

# ラットにおけるホッコクアカエビおよびベニズワイガニの殻の血清コレステロール濃度に対する影響

## Effect of Deep-Water Shrimp and Red Snow Crab Shell on Serum Cholesterol Levels in Rats

竹内弘幸 大森聡 駒澤蓮人 後田紗弥 佃朋紀 濱住博之

TAKEUCHI Hiroyuki OMORI Akira KOMAZAWA Rento GOUDA Saya

TSUKUDA Tomonori HAMAZUMI Hiroyuki

### 【要約】

エビやカニの殻には、キチンが 20～30%含まれている。本研究では、ラットにホッコクアカエビまたはベニズワイガニの殻粉末を添加した高脂肪・コレステロール添加食を 2 週間投与し、血清コレステロール濃度に対する影響を調べた。カニ殻群の血清 LDL-コレステロール濃度は、対照群と比較して有意に低い値を示した。エビ殻群とカニ殻群の LDL-/HDL-コレステロール比（動脈硬化指数）は、対照群と比べて有意に低値を示した。カニ殻群の糞中のコレステロール量は、対照群に比べて有意に高かった。また、エビ殻群およびカニ殻群の糞中胆汁酸量は、対照群に比べて有意に高かった。以上の結果から、ホッコクアカエビおよびベニズワイガニの殻粉末には、ラットにおいて血清コレステロール改善作用のあることが示唆された。また、そのメカニズムとして糞中へのコレステロールおよび胆汁酸の排泄増加が関与していることも示唆された。

**キーワード** 富山湾、動脈硬化、血中コレステロール、キチン、ラット

### 1. はじめに

富山県は、古くから定置網漁業などが盛んであり、新鮮な魚介類が水揚げされることで全国的に有名である<sup>1</sup>。能登半島に囲まれて北東に口を開けたような形をしている富山湾は、日本海の「天然の生簀」とも呼ばれており、豊かな漁場が沿岸に広がっている。深い海が海岸近くまで迫っていること、「藍瓶（あいがめ）」と呼ばれる海底谷があることから、非常に多くの魚種が、富山湾に生息している。富山湾の最深部は、1100～1200m とされている<sup>2</sup>。古くから定置網を中心とした漁業が盛んであるが、小型機底びき網漁業や、かご縄漁業なども行われている。富山県は、県のさかなとしてブリ、ホタルイカ、シロエビの 3 種を選定しているが、そのほかにもホッコクアカエビ、ベニズワイガニ、ゲンゲ、ウマヅラハギ、マダ

ラなどが富山湾で獲れる特産品として水揚げされている。

ホッコクアカエビは、一般に甘えびとも呼ばれ、殻と身が離れやすいことから、刺身やし種など生で食されること多いエビである<sup>3)</sup>。体長は、12cm 程度であり、北陸を中心に日本海に生息している。富山湾では水温の低い水深 200～500m 付近に生息しており、底びき網やかご縄で漁獲される<sup>4)</sup>。年間を通して水揚げされるが、旬は秋から冬とされている。

ベニズワイガニは、ズワイガニと同じクモガニ科に属する大型のカニであり、ズワイガニよりも深く 400～2700m の深い海に生息するとされている。富山湾においては、水深 800m 以深が主な漁場となっている<sup>5)</sup>。名前の通り加熱する前から紅赤色をしているのが外見的な特徴である。水温の低い深海で 8～10 年かけて育つと考えられている。水揚げの時期は、9 月～5 月であり、6～8 月は資源保護のため禁漁期間となっている。肉厚で身離れがよく、甲羅の味噌が美味しいとされる<sup>6)</sup>。

廃棄されることが多いエビやカニの殻には、難消化性の多糖類であるキチンが多く含まれている<sup>7)</sup>。主に N-アセチルグルコサミンという単糖が、数百～数千個鎖のように繋がった構造をしている。同じ難消化性多糖類であるセルロースと化学構造的によく似ている。一般的に難消化性多糖類である食物繊維には、健康面での機能性があることが知られている。例えば、食事に含まれるコレステロールの吸収抑制、食後の急激な血糖上昇の抑制作用などが認められている<sup>8)</sup>。血中コレステロール濃度は、動脈硬化症のリスクと関係することがよく知られている。LDL-コレステロールは悪玉コレステロールとも呼ばれており、動脈硬化症のリスクを増加させるのに対して、HDL-コレステロールは善玉のコレステロールとして動脈硬化症に対して抑制的に働く。動脈硬化症は、脳卒中や心臓病など生死に関わる疾患の引き金になることから、食生活を含めた生活習慣の改善が重要である<sup>9)</sup>。血糖(血中グルコース)の急激な上昇は、血管の障害を引き起こすことから、特に糖尿病や糖尿病予備群にとっては、血糖のコントロールが血管障害を予防するうえで重要である<sup>10)</sup>。食物繊維の一種であるキチンを多く含むホッコクアカエビやベニズワイガニの殻が、血中コレステロール濃度を改善したり、血糖の上昇を抑制したりすることが期待されるが、十分科学的な根拠はない。そこで、本研究では、実験動物であるラットにホッコクアカエビおよびベニズワイガニの殻粉末を添加した飼料を摂取させて、血清コレステロール濃度およびグルコース濃度に対する影響について検討を行った。

