

B-1 マルゴサ油の肝ミトコンドリアに対する作用 —物理化学的溶解と化学的粗分離—

研究協力者：等 泰三（久留米大学 薬剤部）

分担研究者：山下文雄（久留米大学 小児科）

共同研究者：岡野善郎、宮田 健、矢原正治

野原稔弘（熊本大学 薬学部）

古賀靖敏（久留米大学 小児科）

目的：近年、東南アジア各地でマルゴサ油（*Margosa oil*, *M. oil*）を服用した乳幼児に原因不明の脳症（*Reye 症候群*等）が多発していることが示唆されて以来、その毒性が注目されている。その後、動物実験においても *Reye 症候群*に酷似した中毒症状を誘発することが報告されている¹⁾。

この油は東南アジア産センダン科の植物 *Azadirachta indica* A. Juss（*Neem tree*）の種子油で、苦味強壯・解熱薬として重用されている民間薬である。

今回われわれは、1) *M. oil* の肝ミトコンドリア呼吸鎖に対する作用を物理化学的に溶解した *M. oil* で検討し、2) さらに *Neem tree* が世界各地に生息するセンダン科の植物であることから、同科・同属・亜種の日本センダン（*Melia Azedrach* L. var *japonica* Makino）の種子油を粗分離し *M. oil* の成分と比較した。

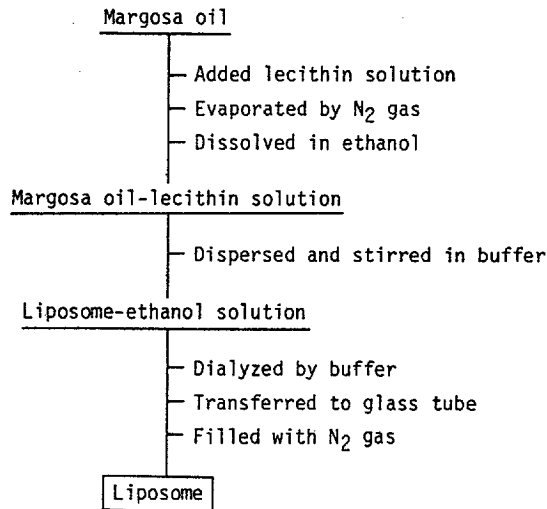
方法：1) 肝ミトコンドリア呼吸鎖に対する作用

ラット肝を摘出後、Schneider ら²⁾ および古賀³⁾ の方法に準じてミトコンドリア懸濁液を調整した。ミトコンドリアの酸素消費は Chance⁴⁾ の方法に従い、Clark 型酸素電極を用いて polarography で測定した。

ロテノン添加後、コハク酸および ADP を基質として酸素消費量の時間経過を記録した。Lecithin（*phosphatidyl choline*）で形成した liposome に

よる M. oil の溶解法を Fig. 1 に示した。実験は対照 (buffer), liposome 単独, liposome - M. oil および isopropanol - M. oil について比較検討した。

Fig. 1
PROCEDURE FOR FORMATION OF LIPOSOME BY
LECITHIN WITH MARGOSA OIL



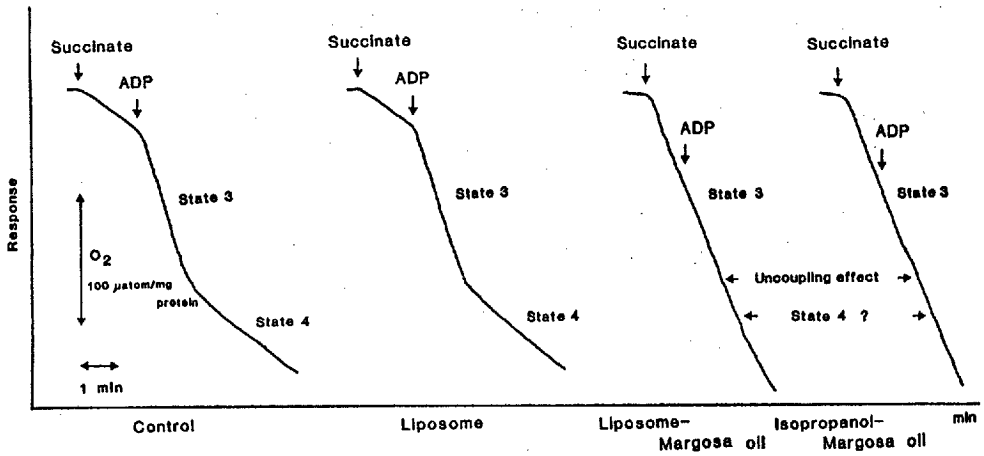
2) 植物種子油の化学的粗分離

日本センダン (j. M) の種子を benzene で熱抽出して得た油および M. oil の一定量を薄層上にスポットし, thin layer chromatography (TLC) で粗分離後, それらの含有成分を比較した。

結果: 1) 被検物質の肝ミトコンドリア酸素消費に対する効果を polarogram として Fig. 2 に示した。Liposome 単独の state 3, 4 の酸素消費量はそれぞれ 122.7, 23.6 $\mu\text{atom} / \text{min}$, RCR (呼吸調節率, state 3 / state 4) 5.2 を示し, これらの値は対照の値とほぼ一致した。このことから, liposome 自体はミトコンドリア酸素消費に対してほとんど影響を与えないことがわかった。一方, liposome - M. oil および isopropanol - M. oil 添加では, 対照と liposome 単独でみられた酸素消費の時間

