

Fig-3 Liver in dead mouse fed AOML-2 as control. The severe diffusional necrosis is observed in the livers. (H-E stain, X100)

リコーゲンが消失し、中性脂肪が顕著に沈着していた。各 Toc 投与群の死亡マウスでは対照群とほぼ同様の変化が認められたがこれらの障害が非常に軽度であった。各 Toc を投与した群の生存マウスではグリコーゲンは残存し、中性脂肪の沈着は軽度あるいはみられなかった。対照群の生存マウスと比べるとグリコーゲンの残存が多い。また、各 Toc 投与群において障害の程度は Toc 類の効果とよく一致していた。特に、*d-α* Toc と 2 倍量の *dl-α* Toc 投与群では肝臓の障害は少なく (Fig-4)、グリコーゲンは多量に存在していた。肝臓における組織障害の程度の比較から Toc 類の効果の程度を比較することができ、このことは AOML-1 区においても同様であった。

肝臓でのグリコーゲンの消失と中性脂肪沈着の関係とみると、Table-7 に示すようにグリコーゲンの消失とともに中性脂肪の沈着が起るが生理作用の強い Toc ではグリコーゲンは多く中性脂肪の沈着は少なかった。また、組織障害の改善効果は大きかった。

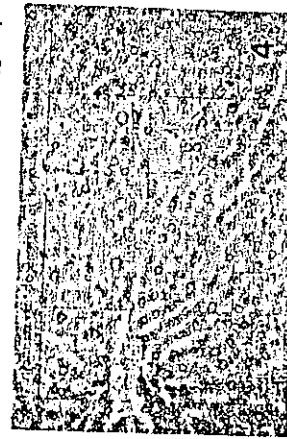


Fig-4 Liver in survival mouse fed *d-α* Toc and AOML-2. The remarkable change can't be seen in the livers. (H-E stain, X100)

3) 肺臓、じん臓：肺、じん臓の組織に対する病理組織学的所見も急性毒性実験時と同様の症状が対照群で認められたが、各種の Toc を投与することにより、AOML-2 区



Fig-5 Lung in dead mouse fed AOML-2 as control with alveolar dilatation, necrosis of epithelial cells and hemorrhage etc. The gross symptoms are observed in the lungs. (H-E stain, X40)

Table-7 Effect of orally administered tocopherols to modify liver triglyceride and glycogen disappearance on the acute toxicity of AOML-1 and AOML-2 in male mice.

Group	Sub-group	Tocopherol dose mg/20g mouse/d	Sample dose ml/20g mouse	Glycogen residue	Triglyceride deposition	Physiological modification
AOML-1	1	None	0.5	-	+++	
	2	<i>d-α</i> Toc 30	0.5	+L	-	+L
	3	<i>dl-α</i> Toc 30	0.5	+	-	L
	4	<i>dl-α</i> Toc 60	0.5	++	-	++
	5	<i>d-γ</i> Toc 30	0.5	L	+	+
AOML-2	1	None	0.3	-	+++	
	2	<i>d-α</i> Toc 30	0.3	++	-	++
	3	<i>dl-α</i> Toc 30	0.3	+L	-	+
	4	<i>dl-α</i> Toc 60	0.3	+++	-	+++
	5	<i>d-γ</i> Toc 30	0.3	+	+	+

Tocopherols were administered for 5d prior to oral AOML-1 and AOML-2 incubation. Each sub-group was consisted of five male mice. The mice were killed at 20h (AOML-1) and 10h (AOML-2) after oral incubation of sample. The staining methods were as follows: for polysaccharide, PAS method; for lipids, sudan black B.

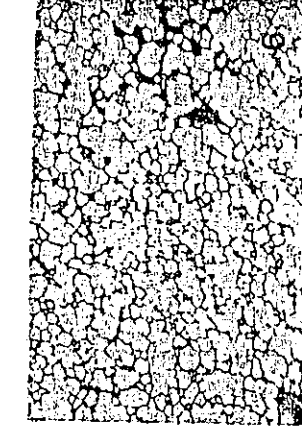


Fig-6 Lung in survival mouse fed *dl-α* Toc and AOML-2. The lung is nearly normal. (H-E stain, X40)

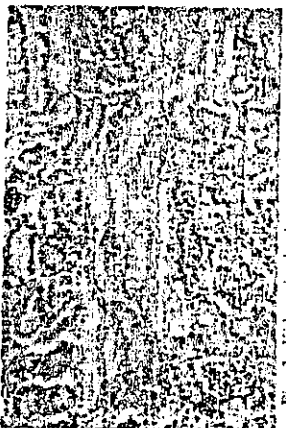


Fig-7 Kidney in dead mouse fed AOML-2 as control with dilatation tubules, necrosis on the renal tubules and necrosis of glomerulus etc. The severe injury is observed in the kidneys. (H-E stain, X100)

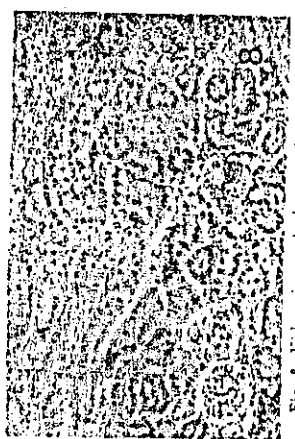


Fig-8 Kidney in survival mouse fed *d-α* Toc and AOML-2. The kidney is nearly normal. (H-E stain, X100)

ML-1, 2 区とも対照群で認められる組織障害は防衛され、小腸、肝臓の増進と同様にその障害は軽度または正常に近い像を示した (Fig-5, 8)。

4 考 察

著者はさきにも過酸化物質及び二次酸化生成物とマウスの急性毒性時々の組織障害は小腸に最も強く現れること

を認めた。すなわち、死亡マウスの小腸には粘膜炎の激死と脂肪の異常沈着が顕著であり、次いで肝、肺、じん臓組織障害を認めた。それら各組織の障害は *d-α*, *dl-α*, *d-γ* Toc を投与するといずれもその毒性を抑え、生存期間は延長され、死亡数は減ることを認めた。また形態学的観察からも添加効果が認められた。すなわち、各 Toc 投与群の生存マウスにはその効果が顕著に現れ、小腸粘膜の上皮細胞の空胞形成が軽度となり、正常に近い像を示し、Toc 無添加の対照群でみられた症状が軽減された。このことから Toc は小腸の組織障害を防御する類を与えた群のうち、生理作用の最も強い *d-α* Toc の効果は大きく、また 2 倍量の *dl-α* Toc を与えた群には層の効果が認められた。一方、抗酸化力の強い *d-γ* Toc の効果は劣った。いずれにしても、過酸化物質及び二次酸化生成物投与時々の小腸の上皮細胞の障害に対し、各 Toc の事前投与は正常に近い細胞構造を示した。Bergran であり、補遺ら¹⁰⁾は *d-α* Toc は生体内で生体膜の機能維持に際しては、誘引¹¹⁾は事前投与でも同時投与でもともに抗酸化作用を示し、炎症の激化と拡大は抑制されると述べている。また、岩瀬¹²⁾はビタミン E は細胞分裂を促進物質として細胞増殖並びに機能維持に不可欠因子であるとしている。

本実験からも Toc の効果は抗酸化性のみでは説明できず、Harm¹³⁾が知したように Toc 類は小腸粘膜を安定化し、取り除く Barrier を改善し、膜のぜい弱性を抑制する一方、細胞の増殖作用、抗酸化作用など重要な役割を果していると考えられる。

Olcott¹⁴⁾は過酸化物質を摂取し内注射した時、事前に Toc を摂取し内注射しても LD₅₀ 量を変化させないとしたが、これは投与方法の差異によるものと考えられる。

各 Toc 投与は小腸以外他の組織障害も著しく改善する。すなわち、肝臓においては対照群の死亡マウスでみられた各種の症状は Toc 類を与えたことにより軽減された。過酸化物質及び二次酸化生成物により誘起される酸化中に顕著な変化はトリコリン¹⁵⁾の消失とトリコリン¹⁶⁾の増加であったが、これらの症状も Toc 投与群の生存マウスでは改善され、グリコーゲンは残存しトリコリン¹⁷⁾の沈着もおこっていない。*d-α* Toc と 2 倍量の *dl-α* Toc 投与群では肝臓の障害は少なくグリコーゲンは多量に存在していた。肝臓の軽減の程度も小腸の場合と同様、抗酸化力の強い *d-γ* Toc より *d-α* Toc の効果が顕著であった。このことから肝臓障害に対する Toc 類の抑制作用として抗酸化力以外の生理作用を想定せざるを得ないが、本研究ではこの防御作用機構がいかなるものかは究明できなかった。衣巻¹⁸⁾は *dl-α* Toc をあらかじめ飼料に混合して与えること肝臓での過酸化

6-メチル-5-ヘプテン-2-オンとマロノニトリルの反応

渡辺昭次*・藤田 力*・須賀恭一*・阿部晴彦*・鶴田治樹**

* 千葉大学工学部工業化学科 (千葉市弥生町)
** 両砂香料工業 (株) 綜合研究所

Reaction of 6-Methyl-5-hepten-2-on with Malononitrile

Shoji WATANABE*, Tsutomu FUJITA*, Kyoichi SUGA*,
Haruhiko ABE*, and Haruki TSURUTA**
* Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering,
Chiba University (Yayoi-cho, Chiba)
** Central Research Laboratory, Takasago Perfumery Co.,
Ltd. (No. 35, 5-Chome, Kamata, Ohta-ku, Tokyo)

Unsaturated nitriles were synthesized in good yields from 6-methyl-5-hepten-2-one and active methylene compounds containing nitrile group. From methyheptenone and malononitrile, 2-cyano-3,7-dimethyl-2,7-octadienenitrile was obtained in 91% yield. The unsaturated nitriles were alkylated at the 3-position by various Grignard reagents. Furthermore, reduction and hydrolysis of these unsaturated nitriles were examined.

1 序

テルペン系化合物の合成の重要な中間体である 6-メチル-5-ヘプテン-2-オン(1)は、最近工業的に多量に製造できるようになり、香料として重要なリナロール、ゲラニオールなどの合成原料となっている。このように容易に入手できるようになった(1)の利用として、本研究では(1)とマロノニトリル、シアノ酢酸、シアノ酢酸エチルなどとの反応について検討し、また反応生成物と Grignard 試薬との反応について述べる。

2 実 験

2.1 メチルヘブテノン(1)とマロノニトリル(2)の反応

方法A: ニスチル管に付けた丸底フラスコに酢酸アンモニウム 0.8g (0.01 mol)、酢酸 1.2g (0.02 mol)、ペンゼン 100 ml、(2) 7.9g (0.12 mol)、(1) 12.6g (0.1 mol) を入れて 1h 還流した。反応溶液を水洗後、硫酸ナトリウム(無水物)で乾燥した。ベンゼンを留置後、減圧蒸留して次の留分を得た。留分(i): bp ~98°C/3 mmHg, 収量 0.6g; 留分(ii): bp 98~101°C/3 mmHg, 収量 2.6g。留分(i)は原料(1)と(2)の混合物、留分(ii)は 2-シアノ-3,7-ジメチル-2,6-オクタジエンニトリル(3) (純度 98%) (収率 91%) であった。化合物(3)は次の性質を示した。IR (cm⁻¹): 2250 (C≡N)

2.2 メチルヘブテノン(1)とシアノ酢酸エチル(4)の反応

方法C: 金属ナトリウム 2.3g (0.1 mol) をエタノール 100 ml に溶かした溶液に (4) 13.6g (0.12 mol) を加え 0.5h かくはんした後、水で冷却しながら (1) 12.6g (0.1 mol) を滴下し 6h かくはんした。反応混合物をイソプロピルエーテルで抽出しエーテル溶液は水で洗浄後、硫酸ナトリウム(無水物)で乾燥した。エーテルを留置後、減圧蒸留して次の留分を得た。留分(i): bp ~59°C/2 mmHg, 収量 5.8g; 留分(ii): bp 98~105°C/2 mmHg, 収量 9.9g。留分(i)は原料(1)と(4)の混合物であり、留分(ii)は 2-シアノ-3,7-ジメチル-2,6-オクタジエンニトリル(3) (純度 95%以上) (収率 44%) であった。IR (cm⁻¹): 2245 (C≡N), 1730 (C=O)

対する Toc 類の防腫作用として抗酸化性以外の生理作用が推察された。
3) これらの効果は二次酸化生成物投与群において特に顕著であった。

本研究を行うに当たり、各種 Toc を提供されたニューザイ株式会社、及び組織学的研究に対し、親切な御指導をなされた東北大学農学部畜産学系野村忠彦助教に厚く感謝の意を表します。
本研究は昭和54年4月第30回日本薬業・食糧学会総会で発表された。(昭和53年4月17日受理)

文 献

- 1) 白 台理, 野村忠彦, 金田尚志, 薬業と食糧, 29 (2), 85 (1976)
- 2) 白 台理, 森田尚志, 油化学, 21, 606 (1973)
- 3) H. Kaunitz, C.A. Slanetz, R.E. Johnson, J. Nutr., 55, 577 (1955)
- 4) E. Degkwitz, K. Lang, *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 64, 893 (1962)
- 5) J. Bunyan, J. Greer, E.A. Murrell, A.T. Diplock, M.A. Cawthorne, *Br. J. Nutr.*, 22, 97 (1968)
- 6) 衣巻豊輔, 日本誌, 38 (8), 854 (1970)
- 7) 山川隆重, 柴田寛和, 衣巻豊輔, 森田拓道, 藤井節郎, ビタミン, 48 (3), 145 (1972)
- 8) 柴田寛和, 衣巻豊輔, 山川隆重, 片山 謙, ビタミン, 49 (5), 230 (1971)
- 9) J.G. Bergan, H.H. Drapper, *Lipids*, 5, 976 (1976)
- 10) 徳田長典, 吉野久恵, 松川哲子, 五十嵐 博, ビタミン, 45, 653 (1972)
- 11) 藤野利彦, 小川昭明, ビタミン, 48 (3), 121 (1975)
- 12) 岩淵敦子, ビタミン, 50 (5), 169 (1976)
- 13) L.R. Horn, M.O. Barker, G. Reed, M. Bin, J. Nutr., 104, 192 (1974)
- 14) H.S. Olcott, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 114, S20 (1953)
- 15) 衣巻豊輔, 柴田寛和, 荒井善哉, 栗 秀生, ビタミン, 34 (2), 268 (1968)

5 要 約

自動酸化油投与マウスの急性毒性による各組織障害を各種 Toc が防腫しうるかを逐次を知るため、d-α, dl-α, d-γ Toc をマウスに事前投与し病理組織学的変化を比較し、つぎの結果を得た。

- 1) 各種の Toc を草飼に経口投与すると d-α, dl-α, d-γ Toc はいずれも過酸化物質及び二酸化生成物の毒性を抑え、生存時間は延長され、死亡数も減ることを認められた。また、病理組織学的観察から追加効果も認められ、各臓器の障害は軽減される。
- 2) 同一量の Toc を与えた時のうち抗酸化性の強い d-γ Toc による生理作用の強弱は Toc を与えた群に二層の効果を認められた。このことから、各組織の障害に

化物によるトリグリセリドの蓄積は認められず、加熱分解物に対しては無効としたが、本実験においては二次酸化生成物を含むリノール酸メチルに対してはトリグリセリドの蓄積を改善させた。

肺、心臓でも小腸や肝と同様なことがいえる。本研究において各 Toc の効果は二次酸化生成物を投与した AO=ML-2 区においてははっきりと現れた。これは投与量の差によるものと思われるが、その原因はなお不明である。以上のように各 Toc の効果は全組織に表れていたが、これら各 Toc がどの点で組織障害をブロックしているのか今後の研究にまつところが多い。各臓器に対する Toc の防腫作用と各種 Toc の抗酸化効果の強さは一致していなかったことは、自動酸化油毒性の防腫には抗酸化性以外の生理作用が関与していることを示唆している。

S-3. 油脂の酸化および加熱による変性と毒性

松尾 登

成蹊大学工学部 工業化学教室

Denaturation and Toxicity by Autoxidation and Heat Treatment of Oils and Fats

Noboru Matsuo
Department of Chemistry, College of Engineering,
Seikei University.

Summary

(1) When the diet containing 5% ethyl esters of highly unsaturated fatty acids obtained from cuttle fish oil was given to rat, it showed quite the same good nutritive effect as the diet containing ethyl oleate.
To the contrary, the autoxidized form of the above-mentioned unsaturated fatty acid esters showed an extremely toxic effect to rat.
The toxicity of autoxidized fatty acid ester ran parallel to the content of peroxide.

When autoxidized ethyl ester of unsaturated fatty acid was mixed with aqueous solution of protein and left at 37°C, the protein degenerated and orange-brown colored precipitate was formed.

Enzymes were also affected in activity by autoxidized ester.
(2) The polymerized fish oil obtained by heating at 250°C for 10 hours showed remarkable toxicity when rats were fed on basal diet containing 20% of it. This toxicity was found due to cyclic compounds, which was separated by the urea adduct forming method. The rats all died in three or four days, when the cyclic compound was given to them, but did not die at all with straight chain compound.

Ethyl linolenate, which was thermally polymerized at 250°C in a carbon dioxide stream for 40 hours, had a toxic effect upon a rat. The origin of the toxicity of thermally polymerized ethyl linolenate was a cyclic monomer, and the main component of this cyclic monomer was a compound having a cyclohexene ring.

An adduct compound of ethyl β -eleostearate and acrolein having cyclohexene ring in its molecule was synthesized. This showed severe toxicity when rats were fed on basal diet containing 10% of it.

