



Title	脂質酸化生成物の生体におよぼす影響：Ⅱ．ドコサヘキサエン酸ヒドロパーオキシサイドのラット臓器脂質におよぼす影響
Author(s)	小川, 晁; OGAWA, Akira; 五十嵐, 久尚 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 23(4), 191-203
Issue Date	1973-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23483
Type	departmental bulletin paper
File Information	23(4)_P191-203.pdf



脂質酸化生成物の生体におよぼす影響

II. ドコサヘキサエン酸ヒドロパーオキシドのラット臓器脂質におよぼす影響*

小川 晃*** · 五十嵐 久 尚**

Influence of Oxidized Lipids on the Living Body

II. The influence of methyl docosahexaenoic acid hydroperoxide upon rat organolipids

Akira OGAWA*** and Hisanao IGARASHI**

Abstract

Hepatotoxicity caused by the long term ingestion of docosahexaenoic acid hydroperoxide was investigated with rats. The methyl docosahexaenoate fraction was prepared with squid oil. The fatty acids of this fraction comprised $C_{22:6}$ 82.8% and $C_{20:5}$ 12.5%. This fraction was autoxidized at 4°C as reported previously. When peroxide value had attained 500~1000 meq/kg, the oxidation was stopped, and the hydroperoxide fraction was prepared by the fractional extraction with n-hexane from the oxidized methyl docosahexaenoate.

Adult male rats, Wistar strain, were divided into three groups: one (C group) administered with purified soy bean oil, another (D group) with the unoxidized methyl docosahexaenoate, and the remaining one (DH group) with the methyl docosahexaenoate hydroperoxide, respectively for 13 weeks. Increase of body weight in the DH group began to be lax after 3 weeks, and in the D group after 5 weeks using C group as a control. In the experimental period, no diarrhea and alopecia were recognized, however the hypertrophy of the liver and kidney of rats were observed in the DH group.

TBA value of organolipids increased in the liver, spleen, stomach and intestine of rats in the DH group.

The total lipid content of the liver decreased in the DH group, however phospholipid was slightly higher than in the C group. The decrease of linoleic and arachidonic acid was observed, and the increase of docosahexaenoic acid in the phospholipids of the liver of the D and DH groups was also observed.

Total lipid, phospholipid, and cholesterol contents in the rat blood serum were decreased, and the levels of the GOT and the GPT of the blood serum were high in the D and DH groups.

In conclusion, the lipid synthesis of the liver was unfavorably influenced by the long term ingestion of docosahexaenoic acid hydroperoxide.

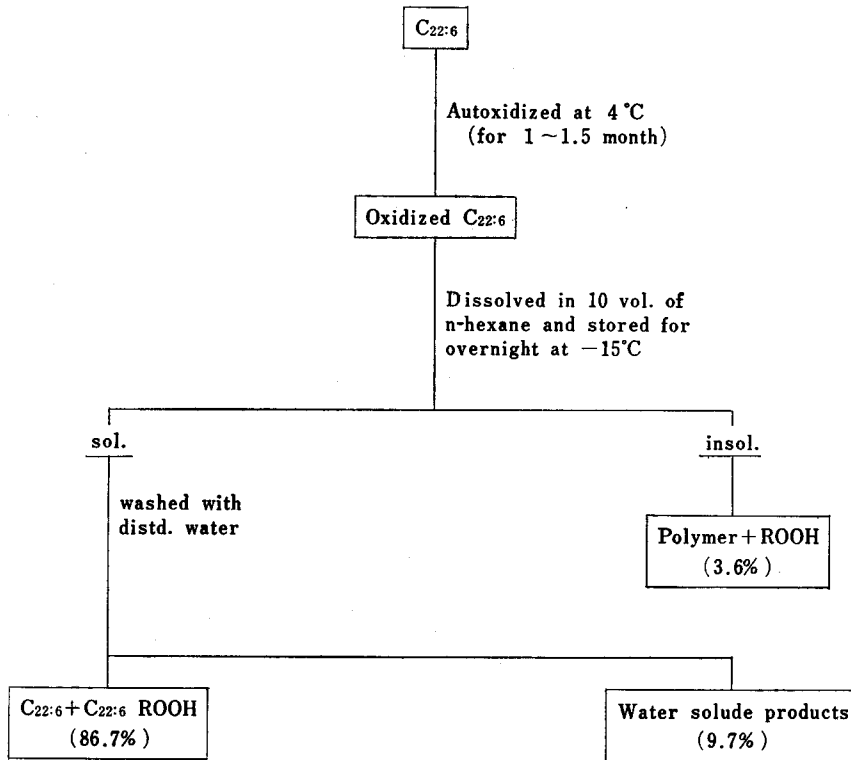
緒 言

第一報¹⁾で冷蔵庫(4°C)に放置して酸化させたドコサヘキサエン酸メチルエステル(以下 $C_{22:6}$)の初

* 日本水産学会春季大会(昭和47年4月)にて講演発表

** 北海道大学水産学部食品化学第一講座
(Laboratory of Food Chemistry I, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

*** 現在 日本冷凍食品検査協会神戸研究室
(Japan Frozen Foods Inspection Corporation, Kobe Inspection Station)



C_{22:6} : Methyl docosahexaenoate fraction

C_{22:6} ROOH : Methyl docosahexaenoate hydroperoxide fraction

Fig. 1. Preparation of docosahexaenoic acid hydroperoxide.

