研究ノート

摂取したアルギン酸が糞便中ナトリウム排泄量に及ぼす影響

木村 哲寛^{*1}, 高橋 恵子^{*2, *4}, 辻 啓介^{*3}

^{*1} テルモ株式会社富士宮工場医薬品課

^{*2} 実践女子大学家政学部

^{*3} 国立健康・栄養研究所応用食品部

^{*4} 駒沢女子短期大学生活科

Effect of Alginic Acid on Fecal Excretion of Sodium in Humans

Tetsuhiro KIMURA,* Keiko TAKAHASHI**
and Keisuke TSUJI***

^{*1} Development Department, Pharmaceuticals
Section, Fujinomiya Factory, Terumo
Corporation, Fujinomiya 418

^{*2} Jissen Women's University, Hino 191

^{*3} National Institute of Health and Nutrition,
Shinjuku-ku, Tokyo 162

^{*4} Komazawa Women's Junior College, Inagi 206

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (J. Jpn.
Soc. Nutr. Food Sci.) 46, 429~433 (1993)

The effects of alginic acid on fecal excretion of sodium in humans were studied. The concentration of fecally excreted Na appear to increase in proportion to the concentration of fecally excreted alginic acid, and the rate of Na excretion relative to the excretion of alginic acid was constant. However, the concentrations of fecally excreted minerals, K, Ca and Mg, were not related to that of fecally excreted alginic acid. The proportions of three types of blocks, homopolymeric blocks of mannuronic acid (M blocks) and of guluronic acid (G blocks), and heteropolymeric blocks of each sequence (MG blocks) in the alginic acid were transformed. These results indicated that the proportion of M and MG blocks decreased in comparison with the amount of alginic acid fed. Three kinds of intestinal bacteria were isolated from the human feces. They degraded alginic acid almost completely *in vitro*, although this result was not consistent with that observed *in vivo*.

Key Words alginic acid, fecal excretion of Na, mannuronic block.

(Received December 30, 1992)

^{*1} 〒418 富士宮市三園平 818

^{*2} 〒191 日野市大坂上 4-1-1

^{*3} 〒162 東京都新宿区戸山 1-23-1

^{*4} 〒206 稲城市坂浜 238

海藻に含まれるアルギン酸塩 (Alg) はラット消化管内においてナトリウム (Na) を吸着し、糞中への排泄を促進する作用が認められている¹⁾。さらに Alg の構成糖であるマンヌロン酸 (M) とグルロン酸 (G) の構成比 (M/G 比) は、糞中への Na 排泄に影響し、M/G 比が小さいほど糞中 Na 排泄量が多くなることも認められている²⁾。この糞中 Na 排泄作用を有する素材は、高血圧に深く関与している Na の体外排泄を促進させることからその機能に興味をもたれる。しかし、これまでに報告された Alg の糞中 Na 排泄促進作用は十分なものではなく、しかもラットでのものであった。一方、筆者らはラットにおいて摂取したアルギン酸 (H-Alg) の一部が腸内細菌により分解され、糞中への Alg 排泄量が少なくなることを、さらに Alg 排泄量の低下に依存して糞中 Na 排泄量が低下することを認めている³⁾。一般にヒトとラットの腸内細菌叢には違いがあるとされ、*in vitro* においてヒト腸内細菌によるアルギン酸ナトリウム (Na-Alg) の資化性がないという報告がある⁴⁾。そこで、摂取した H-Alg がヒトの消化管内においてどのような影響を受けるのか、H-Alg の出納を中心に実験を行ったので報告する。

実験方法

1. H-Alg 摂取条件

ヒトでの H-Alg 摂取実験は、テルモ㈱の社員ボランティア男性 8 名を被験者 (年齢 25~31 歳, 平均年齢 27.6±2.2) とし、M/G 比=1.39 の H-Alg 錠剤 (H-Alg 1g/錠: 富士化学㈱製) を 1 日 5g 摂取 3 名, 10g 摂取 3 名, 対照 2 名で実施した。H-Alg は、試験開始初日から試験終了 7 日目まで食後 30 分以内に摂取した。試験期間中の食事は対照者を含め、最初の 4 日間は通常食を自由に摂り、H-Alg 摂取開始から 4~7 日目の 3 日間、7 日目のみは昼食までの献立を統一し、全員の摂取量も揃えた。ただし、試験期間中の食事には褐藻類を含めないようにした。