自動酸化または加熱重合をうけた油脂は、新鮮なものに比して栄養価は低下し、さらに毒性を現すことが最近の研究によって明らかとなった。魚油、超物油およびそれから分離した脂肪酸を用いて、これを酸化または加熱した場合の毒性と毒性について諸者の研究結果を述べる。油脂の自動酸化による変性と毒性
最初に魚油から分離した高度不飽和脂肪酸を用いて検討した。

一患者でケイ酸口瘡法で再検し異常を認めなかったとしていた。筆者らはPNHの一例を呈したもので、TLCによる赤血球膜質の分析をおこなったが、正常人に比し著明な変化を認めることができなかった。

ま と め

TLCにデンスシトメトリートによる化学的定置法を用い、血中脂質の分離測定を試み、各種疾患で血中脂質の変化を追究し、つぎの結果を得た。

- 1) TLCとデンスシトメトリートの併用により中性脂質の分離測定が可能である。
- 2) TLC分離後のP定量によるリン脂質分離測定法は精度、再現性がよく臨床的応用に便利である。
- 3) 肝疾患ではとくに閉塞性黄疸でコレステロール、トリグリセリドの増加、リゾリンチン比率の減少、リンチンの増加を認めるものが多い。
- 4) ネフローゼ症候群・高血圧・糖尿病などに伴う高コレステロール血症ではリン脂質分離比に著明な変化を認めなかった。
- 5) 発作性夜間血色素尿症における赤血球リン脂質分離測定では病態に比し有義の変化がみられなかった。

references

- 1) Weicker, H.: *Klin. Wschr.*, 37, 763 (1959)
- 2) Habermann, E., Bandlow, G., Krusche, B.: *Klin. Wschr.*, 39, 816 (1961)
- 3) Vogel, W. C., Doizaki, W. M., Zieve, L.: *J. Lipid Res.*, 3, 188 (1962)
- 4) Zöllner, N., Wolfman, G.: *Klin. Wschr.*, 41, 1101 (1962)
- 5) 荒木英昭: 日新医学, 50, 85 (1953)
- 6) Bartlett, R. G.: *J.B.C.*, 234, 466 (1959)
- 7) Privett, O. S., Blank, M. L., Lundberg, W. O.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 38, 312 (1961)
- 8) Phillips, G. B.: *J. Clin. Invest.*, 39, 1639 (1960)
- 9) Nye, W. H. R., Waterhouse, C., Marinetti, G. V.:

肝疾患とくに閉塞性黄疸における血清リン脂質分離の変動(Lyの低下、Lの増大)はPhillips⁸⁾もほぼ同様の所見を報告しており、このうちLの増大は遊離コレステロールの増加とともに主として肝からの胆汁排泄障害を反映するもので、これに肝実質障害が加わって上記のパターンが観察されたものと考えられる。

一方ネフローゼ症候群では肝疾患と逆方向のリン脂質分離の変動(LyとSの比率の増加とLの減少)をきたすとの報告⁹⁾があるが、筆者の症例ではほぼ正常型を示しており、この相違は原疾患の種類と治療(ステロイド)の影響によるものと思われる。

赤血球リン脂質分離の正常値はカラムクロマト法¹⁰⁾でK 40%, L 32.9%, S 22.8%, Ly 1.9%, ケイ酸ろ紙法¹¹⁾でK 40%, L 30%, S 20%, Ly 2%, inositol phosphatide 4%とされており、本報告ではこれらに比しKがやや少なくSが多い(TLCでinositol phosphatideはRfがSに近く、これを台として測定している可能性はある)。例数も少ないので、今後検討していきたい。

発作性夜間血色素尿症(PNH)の赤血球リン脂質分離異常(コリン含有リン脂質の相対的減少)はHarris¹²⁾らにより報告され注目されたが、その後Barry¹³⁾は同

これを室温に放置して自動酸化せしめたものはよび対照としてオレイン酸エチルを用いて、体重約60gの白ネズミに、基礎飼料に対して5% (約5 ml) 与えて動物実験を行なったところ table 2 に示すように、酸化しない高度不飽和脂肪酸エチルは、オレイン酸エチルと同様な栄養価を示したのに対して、自動酸化したものを与えた白ネズミは何れも数日して死亡した。高度不飽和脂肪酸エチルを自動酸化せしめたものは劇しい毒性を現わすことを確認した。fig. 2 は自動酸化したエステルを5% 純、間隔をおいて与え、途中から投与を中止した場合の白ネズミの1例であって、特異な外見的症状を呈し、顔の毛は脱毛し、口および後肢ははれ上り、腹部にひび割れを生じて出血をみた。

以上の結果から魚油そのものも自動酸化せしめたならば毒性を現わすであろうと推察し、イカ油を自動酸化せしめたもの (酸化物: 1140me/kg) を白ネズミに20% 配合投与したところ、何れも10~15日にて死亡し、新鮮なものを与えた場合は良好な成長を示した。

高度不飽和脂肪酸エチルエステルの自動酸化による酸化物はよび脂肪酸の酸化と日致との関係は fig. 3 に示すようであって、自動酸化の程度は種々異なるエステルで動物実験を行なうと、毒性は過酸化物質と平行することや、リノレン酸、リノール酸の場合においても過酸化物質を多量に含有せしめたならば、毒性を示すことが明らかとなった。

また自動酸化物から過酸化物を除去したものは、まったく毒性を示さず成長が良好なことよりして、自動酸化物の毒性は、酸化によって生じた過酸化物質によることが能認された。

つきに毒性の原因を明らかにするため、自動酸化物の蛋白質、アミノ酸、酵素に対する作用について検討した。約2%の卵白水溶液または卵アルブミン水溶液40ml に対して高度不飽和脂肪酸エチルエステルまたはその自動酸化物 (過酸化物質: 2250me/kg) 5 ml を添加、よく振盪した後、37°C に放置した。酸化しないエチルエステルを加えた方は殆んど外見的变化を示さないが、酸化エステルを加えた方は、次第に黄褐色に変じ、20時間経過後は凝膠状の硬塊状の硬化した蛋白質が沈殿しはじめ、時間の経過とともに変性沈殿する蛋白質の量を増し、長時間を経た沈殿は褐色を呈している。

これを室温に放置して自動酸化せしめたものはよび対照としてオレイン酸エチルを用いて、体重約60gの白ネズミに、基礎飼料に対して5% (約5 ml) 与えて動物実験を行なったところ table 2 に示すように、酸化しない高度不飽和脂肪酸エチルは、オレイン酸エチルと同様な栄養価を示したのに対して、自動酸化したものを与えた白ネズミは何れも数日して死亡した。高度不飽和脂肪酸エチルを自動酸化せしめたものは劇しい毒性を現わすことを確認した。fig. 2 は自動酸化したエステルを5% 純、間隔をおいて与え、途中から投与を中止した場合の白ネズミの1例であって、特異な外見的症状を呈し、顔の毛は脱毛し、口および後肢ははれ上り、腹部にひび割れを生じて出血をみた。

以上の結果から魚油そのものも自動酸化せしめたならば毒性を現わすであろうと推察し、イカ油を自動酸化せしめたもの (酸化物: 1140me/kg) を白ネズミに20% 配合投与したところ、何れも10~15日にて死亡し、新鮮なものを与えた場合は良好な成長を示した。

高度不飽和脂肪酸エチルエステルの自動酸化による酸化物はよび脂肪酸の酸化と日致との関係は fig. 3 に示すようであって、自動酸化の程度は種々異なるエステルで動物実験を行なうと、毒性は過酸化物質と平行することや、リノレン酸、リノール酸の場合においても過酸化物質を多量に含有せしめたならば、毒性を示すことが明らかとなった。

また自動酸化物から過酸化物を除去したものは、まったく毒性を示さず成長が良好なことよりして、自動酸化物の毒性は、酸化によって生じた過酸化物質によることが能認された。

つきに毒性の原因を明らかにするため、自動酸化物の蛋白質、アミノ酸、酵素に対する作用について検討した。約2%の卵白水溶液または卵アルブミン水溶液40ml に対して高度不飽和脂肪酸エチルエステルまたはその自動酸化物 (過酸化物質: 2250me/kg) 5 ml を添加、よく振盪した後、37°C に放置した。酸化しないエチルエステルを加えた方は殆んど外見的变化を示さないが、酸化エステルを加えた方は、次第に黄褐色に変じ、20時間経過後は凝膠状の硬塊状の硬化した蛋白質が沈殿しはじめ、時間の経過とともに変性沈殿する蛋白質の量を増し、長時間を経た沈殿は褐色を呈している。

また自動酸化物から過酸化物を除去したものは、まったく毒性を示さず成長が良好なことよりして、自動酸化物の毒性は、酸化によって生じた過酸化物質によることが能認された。

つきに毒性の原因を明らかにするため、自動酸化物の蛋白質、アミノ酸、酵素に対する作用について検討した。約2%の卵白水溶液または卵アルブミン水溶液40ml に対して高度不飽和脂肪酸エチルエステルまたはその自動酸化物 (過酸化物質: 2250me/kg) 5 ml を添加、よく振盪した後、37°C に放置した。酸化しないエチルエステルを加えた方は殆んど外見的变化を示さないが、酸化エステルを加えた方は、次第に黄褐色に変じ、20時間経過後は凝膠状の硬塊状の硬化した蛋白質が沈殿しはじめ、時間の経過とともに変性沈殿する蛋白質の量を増し、長時間を経た沈殿は褐色を呈している。

また自動酸化物から過酸化物を除去したものは、まったく毒性を示さず成長が良好なことよりして、自動酸化物の毒性は、酸化によって生じた過酸化物質によることが能認された。

Table 1 Properties of the fractions of highly unsaturated fatty acids (ethyl esters)

Fraction No.	Temperature, °C/2 mm Hg	Yield, percent	Yield, percent of raw oil	Iodine value, WIjs	n _D ²⁰	Saponification value
1	-180	10.8	3.0	232.3	1.4652	179.2
2	180-192	16.0	4.4	276.3	1.4700	176.0
3	192-205	21.3	5.8	320.0	1.4771	168.7
4	205-215	20.0	5.5	358.7	1.4823	163.9
5	215-227	19.5	5.4	384.9	1.4861	160.2
6	227-	5.0	1.4	386.1	1.4902	155.7
7	Residue ²	7.3	2.0	-	-	-

1 Temp. of the first drop the distillate: 140°C.
2 Solid at room temperature.

Table 2 Feeding record of rats fed unsaturated fatty esters

Kind of Ester Fed	Sex	Increase of Body Weight, Gm.		
		10th Day	20th Day	30th Day
ethyl oleate	♀	+11.0	+34.0	+61.0
	♂	+14.0	+51.2	+113.5
	♀	+15.0	+40.5	+70.0
	♀	+12.5	+47.5	+83.0
ethyl ester of unsaturated fatty acid	♀	+7.7	+41.0	+85.0
	♀	+7.0	+38.5	+77.0
	♂	+7.0	+44.5	+75.0
	♀	+3.2	+28.5	+66.0
oxidized form of the above ester	♀	-3.8 (died on 6th day)	-	-
	♀	-5.0 (died on 7th day)	-	-
	♂	-8.5 (died on 3rd day)	-	-



Fig. 2 Typical example of effect of feeding oxidized esters to mature rats

Fig. 3 The change of peroxide (I) and iodine values (II) of the fatty acid ester exposed to air at room temperature (2-18°C)

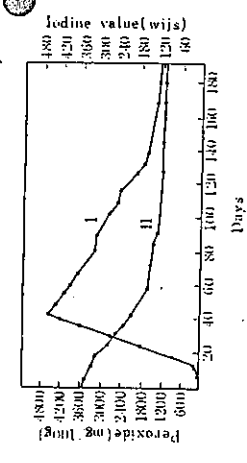


Fig. 1 Separation of highly unsaturated fatty acids by soda-acetone method

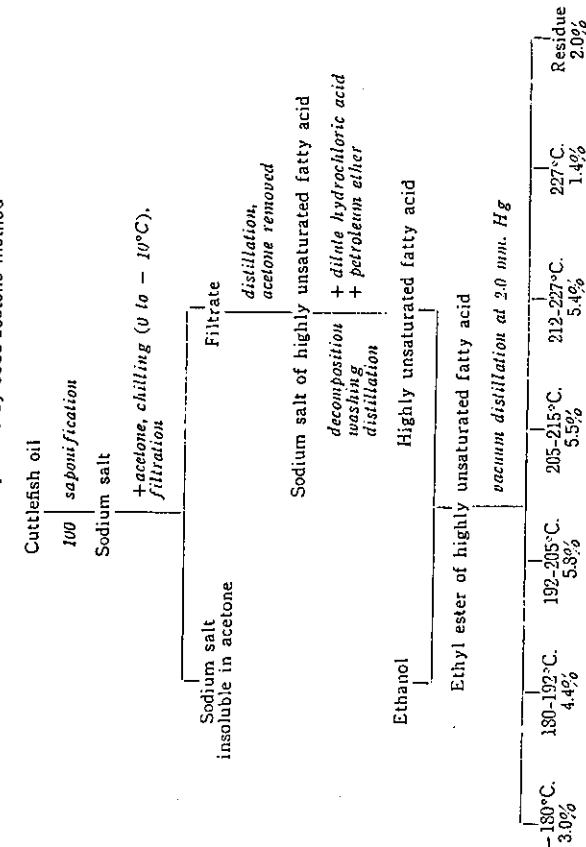
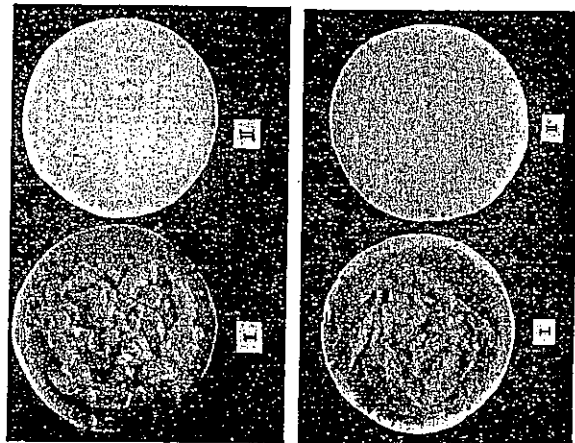


fig. 4は5日間以上の75時間経過後経過したものの状態では酸化したものを加えた方であり、IIは酸化しないものを加えた方から、肝臓に何も残っていない、このように著しく蛋白質の性質を変え、付加法による酸化から酸化エステルは酵素作用を抑制または停止することから考え、succinodihydrogenase, salivary amylase, amylase に好する作用を抑制したが、酸化エステルは明らかにその作用を抑制または停止せしめ、またアミノ酸も種々変化を受けける。

table 3に示すように健康な体重約1.5kgのウサギに、高度不飽和脂肪酸エステル0.8mlを毎日

fig. 4 Denaturation of protein by autoxidized ethyl ester of highly unsaturated fatty acid



upper figure after 51 hrs.
lower figure after 75 hrs.

table 3 Feeding record of rabbits fed autoxidized esters

Sex	Initial weight, Gm.	Final weight, Gm.	Wt. decreased, Gm.	
A ₁	1500	1200	-210	died on 5th day
A ₂	1570	1350	-220	died on 12th day
A ₃	1500	1530	+20	died on 15th day
A ₄	1720	1575	-145	died on 5th day

日1回経口的に投与すると約2週間までに何れも死亡する。死亡したウサギの胃はその組織が著しくおかされてあることを認め、とくにA₁の場合には、胃壁が2カ所程非常に厚くなくないのを見た (fig.5)。腸壁は健康なものに比べて弾力性が弱く、白ネズミの場合においても同様であった。自動酸化物を与えた白ネズミの病理的研究は、徳島大学医学部病理学教室 緒方研究室、緒方、大竹らによって説明されている。なお酸化した油脂の毒性については、東海区水産研究所 東研究室 においても多くの研究が行なわれた。

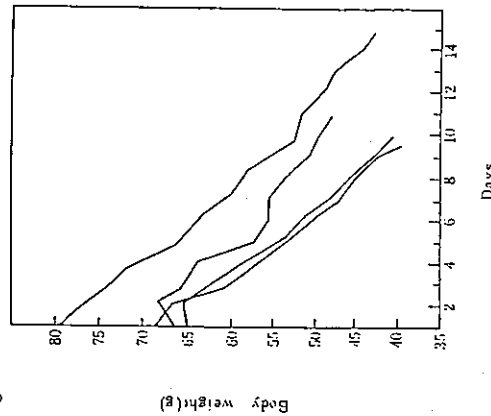
油脂の加熱による変化と毒性
加熱重合の機構からして試料油の不飽和度の高低が重合に最も密接な関係があるので、まことに不飽和度の高い魚油 (イカ油) を用いて加熱による変性と消滅の究明を行なった。精製イカ油を基礎飼料に20%混合、白ネズミに投与した場合良好な成長を示すのに対して、このイカ油を空気中または炭酸ガス気流中において、

fig. 5 Inside of the stomach of rabbit which died after taking 0.8ml of the autoxidized ester once every day



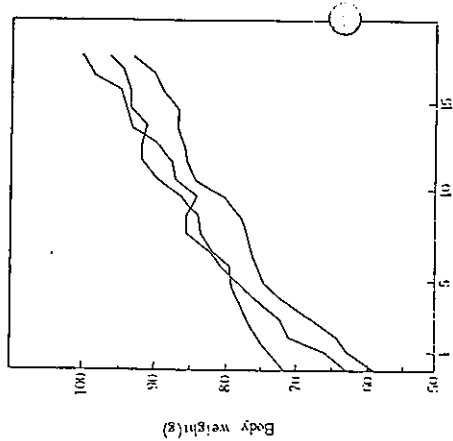
The coats of the stomach are ulcerous at the points marked a and b.

fig. 6



Growth of rats fed on basal diet containing 20 per cent of polymerized cuttle fish oil heated at 250°C for ten hours

fig. 7



Growth of rats fed on basal diet containing 20 per cent of ethyl linolenate

250°Cに10時間加熱重合したものは、20%混合投与した場合、fig. 6のように大体15日までに総べて死亡した。しかし5%混合程度にその量を減ずると、発育成長は劣るけれども死亡するものはなかった。

加熱重合したイカ油をカセイソーダを触媒としてエタノリスしてエチルエステルとなし、尿素付加法を用いて、尿素と付加物を造るものと、造らないものとに分離した。尿素付加物を造るものは置換糖蜜のものとあり、造らないものは環状糖蜜のものと考えられ、白ネズミによる動物実験の結果は、置換糖蜜の場合は剛しい新性を示した。環状糖蜜のものを与えた場合は剛しい新性を示した。

