総 説

過酸化脂質の生体内反応

菊 川 清 見

東京薬科大学・第一衛生化学教室
(〒192-03 八王子市堀之内 1432-1)Reaction of Peroxidized Lipids
in Cells and Tissues

Kiyomi KIKUGAWA

Tokyo College of Pharmacy (1432-1 Horinouchi, Hachioji-shi, 〒192-03)

Induction of lipid peroxidation in tissues or cells produces fluorescence, crosslinks and borohydride-reducible functions in the proteins. Fatty acid hydroperoxides, initial products of lipid peroxidation, produce fluorescence and cross-links by reacting with proteins, and the fluorescence characteristics of the products are similar to those of the products formed in cells and tissues. Malonaldehyde that may be generated to a little extent during lipid peroxidation produces fluorescence, cross-links and borohydride-reducible functions in proteins, but the fluorescence characteristics of the products are not always similar to those in cells and tissues. Other carbonyls that are generated during lipid peroxidation may be responsible for the formation of the damaged proteins in cells and tissues. Modified proteins or the cells that contain the modified proteins may be removed by several mechanisms. These processes of removal may link to certain abnormal disorders so called "free radical disorders".

1 はじめに

Harman によって生体内に生じるフリーラジカルが多くの老年病に関与しているという、いわゆるフリーラジカル説^{1)・2)}が発表されて以来、生体におけるフリーラジカル反応に関心がもたれている³⁾。生体内でフリーラジカルによって最も変化をうけやすいのは高度不飽和脂肪酸からなる脂質成分である³⁾。しかし、この反応で生成する過酸化脂質もまた反応性に富んでいるため、タンパク質など共存する他の成分と容易に反応して損失し、他の成分に損傷を与えている可能性があり、これら一連の反応の解析は必ずしも容易ではない。

高度不飽和脂肪酸や油脂などの単純な系においては、高度不飽和脂肪酸は自動酸化をうけて、アルキルラジカル、ペルオキシラジカルを経てヒドロペルオキシドを生じ、さらに分解して多種のアルデヒド類を含む複雑な混合物になる (Fig.-1)⁴⁾。この混合物を過酸化脂質というが、これらの成分が生体内に生じた場合、他の生体成分とどのような反応を起こし、反応により生じた修飾成分がいろいろな疾病とどのように関係しているのかわかる。

老人はん(斑)の本体であるリポフスチン (Lipofuscin) は生体内で生じた過酸化脂質とタンパク質の反応物と考えられており、組織学的に観察される唯一の物質である。リポフスチンそのものには生理的に大きな意義はないかも知れないが、生体内における過酸化脂質の反応とそのゆくえを追求するのに格好の対象と思われる。

本稿では、生体内における過酸化脂質の生成と、これらとタンパク質との反応について述べる。

2 リポフスチン

老化組織に特有の物質が見いだされたのは既に 140 年前のことで、Hannover が老化神経細胞に蛍光性粒子を観察したことに始まる。その後この物質が加齢と関係があること、蛍光性粒子の沈着は細胞の機能を低下するなどの報告がなされた。今世紀になって、これら粒子は、広くせきつい(脊椎)動物、無せきつい動物、原虫及び培養細胞にも老化に伴って出現することが分かり、更にビタミン E 欠乏などの食性因子、毒物または環境因子によっても生じることが示された。殊に Strehler ら⁵⁾ がヒト心筋組織に沈着する蛍光性粒子の量と年齢の間に相関性があることを認めて以来、注目されるようになった。

Fig.-1 Schematic presentation of the aldehyde classes and other products derived from peroxidized lipids⁽¹⁾.

