

クロレラの経口投与の高血圧自然発症ラットにおよぼす影響

金森正雄・島 宗宏・野村 晃・土井裕司

MASAO KANAMORI, MUNEHIRO SHIMA, HIKARU NOMURA and HIROSHI DOI

Effect of chlorella on spontaneously hypertensive rat

要旨：高血圧自然発症ラット (SHR) を用いて、26.4%のクロレラを含む食餌の尾動脈圧への影響を検討した。併せて、体重変化、臓器重量、血清脂質含量をも測定した。対照群には、市販固型飼料を与え、実験期間は11日間であった。SHR は、クロレラ食で順調な生長を示し、肝臓および小腸の重量も対照群とほぼ同じであった。盲腸重量は、対照群の方が大きかったが、これは繊維含量が対照群の方が大きかったことによるものと考えられた。血清中の総コレステロール、遊離コレステロール、HDL-コレステロールおよびトリグリセリド含量は、両群とも正常であった。HDL-*chol.*/Total-*chol.* 比は、クロレラ食群の方が大であった。対照群の血圧は、実験開始前に比べて上昇したが、クロレラ食群のそれは、低下しており、クロレラ中に血圧降下作用を有する物質の存在を示した。

緒 言

高血圧が長期間持続すると、心疾患、例えば、冠状動脈アテローム硬化症、心筋硬塞、心不全や、脳卒中、尿毒症などを誘発し、死亡する。我が国では、疾病発症者のうち高血圧症患者が最も多く、最近の人口動態統計によると、脳卒中はガンに次ぐ死亡率を示し、高血圧を原因とする死亡は全死亡原因の30%をも占めるに至っている。従って、高血圧症に対する予防と治療は重要な研究課題であり、その発症機序の解明、治療薬の開発が盛んに行われている。

高血圧症には、腎疾患、内分泌疾患、脳疾患など、その原因となる疾患がはっきりしているものと、原因が全く不明な高血圧症とがあり、前者を二次性高血圧、後者を一次性または本態性高血圧と呼んでいる。実際には、本態性高血圧が90%以上を占めると言われている。高血圧症の治療には、明らかな原因がある時には、その治療が行われるが、多くは原因が不明であ

るため、対症療法となっている。例えば、降圧剤として降圧利尿剤、血管拡張剤、交感神経抑制剤、自律神経遮断剤などが開発され使用されているが、それらはいずれも高血圧により起こる障害を防ぐことを第一の使用目的としている。しかも、これら降圧剤には、副作用が確認されているものも多く、多量投与、長期投与できないのが現状である。

また、食事療法も重要な治療法となっており、低ナトリウム食に切り換えたり、太った人にとっては体重を減少させることが必要である。食事療法は、あらゆる病気にとって、その予防および予後ともに重要なものであり、食生活の改善により多くの病気を防ぎ抑えることが可能であろう。

著者の研究室では、長年、クロレラの培養、組成分析および栄養学的研究を進めてきている。クロレラは単細胞緑藻で、蛋白質含量が高く、特に必須アミノ酸であるリジンを多く含むことや、生長速度が早く、年間を通じて培養できるなどの利点から、食糧資源とす

京都府立大学農学部栄養化学研究室

Laboratory of Nutritional and Food Chemistry, Faculty of Agriculture,
Kyoto Prefectural University, Shimogamo, Kyoto 606, Japan.

昭和58年7月20日受理

るための研究も多くの研究室で行われ、現在では、一部実用化され、いわゆる健康食品として市販されている。

クロレラには、エチオニン中毒による肝臓障害からの保護作用のあることが報告されており、^{1),2)} 更にクロレラ抽出物についても細胞増殖作用、植物ホルモン作用、チトクローム合成能の促進など、奥田によって多数の生理活性が報告されている。³⁾⁻⁵⁾ また、村上らは、クロレラエキスの凍結乾燥物にはほとんど効果は認められなかったが、その分子篩による分画で降圧作用物質の存在を認め、それがアデノシンであったことを報告している。⁶⁾ また、高コレステロール症患者にクロレラを投与した場合、血清コレステロール値が低下したという報告もあり、その報告では更に、クロレラ添加飼料で飼育したマウスに高コレステロール食を与えた場合、肝中脂質や血清コレステロールの上昇抑制効果が認められたという。⁷⁾