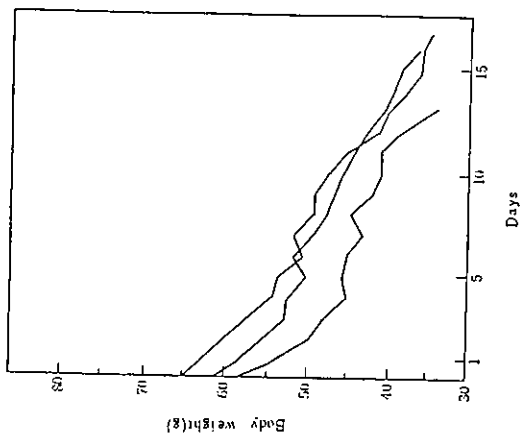
食用油に用いる精製菜種油によって実験を行なっても、魚油の場合より劣るけれども、環状糖蜜のものは新性を示した。

加熱の場合の構造変化と、新性との関係を検討するたため、アマニ油から臭化法によって粗リノレン酸エステルを分け、真空蒸留 (1.5mmHg) して、167~170°Cの留分を得た。これを炭酸ガス気流中において、250°Cに40時間加熱 (無触媒) して加熱重合リノレン酸エステルとなした。ついで尿素付加法を行ない、得られた環状糖蜜エステルを真空蒸留して、1.8~2.0mmHg, 175°Cまで留出する留出エステルと残留エステルとに分離した (各エステルの性状は table 4に示す)

table 4 Properties of esters

	n_D^{20}	iodine value, Wjajs	saponification value	acid value	molecular weight, Rast
ethyl linolenate	1.4688	242.5	183.1	1.0	302
polymerized ethyl linolenate	1.4838	157.5	170.1	6.5	
straight-chain ester	1.4692	201.5	177.4	0.4	
cyclic ester	1.4891	142.5	168.6	7.3	
distilled ester	1.4751	159.4	171.0	7.4	293
residual ester	1.4948	135.8	168.5	8.2	

fig. 8 Growth of rats fed on basal diet containing 20 per cent of polymerized ethyl linolenate



All rats died at the ends of the curves.

fig. 10 Infrared absorption spectra of ethyl linolenate (I) and distilled cyclic ester (II)

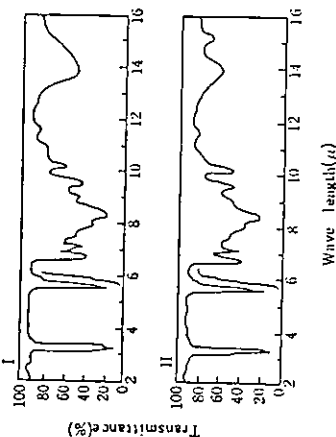
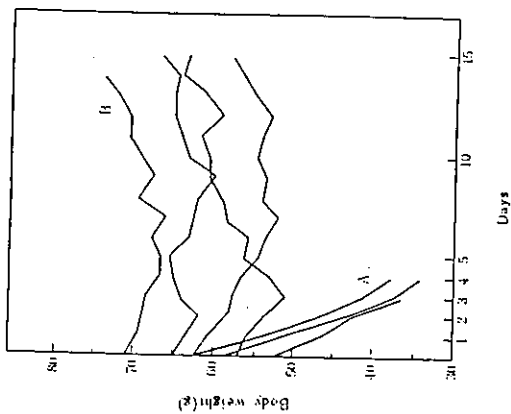


fig. 9 Growth of rats fed on basal diet containing 20 per cent of distilled cyclic ester (A) and residual ester (B)



All rats died at the end of the A curve.

fig. 11 Growth curves of rats fed on basal diet containing ten per cent of adduct of ethyl β -eleostearate and acrolein

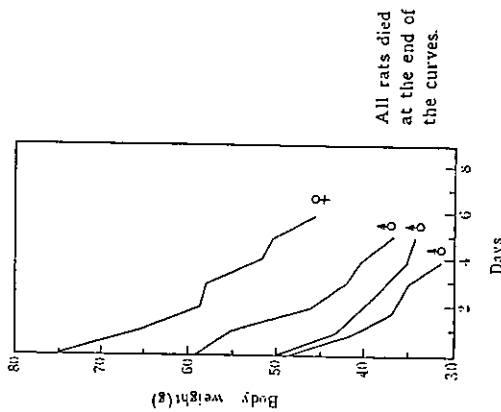


Table 5 Properties of tung oil and derivatives

No.	Sample	n_D^{20}	Iodine value, Wijis	Saponification value	Acid value	Molecular weight, Rast
i	tung oil	1.5063	173.7	194.2	5.4	—
ii	ethyl β -eleostearate	1.4892	165.5 (166.0)	182.2 (183.0)	2.0	301 (306)
iii	ethyl β -eleostearate acrolein adduct	1.4847	139.8 (140.3)	153.6 (154.7)	1.6	367 (362)

白ネズミによる動物実験の結果は fig. 7 のように、原リノレン酸エチルではよく成長するのに対して、加熱重合したリノレン酸エチルの場合は fig. 8 のように15日前後で全部死亡する。重縮合のものは原リノレン酸エチルと同様な栄養価を示すが、環状構造のものは毒性を示し、それを算定蒸留して分けた留出エステルと残留エステルと比較すると fig. 9 の A, B の如くであって、毒性の主体は留出エステルにあることが明らかとなった。この留出エステルは分子重、赤外線および紫外線吸収スペクトル、そのほかの性状からして、環状単量体であると考えられ、fig. 10 のように、リノレン酸エチルに比べて15.2 μ (660cm⁻¹)の吸収が新たに現れることなどからして、シクロヘキセン環を有し、2つの側鎖の一方に、二重結合1個を有する化合物を含むことが認められた。さらにこの留出エステルの芳香族化を行なってその構造を検討した。その後、加熱重合したアマニ油から遊離と同様な方法によって得た留出エステルが、前述のような構造の化合物を主成分として含むことが、Mac Donald¹⁷⁾, Hutchison¹⁸⁾ らによっても確認されている。

まとめ

1) 魚油から分離した高不飽和脂肪酸をエチルエステルとしたものは、オレイン酸エチルと同様な栄養価を示すが、これを自動酸化せしめたものは著しい毒性を示し、この毒性は過酸化物質と平行する。自動酸化した不飽和脂肪酸エステルは蛋白質、アミノ酸の性質を要え、酵素作用を抑制または停止せしめる。自動酸化エステルを白ネズミなどに与えた場合の病理的変化も究明した。

2) 魚油を空気にさらした場合は炭酸ガス気流中において250°Cに10時間加熱して得られた加熱重合油は白ネズミに対して毒性を示す。この毒性の主因は加熱重合油に生じた環状化合物によるものであり、直鎖化合物は毒性を示さない。リノレン酸エチルを炭酸ガス気流中で、250°Cに40時間加熱重合し、これから炭酸法と真空蒸留による環状単量体を分離したが、このものは剛しい毒性を示した。分子内にシクロヘキセン環を有する化合物が、この環状単量体の主成分であると認められたので、 β -エレオステアリン酸エチルとアクロレインの付加物を合成して検討したところ同様な毒性を示した。

references

- 1) 松尾: *J. Biochem.*, 41, 431 (1954)
- 2) 外山, 土屋: *工化*, 28, 963 (1925)
- 3) 松尾: *栄養と食餌*, 10, 255 (1958)
- 4) 松尾: *J. Biochem.*, 41, 647 (1954)
- 5) 松尾: *生化学*, 29, 769 (1958)
- 6) 金田, 桜井, 石井: *日本誌*, 20, 50 (1954)
- 7) 松尾: *化学の発展*, 11, 970 (1957)
- 8) 松尾: *生化学*, 29, 773 (1958)

- 9) 榎方, 大竹, 岡野, 北川, 高永, 秋山: *Tokushima J. Exp. Med.*, **2**, 150 (1955)
- 10) 益田, 石井: *日本誌*, **19**, 171 (1953)
- 11) 益田, 西井, 石井: *日本誌*, **20**, 658 (1954)
- 12) 松尾: *生化学*, **29**, 885 (1958)
- 13) 松尾: *栄養と食糧*, **10**, 255 (1959)
- 14) 松尾: *Tokushima J. Exp. Med.*, **7**, 341 (1961)
- 15) 松尾: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **35**, 105 (1962)
- 16) 松尾: *生化学*, **35**, 313 (1963)
- 17) MacDonald, J. A., McInnes, A. G., Cooper, F. P.: *Canadian J. Chem.*, **39**, 1906 (1961)
- 18) Hutchison, R. B., Alexander, J. C.: *J. org. chem.*,

discussion

内藤周幸 (東大・医・内科): 13日図93のヨーロッパの要
化の額は、何処にも見られるものですか。

S-4. 血中脂質の transport および代謝について —ネフローゼ症候群における脂質代謝異常—

大島 研三 八杉 忠男 新 美 毅
川 名 広 明 清 水 隆 飯 島 直 直
羽 尾 裕 司 菅 原 伸 昌 木 沢 滋 夫

日本たばこ産業株式会社 大島研三

Metabolism and Transport of Fatty Acid in Human Plasma —Lipoprotein Fatty Acid Composition of Nephrotic Subject—

Kenzo Oshima, Tadao Yasugi, Takeshi Niimi,
Hiroaki Kawana, Takashi Shimizu, Makoto Ishima,
Hiroshi Hao, Toshimasa Sogawara, Shigeo Nagasawa
Oshima's clinic, School of Medicine, Nihon University.

summary

Previously, we demonstrated a possibility that the hyper-low density lipoproteinemia in nephrotic state may be caused by the deficiency of heparin—lipoprotein lipase system, especially the deficiency of blood heparin. In this study, fatty acid metabolism of this disease were studied.

1) In the fatty acid compositions of plasma, SFO-20 lipoprotein and high density lipoprotein, percentages of palmitic and oleic acid were significantly elevated, although the percentage of linoleic acid was reduced.
2) In the experiment by the administration of high fat diet, reductions of turnover of various fatty acids from chylomicron and lower density lipoprotein to higher density lipoprotein and albumin were observed in the nephrotic state.

3) By the complete 72 hours fasting study, fatty acid compositions of normal subjects were changed to almost similar to those of the diseased subjects.
4) From above mentioned evidences, possibility that both of hyperlipoproteinemia and abnormalities of fatty acid compositions in the nephrotic state may be explained by a same causative factor, namely the deficiency of heparin—lipoprotein lipase system, was discussed.

は じ め に

腎疾患、とくにネフローゼ症候群にみられる血中脂質代謝異常は古くより認められており、本疾患の重要五一種とされ、その成因に関しては lipoprotein lipase の異常または lipoprotein lipase の異常または lipoprotein lipase の異常などが考えられていて、われわれはネフローゼ症候群の高脂血症は、単なる高コレステロール血症ではなく、hyper-low density lipoproteinemia であり、しかもこの高 lipoprotein の脂質組成には異常のないことを

認め、血中 heparin 量の低下が lipoprotein lipase 系不足を通じてかかる変化を起しうることを報告したり、このような脂質代謝異常において lipoprotein の脂質組成がいかになる進歩を示しているが、脂質代謝異常の成因は未だ明らかではない。われわれはネフローゼ症候群の高脂血症は、単なる高コレステロール血症ではなく、hyper-low density lipoproteinemia であり、しかもこの高 lipoprotein の脂質組成には異常のないことを

油脂の酸化および加熱による変性に関する研究

松尾 登

成蹊大学工学部工業化学教室(東京都武蔵野市吉祥寺北町3-3-1)

Denaturation of Oils and Fats by Heat-treatment and Autoxidation

Noboru MATSUO

Dept. of Industrial Chemistry, College of Technology, Seikai University
(3-3-1, Kichijōji-Kitamachi, Musashino-shi, Tokyo)

油脂の自動酸化および加熱による性状の変化については古くから注目されてきたが、特にここ25年近く前からその際の栄養価の低下および毒性についての研究が始められ、また構造変化に関する研究もすすみ、その後各方面において広く活発な研究が行われるに至った。

この問題は食用油脂の製造、油脂含有食品の保存、貯蔵、調理、食生活との関係において重要であるばかりでなく、脂肪酸エステル(広くは脂質)の酸化および加熱による生成物が種々の疾病と深い関係を有することが次々に明らかにされてきたこと、非常に関心を払われるに至っている。

著者の研究室で行った研究成果を中心としてこれらの問題を述べ、折せてセボレア(皮膚膿症)についても触れたいと思う。

1 油脂の酸化による変性

1-1 油質の自動酸化

油脂の自動酸化の進行はその構成脂肪酸の種類、不飽和度、室温の場合、加熱を伴う場合、加熱温度、加熱時間などによって著しく異なるのが普通。

高度不飽和脂肪酸エステルの場合を例としてその自動酸化についてみると図-1のようである。これは2~18°Cの場合であって、誘導期が2週間ぐらあり、次に過酸化価が上昇して42日で4400 mg/100 g(5500 meq/kg)の最高値となり、以後分解、重合によってだいに低下する。30°Cで行った場合は誘導期は短く、20日で最高値 2750 meq/kg 程度となり、100°Cの場合はわずか300 meq/kg 程度(約10hr後)にしか上昇しない。また油脂を高温に加熱した場合は、過酸化物は生成するけれども高温のためその分解も早く、たとえば魚油の例では180°Cでは1.5hr後に約

20 meq/kg となり、2.5hr 後においては0となった。220°Cに加熱すると生成する過酸化物はただちに分解するため過酸化価の上昇をみなかった。

またアブラなどを作るため加熱を繰り返したごま油やその他の植物油について、その過酸化価を調べたが20 meq/kg 以下程度の微量であった。

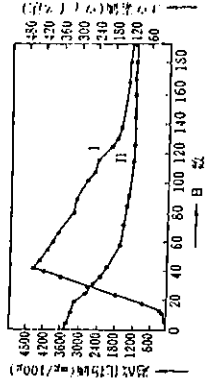


図-1 室温放置(2~18°C)した高度不飽和脂肪酸エステル過酸化価(Ⅰ)と30°C(Ⅱ)の酸化

1-2 自動酸化物のタンパク質、アミノ酸、酵素に対する作用

卵アルブミン 2% 水溶液 40 ml に対して、高度不飽和脂肪酸をエステルとしたもの、またはその自動酸化物各 5 ml を添加、よく攪とうした後 37°C に放置した。酸化しないエステルを加えた方はほとんど外見的に変化を示さないが、脂肪酸エステルを加えた方はだいに黄かきに変じ、20hr ほど経過すると程かき色の互麻状沈殿を生じはじめ、時の経過とともに沈殿の量を増し、或時間を経た沈殿は透かす色を呈していた。

適当な時間を区切ってこの沈殿を吸引し、液体部分を分けこれを沈殿Ⅰ、ろ液Ⅰとし、さらにろ液Ⅰに10%三塩化酢酸水溶液の同量を添加したものを沈殿Ⅱ、ろ液Ⅱとする(図-2)。沈殿Ⅰの状態は図-3(51hr経過)。

液 I に 10% 三酸化砒水溶液を添加した場合、酸化しないニステル添加の場合は沈殿を生ずるけれども、酸化ニステルを添加し、長時間放置したものはやはり沈殿を生じない。すなわち長時間放置すればタンパク質は凝

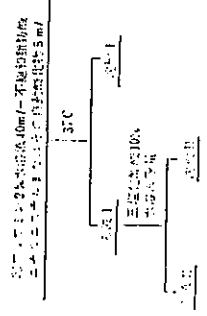


図-2 不飽和脂肪酸ニステルニステルまたはその自動酸化物と卵アルブミンの反応

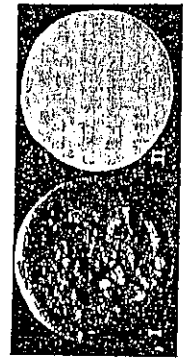


図-3 自動酸化不飽和脂肪酸ニステルニステルによるタンパク質の凝集 (51 hr 経過)

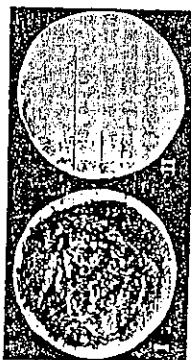


図-4 自動酸化不飽和脂肪酸ニステルニステルを加えた場合 I 自動酸化しない不飽和脂肪酸ニステルニステルを加えた場合 II 自動酸化しない不飽和脂肪酸ニステルニステルを加えた場合

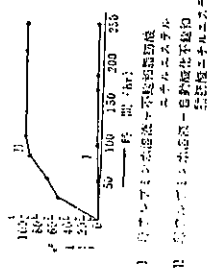


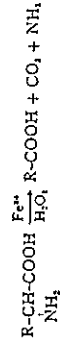
図-5 沈殿 I の遊離含有量

化ニステルによって完全に沈殿させられる。沈殿 I 中の遊離量のはじめ加えたタンパク質中の遊離量に対する割合の時間を図-5 に示す。すなわち酸化物添加の場合においては、約 100 hr を経るとほとんど沈殿する。酸化しないニステル添加の場合はいずれも 6~7% であった。

次に上記の変化がタンパク質の種類によってどのような異なるかを血清アルブミン、血清グロブリンおよびフィブリノーゲンを使用して検討した。経過時間に対する沈殿物の N% をみると、フィブリノーゲンの場合最も多く、次に血清グロブリン、血清アルブミンの順であった。

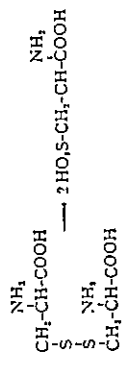
卵アルブミンとの反応で得られた沈殿をアセトンおよびエーテルを用いて長時間抽出を行ったところ、これら溶剤によっても抽出されないもの、すなわち酸化ニステルとタンパク質とが化学的に結合していると考えられる複合体 (complex) が存在することが明らかとなった。この complex 量を用いた卵アルブミン量に対して大体 30~70% にあたり、またこの complex を水酸化カリウム溶液を加えて加水分解して得られたニステル量は、complex に対して 1% 以下であった。実験結果からみるに、自動酸化物面が直線的に上昇している時期の酸化ニステルを用いた場合は、complex の生成量は過酸化ニステル並行したが、自動酸化曲線が最高値を過ぎた時期のものも含めて考察すれば、カルボニル値に並行して complex 量が増加すると見られる。Narayan, Kummerow らはカルボニル基、エポキシ基が complex 生成に大きく関係しているであろうとし、-OH、-OOH はそれほど関係を持たないと報告している。