## 2. 方法

### 2-1. 実験材料

実験に用いたエビ殻およびカニ殻は、魚津漁協共同組合(富山県)より提供されたものを用いた。エビ殻およびカニ殻は、凍結乾燥した後に、製粉機(ラボネクスト社、コナッピー)にて粉末化した。

## 2-2. 動物および飼料

実験動物の取扱いは、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成 25 年環境省告示第 84 号）に則して行った。また、本実験は、富山短期大学動物実験委員会の承認を得た後に実施した。ラットは、個別の金網ケージに入れて、自由に水道水を飲ませた。室温は、 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度は  $55 \pm 10\%$ 、明期は午前 7 時～午後 7 時とした。実験期間が始まるまで、市販の固形飼料（日本農産工業、ラボ MR ストック）を自由に摂取させた。

4 週令の Wistar 系雄ラット（日本エスエルシー）をランダムに 3 群（各群 8 匹）に分けた後に、それぞれの試験食を 2 週間自由摂取させた。試験食は、高脂肪・高コレステロール食（Research Diets、D127079B ウェスタンダイエット）を基本食として用いた。基本食の脂肪比率は 21%（41%E）であり、乳脂肪を 20% 含み、0.21% のコレステロールを含んでいた。エビ殻食にはエビ殻粉末を 3%、カニ殻食にはカニ殻粉末を 3% 基本食に添加した。対照群には、添加した粉末量に相当する水道水を添加した。試験食投与期間の最終日に解剖を行った。解剖の 5 時間前に試験食を飼育ケージから取り除いた。イソフルランにて軽く麻酔した後に、断頭により採取した血液を遠心分離して血清を得た。肝臓を素早く採取して、重量を測定した。飼育期間の終わり 3 日間の糞を採取した。得られたサンプルは、分析まで  $-80^{\circ}\text{C}$  にて凍結保存した。

## 2-3. 分析方法

血清総コレステロール、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、中性脂肪およびグルコース濃度は、株式会社ビーエムエルに分析を依頼した。

糞中のコレステロールおよび胆汁酸を測定するため、凍結乾燥した糞を小型のフードミル（テスコム、TML180）を用いて粉末化した。粉末化したサンプルをクロロホルム-メタノール混液（1:1）にて 48 時間  $70^{\circ}\text{C}$  で抽出した後、上澄みを採取して窒素ガスを吹き付けながら蒸発乾固させた。酢酸を用いて酸性化（10mL に対して酢酸 1 滴を添加）した 70% メタノール 2mL および石油エーテル 2mL を加え攪拌した後に遠心分離を行った。上層の石油エーテルを採取して蒸発乾固させた後、5% Triton X-100 で溶解し、測定キット（富士フィルム和光純薬、コレステロール E-テストワコー）を用いて、コレステロールを測定した。メタノール層の胆汁酸は、測定キット（コスモ・バイオ、Total Bile Acids Test）を使用して測定した。

## 2-4. 統計解析

測定データは、平均値±標準偏差で示した。平均値の差の検定は、一元配置の分散分析を行った後、Tukey の HSD 法により多重比較検定を行った。統計解析は、市販の統計解析ソフト（日本 IBM、IBM SPSS Statistics 26）を用い、有意水準は両側検定で 5% とした。

### 3. 結果

#### 3-1. 飼育結果

初体重、体重および体重増加量は、群間で有意な差はなかった(表 1)。飼料摂取量も、群間で有意な差は認められなかった。肝臓重量も群間で有意な差は認められなかったが、糞の乾燥重量は、対照群に比べてエビ殻群およびカニ殻群で有意に高い値を示した。また、カニ殻群の糞乾燥重量は、エビ殻群よりも有意に高い値を示した。

