

2002年12月20日

人間科学研究科委員長 殿

楊 筑雅氏 博士学位申請論文審査報告書

楊 筑雅氏の学位申請論文を下記の審査委員会は、人間科学研究科の委嘱をうけ審査をしてきましたが、2002年12月13日に審査を終了しましたので、ここにその結果をご報告します。

記

1. 申請者氏名：楊 筑雅
2. 論文題目：食物繊維キトサンの長期摂取が引き起こす  
卵巣摘出ラットの骨量減少
3. 本文：別紙に記載

楊 筑雅 (大学院人間科学研究科健康科学専攻)

「食物繊維キトサンの長期摂取が引き起こす卵巣摘出ラットの骨量減少」

## 1. 本論文の主旨

キトサンは、カニなどの甲殻に含まれるキチン質の脱アセチル産物で数少ないカチオン性食物繊維であり、消化管腔内でイオン交換或いはゲル化によりコレステロールや脂肪の腸管吸収を阻害して血清脂質及び体脂肪の増加を抑制するので、肥満防止や血清コレステロール上昇抑制に有効な特定保健用食品の素材として厚生労働省から認可され、多様な市販食品に添加されて広く一般に利用されている。その一方で、キトサンはキレート作用などによりカルシウムの腸管吸収を阻害するとの報告も出されており、カルシウムの慢性的摂取不足や閉経に伴う骨吸収の亢進時には骨量減少を引き起こす可能性も指摘されている。しかし、キトサンがカルシウムの腸管吸収を阻害するか否かについては専門家の意見が分かれ、また肥満防止を目的としてキトサンを日常的に摂取した場合、利用者の骨量にどのような影響を及ぼすかについては殆ど検討されていない。本学位論文は、長期にわたる食物繊維キトサンの習慣的摂取が 1)他の食物繊維に比べて血清コレステロール及び体脂肪の増加をより強く抑制するか、2)骨量減少を実際に引き起こすのか、3)食事カルシウムの腸管吸収を低下させ、その結果骨代謝の平衡が崩れて骨量減少に導くのか、4)体内カルシウム代謝調節機能と腸管のカルシウム吸収能にどのような修飾を与えるか等の課題を検証するとともに、キトサン摂取による骨量への悪影響を防ぐ栄養条件を見出す目的で卵巣摘出 SHRSP ラットを実験モデルとして実施した一連の研究成果を纏めたものである。

## 2. 本論文の概要

第1章は、食物繊維の消化管腔内における挙動と共存物質に対する物理化学的な作用や腸管吸収に及ぼす影響、物質代謝の変動と疾病予防効果の関連等について先行研究の成果を簡潔に纏めている。その中で、キトサンがカルシウムの吸収阻害に働く可能性を指摘し、研究例の殆どない閉経女性の骨にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることの必要性を強調している。

第2章では、性状が異なるセルロース、グルコマンナン、キトサンの3種類の食物繊維について血清コレステロール低下作用、体脂肪蓄積抑制作用及び骨量に対する影響を比較した実験結果が述べられている。実験に際しては、卵巣摘出 SHRSP ラットに食物繊維を含まない低カルシウム基本食ないしは被験食物繊維のいずれかを10%添加した基本食の一つを自由摂取させて45日間飼育した後、所定の測定を行っている。その結果、キトサンは基本食及びセルロース投与時に比べて血清コレステロール値と体脂肪量を有意に減少させ、グルコマンナンの効果を上回る強い脂質代謝改善作用を示すことが実証された。また、キトサン投与に伴いセルロース投与では発現しない骨量減少が認められたが、中でもカルシウムを主体とするミネラル部分への影響が大きいことから、キトサンがカルシウムの腸管吸収に阻害的に働いて体液カルシウム濃度の低下を招き、骨から血中へのカルシウム動員が慢性的に高まって骨量の減少を招いたと推定している。

