

3. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase活性

膜標本を群毎にプールして測定した $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase活性は、血管および心においては総 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase活性、ウアバイン感受性 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase活性ともダイズ油投与群に比べ、キャノーラ油投与群が高値を示した (Fig. 3、現在までに得られている結果を示した)。

4. 血管反応

1mMウアバインによる摘出大動脈の収縮反応には群間で差がみられなかった (Fig. 4) が、 K^+ free溶液による収縮反応にはキャノーラ油投与群で亢進がみられ、ダイズ油投与群との比較では有意な差が認められた。コレステロール添加キャノーラ油投与群の反応はダイズ油投与群のそれに近かった (Fig. 5)。

5. TXA_2 および PGI_2 産生能

アラキドン酸投与後6分間の測定値から1分間の産生量を求め、投与前の値を100として表した TXB_2 はキャノーラ油投与群で増大する傾向を示したが、6 keto $\text{PGF}_1 \alpha$ には差が認められなかった (Fig. 6)。

D. 考察

われわれは、これまでに、キャノーラ油が脳卒中易発性自然発症高血圧ラット (SHR-SP) の生存期間を短縮することを確認するとともに、正常血圧ラット (WKY)、自然発症高血圧ラット (SHR) および SHR-SPにおいては系統や食塩負荷の有無を問わずキャノーラ油が昇圧を引き起こすことを確認している。今回の検討でも有意差は認められなかったが、キャノーラ油投与群ではダイズ油投与群より血圧が高くなる傾向が認められた。

カナダの Ratnayake (Health and Welfare Canada) は、植物油によるラットの早死傾向の原因が植物ステロールの摂取によるコレステロール利用の阻害にあると説明している (1998年12月4日、談話)。キャ

ノーラ油に加え、月見草油およびオリーブ油摂取でもSHR-SPの寿命が短縮すること、これらの植物油を投与した動物では血小板数が減少することに基づき、Ratnayakeは、植物ステロールが細胞膜を構成するコレステロールを邪魔し膜の脆弱化を起こすことで、脳出血など、全身性に出血傾向が進むのが生存期間短縮の原因であろうと推測した。

今回の結果のうち、赤血球溶血の実験は、植物ステロールの摂取によるコレステロール利用の阻害～膜の脆弱化を確認することを目的とした。その結果、キャノーラ油投与による溶血の促進とコレステロール添加投与によるその抑制が認められた。したがって、キャノーラ油がラットにおいては膜におけるコレステロール利用の阻害を介して膜の脆弱化を起こす可能性が示された。

コレステロール添加キャノーラ油投与群の血圧はキャノーラ油投与群の血圧に近い値を示したことから、Ratnayakeが唱える膜の脆弱化～出血傾向は血圧変化には関連がないことが示唆された。秦野研究所において別途実施した試験からも、SHR-SPの血圧上昇と生存期間短縮の間には関連がないことが明らかになっている。従って、膜の脆弱化～脳出血が生存期間短縮の原因であるとしても、キャノーラ油投与による昇圧の機序は別個のものと考えられる。

生存期間の短縮および昇圧の機序を明解に説明する結果は依然得られていないが、過去に検討した結果からはキャノーラ油摂取により、ラットの血液凝固能促進がみられた。われわれは血栓形成促進による脳梗塞等の早期発生も生存期間短縮にかかわるであろうと推測している。現段階では、摂取脂質中の脂肪酸組成の違いによる影響も全く否定は出来ない。生存期間の短縮および昇圧の原因は、特定の植物油中に含まれるステロール等の物質および個々の植物油の脂肪酸組成の違いを含む複合的なものと考えの方が妥当かも知れ

ない。

腸間膜血管床におけるアラキドン酸投与によるTXA₂ (TXB₂濃度として測定)産生が、キャノーラ油投与群ではダイズ油投与群より増大する傾向にあった、このとき、PGI₂ (6 keto PGF_{1α}濃度として測定)産生には差がみられなかったことから、キャノーラ油投与群では血管収縮性プロスタノイドであるTXA₂が、少なくとも局所的には亢進する可能性があり、血圧上昇と関連があるかも知れない。