期自動酸化物をラットに1ヶ月間経口投与すると、肝臓、腎臓が肥大し、各種臓器に過酸化物が蓄積し、また必須脂肪酸が減少することを報告した。そして、この毒性は主として C_{22:6} の自動酸化過程で生成するヒドロパーオキシドに起因すると推定した。そこで、著者らは初期自動酸化物中のヒドロパーオキシドを長期間摂取することにより肝臓やその他各種臓器の脂質代謝に障害を起すものと推定し、本実験では第1報の知見に基づき、更にドコサヘキサエン酸メチルエステルヒドロパーオキシド (以下 C_{22:6} ROOH) の毒性発現のメカニズムについて亜急性毒性という見地から検討を加えることにした。また、自動酸化生成物中にはヒドロパーオキシド以外にも毒性を示すと思われる重合物や低級アルデヒド類の存在が推定されるので、ヒドロパーオキシドの毒性を検討するためにはヒドロパーオキシド以外の毒性物質を除去する必要がある。それで本実験では C_{22:6} 自動酸化物より C_{22:6} ROOH を調製してラットに投与した。投与期間は第1報の結果、1ヶ月間では体重増加に影響しないことが認められたので、更に期間を延長して3ヶ月間を飼育試験期間とし、特に肝臓における脂質代謝障害を中心に追求した。

また、第1報のラットに見られた各種の症状が高度不飽和脂肪酸である C_{22:6} の大量摂取によっておこることも考えられるので、自動酸化を受けない精製 C_{22:6} についても検討した。

Table 1. Properties of dietary oils.

Dietary oil (group)	I.V.	P.O.V.	TBA-V.	n_D^{20}
Soy bean oil (C)	131.9	0.0	0.0002	1.4756
$C_{22:6}$ * (D)	360.8	0.0	0.0103	1.4954
Oxidized $C_{22:6}$	347.6	626.9	0.2209	1.4964
$C_{22:6}$ ROOH** (DH)	350.8	423.8	0.0818	1.4955
		(meq/kg) (O.D. ₅₃₀ /mg Ester)		

* $C_{22:6}$: Methyl docosahexaenoate fraction** $C_{22:6}$ ROOH: Methyl docosahexaenoate hydroperoxide fraction

Table 2. Fatty acid composition of dietary oils (weight %).

$C_{m:n}$ *	Soy bean oil	$C_{22:6}$ **
14:0	0.1	—
16:0	10.9	—
16:1	0.3	—
18:0	4.9	—
18:1	23.2	—
18:2	47.4	—
18:3	8.6	—
20:1	0.4	1.4
20:2	tr	—
20:3	—	1.3
20:4	1.1	—
20:5	0.6	12.5
22:5	—	2.2
22:6	2.5	82.8

Note: HITACHI F6-D gas chromatograph; The same condition with that described in Table 2 of the previous report¹⁾

* m: Number of carbon atoms n: Number of double bonds

** Methyl docosahexaenoate fraction

試料および実験の方法

ドコサヘキサエン酸ヒドロパーオキシドの調製:

イカ油メチルエステル(日本化学飼料 K.K.)より第1報と同様にして $C_{22:6}$ 区分を調製した。(純度 82.8%)

ヒドロパーオキシドの調製法については向流分配法、クロマトグラフィー等が報告されているが、何れも大量に調製する場合には不都合な点が多いので、著者らはヒドロパーオキシドを純粋に取り出すのではなく、自動酸化の初期の段階、すなわちヒドロパーオキシドから二次生成物があまり生成していない段階で $C_{22:6}$ 自動酸化物より、重合物、低級酸、水溶性のアルデヒド類を除去して $C_{22:6}$ ROOH を調製することを試みた。

すなわち、 $C_{22:6}$ 区分 15g をペトリ皿に取り、冷蔵庫(4°C)で1ヶ月~1ヶ月半自動酸化させ、POV 500~1000meq/kg の間で酸化を中止し、Fig. 1 に示す方法で $C_{22:6}$ ROOH 含有区分を調製した。投与エステルの性状を Table 1、脂肪酸組成を Table 2 に示す。

飼育試験:

体重 170g 前後の Wistar 系成熟雄性ラット(7週令)を対照群(C群)6匹、 $C_{22:6}$ 群(D群)7匹、

Table 3. *Composition of basal diet (weight %).*

Casein (Vitamin free)	20	McCallum salt (No. 185)	3
Corn starch	70	Vitamin mix.	*
Cellulose powder	2	Oil	5

* The same vitamin mix. as in the first report¹⁾

Composition of administered oil (g)

Group	Soy bean oil	C _{22:6}	C _{22:6} ROOH
C	0.70	—	—
D	0.14	0.56	—
DH	0.14	—	0.56

Table 4. *Analytical methods of chemical compositions and enzyme activities of blood serum.*

Item	Methods
Total protein	Refractometric analysis
Protein fraction	Cellulose acetate electrophoresis
Total lipid	De La Huerga's turbidimetry
Phospholipids	Ernster (Lipid-P×25)
Total cholesterol	Zak-Henly
Glutamic oxalacetic transaminase (GOT)	Reitman-Frankel
Glutamic pyruvic transaminase (GPT)	Reitman-Frankel
Alkaline phosphatase (AIP)	Kind-King
Cholinesterase (ChE)	Takahashi-Shibata

C_{22:6} ROOH群 (DH群) 7匹に分け、C群は精製大豆油 (飼料の5%)、D群は C_{22:6}(4%) と大豆油 (1%)、DH群は C_{22:6} ROOH 含有区分 (4%) と大豆油 (1%) を毎日1回、胃ゾンデを用い経口投与し、その他の飼料成分は第1報と同様に調製し、乾燥重量で約 13.3 g、油は 0.7 g を与えた。飼料の組成を Table 3 に示す。なお、D群、DH群には必須脂肪酸の欠乏を防止するため、リノール酸が1日1匹当たり約 70 mg 程度投与される量の精製大豆油を投与した。また、DH群のハイドロパーオキシサイド投与量は1日1匹当たり、活性酸素量として平均 7.6 mg に相当する。