今回、著者らは、高血圧症研究のモデル動物として岡本らによって開発された高血圧自然発症ラット(SHR)⁸⁾ を入手する機会を得た。

そこで、クロレラの高血圧発症への抑制効果を明らかにするため、クロレラを含む飼料(コレステロール無添加)でSHRを飼育し、その血圧の変動を追跡し、併せて、動脈硬化症の重要な誘因の1つである血清コレステロールについても検討を加えたので、その結果を報告するものである。

材料と方法

1 クロレラ

ジェファー・ジェフシー株式会社により、沖縄県石垣市にて培養されたクロレラを恵与された。生クロレラは、細胞膜破砕のため Dyno-mill 処理した後、凍結乾燥標品として使用された。

2 実験動物

高血圧自然発症ラット(SHR)は、日本ラット株式会社(浦和市)より、8週齢の雄(体重150~170g)を入手した。

SHRは、15週齢までは、オリエンタル酵母株式会社製マウス・ラット飼育用固型飼料MF(ミルクカゼイン25%、リノールサラダ油6%、粉末口紙8%含有)を自由に与え飼育した。水は自由摂取とした。飼育室は、午前9時より午後9時まで照明され、室温は24±3℃であった。

15週齢のSHRは、Table 1に示すようなクロレラ粉末を26.4%含む飼料で飼育された。対照群(コントロール食群)には、前記市販固型飼料が与えられた。

Table 1. Composition of the cholrella deit

Component	amount (%)
Chlorella	26.4
Soybean Oil	7.0
Vitamin Mixture*	1.0
Mineral Mixture**	4.0
Sucrose	5.0
Starch	53.6
Cellulose	3.0

* 100 g of Vitamin Mixture contained Vitamin A acetate, 50000 IU; Vitamin D₃, 10000 IU; Vitamin B₁ HCl, 120 mg; Vitamin B₂, 400 mg; Vitamin B₆ HCl, 80 mg; Vitamin B₁₂, 0.05 mg; Vitamin C, 3000 mg; Vitamin E, 500 mg; Vitamin K₃, 520 mg; Biotin, 2mg; Folic acid, 20 mg; Pantothenic acid Ca, 500 mg; para-amino benzoic acid, 500 mg; Nicotinic acid, 600 mg; Inositol, 600 mg; Choline choloride, 20000 mg; Cellulose powder.

** 100 g of Mineral Mixture contained CaH₄(PO₄)₂ H₂O, 14.56g; KH₂PO₄, 25.72g; NaCl, 4.66g; NaH₂PO₄ H₂O, 9.35g; Ca-lactate, 35.09g; Fe-citrate, 3.18g, MgSO₄ H₂O 7.17g; ZnCO₃, 0.11g; CuSO₄, 0.03g; MnSO₄, 0.12g; KI, 0.01g.

1群は3匹であった。飼育期間は11日間であった。

3 SHRの血圧測定

SHRの血圧は、夏目製作所製ラット尾動脈圧測定装置KN209を用いて無麻酔下で行った。各ラットは、血圧測定直前に、60℃、5分間インキュベーター中に置かれた。測定は、午後に行われた。

4 血清

飼育最終日にラットを断首して採血した。室温で24時間放置後、1000rpm、15分間遠心して血清を集めた。

5 コレステロールおよびトリグリセリドの定量

血清中の総コレステロール、遊離コレステロール、HDL-コレステロール、トリグリセリドは、いずれも、国際試薬株式会社製測定キット、T-コレス・5コレステロールF試薬(酵素法)、HDL-コレス(等電点分画法)およびトリグリセリド(酵素法)により測定した。