第3章ではキトサン摂取に伴う骨量減少について、その生理機序を解明するために実施した一連の実験の結果が述べられている。まず、キトサンが食物繊維としての特性から食餌カルシウムの腸管吸収を阻害することが骨量減少の契機になるとする第2章の仮説を実証する目的で、卵巣摘出ラットにキトサン10%添加食または対照のセルロース10%添加食を与えて42日間飼育した後、糞と尿を分離採取してミネラル成分の出納を調べ、同時に骨代謝への影響を査定するために尿中及び血清の骨吸収マーカーの測定を行っている。そして、キトサン投与による糞中カルシウムの排泄増は認められず、一方で尿中カルシウムの排泄が高まることが示され、キトサン摂取に伴う骨量減少の一次的原因は専門研究者の通念を覆す内因性カルシウムの体外排泄が増加することにあるとの予想外の結果が得られた。キトサン摂取時の骨代謝は、生化学的マーカーの量的変動から骨形成が抑制される一方で骨吸収の亢進状態にあることが確かめられ、骨から血中へのカルシウム動員が高まっていることを示した。キトサン摂取により内因性カルシウムの尿中排泄と骨吸収が増大することが判明したので、次にキトサン投与時の血中カルシウム濃度の調節系と小腸のカルシウム輸送担系に及ぼす影響を調べるために卵巣摘出ラットを同様の条件で飼育した後、血中のカルシウム調節ホルモン量及び小腸カルシウム結合タンパク質とビタミンDレセプターの合成に係わるmRNA量の測定を試みている。その結果、キトサン投与により骨吸収を刺激する副甲状腺ホルモン及び骨吸収とカルシウムの腸管吸収とともに増加させる活性型ビタミンDの血中濃度が著しく高まり、同時に小腸からのカルシウム吸収機能も増大することが示された。キトサン摂取による骨量減少が引き起こされる契機はキトサンが尿中へのカルシウム排泄を高めることにあるが、高分子のキトサンがそのまま体内に吸収されてカルシウム排泄を促すとは考え難く、キトサンの腸内細菌による発酵産物或いはカルシウムとともに骨塩を形成し、キトサンにより腸管吸収が阻害されるリンなどがその候補としてあげられる。そこで、リン含有量の低い実験食で飼育したラットの尿中カルシウム排泄量を測定したところ標準食ラットに比べて尿中カルシウムの排泄が有意に増加することが確認された。一方、キトサン摂取ラットについて体内代謝に影響を与える発酵産物を同定したところ、セルロース食ラットより有機酸総量、酢酸及びプロピオン酸量の増加が認められたが種類は変わらず、体内に吸収されたこれらの脂肪酸がカルシウムの尿中排泄を増大させる可能性は低いことが確認された。

第4章では、キトサン摂取に伴う骨量減少を防ぐ食事要因としてカルシウムの体内保留を増加させる成分が効果的と考え、カルシウム若しくはビタミンCをサプリメントとして与えた場合の骨量減少抑制作用を検討している。即ち、第2章の実験で用いたキトサン食にカルシウムを1%になるように補足した食餌及びビタミンCを0.15%添加した食餌を与えて42日間飼育した後、骨試料を採取して骨量の測定を行っている。ビタミンCの補足はキトサンによる尿中へのカルシウム排泄増加を有意に抑制したが、骨吸収の増大を軽減できず骨量減少を防ぐ効果は椎骨にみられるに留まった。一方、カルシウムの多量投与は体内カルシウム保留量が他の食餌群に比べて5倍以上増加し同時に骨吸収も正常になり、骨量と骨強度に関連するすべての測定値はキトサン無添加対照群の値と差異が認められなくなった。

第5章は総合考察にあて、第2、3、4の各章に記した実験結果を先行研究の例と比較検討し、その妥当性について論証している。また、本研究で新たに見出した成果として、食物繊維キトサンの習慣的摂取が骨量の減少を引き起こす可能性があること、キトサンには食餌カルシウムの腸管吸収を阻害する作用は測定値からはみられずリンの吸収を抑制することが骨量減少の直接

