

食餌は子宮に対するエストロゲン作用を示さないと考えられた。あるいは、一般に植物エストロゲンは ER $\beta$  に強い親和性を示すものか多く、ER $\beta$  より ER $\alpha$  をより強く発現している子宮では作用が観察されなかったのかもしれない。また、今回は SHR-SP ラットではなく脳卒中を発症しない同系の Wistar ラットを使用したために、両ラットではキャノーラ油の消化管での吸収、排泄に相違が有る可能性と、キャノーラ油含有食餌の摂取期間が 2、4 週間では作用を観察するのに期間が短かった可能性が考えられた。

次に、4 週間キャノーラ油含有食餌で飼育した OVX ラットの血清中のエストロゲン様物質 (ER $\alpha$  あるいは ER $\beta$  のアコニスト) をルシフェラーゼレポーターアッセイ系で測定したところ、ポジティブコントロールとして 17 $\beta$ -エストラジオールを皮下投与したラットでは血中の ER $\alpha$  に対するアコニスト活性は上昇したか、キャノーラ油群ではコントロール群と差は見られなかった。また、ER $\beta$  に対するアコニスト活性も観察されなかった。すなわち、キャノーラ油含有食餌の摂取で、血中のエストロゲンレベルが変動する可能性はないこと、さらに、ER $\alpha$  あるいは ER $\beta$  と反応するキャノーラ油由来の物質が血中に存在する可能性はないことが考えられた。

ホルモン合成系の酵素として、3 $\beta$ -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (3 $\beta$ -HSD)、17 $\beta$ -HSD、アロマターゼは 17 $\beta$ -エストラジオールによりその活性が抑制されることか知られている。そこで、これらの mRNA レベルに対する作用を検討したところ、キャノーラ油群では 17 $\beta$ -エストラジオール投与群と同様に OVX ラット副腎における 3 $\beta$ -HSD の mRNA のレベルがコントロール群に比へ減少していた。しかし、17 $\beta$ -HSD、アロマターゼ mRNA には変化は見られなかった。一方、エストロゲン応答遺伝子である ER $\alpha$  の mRNA はキャノーラ油群、17 $\beta$ -エストラジオール群で上昇していた。すなわち、副腎においては、キャノーラ油含有食餌の摂取により 17 $\beta$ -エストラジオール投与群と同様な 3 $\beta$ -HSD mRNA レベルの減少、ER $\alpha$  mRNA レベルの上昇が観察され、エストロゲン様作用が及んでいることか示唆された。副腎において 3 $\beta$ -HSD

の減少は副腎皮質ホルモンの産生減少を惹起すると考えられるか、今回は mRNA レベルでの検討であり、蛋白質レベルの検討、活性の検討が今後必要であると考ええる。

次に、キャノーラ油含有食餌で長期間飼育した SHR-SP 雄性ラットの副腎、精巣における 3 $\beta$ -HSD、17 $\beta$ -HSD、アロマターゼ mRNA レベルを測定した。これら 3 種の mRNA は副腎、精巣において、キャノーラ油群とコントロール群の間でほとんど差は見られなかった。しかし、キャノーラ油の F350 画分と残渣画分は副腎 17 $\beta$ -HSD の mRNA レベルを減少させたか、3 $\beta$ -HSD、アロマターゼ mRNA には影響を及ぼさなかった。また、精巣においてはキャノーラ油の分画 (F189、F350、残渣) で 3 $\beta$ -HSD の mRNA レベルの上昇が観察されたか、17 $\beta$ -HSD およびアロマターゼの mRNA には変化は見られなかった。ラットの場合、ヒトと異なり性ホルモンは副腎ではほとんど産生されないことか知られている。すなわち、キャノーラ油含有食餌は性ホルモンを減少させる作用を有さないことか推察された。しかし、5 $\alpha$ -還元酵素やチトクロム P450c17 など他の重要なホルモン合成系酵素の検討が必要であるとともに、半定量的 PCR 法より定量性の高い方法で検討が必要である。

