

B-2 マルゴサ油の人リンパ球に対する細胞毒性

研究協力者：等 泰三（久留米大学 薬剤部）

共同研究者：開作 淳、森 健次、三浦昭代、高山 哲
（久留米大学 薬剤部）

目的：Reye症候群の発生機構、成因を解明する為に数種類の実験モデルについて検討が進められている。最近、インドネシアやマレーシアなど、東南アジアで昔から民間薬として使われている植物油の一種であるマルゴサ油を服用した子供にReye症候群様の症状が確認されたとの報告がなされ（1）、Reye症候群とマルゴサ油の関係が注目されている。マルゴサ油にはAzadirachtinという強力な殺虫作用を有する物質が含まれており（2）、その他にも数種類の薬理活性物質の存在が確認されている（3）。そこで、今回マルゴサ油によるReye症候群の発生機構を明らかにするため、また新しい実験モデルの作製を目指し、人の細胞であるリンパ球を用いてマルゴサ油に含まれる各成分の毒性について検討した。

方法：マルゴサ油は中性脂質を主成分とし、その中には幾つかの薬理活性物質が含まれている。そこで、Edwardのカラム法（4）により中性脂質を[A]炭化水素、ステロールエステル [B]トリグリセリド、遊離脂肪酸 [C]遊離ステロール [D]テルペン、その他 の4種類の粗分画に分離し、さらにマルゴサ油の[E]95%エタノール抽出物を合わせ、5種類の試料について検討した。人リンパ球は、Ficoll-Conray比重法により分離し、マルゴサ油の各抽出物を所定量添加後3日間CO₂インキュベーターで培養を行い、血球計算盤でリンパ球数を計測した。

各試料の成分については、薄層クロマトグラフィー（TLC）で検討、展開溶媒は、ヘキサン：エーテル：酢酸（80：20：1）を使用、検出は硫酸-酢酸法で行った。

成績：図1に、各試料を200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように添加し、3日間培養後の生存リンパ球数を示す。明らかに、D、E分画でリンパ球数の減少が認められたが、他の分画ではコントロールに比べ差がなかった。

図2は、各試料と植物界に広く存在し、且つ薬理活性の強いテルペンの一種である β -シトステロールのTLCを示したものである。このTLCでは、極性の弱い物質程Rf値が大きく、従ってD分画、E分画には、極性の強い物質が含まれていると考えらる。 β -シトステロールのRf値から見ても極性の強いテルペン類が両分画に含まれていることが推測される。C分画は、D、E分画と、 β -シトステロール及びそれよりわずかに極性の弱い物質を共通に含んでいるが、C分画では、毒性が認められなかった。

図3では、リンパ球に対する毒性の濃度依存性を示す。D、E分画の作用は濃度に依存しており、その作用は、D分画の方が強い傾向にあった。

考察：マルゴサ油の原料は、センダン科の一種の*Azadiracta indica*という植物の果実である。センダンは東南アジア、中国、日本に分布し、その樹皮、果実、葉等は、古くから殺虫剤、駆虫剤、などに利用されてきた(5)。近年、マルゴサ油の活性物質の分離同定が進められ、テルペンの一種で殺虫作用の非常に強い*Azadirachtin*という物質が、マルゴサ油に含まれている事が明らかにされた。*Azadirachtin*は、テルペンの中のトリテルペンに属し、この物質の分離の第1段階は95%エタノールによる抽出である。(2)

従って、極性は強く、今回使用したマルゴサ油に*Azadirachtin*が存在するならば、D、E分画に含まれるものと考えられる。Reye症候群の発症因子として多くの化学物質が候補にあげられているが、DDTなどの農薬や殺虫剤による本症の発生も報告されており(6)、マルゴサ油によるReye症候群様の症状の発生因子の1つとして、強力な殺虫作用を有する*Azadirachtin*が十分考えられる。

現在までの研究は動物実験が殆ど、実験結果を人に適応することが困難であった。今回使用したリンパ球は、人の細胞であり、比較的容易に分離調製が可能であり、さらにリンパ球の代謝は他の組織細胞のそれと類似する点に注目し実験材料として選んだ。