原因になること、キトサン摂取に伴い骨吸収を刺激する体内カルシウム調節ホルモン系の分泌が高まり骨吸収、即ち骨から血中へのカルシウム動員が亢進すること、キトサンの長期摂取はカルシウムの能動吸収に与かる小腸組織の活性型ビタミンD受容体及びカルシウム輸送担体の合成能を高めることなどをあげている。更に、これらの実験成績を整理統合してキトサン摂取に伴う骨量減少の生理的機序を、キトサンがリンの腸管吸収を阻害することにより体液中の可溶性リン濃度の低下を招き、それが骨吸収刺激ホルモンの分泌を高めて骨から血中へのリンとカルシウムの動員を促がし、その結果相対的に過剰になったカルシウムが尿中に排泄されてカルシウム不足状態に陥り骨吸収が再度刺激される連鎖的応答よるとしている。また、キトサンが体脂肪の増加や血中コレステロール上昇を抑制する目的で骨量減少が高まる中高年女性に多用されている現実から、骨粗鬆症を防ぐためにはキトサン摂取とともにカルシウムやビタミンCの摂取を増やす必要があると述べている。

### 3. 本論文の評価

体脂肪の増加を防ぐ特定保健用食品の有効成分として公的に認められているキトサンは、食事或いは内因性脂質の腸管吸収阻害という非特異的な作用により体脂肪や血中コレステロールの増加を抑制する。この事実から楊筑雅氏は、キトサンが栄養素一般の腸管吸収を抑制し栄養障害を起こす可能性のあることを意味すると理解し文献を幅広く調べた結果、カルシウムの腸管吸収を抑えてその生体利用性を低下させるとの報告が幾つか出されていることを知った。しかし、一方ではそれに否定的な論文もあり、カルシウムの摂取が不足気味なアジアの食生活を考える時解決を要する課題であるとの認識をもち、大学院における研究課題として取り上げるに至った。但し、キトサンのカルシウムの腸管吸収に対する作用を検討する際、先行研究で使われる再現性の少ないRI法や出納法を踏襲するのではなく新たな切口が必要と考え、カルシウムの生体利用性低下の帰結と予想される骨量減少をターゲットにするとともに、カルシウム不足の影響が骨に表われ易い実験条件を設定するために、実験動物として自然発生的に骨吸収が盛んになり更年期女性のモデルにもなる卵巣摘出SHRSPラットを使用し、また実験食のカルシウム添加量も必要を満たす最小量にした他、飼育期間も骨量に変化が開始する40日以上にするなど独自の手法を開発して実験を進めた。その結果、キトサンの長期摂取は骨量減少を引き起こしうること、キトサンによる骨量減少の契機は専門分野の研究者の共通認識に反してカルシウムの腸管吸収の阻害によるのではなく、リンの吸収抑制によること、キトサン摂取によりカルシウム調節ホルモンのうち骨吸収、即ち骨塩の分解を高めて血中へのカルシウムの動員を刺激する副甲状腺ホルモンと活性型ビタミンDの血中濃度が著しく上昇し、並行して骨自体の分解も亢進すること、一方でキトサン摂取を続けると小腸組織の活性型ビタミンD受容体とカルシウムの能動的吸収を行うカルシウム結合担体の合成能が増大することなど、従来殆ど知られていないキトサンに対する生体の生理・生化学的応答を数多く見出し、更にはこれらの実験結果を巧みに統合してキトサンによる骨量減少の生理機序に纏めて仮説とし、問題提起をしている。


以上に述べたように本研究を行うにあたり、候補者は多くの関連文献を渉猟し問題の在り処を的確に捉え、その解決に向けての実験に際しては旧来の手段と手法にとらわれず、最も目的達成に適した方法を独自に開発して用い、今迄に研究対象として殆ど取り上げられていないキトサンによる骨量減少とリン及びカルシウム代謝への影響について数件の新しい知見を得ている。中で

もリンの吸収阻害が骨量を低下させるとの発見は普遍性があり、専門分野の研究者の関心を集めるものと期待される。これらの成果は、博士（人間科学）の学位を授与するに相応しい価値ある業績と認められる。


2002年 12月 20日

審査員

(主査) 早稲田大学教授 医学博士 (東邦大学)

太田富貴雄 

早稲田大学教授 医学博士 (東京医科歯科大学)

加藤 清忠 

早稲田大学教授 保健学博士 (東京大学)

町田 和彦 