#### D 結論

今回の研究により、キャノーラ油は OVX ラットに対して臓器選択的なエストロゲン作用を有している可能性が示されたか、SHR-SP ラットでは同様の作用は観察されなかった。今後、ラットの種類、性差、卵巣・精巣摘出の有無を考慮に入れた詳細な検討が必要であると思われる。

#### E 健康危険情報

なし

#### G 研究発表

なし

#### H 知的財産権の出願・登録状況

なし

菜種（キャノーラ）油に含まれる有害因子の分画法に関する研究

分担研究者 門田 重利 富山医科薬科大学 和漢薬研究所 教授

研究要旨

菜種油には、大豆油や紫蘇油に比べて脳卒中易発症性（SHRSP）ラットの寿命を短縮する。現在まで、分配法や分子蒸留法による分画が試みられているか、これらの方法ではあまり効果に差が出ていない。そこで、今回、ケル濾過（分子ふるい）クロマトグラフィにより菜種油の分画を行った。

【方法および結果】

カラム担体は、架橋デキストランであるセルロファイブ GH-25m（生化学工業、東京）を用いた。移動相は I) クロロホルム-メタノール（19 1、水飽和）→メタノール-水（1 1）を用いる系と、II) エチルエーテル-エタノール（19 1、水飽和）→エタノール-水（1 1）を用いる系の 2 つの方法で分画を行った。

I)  $\text{CHCl}_3$ -MeOH(19 1、水飽和)→MeOH-H<sub>2</sub>O (1 1) 系での分画

菜種油（2.5 kg）を  $\text{CHCl}_3$ -MeOH（19 1、水飽和、2.5 L）の溶液として、 $\text{CHCl}_3$ -MeOH（19 1、水飽和）で平衡化したセルロファイブカラム（175 mm 1 d × 450 mm）に付した。 $\text{CHCl}_3$ -MeOH（19 1、水飽和、20 L）、次いで MeOH-H<sub>2</sub>O（1 1、20 L）で溶出し、1 L ずつフラクションを分取した。Fr 1-30 のそれぞれの収量を Fig 1 に示す。図示の通り、3 つの山と低収量の溶出部に分離してきたので、4 つの粗フラクション（fr Chl-I-a 960 g, fr Chl-I-b 973 g, fr Chl-I-c 462 g, fr Chl-I-d 77.0 g）にまとめた。同様の操作により、菜種油（2.5 kg）から 4 つの粗フラクション（fr Chl-II-a 1.05 kg, fr Chl-II-b 1.20 kg, fr Chl-II-c 294 g, fr Chl-II-d 939 g）を得た。

Figure 1

II) Et<sub>2</sub>O-EtOH(19 1、水飽和)→EtOH-H<sub>2</sub>O (1 1) 系での分画

1) の方法の場合、クロロホルムは留去が困難で残留したものか実験動物に対して影響を及ぼすと考えられたので、比較的留去が容易なエーテルを用いた系での分画を試みた。

菜種油（2.4 kg）を Et<sub>2</sub>O-EtOH（19 1、水飽和、2.5 L）の溶液として、Et<sub>2</sub>O-EtOH（19 1、水飽和）で平衡化したセルロファイブカラム（175 mm 1 d × 420 mm）に付した。Et<sub>2</sub>O-EtOH（19 1、水飽和、20 L）、次いで EtOH-H<sub>2</sub>O（1 1、20 L）で溶出し、1 L ずつフラクションを分取した。Fr 1-30 のそれぞれの収量を Fig 2 に示す。図示したように、1 つの山と低収量の溶出部に分離してきた。低収量部は Et<sub>2</sub>O-EtOH 溶出部と EtOH-H<sub>2</sub>O 溶出部をまとめ、3 つの粗フラクション（fr Etr-I-a 230 kg, fr Etr-I-b 16.6 g, fr Etr-I-c 66.2 mg）を得た。同様に、菜種油（2.6 kg）を分画し、3 つの粗フラクション（fr Etr-II-a 257 kg, fr Etr-II-b 12.2 g, fr Etr-II-c 565 mg）を得た。

