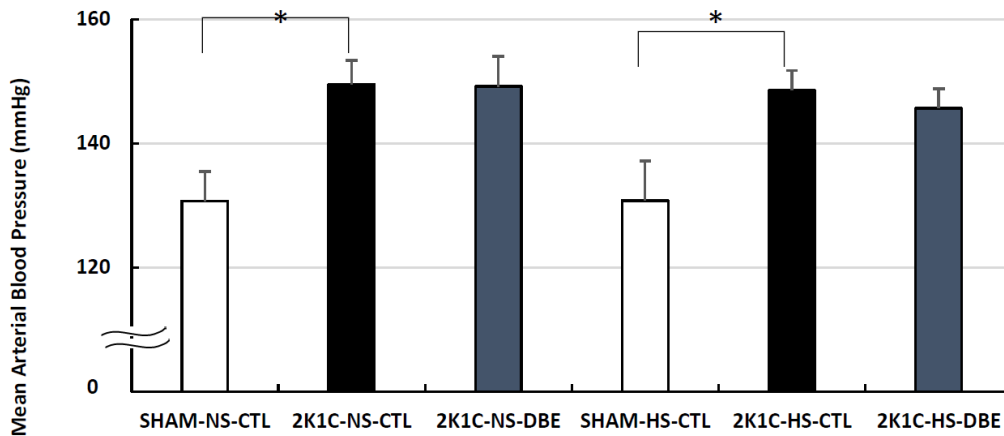


Fig.7. Mean arterial blood pressure in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL or DBE diet for 6 weeks

Values are mean \pm SE, n=6-7. Three-way ANOVA showed $P < 0.05$ for animal (SHAM vs 2K1C). * $P < 0.05$. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; DBE; a diet with dried Bonito extract.

3. 2. 4 尿中ナトリウム量

実験期間の最終週に回収した尿中のナトリウム量について、3元配置分散分析を行った結果、塩分濃度(NS, HS)に関して有意な差があることが認められ($P < 0.05$)、動物モデルと塩分濃度の間において有意な交互作用($P < 0.05$)が認められた(**Fig. 8**)。飼料(CTL, DBE)に関しては、因子も各相互作用にも有意な差異は認められず、標準塩分及び高塩分食にかつお出汁を添加した食餌を摂取させた場合、尿中ナトリウム量は2K1C-NS-CTL群と2K1C-NS-DBE群間、2K1C-HS-CTL群と2K1C-HS-DBE群間に有意な差は認められなかった。

3. 2. 5 糞中ナトリウム量

実験期間の最終週に回収した糞中のナトリウム量について、3元配置分散分析を行なった結果、塩分濃度(NS, HS)に関して有意な差異が認められた($P < 0.01$, **Fig. 9**)。飼料(CTL, DBE)に関しては、因子も各相互作用にも有意な差異は認められず、糞中ナトリウム量は2K1C-NS-CTL群と2K1C-NS-DBE群間、2K1C-HS-CTL群と2K1C-HS-DBE群間に有意な差は認められなかった。

4. 考察

本研究では、高塩分食および標準塩分食を腎血管性高血圧モデルラットに与えると、前者は後者よりも血圧が上昇するが、それらに同量の昆布を与えると、血圧はほぼ同じレベルまで低下することが観察された。このことから、

昆布摂取による血圧上昇抑制効果は、高塩分食摂取に対する場合の方が強いこと、すなわち、塩分摂取と昆布摂取には交互作用が見られることが確認された。一方、昆布出汁摂取による血圧上昇抑制効果は、高塩分食と標準塩分食とで、強さに差は見られず、同様の効果が認められたことから、塩分摂取と昆布出汁摂取には交互作用はないと考えられた。

