

200401149A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全性高度化推進研究事業

数種の食用油に含まれる微量有害因子  
に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 奥 山 治 美

平成 17 (2005) 年 3 月

## 目 次

I. 総括研究報告	
数種の食用油に含まれる微量有害因子に関する研究 -----	1
奥山 治美	
II. 分担研究報告	
1. 遠心式分子蒸留法によるカノーラ油分画物の寿命短縮活性および組織 テストステロン含量に及ぼす硬化大豆油の影響に関する研究 ----	7
奥山 治美	
2. 有害因子の生化学的、生理学的検索 -----	25
大原 直樹	
3. プリオンタンパク発現に及ぼすカノーラ含有飼料の影響と <i>in vitro</i> に おけるプリオンタンパクの発現制御機構 -----	51
小野崙 菊夫	
4. カノーラ油の微量成分の科学的解析 -----	67
永津 明人	
5. ヤギにおける大豆粕、カノーラ粕の安全性評価 -----	70
大谷 滋	
6. 腫瘍誘導血管新生抑制物質探索を目的とした <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> 実験系の確立とその応用 -----	75
加治 和彦	
7. 大豆レシチン画分中の微量成分と培養細胞を用いた生理活性評価 ---	78
小林 哲幸	
8. カノーラ油の植物エストロゲンおよびアンドロゲン様作用の解析 ---	83
井上 誠	
9. カノーラ油および大豆油添加飼料の給餌が マウスの回転かご運動量に及ぼす影響 -----	88
渡辺 志朗	
10. オリーブ油ならびにその分子蒸留画分が 食塩負荷SHRSPの寿命に及ぼす影響 -----	91
小川 博	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	102
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	103

## 数種の食用油に含まれる微量有害因子に関する研究

主任研究者 奥山 治美 名古屋市立大学大学院 薬学研究科 教授

### 【研究要旨】

数種の食用油は大豆油やシソ油に比べて脳卒中易発症性（SHRSP）ラットの寿命を異常に短縮し、微量有害因子の存在を想定している。本研究はこの有害因子を探索し、寿命短縮作用を示さない食用油を供給することを最終目的としている。本年度は、カノーラ油の分画による有害因子の分離、寿命短縮活性や内分泌攪乱作用などの知見について再現性をしらべながら、オリーブ油、硬化大豆油に拡大し評価すること、を主目的とした。

### 【方法；とくに記載のない限り SHRSP ラットを使った】

CO<sub>2</sub>超臨界流体抽出法、遠心分子蒸留法、分子篩法でカノーラ油、オリーブ油、および/あるいは硬化大豆油を分画し、分画物の寿命短縮活性、組織の病理評価、および/あるいは血管内皮細胞管腔形成系（*in vitro*）に及ぼす影響を評価した。またカノーラ油の自発行動（マウス）、金属イオン代謝、ステロイドホルモン代謝系に及ぼす影響を評価した。一方、ヤギの成育に及ぼすカノーラ粕の影響を評価した。

### 【主な成果】

- ① CO<sub>2</sub>超臨界流体抽出法による低圧抽出部（180bar、収率<20%）は寿命短縮作用を示さず、安全な油であった。高圧（360bar）抽出部、残留油には短縮活性が残っていた。残留油の心臓・腎臓などに対する障害の程度が強かった。
- ② 分子蒸留法による分画物については前年度の結果が再現できず、カノーラ油、オリーブ油とも、残留油画分の寿命短縮活性が元の油より強かった。この画分に寿命短縮因子が濃縮されたか、あるいは防御因子がこの画分から除かれた可能性が示唆された。オリーブ油の蒸留油画分は強い寿命短縮活性を示したが、カノーラ油の蒸留油画分には活性が認められず、食用油間で微量成分に質的な差があることが示唆された。  
一方、カノーラ油のトラップ画分（分子蒸留法）に血管管腔形成阻害活性（*in vitro*）が認められ、この活性は他の画分には認められなかった。このトラップ画分にエイコサノイド合成阻害作用をもつ4-butylresorcinolが同定された。
- ③ 分子篩法は扱える量に限界があり、有害因子（活性）が分離されているか否かの結論は得られなかった。
- ④ カノーラ油および硬化大豆油は大豆油に比べ、精巢テストステロンのレベルを有意に低下させた（再現性が確認された）。超臨界抽出法による分画物間で比較すると、精子数、運動性精子数には差がなかったが、直線運動する精子の割合は残留油画分で低下する傾向を示した。
- ⑤ ヘキサン脱脂法によるカノーラ粕はヤギの成育に悪い影響を与えず、SHRSPラットの寿命も短縮せず（大豆粕対照）、これらに対し安全であると結論した。

SHRSPラットにおいてカノーラ油は大豆油に比べ血清の銅イオンとセルロプラスミンのレベルを有意に上げたが、プリオン蛋白量には影響を与えなかった。雌マウスの自発運動、不安誘発頻度に差は見られなかった。

【分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名】

大原直樹	(財)食品薬品安全センター 秦野研究所	副部長
小野崙菊夫	名古屋市立大学大学院 薬学研究科	教授
藤井陽一	名古屋市立大学大学院 薬学研究科	助教授
永津明人	名古屋市立大学大学院 薬学研究科	講師
大谷 滋	岐阜大学 応用生物科学部	教授
加治和彦	静岡県立大学 食品栄養科学	教授
小林哲幸	お茶の水女子大学 理学部	助教授
井上 誠	名古屋市立大学大学院 薬学研究科	助教授
渡辺志朗	富山医科薬科大学 和漢薬研究所	助教授
小川 博	近畿大学 医学部	講師

## A. 研究目的

数種の食用油は、大豆油やシソ油に比べて脳卒中易発症性 (SHRSP) ラットの寿命を異常に短縮し、微量有害因子の存在を想定している。本研究はこの有害因子を探索・同定し、寿命短縮作用を示さない食用油を創出・供給することを最終目的としている。本年度は、CO<sub>2</sub> 超臨界流体抽出法、分子蒸留法、遠心分子篩法などによって食用油を分画し、分画物の寿命短縮活性を比較すること、およびや内分泌攪乱作用などについて、前年度までの知見の再現性をしらべながら、オリーブ油、硬化大豆油に拡大して評価すること、を主目的とした。

## B. 研究方法

① カノーラ油を超臨界抽出法で、低圧 (180bar) 抽出画分、高圧 (350bar) 抽出画分、残留油画分の3画分に分離し、寿命短縮活性、組織病理などを評価した。分子蒸留法でカノーラ油、オリーブ油を残留油、蒸留油、凝集面付着画分、コールドトラップ画分の4画分に分け、寿命短縮活性、ヒト臍帯血管内皮細胞管腔形成系に及ぼす影響を評価した。また分子篩法でカノーラ油を分画し、寿命短縮活性を評価した。

### ② 内分泌攪乱作用 (SHRSP ラット)

大豆油を対照とし、寿命短縮作用を示すカノーラ油および硬化大豆油を10%含む餌で16週齢まで飼育し (食塩負荷なし)、精巣テストステロン含量を測定した (前年度結果の再現性評価および硬化大豆油へ評価の拡大)。

一方、Wistar ラットを卵巣切除あるいは精巣切除し、カノーラ油の影響を評価した。

③ 雌性マウスをカノーラ油あるいは大豆油を10%含む餌で飼育し、自発運動、不安誘発頻度を比較した。

### ④ カノーラ粕の安全性

ヤギの成長に対するカノーラ粕と大豆粕の影響評価を継続した。また SHRSP ラットの生存率に及ぼすこれら油糧種子由来の粕、油

の影響を評価した。SHRSP ラットの生存率に差のあるカノーラ油群と大豆油群について、脳のプリオン蛋白の発現、血清銅イオンのレベルなどを比較した。

## C. 研究結果

### 1. 超臨界抽出法によるカノーラ油の分画と分画物の評価

低圧抽出部 (<20%) は寿命短縮作用を示さず (SHRSP ラット)、安全な油であった。高圧抽出部、残留油には短縮活性が元の油と同程度、残っていた。残留油の心臓・腎臓などに対する障害が強かったが、生存率との相関は明確ではなかった。各分画のステロール含量と生存率の間に相関は見られなかった。新鮮死体の組織では、カノーラ油とその分画物群で髓外造血が顕著であった (再現性あり)。

### 2. 分子蒸留法によるカノーラ油、オリーブ油の分画物の評価

カノーラ油分画物の生存率の比較では前年度の結果が再現されなかった。分画法およびあるいは動物実験に問題があったと思われる。

カノーラ油、オリーブ油とも、分画後の残留油画分の寿命短縮活性が元の油より強かった。すなわち、寿命短縮因子が濃縮されたか、あるいは寿命短縮作用に対する防御因子がこの画分から除かれた可能性が示された。