総Na⁺-K⁺ATPase活性、ウアバイン感受性Na⁺-K⁺ATPase活性ともダイズ油投与群に比べ、キャノーラ油投与群が高値を示したことから、1)キャノーラ油投与はNa⁺ポンプ活性へ直接影響を及ぼす、あるいは、2)キャノーラ油投与により亢進した膜の透過性により増大した細胞内ナトリウムあるいはそれに伴い流入したカルシウムを汲み出すためにNa⁺ポンプ活性が上昇している、という二つの可能性があるが、実際に起こっているのは後者であろう。なぜなら、摘出大動脈標本の1mMウアバインによる収縮反応では群間差が明らかではなかったが、K⁺free溶液による収縮反応はキャノーラ油投与群で亢進し、ダイズ油投与群との比較では有意な差が認められたからである。

一方、コレステロール添加キャノーラ油投与群の摘出大動脈標本反応はダイズ油投与群のそれに近かったことから、キャノーラ油投与により、そこに含まれる植物ステロールが細胞膜に取り込まれ、コレステロールによる膜の構成を妨害することで膜の脆弱化がおけるとすると、それと同時に膜の機能蛋白も影響を受けることが明らかになった。

菜種油摂取が動物の生存期間や生理機能に及ぼす影響を検討した一連の研究は、ラットを用い、脂質として一種類の油のみを摂取させるという、特殊な条件で行われたため、これに基づいて、ヒトにおけるキャノーラ油の

有害性を論ずることは出来ない。今後も、キャノーラ油またはその夾雑物の生理機能に対する影響と、その機序を確認するための研究を続けるが、同時に、ヒトにおける油脂の摂取バランスを考えた検討によって、単一種の油脂摂取に伴う弊害を回避する方向を探すことも意味があるかも知れない。キャノーラ油の中樞作用(運動亢進等)は、本報告で触れてはいないが、特定の系統(SHR)では影響が認められているため、血圧への影響、寿命への影響と共に、今回認められた生体膜への影響との関連でその機序を探ることは大変興味深いものである。

F. 結論

キャノーラ油を投与したSHR-SPの血圧はダイズ油を投与した場合に比べ上昇する傾向にあった。また、コレステロール添加キャノーラ油投与ではキャノーラ油投与動物の血圧に近い値が得られた。秦野研究所において別途実施した試験からもSHR-SPの血圧上昇と生存期間短縮の間には関連がないことが明らかになっているが、Ratnayakeが生存期間短縮の原因として指摘する膜の脆弱化~脳出血も、昇圧機序とは関連がないことが示唆された。

腸間膜血管床におけるアラキドン酸投与によるTXA₂産生が、キャノーラ油投与群ではダイズ油投与群より増大する傾向にあったことから、キャノーラ油が血管収縮性プロスタノイドであるTXA₂産生を少なくとも局所的には亢進する可能性があり、血圧上昇と関連があるかも知れない。

総Na⁺-K⁺ATPase活性およびウアバイン感受性Na⁺-K⁺ATPase活性がダイズ油投与群に比べキャノーラ油投与群で高値を示したこと、摘出大動脈標本のウアバイン誘発収縮反応では群間差が明らかではなかったがK⁺free誘発収縮反応ではキャノーラ油投与群で有意な増強が認められたことから、キャ

ノーラ油投与により膜透過性が亢進した結果増大した細胞内ナトリウムあるいはカルシウムを汲み出すために Na^+ ポンプ活性が上昇している可能性が考えられた。

コレステロール添加キャノーラ油投与群の摘出大動脈標本反応は、ダイズ油投与群の反応に近かったことから、キャノーラ油中のステロールが細胞膜に取り込まれ、コレステロールによる膜の構成を妨害することで膜の機能に影響を与える可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 投稿論文準備中。

