研究ノート

卵巣摘出ラットの骨代謝に及ぼす ながこんぶ (*Laminaria angustata* var. *longissima* Miyabe) と沖縄豆腐の影響

上原めぐみ*, 田仲真理**, 知念 功*

本郷富士弥*, 尚 弘子***

* 琉球大学農学部生物資源科学科

** 沖縄県立北部農林高等学校

*** 放送大学沖縄地域学習センター

Effects of Nagakonbu (*Laminaria angustata*
var. *longissima* Miyabe) and Okinawa-
Tofu on Bone Metabolism of
Ovariectomized Rats

Megumi UEHARA, Mari TANAKA,
Isao CHINEN, Fujiya HONGO
and Hiroko SHO

* Department of Bioscience and Biotechnology,
Faculty of Agriculture, University of the
Ryukyus, Nishihara-cho, Nakagami-gun,
Okinawa 903-01

** Hokubu Agricultural Senior High School,
Nago 905-01

*** The University of the Air Okinawa Regional
Study Center, Nishihara-cho, Nakagami-gun,
Okinawa 903-01

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (J. Jpn.
Soc. Nutr. Food Sci.) 49, 52~56 (1996)

Nagakonbu (*Laminaria angustata* var. *longissima* Miyabe) and Okinawa-tofu are frequently consumed by aged persons in Okinawa. In this study the effects of Nagakonbu and Okinawa-tofu on bone metabolism in ovariectomized rat were examined. Six-week-old Wistar-strain female rats were divided into ovariectomized and sham-treated groups. Thereafter a control group was fed a "CaCO₃ diet" (0.2% Ca, 0.15% P) and the experimental groups were fed either the "Nagakonbu diet" (0.2% Ca, 0.1% P), or the "Okinawa-tofu diet" (0.2% Ca, 0.2% P) *ad libitum* for

35 days. The calcium absorption of the ovariectomized rats fed the Okinawa-tofu diet was significantly lower than that of rats fed the CaCO₃ or Nagakonbu diets. On the other hand, the calcium content of the left femurs of ovariectomized rats fed the Nagakonbu or Okinawa-tofu diets was significantly higher than those of rats fed the CaCO₃ diet. In addition, greater strength, stiffness and toughness (mechanical properties) of the femurs was also observed in Nagakonbu diet-fed rats. These results suggest that Nagakonbu and Okinawa-tofu may be suitable as a source of dietary calcium.

Key Words Nagakonbu, Okinawa-tofu, ovariectomized rat, bone metabolism, mechanical properties.

(Received July 7, 1995)

沖縄県は百歳長寿者、長寿の確率および平均寿命等の指標で長寿日本一である¹⁾²⁾。その要因として地理的環境による比較研究や食生活、県民性等についての検討がなされてきた²⁾³⁾。一方、高齢化とともに骨粗鬆症患者の急増が問題となり⁴⁾、乳清カルシウム (Ca) や牛骨粉末、スパイニーロブスター殻粉末、卵殻 Ca 等を試料とした数多くの研究がなされている^{5)~11)}。沖縄県においてこんぶの消費量が全国平均の1.7倍、豆腐が2.2倍と全国一位である¹²⁾ことに着目し、本実験では「ながこんぶ (*Laminaria angustata* var. *longissima* Miyabe)」と沖縄豆腐について、それらが卵巣摘出ラットの骨代謝に及ぼす影響を検討した。

実験方法

1. 実験動物および飼育条件

実験動物は6週齢で初体重が約200gのWistar系雌ラットを、5日間固形飼料を与えた後、卵巣摘出手術 (OVX) と偽手術 (Sham) を行った。手術後1週間固形飼料で飼育した後に、コントロール、ながこんぶ (コンブ)、沖縄豆腐 (トウフ) 食のOVX (各6匹) と Sham (各5匹) の6群に分け、35日間飼育を行った。飼料組成を Table 1 に示した。コントロール食には炭酸 Ca を0.5%添加し、コンブ食は風乾粉末にしたながこんぶを5%、トウフ食は凍結乾燥粉末にした沖縄豆腐を20%添加し、炭酸 Ca を加えて Ca 量がほぼ0.2%になるようにした。なお試料に供したながこんぶおよび沖縄豆腐の成分分析値を Table 2 に示した。飼料および水は自由摂取とし、平均温度24°C、平均湿度70%の環境で個別ケージによる飼育を行った。

* 〒903-01 沖縄県中頭郡西原町字千原 1

** 〒905-01 名護市字茂佐 1

*** 〒903-01 沖縄県中頭郡西原町字千原 1

Table 1. Composition of the experimental diets.