臓器脂質の性状:

各種臓器の全脂質量、リン脂質量、TBA 価、脂肪酸組成は第1報と同様にして行なった。なお、肝臓については *Zak-Henly* 法により全コレステロール量を、*Kjeldahl* 法により粗蛋白-Nを測定した。

肝機能テスト:

飼育試験終了後、ラットをエーテル麻酔にかけ、心臓穿刺により採血を行ない血清を採取し、Table 4 に示す試験項目、測定法²⁾ により肝機能検査を行なった。

分析法:

ヨウ素価は *Wijs* 法、過酸化価は八木・秋谷らの方法によった。

結 果

成長観察:

体重増加は Fig. 2 に示すように DH 群は3週目より、D群も5週目よりC群に比較して緩慢と

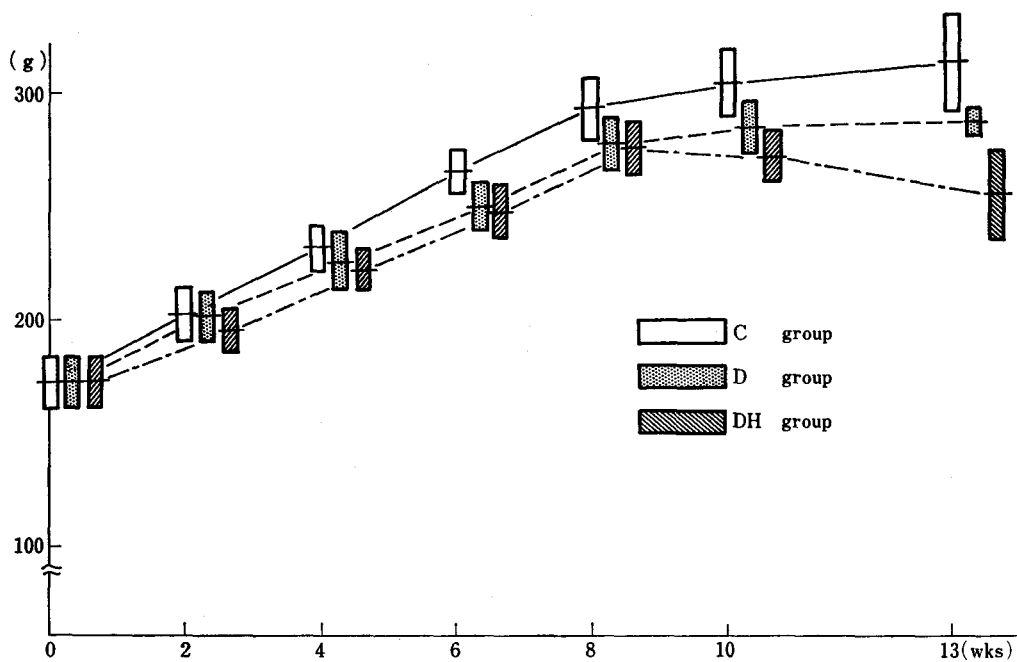


Fig. 2. Growth curve of rats.

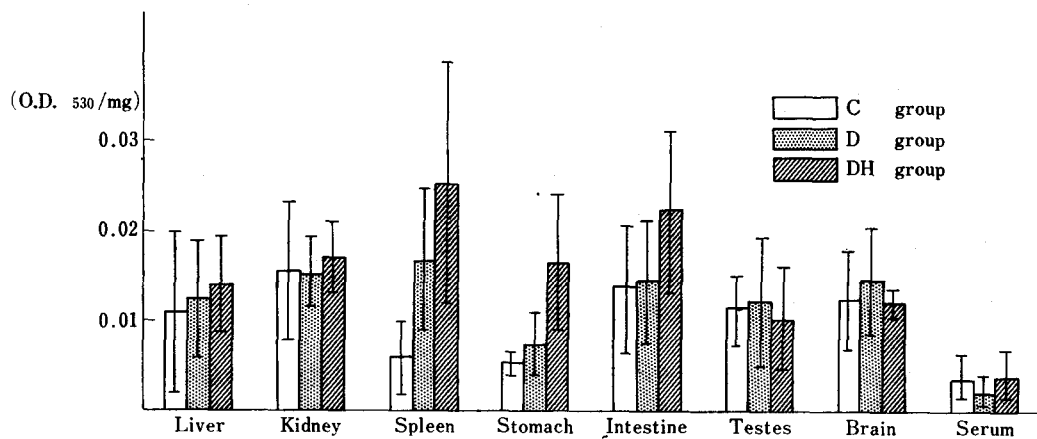


Fig. 3. TBA value of the rat organs (O.D. 530/mg tissue).

なり、DH 群は8週目頃から減少した。なお、DH 群では油の投与直後に流涎症状がみられたが、1ヶ月以降はあまりみられなかった。また、DH 群の一部で食欲の低下がみられ、12~13週目にかけてエサを残すものもいたが、全期間を通して3群共殆んどエサを残すことなく、下痢症状も認められなかった。

外見的には、DH 群に粗毛、および睪丸、肛門付近の毛が一部黄褐色に着色しているのがみられたが、脱毛症状はみられなかった。

Table 5. Contents of total lipid and phospholipid in the rat organs.