た。リポフスチンはその発見から100年以上経過してようやくその生成に細胞内脂質過酸化が関与していることを示唆する実験結果が得られた。次節で述べるように、ミトコンドリア、リソソーム、小胞体、細胞の膜に存在する高度不飽和脂肪酸が、酸素やラジカル開始剤の存在下、過酸化をうけ、この反応がリポフスチン生成の原因と考えられるようになったのである。リポフスチンは複雑なコンプレックスであり、脂質過酸化反応だけでは説明し得ない点もあるが、脂質過酸化反応との関連を否定する根拠がない以上、リポフスチンの生成にはこのプロセスが重要な役割を演じていると考えて差しつかえなからう。

組織から抽出精製されたリポフスチンは励起極大345～395 nm、蛍光極大420～490 nmの蛍光を発する⁽⁶⁾。ヒト及びラットこう丸から抽出したリポフスチンの蛍光はアルカリ性または金属キレート剤の存在下では消失する特性を示す^{(7)・(8)}。

3 生体膜の脂質過酸化とタンパク質の修飾

生体組織における蛍光性リポフスチン様物質の生成と脂質過酸化との関連は次のように確かめられた。ラット肝のミクロソーム、ミトコンドリア、リソソームを好気

的にインキュベートすると蛍光物質の生成が認められ、また抗酸化剤の存在下ではこの反応が阻止された^{(9)・(10)}。また、赤血球をオゾンや紫外線にあてると励起極大360 nm、蛍光極大440 nmを示す蛍光物質が蓄積することが観察されている⁽¹¹⁾。

赤血球に脂質過酸化を誘導すると蛍光物質の蓄積と共に膜タンパク質に重合が起こる^{(12)～(15)}。一方、Low-density lipoprotein (LDL) に脂質過酸化を誘導すると蛍光物質の生成と共にそのアポタンパク質部分の低分子化が起こる⁽¹⁶⁾。このように生体組織の脂質過酸化は蛍光物質の生成と共に近接するタンパク質を修飾することが分かった。

赤血球に脂質過酸化を誘導すると、膜はボロヒドリド(NaB³H₄)で還元をうけてトリチウムの導入が認められる。トリチウムの導入は膜タンパク質(バンド1, 2, 3, 4.1, 4.2, 5及び6)の重合体にも非重合体にも認められ⁽¹⁷⁾、脂質過酸化に起因する膜タンパク質の修飾が起こっていることが分かった。

最初の節で述べたように、油脂だけの単純系での脂質過酸化反応で生成する物質は極めて多岐にわたっている(Fig.-1)が、これらのうちのどの種のもが、生体組織中で反応して、蛍光物質、タンパク質の橋かけ体、ボロ

ヒドリド還元性を生じるのであろうか。

4 生体組織中の過酸化脂質の検出

生体組織に過酸化脂質が生成した場合、前述のような反応によって活性な化合物は消失している可能性がある。このような活性種の存在は、活性種そのものの検出と反応生成物の解析の両面から行う必要がある。活性種にはラジカル、ヒドロペルオキシド、マロンアルデヒドなどのアルデヒド、アルカンなどがありこれらを対象とした検出がなされている。

これらのなかで、アルデヒドの一種であるマロンアルデヒド (malonaldehyde) が生体組織の脂質過酸化の指標として対象とされてきた。このアルデヒド自体は極めて不安定な化合物で、過酸化脂質中に直接検出するのは困難であるけれども、次のようにチオバルビツール酸 (TBA) を用いることによってその存在が示唆されている。すなわち、酸性で加水分解するとマロンアルデヒドを生じる化学的に安定な物質を TBA と共に酸性条件下加熱すると、532 nm に極大吸収をもつ赤色色素を生成するが、過酸化脂質を TBA と同一条件下加熱した場合にも同じスペクトルを有する赤色色素を生成する¹⁸⁾。いいかえると過酸化脂質中には酸性で加熱することによって TBA と反応し、赤色色素を生成する物質、TBA-reactive substance が存在することになる。TBA 反応は簡便で感度もよいので、過去 30 年間、数えきれない程多くの論文で、この方法を利用して TBA-reactive substance を定量し、これを基にマロンアルデヒドの存在量が算出されてきたのである¹⁹⁾。しかし最近になって、例えば酸分解-アセタール化法²⁰⁾、フェニル又はダンシルヒドラチン法^{21)・22)}、*p*-置換芳香族アミン法²³⁾、直接 HPLC 法^{24)・25)}、Hantzsch 法²⁶⁾ によって過酸化脂質中に存在するマロンアルデヒドは極めて少ないことが分かり、TBA-reactive substance をマロンアルデヒドといいかえる訳にはいなくなった。このような経過から、TBA 反応はマロンアルデヒドに非選択的であるため過酸化脂質の測定には不適であるとする考え方もある。しかし、それでもなお TBA-reactive substance の測定は過酸化脂質の測定に有用な手段であるとの考え方もある。