(%)

Compound	Control	Konbu	Tofu
	(Ca : P=0.2% : 0.15%)	0.2% : 0.1%	0.2% : 0.2%)
Casein	20	20	20
Corn oil	10	10	10
Vitamin mixture ¹	1	1	1
Ca- and P-free mineral mixture ²	2.75	3.375	3.375
CaCO ₃	0.5	0.25	0.25
Equimolar mixture of KH ₂ PO ₄ and K ₂ HPO ₄	0.75	0.375	0.375
Nagakonbu (Konbu)	—	5	—
Okinawa-tofu (Tofu)	—	—	20
Cellulose	4	4	4
α -Corn starch	61	56	41

¹ Vitamin mixture, (in mg) : retinol acetate : 100.0, cholecalciferol : 0.25, tocopherol acetate : 500.0, menadione : 520.0, thiamine-HCl : 120.0, riboflavin : 400.0, pyridoxine-HCl : 80.0, cyanocobalamin : 0.05, L-ascorbic acid : 3,000.0, D-biotin : 2.0, folic acid : 20.0, calcium pantothenate : 500.0, *p*-aminobenzoic acid : 500.0, nicotinamide : 600.0, inositol : 600.0, choline chloride : 20,000.0, cellulose powder : 73,057.7. ² Ca- and P-free mineral mixture, (in %) : K₂SO₄ : 16.42, NaCl : 9.2, Fe-citrate : 3.18, MgSO₄ : 7.17, ZnCO₃ : 0.11, MnSO₄·4~6H₂O : 0.12, CuSO₄·5H₂O : 0.03, KI : 0.01, cellulose powder : 63.76.

Table 2. Components of test substances.

	Moiture (%)	Crude protein (%)	Ca	Na	K	Zn	Fe	Mg
			(mg%)					
Nagakonbu	11	8.2	1,600	1,033	1,603	2.27	8.13	26.6
Okinawa-tofu	7.2	46.4	298	1,058	677	4.64	3.45	12.8

2. 血清生化学検査

飼育実験終了後、ラットを12時間絶食させた後、断頭採血を行い、血清を分離した。その後、CaおよびPは、それぞれ和光純薬工業㈱のカルシウムC-テストワコー、P-テストワコーを用いて測定した。

3. 破断特性試験

解剖時に摘出し軟部組織を除去した大腿骨で破断特性試験を行った。Pengら¹³⁾¹⁴⁾の方法と同様に万能試験機(インストロン型圧縮試験機、東洋ボールドウィン製TM-3)とトランジスタ式自動平衡記録計を用いて、Fig. 1に示すように大腿骨を固定した。なお破断特性試験の内容はFig. 2に示すようにStrength, Ductility, Stiffness, Toughnessの4項目の測定を行った¹³⁾¹⁵⁾。

4. 大腿骨CaおよびP含量の測定

左大腿骨の破断特性試験を行った後、電気炉内で550°C、48時間灰化させた。Caはユニシールで硝酸分解し、原子吸光法(島津原子吸光分光光度計AA-660)で、Pはバナドモリブデン酸吸光光度法で測定を行った。

5. 尿および糞中Ca排泄量

尿および糞は飼育実験開始から5週間目に24時間尿と3日間の糞をすべて採取した。糞は個体別に湿重量と凍結乾燥後の乾燥重量を精秤した。尿は血清Ca、糞は大腿骨Ca含量と同様に測定を行った。

6. 統計処理

一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合についてDuncanのmultiple range testを用いて平均値間差の検定を行った。

結 果

1. 体重増加量と飼料およびCa摂取量

体重増加量、飼料、Ca摂取量および飼料効率をTable 3に示した。体重増加量はコンプ食群間では有意な差($p < 0.01$)がみられ、コントロール食およびコンプ食OVX群はトウフ食OVX群より有意($p < 0.05$, $p < 0.01$)に高値を示した。飼料摂取量ではコンプ食OVX群が最も高く、トウフ食OVX群間で有意差が認められた($p < 0.01$)。トウフ食群はコントロール食群より低く、有意差がみられた($p < 0.01$, $p < 0.05$)。Ca摂取量においては、トウフ食群は最も低値を示し、コントロールおよびコンプ食群との間にそれぞれ有意差($p < 0.01$)が認められ、さらにコントロール食Sham群とコンプ食Sham群間で有意な差($p < 0.05$)がみられた。飼料効率はコンプ食群のOVXが同Sham群より有意($p < 0.01$)に高く、コンプ食OVX群ではトウフ食OVX群より有意($p < 0.01$)に高値を示した。

Fig. 1. Schematic illustration of the three-point bending apparatus.