	Group	Organ weight (g)	Total lipid (mg/g)	Phospholipid (mg/g)
Liver	C	9.1±0.7	51.2±7.7	30.2±2.7
	D	9.6±0.3	48.6±5.0	32.0±2.6
	DH	11.1±0.7	44.3±4.6	32.3±2.1
Kidney	C	2.0±0.1	43.2±6.5	25.3±2.6
	D	2.1±0.1	48.7±3.5	30.0±1.7
	DH	2.2±0.2	50.6±1.7	29.9±1.7
Spleen	C	0.6±0.1	29.8±7.5	16.5±3.7
	D	0.6±0.1	33.3±3.6	17.1±1.7
	DH	0.6±0.1	30.8±3.0	18.6±3.3
Stomach	C	1.6±0.2	38.2±5.7	11.0±1.4
	D	1.5±0.1	38.2±8.6	10.9±1.5
	DH	1.6±0.2	43.5±10.0	12.0±1.5
Intestine	C	6.7±0.6	70.8±18.9	15.3±2.8
	D	6.7±0.6	69.9±10.8	16.1±1.3
	DH	7.0±0.5	58.3±13.7	15.4±3.2
Testes	C	2.8±0.3	26.0±4.8	12.0±1.3
	D	2.8±0.2	30.3±2.5	12.0±1.0
	DH	2.7±0.2	27.7±4.3	11.0±1.0
Brain	C	1.7±0.1	81.8±14.8	42.3±9.0
	D	1.6±0.1	86.0±8.4	37.7±3.5
	DH	1.5±0.1	75.3±7.2	38.6±4.1

Mean value±SD

Note: C group consists of six heads, D and DH groups does of seven

解剖所見:

飼育試験終了後、ラットにエーテル麻酔をかけ、心臓穿刺により脱血死させた。解剖すると肝がかなり肥大しており、腎にも同様の傾向が認められた。肝の色は3群共差異は認められず、肝の凍結切片を Sudan Black 染色により顕微鏡観察したところ脂肪肝は生じておらず、ヘマトキシリン-エオシン染色で肝細胞の形態を観察したが形態にあまり差は認められなかった。

臓器脂質の性状:

脂質 TBA 価は Fig. 3 に示すように肝、腎、脾、胃、小腸とも DH 群は他の2群に比べて増大しているが、D 群も肝、脾、胃では C 群に比較してやや高い値を示し、特に脾、小腸は他の臓器に比べて高い値を示した。

全脂質量についてみれば DH 群は C 群に比べ肝では減少、腎、胃ではやや増加の傾向があらわれた。

リン脂質は腎で D, DH 両群が C 群に比較してやや増加しているほかは、有意な差はみられなかった。Table 5 に各種臓器の重量、全脂質量、リン脂質量を示す。

各臓器の脂質組成 (Fig. 4) について検討したところ、肝、腎、胃でトリグリセライドの減少がみられたが、リン脂質区分ではあまり増減が認められなかった。

肝の全コレステロール量は、DH 群は C, D 両群に比べて増加の傾向がみられた。肝の粗蛋白-N量は C, D, DH 各群に有意な差は認められなかったが、リン脂質/全脂質の比、およびリン脂質/蛋白-Nの比は D, DH 群で増大していた。