食事由来のナトリウムは、大部分が小腸で体内に吸収される。そうして血液中に移行したナトリウムは腎臓の糸球体で濾過された後に、尿細管と集合管でほとんどが再吸収され、その残りが排泄されるが、摂取する塩分量が多くなればなるほど、排泄されるナトリウム量も増加する。本研究では、昆布摂取や昆布出汁摂取による血圧上昇抑制効果に、昆布に含まれる食物繊維、とくにアルギン酸、のナトリウム吸着による糞中へのナトリウム排泄促進作用が関与するか否かの検討も行った。一般にアルギン酸等の食物繊維は昆布には多く含まれるが、昆布出汁にはあまり含まれない。本研究の結果、高塩分食摂取の場合、昆布摂取により糞中ナトリウム排泄量は有意に増加する一方で、昆布出汁摂取では糞中ナトリウム排泄量の有意な増加は認められなかったことから、昆布摂取では、アルギン酸等食物繊維がナトリウムを腸管内で吸着し、糞中へ排泄している可能性が示唆された。そして、測定の結果、飼料に添加した昆布には乾燥重量 100 mg あたり 22 ± 0.3 mg、昆布出汁には 3 ± 0.1 mg のアルギン酸ナトリウムが含まれており、摂取させたアルギン酸量に大きな差があるこ

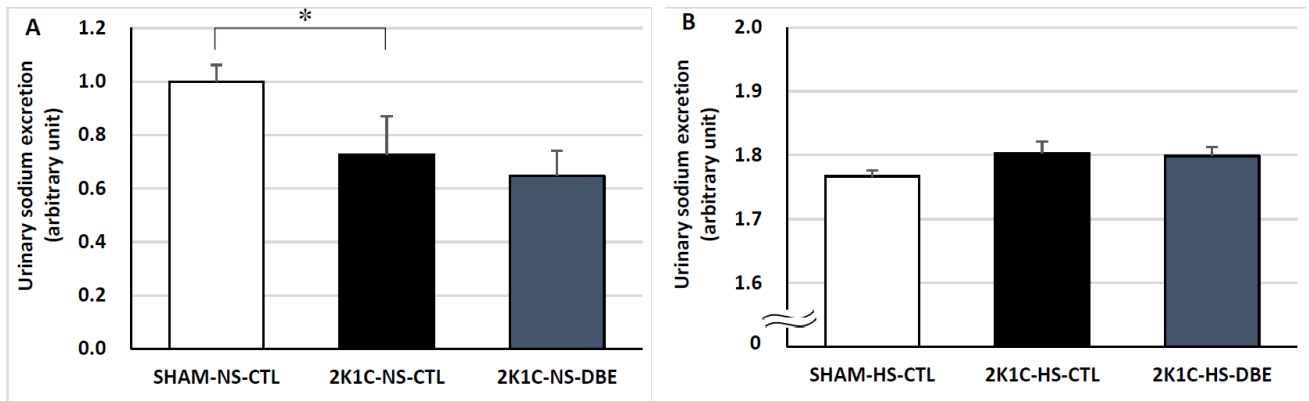


Fig. 8. Urinary sodium excretion in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL or DBE diet with a normal salt (A) or high salt (B) diet. Data are expressed as relative values (mean \pm SE, n=6), with SHAM-NS-CTL being 1. * P<0.05. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; DBE; a diet with dried bonito extract.