実験の結果、マルゴサ油に入リンパ球に対して毒性を有する物質が存在することが確認されたが、この物質を分離同定し、リンパ球の形態、代謝に及ぼす影響をさらに細かく検討することにより、マルゴサ油とこれに含まれる毒性物質の人体に対する作用をよりの確に推測出来るものと考ええる。

結論：1) マルゴサ油をカラム法により4分画に分離、トリグリセリド、遊離脂肪酸を多く含んでいるB分画が64%で、残りの分画はそれぞれ約10%であった。2) 薬理活性を有するテルペンなどの極性の強い物質を含むD分画及び95%エタノール抽出物は200 μ g/mlの濃度でリンパ球をほぼ完全に障害した。3) 各分画のTLCにより、テルペン、あるいはより極性の強い物質が毒性を有すると考えられる。4) 強力な殺虫作用を有するAzadirachtinは極性が強くD分画に含まれることが予測され、マルゴサ油のリンパ球に対する毒性因子の一つであると考えられる。

文献

- 1) SINNI AH, D et al ; ABSTR. XV MALAYSIA- SINGAPORE CONGRESS OF MEDICINE VOL. 4-5, PP. 87 (1980)
- 2) REDFERN, R. J. D. WARTHEN, et al ; U. S. DEP. AGRIC. SCI. AND EDU. ADMIN. AGR. RES. RESULTS NO. 5 PP. 5 (1979)
- 3) SINNI AH, D. BASKARAN, G ; THE LANCET, 28 PP. 487-489 (1981)
- 4) EDWARD J. BARRON et al ; J. BIOL. CHEM., 231 PP. 493-503 (1957)
- 5) 刈米 達夫 ; 広川薬用植物大事典、PP. 193
- 6) COREY, L. et al ; PEDIATRICS, 60, PP. 708-714 (1977)