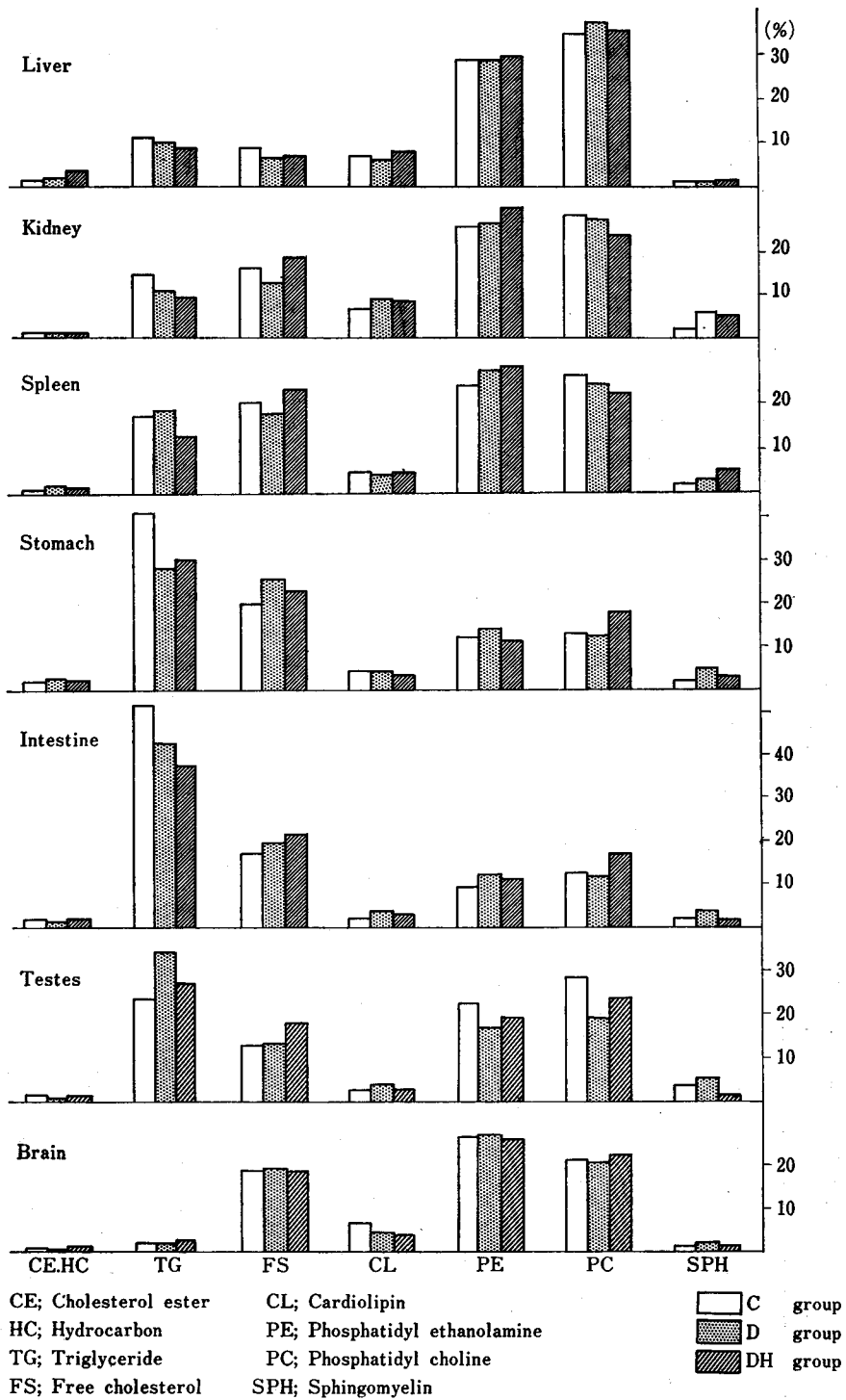


Fig. 4. Lipid composition of the rat organs (weight %).

Table 6. The influence of $C_{22:6}$ and $C_{22:6}$ ROOH on the rat liver.

Group	Control (C)	$C_{22:6}$ (D)	$C_{22:6}$ ROOH (DH)
Initial body weight (g)	172±11	171±13	172±11
Finally body weight (g)	316±20	287±7	254±15
Liver weight (g)	9.1±0.7	9.6±0.3	11.1±0.7
LW/FBW* (%)	2.90±0.37	3.36±0.14	4.38±0.27
Protein-N (mg/g)	37.7±2.1	39.0±1.0	37.2±2.7
Total lipid (mg/g)	51.2±7.7	48.6±5.0	44.3±4.6
Phospholipid (mg/g)	30.2±2.7	32.0±2.6	32.3±2.1
Total cholesterol (mg/g)	4.6±0.7	4.6±0.6	4.8±0.5
PL/TL (ratio)	0.60	0.66	0.73
PL/Pro.-N (ratio)	0.80	0.82	0.87

Mean value±SD * LW: Liver weight, FBW: Final body weight

Table 6 に肝の全脂質量, リン脂質量, 全コレステロール量, リン脂質/全脂質の比, およびリン脂質/蛋白-N の比を示す。

各臓器の中性脂質, リン脂質の脂肪酸組成を Table 7 および Table 8 に示す。中性脂質区分では D, DH 群の肝, 腎, 脾, 胃, 小腸, 辜丸にリノール酸の減少がみられた。アラキドン酸は C 群も少量であったが, D, DH 群では殆んど痕跡程度であった。また, 腎以外の臓器で DH 群はオレイン酸の増加がみられた。ドコサヘキサエン酸は中性脂質区分では肝以外の臓器には殆んど存在しなかった。

一方, リン脂質区分では Table 7 に示すようにリノール酸含量はあまり変化なく, むしろ肝, 腎, 胃では DH 群の方が C, D 群よりも多かった。ところが, アラキドン酸の減少が D, DH 群の肝, 腎, 脾, 胃, 小腸に顕著に現われており, ドコサヘキサエン酸の取りこみは肝, 脾, 脳で増加がみられ, 特に DH 群が D 群より多く取りこんでいるのが観察された。

なお, 血清全脂質の脂肪酸組成では, リノール酸, アラキドン酸の変動は肝のリン脂質区分に類似

Table 7. Fatty acid composition of neutral

Cn:m	Liver			Kidney			Spleen			C
	C	D	DH	C	D	DH	C	D	DH	
12:0	tr.	—	0.1	tr.	0.1	0.1	tr.	0.1	0.1	0.1
14:0	1.0	0.8	0.9	1.9	2.8	2.5	1.9	1.5	2.7	1.9
15:0	0.2	0.2	0.1	0.1	—	—	—	tr.	0.4	0.2
16:0	29.4	30.3	32.4	31.5	35.7	32.6	28.8	31.5	25.7	26.3
16:1	6.0	7.1	7.9	7.4	8.1	7.9	8.2	9.4	10.5	9.1
16:2	tr.	—	tr.	tr.	tr.	tr.	—	tr.	tr.	tr.
17:0	0.3	0.1	0.7	0.2	0.4	0.4	0.1	0.3	0.2	0.2
18:0	4.4	5.4	6.0	7.9	8.4	9.3	6.0	6.0	5.8	4.7
18:1	32.2	34.9	37.1	37.5	37.2	37.5	36.2	42.1	43.7	36.5
18:2	19.3	12.8	12.1	12.8	7.0	8.8	18.2	8.7	9.9	19.2
18:3	1.9	tr.	tr.	tr.	—	—	0.3	0.3	—	0.7
20:1	1.6	0.1	0.2	tr.	0.3	0.9	0.1	0.1	1.0	0.2
20:4	3.7	0.5	0.1	0.7	—	tr.	0.2	—	—	0.9
20:5	—	3.8	1.2	—	—	tr.	—	—	—	—
22:1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22:6	—	4.0	1.2	—	—	—	—	—	—	—

しているが、ドコサヘキサエン酸含量は少なく、肝より血液へのドコサヘキサエン酸の移行は少ないように思われる。

薄層クロマトグラフィーにより調製した肝フォスファチジルエタノールアミン (以下 PE)、フォスファチジルコリン (以下 PC) の脂肪酸組成について検討したところ、Table 9 に示すように D, DH 群を比較すると DH 群の方が PE, PC ともにドコサヘキサエン酸の取りこみ量が大であり、PE, PC の両者間では D, DH 群ともに PE の方が取りこみ量が大であった。