筆者らは過酸化脂質中の TBA-reactive substance の本体についての検討を行っているが、これまでに分かったことについて述べる。過酸化脂質中に存在する可能性のあるアルケナール、アルカジエナールは TBA との反応によって、マロンアルデヒドと同様な色素を生成することが既に分かっていたが²⁷⁾、赤色色素の生成条件、生成率、構造などは不明のままであった。筆者らはこれらアルデヒドと TBA の反応について検討した。反応条件について、TBA: アルデヒドの量比、反応液中の

水の有無、反応液中の酸素の有無、反応中間体の存否、ブレインキューションの効果など多角的な検討を行った。その結果、TBA 過剰の場合、アルケナール、アルカジエナールは、水、酸素の存在下、Fig.-2 に示すような反応経路で赤色色素を生成することが分かった^{28)・29)}。アルケナールからの赤色色素生成はマロンアルデヒドの 1/100~1/500、アルカジエナールからの赤色色素生成は 1/10~1/50 であった。また生成する赤色色素の構造は、マロンアルデヒドから生成する色素の構造と同じであることも確かめられた。さらに興味あることに、アルケナールとアルカジエナールは赤色色素の生成に相乗的に働くことが分かり、またヒドロペルオキシドの存在により、これらアルデヒドからの赤色色素の生成が増強されることが明らかになった。以上の結果から過酸化脂質中の TBA-reactive substance は、マロンアルデヒドの他にアルケナール、アルカジエナール及び酸加水によりこれらアルデヒドを生成する物質であると考えられる。TBA 反応による脂質過酸化の程度を表示するには赤色色素の量をモル吸光係数で計算して示すのが妥当と考えられる。

マロンアルデヒド以外のアルデヒド類は 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン⁴⁾、シクロヘキサジオン³⁰⁾ と反応したのち HPLC を用いて検出される。この方法によって数種のアルカナール、アルケナール、アルカジエナールの検出がなされている。

一方ヒドロペルオキシドの検出もいくつかの方法があるが、HPLC により分離したのちに ECD を用いて検出する方法³¹⁾、ルミノールと反応して生じる化学発光をとらえる方法^{32)・33)} が、微量にしか存在しないヒドロペルオキシドの検出に適している。これらの方法によって生体組織中にヒドロペルオキシドの存在が確認されている。

5 過酸化脂質とタンパク質の反応

過酸化脂質によってタンパク質が修飾をうけると、タンパク質が本来持っていた機能を失い、ひいては細胞や組織の機能の退化をもたらすと考えられる。タンパク質の化学的变化について述べる。

5.1 ラジカル種によるタンパク質の修飾

脂質過酸化反応の初期段階に生じるラジカル、またはヒドロペルオキシドの分解により生成するペルオキシラジカル、アルコキシラジカルはタンパク質にラジカルを生成することが EPR により示された³⁴⁾。過酸化脂質ラジカルがタンパク質中のアミノ酸残基の N や S 原子にラジカルを生成させることによって³⁵⁾、アミノ酸残基の分解が起こったり、タンパク質の橋かけ重合反応が起こったりする³⁴⁾。しかし、これらの分解や重合反応がすべてラジカルに起因して起こっているとの証明もな

Fig.-2 Reaction of TBA with alkenals and alkadienals^{28), 29)}

く、過酸化脂質ラジカルがさらに変化してその分解物が反応した可能性も大きい。

5.2 ヒドロペルオキシドによるタンパク質の修飾

マスキオシン、牛血清アルブミン、ポリリシンなどをリノール酸の過酸化化物と反応すると、橋かけした蛍光性タンパク質を生じる^{6), 36), 37)}。アミノ酸や第一級アミンとの反応においても蛍光性物質を生じる^{6), 36), 37)}。筆者ら³⁸⁾はオレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸を好気条件下、メチルアミンと反応させたところ、不飽和脂肪酸の種類によって蛍光スペクトル及び蛍光特性の異なる蛍光物質がそれぞれ複数個生成するこ

とを認めた。蛍光物質の励起極大波長は360~370 nm、蛍光極大波長は420~440 nmであるが、不飽和脂肪酸の不飽和度が高いほど、極大波長は長くなる。蛍光はアルカリ性で消失する特性がある。