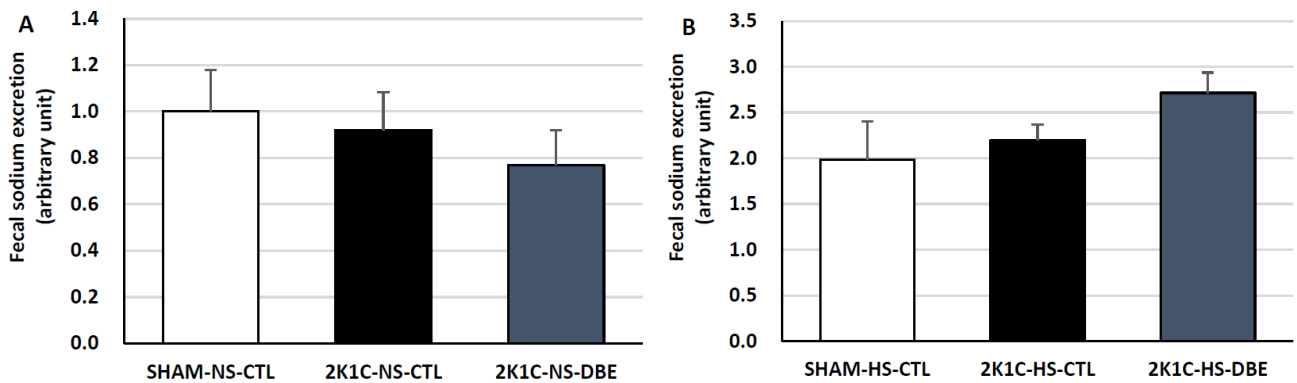


Fig. 9. Fecal sodium excretion in SHAM rats fed a CTL diet or 2K1C rats fed a CTL or DBE diet with a normal salt (A) or high salt (B) diet. Data are expressed as relative values (mean \pm SE, n=4-6), with SHAM-NS-CTL being 1. * P<0.05. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; NS, normal-salt; HS, high-salt; CTL, a control; DBE; a diet with dried bonito extract.

とから、この吸着に関わる食物繊維の1つとしてアルギン酸が考えられた。

一方、尿中ナトリウム量を観察すると、標準塩分食において、昆布摂取は尿中ナトリウム排泄量を変化させず、昆布出汁摂取では尿中へのナトリウム排泄増加傾向が認められた。アルギン酸は摂取後3日以内に約72.7-79.3%便から排泄されることが報告されているため、残りの約20-30%のアルギン酸は腸管から吸収されていると考えられる。アルギン酸は高温加熱や強酸により低分子化されるため、生体内においては胃酸によりアルギン酸の一部が低分子化し、より吸収されやすい形となっている可能性がある。昆布も昆布出汁も胃酸による影響を受けることが考えられるが、昆布出汁の場合、作成時に加熱するため、昆布よりもアルギン酸が低分子化している可能性がある。その結果、昆布出汁摂取の場合、ナトリウムの腸管からの

体内への吸収が若干増加している可能性も否定できない。しかし、昆布出汁摂取でも血圧が有意に低下していることから、それ以上に尿への排泄が促進している可能性が高いと考えられる。ただし、そのメカニズムは本研究結果からは不明である。このメカニズムを解明するために、まずは昆布出汁の何らかの成分が腎臓のナトリウム吸収機構に作用している可能性を検討したい。とくに、2K1Cラットでは、レニンアンジオテンシン系のアルドステロンが腎臓でナトリウムの再吸収を調節するENaCを刺激することが明らかとなっていることから、まずその経路に対する影響を検討したいと考えている。

かつお出汁摂取では、腎血管性高血圧モデルラットにおいて、摂取塩分量と無関係に血圧上昇抑制効果が観察された。すなわち、塩分摂取とかつお出汁摂取には相互作用はみられないと考えられた。また、かつお出汁摂

取は、尿及び糞中ナトリウム量には影響を与えなかったことから、かつお出汁による血圧上昇抑制作用の機序にナトリウムが関与する可能性は低いものと考えられた。

5. 結論

腎血管性高血圧モデルラットにおいて、昆布、昆布出汁、かつお出汁摂取はいずれも降圧効果を示し高血圧を緩和した。このモデルにおいて、高塩分摂取下では、標準塩分摂取下に比べて、昆布添加食による降圧効果は強く現れたが、昆布出汁添加食やかつお出汁添加食による降圧効果には差は見られなかった。

昆布添加食摂取では、とくに高塩分摂取時に糞中ナトリウム量の増加が見られた一方、昆布出汁添加食摂取では、標準塩分摂取時に尿中ナトリウム量の増加傾向が見られた。また、かつお出汁摂取は尿中・糞中ナトリウム量に影響を与えなかったことから、それぞれの降圧効果の機序における塩分の役割は異なっている可能性が示唆された。