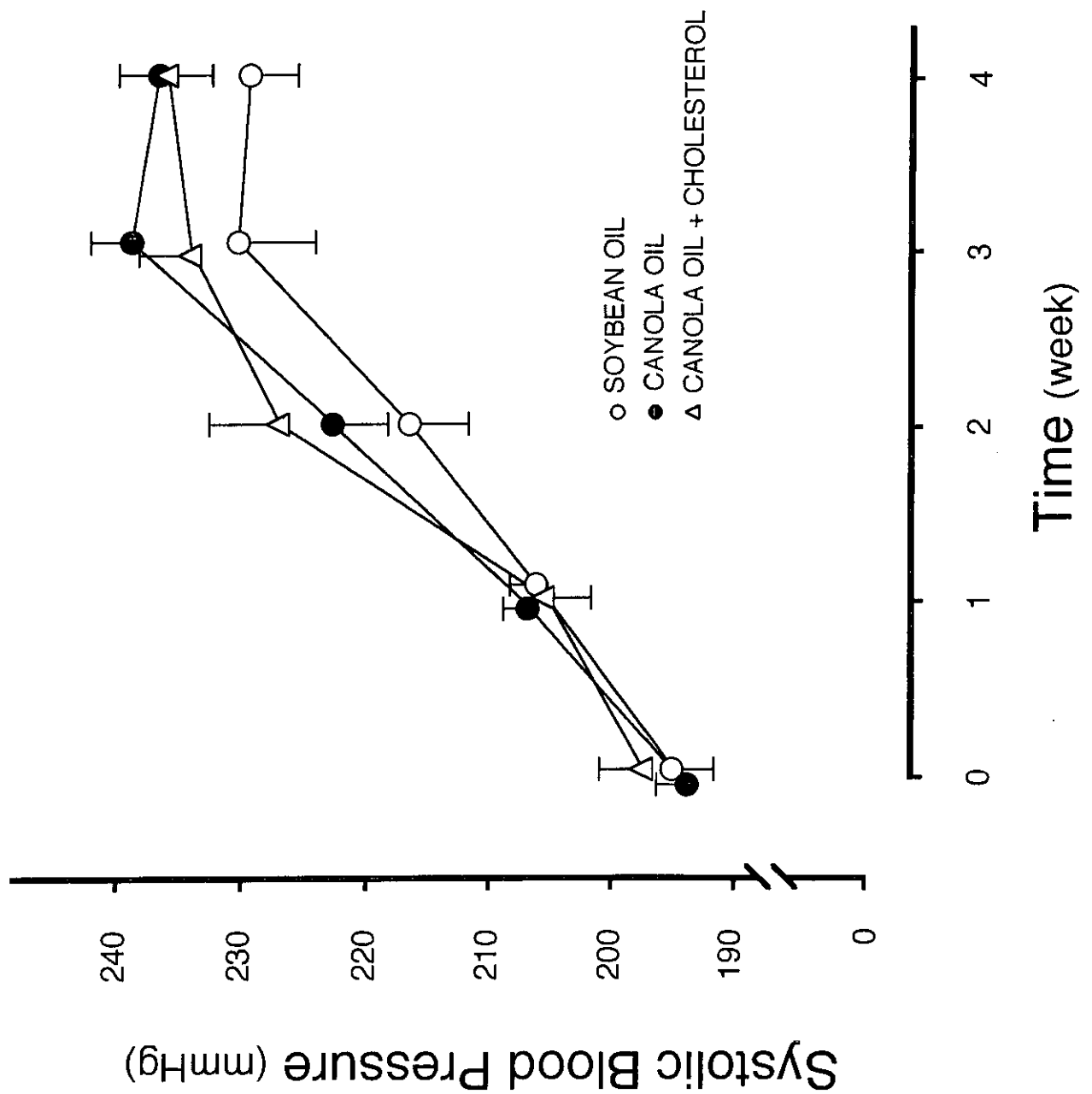


Fig. 1 SHR-SPの尾動脈収縮期圧に対する植物油投与の影響
 縦軸は血圧 (mmHg)、横軸は投与後の時間 (週) を示す。投与開始2週からキャノーラ油投与群ではダイズ油投与群に比べ血圧が高くなる傾向が認められる。
 一方、コレステロール添加キャノーラ油投与群の血圧はキャノーラ油投与群と変わらない。
 (キャノーラ油およびダイズ油投与群、N=10; コレステロール添加キャノーラ油投与群、N=9)