The drawing shows the position of the bone on top of the metal supports and the striker as it touches the midshaft of the femur. The comb (c), which is formed by two stainless steel rods, is used to align the bone in the plane of the paper. Condition: Load 40 kg, Plunger speed 10 mm/min, Chart speed 30 mm/min.

2. 糞重量および糞中 Ca 排泄量

糞重量および糞中 Ca 排泄量を Table 4 に示した。糞重量はコンブ食群が最も高い値を示し、コンブ食がコントロールおよびトウフ食との間に有意 ($p < 0.01$) な差を示した。糞中 Ca 排泄量は Sham 群間においてコントロール食がコンブ食およびトウフ食群より有意に ($p < 0.05$) 低値を示した。

3. 見かけの Ca 吸収率および保留率

見かけの Ca 吸収率および保留率を Table 5 に示し

Fig. 2. Representative force-deflection trace obtained during a three-point bending test of a rat femur.

Superposed are the definition of the mechanical properties used throughout this study: "stiffness" (the slope), "strength" (the maximum force), "toughness" (the stippled area), and "ductility" (the maximum deflection).

た。見かけの Ca 吸収率は、コントロール食およびコンブ食群がトウフ食群に対して有意 ($p < 0.01$) に高く、さらにコントロール食 Sham 群は、コンブ食 Sham 群より有意 ($p < 0.01$) に高値を示した。またトウフ食群間では OVX が Sham 群より有意 ($p < 0.05$) に低値を示した。保留率についても吸収率と同様な傾向を示した。

4. 血清 Ca および P 濃度

血清 Ca および P 濃度は、いずれの食群においても、ほぼ同様な値を示し、正常範囲内であった。

5. 大腿骨 Ca 含量および大腿骨破断特性

大腿骨 Ca 含量および大腿骨破断特性を Table 6 に示した。大腿骨 Ca 含量は OVX 群間ではコンブ食および

Table 3. Effect of experimental diets on body weight gain and food intake.

Groups		Body weight		Intake		Food efficiency*
Diet	Treatment	Initial (g)	Gain (g/5 weeks)	Food (g/day)	Ca (mg/day)	
Control	OVX	208 ± 10	107 ± 28 ^{ab}	16.6 ± 1.9 ^a	33.2 ± 3.7 ^a	0.18 ± 0.00 ^{ab}
	Sham	210 ± 15	81 ± 16 ^{bc}	16.0 ± 2.7 ^a	32.0 ± 5.5 ^a	0.15 ± 0.01 ^{bc}
Konbu	OVX	209 ± 5	130 ± 20 ^a	17.5 ± 1.1 ^a	31.4 ± 2.0 ^{ab}	0.21 ± 0.02 ^a
	Sham	208 ± 4	74 ± 17 ^c	15.2 ± 1.1 ^{ab}	27.4 ± 2.1 ^b	0.14 ± 0.03 ^c
Tofu	OVX	208 ± 12	76 ± 34 ^c	13.4 ± 2.0 ^b	21.4 ± 3.2 ^c	0.16 ± 0.05 ^{bc}
	Sham	201 ± 7	63 ± 18 ^c	13.2 ± 1.3 ^b	21.0 ± 2.0 ^c	0.13 ± 0.03 ^c
ANOVA (p value)		0.7714	0.0004	0.0016	<0.0001	0.0019

* Food efficiency: Body weight gain (g/day)/Food intake (g/day). Values (means ± SD) in a column with different superscript letters show significant difference at $p < 0.05$.

Table 4. Fecal excretion of Ca and P.

Groups		Dry weight (g/day)	Ca (mg/day)	P (mg/day)
Diet	Treatment			
Control	OVX	0.94±0.04 ^b	10.9±1.5 ^{ab}	6.1
	Sham	0.99±0.11 ^b	7.9±1.6 ^b	5.4
Konbu	OVX	1.58±0.08 ^a	12.6±1.0 ^a	7.6
	Sham	1.45±0.23 ^a	11.3±1.3 ^a	6.4
Tofu	OVX	0.96±0.07 ^b	13.9±0.8 ^a	6.1
	Sham	0.90±0.02 ^b	12.0±0.2 ^a	6.2
ANOVA (<i>p</i> value)		0.0031	0.0257	

Values (means±SD) in a column with different superscript letters show significant difference at *p*<0.05.

Table 5. Ca absorption and retention rate.