表 1. 飼育結果

	対照群	エビ殻群	カニ殻群
初体重(g)	114±6	114±8	114±6
終体重(g)	198±8	202±12	200±8
体重増加量(g)	83.5±4.0	88.4±8.7	85.9±9.7
飼料摂取量(g/日)	14.6±0.7	15.5±1.1	15.5±0.9
肝臓重量(g)	9.45±0.40	8.88±0.79	8.77±0.79
糞乾燥重量(g/日)	1.31±0.17	1.78±0.19**	2.08±0.17**,††

平均値±標準偏差

\*\*p<0.01(対照群との比較)、††p<0.01(エビ殻群との比較)

#### 3-2. 血清分析結果

血清総コレステロール濃度は、群間で有意な差はなかったが、LDL-コレステロール濃度は、対照群に比べてカニ殻群で有意に低い値を示した(表 2)。一方、HDL-コレステロール濃度は、群間で有意な差は認められなかった。中性脂肪およびグルコース濃度においても、群間で有意な差は認められなかった。LDL-/HDL-コレステロール比は、対照群と比較して、エビ殻およびカニ殻群で有意に低い値を示した(図 1)。

#### 3-3. 糞の分析結果

糞中のコレステロール濃度は、対照群に比べてカニ殻群で有意に高い値を示した(表 3)。しかしながら、対照群とエビ殻群との間には有意な差はなかった。対照群と比較して、エビ殻群およびカニ殻群の胆汁酸量は、有意に高い値を示した。また、カニ殻群の胆汁酸量は、エビ殻群に比べても有意に高い値を示した。

表2. 血清脂質およびグルコース濃度分析結果

	対照群	エビ殻群 (mg/100mL)	カニ殻群
総コレステロール	109±10	109±12	101±13
LDL-コレステロール	14.0±3.0	11.1±2.2	10.8±2.0*
HDL-コレステロール	37.9±3.6	41.4±5.5	39.3±5.1
中性脂肪	453±113	375±128	385±98
グルコース	154±18	156±8	153±8

平均値±標準偏差

\*p < 0.05(対照群との比較)

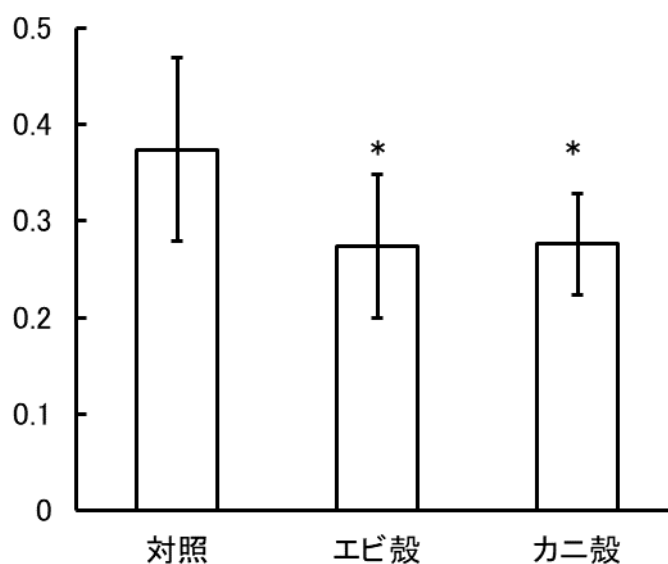


図1. LDL-/HDL-コレステロール比(動脈硬化指数)

\* p < 0.05(対照群との比較)

表3. 糞中コレステロールおよび胆汁酸量

	対照群	エビ殻群 (mg/d)	カニ殻群
コレステロール	1.15±0.30	1.48±0.29	1.97±0.79*
胆汁酸	0.83±0.10	0.97±0.10*	1.19±0.12**.††

平均値±標準偏差

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01(対照群との比較)

††p < 0.01(エビ殻群との比較)

#### 4. 考察

本研究では、ホッコクアカエビおよびベニズワイガニの殻粉末の血清コレステロール濃度に対する影響について、高脂肪・高コレステロール食を摂取させたラットを用いて検討を行った。その結果、カニ殻食を摂取したラットの血清 LDL-コレステロール濃度は、対照群と比較して有意に低いことが観察された。動脈硬化指数とも呼ばれる LDL/HDL-コレステロール比も、対照群に比べて有意に低値を示したことから、ベニズワイガニの殻を摂取することで、血清 LDL-コレステロール濃度の低減および動脈硬化指数の改善効果のあることが示唆された。ホッコクアカエビの殻を摂取したラットにおいては、血清 LDL-コレステロール濃度は、対照群に比べて有意な差はなかったものの、LDL/HDL-コレステロール比には有意に低値を示した。このことから、ホッコクアカエビの摂取は、血中コレステロール濃度の改善作用があることが示唆された。