HEMOLYSIS

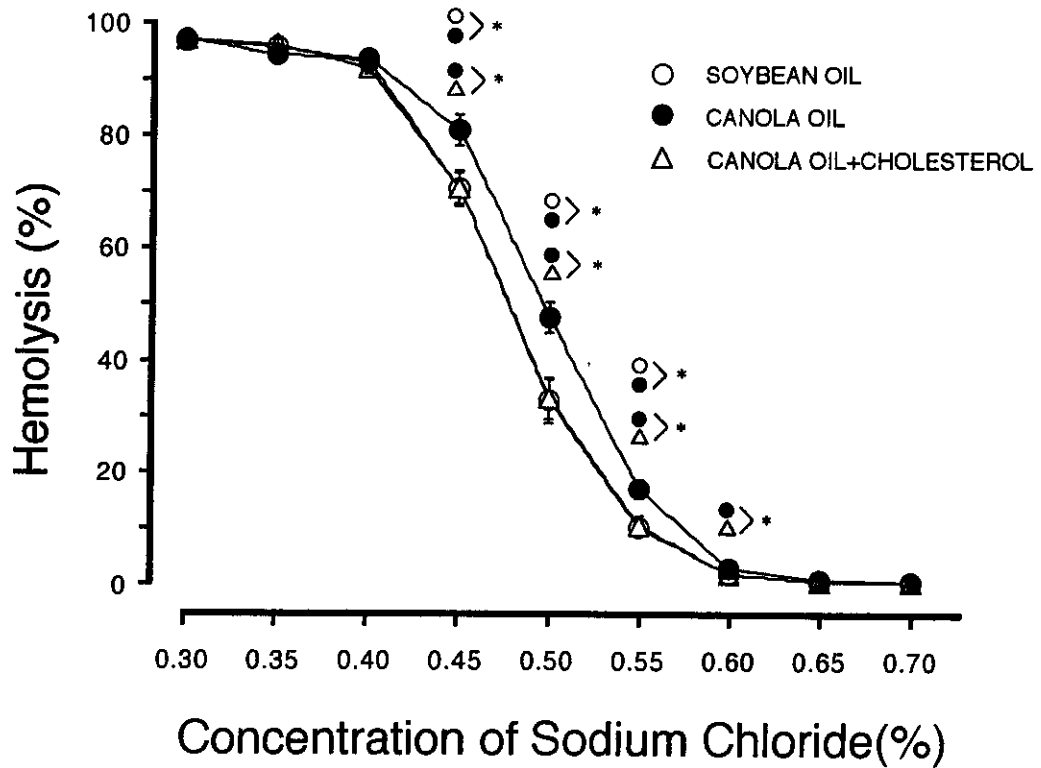


Fig. 2 赤血球の溶血曲線

縦軸は溶血率(%)、横軸はリン酸緩衝生理食塩液の食塩濃度(%)を示す。

キャノーラ油投与群では食塩濃度0.45~0.55%においてダイズ油投与群に比べ有意な溶血亢進が起きている。コレステロール添加キャノーラ油投与群とダイズ油投与群との間には差が認められない。

(N=8、*P<0.05 ダネットの多重比較)