肝機能テスト:

3 群のラット血清について行なった結果を Table 10 に示す。血清蛋白量, A/G 比 (アルブミン/グロブリン) に有意差はみられないが、全脂質量, リン脂質量, 全コレステロール量は D, DH 群でやや減少の傾向がみられ、また血清酵素では GOT (グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ), GPT (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ) の活性の上昇が認められた。

考察および総括

1) 本調製法によって得られたヒドロパーオキシド含有区分は C_{22:6} と酸化生成物としては主として C_{22:6}ROOH が含有されていると考えられる。すなわち、自動酸化物より重合物は n-ヘキサンにより分別されており、低級水溶性の酸化生成物も水洗操作によって殆んど除去されているものと推定される。それ故、このヒドロパーオキシド含有区分の摂取によって現われる症状は C_{22:6} と C_{22:6}ROOH に起因するものと考えられる。

2) 第 1 報においては投与時、POV 約 500meq/kg の油 (活性酸素量にして 1 日 1 匹当たり約 12.7mg) の 1 ヶ月間投与では体重増加にあまり影響しないことを報告したが、本実験では投与時、POV 約 340meq/kg の油 (活性酸素量, 1 日 1 匹当たり約 7.6 mg) の 3 ヶ月間投与で DH 群は 2 ヶ月以降に体重減少が認められた。

しかし、自動酸化されない C_{22:6} を投与した D 群も 1 ヶ月以降、C 群に比較して体重増加が緩慢になった。(Fig. 2 参照)

3) 本実験においても第 1 報¹⁾ 同様、飼育期間中、3 群ともに下痢、脱毛のような症状はみられな

lipid of the rat organs (weight %).

Stomach		Intestine			Testes			Brain		
D	DH	C	D	DH	C	D	DH	C	D	DH
0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	tr.	0.1	0.1	tr.	tr.	—
1.9	2.2	2.0	2.3	1.8	1.6	2.5	1.7	2.6	2.3	1.3
0.3	0.3	0.4	0.2	0.4	0.4	0.3	0.4	0.7	0.4	0.4
27.8	27.7	30.0	34.1	33.4	27.9	30.8	31.9	41.7	35.4	39.0
9.9	9.0	7.1	10.5	11.5	11.6	12.1	14.2	15.9	11.5	12.7
—	tr.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.4	tr.	0.3	0.2	0.5	0.5	0.2	0.5	0.7	tr.	0.4
6.3	6.2	5.9	6.3	5.3	11.8	2.7	3.5	7.0	7.7	11.4
42.3	41.3	34.4	39.5	36.9	30.0	36.5	34.4	18.5	28.8	26.7
10.8	11.2	18.3	6.5	9.0	21.0	13.4	13.0	9.3	6.2	5.1
—	—	1.2	—	—	1.2	0.8	—	tr.	tr.	—
0.2	2.0	0.1	0.3	1.2	—	0.2	0.3	—	—	—
—	—	0.2	—	—	1.3	0.2	tr.	2.6	—	—
—	—	—	tr.	—	—	0.2	tr.	1.0	7.7	3.0
—	—	—	—	—	2.7	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 8. Fatty acid composition of

Cn:m	Liver			Kidney			Spleen			Stomach		
	C	D	DH	C	D	DH	C	D	DH	C	D	DH
13:0	0.2	0.1	0.1	0.6	0.5	0.9	1.1	1.4	1.3	0.5	0.6	0.9
14:0	0.2	0.2	0.2	0.8	0.5	1.0	1.6	2.0	1.9	0.6	1.0	1.1
15:0	0.5	0.8	0.2	0.7	1.0	1.9	1.8	1.8	1.8	2.1	1.6	1.6
16:0	18.5	19.4	22.5	16.4	19.9	24.4	18.5	22.2	18.6	18.7	24.4	18.5
16:1	1.7	2.8	2.6	2.7	2.3	4.0	2.7	2.9	4.6	2.5	4.0	4.6
16:2	0.8	1.1	1.0	0.6	0.5	tr.	1.0	1.1	1.0	0.7	0.7	1.0
17:0	0.8	0.7	0.2	0.3	—	0.5	1.1	0.7	0.5	0.6	0.6	—
18:0	27.1	27.5	24.4	23.9	21.1	20.1	19.4	21.0	22.6	21.4	16.2	18.9
18:1	10.8	13.2	11.0	11.8	12.9	14.6	16.5	17.1	18.6	18.4	22.0	20.9
18:2	9.5	9.3	11.0	11.0	13.4	14.0	10.4	8.5	9.6	8.0	12.9	13.8
18:3	0.8	0.3	0.2	0.3	0.2	tr.	1.2	0.1	tr.	0.6	0.7	0.9
20:1	0.1	—	tr.	tr.	0.1	0.3	0.5	0.2	0.3	0.2	tr.	0.5
20:2	—	—	—	—	—	—	—	—	0.2	—	tr.	0.2
20:3	tr.	0.1	0.6	—	0.1	tr.	—	tr.	11.1	—	0.2	0.2
20:4	24.3	10.0	9.0	29.1	15.4	11.5	23.8	14.0	3.3	21.8	10.3	10.2
20:5	0.5	5.4	5.1	1.1	6.8	5.9	0.4	3.8	—	0.4	3.7	4.6
22:1	0.2	—	—	0.5	3.8	—	—	tr.	0.3	3.6	0.6	0.6
22:5	—	—	—	—	—	—	—	1.1	4.3	—	—	—
22:6	4.0	8.8	11.8	tr.	1.5	0.8	—	2.1	—	—	0.5	1.5

Table 9. Fatty acid composition of phosphatidyl ethanolamine and phosphatidyl choline of the rat liver (weight %).