結 果

1 SHRの体重変化

Fig. 1は、SHRにクロレラ食を与えた時の体重の変化を示している。コントロール食からクロレラ食に切り換える時には、1日間絶食させたため、摂食欲の

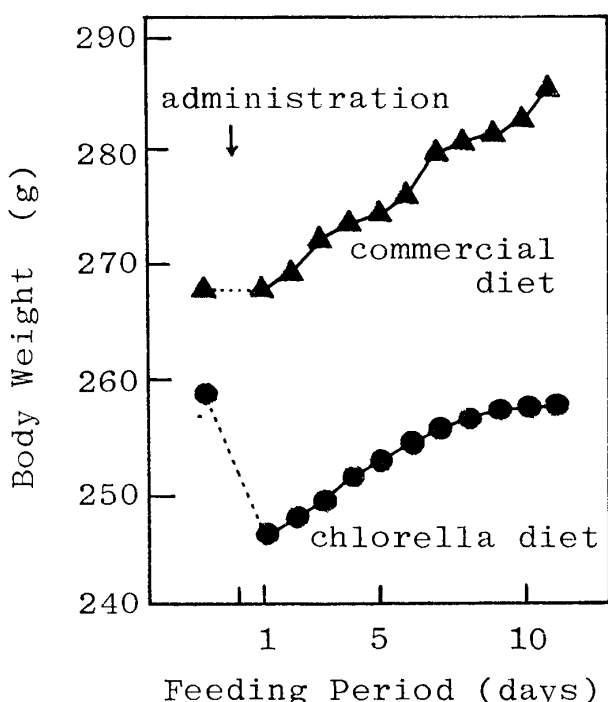


Fig. 1. Growth Curve of Spontaneously Hypertensive Rats Fed Commercial Diet or Chlorella Diet.

減退とあわせて、体重の減少が認められた。第1日目から第11日目までの体重増加は、クロレラ食で11g、コントロール食で18gであり、クロレラ食の方が小さかった。しかし、11日間の摂食量は両者で等しく、平均して1日当たり18gであった。生長曲線からは、いずれも実験期間中順調な生育であったことがわかる。

2 肝臓, 小腸, 盲腸の重さ

飼育終了後、肝臓, 小腸, 盲腸をそれぞれ摘出し、その重量を測定した。各臓器は、内容物を含んでいた。結果を Table 2 に示す。肝臓と小腸の重さは、クロレラ食とコントロール食との間で、ほとんど差は認められず、肝臓は、3.86gと4.05g、小腸は、2.46gと2.90gであった。他方、盲腸は、クロレラ食で1.26

Table 2. Liver Weight, Small Intestine Weight and Ceacum Weight of Spontaneously Hypertensive Rats Given Commercial Diet or Chlorella Diet.

	diet	
	commercial diet	chlorella diet
liver weight (g/100g of body weight)	4.05±0.52	3.86±0.01
small intestine weight (g)	2.90±0.33	2.46±0.11
ceacum weight (g)	3.01±0.63	1.26±0.21

Values represent the mean ± SE of three rats.

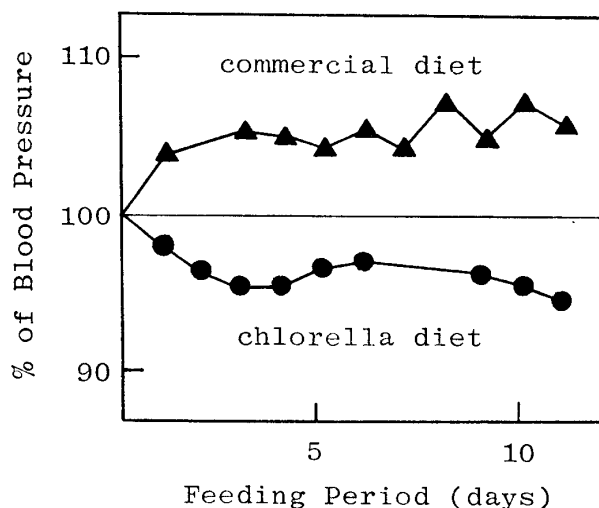


Figure 2. Change of Blood Pressure of Spontaneously Hypertensive Rats Fed Commercial Diet or Chlorella Diet.

g, コントロール食で3.01gと大きな差があった。

3 SHRの血圧に及ぼすクロレラ食の影響

実験開始直前の SHR の血圧は、191~201mmHgであった。Fig. 2は、クロレラ食またはコントロール食を与えた時の SHR の血圧の経時変化を、実験開始前の血圧を100として、その相対値として表わしたものである。血圧は、精神的ストレスにも左右され、それはラットの場合も例外ではないため、測定時刻等は一定にしたが、Fig. 2のように測定日によって変動が見られた。コントロール食 SHR では、実験期間を通じて血圧は上昇していた。他方、クロレラ食 SHR では、その血圧は実験開始前よりも低くなった。実験期間終了時には、SHR の血圧は、コントロール食で6%の上昇が見られたが、クロレラ食では5%の降下が認められた。

4 血清脂質へのクロレラ食の影響

血管内壁へのコレステロールの沈着が動脈の弾性低下をもたらし、高血圧症を誘起することが明らかにされている。即ち、高血圧症には、高脂血症がしばしば観察される。そこで本研究でも、クロレラ食による血圧降下の要因を追求する1つの前段階として、血清脂質含量が測定された。

血清中の総コレステロール、遊離コレステロール、HDL-コレステロールおよびトリグリセリド含量の測定結果が、Table 3 に示されている。血清中のコレステロール含量は、例えば総コレステロールが、コントロール食で55mg/dlであり、クロレラ食で75mg/dlで、いずれもコントロール食よりも、クロレラ食の方が大きかった。一方、トリグリセリド含量について

Table 3. Total-, HDL-, Free-Cholesterol and Triglyceride Concentrations in Serum of Rats Fed Commercial Diet or Chlorella Diet.