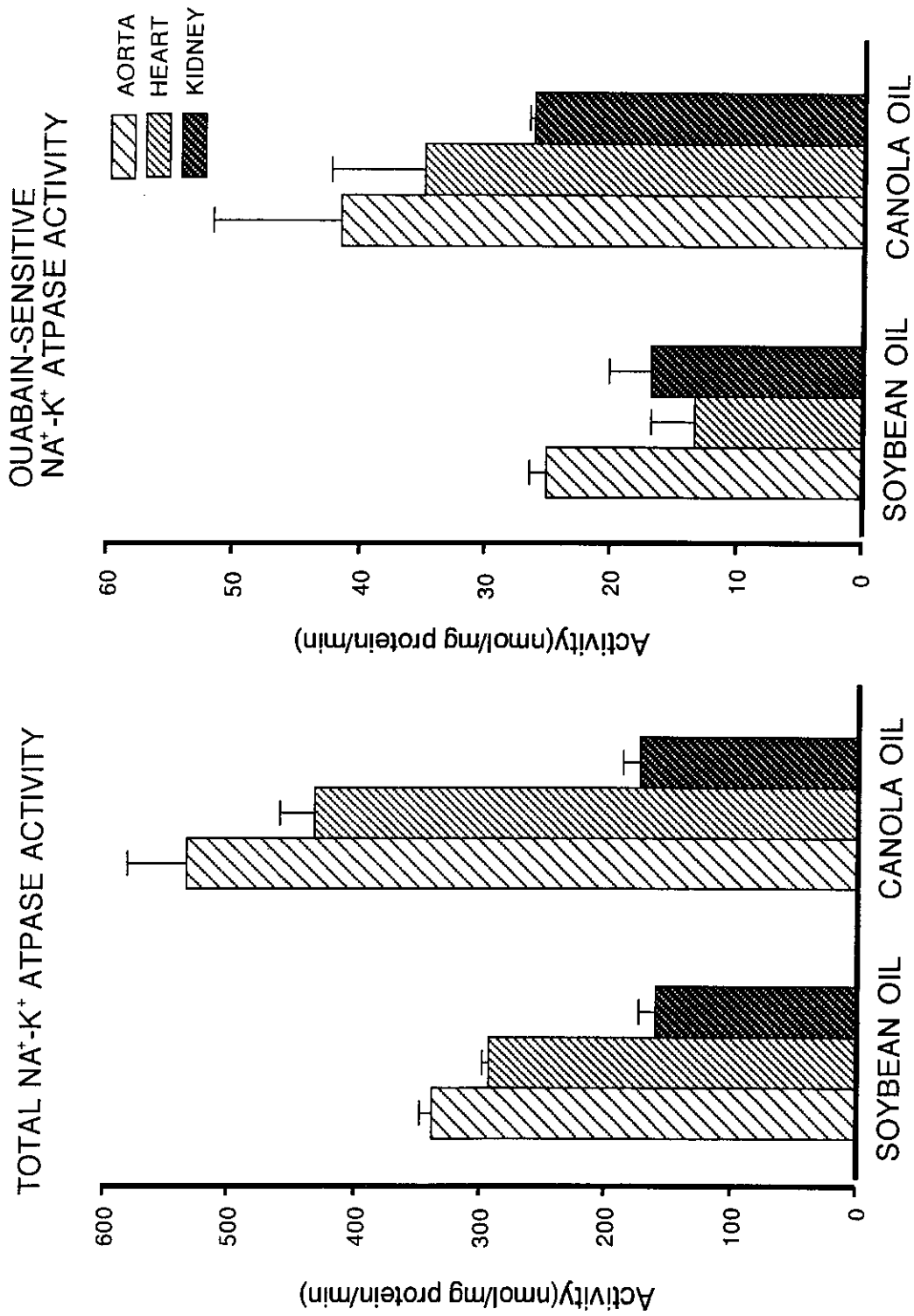


Fig. 3 大動脈、心および腎臓標本の $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase活性
 縦軸は単位蛋白質重量当たりのATPase活性を示す。臓標本を群毎にプールして測定した。血管および心においては総 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase活性、
 ウアバイン感受性 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase活性ともダイズ油投与群に比べ、キャノーラ油投与群に比べて、キャノーラ油投与群が高値を示している。(縦軸は3回の測定値の標準誤差)