さらに自動酸化物のアミノ酸に対する反応性を見らためグリシン水溶液にニステル酸化物を添加し、37°C に放置したところ、アンモニアおよび炭酸ガスの発生がみられた。グリルグリンシンの場合も同様であった。アミノ酸は鉄塩の存在で過酸化ニステルによって酸化されるように炭酸数が 1 個少ない脂肪酸となることが知られている。



すなわちニステル酸化物が上記と同様な機構によってアミノ酸に作用した結果と考えられる。システチンを通酸化ニステルをもちいて処理すると、5 原子の遊離を吸収してシステチン酸を生ずることが知られている。システチン 0.002 mol を 25 ml の蒸留水に混合し 37°C に一夜放置した後、これにニステル酸化物 5 ml を添加して 37°C に長時間放置した。次にこれをろ過し、この液を用いてペーパークロマトグラフィーによりシステチン酸を確

システチンは下記のように活性度の高いニステル酸化物によって酸化をうけてシステチン酸に変化したものと考えられる。



タンパク質が酸化ニステルによって著しい変性を受けることからニステル酸化物は酵素作用を抑制または停止させることが推察されるが、succinodihydrogenase, pyruvate, potato amylase に対するニステル酸化物の作用を検討したところ予想したとおりであった。Bernheim¹⁰⁾, Ottolenghi¹¹⁾ の実験もこのことを明らかにしている。

1-3 自動酸化油の栄養価および毒性

油質は自動酸化によって栄養価が低下し、さらに毒性を示す^{12,13)}。過酸化物が直線的に上昇している時期の油脂自動酸化物を使用して白ネズミによる動物実験を行うと油脂の栄養価低下の程度その成身は阻害され、過酸化物面の高い場合には白ネズミがへい死する。その毒性は過酸化物面の上昇期においては過酸化物量と並行するものと明らかとなった。自動酸化物から過酸化物を除去したものは毒性を示さない¹⁴⁾。

著者の研究室で過酸化物面の比較的高いニステル自動酸化物を基礎飼料に対して 5% の割合に添加したものと、また添加しないものを交互に、毎日 1 回白ネズミに投与したところ、一匹の白ネズミに図-6 に見るような特異な外見的症状を示したものがあつた¹⁵⁾。すなわち白ネズミの顔の毛は脱落し、口および後あしははれあがり、腹部にひび割れを生じて出血が見られた。

健康な体重約 1.5 kg のラザギに高濃度不飽和脂肪酸ニステルニステルを毎日 1 回経口投与したところ、表-1 に示すように何れもへい死した。

へい死したラザギの胃、腸、肝臓の状況は、胃においてはその粘膜が著しくおがき裂れていることを認め、特に A₁ の場合には胃壁が 2 ㎝ 程度非常に薄くなっているのを認めた (図-7)。

腸はその弾力性を減し、引っ張ると切れやすい状態であつた。肝臓は部分的に本来の色ではなく、黄かっ色に変わつていてのを認めた¹⁶⁾。

自動酸化させた大豆油と白ネズミに与えた秋谷の美駿¹⁷⁾によれば、過酸化物面 110 meq/kg のものでは対照より体重がいぶくぶんの程度であり、180 meq/kg の試料ではかなりの体重低下を示したという。また Andrews¹⁸⁾は飼料および酸化物を乾燥して 60°C で通気して過酸化物面を 100, 400, 800, 1200 meq/kg とした酸化大豆油を調製し、これを 15% または 20% の割合で飼料に添加して白ネズミの成長試験を行った。その結果では



図-6 自動酸化脂肪酸ニステルを飼料において投与した場合の白ネズミの症状



図-7 自動酸化脂肪酸ニステル投与によりへい死したラザギの胃の内部 (a, b 部において胃壁が薄くなつていいるのが見られる)

表-1 ラザギの飼育結果

生	初めの体重 (g)	最終体重 (g)	体重減少 (g)	へい死
A ₁	1500	1290	-210	5日目
A ₂	1570	1350	-220	15日目
A ₃	1500	1520	+20	15日目
A ₄	1720	1575	-145	5日目

過酸化物面が 100 meq/kg の試料油では、白ネズミはほとんど対照の大豆油と同じ程度に成長はかなりつたが、800 meq/kg で成長は停止し、1200 meq/kg で死亡することが明らかとなった。

Crampton は過酸化物面が 100 meq/kg 以下の場合には悪い症状は現れなかつたと報告しているが、著者の研究の経過も同様であつた。以上からして 100 meq/kg 以下を限度にした方がいいのであるが、採取する際の関係もあり、健康状態にもよるが安全性を考慮する必要があらうと思ふ。安全係数を大きくみて過酸化物面が 30 meq/kg 以上の油質は食用に用いないとするのがよいのではな

の注意、製造年月日の明記が必要であり、消費者の知識が充分でないために、油脂の自動酸化による事故もおこる可能性があるから、小売店および消費者への注意書も必要であるから、毒性が認められた際は何かの行政的処置をとる必要がある。

2 油脂の加熱による変性

2-1 加熱油脂の栄養価

油脂を加熱した場合においては、油脂の種類、加熱条件によって異なるけれども、一般的にその分解、重合に伴いヨウ素価の減少、分子重および粘度の増加、折率の変化、着色などが起こり、また栄養価は低下する。著者はまず加熱による影響を多くに受けやすい動物油を用いて実験を行った。魚油(ヨウ素価194.6、分子重680(ラステ法))に硝酸を煮し通じ、55°Cに120hr加熱(無触媒)を行った。ヨウ素価の低下は2-3%程度であり、分子重は710であった。これを基礎原料に20%の割合で混合し、白ネズミによる動物実験を行った結果、その成長は原料油を身えた白ネズミに比べていくぶん劣り、一部のものは成長曲線が10日目から20日目にまで平坦となったのが認められた。次にこの魚油を250°Cに10hr(無触媒)加熱(ガス気流下)において加熱させた。加熱油脂の粘度(原料油と比べて)を比較した。粘度を測り、過酸化率を測定し、ヨウ素価121.9、分子重1320であった。60-80の白ネズミを用い、この加熱油脂を20%混合飼料とした。15日以内は15日以内の間に死した。しかし、混合飼料投与した場合は原料油に比べて白ネズミの成長はよく生る程度であった。また上記魚油を空気中で215-235°Cに加熱して得られた加熱油脂について上記と同じ実験を行ったが、ほとんど同様の結果が得られた。

2-2 揮発性化合物の生成と毒性

魚油を炭酸ガス気流下において250°Cに10hr加熱したものを、水酸化ナトリウムを触媒としてエタノールとしてニチルエステルとした。これとさらに原料油を加えて付加物をつくる直鎖構造ニステルと、付加物をつくらぬ環状構造ニステルとに分離した。前者は淡黄色、後者は暗かっ色(よく乾かす)であった。この環状構造ニステルを90%の割合で基礎原料に混合して、60-80の白ネズミに投与したところ著しい体重の減少を認めて、3-4日の間にすべて死した。40%投与しても、5-7日の間にすべて死した。一方、直鎖構造ニステルを与えた場合は良好な成長を示した。動物実験終了時における各ニステルの過酸化物質はごく微量であった。

2-3 全試料の酸価による分類

試料名	過酸化物質価(meq/kg)			
	10以下	15以下	20以下	30以上
即席ラーメン	9	35	30	31
ポテトチップス	14	11	13	14
揚げせんべい	7	9	10	12
バターピーナッツ	10	0	2	3
クラッカー	15	14	15	15
ドーナツ	10	9	9	10
かりん糖	6	6	6	6
計	48	74	85	91

* 全試料数は100であるが、そのうち3試料については、A.V.の測定値がないので97となった。

1-4 油脂含有食品酸化の抑制

油脂を用いた食品中の油脂の変質は食品の商品価値を損なうだけでなく、健康、栄養の面できわめて重要な問題である。したがって揚げ油およびベークンク用油脂などにこれらを使用して製造した食品の保存状態に關し、内外において多くの研究が行われている。本邦においては、橋本らの揚げ油用大豆油の劣化についての研究、太田、渡辺、秋谷らの揚げ油による加熱酸化による揮発性物質の変質についての研究、揚げ油の劣化に關する研究などが広く行われている。著者の研究室では市販の油脂含有食品(即席ラーメン、バターチップス14種、揚げせんべい14種、バターピーナッツ10種、クラッカー15種、ドーナツ10種、かりん糖6種、計100種)から油脂を抽出してその酸化変性の状態を調べた。過酸化物質価についてみると

うが、近年、自動酸化の過酸化物質(分層、重合したる時期)の油脂中に見いだされた分層物の中に極く微量ではあるが毒性の強い物質の存在が認められた。下降期の自動酸化油脂の毒性は迅速に分解物の影響の緩和として現れるものと見ることが妥当である。

2 油脂の加熱による変性

2-1 加熱油脂の栄養価

油脂を加熱した場合においては、油脂の種類、加熱条件によって異なるけれども、一般的にその分解、重合に伴いヨウ素価の減少、分子重および粘度の増加、折率の変化、着色などが起こり、また栄養価は低下する。著者はまず加熱による影響を多くに受けやすい動物油を用いて実験を行った。魚油(ヨウ素価194.6、分子重680(ラステ法))に硝酸を煮し通じ、55°Cに120hr加熱(無触媒)を行った。ヨウ素価の低下は2-3%程度であり、分子重は710であった。これを基礎原料に20%の割合で混合し、白ネズミによる動物実験を行った結果、その成長は原料油を身えた白ネズミに比べていくぶん劣り、一部のものは成長曲線が10日目から20日目にまで平坦となったのが認められた。次にこの魚油を250°Cに10hr(無触媒)加熱(ガス気流下)において加熱させた。加熱油脂の粘度(原料油と比べて)を比較した。粘度を測り、過酸化率を測定し、ヨウ素価121.9、分子重1320であった。60-80の白ネズミを用い、この加熱油脂を20%混合飼料とした。15日以内は15日以内の間に死した。しかし、混合飼料投与した場合は原料油に比べて白ネズミの成長はよく生る程度であった。また上記魚油を空気中で215-235°Cに加熱して得られた加熱油脂について上記と同じ実験を行ったが、ほとんど同様の結果が得られた。

2-2 揮発性化合物の生成と毒性

魚油を炭酸ガス気流下において250°Cに10hr加熱したものを、水酸化ナトリウムを触媒としてエタノールとしてニチルエステルとした。これとさらに原料油を加えて付加物をつくる直鎖構造ニステルと、付加物をつくらぬ環状構造ニステルとに分離した。前者は淡黄色、後者は暗かっ色(よく乾かす)であった。この環状構造ニステルを90%の割合で基礎原料に混合して、60-80の白ネズミに投与したところ著しい体重の減少を認めて、3-4日の間にすべて死した。40%投与しても、5-7日の間にすべて死した。一方、直鎖構造ニステルを与えた場合は良好な成長を示した。動物実験終了時における各ニステルの過酸化物質はごく微量であった。

2-3 全試料の酸価による分類

試料名	過酸化物質価(meq/kg)			
	10以下	15以下	20以下	30以上
即席ラーメン	9	35	30	31
ポテトチップス	14	11	13	14
揚げせんべい	7	9	10	12
バターピーナッツ	10	0	2	3
クラッカー	15	14	15	15
ドーナツ	10	9	9	10
かりん糖	6	6	6	6
計	48	74	85	91

* 全試料数は100であるが、そのうち3試料については、A.V.の測定値がないので97となった。

1-4 油脂含有食品酸化の抑制

油脂を用いた食品中の油脂の変質は食品の商品価値を損なうだけでなく、健康、栄養の面できわめて重要な問題である。したがって揚げ油およびベークンク用油脂などにこれらを使用して製造した食品の保存状態に關し、内外において多くの研究が行われている。本邦においては、橋本らの揚げ油用大豆油の劣化についての研究、太田、渡辺、秋谷らの揚げ油による加熱酸化による揮発性物質の変質についての研究、揚げ油の劣化に關する研究などが広く行われている。著者の研究室では市販の油脂含有食品(即席ラーメン、バターチップス14種、揚げせんべい14種、バターピーナッツ10種、クラッカー15種、ドーナツ10種、かりん糖6種、計100種)から油脂を抽出してその酸化変性の状態を調べた。過酸化物質価についてみると

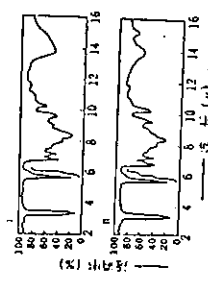


図-9 リノレン酸エステル(1)と留出エステル(II)の赤外スペクトル

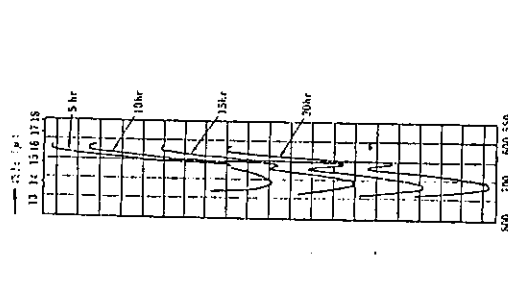
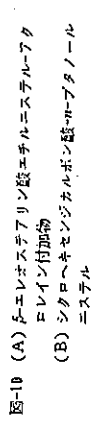
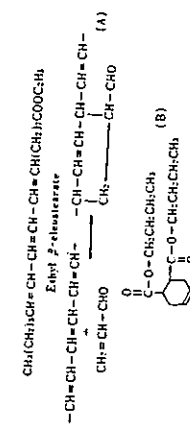


図-11 留出エステル(環状単量体)赤外スペクトル(15.2μ(660cm⁻¹)の吸収)の加熱による変化(NaClプリズム吸収法)

物(図-10(A))¹¹⁾、他の一つはシクロヘキサジエンカルボキシ酸のα-ブタノールエステル¹²⁾であって、いずれも留出エステルと同様な特性を示した。さらに前者は魚油、あまに油、リノレン酸エステル、

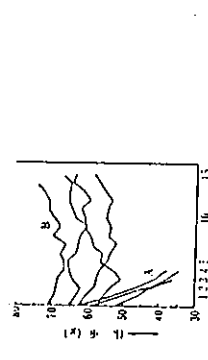


図-10 白ネズミの成長曲線

出エステル(A)投与の場合は実に激しい毒性がみられ3~4日すべての白ネズミがへい死したが、残留エステル(B)投与のほうはいずれも数日の排せつが見られる程度で毒性は弱かった¹³⁾。この結果より Crampton らの実験結果と同様に留出エステル(環状単量体)が毒性の主成分であることが明らかとなった。Arman ら¹⁴⁾は、リノール酸メチルに溶液として等量のラウリン酸メチルを混合し、200°C、200hr、空気存在下で処理したものが分離した環状単量体を用いて Crampton, 著者の結果を再確認している。

2-3 環状化合物の構造
 前記重合リノレン酸ニステルから分離した留出エステルは環状単量体であると考えられ、リノレン酸ニステルおよび留出エステルの赤外スペクトルは 図-9 I、II のようであった¹⁵⁾。

この二つを比較すると、リノレン酸ニステルには見られなかった 15.2μ (660cm⁻¹) の新たな吸収が現れていることからシクロヘキサジエン環を有することが明らかであり、3リノレン酸から二重結合は2個であって、10.35μ (966cm⁻¹) に trans の吸収がみられるので劇的に trans-二重結合1個を有する構造であると認められる。6.1μ (1650cm⁻¹) の新たな吸収も環構造に起因しているものと考えられる。またこの留出エステルの芳香族化を試み、生成物の赤外および赤外スペクトルを後述¹⁶⁾したところ、環構造を有することがさらに明らかとなり、o-の位置に側鎖を有することも確認された。すなわち、この留出エステルは強い毒性を示すが、シクロヘキサジエン環を有し環外の側鎖部分に1個の二重結合 (trans 結合) を持った化合物がその主体をなしていることが証明された。

さらに著者は、上記留出エステルとほぼ同じ分子量をもち分子内にシクロヘキサジエン環を有する構造の明らかかな化合物を合成し、その毒性についても証明した。その一つは β-エポステアリン酸ニステルとアクトロインをディールマン-アルダー反応によって付加させた化

リノール酸ニステル、きり油、β-エポステアリン酸ニステル等を種々の条件下に加熱し、環状単量体を分離し、その特性について詳細なる検討を行っているのでその一部を記述する。魚油 (イカ油) を 250°C において無触媒で 5、10、15、20 hr 二酸化炭素気流中で加熱し得られた加熱魚油より分離した環状単量体の 15.2μ (660cm⁻¹) の吸収強度を比較した結果は 図-11 に示す通りであって、15 hr 加熱の場合の吸収が最大であった¹⁷⁾。

また、あまに油、β-エポステアリン酸ニステルを用いて得られた環状単量体の赤外スペクトルの特性を比較して記せば次の 表-5 のようである。

表-5 環状単量体の赤外スペクトル特性比較

他の環状構造	波数 (cm⁻¹)	強度
(I)	695	750-1490-1603-3030
(II)	695	750-1490-1603-3060
(III)	665	966 (trans)
(IV)	660	743-1497-1603-3065
(V)	747	1495-1603-3030

(I) あまに油をアルカリおよび硫酸存在下に加熱 (295°C、15 min, in N₂) して得られた環状単量体¹⁸⁾
 (II) β-エポステアリン酸ニステルを無触媒、無溶媒中で加熱 (250°C、10 hr, in CO₂) して得られた環状単量体¹⁹⁾
 (III) あまに油を無触媒、無溶媒で加熱 (275°C、12 hr, in CO₂) して得られた環状単量体²⁰⁾
 (IV) 環状単量体 (III) を芳香族化したもの²¹⁾
 (V) 環状単量体 (III) を芳香族化したもの²²⁾