また、これらの実験はヘルシンキ宣言に基づき実施し、被験者らの同意を得た。

2. 糞便採取および糞便中の Alg の分析

糞便は、試験開始より 6, 7 日目の 2 日間の糞便を 1 日分ごとに全量採取し、凍結保存用バックに入れて重量測定後、凍結保存した。糞便からの Na-Alg の抽出は、凍結保存糞便を湯浴上で解凍後、袋外側より手で十分採みほぐし、そこから一定量の糞便を計り取り、食品添加物分析法⁵⁾ に従い抽出および定量を行った。また、採取した糞便から抽出した Na-Alg を用いて、Haug らの方法^{6,7)} に準じ、ブロック構造の推定を行った。

Table 1. Composition of diluted solution with alginic acid.⁸⁾

Salts solution I		37.5 ml
K_2HPO_4	0.78%	
Salts solution II		37.5 ml
KH_2PO_4	0.47%	
NaCl	1.18%	
$(NH_4)_2SO_4$	1.20%	
CaCl ₂	0.12%	
$MgSO_4 \cdot H_2O$	0.25%	
0.1% Resazurin		1.0 ml
L-cysteine $\cdot$ HCl $\cdot$ H ₂ O		0.5 g
25% L-ascorbic acid		2.0 ml
4% Na ₂ CO ₃		50.0 ml
Alginic acid	1.0%	

The medium made preparations in the presence of CO₂ gas.

Fig. 1. The effects of alginic acid fed upon the amounts of feces.

The subjects A-C and D-F ingested alginic acid 5 g and 10 g per a day, respectively. The subjects G and H were control, who did not ingest alginic acid. Diets were unity for 6 days. Feces were collected in 2 days.

3. 糞便中ミネラル分析

凍結保存糞便を解凍後、十分揉みほぐし、そこから一定量を取り乾燥した。乾燥後灰化し、Na, K, Ca, および Mg を原子吸光法にて測定した。

4. 糞便嫌気培養法

糞便嫌気培養法は、光岡の方法に準じ使用培地に Na-Alg 含有培養液 (Table 1)⁸⁾ を調整した。実験に用いたヒト糞便は、通常食を摂取している人のものを用いた。培養方法および継代培養は、ヒト糞便およそ 4 g を Na-Alg 含有培養液 30 ml に嫌氣的に添加し、37°C, 24 時間培養後、レサズリンの着色がみられないものについて

Fig. 2. Intake and fecal excretion of alginic acid.

See the footnote in Fig. 1. The whole of bars showed the amount of alginic acid fed (Subjects: A-F). The virgules showed the amount of fecal excretion of alginic acid.

その培養液 1 ml をサンプリングし、新しい Na-Alg 含有培養液に嫌氣的に継代した。この継代培養は 5 回繰り返す。この培養液に生育した菌を Alg 分解菌群とした。この Alg 分解菌群は、変法 GAM 寒天培地、EMB 培地、GM 加 GAM 寒天培地、マッコンキー寒天培地、Modified PY 培地を用いて、Alg 分解菌の純粋分離を試みた。さらにこの Alg 分解菌培養液を用いて培地中の Na-Alg の分解性について経時的に菌数計測および培養液中の Na-Alg 量を定量した。

実験結果

1. H-Alg 摂取後の糞便量および糞便中 Alg 排泄量

試験開始後 6, 7 日目の糞便採取量を Fig. 1 に示した。一般に食物繊維を摂取した場合にみられる糞便量の増大は、この結果からは明確に認められなかった。しかし、個人差はあるものの対照者に比べ H-Alg を摂取した人は、やや糞便量が増大する傾向にあった。

また、Fig. 2 に示すように糞便中に排泄された Alg は、下痢を起した 1 名 (E) を除いて、大きくばらつきはあったものの 1 日当りでは、H-Alg 摂取量の 12~83% が糞便中に回収された。

2. 糞便中に排泄された H-Alg のブロック構成

次に糞便中に排泄された Alg のブロック構成について検討した。その結果、Table 2 に示したように糞便中排泄 Alg のブロック構成比は、摂取時の H-Alg のブロック構成比と比較して、いずれの被験者の場合でも M ブロックおよび MG ブロックの比率が明らかに小さくなっており、その結果 G ブロックの比率が増大する傾向が被験者 (A~F) 全員についてみられた。しかも、糞便中

Table 2. Comparison of uronic acid sequence in alginate from feces.

Test subjects		Proportion of three types of blocks		
intake		M block	G block	MG block
(alginic acid in feed)				
		37%	33%	30%
(alginic acid in feces)				
A	5 g/day	4%	90%	6%
B	5	4	88	8
C	5	**	**	**
D	10	7	73	20
E	10	7	69	24
F	10	3	89	8

** : No data. The determination of the block ratio was made by Haug's method. M block : homopolymeric blocks of D-mannuronic acid, G block : homopolymeric blocks of L-guluronic acid, MG block : heteropolymeric blocks with an alternating sequence. The test subjects were expressed by alphabetical A-F.