OUABAIN-INDUCED CONTRACTURE

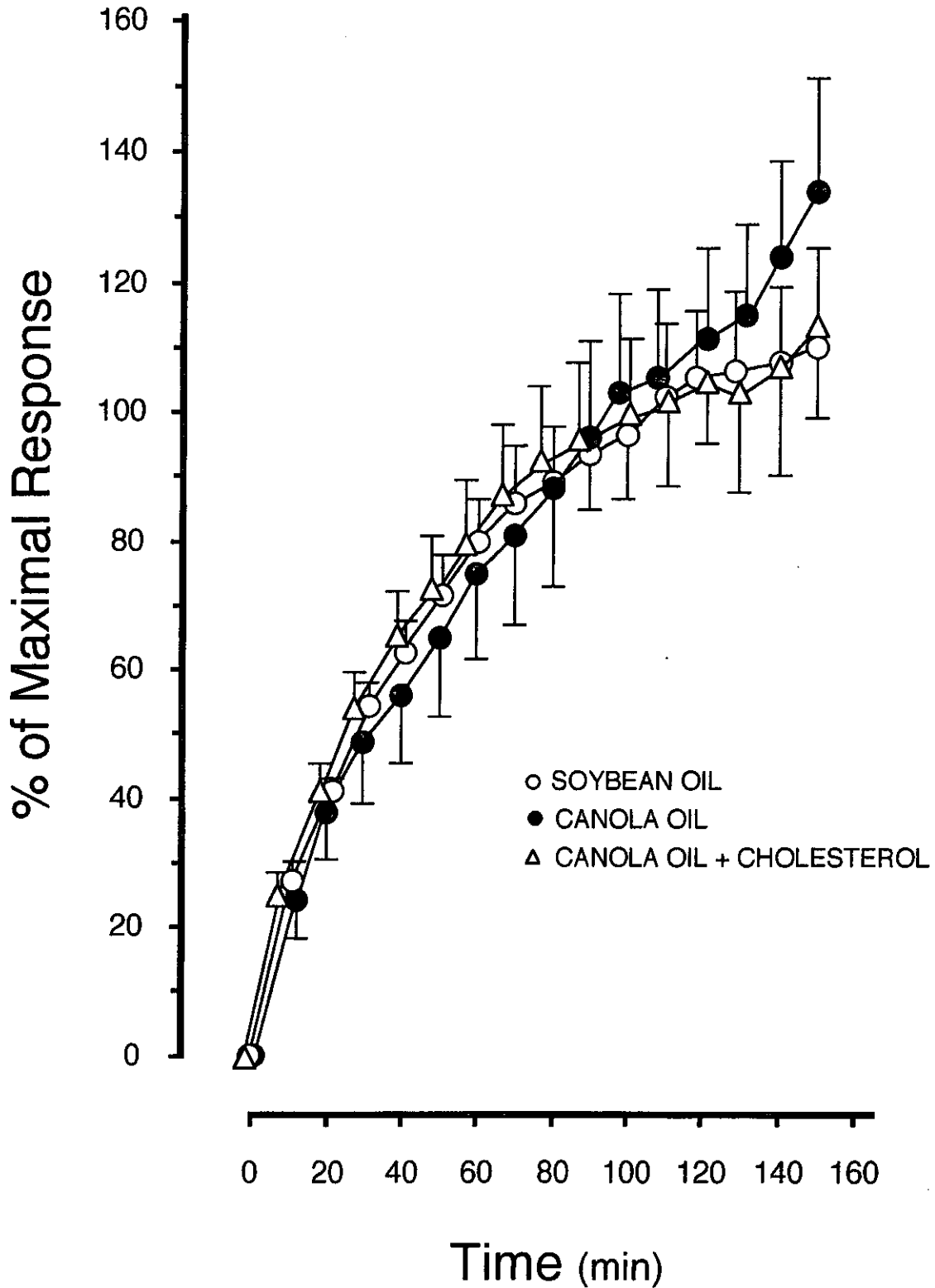


Fig. 4 1mMウアバインによる摘出大動脈の収縮反応

縦軸は100mMのKClによって誘発された収縮反応を100%とした場合の反応の大きさ、横軸は時間経過 (分) を示す。明らかな群間差は認められない。

(キャノーラ油およびダイズ油投与群、N=10；コレステロール添加キャノーラ油投与群、N=9)