以上の結果からしても、リノレン酸ニステルからはシクロヘキサジエン環を有し、二つの側鎖の一方に二重結合1個を有する構造、β-エポステアリン酸、アルカリ異性化したリノレン酸からシクロヘキサジエン環を有する化合物の生成が確認され、また芳香環を有する化合物は上記のものより不斉化反応によって生ずることが証明された²³⁾。

次に環状単量体のガスクロマトグラフについてその一部を記す。

あまに油を 275°C、12 hr、無触媒、無溶媒、炭酸ガス気流中で加熱し、これをメチルエステルとし真空蒸留、原薬付加を行って得られた環状単量体はメチルエステルに対して 11% であった。その GLC は 図-12 のようであって、IR とともに考察すると、シクロヘキサジエン環および芳香族化化合物の生成はないものと考えられ、シクロヘキサジエン環の側鎖に二重結合1個 (trans 構造) を有するものの存在が認められた。

この環状単量体は芳香族化した場合の GLC は 図-13 に示すようであって、芳香族 o-置換体 (B) およびシクロヘキサジエン環化合物 (A) が存在する。これらはい

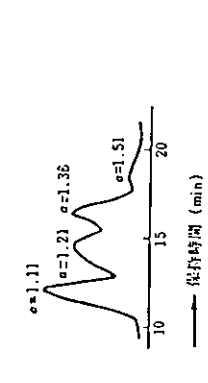


図-12 加熱あまに油から得られた環状単量体のガスクロマトグラム

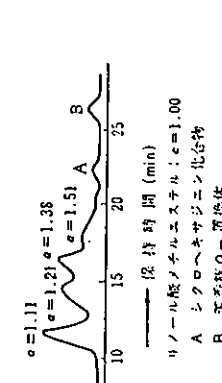


図-13 芳香族化した環状単量体のガスクロマトグラム

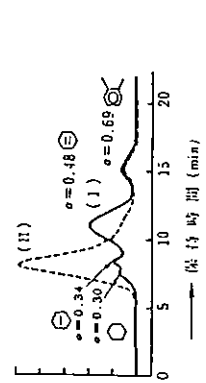


図-14 加熱 β-エポステアリン酸ニステル (250°C、10 hr) から得られた環状単量体 (I) および水蒸気添加した環状単量体 (II) のガスクロマトグラム
 β-エポステアリン酸ニステル: σ=1.00
 ナラム: DEGS 5% / クロモソルブ P
 ナラム温度: 195°C
 キャリヤ: ニオス; He, 60-90 ml/min

ずれもシクロヘキサジエン環化合物より生成してきたものである。

きり油を異性化した後、常法により得られた β-エポステアリン酸ニステルを無触媒、二酸化炭素気流中で 250°C、10 hr 加熱を行った後分離した環状単量体の GLC およびその水蒸気添加物の GLC は 図-14 のようである²⁴⁾。

図-14 において σ=0.69 は芳香族 o-置換化合物、0.48 はシクロヘキサジエン環を有する化合物、0.34、0.30 はそれぞれシクロヘキサジエン環、シクロヘキサジエン環を有する化合物であり、それより計算した平均二重結合数は4回行った乗除において、それぞれほぼ2に等しい値を得た。このことは不斉化反応を裏づけるものと思われる。加熱条件を 310°C、10 hr にかえたとき得られ

はり2に近い値を示していた。α-エレンオステアリン酸メチルエステルより得られた環状単量体について、シクロヘキサジエン環を有する化合物、ベンゼン環を有する化合物について少し詳細に示せば 図-15 のようである¹¹⁾。

あまに油をアルカリ存在下で加熱した場合、およびα-エレンオステアリン酸メチルを加熱した場合に、シクロヘキサジエン環を有する化合物と芳香族 o-置換体の生成を確認し、この芳香族 o-置換体の生成機構はシクロヘキサジエン化化合物の不斉反応によるものとするに、ついては既に述べた。この芳香族 o-置換体は加熱剤の原料と C₁₁ のトリニンとすればいくつもの場合が考えられる。

図-15 で、n=1, m=9 の 10-(o-ニアルフェニル)デカン酸メチルおよびその水蒸気添加物である 10-(2'-ニアルシクロヘキシル)デカン酸メチル¹¹⁾、n=3, m=7 の 8-(2'-n-ブチルフェニル)オクタン酸メチルおよびその水蒸気添加物¹¹⁾、n=0, m=10 の 11-(2'-メチルフェニル)ウンデカン酸メチルおよびその水蒸気添加物¹¹⁾等を Friedrich の方法¹¹⁾を参考に合成を行い、NMR, IR, 質量分析などを用いてその構造および構造を確認した。また GLC を用いて、そのピーク位置を決定し、今までの研究における生成物との比較検討を行った。その合成経路およびその水蒸気添加物について示すと 図-17 の通りである。

著者の研究室においては環状単量体の構造をさらに詳細に検討するため原料添加法、低温結晶法、微量水蒸気添加法、芳香族化、オゾンによる酸化、赤外スペクトル、紫外スペクトル、ガスオクマトグラフィー、核磁気共鳴、質量分析などを用いて研究を続けているが、加熱による五員環を持つ化合物の生成¹¹⁾、ヒドロナフタレン環を有する化合物の生成¹¹⁾についても証明が進んでいる。環状化に関しては、MacDonald¹¹⁾、Paschke¹¹⁾、Wheeler¹¹⁾、Ler¹¹⁾、Friedrich¹¹⁾、Eisenbauer¹¹⁾、Hutchison¹¹⁾、Armas¹¹⁾、Michael¹¹⁾、斎藤¹¹⁾らによって多くの研究が報告されている。

2.4 構造的な問題

油脂を比較的低い温度で加熱した場合に、遊離化合物を含有する加熱油脂が得られるが、その量はさして多くはない。また高温加熱の場合はその遊離化合物量は極微量であるが普通である。加熱油脂を動物実験に使用する場合には注意してその酸化を防いで蓄え、実験終了時にその遊離化合物量を再度測定して変化のなかつたことを確認すべきである。したがって遊離化合物による影響はほとんどないと思われる。

250°C に 10 hr 放置ガス気流中または空気中で加熱した魚油を鉛アルブミンその他のタンパク質の水溶液に加

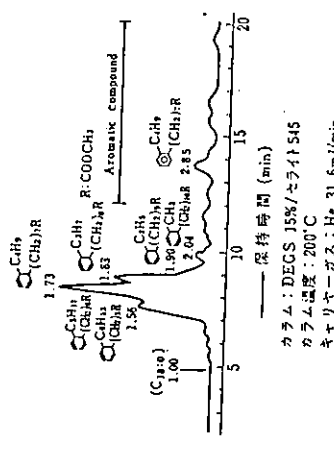


図-15 加熱 α-エレンオステアリン酸メチルエステルから得られた環状単量体のガスクロマトグラム 250°C, 10hr

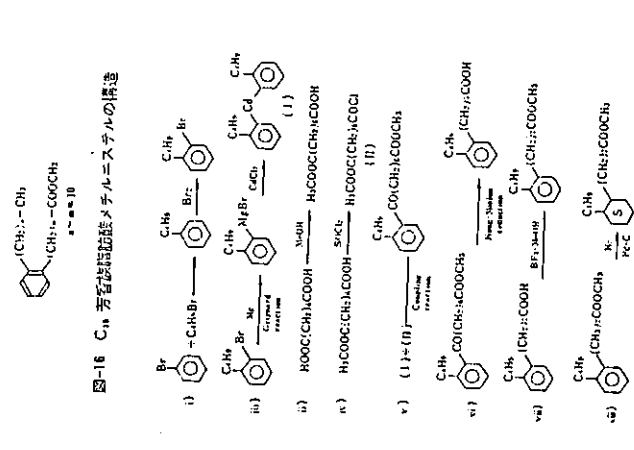


図-16 C₁₁ 芳香族母核がメチルエステル構造の構造

図-17 8-(2'-n-ブチルフェニル)オクタン酸メチルおよび 8-(2'-n-ブチルフェニル)オクタン酸メチル水蒸気添加物の合成

え、これを-37°C に保つておくととき頃と、長時間放置しても酸化油脂の場合のようにタンパク質が付加物をつくって沈殿することはみられなかった。また上記加熱重合を5%または10% 遊離脂肪酸に混合して、白ネズミを用いて1年余わたる長期飼育実験を行った結果によれば、軽微なセボレア症状を呈したものが認められた。

これは混合による1分子中の脂肪酸の増加が一つの原因となつておられると推察する。上記長期飼育実験を行った白ネズミの解剖による肉眼的所見は、肝臓には脂肪沈着点が多く脂肪肝の状態を現している場合が多かつた。

魚油から得た高濃度不飽和脂肪酸をエチルエステルとし無酸素、窒素ガス気流中 250°C, 10 hr 加熱した後、環状単量体を分離した。この環状単量体を 60-70 g の白ネズミに基礎飼料に対して10% あて投与すると4-7日間でへい死するため、諸器官の変化を観察しにくいので、最初5%, 10日目から2.5%, 20日目から5%, 31日目から5%まで7.5%を投与し、飼育した後諸器官を顕微鏡観察した結果、じん臓、小腸、盲腸については充血が認められる程度でその他に著しい変化は認められなかった。だが、大腸、肝臓については顕著な変化が観察された。ことに肝臓については肉眼的にみても赤色に着色し、そのうえ肝臓肥大の傾向が著しく、さらに脂肪沈着が明らかに認められた。また 図-18 に示したように肝臓には肝臓細胞の壊死が顕著であった(図-18 はリノールサラダ油を環状単量体と同量投与したコントロールグループのもの)。

大腸においては全体的に腸浮腫が著しく、さらに神経細胞の脱落、変性が著しく組織の充血、疎少(粒)化、白質の軟化も認められた。これらの症例はすべて非特異的なものであり、環状単量体投与の初期には組織の充血、浮腫が出現し、さらに長期間の投与になると組織の壊死、腸細胞の壊死がみられ神経細胞の脱落が起ることより、環状単量体は神経毒としての作用もあると思われ¹¹⁾。

Ram および Razaogalan¹¹⁾ は空気中で 270°C に加熱した菜花生油、ごま油、やし油を 15% 飼料に混合し、白ネズミに与えた場合、肝臓重量の増加を見だし、また Kummerow ら¹¹⁾ は 180°C に 48 hr 空気中で加熱したとうもろこし油を 20% 混合投与した場合に肝臓重量と体重比が非常に大きくなることを認め、この原因は明らかでないが、正常代謝に変化を受けた結果に達しないかと述べている。王¹¹⁾、秋谷¹¹⁾も加熱油脂を与えた白ネズミでは肝臓重量比が増加し、肝臓肥大の傾向があることを確かめている。

また Roffo¹¹⁾, Deck¹¹⁾, Ivy¹¹⁾ によつて加熱油脂が腎臓の原因となつておられるのではないかとする報告がなされ、Kummerow ら¹¹⁾ によつては加熱油脂から分離したリパーゼによつて消化されない成分、または尿素と付加物を作らない留分が、2-アセチルアミノフルオレンの発がん性を促進したとの報告もなされておる。すでに前述したように、200°C 以下の加熱と 250°C 以上の加熱では、油酸に与える変化が大きく異なる。食用油脂の場合においては、とくに不飽和度が高くなる

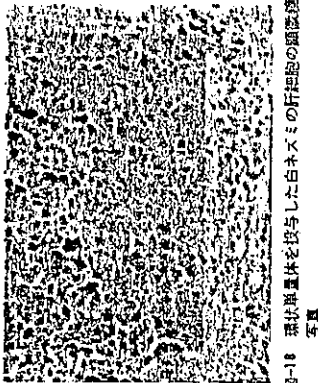


図-18 環状単量体を投与した白ネズミの肝細胞の顕微鏡写真

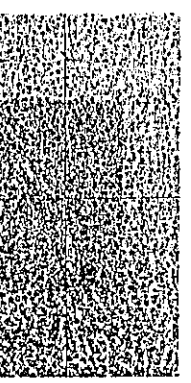


図-19 リノールサラダ油を投与した白ネズミ(コントロール)の肝細胞の顕微鏡写真

通の使用条件の温度では環状化合物の生成はほとんどみられない。調理のときには 200°C より高い加熱は注意して避けるべきである。

3 セボレア(皮膚湿疹)の発生

3.1 セボレアの発生と投与エステル炭素数の関係 大量のまごころ魚油を白ネズミに与えると、皮膚湿疹いわゆるセボレアを発生し皮膚より油状物質を分泌してあかかも油に浸して取りだしたような症状を呈する(図-20, 21)。

このことは古くは塩¹¹⁾によつて見いだされたが、その後、染川¹¹⁾によつてもオレイルオレオートを大量に与えると、セボレアを発生することが明らかになり、また塩田¹¹⁾はオレイルオレオートのみならず、セチルオレオート、オクタデシルオレオートも 15% 投与によりセボレアを発生することを認めた。

著者は白ネズミを扱い、基礎飼料に対し 15% のオレイルアルコール、オレイルオレオートをゾンデを用いて与えたところ、オレイルアルコールの場合はセボレアは発生しないが、その毒性はオレイルオレオートより強く現れることを認めた。また魚油、また魚油、あまに油、魚を加熱重合したものも 20% 程度白ネズミに与えた場合に現れればともセボレアに似た状態が見られたことから、セボレアの発現は投与エステル炭素数と密接な関

すと報告されているが、スクアレン、スクアレン以外の例を有する炭化水素がセボレンを発生させるか否かについてはさらなる研究が必要であると思われ。

オレイルオレオレートと与えてセボレニアを発生した白ネズミに対してその投与を中止しエチルノレート投与にかえて飼育したところ、次第にセボレニア症状を回復した。またスクアレンを与えてセボレニアを発生した白ネズミに対してその投与を中止し、市販の固型飼料(オリエンタル飼料社製 M.F.)に切り換えたところ症状の回復をみた。セボレニアは体温調節に悪い影響を与えず、代謝が不長であることによるものと推察される。

さらに、著者は二種雄鼠と雌鼠を有するアルコロールとのニステルミ¹⁾、側鎖をもつ脂肪族のエステルを合成して、白ネズミに投与しセボレニアの発生についても研究一続けている。

(昭和31年8月25日受理)

文 献

- 1) N. Matsuo, *J. Biochem.*, **41**, 647 (1954)
- 2) 戸谷洋一郎, 松尾 登, 成蹊大学工学部報告, **6**, 397 (1958)
- 3) 松尾 登, 生化学, **29**, 773 (1957)
- 4) 松尾 登, 栄養と食糧, **10**, 255 (1958)
- 5) 松尾 登, 松尾 登, 第37回日本生化学会年会(名古屋) 要旨(1964)
- 6) K.A. Narayan, M. Sugai, F.A. Kummerow, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 234 (1964)
- 7) H.D. Dakin, *J. Biol. Chem.*, **1**, 171 (1905), **4**, 63 (1908), **5**, 409 (1909)
- 8) F. Sanger, *Biochem. J.*, **44**, 126 (1949)
- 9) N. Matsuo, "Lipids and Their Oxidation," AVI Pub. Co. Inc., Westport, Connecticut, U.S.A. (1962) p. 333
- 10) F. Bernheim, *Arch. Biochem. Biophys.*, **38**, 177 (1952)
- 11) A. Onolegchi, *Arch. Biochem. Biophys.*, **58**, 157 (1953)
- 12) N. Matsuo, *J. Biochem.*, **41**, 481 (1954)
- 13) 益田尚志, 石井清之助, 日本水産, **19**, 171 (1953)
- 14) 松尾 登, 生化学の領域, **11**, 970 (1957)
- 15) 秋谷年見, 油化学, **14**, 733 (1963)
- 16) J.S. Andrews, W.H. Griffith, J.F. Mead, *J. Nutrition*, **70**, 202 (1960)
- 17) 吉岡隆子, 益田尚志, 油化学, **21**, 316 (1972)
- 18) 戸谷洋一郎, 松尾 登, 成蹊大学工学部報告, **6**, 397 (1958)
- 19) 尾又茂郎, 戸谷洋一郎, 松尾 登, 第14回油化学研究学会(名古屋)要旨(1976)
- 20) 清水敏二, 大西信三, 細 忠太, 油化学, **10**, 464 (1951)
- 21) 木田静行, 向井 明, 山本 誠, 油化学, **12**, 409 (1963)
- 22) 徳五郎, 松尾 登, 15, 221 (1965); **16**, 506, 105 (1964)
- 23) 秋谷年見, 油化学, **14**, 347 (1965)
- 24) 松尾 登, 生化学, **29**, 769 (1958)
- 25) 戸谷洋一郎, 松尾 登, 松尾 登, 松尾 登, 28, 91 (1975)
- 26) 下岡 勉, 山本貞子, 外山修之, 名古屋産科薬学研究報告, **38** (10), (1957)

- 27) 日下貞昭, 益田 輝, 松尾 登, 松尾 登, 27, 362 (1969)
- 28) 益田尚志, 益田寛子, 松尾 登, 27, 211 (1963)
- 29) 野本三司, 益田尚志, 松尾 登, 20, 177 (1967)
- 30) 徳本貞子, 松尾 登, 松尾 登, 20, 363 (1967)
- 31) 山下太朗, 油化学, **14**, 754 (1965)
- 32) 戸谷洋一郎, 松尾 登, 油化学, **19**, 307 (1970)
- 33) 松尾 登, 生化学, **29**, 885 (1957)
- 34) 松尾 登, 松尾 登, 10, 255 (1958)
- 35) 松尾 登, 松尾 登, 12, 118 (1959)
- 36) H. Kaunitz, C.A. Slabez, R.E. Johnson, *J. Nutrition*, **35**, 577 (1955), **40**, 237 (1956)
- 37) H. Kaunitz, C.A. Slabez, R.E. Johnson, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **33**, 630 (1956)
- 38) E.W. Crampton, R.H. Common, F.A. Farmer, *J. Nutrition*, **43**, 431, 533 (1955); **44**, 177 (1951); **49**, 333 (1953); **52**, 341 (1957)
- 39) O.C. Johnson, T. Sakuragi, F.A. Kummerow, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **33**, 433 (1956)
- 40) O.C. Johnson, E. Perkins, M. Sugai, F.A. Kummerow, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **34**, 594 (1957)
- 41) E.G. Perkins, F.A. Kummerow, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **36**, 371 (1959)
- 42) R.B. Alfia-Slater, S. Auerbach, L. Aftergood, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 638 (1962)
- 43) 木田静行, 油化学, **12**, 436 (1963)
- 44) 秋谷年見, 松尾 登, 14, 71, 397 (1962); **15**, 226 (1962)
- 45) 徳五郎, 松尾 登, 松尾 登, 13, 317 (1961)
- 46) 松尾 登, 油化学, **9**, 330 (1960); **9**, 324 (1960); **10**, 531 (1961); **12**, 214 (1963)
- 47) 徳木孝二, 油化学, **17**, 19, 232, 295, 311 (1968)
- 48) 松尾 登, 松尾 登, 12, 206 (1959)
- 49) N.R. Artman, W.R. Michael, J.C. Alexander, *Lipids*, **1**, 333 (1966)
- 50) 松尾 登, 生化学, **35**, 313 (1963)
- 51) N. Matsuo, *J. Biochem.*, **49**, 635 (1961)
- 52) 松尾 登, 松尾 登, 12, 210 (1959)
- 53) 松尾 登, 成蹊大学工学部報告, **1**, 81 (1965)
- 54) 日下貞昭, 松尾 登, 油化学, **17**, 22 (1968)
- 55) 日下貞昭, 徳本貞子, 松尾 登, 油化学, **17**, 65 (1968)
- 56) 日下貞昭, 松尾 登, 油化学, **17**, 671 (1968)
- 57) 戸谷永生, 戸谷洋一郎, 松尾 登, 油化学, **23**, 532 (1971)
- 58) 戸谷永生, 松尾 登, 油化学, **24**, 371 (1975)
- 59) H. Kusaka, N. Matsuo, 第1回 JOCs-AOCS Joint Meeting, 油化学, 成蹊大学, **4**, 244 (19 松尾 登(名古屋) 生化学研究 194 (1955) 生 Chem. 69 (1955) 生 Chem.