Figure 2

今後、これら分画した粗フラクションを含む飼料を脳卒中易発症性（SHRSP）ラットに与え、その有害作用の有無を評価する。

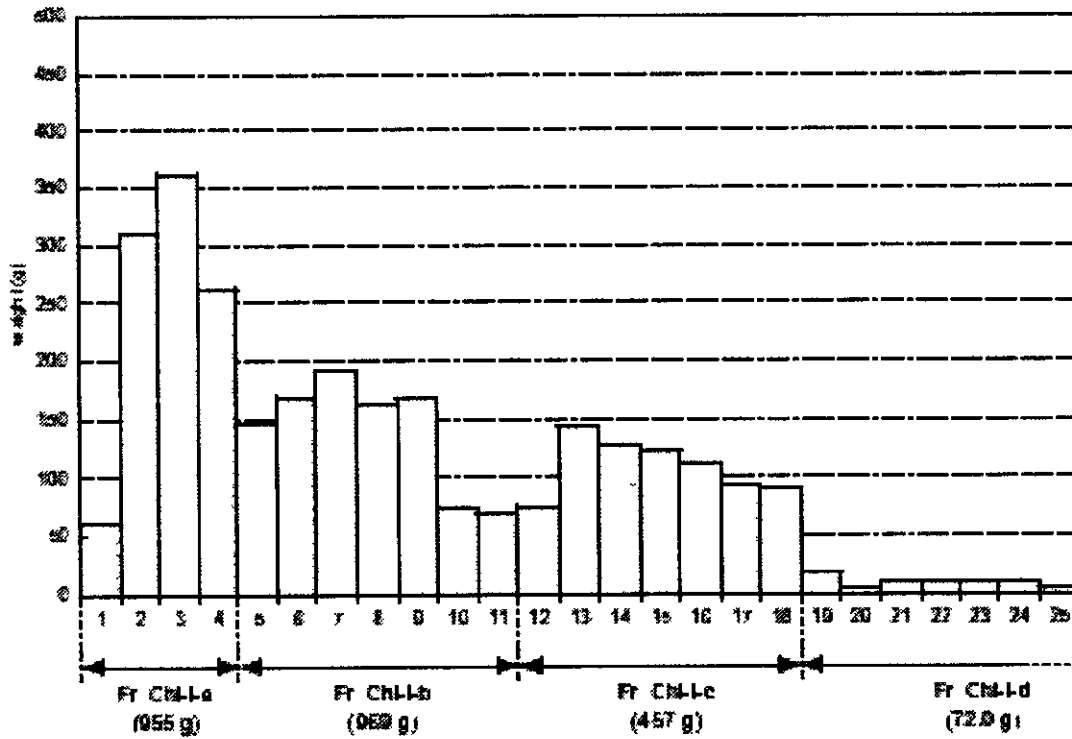


Figure 1. Chromatogram of candle oil (Candelilla CH-25m, CHCl<sub>3</sub>-50:50 system)