POTASSIUM-FREE CONTRACTURE

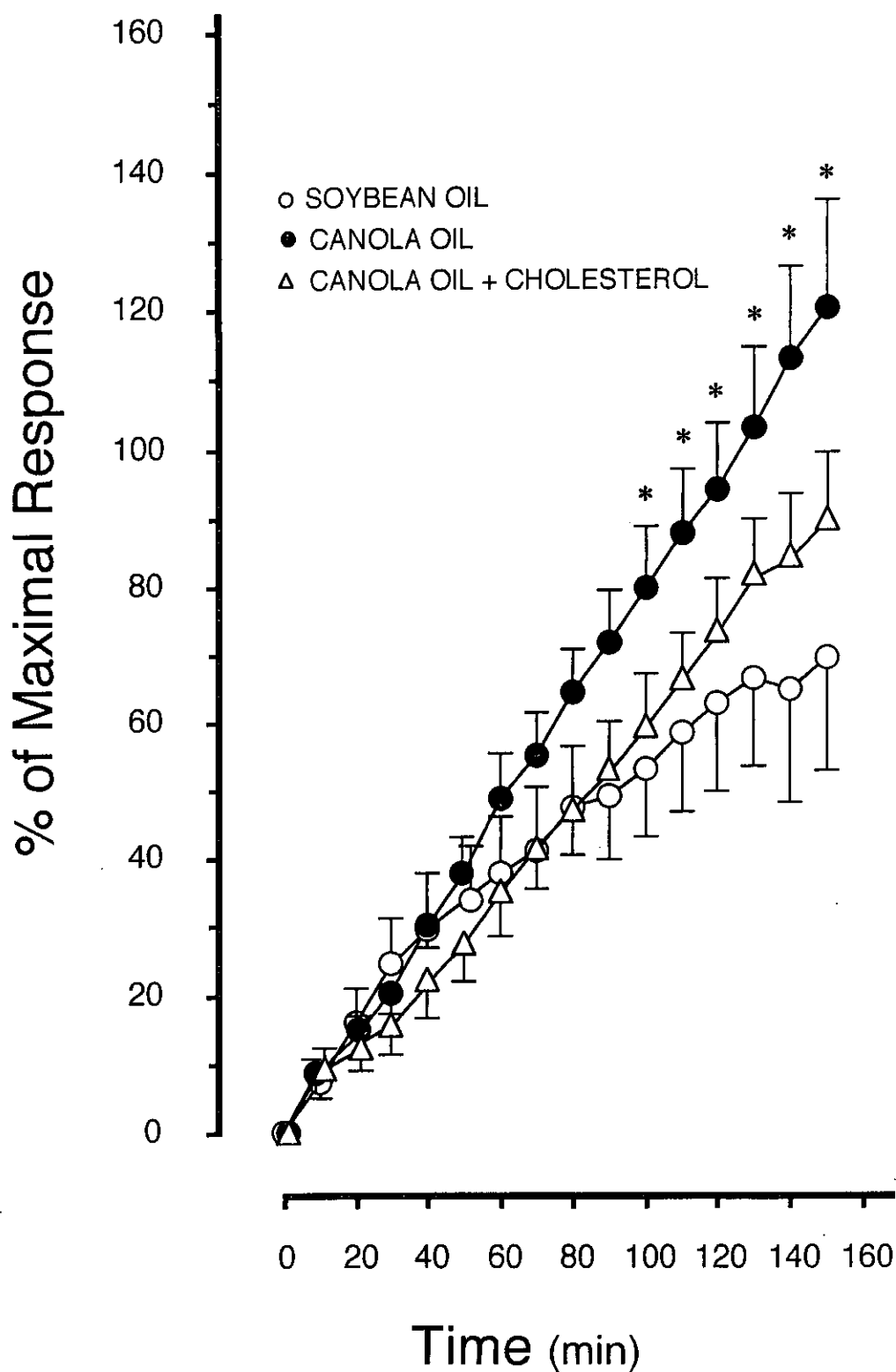


Fig. 5 K⁺free溶液による摘出大動脈の収縮反応

縦軸、横軸はFig. 4参照。キャノーラ油投与群の収縮反応はダイズ油投与群と比較して有意に大きい。コレステロール添加キャノーラ油投与群の反応はダイズ油投与群のそれに近い。

(キャノーラ油およびダイズ油投与群、N=10；コレステロール添加キャノーラ油投与群、N=9、*P<0.05 例数差修正のダネット多重比較)