13-ヒドロペルオキシリノール酸をメチルアミンと反応させると、HPLCで分離できる4つの蛍光物質(Fig.-3)が得られる³⁹⁾。これらは励起極大波長360 nm、蛍光極大波長430 nmを示し、アルカリ性水溶液やボロヒドリドの処理で蛍光が消失した。これらの特性はリポフスチンの蛍光特性と類似しているので、このような過酸化脂質のタンパク質修飾反応が生体内で起こっていると考えられる。しかし、蛍光性物質の生成でとらえただけでも、不飽和脂肪酸の種類により生成物が異なり、また一つの不飽和脂肪酸から多種の生成物が生じるなど、ヒドロペルオキシドと第一級アミンまたはタンパク質の反応は簡単ではない。ヒドロペルオキシドは反応中に分解して第一級アミンと反応することが考えられるが、その分解物が蛍光の生成に関与している可能性がある⁴⁰⁾。ホスファチジルエタノールアミンを含むリポソームを酸化すると過酸化化物と第一級アミノ基が反応して膜に蛍光物質を生じる⁴¹⁾。リン脂質の過酸化化物に第一級アミンを反応させるとグリセリン骨格の方に蛍光物質を生じる⁴²⁾。

5.3 マロナルデヒドによるタンパク質の修飾

ヒドロペルオキシドの分解物の一つであるマロナル

Fig.-3 High performance liquid chromatography of the fluorescent substances derived from the reaction 13-OOH-linoleic acid and methylamine³⁹⁾

Fig.-4 Pathway for the formation of fluorescence from malonaldehyde (Tappel's model)^{4,3)}.

デヒドは先に述べた様に微量しか存在しない事が分かってきたが、その化学反応について多くの検討がなされてきた。

Tappel ら^{4,3)} はアミノ酸や第一級アミンとの酸性条件下の反応で 1:1 シッフ塩基 (1) と共に 1:2 蛍光性シッフ塩基 (2) が生成し (Fig.-4), タンパク質と過酸化脂質の反応で生成する蛍光と重合はマロンアルデヒドに起因すると推定した。以来、多くの論文や成書でこの反応が引用され、生体組織に生じるリポフスチンはマロンアルデヒドの関与する反応と考えられてきた。

しかし、精製した 2 の発蛍光性は小さい事が明らかにされた。筆者ら^{6), 3,6), 3,7)} はアミノ酸や第一級アミンとマロンアルデヒドの反応を中性条件で行い、蛍光性物質 1-置換-4-メチル-1, 4-ジヒドロピリジン-3, 5-ジカルバルデヒド (3) が生成することを見いだした。この際他のアルデヒドが共存すると、4 位にアルデヒド由来の置換基が導入した蛍光物質 4 になる。これらの蛍光物質は、励起極大 385~405 nm, 蛍光極大 445~465 nm を発し、そのスペクトルはリポフスチンや過酸化脂質によるタンパク質の修飾体のスペクトルに類似している。しかしながら蛍光の特性を詳細に調べてみると、リポフスチンよりも励起及び蛍光波長がやや長く、リポフスチンの蛍光はアルカリ性で消失するのに対しこれらの物質の蛍光は酸性で消失し、リポフスチンの蛍光は金属キレート剤で消失するのに対しこれらの蛍光は消失しない、など微妙なちがいが見られた。

リボヌクレアーゼ、赤血球膜タンパク質、ヘモグロビン、ポリリシンなどのタンパク質はマロンアルデヒドとの反応によって蛍光性橋かけ体を生成するが、蛍光スペクトルの特性から、蛍光発色団は 3, 橋かけ構造は 2 と推定された (Fig.-5)。なおこの反応においてはタンパク質の ε-アミノ基に構造 1 の修飾も起こっている。修飾タンパク質はボロヒドリドで還元され、NaB³H₄ を用いるとトリチウムの導入が認められる¹⁷⁾。1, 2, 3 の物質は共に還元を受ける。3 は還元を受けると 3 位のアルデヒド基がアルコール基になり、蛍光を失う⁴⁴⁾。

5・4 一価カルボニル化合物によるタンパク質の修飾

Fig.-5 Structures of fluorescent substances derived from malonaldehyde^{6), 3,6), 3,7)}.