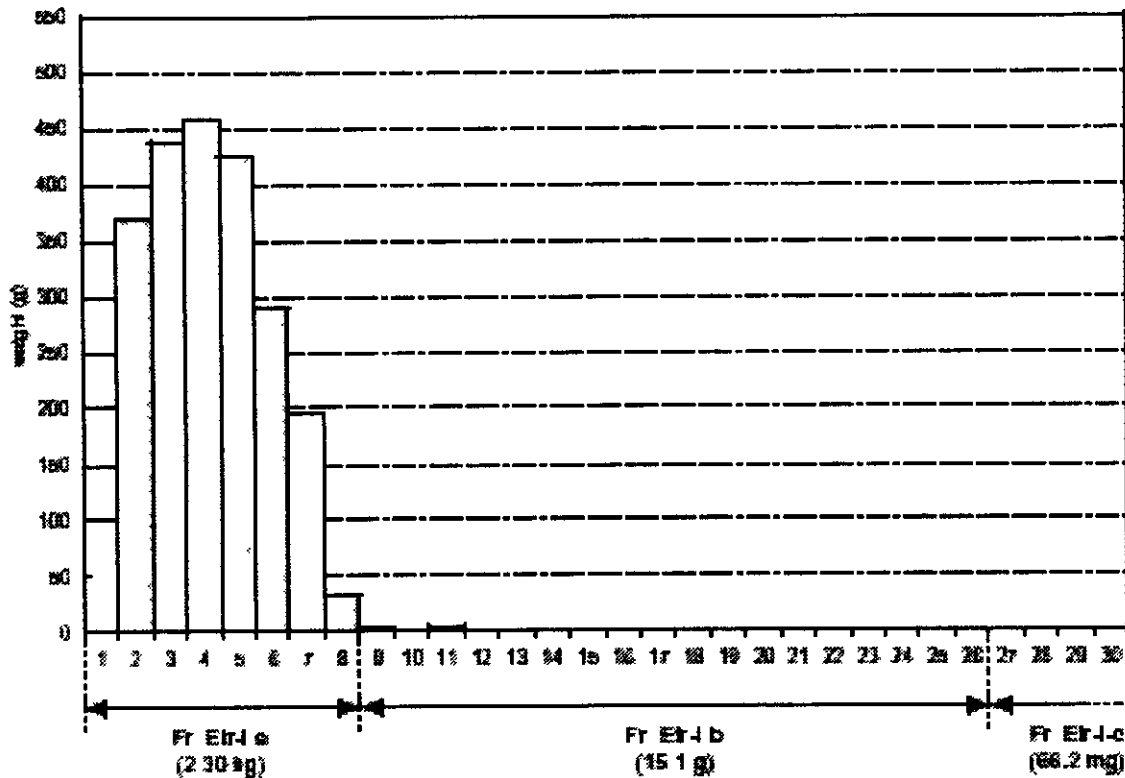


Figure 2. Chromatogram of candle oil (Candelilla CH-25m, Et<sub>2</sub>O-8:92H system)

### Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 著 書

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Tomohito Hamazaki, Harumi Okuyama	The Japan Society for Lipid Nutrition recommends to reduce the intake of linoleic acid	Simopoulos AP, Cleland LG	Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio The Scientific Evidence	World Rev Nutr Diet	Basel, Karger,	2003	109-132

#### 雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Du, C, Sato,S, Watanabe,S, Wu,C-Z, Ikemoto,A, Ando,K, Kikugawa,K, Fujii,Y Okuyama,H	Cholesterol synthesis in mice is suppressed but lipofuscin formation is not affected by long-term feeding of n-3 fatty acid-enriched oils compared with lard and n-6 fatty acid-enriched oils	Biol Pharm Bull	26(6)	766-770	2003
Naito,Y,Nagata,T,Takano,Y, Nagatsu,T,Ohara, N	Rapeseed oil ingestion and exacerbation of hypertension-related conditions in stroke prone spontaneously hypertensive rats	Toxicology	187	205-216	2003
Tatematsu,K, Hirose,N, Ichikawa,Y, Fujii,Y, Takami,A and Okuyama,H	Nutritional Evaluation of an Inter-Esterified Perilla Oil and Lard in Comparison with Butter and Margarine Based on the Survival of Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive (SHRSP) Rats	J Health Sci	50(1)	108-111	2004
Tatematsu,K, Fuma,S, Satoh,J, Ichikawa, Y, Fujii,Y, and Okuyama,H	Dietary canola oil and soybean oil fed to SHRSP rat dams differently affect the growth and survival of their male pups	J Nutr		accepted	2004
Tatematsu,K, Fuma,S, Nagase,T, Ichikawa, Y, Fujii,Y, and Okuyama,H	Factors other than phytosterols in some vegetable oils affect the survival of SHRSP rats	J Chem Toxicol		accepted	2004

20031187

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。