

## 論文の内容の要旨および論文審査の結果の要旨

学位申請者氏名：笠原 文善

学位の種類：博士（薬学）

学位記番号：博（薬）乙第五号

学位授与年月日：令和3年3月3日

### 審査委員

主査 高崎健康福祉大学大学院薬学研究科教授 松岡 功



副査 高崎健康福祉大学大学院薬学研究科教授 吉田 真



副査 高崎健康福祉大学大学院薬学研究科教授 福地 守



### 論文題目

アルギン酸カルシウムの食品成分としての機能性に関する研究

Study on the functionality of calcium alginate as a food ingredient

### 【論文の内容の要旨】

アルギン酸 (Alg) は、褐藻類由来の多糖類であり、アルギン酸ナトリウム (Na-Alg) は、食品の増粘剤、ゲル化剤、安定剤などとして一般的に広く利用されている。また、体重増加の抑制や血中コレステロール濃度の低下を謳った特定保健用食品として用いられている。さらに、Na-Alg は胃粘膜保護作用を持ち、防御因子増強薬として胃潰瘍の治療薬にもなっている。ナトリウムは、食塩制限に見られるように高血圧症や循環器系疾患のリスク因子でもあり、過剰摂取が問題視されている。一方で、カルシウムは、摂取不足により骨密度の低下をはじめとするさまざまな健康障害が懸念されるミネラルである。また、Na-Alg は水溶性で粘性が高く、服用時の不快感（糊っぽさ）から高用量での服用が難しく、しばしば加水分解による低分子化（低粘度化）処理を施して使用されている。一方、アルギン酸カルシウム (Ca-Alg) は水に不溶性で、固形のため粉末化により加工がしやすく高分子量のまま服用が可能である。もし Ca-Alg に Na-Alg と同等、もしくはそれ以上の効果があれば、機能性食品として大きな利点がある。このような背景で、本研究では、ラットを用いて Ca-Alg の食品成分としての機能性、特に脂質異常症と放射線被ばくに対する有用性に焦点を当て検討している。

論文は、第1章「諸言」、第2章「ラットにおけるアルギン酸カルシウムによる血中トリグリセリドレベルの低下作用と肝臓および全身への脂肪蓄積低減効果」、第3章「ラットにおけるアルギン酸カルシウムのコレステロール低下作用」、第4章「ラットにおけるアルギン酸カルシウムのストロンチウム (Sr)、セシウム (Cs) 吸収抑制効果と排泄促進効果」および第5章「総括」からなる。

第1章では Alg の分子構造とその性質、Alg 塩の物理的、化学的性質が概説され、現在主

に利用されているナトリウム塩より機能性が良く知られていないカルシウム塩の有用性について述べられている。

第2章では、Ca-Algの血中トリグリセリド(TG)と体脂肪蓄積に及ぼす作用についての実験結果に基づき構成されている。高脂肪食を5週間与えたラットにおいて、10%のCa-Algを含有する飼料を与えた群では血中トリグリセリド(TG)濃度の上昇が有意に抑制され、体脂肪の蓄積量も減少することが示された。その効果は、既にTG排泄、体脂肪減少効果が報告される難消化性デキストリンの作用を上回っていた。メカニズムとしては、Algはリパーゼを直接阻害する作用はなく、AlgがTGを含む高分子ミセルを形成し安定化することによりTGの吸収を抑制し、さらにリパーゼによる分解からTGを保護する可能性が考察されている。

第3章は、血中コレステロール濃度に及ぼすCa-Algの作用をコレステミドと比較検討した結果で構成されている。高コレステロール食を2週間与えたラットの血中コレステロール濃度の上昇は、Ca-Alg投与により有意に抑制された。その効果の程度は、2% Ca-Alg投与群では高コレステロール血症治療薬であるコレステミド0.5%投与群と同等レベルであった。メカニズムとしてはイオン交換能を持つCa-Algが腸管内の胆汁酸と結合し、これを糞中に排泄することで腸管からの胆汁酸の再吸収が阻害され、その結果、肝臓でのコレステロールを原料とする胆汁酸合成が促進されることで血中コレステロール濃度の低下につながったと考察されている。実際、胆汁酸吸着能力を調べるためにNa-Algを使用した試験管内の試験結果から、Algの胆汁酸吸着能力は、低分子量より高分子量が大きく、Algを構成する2種のウロン酸の比率ではグルロン酸を多く含む方が高いことが判明した。