一方、オリーブ油の蒸留油画分は強い寿命短縮活性を示したが、カノーラ油の蒸留油画分には活性が認められず、食用油間で微量成分に質的な差がある可能性が示された。

### 3. 化学的解析、血管内皮細胞管腔形成系などに対する作用評価

カノーラ油のトラップ画分 (分子蒸留法分画) に血管腔形成阻害活性 (*in vitro*) が認められ、この活性は他の画分には認められなかった。このトラップ画分にエイコサノイド合成阻害作用をもつ4-butylresorcinolが同定された。これが血管腔形成阻害活性や防御

因子の本体であるか否かは、現在のところ不明である。一方、大豆ステリルグルコシドの潰瘍形成抑制機構を明らかにした。これらの結果は、“トリアシルグリセロール以外にも多くの微量生理活性成分が食用油に含まれている”、という解釈を支持している。

#### 4. 分子篩法による分画

分子篩法で数kgのカノーラ油を分画し、餌の油含量を5%にして寿命短縮活性を評価したが、明確な差は認められなかった。

#### 5. カノーラ油あるいは硬化大豆油の内分泌攪乱作用

カノーラ油は大豆油に比べ、SHRSPラットの精巣テストステロン量を有意に低下させた。血清レベルも低下傾向を示し、ほぼ前年度の結果が再現された。硬化大豆油は大豆油に比べ有意に寿命を短縮するが、精巣テストステロンのレベルも大幅に低下させた。

一方、超臨界抽出法によるカノーラ油分画物を与えた群は大豆油群に比べ、精子数、運動している精子の数には差がなかったが、直線運動する精子の割合が残留油分画で低下する傾向が認められた。

他方、卵巣切除のWistarラットではカノーラ油のエストロゲン受容体モデレーター活性は認められなかった。しかし精巣切除ラットでカノーラ油は、アンドロゲン受容体に対し、精囊・骨髄ではアンタゴニスト様の、胸腺・脾臓に対してはアゴニスト様の弱い作用を示した。

カノーラ油や硬化大豆油はわが国食用油の半分程度を占めているが、それらに内分泌攪乱作用があることが動物実験で示された。

#### 6. 脱脂粕と油の安全性評価

最近、家畜飼料として供給されている大豆粕、カノーラ粕はほとんどすべて、ヘキサン脱脂法によるものとなった。このカノーラ粕は大豆粕と同様にヤギの成育に悪い影響を与えず、SHRSPラットの寿命も短縮せず、これらに対し安全であると結論した。

SHRSPラットにおいてカノーラ油は大豆油に比べ、血清の銅イオンとセルロプラスミンのレベルを有意に上げたが、プリオン蛋白量には影響を与えなかった。雌マウスの自発運動、不安誘発頻度に差は見られなかった。

#### (倫理面への配慮)

動物実験は生存率を主なエンドポイントとしたが、組織採取の必要がある場合は安楽死させた。ヒト血管内皮細胞 (HUVEC) は株化、市販されているものである。他に配慮すべき倫理面の問題は見当たらない。

#### D. 考察

CO<sub>2</sub>超臨界流体抽出法で、SHRSPラットに対する寿命短縮活性が実質的に除かれた低圧(180bar)抽出油が得られた(前年度の結果をほぼ再現)。ただし、この低圧抽出油の収率が20%以下であり、このままで産業化できるとは考えがたく、分離条件の検討が必要である。この分画法では寿命短縮活性が著しく濃縮された画分は得られなかった。

分画物を与えた群の組織評価を行なったが、心臓、腎臓などの病理変化が再現性よく認められた。しかし、寿命短縮活性とは必ずしも相関しない面があり、性質の異なる複数の因子が関与している可能性が考えられる。

分子蒸留法により、寿命短縮活性を示さない改質カノーラ油が高収率で得られる、という前年度の結果は再現できなかった。分画法と動物実験の両方、あるいはいずれかに問題があったと考える。この方法によりカノーラ油とオリーブ油を分画したが、どちらも残留油分画の寿命短縮活性が元の油より強く、有害因子と同時に防御因子も存在するのかもしれない。一方、オリーブ油の蒸留油分画は寿命短縮活性を示したがカノーラ油の蒸留油分画は短縮活性を示さなかった。両食用油の間で質的に異なる微量因子が存在するのかもしれない。

いずれの分画法でも、分画物の植物ステロール含量と生存率は相関しなかった。そして、分子蒸留法では残留油の植物ステロール含

量が少ないにもかかわらず、寿命短縮活性は強かった。カノーラ油と同程度の寿命短縮活性を再現するには 5 倍量の植物ステロール画分を加える必要があることも示されている (Ogawa et al. (2003) Clin Exp Pharmacol Physiol 30: 919-924)。すなわち、植物ステロールは多量で SHRSP ラットの寿命を短縮する可能性はあるが、寿命短縮因子の本体ではないことが、より明確となった。

前年度、カノーラ油群の SHRSP ラットで血清および精巣のテストステロンレベルの低下を認めた (対大豆油群)。この結果は、今回の研究でもほぼ再現された。大豆油に対し硬化大豆油が寿命短縮活性を示すが、硬化大豆油も精巣テストステロンレベルを有意に低下させることが明らかとなった。前年度の研究ではエストロゲンのレベルには差がなかったが (雌 SHRSP ラット)、性周期をあわせて再確認する必要がある。

一方、卵巣切除の Wistar ラットではカノーラ油の効果は認められなかったが、精巣切除ラットでカノーラ油はアンドロゲン受容体に対し、弱いモデュレーター活性を示した。カノーラ油などは、雄性能に対する作用が強いのかもしれない。

カノーラ粕はヤギや SHRSP ラットの成長に影響を及ぼさなかった。一般に圧搾粕には油分がかなり残存するが、ヘキサン脱脂粕の油分残留量は極めて少ない。微量有害因子はヘキサン可溶であると考えられ、ヘキサン脱脂カノーラ粕はこれらの動物に安全であると結論した。カナダのグループは代用乳としてカノーラ油あるいは大豆油をつかった場合、新生ブタの生存率や血小板数に差が出たと報告しているが (Innnis SM et al, 1999; Sauer FD et al., 1997)、このようなアッセイ系での両食用油の差の有無を確認する必要がある。

SHRSP ラットの脳プリオンタンパク発現には、カノーラ油は影響しなかった。しかし、血清銅イオンとセルロプラスミンのレベルはカノーラ油群で有意に上昇していた。プリオンタンパクは GPI アンカー型タンパクで

あり、銅を細胞内に取り込む役割を果たしているが、カノーラ油がその経路に影響を与えた可能性は否定できず、今後の課題となっている。

## E. 結論

これまでに得られた結果は次のように要約される。

- ① カノーラ油の超臨界抽出法により、寿命短縮活性を示さない低圧抽出油が得られた。この画分の脂肪酸組成は元の油とほぼ同じであるが収率が低く (<20%)、産業に結びつけるには、さらなる条件検討が必要である。
- ② 分子蒸留法による分画では前年度の結果が再現されなかった。この方法により分画したカノーラ油、オリーブ油では、残留油画分の寿命短縮活性が元の油より強く、有害因子と共に防御因子の存在が示唆された。分画物のうちトラップ部のみが血管内皮細胞管腔形成阻害作用を示し (*in vitro*)、この画分にエイコサノイド合成阻害作用をもつ 4-butylresorcinol が同定された。
- ③ カノーラ油と同様に硬化大豆油も、精巣テストステロン含量を有意に低下させた (SHRSP ラット)。また精巣切除 Wistar ラットでカノーラ油は、アンドロゲン受容体モデュレーター活性を示した。超臨界抽出法による残留油画分は、精子数、運動している精子の数に影響を与えなかったが、直線運動する精子の割合を低下させる傾向が認められた。前年度に有害因子が仔に伝わり、仔の出生数や生存率に影響を及ぼす可能性を報告したが、わが国の食用油の約半量を占める油種に内分泌攪乱作用が認められたことの重要性が指摘できる。
- ④ SHRSP ラットに対する寿命短縮因子として、植物ステロール以外の未知因子が重要であることが、より明確

となった。

- ⑤ 使用したカノーラ粕、大豆粕はヘキサノール脱脂粕であり、ヤギ、SHRSP ラットなどの成長に対して安全であると結論した。カノーラ油は大豆油に比べ SHRSP ラットの血清の銅、セルロプラスミンのレベルを上昇させたが、プリオンタンパク発現量には影響を与えなかった。プリオンタンパクを介した金属イオン代謝とカノーラ油の関係については、さらなる検討を要する。