へのAlg排泄量が多く、ほぼ摂取量と同量の糞便への排泄量があった被験者、下痢を起こした人(E)についても同様なMブロックおよびMGブロック比率の低下が認められた。

3. ヒトでのH-Alg摂取における糞便中へのNa排泄促進作用

糞便中Alg濃度と糞便中Na濃度との関係については、ラット同様糞便中におけるAlg濃度が増大するほど、糞便中におけるNa濃度が増大する($r=0.810$; $p<0.05$)ことが確認され、有意な正相関が認められた。しかし、他の消化管内ミネラルである、K、CaおよびMgについては、糞便中におけるAlg濃度に関係なく、ほぼ一定の濃度(糞便中Kおよび糞便中Mg濃度)であった。ただし、Caの糞便中濃度については、かなり個人的ばらつきがみられ、糞便中Alg濃度との間に明確な関係は確認できなかった(Fig.3)。また、1日当りの糞便中へのミネラル排泄量で比較してみると、糞便中へのNa排泄($r=0.927$, $p<0.01$)だけではなく、Kにおいても糞便中Alg排泄量と比例して糞便中K排泄量が増大する($r=0.947$, $p<0.001$)傾向がみられた(Fig.4)。一方、Ca、Mgの糞便中への排泄量においても、正相関関係が認められたものの相関性は低かった。これらの結果からH-Alg摂取が、少なくともヒトにおいては、糞便中へのNa排泄を促進するということが明らかとなった。

Fig.3. The relation between fecal excretion of Na, K, Ca, Mg and fecal excretion of alginic acid.

See the footnote in Fig.1.

Fig.4. The relation between the amount of fecal excretion of Na, K, Ca, Mg and the amount of fecal excretion of alginic acid.

See the footnote in Fig.1.

4. ヒト腸内細菌によるNa-Algの分解

ヒト新鮮糞便からNa-Alg分解菌の分離を試みた。分離用培地に生育した菌群からコロニー性状の異なる3種の菌を分離した。これらの菌は、いずれも桿菌であり、グラム染色した結果、グラム陽性菌が1種(長桿菌)、グラム陰性菌が2種(長・短桿菌)であった。

一方、Na-Algの分解性を確かめるためにヒト糞便を用いてNa-Alg含有培養液に嫌氣的に生育した菌群を5回継代し、この培養液中に生育した菌群を用いて、菌の生育とNa-Algの分解性を調べた(Fig.5)。しかし、*in vitro*におけるNa-Algの分解性は、*in vivo*での結果、すなわち糞便中に排泄されたAlgのMブロックおよびMGブロック比率が特異的に低下する結果とは異なり、培地中に添加したNa-AlgのGブロック含有率とは無関係に48時間目には培地中のほとんどのNa-Algが分解されていた。これらの結果は、嫌氣的条件においてのみみられ、レザズリンの着色した培養液においてはNa-Algの分解が認められなかった。

考 察

筆者らは、ラットを用いた動物実験でH-Algを摂取

Fig. 5. Availability of alginic acid by intestinal bacteria.

Figure shows the results of availability of alginic acid in a mixed culture of intestinal bacteria isolated from feces in human. The culture medium used diluted solution. Symbols: ●, growth of bacteria; ○, the amount of alginic acid in medium.

した試験群において糞中排泄 Na 量が、消化管内に存在すると思われる他のミネラルの影響を受けることなく有意に増大し、糞中排泄 Alg 量が増大するほど糞中排泄 Na 量が増加することを確認した。また摂取した H-Alg の一部はラット腸内細菌により分解され、糞中 Alg 排泄量が低減することを示唆した。さらに摂取した H-Alg の一次構造がラット腸内細菌による Alg の分解に影響を与え、糞中 Alg の排泄量の増減に影響することを示した。

今回の実験からヒトの場合においても、H-Alg 摂取に糞便中の Na 濃度を増加させる作用があることを認め、糞便中の Alg 濃度が糞便中排泄 Na 濃度に影響することを明らかにした。また、ヒト消化管内の Na 以外のミネラル、K および Mg については、摂取した H-Alg の影響をほとんど受けずほぼ一定量が排泄されていることから、ヒトにおいても摂取した H-Alg は消化管内に存在する Na を特異的に排泄することが示唆された。ただし、Ca については個人的ばらつきが大きく、摂取 H-Alg との関係が明確にすることはできなかったが、摂取した H-Alg の影響はないものと考えられる。これらの結果はラットにおける実験結果ともよく一致していた。