ヒドロペルオキシドの分解物であるカルボニル化合物の反応も検討されている。

牛血清アルブミン、赤血球膜タンパク質、ミクロソーム、ポリリシンはアルカナール、アルケナールとの反応により蛍光を発する^{6), 3,6), 3,7)}。また、赤血球膜タンパク質、ヘモグロビン、LDL のアポタンパク質はこれらアルデヒド類によって橋かけ体になる^{6), 3,6), 3,7)}。このようなアルデヒド類の反応は単純なシッフ塩基の生成では説明できず、きわめて複雑な反応を起こしている可能性がある。

ポリリシンをブタナールと反応させると、励起極大 340~360 nm, 蛍光極大 410~430 nm をもつ蛍光性橋かけポリリシンを生成する^{45), 46)}。この反応においてブタナールは 2 分子縮合して 2-エチル-2-ヘキセナールを生成したのち反応するらしい。

メチルアミンをブタナールと反応させると、ブタナールはメチルアミンの触媒作用によって一部 2-エチル-2-ヘキセナールに変換し、シッフ塩基やピリジニウム塩

他に少なくとも3つの蛍光物質を生成する⁴⁷⁾。この他に2分子のメチルアミンを分子内に含む化合物、すなわちポリリシンに橋かけを与える本体、が生じているはずである。蛍光物質や橋かけ本体は不安定であると考えられるのでボロヒドリドで還元して解析すると、蛍光物質の1つは還元をうけて別の蛍光物質5を生成した。この物質の構造は2分子の1-ブタナルが縮合したのち還元をうけたものと考えられるが⁴⁸⁾、分子内に窒素原子を含んでおらず、タンパク質に組み込まれる構造ではないことが分かった (Fig.-6)。

ベンジルアミンをブタナルと反応し、ボロヒドリドで還元したのち HPLC を行うと、多くの蛍光物質、UV 吸収物質の生成が認められた。これらの化合物のうち6と7で示される構造の化合物が単離された (Fig.-7)⁴⁸⁾。これらの化合物の生成にはベンジルアミンとブタナルが Fig.-7 に示す反応をしていることを示唆しており、中間に生成する二価アルデヒドがタンパク質に橋かけを与える本体ではないかと考えられる。

Fig.-6 Structures of fluorescent substances derived from butanal (5) and 12-oxooleic acid (8)⁴⁹⁾.

ベンジルアミンを脂質過酸化物の一つである 12-オキソオレイン酸と反応させると蛍光物質を生成し、その構造は8で示される構造と決定された⁴⁹⁾。

ここに示したマロンアルデヒド以外のカルボニル化合物もタンパク質や第一級アミンと反応して蛍光物質や橋かけ体を与えることが分かり、蛍光スペクトルも励起極大 340~360 nm, 蛍光極大 410~430 nm を示しており、リポフスチンのそれに近い。このような反応も過酸化脂質によるタンパク質の修飾に寄与している可能性が高い。

6 修飾タンパク質の生体内運命

生体内に過酸化脂質が生成すると容易にタンパク質に修飾を起こす。修飾されたタンパク質は蛍光を発するので、このようなタンパク質の検出は組織や細胞の老化の指標と考えることができる。細胞内のタンパク質がこのような修飾をうけると、酵素活性など、タンパク質が有している機能がそなわれ、そのため細胞や組織の機能性退化が起こる可能性がある。

生体にはこれら修飾タンパク質または修飾タンパク質を含有する細胞を排除するシステムがある。種々のアルデヒドで修飾された血清アルブミンはスカベンジャーリセプターを介してマクロファージに貪食される^{50), 51)}。マロンアルデヒドで修飾された LDL^{52), 53)}、脂質過酸化をうけた LDL もまたマクロファージに貪食される。この現象は臨床的に大きな意義がある。すなわち修飾 LDL がマクロファージに取りこまれると、そのなかに含まれるコレステロールと共に血管壁に固定沈着し、動脈

Fig.-7 Reaction products and mechanisms of the reaction of butanal and benzylamine.