#### F. 健康危険情報

従来、「数種の食用油について報告された有害作用は、特殊な動物モデル（脳卒中ラット）でみられる植物ステロールの作用である」、という一部の研究者の解釈が重視されてきた。しかし、植物ステロールによらない有害因子が存在することは、ほぼ明確となった。カノーラ（菜種）油と大豆油は多くの国で主要な食用油である。わが国では前者が増加しつつあり総植物油の4割、後者が3割程度を占めている。これら二つがリノール酸/ $\alpha$ -リノレン酸のバランスにかかわらず大きな生理作用の差を生じさせることは、あまり知られていない。カノーラ油の異常作用は脳卒中ラットに限定されず、多くの種（マウス、豚、乳牛など）に及んでいること、その用量がヒトの食環境に匹敵するレベルであること、などから、健康情報発信の面でも、これまでの施策を踏襲することは不適切である。ヒトでの有害性は証明されていないが、動物実験で有害性の認められる食用油やその加工油脂を多く摂取しないよう、広報活動を進める必要がある。

#### G. 研究発表（主任者）

##### H16年原著論文

- (1) 国内 1件

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)

- (2) 海外 6件

そのうち主なもの

Du, C., Fujii, Y., Ito, M., Harada, M., Moriyama, E., Shimada, R., Ikemoto, A. and Okuyama, H. Dietary polyunsaturated fatty acids suppress acute hepatitis, alter gene expression and prolong survival of Long-Evans Cinnamon rats, a model of Wilson Disease. *J. Nutr. Biochem.* 15(5), 273-280 (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.* 134, 1347-1352 (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. *Food Chem. Toxicol.* 42, 1443-1451 (2004)

H16年 国際学会発表 2件、  
国内学会発表 3件

#### H. 知的財産権の出願。登録状況

なし

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



遠心式分子蒸留法によるカノーラ油分画物の寿命短縮活性および  
組織テストステロン含量に及ぼす硬化大豆油の影響に関する研究

主任研究者 奥山 治美 名古屋市立大学大学院 薬学研究科 教授  
分担研究者 藤井 陽一 同 助教授  
研究協力者 夫馬 慎弥 同 研究員

【研究要旨】

分子蒸留法により、カノーラ油を分画し、寿命短縮活性を評価した。“活性がほぼ除かれた画分が得られた”という前年度の結果は再現できなかった。残留油の寿命短縮活性はもとのカノーラ油に比べ短い傾向を示したが、他の分画（蒸留油部、凝集物等には活性が検出できなかった。植物ステロール含量は寿命と相関していなかった。

一方、カノーラ油群、硬化大豆油群の血清テストステロンレベルは大豆油群より低い傾向を示し、精巢テストステロン含量は有意に低かった。これらの結果は、カノーラ油と大豆油を比較した前年度の結果をほぼ再現していた。

A. 研究の背景と目的

我々は脳卒中易発症性高血圧（SHRSP）ラットの寿命を指標に各種の食用油脂の安全性を調べてきた（1-4）。その結果n-3系脂肪酸を多く含む紫蘇油、フラックス油、魚油はSHRSPラットの寿命を大豆油に比して、およそ1割延長させた。この効果は、これらの油脂のn-6/n-3比が低いことによると理解された（5）。ところが、カノーラ油はn-6/n-3比が2.5以下と比較的低いにもかかわらず、大豆油に比しておよそ40%の寿命短縮を示した（1）。同様の寿命短縮作用は、高オレイン酸紅花油や高オレイン酸ヒマワリ油、オリーブ油など、オレイン酸含量が多い油脂にも見られた。しかし、オレイン酸を35%含むラードは寿命の短縮作用を示さず、またオレイン酸含量が15%である月見草油は寿命短縮作用を示すため、オレイン酸が寿命短縮の主因ではないと考えられた。このように脂肪酸組成のみでは有害作用の説明がつかず、微量有害因子の存在が想定された（2）。

カノーラ油はわが国において全植物油脂の44%を占めており、ヒトに対しても有害作用を示すとなると深刻な問題となる。また近年ではカノーラ油と同様、寿命短縮作用を示すオリーブ油の消費量も増加傾向にある。当研究室での報告（1）では、カノーラ油を大豆油で1/3に希釈した場合でもSHRSPラットの寿命を有意に短縮させることが明らかと

なっており、ヒトの食環境において微量有害因子を含有する食用油の問題は、解決すべき重要な課題である。

カノーラ油は菜種の選良により得られたカノーラ種からの油である。従来の菜種油には、エルカ酸という脂肪酸と、イソチオシアネートやオキサゾリジンチオンに代表される含硫化合物を多く含むといった特徴がある。エルカ酸は、従来の菜種では脂肪酸の20-40%を占めているが（6）、カノーラでは2-4%以下となっている。含硫化合物は種子中120-150 $\mu\text{mol/g}$ 含まれていたものが、16 $\mu\text{mol/g}$ に減少している（6）。エルカ酸は心筋障害、含硫化合物は甲状腺毒性を示すことが知られている（7-9）。カノーラはこの2つの有害因子の含量が低い品種である。先に述べたSHRSPラットの寿命短縮作用は菜種油、カノーラ油ともに見られるものであり、その有害成分はエルカ酸や含硫化合物とは別の未知の成分であると考えられる。

最近、寿命短縮作用を示す食用油の多くは、示さない食用油に比較して植物ステロールを多く含む傾向にあり、またSHRSPラットや元のSHRラット、WKYラットは他のラット系統に比べ、ABCトランスポーターの異常により植物ステロールを蓄積しやすいという特徴が明らかにされた（10-12）。そのため、寿命短縮作用はSHRSPラットという特殊な動物モデルにおける植物ステロールによる、と

いう解釈が一部の人たちによりなされた。しかし、植物ステロール含量の低いオリーブ油でも SHRSP ラットに対する寿命短縮作用が見られている (11)。また、カノーラ油をリパーゼやアルカリ処理で加水分解したカノーラ遊離脂肪酸画分は、植物ステロールをカノーラ油とほぼ等量含むにも関わらず、寿命短縮作用を示さないことが当研究室により見出されている (4)。さらに、カノーラ油の摂取によりブタやラットにおける血小板数の減少や腎障害の促進 (13、14)、マウスにおける異常行動 (15) など、種を越えて各種の有害作用が報告されている。これらも、植物ステロール以外の有害物質の存在を考えさせるものである。

昨年、カノーラ油を分子蒸留法で分けたところ、残留油画分から寿命短縮活性が除外されている可能性が示された。しかし、再実験ではそのような結果が得られず、今回、新たにカノーラ油を分子蒸留法で分画し、分画物の寿命短縮活性を評価することを一つの目的とした。一方、カノーラ油が大豆油に比べ、血清、精巣テストステロン含量を有意に減らすという知見が得られた。そこでカノーラ油と同様に寿命短縮活性を示す硬化大豆油を加え、組織テストステロン含量に及ぼす影響を評価することを、もう一つの目的とした。

## B. 研究方法

### 実験動物と餌

セアック吉富株 (福岡) より購入し、当研究室にて系統維持している SHRSP ラットを用いた。交配開始から離乳まではペレット状の繁殖用飼料 CA-1 (日本クレア、東京) を給餌した。得られた仔は、3 週齢で離乳させ 4 週齢までペレット状の普通飼料 CE-2 (大豆由来の 2.7% の脂肪酸、及び 0.59% の食塩を含む：日本クレア、東京) と限外ろ過水で予備飼育した。4 週齢に達した時点で同腹子を、できる限り各食餌群に振り分けるよう、また各食餌群の体重の平均値が等しくなるように割り振った。4 週齢から 10% の油を含む飼料を与えた。生存率の測定では、飲水として 0.3% の食塩水 (海水由来の >99% 塩化ナトリウム：財団法人塩事業センター、東京) を与えた。臓器中 testosterone 測定実験の飲水には、食塩水負荷は行わなかった。摂取飼料の過酸化価を 100 meq/kg 以下に保つため、

12 週まで 2 日に 1 度飼料を交換し、未使用分は破棄した。

### 動物飼育環境

SPF 環境下で室温  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度  $50 \pm 10\%$  で飼育した。交配から仔の実験飼料給餌開始までは、プラスチック製床敷きケージを使用した。生存率測定実験では、各群 12 匹 (雄) を用いた。実験開始から実験終了までラック内の同じ区画の吊りケージ (金属製ハンギングケージ) で、ケージ当り 3 匹入れて飼育した。

12 週まで週毎に、食塩水摂取量と餌の摂食量を測定した。摂食量は、1 週間ごとに一定量の実験飼料を与え、24 時間後の残量を計量して求めた。4 週齢、5 週齢時には、30 g/匹、6-12 週齢時、それ以降には 40 g/匹の飼料を与えた。