一方、1 日当りの排泄量でみてみると Na 同様、K においても糞便中 Alg 排泄量に比例して増大していたが、糞便中に排泄された Alg がどの程度ミネラルを吸収しているかという点では、糞便量および糞便中の水分の影響が大きく作用する 1 日当りの排泄量より糞便中の濃度による比較が適切ではないかと考える。したがって、実際には Alg は Na 排泄促進に特異的に作用するものと考えられる。

Alg 排泄量は、Fig. 1 および 2 からわかるように糞便量の影響を受けている可能性があり、Alg の排泄量の低下がラット同様に腸内細菌によるものかどうかについては明確にできなかった。しかし、糞便中に排泄された Alg のブロック構成比は摂取時の H-Alg とは大きく変化しており、腸内細菌により分解を受けていると考えられる。

Alg の腸内細菌による分解については、日高らによって *Bifidobacterium* 14 株、*Lactobacillus* 11 株、*Streptococcus* 4 株、*Eubacterium* 3 株、*Clostridium* 13 株、*Bacteroides* 12 株、*Escherichia coli* 2 株、その他 *Megamonas*, *Mitsuokella* など 72 株について *in vitro* での Na-Alg の資化性が検討されたが、Na-Alg はこれらすべての腸内細菌において資化性が認められていなかった⁴⁾。しかし、本実験において糞便中に排泄された Alg のブロック構成比の変化していることから、ラット同様にヒトの消化管内においても摂取した H-Alg が腸内細菌による分解を受けていると考えられる。しかしながら、*in vitro* で腸内細菌による Na-Alg 分解では、当初予想した M ブロックの特異的分解がみられず、動物実験およびヒト評価実験の結果とは一致しなかった。この点については、この方法では M 鎖を特異的に切断する腸内細菌が得られなかったのか、あるいは *in vitro* と *in vivo* での腸内細菌の作用の違いがあるのか、いずれにしろ、いまのところ理由が明確でないで、今後の検討に期待したい。

以上述べたように H-Alg の糞便中への Na 排泄促進効果は明らかとなったものの、消化管内での Alg 分解がヒト腸内細菌によるものかどうかについてはいまのところ明確にはなっていない。しかし、摂取した H-Alg のブロック構成比が糞便中に排泄された時点で大きく変化していたことからヒト腸内細菌がなんらかの影響をしているのではないと思われる。

要 約

摂取アルギン酸 (H-Alg) のヒトにおける糞便中 Na 排泄促進作用について検討した。その結果、次の点が明らかとなった。

1) 糞便中に排泄された Alg は、ほぼ一定量の Na を吸着し、糞便中 Na 排泄量に影響を及ぼすことが明らかとなった。

2) いずれの被験者においても糞便中に排泄されたミネラル、K および Mg は、糞便中 Alg 濃度とは関係なく、ほぼ一定量排泄されていることがわかった。糞便中 Ca 濃度は、個人的ばらつきが大きく糞便中 Alg 濃度との相関性は明らかにはならなかった。

3) 糞便中に排泄された Alg のブロック構成比は摂取

時に比較して大きく変化しており，腸内細菌による分解が示唆された。

稿を終えるにあたり，論文作成にご助言いただきました理化学研究所水谷武夫先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 辻 啓介，辻 悦子，中川靖枝，鈴木慎次郎：家政誌，**39**，187 (1988)
- 2) 伊東基彦，西出英一，辻 啓介，市川富夫，河村雅子，中川靖枝：日本栄養・食糧学会講演要旨集，114 (1986)
- 3) 木村哲寛，高橋恵子，上田善継，小比賀秀樹，小林良生，辻 啓介：農化，**67**，1177 (1993)
- 4) 日高秀昌，原 哲郎，柴田利章，岡田 淳，島田肇，光岡知足：腸内フローラと食物因子（光岡知足編），39 (1984)，学会出版センター（東京）
- 5) 厚生省環境衛生局食品化学課：食品添加物分析法，531 (1986)，講談社（東京）
- 6) Haug, A., Larsen, B. and Smidsrod, O.: *Acta Chem. Scand.*, **20**, 183 (1966)
- 7) Haug, A., Larson, B. and Smidsrod, O.: *Carbohydr. Res.*, **32**, 217 (1974)
- 8) 光岡知足：腸内菌の世界，52 (1984)，叢文社（東京）

(1992年11月30日受理)