硬化病変が始まると考えられている^{5,2)}。過酸化脂質の生成が動脈硬化の一因になっているとする説である。

赤血球も膜脂質に過酸化が起こると、膜タンパク質が修飾をうける。その結果、マクロファージの直接的な貪食がこう進し^{5,4)}、またその表面に自己抗体の結合も起こりやすくなる^{5,5)}。この現象は老化または酸化的損傷をうけた赤血球の排除につながる。

修飾をうけたタンパク質には独特の排除機構があるようである。比較的緩和な酸化的損傷がタンパク質に起こると、タンパク質の変性が起こり、細胞内のタンパク分解系(プロテアーゼ)が働いてタンパク質を分解除去するという説がある^{5,6)}。このシテスムで除去しうる以上の損傷が起こった場合に細胞に傷害が蓄積するのである。このような防御系を、ビタミンEなどの抗酸化剤やスーパーオキシドデスムターゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、カタラーゼなどの抗酸化酵素系に対して、二次的防御機構(Secondary Defense System)といっている。

このように過酸化脂質により生成した修飾タンパク質を排除する系が生体に存在し、修飾をうけた側からみると、修飾体が排除されるにすぎない現象であるが、このとき働く機構が老化性の疾病に関与している可能性がある。動脈硬化に限らず、炎症などいわゆるフリーラジカル病といわれる疾病にも関係ありそうである。

(昭和63年5月6日受理)

文 献

- 1) D. Harman, *J. Gerontol.*, **11**, 298 (1956)
- 2) D. Harman, Free radical theory of aging: current status, in *Lipofuscin-1987: State of the Art* (I. Zs.-Nagy ed), p.3, Akademiai Kiado, Budapest and Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1988.
- 3) H. Sies, 井上訳, “活性酸素と疾患” 学会出版センター東京, (1987), p.281
- 4) H. Esterbauer, Aldehydic products of lipid peroxidation, in *Free Radicals, Lipid Peroxidation and Cancer* (D. H. C. McBrien and T. F. Slater, eds), Academic Press, New York, (1982), p.101
- 5) B. Strehler, D. Mark, A. Mildvan, M. Gee, *J. Gerontol.*, **14**, 430 (1959)
- 6) K. Kikugawa, *Adv. Free Rad. Biol. Med.*, **2**, 389 (1986)
- 7) R. Trombly, A.L. Tappel, J.G. Coniglio, W.M. Grogan, R.K. Rhamy, *Lipids*, **10**, 591 (1975)
- 8) H. Shimasaki, N. Ueta, O.S. Privett, *Lipids*, **15**, 236 (1980)
- 9) K. S. Chio, R. Reiss, B. Fletcher, A. L. Tappel, *Science*, **166**, 1535 (1969)
- 10) C. J. Dillard and A. L. Tappel, *Lipids*, **6**, 715 (1971)
- 11) B. D. Goldstein and E. M. McDonagh, *J. Clin. Invest.*, **57**, 1302 (1976)
- 12) J. F. Koster and R. G. Slee, *Biochim. Biophys. Acta*, **752**, 233 (1983)
- 13) J. F. Koster, R. G. Slee, C. C. M. Rutten-Van Beysterveld, A. Montfoort, *Biochim. Biophys. Acta*, **754**, 238 (1983)
- 14) J. O. Bozas, H. Karel, *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 1387 (1984)
- 15) M. Beppu, K. Murakami, K. Kikugawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 781 (1986)
- 16) J. Schu, G. F. Fairclough, B. H. Haschemeyer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 3173 (1978)
- 17) M. Beppu, K. Murakami, K. Kikugawa, *Biochim. Biophys. Acta*, **897**, 169 (1987)
- 18) R. O. Sinnhuber, T. C. Yu, T. C. Yu, *Food Res.*, **23**, 626 (1958)
- 19) R. P. Bird, H. H. Draper, *Methods in Enzymol.*, **105**, 293 (1984)
- 20) E. N. Frankel, W. E. Neff, *Biochim. Biophys. Acta*, **754**, 264 (1983)
- 21) L. Giloni, M. Takeshita, F. Johnson, C. Iden, A. P. Grollman, *J. Biol. Chem.*, **256**, 8608 (1981)
- 22) T. Hirayama, N. Yamada, M. Nohara, S. Fukui, *J. Sci. Food Agric.*, **35**, 338 (1984)
- 23) A. Iwata, K. Kikugawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 5020 (1987)
- 24) A.S. Csallany, M.D. Guan, J.D. Manwaring, P. B. Addis, *Anal. Biochem.*, **142**, 277 (1984)
- 25) H. Esterbauer, J. Lang, S. Zarravek, T. F. Slater, *Methods in Enzymol.*, **105**, 319 (1984)
- 26) K. Kikugawa, T. Kato, A. Iwata, *Anal. Biochem.*, in press (1988)
- 27) R. Marcuse, L. Johansson, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 387 (1973)
- 28) H. Kosugi, T. Kato, K. Kikugawa, *Anal. Biochem.*, **165**, 456 (1987)
- 29) H. Kosugi, T. Kato, K. Kikugawa, *Lipids*, **23**, in press (1988)
- 30) K. Yoshino, T. Matsuura, M. Sano, S. Saito, I. Tomita, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1694 (1986)
- 31) K. Yamada, J. Terao, S. Matsushita, *Lipids*, **22**, 125 (1987)
- 32) Y. Yamamoto, M. H. Brodsky, J. C. Baker, B. N. Ames, *Anal. Biochem.*, **160**, 7 (1987)
- 33) T. Miyazawa, K. Yasuda, K. Fujimoto, *Anal. Lett.*, **20**, 915 (1987)
- 34) H. W. Gardner, *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 220 (1979)
- 35) K.M. Schaich, M. Karel, *Lipids*, **11**, 392 (1976)
- 36) K. Kikugawa, M. Beppu, *Chem. Phys. Lipids*, **44**, 277 (1987)
- 37) K. Kikugawa, Involvement of lipid oxidation products in the formation of lipofuscin, in *Lipofuscin-1978: State of the Art* (I. Zs.-Nagy ed), Akademiai Kiado Budapest and Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1988) p.51
- 38) K. Kikugawa, S. Watanabe, T. Kurechi, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 638 (1984)
- 39) K. Kikugawa, S. Watanabe, *Lipids*, **23**, 299 (1988)
- 40) T. Iio, K. Yoden, T. Tabata, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 5015 (1987)
- 41) H. Shimasaki, N. Ueta, H. Mowri, K. Inoue, *Bio-*