臓器中テストステロン測定実験では各群 8 匹とし、16 週までプラスチック製床敷きケージで、食塩水負荷なしの条件で飼育した。

### カノーラ油の分子蒸留法による分画

カノーラ油 (太田油脂株、岡崎) 44kg を 1 mmHg の圧力下、 $150^\circ\text{C}$  で 3 時間加熱し、油脂に残留する低沸点の溶媒や精油を除去した。次に 0.002 mmHg、600 rpm で回転している蒸発面中央に少量ずつ滴下、延展し、6 時間をかけて 44 kg を蒸留した。このとき、蒸発面は  $258^\circ\text{C}$  に保たれた (この温度は蒸発面末端で測定されるものであり、蒸発面そのものはこれよりやや高い温度になっている)。蒸発面の面積、時間、処理量から換算すると、油が蒸発面に接触していた時間は 2 分前後であると計算できる。蒸留油部は常温で冷却、回収し、得られた蒸留油、残留油、蒸留凝集物、冷却トラップ部は窒素雰囲気の下、 $4^\circ\text{C}$  で遮光保存した。

### 飼料用油の調製

残留油 (カノーラ油 44.0 kg から 40.9 kg 回収) は希釈することなく用い、蒸留部、蒸留凝集物、トラップ部は少量のため、回収率を 50% と仮定して大豆油で希釈し、給餌した (蒸留部 0.1936kg に対し大豆油 2.8064 kg を加えた)。蒸留凝集物は 898.1mg に対し大豆油を 3kg になるまで加え、トラップ部はエタノールによる回収物 6.42mg とヘキサンによる回収物 42.3mg を混ぜ大豆油を加え

て3kgとした。再構成カノーラ油は、分画物を混ぜて調製した(凝集物898.1mg、トラップ部のエタノール回収物6.42mg、ヘキサン回収物42.3mg、蒸留油部193.6gに残留油を加えて総量を3kgとした。ペレット状実験飼料の調製は日本クレア(株)に委託した。ペレット化した飼料は4℃で真空容器に保存した。

### 脂肪酸測定

餌の脂肪酸をBligh & Dyer法(16)により抽出した。使用するガラス器具をクロロホルム:メタノール=2:1で洗浄して用いた。有機溶媒は、一級で購入した物を蒸留して用いた。内部標準として、餌中の推測される脂肪酸量の10w/w%のマーガリン酸と抗酸化剤ブチル化ヒドロキシトルエン10 $\mu$ l(メタノール1mLに10mgブチルヒドロキシトルエンを溶かしたもの:シグマアルドリッチ セントルイス)をマイクロシリンジでキャップ付試験管に加えた。ペレット状の餌を乳鉢で粉碎し、100mgを測りとりキャップ付試験管に加えた。クロロホルム:メタノール:1M塩化カリウムを1:2:0.8になるように計3.8mL加えタッチミキサーで、混合振盪し4℃で一晩放置した。これに1M塩化カリウム、クロロホルムを1mLずつ加え、2分間、混合振盪をし、3000rpmの条件で5分、遠心分離した。下層のクロロホルム層を分取し、上層にクロロホルムを2mL加え、混合振盪、遠心分離、下層分取を2回繰り返した。クロロホルムを37℃の水浴上で窒素ガスにより溜去した。

脂肪酸をメチル化するため、5%塩化水素/メタノール(東京化成、東京)を1mL加え、タッチミキサーによる混合振盪後、密栓をして60分間沸騰水浴上で加熱した。加熱後、1M塩化カリウムを1mL、ヘキサンを2mL加えた。タッチミキサーにより2分間混合攪拌し、3,000rpmの条件で5分遠心分離した。上層のヘキサン層をキャップ付試験管にとり、下層に対しヘキサンを2mL加え、同様の操作を2回繰り返した。分取したヘキサン層を窒素で乾固した。

これに、無水硫酸ナトリウム(ハヤシ化成、名古屋)により乾燥した石油エーテルを加え、脂肪酸のメチルエステルが溶解するまでタッチミキサーで混合振盪し、ガスクロマトグラフ(CG-18A、島津製作所、京都)にて定量

した(キャピラリーカラムDB-225、J&W Scientific)を用いた。インジェクション量はサンプルにより適宜変更した。窒素75kPa、水素60kPa、圧縮空気50kPa、1℃/minの昇温設定で、始点160℃から終点250℃で測定した。

### ステロールの定量

ガラス器具の洗浄や、有機溶媒についての蒸留、試料のサンプリング、Bligh & Dyerの方法による総脂質の抽出は、脂肪酸測定の方法に準じた。ただし用いる内部標準は、ベツリン(クロロホルム5mg/mL:シグマアルドリッチ、ミズーリ)であり、加える量は総脂質含量の0.5-1%とした。ステロールの定量はRatnayakeの方法(17)を応用して行った。すなわちBligh & Dyerの方法により抽出した総脂質に、10%水酸化カリウム/エタノール溶液を5mL加え、密栓した上で水浴上にて100℃、2時間加熱し鹸化を行った。室温放冷後、1M塩酸2mL、クロロホルム2mL、n-ヘキサン4mLを順次加えた。これをタッチミキサーにより混合振盪し、3,000rpm、10minで遠心分離した。上層をパスツールピペットで別のキャップ付試験管に分取した。この上層をさらにエタノール:水=1:4の混合溶媒3mLで洗い、混合振盪、遠心分離、上層分取を行った。ここで得られた上層はエタノール:水=1:4の混合溶媒5mLで洗い、混合振盪、遠心分離、上層分取を行った。ここで得られた上層はキャップ付スピッツに分取した。このヘキサン層に窒素を吹き付け乾固した。これにHMDS/TMCS試薬(東京化成、東京)、もしくはBSTFA/10%TMCS試薬(和光純薬、大阪)を100 $\mu$ Lずつ加えて密栓し、室温で15分以上反応させ、トリメチルシリル誘導体とした。これをキャピラリーカラムDB-1(J&W Scientific)を装着したガスクロマトグラフ(GC-18A、FID、島津製作所 京都)で分析した。FIDの酸素供給源はコンプレッサーにより圧縮された空気を、シリカゲル(青色)(和光純薬、大阪)を詰めた筒を通して脱水して用いた。インジェクションは手動で行い、インジェクション量はサンプル量に応じて0.5-1.5 $\mu$ Lの範囲とした。ガスクロマトグラフの設定は、窒素75kPa、水素60kPa、圧縮空気50kPa、1℃/minの昇温設定で始点250℃から終点300℃まで測定した。

HMDS/TMCS 試薬（東京化成、東京）、BSTFA/10%TMCS 試薬（ピアース、イリゾナ）はともに GC 用マイクロシリンジを著しく腐食するため、1 サンプルインジェクトするごとに、シリンジを蒸留水、メタノール、クロロホルムの順に各 10 回ずつ洗った。

組織テストステロン量の測定

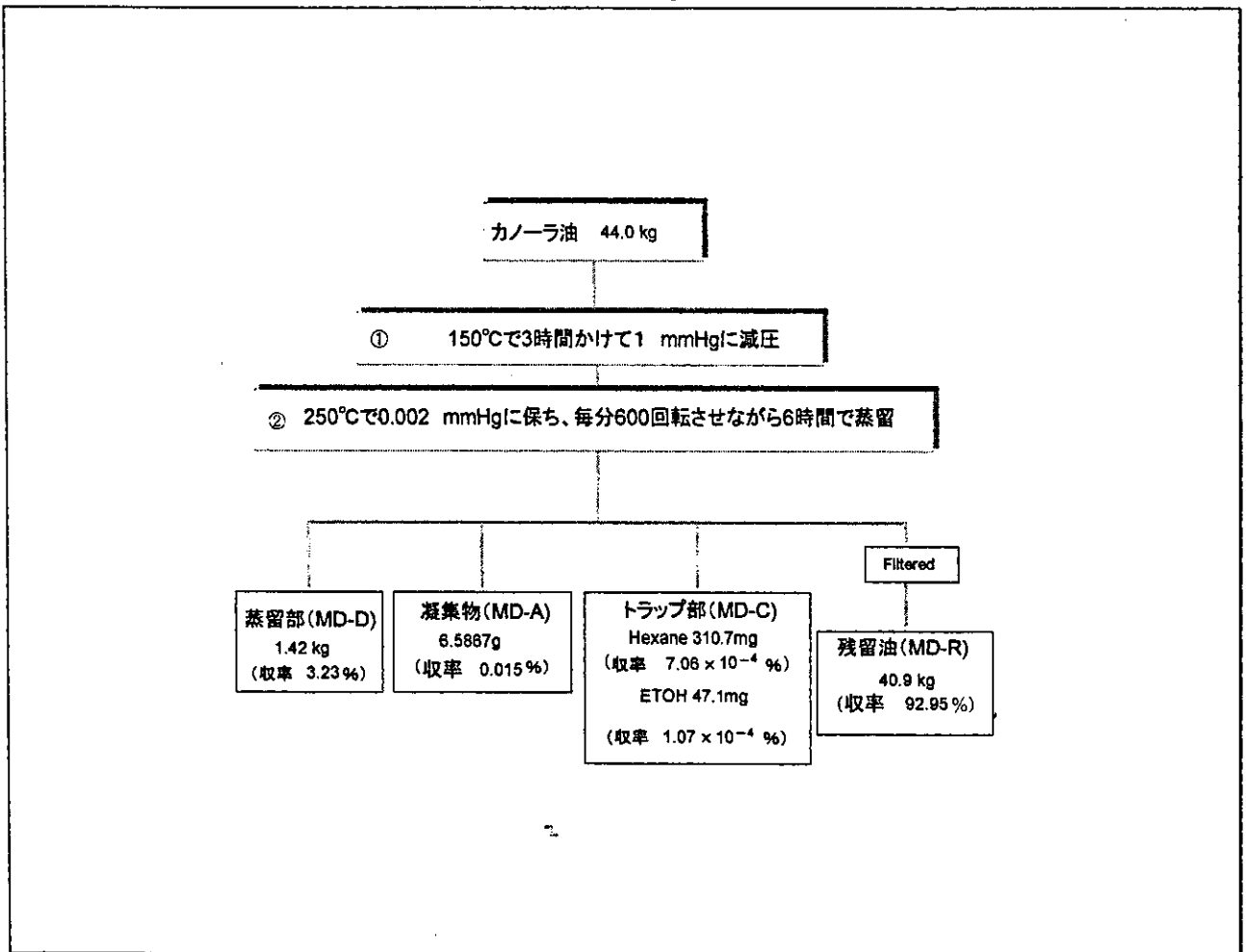
実験油（カノーラ油、大豆油、硬化大豆油）を 10% 含む餌を SHRSP ラットに 4 週齢から 16 週齢まで与えた（食塩水負荷なし）。血清、精巢、前立腺を採取し直ちに凍結させた。テストステロンの定量は帝国臓器メディカル