	(mg/dl)	
	diet	
	commercial diet	chlorella diet
total-cholesterol	54.88±4.12	75.46±2.30
HDL-cholesterol	20.82±1.41	36.56±1.62
free-cholesterol	10.56±0.53	25.12±1.28
triglyceride	255.1 ±20.1	248.2 ±22.4

Values represent the mean ± SE of three rats. Chol.: cholesterol

は、両群でほとんど差は認められなかった。

考 察

市販固型飼料に対するクロレラ含有食による SHR 飼育における尾動脈圧への影響が検討された。

実験開始直後は、飼料の切り換えによる摂食欲の減退のため、クロレラ食群では第1日目に12gの体重減少が見られた。しかし、これは一過性のもので、実験期間を通じての平均摂食量は、コントロール食群とクロレラ食群とで差はなかった。体重増加量は、クロレラ食群の場合、コントロール食群に比べて小さかった (Fig. 1)。クロレラは55~67%の粗蛋白を含むことが知られている。今、仮りにクロレラの粗蛋白含量を60%とすると、本実験でのクロレラ食は15%強の蛋白質を含むにすぎない。飼料摂取量は、コントロール食群とクロレラ食群とで同じであり、コントロール食には25%のミルクカゼインが含まれていたことを考慮すると、SHRの摂取蛋白質量は、クロレラ食群はコントロール食群の約6割にすぎない。従って、体重増加量の差は、両群間での蛋白摂取量に起因しているものと考えられる。

本実験では、肝臓および小腸の重量は、両群間でほとんど差は認められなかったが、盲腸重量には2倍以上の差があった (Table 2)。哺乳類では一般に、草食性のは盲腸が良く発達して大きく、消化機能をも分担していると言われている。コントロール食は、粉末口紙を8%含んでいたが、クロレラ食では3%であり、クロレラに由来するファイバーを加味しても、繊維としては、クロレラ食の方がかなり少なかった。従って、盲腸重量の差の要因の一つとして、食餌中の繊維含量の差を考えている。

高血圧症について、その原因の明らかなものに対し

ては、それに対応した治療法も開発されうるであろうが、原因の全く不明である本態性高血圧に対しては、治療法が全く確立されておらず、現在では、食事療法が試みられている。本研究において、クロレラを26.4%含む食餌を SHR に投与したところ、明らかに血圧降下への効果が認められた (Fig. 2)。即ち、わずか11日間の実験期間であるが、コントロール食では SHR の血圧上昇が観察されたのに、クロレラ食群では、血圧が、実験初期より一定して低下していた。

クロレラエキス中のアデノシンに血圧降下作用のあることを、既に村上らは報告している⁹⁾が、クロレラエキスでは、血圧降下効果は認められなかったという。従って、本研究で認められたクロレラの血圧降下効果は、アデノシンとは全く違ったものによるものと考えられる。また、同じ村上らは、クロレラの熱水抽出物やアルカリ抽出物の中に SHR の血圧を降下させる効果を示唆している⁹⁾が、この物質については全く不明と言っている。本研究では、クロレラ粉末を直接食餌中に含ませて、SHR に経口投与して、その降圧効果を認めている。従って、村上らの言う高分子画分とは異なっている可能性もある。詳細については、現在のところ不明である。次報に、著者らの得たクロレラ中の降圧物質について述べることにする。¹⁰⁾

クロレラ食群の血清コレステロール含量は、コントロール食群のそれと比べて、いずれも高かった (Table 3)。しかしながら、得られた値は、血清コレステロール値を下げると言われている大豆蛋白質食で飼育されたラットの血清コレステロール値と比較しても、決して高いものではなかった。¹¹⁾

高密度リポ蛋白質、即ち、HDL は末梢組織からコレステロールを肝臓へ運搬する役割をしていることが示唆され、更に、HDL の抗動脈硬化作用の考えが発表され、多くの研究結果がそれを支持するようになった。¹²⁾本研究では、得られた血清コレステロール値から HDL-コレステロール値の総コレステロール値に対する比率も計算された (Table 4)。その結果、コントロール食群でのその値は、0.38であり、クロレラ