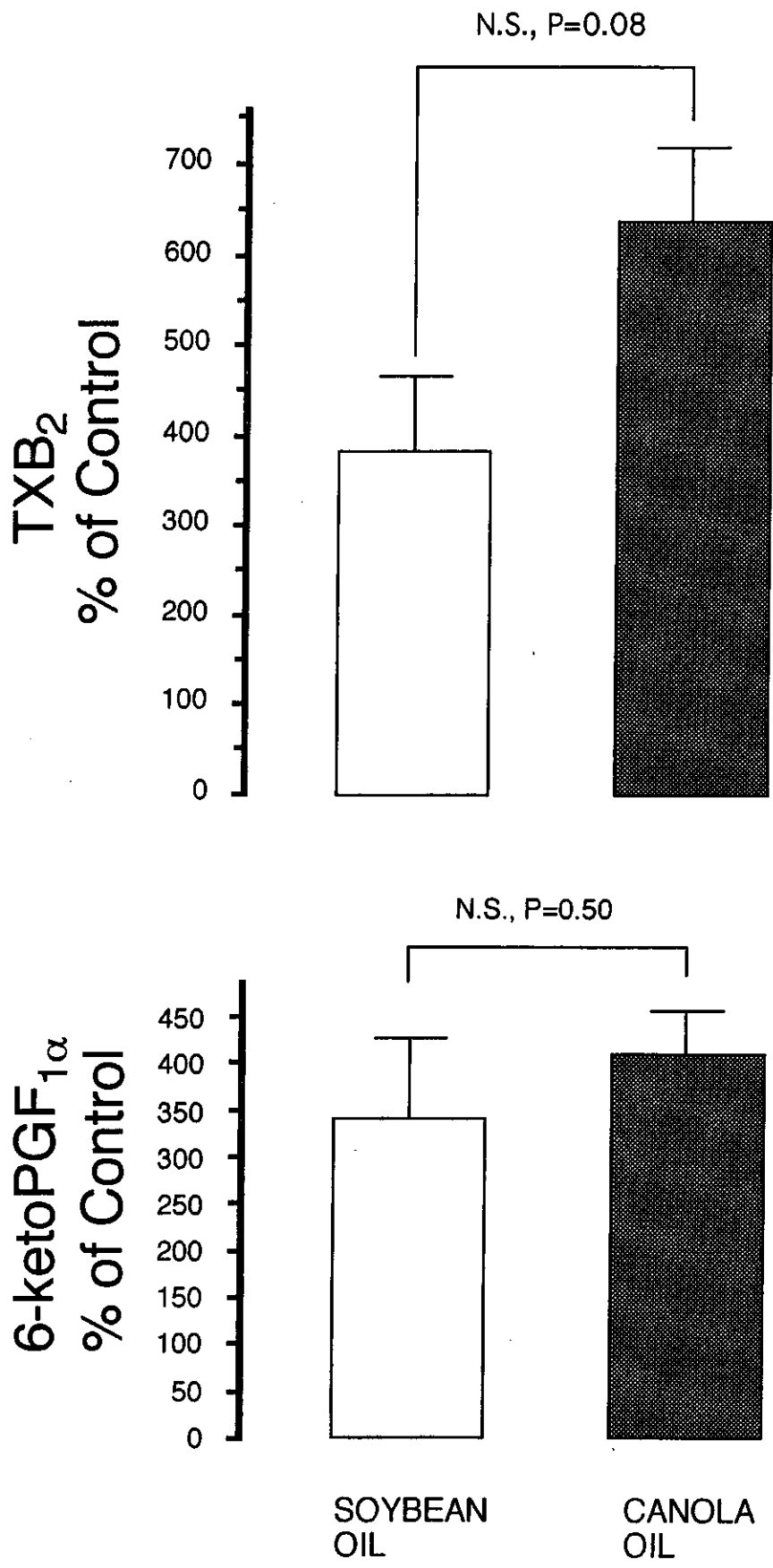


Fig. 6 TXA₂およびPGI₂産生能
 TXB₂および6 keto PGF₁α濃度を測定することでTXA₂あるいはPGI₂濃度をそれぞれ調べた。アラキドン酸投与後6分間の測定値から1分間の産生量を求め、投与前の単位時間当たりの産生量を100として縦軸にプロスタノイド産生量を示す(%)。TXB₂はキャノーラ油投与群で増大する傾向を示しているが、6 keto PGF₁αには差が認められない。(キャノーラ油およびダイ