（株）に委託した（LC-MS/MS 法）。

C. 結果

I 遠心式分子蒸留法によるカノーラ油分画物の寿命短縮活性

前年度の実験では寿命短縮活性が何れの画分にも見られなかった。しかし、この結果は再現できなかつた。今回、新たにカノーラ油を分子蒸留にかけ、分画物を再評価した。各画分の収量を Scheme 1 に、試験油の調製法を Table 1 に示した。餌の脂肪酸組成を Table 2 に、ステロール含量を Table 3 に示した。



Scheme 1 Fractionation of canola oil by a CMD method.

Table 1 試験油の調製

試験油	混合割合
残留油	残留油のみ
蒸留油部	蒸留油部 (0.1936kg) + 大豆油 (2.8064 kg)
凝集物	凝集物 (0.8981g) に大豆油を加えて 3kg とする
トラップ部	トラップ部 (エタノール回収 6.42mg、ヘキサン回収 42.3 mg) に大豆油を加え、3kg とする
再構成カノーラ油	蒸留部 (0.1936kg)、凝集物 (0.8981g)、トラップ部 (エタノール回収物 6.42mg、ヘキサン回収物 42.3 mg) に残留油を加えて 3kg とする

Table 2 Fatty acid compositions of the test diets (% of total fatty acids).  
カノーラ油 (Can), 残留油 (MD-R), 蒸留部 (MD-D), 凝集物 (MD-A), トラップ部 (MD-C),  
再構成カノーラ油 (MD-M), 大豆油 (Soy), 基本食 (CE-2)

	Can			MD-R			MD-D			MD-A		
	average	±	SD	average	±	SD	average	±	SD	average	±	SD
14:0	0.23	±	0.03	0.23	±	0.02	0.24	±	0.01	0.24	±	0.01
15:0	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
16:0	7.69	±	0.25	7.55	±	0.26	12.07	±	0.12	12.24	±	0.07
16:1	0.30	±	0.01	0.30	±	0.02	0.25	±	0.02	0.24	±	0.02
18:0	1.89	±	0.05	1.84	±	0.03	3.29	±	0.04	3.34	±	0.05
18:1n-9	51.87	±	0.83	51.59	±	0.80	25.46	±	0.28	23.90	±	0.23
18:2n-6	28.94	±	0.43	28.34	±	0.28	51.04	±	0.18	52.32	±	0.14
18:3n-3	6.35	±	0.12	6.39	±	0.15	5.15	±	0.12	5.14	±	0.10
20:0	0.34	±	0.01	0.33	±	0.01	0.28	±	0.01	0.28	±	0.01
20:1	1.14	±	0.01	1.20	±	0.03	0.67	±	0.01	0.65	±	0.01
20:5n-3	0.52	±	0.04	0.55	±	0.03	0.56	±	0.05	0.56	±	0.07
22:0	0.14	±	0.00	0.14	±	0.01	0.26	±	0.01	0.26	±	0.01
22:1	0.17	±	0.07	1.01	±	0.05	0.27	±	0.01	0.25	±	0.01
22:6n-3	0.36	±	0.05	0.39	±	0.05	0.42	±	0.05	0.44	±	0.04
24:0	0.00	±	0.00	0.03	±	0.05	0.06	±	0.06	0.12	±	0.01
24:1	0.06	±	0.06	0.10	±	0.09	0.00	±	0.00	0.02	±	0.04
SFA	10.29	±	0.32	10.13	±	0.31	16.19	±	0.11	16.48	±	0.03
MUFA	53.54	±	0.94	54.21	±	0.77	26.65	±	0.25	25.07	±	0.19
n-6 PUFA	28.94	±	0.43	28.34	±	0.28	51.04	±	0.18	52.32	±	0.14
n-3 PUFA	7.23	±	0.20	7.32	±	0.23	6.12	±	0.21	6.14	±	0.21
n-6/n-3 ratio	4.00	±	0.06	3.87	±	0.10	8.34	±	0.31	8.53	±	0.30
Content (mg/g diet)	114.28	±	12.56	112.90	±	13.70	116.55	±	14.14	116.71	±	10.05

	MD-C			MD-M			Soy			CE-2		
	average	±	SD	average	±	SD	average	±	SD	average	±	SD
14:0	0.24	±	0.01	0.24	±	0.01	0.23	±	0.01	0.60	±	0.03
15:0	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00	0.00	±	0.00
16:0	12.22	±	0.02	7.63	±	0.19	11.62	±	0.06	15.87	±	0.27
16:1	0.24	±	0.02	0.31	±	0.01	0.30	±	0.01	0.66	±	0.05
18:0	3.38	±	0.07	1.82	±	0.02	3.26	±	0.02	2.15	±	0.04
18:1n-9	23.97	±	0.29	51.14	±	0.74	28.31	±	0.21	23.36	±	0.50
18:2n-6	52.25	±	0.29	28.49	±	0.39	48.58	±	0.12	47.53	±	0.57
18:3n-3	5.12	±	0.11	6.47	±	0.15	5.31	±	0.08	3.71	±	0.03
20:0	0.29	±	0.01	0.33	±	0.02	0.31	±	0.00	0.27	±	0.02
20:1	0.66	±	0.02	1.21	±	0.03	0.55	±	0.01	1.55	±	0.15
20:5n-3	0.54	±	0.04	0.57	±	0.05	0.52	±	0.03	1.61	±	0.03
22:0	0.28	±	0.01	0.15	±	0.01	0.27	±	0.01	0.20	±	0.07
22:1	0.26	±	0.02	1.01	±	0.07	0.06	±	0.02	0.71	±	0.16
22:6n-3	0.43	±	0.05	0.44	±	0.07	0.57	±	0.07	1.46	±	0.17
24:0	0.12	±	0.01	0.05	±	0.05	0.12	±	0.01	0.26	±	0.23
24:1	0.01	±	0.02	0.15	±	0.02	0.00	±	0.00	0.07	±	0.12
SFA	16.52	±	0.07	10.22	±	0.17	15.81	±	0.09	19.34	±	0.09
MUFA	25.14	±	0.28	53.81	±	0.80	29.22	±	0.17	26.35	±	0.73
n-6 PUFA	52.25	±	0.29	28.49	±	0.39	48.58	±	0.12	47.53	±	0.57
n-3 PUFA	6.08	±	0.20	7.47	±	0.27	6.40	±	0.18	6.79	±	0.23
n-6/n-3 ratio	8.60	±	0.29	3.81	±	0.09	7.59	±	0.21	7.01	±	0.17
Content (mg/g diet)	118.67	±	11.36	112.54	±	12.88	114.96	±	7.35	43.89	±	3.20

Values were means ±SD (n=3).