Groups		Absorption rate* (%)	Retention rate** (%)
Diet	Treatment		
Control	OVX	67.2±2.66 ^a	66.1±2.66 ^{ab}
	Sham	75.2±4.77 ^a	74.1±5.06 ^a
Konbu	OVX	60.0±1.95 ^{ab}	58.2±2.16 ^b
	Sham	58.8±4.88 ^b	57.6±5.17 ^b
Tofu	OVX	35.0±1.70 ^d	33.3±1.42 ^d
	Sham	43.4±2.70 ^c	41.9±2.28 ^c
ANOVA (<i>p</i> value)		0.0002	0.0002

* Absorption rate : [(Ca intake (mg/day) - fecal excretion (mg/day)) / Ca intake (mg/day)] × 100.

** Retention rate : [(Ca intake (mg/day) - (fecal + urine excretion) (mg/day)) / Ca intake (mg/day)] × 100. Values (means±SD) in a column with different superscript letters show significant difference at *p*<0.05.

トウフ食がコントロール食群より有意 (*p*<0.01) に高値を示し、Sham 群間においても同様の結果が認められた。またいずれの食群においても OVX が Sham 群より高値を示す傾向があり、コントロール食およびコンブ食間で有意差 (*p*<0.01, *p*<0.05) が認められた。破断特性の Strength において、コンブ食で OVX 群は最も高い

値を示し、同 Sham 群より有意 (*p*<0.01) に高値を示した。OVX 群間においてコンブ食はトウフ食より有意 (*p*<0.05) に高値を示し、Sham 群間ではコントロール食がコンブ食より有意 (*p*<0.05) に高値を示した。

考 察

近年、長寿県沖縄の食文化が注目され、中でも「医食同源」の思想は特徴的である¹⁸⁾。沖縄の食文化を構成する四大食材とされる豚、豆腐、海藻、野菜・薬草の中にあるながこんぶおよび沖縄豆腐はともに全国一の消費量となっている¹⁷⁾¹⁸⁾。そこで「ながこんぶ」と「沖縄豆腐」を試料に、卵巣摘出ラットの大腿骨 Ca 含量および破断特性など骨代謝に及ぼす効果について検討を行った。

いずれの食群でも OVX 群が Sham 群より体重増加量および飼料摂取量で高値を示したことはエストロゲンの分泌が著しく低下したことによると考えられる^{11)19)~21)}。

コンブ食群は大腿骨の Ca 含量がコントロール食より有意に高く、破断特性試験のうち Strength, Stiffness および Toughness の 3 項目が約 5%、コントロール食群に比較して高い値を示したことは、ながこんぶ中の Ca 利用効果があることを示唆している。破断特性においてコンブ食 OVX 群が最も高い値でありながら、有意差が得

Table 6. Ca content and mechanical properties of left femur.

Groups		Ca content (mg/g of ash femoral bone)	Strength (×10 ⁻³ N)	Ductility (×10 ⁻³ m)	Stiffness (×10 ⁻³ N/m)	Toughness (×10 ⁻³ J)
Diet	Treatment					
Control	OVX	275±11 ^c	110± 6 ^{ab}	5.03±0.46	47.0±0.86	364±47
	Sham	208±12 ^d	112± 8 ^{ab}	5.16±0.68	47.8±0.67	381±65
Konbu	OVX	308±13 ^a	115± 5 ^a	5.01±0.34	49.4±4.04	379±39
	Sham	290± 7 ^b	98± 9 ^c	5.30±0.67	47.2±0.32	351±47
Tofu	OVX	295±11 ^{ab}	103± 5 ^{bc}	4.90±0.85	47.1±0.71	319±52
	Sham	281±14 ^{bc}	104±12 ^{bc}	4.73±0.16	47.8±0.67	332±30
ANOVA (<i>p</i> value)		<0.000	0.0089	0.6944	0.2728	0.1996

Values (means±SD) in a column with different superscript letters show significant difference at *p*<0.05.

られるほどではなかった。これは、閉経後骨粗鬆症の組織レベルにおける特徴の一つである、石灰化時間の遅延²²⁾や飼育期間によるものと思われる。卵巣摘出手術後、低Ca食を投与しなかったことも考慮に入れ、35日という飼育期間をさらに延長することで、骨の物理的な強さやその他の結果で顕著な差がみられたことと推察される。そこで今後は、骨代謝回転速度の異なる、皮質骨と海綿骨の骨密度測定と組織的な検討、あるいは飼育日数の延長が必要であると考えられる。本実験で用いたながこんぶは、琉球料理のなかでもCa供給源としての効果のあることが示唆された。