Table 4. The Ratio of HDL-Cholesterol to Total-Cholesterol Content in Serum of Spontaneously Hypertensive Rat Fed Chlorella Diet or Commercial Diet.

diet	HDL-cholesterol./total-cholesterol.
chlorella	0.48
commercial	0.38

食群では0.48であった。即ち、クロレラ食群の方が、むしろ高い値であり、トリグリセリド含量が等しかったことも併せ考えると、クロレラ食は、血清脂質含量に何ら悪影響を及ぼさなかったと言える。

本研究におけるクロレラ食のクロレラ含量は、コントロール食の蛋白含量から考えると少ないものであり、繊維含量も、クロレラ食の方が少なかった。今日、注目を浴びている食餌性繊維の効果をも併せて、クロレラ含量および繊維含量を高めた食餌を投与することによって、更に顕著な血圧降下効果が期待できるものと考えられる。

引用文献

- 1) WANG L-F., J-K. LIN and Y-C. TUNG (1979): Protective Effect of Chlorella on the Hepatic Damage Induced by Ethionine in Rats. *J. Formosan Med. Assoc.*, **78**, 1010-1019.
- 2) WANG L-F., J-K. LIN and Y-C. TUNG (1980): Effect of Chlorella on the Levels of Glycogen, Triglyceride and Cholesterol in Ethionine Treated Rats. *J. Formosan Med. Assoc.*, **79**, 1-10.
- 3) 奥田正男 (1971): クロレラ抽出物の生理的作用 (1)クロレラ有効成分の酵母およびテトラヒメナに対する作用, 東邦医会誌, **18**, 726-734.
- 4) 奥田正男 (1971): クロレラ抽出物の生理的作用 (2) 水生植物ヒシモドキの成長とクロロフィル形成に及ぼす影響, 東邦医会誌, **18**, 735-742.
- 5) 奥田正男 (1971): クロレラ抽出物の生理的作用 (3) 呼吸欠損酵母の出現抑制とチトクローム合成能の促進, 東邦医会誌, **18**, 743-750.
- 6) 村上哲男・飯塚義富・松原義治・横井勝美・本田進・掛樋一晃・岡本耕造・三宅英夫 (1980): クロレラエキスに含まれる血圧降下物質の分離・固定, 近大医誌, **5**, 119-130.
- 7) 奥田正男・長谷川節・園田真人・岡部富子・田中幸男 (1975): 血清および肝コレステロール値におよぼすクロレラの影響, 栄養学雑誌, **33**, 3-8.
- 8) 岡本耕造 (1962): 実験的高血圧の研究, 内分泌学会誌, **38**, 782-794.
- 9) 村上哲男・飯塚義富・岡本耕造・鈴木庸之・三宅英夫・山本和夫 (1979): 高血圧自然発症ラットの血圧におよぼすクロレラ抽出物の影響, 栄養食糧学会講演要旨, p.32.
- 10) 土井裕司・島宗宏・河端康・瀬田正信・金森正雄 (1983): クロレラからの血圧降下作用糖蛋白質の検索, 京府大学術報告・農学, **35**, 138-143.
- 11) 金森正雄・土井裕司 (1982): 分離大豆たん白質とその酵素水解物のコレステロール代謝に与える影響, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **3**, 28-32.
- 12) 五島雄一郎・矢野芳和 (1980): "HDL-コレステロール基礎と臨床。河合忠・桜林郁之介編, テクノ, p.57.

Summary

Effect of chlorella diet (containing 26.4% of chlorella powder) on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats (SHR) was examined. Further, weights of body, liver, small intestine and ceacum and concentrations of serum lipids of SHR were measured. The commercial diet was given to SHR as a control. Feeding period was 11 days.

SHR fed chlorella diet grew adequately as expected. Weights of liver and small intestine of SHR fed chlorella diet were very similar to those of the control group. Ceacum of the control group was larger than that of chlorella diet group. This

difference may be due to the fact that the commercial diet contained more fiber compared with the chlorella diet.

The concentrations of total-, free-, HDL-cholesterol and triglyceride in serum of SHR were normal in any cases. The ratio of HDL-cholesterol to total-cholesterol of chlorella diet group was larger than that of control group.

The blood pressure of control group rose compared with that before the experiment. On the contrary, the blood pressure of SHR fed chlorella diet lowered. These facts indicate the presence of anti-hypertensive material in chlorella.