Table 3 Sterol contents of the test diets (mg/100g diet)

略号は Table 2 と同じ。

	Can	MD-R	MD-D	MD-A
Cholesterol	72.19 ± 3.57	59.83 ± 2.68	67.94 ± 5.36	65.65 ± 0.11
Brassicasterol	5.50 ± 0.36	1.93 ± 0.06	6.35 ± 0.84	0.42 ± 0.23
Campesterol	24.09 ± 1.27	20.91 ± 3.34	26.15 ± 2.22	13.60 ± 0.97
Stigmasterol	4.88 ± 0.20	4.52 ± 0.05	9.73 ± 0.74	8.43 ± 0.29
β-Sitosterol	63.42 ± 3.58	48.65 ± 6.13	71.79 ± 3.44	49.28 ± 3.17
Phytosterol	97.89 ± 3.11	76.01 ± 9.48	114.03 ± 7.13	71.73 ± 2.27
PS/chol ratio	1.36 ± 0.03	1.28 ± 0.22	1.68 ± 0.09	1.09 ± 0.03

	MD-C	MD-M	Soy	CE-2
Cholesterol	64.53 ± 5.49	63.75 ± 1.51	54.73 ± 5.44	59.25 ± 2.06
Brassicasterol	0.00 ± 0.00	7.98 ± 0.24	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Campesterol	14.43 ± 1.12	27.64 ± 1.85	16.47 ± 0.64	12.34 ± 2.41
Stigmasterol	9.39 ± 0.66	4.52 ± 0.44	8.55 ± 0.88	4.73 ± 0.18
β-Sitosterol	49.46 ± 7.56	65.18 ± 2.10	51.49 ± 4.61	32.58 ± 1.55
Phytosterol	73.28 ± 8.75	105.32 ± 3.20	76.51 ± 4.86	49.65 ± 3.69
PS/chol ratio	1.14 ± 0.14	1.65 ± 0.04	1.40 ± 0.05	0.84 ± 0.03

Values were means ±SD (n=3).

SHRSP ラットに4週齢から実験飼料を与えた(0.3%食塩水負荷)。4週から12週にかけての各群の平均体重は食事群間で差がなかった(Figure 1)。

飲水量(Figure 2, Table 4)は、CE-2群

が他の油脂添加群より多かった(9、10、11週)。飲水量の差は食塩摂取量の差をもたらした。寿命に影響を与える一因となるが、他の食事群間では、有意な差はみられなかった。

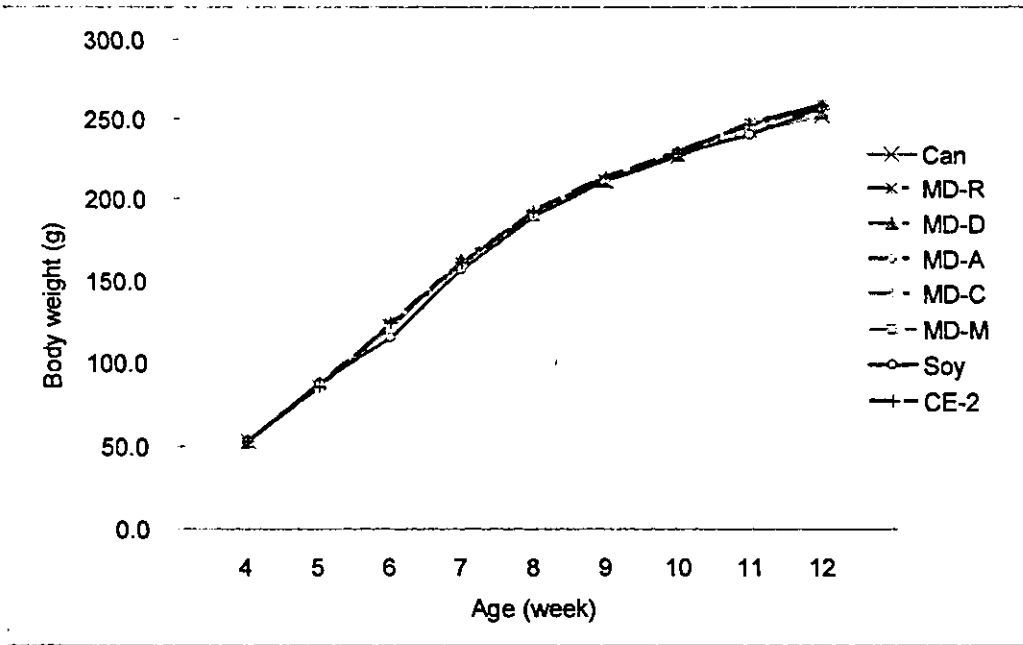


Figure 1 Body weight of SHRSP rats (n=12).

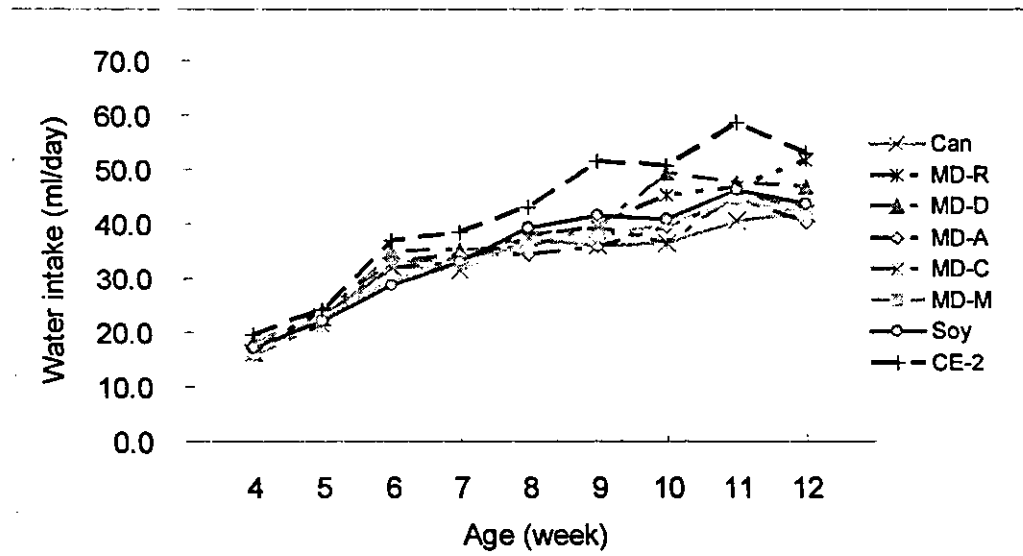


Figure 2 Water intake of SHRSP rats (n=12).

Table 4 The water intake of SHRSP rats fed a diet containing 10% test oil (mg/day/rat).

wks	Can	MD-R	MD-D	MD-A
4	16.3 ± 1.7	16.6 ± 1.2	18.3 ± 2.1	16.8 ± 1.5
5	22.9 ± 0.7	23.0 ± 1.9	22.7 ± 1.8	24.0 ± 1.6
6	32.2 ± 3.7	32.0 ± 1.8	35.1 ± 3.1	33.1 ± 1.0
7	31.6 ± 2.6	32.9 ± 1.3	35.1 ± 1.2	34.4 ± 1.7
8	37.5 ± 3.2	37.7 ± 1.0	35.9 ± 1.4	34.4 ± 1.6
9	36.2 ± 1.9 <sup>b</sup>	39.6 ± 1.8 <sup>b</sup>	39.3 ± 0.7 <sup>b</sup>	35.8 ± 1.1 <sup>b</sup>
10	36.6 ± 2.1 <sup>c</sup>	45.2 ± 1.8 <sup>abc</sup>	49.3 ± 2.4 <sup>ab</sup>	39.3 ± 0.7 <sup>bc</sup>
11	40.6 ± 1.8 <sup>b</sup>	46.8 ± 2.5 <sup>b</sup>	47.7 ± 1.7 <sup>b</sup>	44.7 ± 1.1 <sup>b</sup>
12	42.0 ± 1.3	51.8 ± 4.1	46.7 ± 1.3	40.2 ± 1.6

wks	MD-C	MD-M	Soy	CE-2
4	15.9 ± 1.3	15.9 ± 1.2	17.1 ± 2.1	19.5 ± 1.0
5	21.2 ± 1.4	22.8 ± 1.2	22.2 ± 0.7	24.1 ± 0.8
6	32.9 ± 2.7	29.7 ± 1.6	28.7 ± 0.5	37.0 ± 2.9
7	33.6 ± 2.4	32.8 ± 2.1	33.1 ± 1.2	38.4 ± 2.1
8	37.9 ± 3.5	35.9 ± 1.3	39.4 ± 2.1	43.0 ± 1.8
9	39.4 ± 3.3 <sup>b</sup>	37.6 ± 1.0 <sup>b</sup>	41.6 ± 2.4 <sup>b</sup>	51.4 ± 1.5 <sup>a</sup>
10	36.5 ± 4.5 <sup>c</sup>	40.0 ± 1.0 <sup>abc</sup>	40.9 ± 2.5 <sup>abc</sup>	50.6 ± 1.9 <sup>a</sup>
11	45.5 ± 2.9 <sup>b</sup>	44.5 ± 1.9 <sup>b</sup>	46.2 ± 2.8 <sup>b</sup>	58.8 ± 2.6 <sup>a</sup>
12	42.8 ± 4.3	41.7 ± 2.0	43.7 ± 4.6	53.1 ± 0.9

Values were means ±SEM (n=12). Significance of differences was analyzed by One-way ANOVA with Turkey's multiple comparison.