- 65) 関性 系, 工化, **83**, 281, 1332 (1950)
- 66) A.C. Ivy, 乳膏
- 67) F.A. Kummerow, *Cancer Research*, **22**, 510 (1962)
- 68) 佐藤益一, 理研論文報告, **20**, 245 (1933); **21**, 264 (1934)
- 69) 益田尚志, 理研論文報告, **21**, 149 (1933); **35**, 121 (1938); **31**, 304, 477 (1941); **39**, 313, 410 (1942); **42**, 67, 72 (1947); **44**, 74 (1949)
- 70) 益田尚志, 松井繁, 日赤誌, **19**, 1168 (1954); **23**, 324 (1957)
- 71) 松尾 登, 生化学, **28**, 816 (1958)
- 72) 松尾 登, 油化学, **12**, 261 (1963)
- 73) 松尾 登, 生化学, **35**, 317 (1963)
- 74) 松本 修, 戸谷洋一郎, 松尾 登, 油化学, **24**, 127 (1975)
- 75) 戸谷洋一郎, 戸谷永生, 松尾 登, 松尾 登, 28, 79 (1975)
- 76) 松井芳人, 増原三, 食糧研究所研究報告, **7**, 107 (1952)
- 77) 秋谷年見, 清水妙子, 油化学, **14**, 520 (1965)
- 78) 戸谷永生, 戸谷洋一郎, 松尾 登, 第10回油化学研究学会(京都)要旨(1975)
- 79) 戸谷永生, 戸谷洋一郎, 松尾 登, 第47回日本生化学会年会(岡山)要旨(1974)

誌説「油化学の発展による変性」松尾 登, 油化学, **11**, 261 (1963)および松尾「不飽和脂肪酸エステルの環状化」松尾 登, 油化学, **11**, 447 (1969)をも参照された。

自動酸化油脂の長期投与飼育試験*

柴田 直和・衣巻 豊輔

農林省水産庁東海区水産研究所
(東京都中央区豊島5-5-1)

A Long-Term Nutritional Study with Autoxidized Oil

Nobukazu SHIBATA and Toyosuke KINDUMAKI
Tokai Regional Fisheries Research Laboratory
(Kachidoki 5-5-1, Chuo-ku, Tokyo)

In the previous paper, authors reported that triglyceride content in the liver of rat given orally autoxidized methyl linoleate increased 18 h after the administration of the oxidized ester, but during these periods, no change was observed in the activities of the enzymes such as α -glycerophosphate dehydrogenase and triglyceride synthetase related with lipid synthesis in the liver.

One of the purposes of this experiment is to examine whether the same phenomenon observed in the previous experiment occurs among the mice fed on autoxidized safflower oil for long time. Commercial stock diet, 10g per mouse are fed as basal diet to one of the three groups each consisting of 50 mice. Mice in other two groups received 0.1 ml of fresh or autoxidized safflower oil per mouse by mixing each with 10g of the basal diet, respectively. Feedings were continued for 9 months and observation was performed on growth rate and mortality during this period. Five mice of each group were killed at 2, 9, 14, 30 and 39 weeks after the start of feeding to determine blood glucose level, hepatic triglyceride and cholesterol contents and activities of various enzymes in liver.

The following results were obtained:

1. The autoxidized oil obviously caused the lowering of average gain of the body weights of mice of the group fed this oil as compared with other two groups fed on basal diet or with fresh oil.
2. At the time when the lowering of body weight gain was observed, the mortalities of the mice of this group became higher than those of other two groups.
3. The glucose levels in bloods, triglyceride and cholesterol contents in livers did not show any difference among three test groups fed on basal diet, with fresh oil and with oxidized oil.
4. In the present experimental conditions, no clear difference in tested enzyme activities in livers of mice was observed among the three test groups mentioned above.

1 緒 言

周知のとおり水産食品中に含有される油脂は異性化や酸化に含有される油脂に比べて、酸化されやすい性質を有する。不飽和脂肪酸の含有量が高いため、市販される水産加工品等に乾熱品、冷凍品などでは高い過酸化脂質の値が見いだされている。従って、水産物については酸化防止技術が要求される一方、過酸化脂質や酸化重合物の毒性の本質を明らかにすることが重要である。従来、過酸化脂質やその他の油脂酸化物の毒性については金田¹⁾、松尾²⁾あるいは伊野³⁾らの報告が数多く知られているが、

毒性の本質についてなお不明な点が多く、特に長期間にわたって過酸化脂質を与えた実験は数少ない。著者らは先にラットにリノール酸メチルの過酸化脂質を強制的に経口投与した 18 h 後に、肝臓中のグリコーゲンが急減し、トリグリセリドが蓄積したことを報告した⁴⁾。今回はマウスに對し約 9 か月間にわたって油脂の過酸化脂質を与えた場合、肝臓中にトリグリセリドが蓄積するかどうかについて検討すると同時に、成長率、へい死率および肝臓中の酵素活性などに対する影響について調べた結果について報告する。

* 東海区水産研究所要員 B 第 86 号

2 実 験

19, 1499 (1976); *Chem. Abstr.*, 88, 71988g (1977)

81) A.Ya. Gerchikov, E.P. Kuznetsova, E.T. Denisov, *Kinez. Kazal.*, 15, 509 (1974); *Chem. Abstr.*, 81, 24750d (1974)

82) T.M. Galtsan, G.A. Galtsyan, V.A. Yakobi, V.Y. Tausario, M.A. Butlerovskii, *Klizm.-Farm. Zh.*, 16, 107 (1976); *Chem. Abstr.*, 85, 123520g (1976)

83) S. Braslavsky, J. Heicklan, *Int. J. Chem. Kinet.*, 4, 801 (1976); *Chem. Abstr.*, 86, 105542g (1977)

84) A.A. Syrov, V.K. Tsylovskii, *Zh. Org. Khim.*, 6, 1382 (1970); *Chem. Abstr.*, 74, 87242j (1970)

85) B.I. Tarunin, M.N. Klimova, Yu.A. Aleksandrov, *Tr. Khim. Khim. Tebnol.*, 1975, 103; *Chem. Abstr.*, 81, 108155y (1976)

86) C.B. Dick, R.F. Hanna, *J. Org. Chem.*, 29, 1218 (1964)

87) G. Slomp, J.L. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 915 (1958)

88) R.K. Erickson, D. Babalik, C. Richards, M. Scanlon, G. Huddleston, *J. Org. Chem.*, 31, 461 (1966)

89) P. Deslongchamps, C. Moreau, *Can. J. Chem.*, 44, 2465 (1971)

90) P. Alami, D. Fréhel, A. Malaval, C. Moreau, *Can. J. Chem.*, 52, 3651 (1974)

91) P. Deslongchamps, C. Moreau, D. Fréhel, P. Alami, *Can. J. Chem.*, 50, 2402 (1972)

92) A.Ya. Gerchikov, E.M. Kurumshin, V.D. Komissarov, E.T. Denisov, *Kinez. Kazal.*, 15, 230(1974); *Chem. Abstr.*, 80, 119938d (1974)

93) A.Ya. Gerchikov, V.D. Komissarov, E.T. Denisov, G.B. Kochenova, *Kinez. Kazal.*, 13, 1126 (1972); *Chem. Abstr.*, 74, 42528u (1973)

94) V.D. Komissarov, A.Ya. Gerchikov, E.T. Denisov, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, 1974, 2619; *Chem. Abstr.*, 81, 72362k (1975)

95) V.M. Nlochko, V.A. Yakobi, P.P. Karpukhin, M.B. Roskina, *Kvadritich. reaktiv v shradk. faze*, 1974, 595; *Chem. Abstr.*, 83, 147340z (1975)

96) H. Traube, *Trans. Faraday Soc.*, 51, 656 (1957)

97) 宮崎昭治, 特許出願中, "二遊基の製造"

98) G.A. Cook, A.D. Kiffer, C.V. Klump, A.H. Mazlik, L.A. Spenco, *Advan. Chem. Ser.*, 189 (31), 44; *Chem. Abstr.*, 54, 2679g (1960)

99) B. Delmond, J.C. Pommeret, J. Vabade, *J. Organomet. Chem.*, 42, 337 (1973)

100) E. Proksch, A. de Meijere, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 15, 761 (1976)

101) 野坂長治, 化学工業, 28, 636 (1975)

102) G.A. Olah, N. Yoneda, D.G. Parker, *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 5261 (1976)

103) G.A. Olah, N. Yoneda, D.G. Parker, *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 2231 (1976)

104) G.A. Olah, N. Yoneda, R. Ohnishi, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 7341 (1976)

105) G.A. Olah, A.M. White, D.H. O'Brien, *Chem. Rev.*, 70, 561 (1970)

57) P.S. Bailey, P. Kolsaker, B. Sinha, J.B. Ashoon, F. Dobinson, J.E. Butterbee, *J. Org. Chem.*, 28, 1400 (1964)

58) J. Vrbik, *Czech. Pat.*, 114,732 (1965); *Chem. Abstr.*, 85, 9656a (1965)

59) V.A. Yakobi, V.I. Plakidin, P.P. Varyukhin, *Kazalitscheskie Reaktivy v Zhidkoy Faze. Akad. Nauk Kaz. SSR, Kazalitsk. Gos. Univ., Kazalitsk. Resp. Pravitelnie Mendelevskogo Obshchestva, Tr. Vses. Konf., Alma-Ata, 1962, 354; Chem. Abstr.*, 60, 13204a (1964)

60) F. Dobinson, P.S. Bailey, *Tetrahedron Lett.*, 1960, No. 13, 14; *Chem. Abstr.*, 54, 22526b (1960)

61) P. Kolsaker, P.S. Bailey, F. Dobinson, B. Kumar, *J. Org. Chem.*, 28, 1409 (1964)

62) P. Bruyn, *Bull. Soc. Chim. Belges*, 60, 328 (1960); *Chem. Abstr.*, 56, 4695f (1962)

63) J.E. Butterbee, P.S. Bailey, *J. Org. Chem.*, 32, 3699 (1967)

64) J. Rigauds, K.V. Thang, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1959, 1620

65) C.C. Price, A.L. Tumolo, *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 4691 (1964)

66) H.M. White, P.S. Bailey, *J. Org. Chem.*, 30, 3037 (1965)

67) L.F. Budennaya, A.Z. Kosorozov, *Katalitich. reaktiv v shkad. faze*, 1974, 593; *Chem. Abstr.*, 84, 4903d (1976)

68) F.G. Fischer, *Ann.*, 478, 233 (1929)

69) R.E. Erickson, R.T. Hanser, J. Harkins, *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 6777 (1968)

70) A. Magriolo, S.T. Niegowski, A.L. Tumolo, 138th National Meeting of the Am. Chem. Soc., Sept. 1960, p. 10 P; *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 4691 (1964)

71) 宮崎昭治, 薬原論文, 屋上みろこ, 日本特許, 796,792 (1975)

72) 宮崎昭治, 薬原論文, 日本特許, 796,793 (1975)

73) S. Miyazaki, Y. Sullara, *US Pat.*, 3,895,040 (1975)

74) 宮崎昭治, 日本特許, 834,625 (1976)

75) 宮崎昭治, 須原論文, 日本特許, 847,326 (1977)

76) L.G. Galimova, *Khim. Vysokomol. Soedin., Nesjchkim.*, 1973, 9; *Chem. Abstr.*, 81, 24746w (1974)

77) A.A. Vilkhorev, A.M. Syroezhko, V.M. Porekhin, V.A. Proskuryakov, *V Sb. Obshchestvie Uchebnorodov. Kazusobitayev*, 1975, 9; *Chem. Abstr.*, 84, 104779m (1976)

78) A.A. Vilkhorev, A.M. Syroezhko, V.A. Proskuryakov, V.M. Porekhin, *Zh. Prikl. Khim.*, 48, 2059 (1975); *J. Appl. Chem. USSR*, 48, 2124 (1975)

79) A.A. Vilkhorev, A.M. Syroezhko, V.A. Proskuryakov, *Zh. Prikl. Khim.*, 48, 588 (1976); *J. Appl. Chem. USSR*, 48, 601 (1976)

80) A.A. Vilkhorev, A.M. Syroezhko, V.A. Proskuryakov, *Izv. Vysch. Uchebn. Zaveri. Khim. Tebnol.*

2-1 実験動物と飼料

この実験では5週齢の体重15g程度のdan系マウス150匹を用いた。7日間の予備飼育中は市販の精米飼料(日本クレア株式会社)を1匹当たり、4gの割合で適量の水で溶いて与えた。予備飼育終了後、各区50匹ずつの3区にマウスを分けた。各区のマウスにはそれぞれ実験期間中、異なる飼料をマウスの大部分が食べられる程度与え、徐々に近い制限食とした。3区の実験区のうち第1区には予備飼育期間と同じ粉米飼料のみを引き続き与え、これを油煎無添加区とした。第2区のマウスには新鮮なサフラワー油を粉米飼料4gに対して外割で0.1mlを混合して与え、これを新鮮油添加区とした。第3区のマウスにはサフラワー油を下記のように自動酸化したものと同量と新鮮油と同じ割合で添加し、これを酸化油添加区とした。

自動酸化の方法は新鮮なサフラワー油を乾燥した空気を吹き込みつつ酸化し、POVが2,000 meq/kg程度になった時点で通気を中止し、これを酸化油の飼料とした。なお、油煎飼料の産期は毎日行い、使用後は冷蔵庫で保存し、-20℃の冷蔵庫中に保存し、極力実験期間中の油脂材料の変化を防止した。

2-2 実験期間と処置

実験開始は9か月とし、その間月に1~2回、体重を測定した。また酸化油飼料は1か月後に、新しく同じ条件下で新鮮なサフラワー油から調製した自動酸化油に取り替える。これを適用して実験を継続した。実験開始より2, 9, 14, 19, 30, 39 週目のそれぞれ下大群頭より採血をとり、採血後、マウスより肝臓を抽出し、その重量を測定した。さらに、肝臓中の各種酵素活性についても測定した。

2-3 分析法

2-3-1 成分測定法
血中グルコースはグルコースオキシゲナーゼ法、トリグリセリドは Van Handel 法、コレステロールは Zab-Henly 変法により測定を行った。
2-3-2 酵素活性の測定法
グルタミン酸オキシカラノ酢酸トランスアミンナーゼ (GO) とグルタミン酸ピルビン酸トランスアミンナーゼ (GPT); Friedmann 反応に基づいた Reitman-Frankel 法による。

注1) 水分 6.0%, 粗タンパク質 21.0%, 粗脂肪 3.5%, 粗繊維 4.5%, 灰分 6.0%, 可溶性無機物 56.0%, ビタミン D 添加量 (1g 中): ビタミン A10 I.U., ビタミン D, 21 I.U., ビタミン E10 I.U., ビタミン B1 5.6 I.U., ビタミン B2 10 I.U., ビタミン B6 4 I.U., ビタミン B12 0.02 I.U., パントテン酸 Ca 26 I.U., ナイアシン 44 I.U., 葉酸 6.8 I.U., 塩化コリン 400 I.U.