Cn:m	PE			PC		
	C	D	DH	C	D	DH
14:0	0.2	tr.	tr.	0.1	0.1	0.1
15:0	0.2	0.1	0.3	0.2	0.1	0.1
16:0	18.8	20.0	24.4	23.8	23.2	23.9
16:1	2.0	1.3	1.0	2.1	1.5	1.3
16:2	0.8	0.4	0.3	0.8	0.6	0.4
17:0	0.4	0.1	0.1	0.2	—	—
18:0	27.5	25.0	24.3	24.4	23.7	24.3
18:1	10.9	7.1	5.2	10.4	7.2	7.9
18:2	4.7	5.1	4.6	6.4	6.0	7.3
18:3	0.5	0.6	0.1	tr.	0.5	0.1
20:1	1.2	—	—	0.5	—	—
20:2	0.1	—	—	—	—	—
20:3	0.1	tr.	tr.	tr.	0.4	0.9
20:4	21.3	11.9	10.2	28.2	17.0	11.7
20:5	0.9	9.9	5.7	0.8	7.7	6.2
22:1	7.9	2.5	0.2	tr.	6.0	1.0
22:6	2.5	16.0	23.5	2.1	6.0	14.7

かった。金田ら²⁾は高度不飽和脂肪酸過酸化物の摂取により下痢を起すと報告しているが、本実験ではそのような症状がみられないことから、下痢はヒドロパーオキシドによるものではなく、二次的に生成した重合物、あるいは低級な水溶性の酸化生成物によって起るものであろうと考えられる。

第1報と同様本実験でも肝、腎の肥大が認められ、特に肝は顕著であった。

4) 各臓器における過酸化物の蓄積は、C_{22:6}ROOH が小腸から吸収され、肝に取り入れられた後肝

phospholipid of the rat organs (weight %).

Intestine			Testes			Brain			Serum-TL		
C	D	DH	C	D	DH	C	D	DH	C	D	DH
0.1	0.1	0.4	0.7	0.7	0.9	0.7	0.8	0.8	—	—	—
0.4	0.9	0.7	1.3	0.7	1.1	0.5	0.6	0.8	1.7	0.5	0.7
0.6	1.0	0.6	0.9	0.9	0.9	1.7	2.7	2.9	0.5	0.2	0.2
17.9	23.6	23.9	38.8	34.9	37.8	22.6	17.4	17.5	33.4	28.6	33.4
3.5	5.5	2.1	tr.	3.6	3.4	tr.	—	3.5	6.4	8.1	8.4
1.1	1.2	0.8	0.8	0.5	0.5	tr.	0.9	0.4	1.2	1.4	1.7
0.4	0.5	0.6	0.3	0.1	0.2	0.5	1.4	0.8	0.2	0.3	0.5
21.9	17.9	21.7	11.6	10.0	8.8	23.1	24.2	22.9	16.1	12.4	11.1
16.4	22.8	19.5	13.0	17.0	13.3	24.9	30.2	27.5	15.9	25.2	22.8
14.5	12.2	15.5	4.9	4.9	4.7	0.4	2.0	1.9	12.8	13.8	15.1
1.5	0.8	0.5	0.2	tr.	tr.	0.2	0.4	0.1	—	—	—
0.8	1.3	0.8	—	tr.	—	2.5	2.3	2.1	tr.	0.3	0.5
—	—	tr.	—	—	—	0.6	0.7	—	—	—	—
0.4	0.1	0.2	tr.	0.2	0.2	—	—	tr.	—	—	—
17.9	7.5	10.0	14.8	14.9	14.1	7.2	6.1	7.2	11.8	5.3	3.9
0.9	3.4	2.7	1.1	0.5	0.4	0.8	—	tr.	—	3.5	0.8
1.6	—	—	11.4	11.1	13.3	9.4	2.2	2.1	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	1.2	tr.	—	—	0.4	5.0	8.1	9.5	—	0.5	0.9

Table 10. *Chemical compositions and enzyme activities of blood serum.*

Item	Control (C)	C _{22:6} (D)	C _{22:6} ROOH (DH)
Total protein (g/dl)	6.7±0.3	6.3±0.2	6.3±0.3
Albumin/Globulin (ratio)	1.20±0.15	1.21±0.13	1.21±0.09
Total lipid (mg/ml)	3.83±1.68	3.56±1.58	3.06±0.85
Phospholipid (mg/ml)	1.22±0.68	0.62±0.22	0.74±0.14
Total cholesterol (mg/ml)	0.98±0.43	0.82±0.15	0.71±0.12
GOT (Karmen)	86.3±18.4	226.0±10.0	275.0±39.9
GPT (Karmen)	21.3±7.9	29.8±9.5	32.7±3.4
AIP (King-Armstrong)	21.4±3.9	18.6±3.2	18.3±6.6
ChE (Δ pH)	0.05±0.01	0.02±0.01	0.04±0.02

Mean value±SD

から運ばれたためにおきているのか、どうかについては、C_{22:6} 含量が DH 群の肝は中性脂質区分で 1.2%、リン脂質区分で 11.8% と多いが、脾のリン脂質で 4.3%、脳のリン脂質で 9.5% の存在が認められたのみで、腎、胃、小腸の中性脂質には殆んど含まれず、リン脂質区分でも腎 0.8%、胃 1.5%、小腸は痕跡程度であることから、TBA 値の増大とドコサヘキサエン酸含量との間に相関性があるとは言えず、そのため各種臓器の TBA 値の増大がストレートに C_{22:6}ROOH を蓄積したためであるとする事は断言できない。それで、肝以外の臓器ではむしろ二次的な原因、たとえばヒドロパーオキシドからの二次生成物によるか、あるいはビタミン E 等が欠乏することによって TBA 値が増大することも推定される。すなわち、過酸化物の摂取によりビタミン E が欠乏し、臓器脂質の過酸化現象が起るといふ説⁴⁾も提記されているところからこの点についても検討する必要がある。