Table 5 に SHRSP ラットが摂水した食塩水中の食塩と、摂食した食餌中の食塩量(計算値)を示した。各群の摂食量を Figure 3 に示

した。摂食量は、4 週から 12 週まで、どの週にも各食餌群間で有意差は見られなかった (Figure 3)。

Table 5 The NaCl intake of SHRSP rats fed a diet containing 10% test oil (mg/day/rat).

wks	Can	MD-R	MD-D	MD-A
4	111.3 ± 11.8	111.6 ± 7.7	119.7 ± 9.6	115.2 ± 7.5
5	151.4 ± 4.5	142.8 ± 7.6	148.3 ± 9.1	153.8 ± 8.5
6	190.4 ± 14.2	186.1 ± 9.4	199.8 ± 11.6	192.8 ± 3.4
7	201.4 ± 6.5	203.1 ± 2.1	212.6 ± 5.3	206.8 ± 8.6
8	217.7 ± 10.8	214.6 ± 4.9	210.3 ± 4.2 <sup>*</sup>	213.6 ± 8.8
9	215.9 ± 8.1 <sup>***</sup>	225.7 ± 8.6 <sup>**</sup>	224.3 ± 4.0 <sup>**</sup>	217.4 ± 3.4 <sup>***</sup>
10	217.2 ± 6.6 <sup>**</sup>	239.3 ± 9.1	258.0 ± 12.3	229.4 ± 3.5 <sup>*</sup>
11	231.4 ± 0.5 <sup>***</sup>	252.0 ± 11.2 <sup>**</sup>	262.8 ± 14.3 <sup>*</sup>	259.0 ± 13.1 <sup>*</sup>
12	230.7 ± 9.5 <sup>*</sup>	259.9 ± 10.8	249.3 ± 6.2	236.1 ± 7.4

wks	MD-C	MD-M	Soy	CE-2
4	108.9 ± 7.6	109.2 ± 8.0	117.5 ± 13.1	119.9 ± 7.9
5	140.5 ± 6.0	149.0 ± 5.7	147.7 ± 5.4	149.3 ± 3.6
6	190.3 ± 9.7	184.2 ± 7.4	179.4 ± 3.3	213.2 ± 12.6
7	205.3 ± 9.5	205.0 ± 6.8	205.6 ± 4.4	232.1 ± 6.9
8	219.0 ± 11.0	214.0 ± 4.9	227.0 ± 8.9	247.6 ± 5.4
9	220.7 ± 12.6 <sup>**</sup>	212.4 ± 3.7 <sup>***</sup>	241.1 ± 12.8	274.9 ± 2.7
10	213.7 ± 15.1 <sup>**</sup>	223.5 ± 4.8 <sup>**</sup>	237.7 ± 10.9	281.2 ± 8.9
11	250.2 ± 9.3 <sup>**</sup>	238.8 ± 10.0 <sup>***</sup>	268.6 ± 7.2	312.3 ± 10.2
12	236.9 ± 13.3	230.7 ± 8.0 <sup>*</sup>	240.1 ± 17.0	284.1 ± 3.7

Values were means ±SEM (n=12). Significance of differences was analyzed by One-way ANOVA with Turkey's multiple comparison. (\*, p<0.05; \*\*, p<0.01; \*\*\*, p<0.001 vs. CE-2 group).



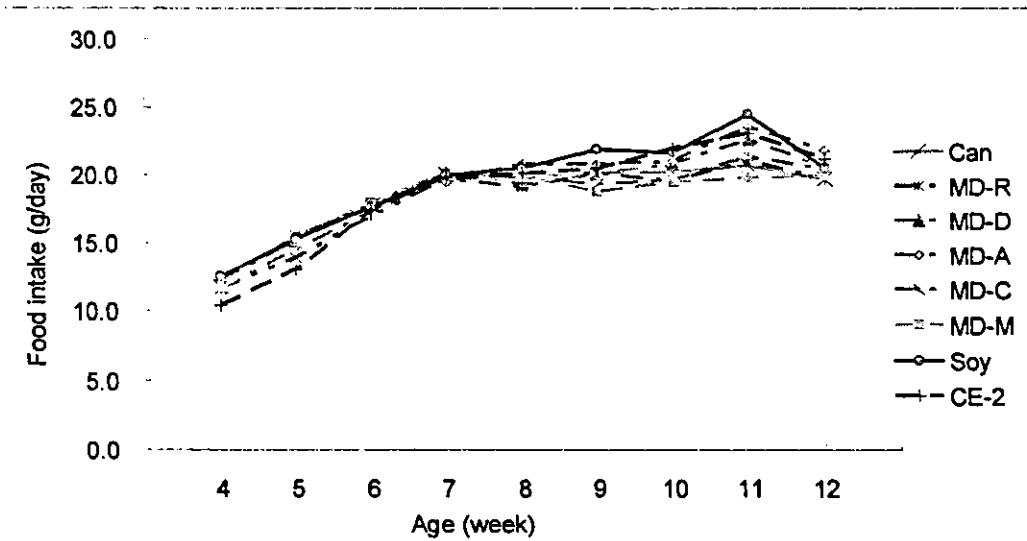


Figure 3 Food intake of SHRSP rats (n=12).

分画物の生存率を Figures 4, 5, 6 に分けて示した(カノーラ油群と大豆油群は同じデータを使用)。残留油群はカノーラ油群より生存期間が短かったが、その差は統計的に有意ではなかった (Table 6)。蒸留油群 (蒸留油/大豆油混合油) は寿命短縮活性を示さなかった。

再構成カノーラ油 (CD-M) は、カノーラ油とほぼ同じ生存率を示した。トラップ部 (大豆油と混合)、凝集物 (大豆油と混合) も、寿命短縮活性を示さなかった。基本食群 (CE-2、低脂肪) は大豆油群とほぼ同じ生存率を示した。

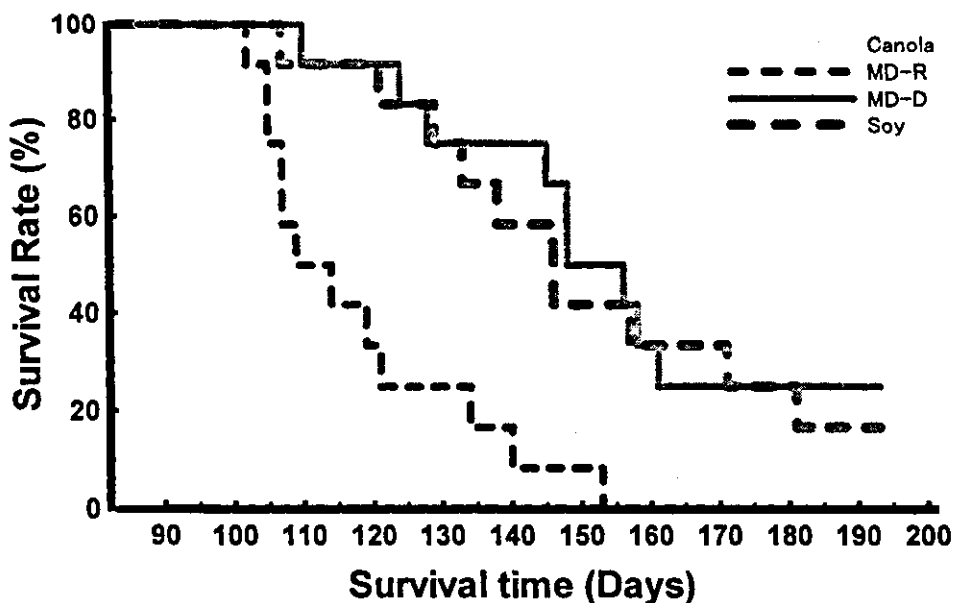


Figure 4 The survival curve of SHRSP rats fed a diet containing 10% oil: Canola oil (カノーラ油), MD-R (残留油), MD-D (蒸留油部) and Soy (大豆油) under 0.3% NaCl-loading. See Table 6 for statistical analysis.