注2) 通常この条件では POV 3,000~5,000 meq/kg 程度に達し、以後は分析により低下する。

トリグリセリド合成酵素 (TS): Hüscher 法による

アデニントリホスファターゼ (ATPase) とグルコース-6-ホスファターゼ (G-6-Pase): 50 mM トリス-HCl 緩衝液 (ATPase: pH 8.5, G-6-Pase: pH 6.5) 0.2 ml, 25 mM MgCl2 液 0.1 ml, 基質液 (20 μmol/ml) と肝臓ホモジネート液 (0.1 ml) を試験管中でよく混合し、37℃ で 30 min インキュベートした後 2 ml の冷 5% トリクロロ酢酸液を加した。その混合液を遠沈し上澄み液中の無機リン酸の量を Fishe-Subbarow 法により測定した。

α-グリセリン酸脱水素酵素 (α-GPDH) とイソクエン酸脱水素酵素 (ICDH): 0.1 M トリス-HCl 緩衝液 (α-GPDH: pH 8.6, ICDH: pH 7.6) 0.2 ml と 250 mM MgCl2 液 0.2 ml と 0.5 M 基質液 (ICDH) の 50 mg D₂O (α-GPDH) あるいは NADP⁺ (ICDH) の 50 mg/ml 速度の溶液 0.2 ml とを同一試験管に入れ、よく混合し 37℃ で 30 min インキュベートした後 10% Na₂WO₄ 液 0.2 ml とアセトン (1.4 ml) とを添加した。その混合液を遠心分離し、上澄み液の吸光度を 340 nm で測定した。

3 実験結果と考察

Fig-1 に各実験区のマウスの平均体重を指示した。この図より、区間の差が顕著となるのは1週間から2週間後である。酸化油添加区では他の2区に比し体重増が明らかに劣ってきた。なお動物の採食(餌)状況を観察すると、実験開始直後では酸化油添加区のマウスは他の2区に比し、採食量が多かったが、1~2週目後より飼料になれ、採食量がほとんどみられなくなった。したがって、上記の体

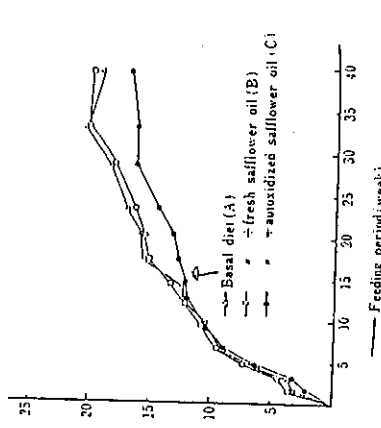


Fig-1 Body weight gains of male mice feeding various diets.

注3) ノービスホリジンスタロンカド
注4) トリホスホリジンスタロンカド

Table-1 Mortality in different feeding periods of male mice fed various diets.

Feeding periods (weeks)	A+Safflower oil	
	Basal diet(A)	Fresh(B)
0~2	0/50	0/49
2~5	0/45	0/44
5~9	0/40	1/39
9~14	0/35	0/33
14~19	0/30	0/29
19~30	0/25	6*/24
30~39	1/20	0/13

* Four mice were killed in accident. The numerical values show the number of mice in each group dying between successive withdrawals of mice.

重増が他の2区に比して劣る原因は酸化油採取の影響と考えられる。これと同様の結果は1週間から2週間後を用いた試験および Andrews らのラットを用いた試験においても観察されている。酸化油添加区におけるマウスの死亡率は、他の2区よりも高くなる傾向が顕著な傾向が認められた。また、残りの2匹中の1匹は正常な体重増を示していたにもかかわらず不明の原因で急死し、他の1匹は体重増が実験開始時より悪く、急死する1週目に達する以前より体重が減少し始めて急死したものである。一方、酸化油添加区のマウスの場合は、急死するマウスは概して体重増が少なく、急死前には体重の減少が起ることが観察され、急死の原因は明らかに異なっていた。この点はまた、油煎無添加区の実験後期 (30~39週) あるいは新鮮油添加区と酸化油添加区の実験初期 (5~9週) に急死したマウスがすべて正常な体重増を示しながら急死したことも相違していた。

Table-2 Average body weight, relative weight of liver to body weight and blood glucose level of male mice in different feeding periods.

Feeding periods (weeks)	Experimental group	Average body weight (g)	LW/BW*	Blood glucose (mg/dl)
0	A**	18.0±1.9(50)		
	B**	17.8±1.9(49)		
	C**	17.4±1.9(50)		
2	A	21.1±3.1(50)	6.0±0.5(5)	181±24(5)
	B	21.3±3.0(49)	5.8±0.8(5)	166±31(5)
	C	19.5±2.7(50)	5.8±0.8(5)	145±35(5)
9	A	28.3±4.8(40)	5.7±0.4(5)	164±61(5)
	B	31.4±3.1(38)	5.3±0.3(5)	176±30(5)
	C	29.8±4.7(39)	5.3±0.2(5)	149±17(5)
14	A	31.4±4.9(35)	5.1±0.6(5)	145±70(5)
	B	31.4±3.1(33)	5.6±1.0(4)	100±19(4)
	C	29.8±4.7(34)	5.2±0.3(5)	171±40(5)
19	A	33.7±5.5(30)	4.3±0.5(5)	161±48(5)
	B	33.0±3.1(24)	5.2±0.1(4)	144±59(5)
	C	29.2±6.4(22)	5.4±0.3(5)	146±44(5)
30	A	37.1±6.9(25)	5.0±0.6(5)	84±12(5)
	B	36.7±4.9(19)	4.5±0.1(5)	185±9(5)
	C	36.1±5.0(17)	4.5±0.1(5)	214±14(5)
39	A	37.2±8.6(14)	4.5±0.3(4)	164±25(4)
	B	38.2±6.0(9)	4.2±0.2(5)	131±40(5)
	C	35.2±5.1(8)	4.5±0.5(5)	121±28(5)

Each value presents the mean ± standard deviation. The numbers of determinations performed for each value quoted are in parentheses. * Relative weight of liver to body weight. ** See in Table-1.

すぎないことを報告している。従来報告された酸化油投与の急性障害においても、組織学的障害は消化管内腔のレベルに止まるものが報告されているが、慢性的な障害でも組織的損傷が認められることはきわめて希と考えられる。

Table-2 には平均体重、肝臓体積比と血糖値を示した。肝臓体積比は加台とともに減少する傾向にあるが、3区の間での差は少なく、酸化油の摂取により、肝臓肥大あるいは肝臓が肥厚して来ると考えられる。血糖値は30週目の値が各区分間で大きく異なる。特に油無添加区の値が低かったが、この時点の値を別とすれば、飼育期間での3区間の有意差は認められなかった。飼育期間無添加区のマウスは単に血糖値が低いだけでなく、肝臓体積比も一たんに低下して来た上昇しており、この時期に何らかの变化が体内に生じたとも推測される。またこの時期に油無添加区および酸化油添加区ではマウスのへい死があったのに、油無添加区ではへい死がなかったことも何らかの関連があるのかもしれない。いずれにしてもこの点に関する原因を明らかにすることはでき

Table-3 Comparison of triglyceride and cholesterol contents of mice liver among 3 experimental groups in different feeding periods

Feeding period (weeks)	Experimental group			Triglyceride (mg/g liver)	Cholesterol (mg/g liver)
	A*	B*	C*		
14	A	3.8±1.1(5)	7.9±0.4(5)		
	B	3.6±1.0(4)	8.0±0.6(5)		
	C	3.8±0.4(5)	7.4±1.2(5)		
19	A	13.2±5.2(2)	3.5±0.8(5)		
	B	7.8±3.0(5)	6.5±1.4(5)		
	C	10.2±3.6(5)	5.3±0.2(5)		
30	A	9.0±1.5(4)	3.3±0.6(5)		
	B	8.6±2.2(5)	4.7±0.3(4)		
	C	11.5±4.7(5)	3.5±1.1(5)		
39	A	9.6±2.7(5)	4.6±0.4(5)		
	B	8.6±5.7(4)	4.0±0.3(4)		
	C	6.1±1.8(3)	3.5±0.3(3)		

For the indication(*) and presentation of each value, see footnote in Table-2.

Table-4 Various enzyme activities of mice liver among 3 groups in different feeding periods.

Enzymes	Feeding periods (weeks)				
	14	19	39		
GPT*	A**	9.36±0.77(5)	9.95±0.80(5)	5.47±0.73(5)	9.00±1.05(5)
	B**	9.30±0.63(4)	7.97±0.63(5)	7.97±0.91(5)	10.12±0.99(4)
	C**	8.32±0.53(5)	9.44±0.56(5)	6.62±1.90(5)	9.21±0.91(3)
GOT*	A	7.07±0.48(5)	7.35±0.58(5)	4.58±0.37(5)	4.54±0.36(5)
	B	6.76±0.43(4)	7.06±0.85(5)	3.55±0.58(5)	5.58±0.92(4)
	C	5.74±0.43(5)	6.31±0.23(5)	3.75±0.61(5)	5.02±0.40(3)
TS*	A	2459±296(5)	3268±226(5)	3580±316(4)	4533±940(5)
	B	2913±217(4)	3123±223(5)	2699±311(5)	3140±750(4)
	C	1956±322(5)	2440±423(5)	2529±439(5)	2665±283(3)
α-GPDH*	A	1230±333(3)	1402±231(5)	1094±258(5)	1259±174(5)
	B	971±163(4)	1192±171(5)	1346±182(5)	1141±273(4)
	C	760±566(5)	1369±128(5)	1093±410(5)	1281±214(3)
ICDH*	A	916±139(5)	863±39(5)	1416±61(5)	1152±71(5)
	B	843±120(4)	777±86(5)	1440±615(5)	1617±757(4)
	C	901±49(5)	869±63(5)	1655±184(5)	642±405(3)
ATPase*	A	6.50±1.76(5)	6.15±0.39(5)	5.96±2.98(4)	9.65±1.78(5)
	B	6.84±1.21(4)	6.46±1.40(5)	9.66±3.36(5)	10.05±1.05(4)
	C	6.19±1.84(5)	4.97±0.65(5)	6.53±1.51(5)	
G-6-Phos*	A	15.4±2.3(5)	14.9±1.3(5)		11.6±5.3(5)
	B	15.5±0.9(4)	13.1±4.3(5)		12.5±4.3(4)
	C	14.8±0.3(5)	13.9±2.3(5)		13.9±5.0(3)

* GPT: Glutamate pyruvate transaminase (nmol/mg protein), GOT: Glutamate oxaloacetate transaminase (nmol/mg protein), TS: Triglyceride synthetase (cpm/mg protein), α-GPDH: α-Glycerophosphate dehydrogenase (OD 440mg protein×1.000), ICDH: Isocitric dehydrogenase (10⁻⁴ mol/mg protein), ATPase: Adenosine triphosphatase (μmol/mg protein), G-6-Phos: Glucose-6-phosphatase (μmol/mg protein).

** For this indication and presentation of each value, see footnote in Table-2.

をなかつた。
Table-3 には肝臓中のトリグリセリドとコレステロール含量について示した。14週目ではトリグリセリド含量がコレステロール含量より低い。19週目以後はこの関係が逆転することが観察された。しかし、それらの値の有意差は3区間で認められなかった。この実験結果は著者がすでに報告した強制的にノール酸メチル過酸化油を投与した実験結果とは異なっている。この点の矛盾は短期間に試験油を大量投与した場合と長期間、任意に比較的小量ずつ与えた場合などの実験条件の違いから生じたと考えられる。

Table-4 には肝臓中の各種酵素の活性を示す。各酵素活性はそれぞれその時点での3区間で有意差を示さなかった。GOI あるいは GPI の活性は酸化油投与により影響を受けないことは、肝臓体積比が変化しないことと密接な関係がある。肝臓組織の損傷が起これば、GOI と GPI の活性は低下する。次に、トリグリセリド合成に関与する TS および α-GPDH の活性に対しては酸化油の摂取は今回の実験条件においては影響を及ぼさなかったが、このことは既報の強制投与の場合と全く同じであった。また、ICA 回路の ICD、糖酵解系の G-6-Phos およびエネルギー供給系の ATPase の活性にも酸化油の摂取は影響を及ぼさなかった。測定した酵素の中で ICD に着いて、Green らは *in vitro* ではノール酸メチル過酸化油によるこの酵素が阻害されると報告した。本実験の結果 ICD 活性が阻害されなかったことから考えると著者らや Andrews らの報告は Bergans らの報告と一致しているようにヒドロボルオキシドそのまゝの形で、吸収されないとの結果と思われる。

以上のように、酸化油の長期投与によって体重増加の減少およびへい死率の増大が認められたが、その原因を推測できるような生体内での変化は今回行った肝臓関連

物質、酵素活性の測定によってはあくまでなかった。今後さらに観点をかえてこの問題を明らかにする予定である。

終わりに、実験動物の飼育及び管理に協力を頂いた当研究所利用部、荒井高志氏に深く感謝いたします。

(昭和52年5月12日受理)

文 献

1) L. Raul Tovar G, T. Kameda, *Yakuzakku*, 28, 169 (1977)
 2) 松野 登, 油化学, 25, 743 (1976)
 3) 伊野 素秋, 油化学, 19, 713 (1970)
 4) N. Shibata, T. Kinumaki, H. Okuda, S. Fujii, *Apr. Biol. Chem.*, 37, 1899 (1973)
 5) Z.P. Cawly, F.E. Spear, R. Kendall, *Am. J. Clin. Pathol.*, 32, 195 (1959)
 6) E. Van Handel, D.B. Zilverstein, *J. Lab. Clin. Med.*, 50, 132 (1957)
 7) 塚田 通, 北門亮生, "日常臨床生化学検査法", 中山堂 (1963) p. 137
 8) S. Reitman, S. Frankel, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56 (1957)
 9) D.N. Brindley, G. Hünshler, *Biochem. Biophys. Acta*, 108, 495 (1965)
 10) C.H. Fiske, Y. Subbarow, *J. Biol. Chem.*, 68, 375 (1925)
 11) J.L. L'Estrange, K.J. Carpenter, *Br. J. Nutr.*, 21, 377 (1967)
 12) J.S. Andrews W.H. Griffith, J.F. Mead, R.A. Stein, *J. Nutr.*, 70, 199 (1966)
 13) H. Kaunitz, R.E. Johnson, L. Fetous, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 42, 770 (1965)
 14) H.S. Olcott, A. Doiev, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 114, 820 (1963)
 15) R.C. Green, C. Lurie, P.J. O'Brien, *Arch. Biochem. Biophys.*, 142, 598 (1971)
 16) 衣巻 謙, 柴田 重和, 荒井 高志, *リポソーム*, 35, 188 (1967)
 17) J.G. Bergen, H.H. Draper, *Lipids*, 5, 976 (1970)

MS により、7, 22-エルゴスタジエノールと同定した。めしまこぶのステロイドについては、小島、高橋らは¹⁾、その IR, IR によりエルゴステロールとしているが、おれわれの実験結果からは、それは認められなかつた。

終わりに、本研究に当たり、終結御指導をいただいた西原孝雄 大学三橋選修教授、数多くの御助言をいただいた日本大学理工学部松本太郎教授ならびに MS, NMR を測定していただいた伊藤俊博氏、視力検査に深く感謝する。

(昭和53年2月2日受理)

文 献

- 1) 横川洋子, 油化学, 19, 50 (1970)
- 2) 三橋選修, 横川洋子, 東京学芸大紀要, 26, 224 (1974)
- 3) 横川洋子, 油化学, 18, 258 (1969)
- 4) 横川洋子, 油化学, 19, 97 (1970)
- 5) 横川洋子, 油化学, 20, 831 (1971)
- 6) 遠藤節子, 森谷勇一, 田辺和子, 三橋選修, 日化, 92, 1009 (1971)
- 7) 小島英幸, 高橋 健, 日化, 79, 1458 (1958)
- 8) G.R. Pettit, J. G. Knight, *J. Org. Chem.*, 27, 2886 (1962)
- 9) L.I. Stringina, Y.N. Eikin, G.B. Elyakov, *Phytochem.*, 16, 2361 (1971)
- 10) 白井 浩, 吉澤和彦, 油化学, 11, 551 (1962)
- 11) M. Glover, J. Glover, R.T. Morton, *Biochem. J.*, 51, 1 (1952)
- 12) A. Seher, H. Vogel, *Fetts. Saiften, Austerich.*, 78, 106 (1976)
- 13) W.V. Rayle, E.M. Chamberlin, J.M. Chernerda, G.E. Sita, L.M. Alimousa, K.L. Erickson, *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 5293 (1952)
- 14) B.A. Knights, *J. Chromatog.*, 1987, 273
- 15) P. Eneroth, K. Hellström, R. Ryhage, *Steroids*, 5, 707 (1965)
- 16) M. Lenfant, E. Zissmann, E. Lederer, *Tetrahedron Lett.*, 1967, 1049

3 考 察

3-1 脂質の量的関係及び諸脂肪酸組成

脂質の含有率は 0.1~3.0% で一般のきのこと同様に低い値を示している。脂質中の不けん化物含有率は 16.9~42.3% と高い値を示し、とんびまいだけの 42.3% は今まで著者らの調べたものの中ではえぞひすめだけの 43.5% につく高い値である。

主飽和酸は C₁₆ 酸であり、主不飽和酸は C_{18:1} 酸 (ほうろくたけ) と C_{18:2} 酸 (他の4種) であることなど一袋のきのこと同様である。

3-2 ステロール組成

GLC と UV 吸収の結果から、とんびまいだけの主ステロールはエルゴステロール (96.4%)、他の4種の主ステロールは 7, 22-エルゴスタジエノールと考えられ、その含有率はそれぞれ、めしまこぶ 86.9%、きつねかわらたけ 63.5%、しろちやさるのこしかけ 94.0%、及びほうろくたけ 87.9% であった。めしまこぶからはこれを AgNO₃-TLC により判別し、IR, GLC, NMR 及び

自動酸化油の毒性に関する研究 (第 7 報)

自動酸化油投与マウスの病理組織学的研究 (慢性毒性)

白 台 鴻*・金 田 尚 志
東北大学農学部農産化学科 (仙台市青葉区青葉町 1-1)

* 現住所: ソウル特別市城東区善臺洞山 8-2 漢陽大学校医学部

Studies on the Toxicity of the Autoxidized Oils. VII

Histopathological Studies on Mice Administered with Autoxidized Oils. (Chronic Toxicity)

Tai Hong PAIK and Takashi KANEDA

Department of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University (1-1 Tsutsumi-dori, Amamiya-machi, Sendai)

In a previous paper¹⁾, the acute toxicity of methyl linoleate hydroperoxides (LMHPOs) and secondary oxidation products on mice were reported histopathologically. In that paper, the authors noticed that LMHPOs and secondary oxidation products showed similar toxic effects, i.e. gross symptoms were observed in small intestine, liver, lung and kidney. Marked symptoms which were observed in tissues were necrosis, fatty accumulation, and congestive hyperemia. The present study was designed to clarify histopathologically the mechanism of chronic toxicity induced by autoxidized oils. Two kinds of autoxidized methyl linoleate were used for experiments, one contained hydroperoxides (AOML-1) and the other was secondary oxidation products rich (AOML-2).