Fig. 2

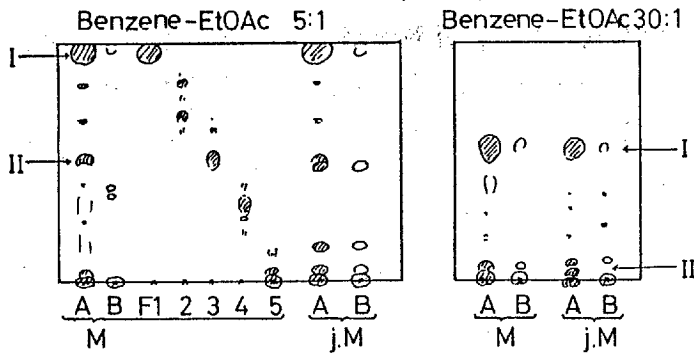
EFFECTS OF LIPOSOME, LIPOSOME-MARGOSA OIL AND ISOPROPANOL-MARGOSA OIL ON O₂ CONSUMPTION OF RAT ISOLATED LIVER MITOCHONDRIA



Determined by polarography using a Clark type oxygen electrode.

Fig. 3

Thin layer Chromatogram of M and Seed Extracts of j.M on Kieselgel 60 F 254



I: Fatty oil, II: Fatty acid
 A: H₂SO₄ heated
 B: UV color and absorption

経過に伴う state 4 が消失し、polarogram上で典型的な脱共役パターンを示した。このことは M. oil の添加で、ミトコンドリア酸素消費が可及的に増加したことを示している。また、liposome - M. oil と isopropanol - M. oil の酸素消費に対する効果はほぼ同程度であった。

2) 日本センダンの種子油 (j. M) と M. oil (M) の thin layer chromatogram を Fig. 3 に示した。Benzene - ethylacetate 5 : 1 で展開すると、硫酸発色・UV 吸収による検出で、Rf 値 0.2 - 0.4 に、それぞれに特徴的なスポットが観察された。すなわち、TLC による比較で、M と j. M とは異なった chromatogram を呈した。

考察： Reye 症候群の主な病因は組織のミトコンドリア呼吸障害であることが明らかにされている⁵⁾。M. oil が原因不明の脳症 (Reye 症候群等) を誘発することが報告されて以来、M. oil と肝ミトコンドリア障害の因果関係について追求されている。ところで、M. oil などの難溶性物質の作用を in vitro の実験系で検討する際には、有機溶媒に溶解後、緩衝液中に添加する方法が用いられている。しかしながら、有機溶媒の生体膜に対する影響を考えると、必ずしも妥当な溶解法とは言い難い。今回われわれは M. oil の溶解法として、生体膜の構成成分である lecitin を用いて物理化学的に liposome を形成し、溶解する方法を考案した。Fig. 2 に示したように、liposome 単独ではミトコンドリア呼吸鎖に何ら影響を与えず、lecitin には基質としての性質が認められないことが判明した。

本実験では、liposome - M. oil と isopropanol - M. oil の酸素消費に対する相違はみられなかったが、有機溶媒が重大な影響を及ぼすと予測される実験系への liposome の応用は有用であると考えられる。

M. oil と日本センダンの種子油中の成分に違いがあることを明らかにしたが、その差異からセンダン科の Neem tree (M. oil) が特異的に原因不明の脳症 (Reye 症候群等) を誘発すると予測するのは、現時点では早計であろう。今後、M. oil 中の成分の詳細な検索を行ない、その成分と現在発症の原因物質として候補に挙げられているものとの化学的相関性を追求することは、発症の予見と防止という観点から重要であろう。併せて、日本

センダンおよび駆虫薬として繁用されているトウセンダン（中国・四川省産）についても分析化学的・毒性学的・疫学的検討が必要であると思われる。

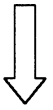
文献

- 1) Sinniah, D. and Baskaran, G., Lancet, 8218 : 487 - 489, 1981
- 2) Potter, V. R., Lyle, G. G. and Schneider, W. C.,
J. Biol. Chem., 190 : 293 - 301, 1951
- 3) 古賀靖敏, 久留米医学会雑誌, 47 : 170 - 188, 1984
- 4) Chance, B. and Williams, G. R., J. Biol. Chem., 217 :
383 - 393, 1955
- 5) 山下文雄, 厚生省心身障害研究 昭和 59 年度研究総括報告書 :
第 1 分冊 原因不明の脳症 (Reye 症候群等) に関する研究,
1984, p 3 - 7



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



目的:近年,東南アジア各地でマルゴサ油(Margosa oil,M.oil)を服用した乳幼児に原因不明の脳症(Reye 症候群等)が多発していることが示唆されて以来,その毒性が注目されている.その後,動物実験においても Reye 症候群に酷似した中毒症状を誘発することが報告されている 1).

この油は東南アジア産センダン科の植物 Azadirachta indica A.Juss(Neem tree)の種子油で,苦味強壮・解熱薬として重用されている民間薬である.

今回われわれは, 1)M.oil の肝ミトコンドリア呼吸鎖に対する作用を物理化学的に溶解したM.oil で検討し,2)さらにNeem treeが世界各地に生息するセンダン科の植物であることから,同科・同属・亜種の日本センダン(Melia Azedrach L・var japoica Makino)の種子油を粗分離しM.oil の成分と比較した.