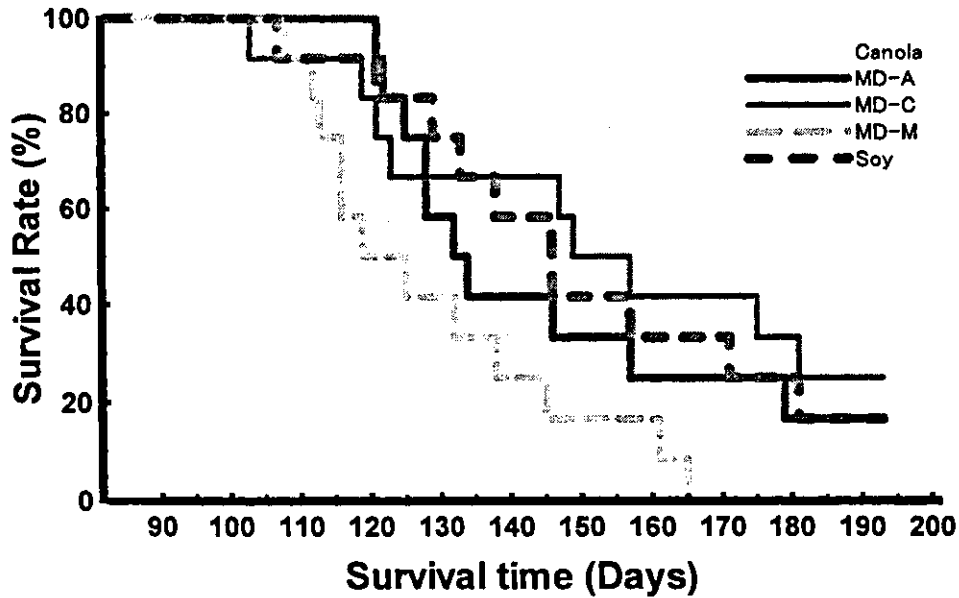


Figure 5 The survival curve of SHRSP rats fed a diet containing 10% oil: Canola oil, MD-A (凝集物), MD-C(トラップ部/大豆油), MD-M (再構成カノーラ油) and Soy oil (大豆油) under 0.3% NaCl-loading. See Table 6 for statistical analysis.

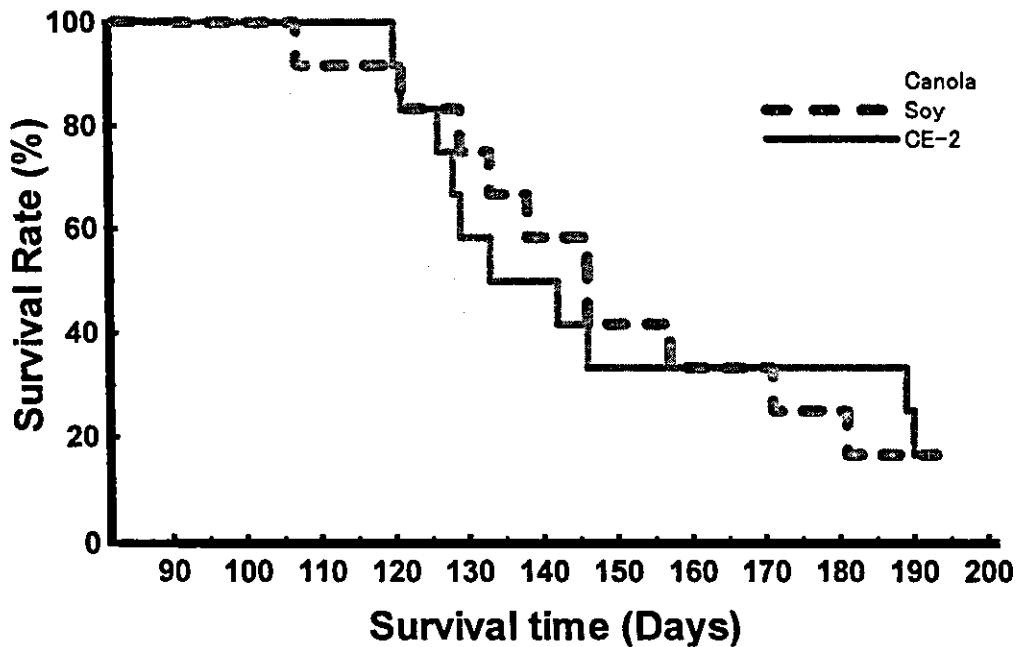


Figure 6 The survival curve of SHRSP rats fed a diet containing 10% oil: Canola oil, Soy oil and CE-2 under 0.3% NaCl-loading. See Table 6 for statistical analysis.

今回の実験では、CE-2の生存曲線が大豆とほぼ重なった (Figure 6)。

Table 6 Statistical analysis of survival rates of male SHRSP rats fed a different oil under 0.3% NaCl-loading.

	Can	MD-R	MD-D	MD-A	MD-C	MD-M	Soy	CE-2
Days $\pm$	129 $\pm$ 6	118 $\pm$ 5	155 $\pm$ 8	147 $\pm$ 8	154 $\pm$ 9	129 $\pm$ 6	151 $\pm$ 8	151 $\pm$ 9
v.s. Can								
Log-rank		0.159	0.021	0.101	0.019	0.834	0.028	0.076
Wilcoxon		0.138	0.027	0.124	0.061	0.954	0.053	0.11
v.s. MD-R								
Log-rank			<0.001	0.005	0.001	0.128	0.001	0.004
Wilcoxon			<0.001	0.002	0.004	0.085	0.002	0.002
v.s. Soy-P								
Log-rank			0.663	0.689	0.608	0.022		0.938
Wilcoxon			0.644	0.544	0.729	0.037		0.729

Values were means  $\pm$ SEM (n=12). Significance of differences was analyzed by Log-rank test and Wilcoxon test.

## II 食餌油脂が SHRSP ラットの組織ステロイドホルモン含量に及ぼす影響

前年度、SHRSP ラットのカノーラ油群が大豆油群にくらべ、血清および精巣テストステロン含量が低下することを見いだした。この再現性を確かめ、同様に寿命短縮作用を示す大豆硬化油の影響を調べることにした。

実験に用いたカノーラ油食(Can)、硬化大豆油食(H2-Soy)、大豆油食(Soy)の脂肪酸組成を Table 7 に示した。硬化大豆油群の 18:1 は種々の *cis*, *trans* の異性体を含むが、他の食餌群では主として 18:1 (オレイン酸) である。

Table 7 Fatty acid compositions of the test diets (% of total fatty acids).

	Can		H2-Soy		Soy	
	average	± SD	average	± SD	average	± SD
14:0	0.20	± 0.00	0.27	± 0.01	0.22	± 0.00
16:0	7.96	± 0.02	13.07	± 0.09	11.74	± 0.13
16:1	0.32	± 0.00	0.20	± 0.00	0.25	± 0.01
18:0	2.10	± 0.02	12.61	± 0.11	3.31	± 0.07
18:1n-9	49.93	± 0.05	53.29	± 0.06	27.96	± 0.49
18:2n-6	30.60	± 0.07	12.98	± 0.06	49.73	± 0.64
18:3n-3	6.29	± 0.02	1.05	± 0.02	5.10	± 0.11
20:0	0.43	± 0.00	0.34	± 0.01	0.29	± 0.00
20:1	1.00	± 0.00	0.41	± 0.25	0.57	± 0.01
20:5n-3	0.41	± 0.02	0.42	± 0.01	0.40	± 0.02
22:0	0.24	± 0.01	0.28	± 0.01	0.21	± 0.01
22:1	0.17	± 0.00	0.22	± 0.00	0.00	± 0.00
22:6n-3	0.36	± 0.02	0.36	± 0.01	0.23	± 0.05
SFA	10.92	± 0.04	26.71	± 0.03	15.76	± 0.05
MUFA	51.42	± 0.04	58.49	± 0.12	28.78	± 0.51
n-6 PUFA	30.60	± 0.07	12.98	± 0.06	49.73	± 0.64
n-3 PUFA	7.06	± 0.07	1.82	± 0.04	5.73	± 0.18
n-6/n-3 ratio	4.34	± 0.05	7.13	± 0.13	8.69	± 0.39
amount (mg/g diet)	133.95	± 0.10	117.33	± 0.65	124.43	± 2.17

Values were means ±SD (n=3).

SHRSP ラット (雄) の体重を、実験を開始した 4 週齢から 16 週齢まで週毎に測定した (Figure 7)。摂食量を Figure 8 に示した。体重変化は、15、16 週で大豆油群と硬化

大豆油群 (H2-Soy) の間に有意差が見られた ( $P < 0.05$ )。各群間の摂食量に有意差はなかったが、15 週で大豆油群と硬化大豆油群の間に差がある傾向がみられた ( $P < 0.084$ )。