5) 本実験の結果、ヒドロパーオキシドの摂取によって特に肝の栄養代謝障害が起っていると推察される。すなわち、肝の肥大を考慮すると肝に蓄積されている蛋白質、脂質が増加していること

になり、肝から他の体組織への栄養素の運搬にも支障をきたしているのではないかということが、血清成分の変動、体重減少という症状とを合わせ考えると推測できる。

特に、肝の脂質組成、脂肪酸組成の変動は肝の脂質代謝に異常をきたしていることをうかがわせる。ハイドロパーオキシド投与による肝の脂質組成の変動に関しては、衣巻⁵⁾がラットにリノール酸ハイドロパーオキシドを投与することによりトリグリセライドが蓄積することを報告しているが、本実験ではそのような結果は得られなかった。一方、Kawashima⁶⁾はリノール酸ハイドロパーオキシドの2ヶ月間の投与によりラット肝の全脂質量は減少するが、リン脂質量はあまり変化しないことを認めており、本実験で得られた結果と似ている。

6) D・DH群の肝、腎、胃等のリン脂質区分にアラキドン酸の減少、ドコサヘキサエン酸の増加がみられだが、この傾向が肝のPE, PCにはっきり現われていることからドコサヘキサエン酸の取りこみの増加により、おそらくはリノール酸からアラキドン酸への合成の抑制が起っているように推察される。

この原因の一つに必須脂肪酸の欠乏があげられる。一般に必須脂肪酸欠乏食でラットを飼育すると、肝リン脂質区分にエイコサトリエン酸の著しい増加が認められることが報告されているが⁶⁾、本実験ではそのような傾向はあまりみられないことから必須脂肪酸の欠乏による症状と断定することは難しい。

一方、Centuryら⁷⁾はリノレン酸系列の脂肪酸は直接組織中の必須脂肪酸と置きかわってリノール酸からアラキドン酸への合成を抑制することを報告しており、その点ドコサヘキサエン酸も同系列の高度不飽和脂肪酸であるところから、同様の抑制作用をもっているものと思われる。しかしD群よりもDH群にこの傾向が顕著であるという結果からは、ハイドロパーオキシドがこの代謝抑制に何らかの形で働いていることが推察される。

7) 肝細胞のどの構造、機能が障害を受けているのかということであるが、PEのようにミトコンドリア等の生体膜に多く存在するリン脂質にドコサヘキサエン酸の蓄積が著しいということは、肝の脂質TBA値の増大、血清GOT・GPTの活性の上昇と合わせて考えると、ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸ハイドロパーオキシドが生体膜に蓄積し、膜の構造と機能が障害を受けているようにも推測される。

8) 自動酸化を受けないC_{22:6}を投与したD群においてもTBA値が肝、腎、胃においてC群よりも増大していたが、これはC_{22:6}の大量摂取が生体内での脂質の過酸化現象に影響をおよぼしていることを示唆しているものと思われる。金田ら⁸⁾は酸化されない高度不飽和脂肪酸は毒性をもたないと報告しているが、本実験の結果からはC_{22:6}のような特に高度の不飽和脂肪酸を長期間、大量に摂取することは栄養的には好ましくないものと推定した (Fig. 2 参照)。

本実験によりC_{22:6} ROOHの13週間(亜急性中毒の飼育試験期間)の投与により、ラットの肝臓をはじめとして各種臓器の脂質代謝障害を起すことが明らかになったが、各臓器の脂質代謝異常のパターン (Fig. 3, Table 5, 7, 8 参照) は、ハイドロパーオキシドの直接の影響だけではなく、二次的な原因をも示唆しているように推定される。

本研究に対して指導に協力され、且有効な助言を与えられた食品化学第一講座座間助教、羽田野、高間両助手に感謝すると共に、イカ油エステルを提供された日本化学飼料函館工場、精製大豆油を提供された旭油脂k k、血清検査に協力された市立函館病院中央臨床検査科の松崎技師に謝意を表します。

文 献

- 1) 小川晃・五十嵐久尚 (1972). 脂質酸化生成物の生体におよぼす影響 I ドコサヘキサエン酸自動酸

- 化物のラット臓器におよぼす影響 北大水産彙報 **23**, 159-169.
- 2) 羽田野六男 (1971) ナガスカ卵巣の毒性物質 VI. Lipostichaerin と毒性磷脂質投与ラットにおける毒性の比較, 北大水産彙報 **21**, 331-335.
 - 3) 金田尚志・酒井孝恵・石井清之助 (1954). 高度不飽和酸の栄養価と魚油毒の本態, 栄養と食糧 **7**, 188-197.
 - 4) Kawashima S. (1970). The possible role of lipoperoxide in aging. *Nagoya J. Med. Sci.* **32**, 303-326.
 - 5) 衣巻豊輔 (1970). 脂肪酸過酸化物の毒性とビタミンEの作用, 日本水産学会誌 **36**, 854-859.
 - 6) Blank M.L. and Privett O.S. (1963). Studies on the metabolism of cis, trans isomers of methyl linoleate and linolenate. *J. Lipid Res.* **4**, 470-476.
 - 7) Century B. and Horwitt M.L. (1964). Role of arachidonic and in nutritional encephalomalacia; Interrelation of essential and nonessential polyunsaturated fatty acids. *Arch. Biochem. Biophys.* **104**, 416-422.