エビやカニの殻には、キチンが 20～30%程度含まれていることが特徴であり、残りの主な成分は炭酸カルシウムおよびたんぱく質であると報告されている<sup>11</sup>。ホッコクアカエビやベニズワイガニの殻を動物に投与して、血中コレステロール濃度に対する影響を調べた研究報告は、我々が調べた限りでは見当たらなかった。Zacour ら<sup>12</sup>は、試薬として入手したキチンを 5%含む試験食を 6 週間ラットに投与する実験を行った。その結果、肝臓の中性脂肪やコレステロール量は減少するが、血清コレステロールや中性脂肪濃度は影響しないことを報告している。本研究で観察された血清 LDL-コレステロール濃度低下作用が、キチンの作用によるものであるかは結論づけることはできない。しかしながら、実験動物レベルにおいて、ベニズワイガニの殻粉末に血清コレステロール低下作用があること、ホッコクアカエビおよびベニズワイガニの殻粉末に、LDL/HDL-コレステロール比の改善作用のあることが示された。有効成分を解明する研究およびヒトにおいても同様の効果が期待できるかについての研究を行っていくことが重要である。

体内のコレステロールは、食事から摂取するものと体内で合成されるものの 2 種類が存在する。生体内に存在するコレステロールの多くは、最終的にコレステロールのまま、あるいは肝臓で胆汁酸に変換された後、糞中に含まれて体外に排泄される<sup>13</sup>。カニ殻群で糞中のコレステロール量が対照と比較して多かったことは、より多くのコレステロールが糞中に排泄されていることを意味する。また、糞中の胆汁酸が対照群よりも多いことは、体内のコレステロールが胆汁酸に変換された後に、糞中へ排泄されていること意味する。したがって、ベニズワイガニの殻を摂取することによる LDL-コレステロール濃度低下作用は、糞中へのコレステロールおよび胆汁酸排泄の増加が関係していると考えられる。エビ殻群およびカニ殻群の LDL/HDL-コレステロール比の低下作用については、単純に説明することはできないが、糞中へのコレステロール排泄の増加が関係していると推察される。キチンを多く含むエビ殻群とカニ殻群で、血清コレステロール濃度に対する影響が同一でない理由については、不明である。ホッコクアカエビとベニズワイガニの殻に含まれるキチンの量が関係しているのか、あるいは関与する成分が異

なる（質）ことが原因であるのかの二つが考えられる。このことを解明するためには、更なる検討が必要である。

本研究の一部は、一般社団法人農林水産業みらい基金の助成を受けて実施されたものである。

## 参考文献

- 1) 富山県報告書，本県水産業のあらまし，富山の水産（2021）
- 2) JF 富山漁連，富山湾の紹介，<https://www.toyama-sakana.com/fisheries/bay>
- 3) 富山県食品研究所，品目別概要，とやまの特産物，富山県食品研究所，富山（2003）
- 4) JF 富山漁連，アマエビ（ホッコクアカエビ），<https://www.toyama-sakana.com/archives/158>
- 5) JF 富山漁連，ベニズワイガニ（富山湾の朝陽），<https://www.toyama-sakana.com/archives/156>
- 6) 越中とやま食の王国，ベニズワイガニ，<https://shoku-toyama.jp/product/10289/>
- 7) 川口光郎，キチン・キトサンオリゴ糖の機能と利用，*応用糖質科学*, **45**, 415-419 (1998)
- 8) 平山匡男，機能性糖質/食物繊維，*化学と生物*, **44**, 472-480 (2006)
- 9) 寺本民生，動脈硬化症の一次予防（EBM に基づく内科的治療）脂質異常症，*日本内科学会雑誌*, **99**, 454-460 (2010)
- 10) 青江誠一郎，上部消化管機能と食物繊維，*日本食物繊維学会*, **10**, 53-63 (2006)
- 11) 相羽誠一，キチン，キトサンの利用，*化学と教育*, **49**, 496-499 (2001)
- 12) Zacour, AC, Silva, ME, Cecon PR. et al., Effect of dietary chitin on cholesterol absorption and metabolism in rats, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, **38**, 609-613 (1992)
- 13) 菅野道廣，コレステロールの栄養学，脂質栄養学，pp.189-188, 幸書房, 東京 (2016)