第4章はストロンチウム(Sr)、セシウム(Cs)の吸収抑制と排泄促進効果をNa-AlgとCa-Algで比較した結果で構成されている。Na-AlgにはSrの吸収排泄促進作用が知られているが、Csに対する作用は不明で、Ca-Algの作用については調べられていなかった。Na-Algを用いた試験管内での実験では、CsもSrもNa-Algに結合する結果が得られているが、ラットに投与した実験では、Ca-AlgがCsとSrに対してともに吸収抑制作用を示したのに対して、Na-AlgはSrの吸収抑制作用が認められるものの、Csの吸収抑制は認められなかった。Ca-AlgもNa-Algも共に胃内の酸性下では遊離酸となっていると考えられるが、分子の高次構造が完全に同じになっていない可能性があり、この違いが吸着能の差に表れるのではないかと考察されている。

第5章の総括では、本研究で、Ca-Algは脂肪、コレステロールおよび有害な放射性同位体の吸収について、現在多く使用されているNa-Algと同等か、それ以上の有用性を持ち、安全性も問題ないことを示すことができたとし、Ca-Algは不溶性で物質特有の粘性も問題にならず、Na-Algで危惧されるナトリウム過剰摂取を回避し、逆に不足しがちなCaを補充できるという点で食品添加物として有用であると結論付けている。

【論文審査の結果の要旨】

論文の審査は、主査と副査2名による予備審査と公開発表の場における最終試験により行われた。

予備審査ではあらかじめ提出された論文に基づき、その全ての図表と追加資料に基づくプレゼンテーションが行われ、論文全体の構成、緒言に関して、表現法の不足、修正等の指摘、さらに章ごとに問題点の指摘、質疑応答が行われた。審査にあたって、最初に約30分間のプレゼンテーションを行った。続いて、実験結果に対する疑問点が議論され、Ca-Algの効果を評価しているのに *in vitro* の実験で Na-Alg を使用している矛盾点や、実験に使用した動物の週令を決定した背景、比較対象としている化合物の効果が十分に見られておらず、適切な条件であったか、コレステロール低下の作用機序の考え方になどついて議論された。また、固形の Ca-Alg の消化管内での振る舞いが明確にされていなかった点と第4章以外の実験では Na-Alg を比較対象に置いていなかった点が指摘された。総評として、論文全体にわたり、改善すべき点、加筆修正すべき点が指摘され、各章の中に論文発表された内容を全て盛り込むのではなく、特に安全性のような重複する部分は統合して構成しなおすことが勧められた。論文そのものは全体的にまとまっており、本研究の意義と応用性は、特に Ca-Alg の効能を示す内容は今後の応用に役立つことから、適切な改善がなされれば、本論文は博士の学位申請論文として、受理できると結論された。

この予備審査における指摘事項に関する論文の加筆修正後に行われた最終試験では、論文の主要な部位についての公開プレゼンテーションが行われ、その後に質疑応答が実施された。この質疑応答の中では、Na-Alg で知られている機能を、Ca-Alg で確認しただけなのか、特有用があるのかが議論され、消化管内では Na-Alg も Ca-Alg も Alg の遊離酸となり、類似した化学的性質を示すが、Ca-Alg が持つ特徴的なエッグボックス構造は残存し、Na-Alg とは異なる高次構造を持つことが機能の差、特に Cs 吸着能の差に表れる可能性が提示された。一方で、この点は各章で作用機序を解析した試験管内の実験に Na-Alg が用いられていて、これに基づき考察を行う問題点が指摘された。また、トリグリセリドとミセルを形成し安定化させるという実験では、ミセルの定義について議論された。さらに、Alg が消化管内で様々な物質と相互作用するのであれば、有用なビタミンやミネラルの吸収を阻害する問題について議論された。以上、機序を含め詳細な機能性については更なる研究が必要であるが、今後応用が拡大しそうな Ca-Alg の効能を示す内容は、新規性より有用性を示す貴重な知見であると考えられた。

以上により、論文審査および最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が博士(薬学)の学位に値するものであると判断した。

#### 【学力の確認の結果の要旨】

本論文の審査を通して学位申請者の学力の確認を行ったところ、博士としての学識を有していることが確認できた。また、外国語については本論文中に英語文献を適切に引用しており、自ら英文で論文および総説を執筆しており語学力は十分であると考えられた。

以上により、本学位申請者は博士課程を修了した者と同等の学力を有すると判断した。