参考文献

1. Nakamura Y, Tonogai Y, Hasegawa Y et al, Metabolism of Alginic Acid and Its Salts and Their Effects on Serum Concentrations of Na, K and Ca in the Rat, J. Food Hyg. Soc. Japan, 29(4), 240-248, 1988.
2. 辻 啓介, 辻 悦子, 中川 靖枝 他, 食物繊維のナトリウム吸着能が高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響, 日本家政学会誌, 39(3), 187-195, 1988.
3. 辻 啓介, 中川 靖枝, 市川 富夫, アルギン酸カリウムが高血圧自然発症ラットの血圧, ミネラル出納, 血清コレステロールレベルに及ぼす影響, 日本家政学会誌, 44(1), 3-9, 1993.
4. 木村 哲寛, 高橋 恵子, 辻 啓介, 摂取したアルギン酸が糞便中ナトリウム排せつ量に及ぼす影響, 日本栄養・食糧学会誌, 46(5), 429-433, 1993.

Interaction between Dietary Salt and Saccharina Japonica Extract or Dried Bonito Extract on Blood Pressure in 2-Kidney, 1-Clip Renovascular Hypertensive Rats

Nobutaka Kurihara¹, Hiroko Hashimoto², Tomoko Osera³, Saki Maruyama¹, Yukiko Segawa¹

¹Kobe Women's University, ²Osaka Seikei College, ³Toyo University

Summary

Introduction: We recently demonstrated that the intake of *Saccharina japonica* (SJ) and SJ extract (SJE) decreased blood pressure (BP) in 2-kidney, 1-clip hypertensive (2K1C) rats. We also observed that 2K1C rats fed a high salt diet showed higher BP than those fed a normal salt diet, and that dietary SJ decreased BP to the similar level in both group: the effect of SJ was stronger in 2K1C rats fed a high salt diet than fed a normal salt. In this study, we observed the dietary effects of SJ, SJE and dried bonito extract (DBE), which is also reported to decrease BP, on BP in 2K1C rats fed a normal (NS) or high salt (HS) diet in order to investigate whether SJE and/or DBE decreases BP to the similar level in 2K1C rats fed a high salt to which it did in those fed a normal salt, as in the case of SJ. We also measured urinary and fecal sodium excretion in each group to explore the participation of salt in the mechanism.

Methods: Male Sprague-Dawley rats (6 wks, n=7-9 per group) were treated with sham operation (SHAM) or clipping the left renal artery (2K1C). After surgery, the rats started receiving a NS (0.7% NaCl) or HS diet (6.0% NaCl), with or without 5.0% (w/w) SJ or SJE or DBE by pair feeding for 6 weeks. Systolic BP (SBP) was measured by a tail-cuff method every week. In the last week, 24-hrs urine and feces were collected through simple metabolic cage to measure urinary and fecal sodium excretion.

Results: Dietary SJ showed the same results as our previous study, which is described above. Dietary SJE significantly decreased SBP in 2K1C rats fed a NS diet, and decreased it with a marginal significance in those fed a HS diet. When fed SJE, SBP in HS was significantly higher than in NS, which was different from SJ decreasing BP to the similar level in both group. SJ diet induced an increase in fecal sodium excretion compared to a diet without SJ when fed a HS diet, while SJE diet tended to increase urinary sodium excretion. DBE diet significantly decreased SBP in both NS and HS groups, but they did not get to the similar level as in the case of SJ. DBE did not affect urinary and fecal sodium excretion.

Conclusions: Dietary intake of SJ, SJE and DBE attenuated BP in 2K1C rats, respectively. SJ, but not SJE nor DBE, showed a stronger decrease in BP when 2K1C rats fed a HS diet compared with a NS diet. On the basis of the data of urinary and fecal sodium excretion in each group, the role of salt in the mechanism of decreasing BP by them was probably varied.