Those autoxidized methyl linoleates were administered to mice orally in one-tenth or one-twentieth of the amounts of acute toxicity for 2 months. The mice were inspected during the feeding period. The died and/or survived mice were anatomized and small intestine, liver, lung, and kidney were separated immediately from body. The chronic toxicity occurred only when sample oils were administered over a definite amount (one-tenth of the amount of acute toxicity) to mice. The chronic toxicity was similar to acute toxicity in the symptoms. However, such symptoms were more severe than that of acute toxicity. From the fact that feeding of small amounts of sample oils had no detectable toxic effects, whereas they were toxic when sample oils were ingested in larger amounts, we noticed the existence of a barrier for the occurrence of chronic toxicity. From the results obtained, we conclude that the mechanism of chronic toxicity caused by autoxidized oils is almost similar to that of acute toxicity.

1) *Eizo to Shokuryo (J. Jap. Soc. of Food and Nutrition)*, 29, 85 (1976)

1 結 言

著者らは、本研究の第 5 報¹⁾において自動酸化油の慢性毒性を明らかにするため、リノール酸メチルヒド

- LMHPO: Methyl linoleate hydroperoxides
- AOML: Autoxidized methyl linoleate
- AOML-1: Autoxidized methyl linoleate contained hydroperoxides
- AOML-2: Autoxidized methyl linoleate contained secondary oxidation products

ロペルオキシド (LMHPO) 及びその二次酸化生成物のマウスに対する急性毒性試験を行い、各種臓器を病理組織学的に検討し、LMHPO と二次酸化生成物による死マウスの小腸、肝、肺、じんなどの組織に壊死、脂肪沈着、血管の拡張と充血を認め、これらの障害の程度は、マウスに対する毒性の強さと平行しており、特に二次酸化生成物は各組織に対し一層強い障害を与えることを認めた。

過酸化油投与時の急性毒性の病理的変化については従

Table-3 Histopathological observation in the small intestines of mice administered orally AOML-1 and AOML-2.

Table with columns for Group (Control, AOML-1, AOML-2), Status (Survival, Death), Villi (Necrosis, Dilatation of lymphatic vessels), Vacuolic degeneration of epithelial cells, Glanular degeneration of tunica propria, Fatty deposition (Tunica propria, Tela submucosae), Dilatation of blood vessels, and Degeneration of blood cells.

** Necrosis is reached to mucosa and tela submucosa. The degree of symptoms is roughly indicated by the number of + signs: - very weak, + weak, ++ moderate, +++ strong, ++++ very strong. / can't identify.

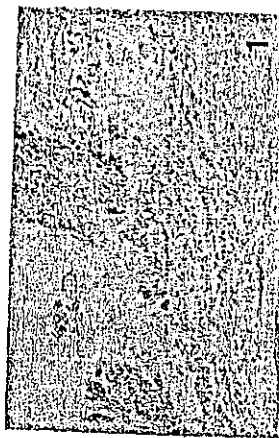


Fig-1 Jejunal in dead mouse fed AOML-2 with jejunal villi. Symptoms induced by chronic toxicity are similar to that of acute toxicity. (H-E stain, x100)

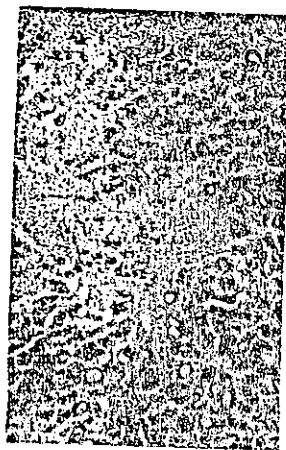


Fig-2 Liver in dead mouse fed AOML-2 with vacuolic degeneration surrounding nuclei, severe diffusional necrosis and hemorrhage. The degree of injury in the livers is more severe than that of acute toxicity. (H-E stain, x100)

Table-4 Histopathological observation in the livers of mice administered orally AOML-1 and AOML-2.

Table with columns for Group (Control, AOML-1, AOML-2), Status (Survival, Death), Nuclei of liver cells (Pyknosis, Appearance of binuclear cells, etc.), Diffusional necrosis, Atrophy of liver cells, Glycogen deposition, Fatty deposition, Hemorrhage, and Congestive hyperemia of the livers.

** 肝細胞変性 ** 細胞変性化 ** 肝細胞変性 ** 細胞内液細胞活性化 ** 肝細胞変性 ** 細胞変性化

来いくつつかの知見が述べられているが、慢性毒性について、急性毒性の研究はほとんどされていない。そこで、急性毒性の慢性毒性による組織障害を病理組織学的に検討したので報告する。

2 実 験

2-1 試料の調製

前報と同様に調製した。すなわち、純度 98% のリノール酸メチルを 60°C で酸蒸を吹きこみ自動酸化させた。25 h 後、過酸化物質 (POV) が最高値付近に達したとき試料を採取し (AOML-1)。さらに 90 h 酸化させ、POV が最大値を過ぎ過酸化物質がわかれて二次酸化生成物を多く生成するようになったものを試料とした (AOML-2)。これら試料の化学特数を Table-1 に示した。

Table-1 Characteristics of autoxidized methyl linoleate used for feeding experiments.

Table with columns for Sample (AOML-1, AOML-2), POV (meq/kg), COV (meq/kg), and MMW.

** MMW: Mean molecular weight ** AOML: Autoxidized methyl linoleate

慢性毒性試験にはこれらをオレイン酸メチルで 10 倍濃に希釈した。

2-2 動物実験

1 群 5 匹よりなる体重 21~22g の DDI 系マウスに AOML-1, AOML-2 の各試料を Table-2 に示すように、急性毒性時の 1/10~1/20 量を経口投与した。すなわち AOML-1 給与群にはオレイン酸メチルで 10 倍に希釈したものを 3 匹には 0.15 ml/d, 2 匹には 0.3 ml/d, 他の 2 匹には 0.1~0.2 ml/d (0.1 ml/d 45 d, 0.2 ml/d 15 d) とした。また、対照群 5 匹にはオレイン酸メチルを 0.3 ml/d 与えた。これら試料は stomach tube を用

Table-2 Toxicity of each sample orally administered on mice.

Table with columns for Sample, Amount of sample orally administered (ml/mouse), No. of mice, Mortality after 2 months (No. of death, No. of survival).

* Methyl oleate ** Autoxidized methyl linoleate

All mice were used for histopathological observation.

い、一定時刻に 1 日 1 回 60 d 連続経口投与した。試料投与前、投与前、同型飼料と水道水を自由に採取させた。飼育期間中はマウスの状態を観察するとともに体重の変化も調べた。

飼育途中、死亡したマウスは死亡直後、生存したものは 60 d 後同時に断頭と殺し、ただちに、小腸、肝、脾、じん臓の各組織を採取し、前報のとおり組織標本を作成し、病理組織学的検査を行った。

3 結 果

3-1 各実験群の症状とその出現経過

各試料を 60 d 連続経口投与した結果 (Table-2), AOML-1 0.15 ml/d, AOML-2 0.3 ml/d の投与では毒性を表現せず、同時にも対照群よりやや劣るが体重は増加し、正常に近い成長を示した。すなわち、いずれも中毒を思わせる外部的症状を示さず、死亡はなかった。しかし、投与量を 2 倍にした AOML-1 0.3 ml/d 投与マウス 1 匹は試料投与 48 d 後に 1 匹は 57 d 後に死亡した。AOML-2 0.1 ml/d を 45 d 間投与しても毒性が現れなかったが、2 匹は 0.2 ml/d と 2 倍にしたが、うち 1 匹は試料投与 54 d 後に死亡した。また、他の 1 匹は生存したが衰弱が目立った。なお、AOML-1 群でも毒性が出現すると衰弱状態になり、体重は急減し 60 d 以内に死亡した。生存マウスは体重の増加を示したが、その程度は対照群と最も大きく、次に AOML-1 群、AOML-2 群の順となり AOML-2 を投与したものの方が体重の増加が少なかった。

3-2 病理組織学的所見

1) 小腸: Table-3 に示すように死亡マウスには急性毒性時と同様、粘膜の融解壊死が強く、とくに粘膜下組織にまで及んでおり、高度のかいようが認められた (Fig-1)。脂肪の沈着は組織の破壊のため確認できなかった。固有層内血管中の赤血球は PAS 陽性となり、赤血球の異染色性を認めたが、その程度は急性毒性時より強かった。生存マウスではしょう毛先端部の壊死と、リンパ管の拡張が程度に見られたが、血管中の異染色性と脂肪の沈着は認められなかった。本実験における小腸の障害は前報で報じたりノール酸メチルヒドロペロキシシンド投与急性毒性時と類似している。また、小腸の障害は他の臓器に比べ強かった。

2) 肝臓: Table-4 に示すように両群の死亡マウスの肝臓にも急性毒性と同様な症状が出現した。すなわち血管に近接した部位にびまん性壊死がみられた。肝細胞のグリコーゲンは消失し、中性脂肪が蓄積していた。一方、肝臓内液細胞は肥大し、多核球が軽度には増殖しており、同細胞の活性化が認められた。血管系では門脈系血管の拡張とうっ血が強く、出血も強くみられたが出血

Table-5 Histopathological observation in the lungs of mice administered orally AOML-1 and AOML-2.

Group	Status	Alveoli of lung*				Focal necrosis**	Atelectasis**	Appearance of macrophagocytes**	Dilatation of the blood vessels	Congestive hyperemia of the lungs**	Hemorrhage
		Epithelial drooping**	Epithelial thickening**	Epithelial proliferation**	Deposition of substance like protein						
Control	Survival	-	+	-	-	-	-	±	-	-	-
AOML-1	Death	-	+	-	+++	+	++	++	++	++	++
AOML-2	Survival	-	+	±	++	+	+	+	+	+	+
	Death	-	+	+	++	+	+	+	+	+	+
Survival	Survival	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+

* 肺動脈 ** 上皮増殖
 ** 上皮増殖 ** 充血
 ** 上皮肥厚 ** 壊死

の程度は AOML-2 群において顕著であった (Fig. 2)。急性毒性時と同様に肺動脈の異常が認められたがその程度は強く、特に肺動脈の空胞形成と核濃縮が顕著であった。また、肝細胞はひどく縮んでいた。肝臓に対する障害は急性毒性時と同様、AOML-2 を投与した群の方が著しかった。同様の生存マウスには核の消失と血管の拡張、うっ血が軽度に見られたが大きい変化は認められず、グリコーゲンでは残存し、脂肪の沈着はみられなかった。

3) 肺臓: Table-5 に示すように両群の死亡マウスにおける肺の障害はリノール酸メチルとドレペルオキシド投与時の急性毒性と同様であるがその程度は強かった。すなわち、強い出血と充血さらには無気肺部と壊死、タンパク沈着物の出現が強くみられた。急性毒性時と異なっていた点は AOML-2 投与群でも肺に対する影響が強いことである (Fig. 3)。生存マウスでは血管の拡張と充血、出血が中等度、肺動脈の肥厚と壊死



Fig. 3 Lung in dead mouse fed AOML-2 with alveolar dilatation, hemorrhage and necrosis of epithelial cells etc. In the case of chronic toxicity, severe symptoms are observed on the lungs fed secondary oxidation products. (H-E stain, x40)

4) じん臓: Table-6 に示すように急性毒性時と症

Table-6 Histopathological observation in the kidneys of mice administered orally AOML-1 and AOML-2.

Group	Status	Glomerulus*		Renal tubules**										
		Necrosis	Epithelial thickening of Bowman's capsule**	Dilatation of Bowman's space**	Congestive hyperemia**	Necrosis	Pyknosis**	Albuminuria cylinder**	Dilatation of tubules**	Vacuolar degeneration of proximal portion**	Fatty degeneration of proximal portion**	Hyaline droplet degeneration of epithelial cells**	Hemorrhage	
Control	Survival	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AOML-1	Death	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AOML-2	Survival	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Death	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Survival	Survival	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* 糸球体 ** 尿細管
 ** 糸球体 ** 尿細管
 ** 糸球体 ** 尿細管
 ** 糸球体 ** 尿細管

状は類似していた。すなわち、糸球体の壊死と充血、尿細管の拡張及び壊死。このほか主腎動脈の上皮細胞では硝子状変性が認められ主腎動脈の空胞形成と脂肪沈着が認められた。ボウマンのうっ血の拡張と同上皮細胞の肥厚、拡張性の尿細管などがみられた (Fig. 4)。生存マウスでは、対照群と同様の異常を認めなかった。

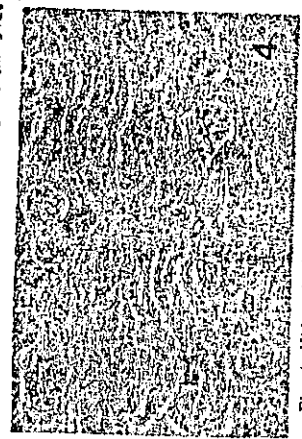


Fig. 4 Kidney in dead mouse with necrosis of the renal tubules and epithelial thickening of Bowman's capsule etc. (H-E stain, x100)

4 考 察

以上の結果から考察すると過酸化物質及び二次酸化生成物の慢性毒性は一定量以上の長期投与によって出現し死亡マウスの小腸、肝、肺、じん臓の各組織には壊死と脂肪沈着、血管の拡張、充血及び出血など共通にみられ、急性毒性時の症状と類似していたがその程度は急性毒性時以上であった。また、各組織に対する障害は AOML-2 の方が AOML-1 より顕著であった。しかし、一定量以下少量を長期投与して生じたマウスの各組織には大きな変化を認めなかった。すなわち、慢性毒性は一定量以上を長期投与することにより出現することから、慢性毒性にはある barrier が存在することを認められた。著者は前報で急性毒性時の各組織における形態学的変化が少なくない場合には可逆的なもので永続的後遺症を残さないが、症状がひどくなるほど不可逆的となり障害が顕著になることを認めている。一定量以上を長期投与した場合は、慢性毒性により顕著になるのは過酸化物質及び二次酸化生成物から直接吸収され、各組織に運ばれ組織に蓄積されると思われる。金田らも過酸化物質の一部が小腸から吸収され各組織に蓄積されると報告している。

慢性毒性により死亡したマウスには急性毒性と同様に、小腸においてヒトラーチの脱脂作用が強く、壊死は粘膜下組織にまで及んでいた。肝臓での障害は AOML-2 投与群の方が顕著であったのは、二次酸化生成物は容易に吸収され大部分門脈から、直接肝臓に運ばれ体内に蓄積される量も多いためと思われる。AOML-2 は肺に對

し血管の拡張、充血、出血など血管系に強い障害を身えており、AOML-2 の肺に対する影響は急性毒性よりかなり強いといえるがこの遅い原因についてはなお明らかでない。

全体的にみた場合、慢性毒性は一定量以上を長期投与することにより慢性毒性が発現したことから、過酸化物質及び二次酸化生成物は小腸から吸収されリンパ管から循環系に入り、または門脈系より各組織に運ばれ一部は解毒されるが、解毒されずに過酸化物質及び二次酸化生成物は組織タンパク質と結合して組織に蓄積され細胞膜の低下ないし破壊により組織の障害が起るものと推察された。また、この障害は循環系にまで波及すると考えられた。

慢性毒性を病理組織学的にみると、程度の差はあるがいずれも急性毒性時と同様な症状を呈した。このことから、慢性毒性と急性毒性の毒性発現機構は同様に推察された。

5 要 約

過酸化物質及び二次酸化生成物の一定量を長期投与することにより、慢性毒性発現機構は同様に推察された。慢性毒性は一定量以上の長期投与によって出現し死亡マウスの小腸、肝、肺、じん臓の各組織には壊死と脂肪沈着、血管の拡張、充血及び出血など共通にみられ、急性毒性時の症状と類似していたがその程度は急性毒性時以上であった。また、各組織に対する障害は AOML-2 の方が AOML-1 より顕著であった。しかし、一定量以下少量を長期投与して生じたマウスの各組織には大きな変化を認めなかった。すなわち、慢性毒性は一定量以上を長期投与することにより出現することから、慢性毒性にはある barrier が存在することを認められた。著者は前報で急性毒性時の各組織における形態学的変化が少なくない場合には可逆的なもので永続的後遺症を残さないが、症状がひどくなるほど不可逆的となり障害が顕著になることを認めている。一定量以上を長期投与した場合は、慢性毒性により顕著になるのは過酸化物質及び二次酸化生成物から直接吸収され、各組織に運ばれ組織に蓄積されると思われる。金田らも過酸化物質の一部が小腸から吸収され各組織に蓄積されると報告している。

- 1) 過酸化物質及び二次酸化生成物の慢性毒性は一定量以上を長期投与することにより出現したことから慢性毒性発現にはある barrier が存在する。
- 2) 過酸化物質及び二次酸化生成物による死亡マウスの小腸、肝、肺、じん臓の各組織には急性毒性時の症状と同様、細胞壊死と脂肪沈着が共通にみられ、さらに各器官には血管の拡張と充血、出血が認められた。これらの障害の程度は急性毒性時より一層顕著であった。このことから、慢性毒性は過酸化物質及び二次酸化生成物から直接吸収され、各組織に運ばれ蓄積され組織に蓄積した結果組織の障害が起ると推察された。本研究を行うに当たり、組織学的研究に対し懇切な御指導をたまわった東北大学理学部 畜産学科学科 星野忠彦教授に厚く感謝の意を表します。(昭和53年4月17日受理)

文 献

- 1) 白 崎 勇, 星野忠彦, 金田尚志, 柴 栄 夫, 29 (2), 85 (1976)
- 2) 安田尚志, 石井清之助, 酒井重幸, 荒井善治, 東洋水産誌, 12, 1-73 (1955); 日誌, 20, 658 (1954); 武田 茂, 金田尚志, 第13回化学同好会講演集 第5編, p. 51 (1974)
- 3) M. Nakamura, H. Tanaka, Y. Hattori, M. Watanabe, Lipids, 8, 566 (1973)
- 4) 土田雅子, 三浦利之, 武藤 健, 宮木高野, 油化学, 22, 259 (1973)
- 5) R. Cortesi, O.S. Privetti, Lipids, 7, 715 (1972)
- 6) R.T. Holman, S.I. Greenberg, J. Am. Oil Chem. Soc., 35, 707 (1958)