トウフ食群は飼料、Ca摂取量および見かけのCa吸収率がコントロール食群に対し有意に低値を示したにもかかわらず、大腿骨Ca含量が有意に高くなっており、豆腐中のCaは骨中への利用効率が高いことを示唆している。なお飼料の単位グラム当りのエネルギーの差はなかったが、トウフ食群は他の2群に比べて大豆タンパク質の摂取量が高かったことも関与していると考えられる。これは麻見ら²³⁾の豆乳を骨粗鬆症モデルラットに給与し、骨代謝改善効果を認めた報告とも符節を合わせており、沖縄豆腐が骨代謝に効果的であることを確認した。ながこんぶおよび沖縄豆腐は大腿骨Ca含量を高くすることから、Caの利用を高める作用があることを示した。したがってこれらの食品はCa給源として有効であることが考えられ、消費量が全国一高いことから、骨粗鬆症の予防のためにも摂食を促したい。

要 約

「ながこんぶ」と「沖縄豆腐」が卵巣摘出ラットの骨代謝に及ぼす影響について検討した。

6週齢のWistar系雌ラットに卵巣の手術と偽手術を行った後、コントロール、ながこんぶ、沖縄豆腐食のOVXとSham群にそれぞれ分け35日間飼育を行った。

1) ながこんぶおよび沖縄豆腐食群はコントロール食群に比べて大腿骨Ca含量が有意に高値を示した。

2) ながこんぶ食群は破断特性試験の、Strength, Stiffness, Toughnessにおいてコントロール食群より高値を示した。

以上の結果より、ながこんぶおよび沖縄豆腐はCa供給源としての有効性が示唆された。

終わりに卵巣摘出手術においてご指導くださった琉球大学医学部整形外科の上里智美先生、吉川朝昭先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 食料栄養調査会(編): 1991年版 食料・栄養・健康, 5-180 (1991), 医歯薬出版(東京)
- 2) 沖縄県社会福祉協議会(編): 長寿県おきなわ, 21-67 (1983), 沖縄県社会福祉協議会(沖縄)
- 3) 鈴木 信: 百歳の科学, 18-31 (1987), 新潮社(東京)
- 4) 串田一博: 整・災外, 33, 1221 (1990)
- 5) 五十嵐千恵, 江澤郁子, 尾形悦郎: 栄食誌, 43, 437 (1990)
- 6) 江澤郁子, 荒井富佐子: 家政誌, 34, 555 (1983)
- 7) 岡野登志夫, 津川尚子, 東野雷太, 小林 正, 五十嵐千恵, 江澤郁子: 栄食誌, 44, 479 (1991)
- 8) Omi, N., Morikawa, N. and Ezawa, I.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 38, 555 (1992)
- 9) 菊地武夫, 藤井祐二, 福永仁夫: 栄食誌, 47, 11 (1994)
- 10) 森川尚美, 麻見直美, 星名 綾, 五十嵐千恵, 江澤郁子: 第45回日本栄養・食糧学会講演要旨集, 87 (1991)
- 11) 望月 聡, 正井裕之, 江澤郁子: 家政誌, 37, 833 (1986)
- 12) 総務庁統計局(編): 家計調査年報 平成3年, 288, 307 (1992), 日本統計協会(東京)
- 13) Peng, T.C., Kusy, R.P., Garner, S.C., Hirsch, P.F. and De Blanco, M.C.: *J. Bone Miner. Res.*, 2, 249 (1987)
- 14) Peng, T.C., Kusy, R.P., Garner, S.C. and Hirsch, P.F.: *J. Bone Miner. Res.*, 1, 80 (1986)
- 15) 西村典久: バイオメカニクスよりみた整形外科(島津晃, 浅田亮爾(編)), 131 (1993), 金原出版(東京)
- 16) 尚 弘子: 南の島の栄養学, 11-54 (1988) 沖縄出版(沖縄)
- 17) 尚 弘子(編): 聞き書 沖縄の食事, 329-330 (1988), 農山漁村文化協会(東京)
- 18) 新島正子: 琉球料理, 75-156 (1973), 文教図書(沖縄)
- 19) Smith, Q.T. and Allison, D.J.: *Endocrinology*, 79, 486 (1966)
- 20) 梅原千治, 佐藤武雄: ステロイドホルモン III, 407 (1972), 南江堂(東京)
- 21) Glasser, S.R.: *Am. J. Physiol.*, 179, 421 (1954)
- 22) 奥村秀夫: 整形外科, 43, 1051 (1992)
- 23) 麻見直美, 葵 守一, 村田克己, 江澤郁子: 家政誌, 44, 549 (1993)

(1995年7月7日受理)