図1 マルゴサ油分画の人リンパ球に対する作用

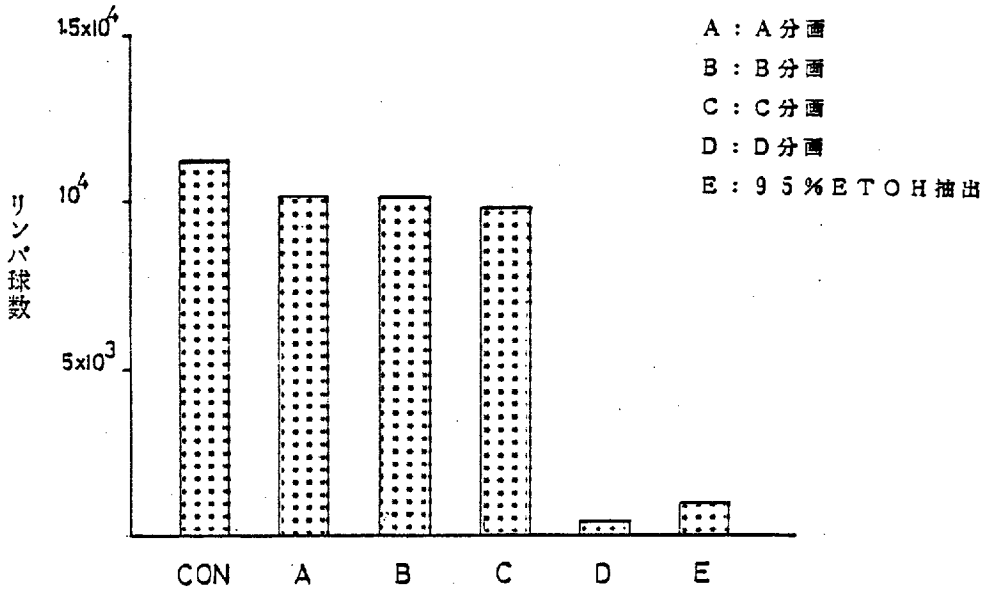
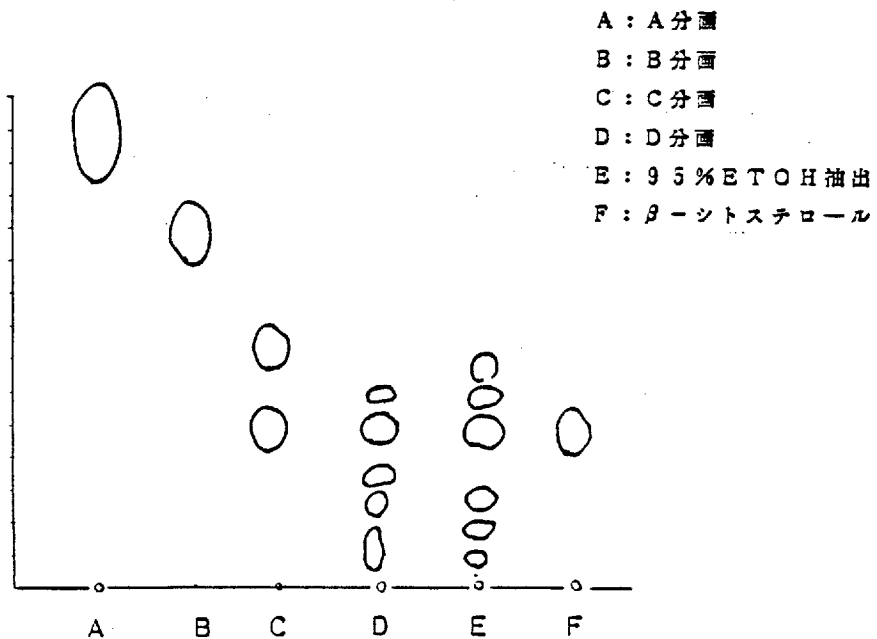
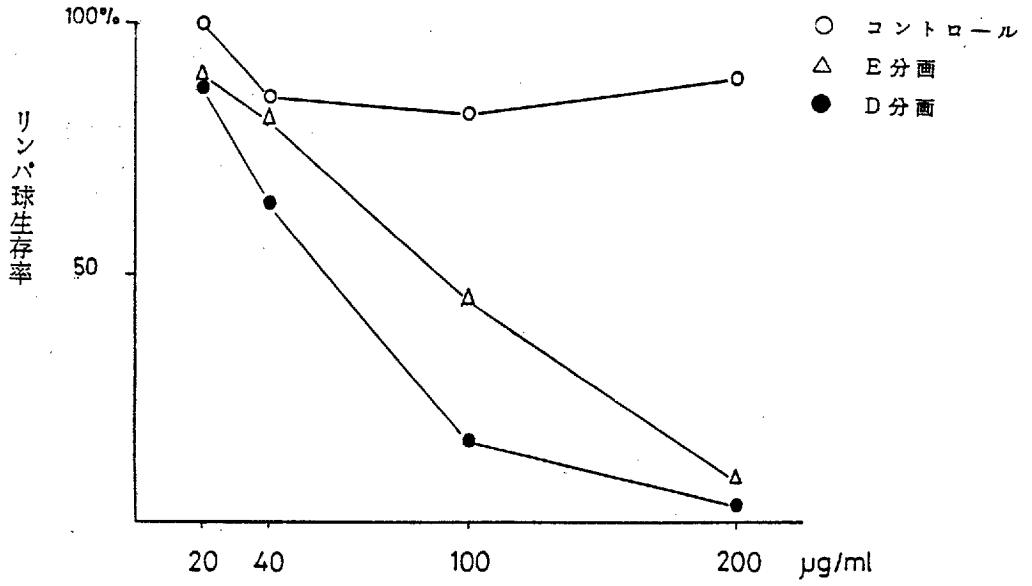


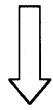
図2 マルゴサ油抽出物のTLC



マルゴサ油分画の入リンパ球に対する作用

容量反応曲線





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:Reye 症候群の発生機構、成因を解明する為に数種類の実験モデルについて検討が進められている。最近、インドネシアやマレーシアなど、東南アジアで昔から民間薬として使われている植物油の一種であるマルゴサ油を服用した子供に Reye 症候群様の症状が確認されたとの報告がなされ(1)・Reye 症候群とマルゴサ油の関係が注目されている。マルゴサ油には Azadirachtin という強力な殺虫作用を有する物質が含まれており(2)、その他にも数種類の薬理活性物質の存注が確認されている(3)。そこで、今回マルゴサ油による Reye 症候群の発生機構を明らかにするため、また新しい実験モデルの作製を目指し、人の細胞であるリンパ球を用いてマルゴサ油に含まれる各成分の毒性について検討した。