- chim. Biophys. Acta*, 792, 123 (1984)
- 42) T. Iio, K. Yoden, *Lipids*, 23, 65 (1988)
 - 43) A.L. Tappel, Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation, in *Free Radicals in Biology* (W.A. Pryor ed), Vol.IV, Academic Press, New York, (1980) p.1
 - 44) K. Kikugawa, T. Nakahara, K. Sakurai, *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 4656 (1987)
 - 45) K. Kikugawa, K. Takayanagi, S. Watanabe, *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 5437 (1985)
 - 46) K. Kikugawa, A. Iwata, M. Beppu, *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 685 (1988)
 - 47) K. Kikugawa, A. Sawamura, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, 1156 (1987)
 - 48) K. Kikugawa, T. Kato, A. Iwata, Unpublished results
 - 49) K. Fukuzawa, K. Kishikawa, A. Tokumura, H. Tsukatani, M. Shibuya, *Lipids*, 20, 854 (1985)
 - 50) S. Horiuchi, M. Murakami, K. Takata, Y. Morino, *J. Biol. Chem.*, 261, 4962 (1986)
 - 51) M. Beppu, Y. Fukata, K. Kikugawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 36, in press (1988)
 - 52) A. M. Fogelman, I. Shechter, J. Seager, M. Hokom, J. S. Child, P. A. Edwards, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 77, 2214 (1980)
 - 53) M.E. Haberland, A.M. Fogelman, P.A. Edwards, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 79, 1712 (1982)
 - 54) M. Beppu, H. Ochiai, K. Kikugawa, *Biochim. Biophys. Acta*, 930, 244 (1987)
 - 55) M. Beppu, A. Mizukami, M. Nagoya, K. Kikugawa, Unpublished results
 - 56) K.J.A. Davies, *J. Free Radicals Biol. Med.*, 2, 155 (1986)

国際油脂情報

[INFO 9号 (1988) 吉富和彦]

☆インド、ひまわり新種をテスト栽培

インドはソ連からのヒマワリの改良種 Peredovik を1万ヘクタール作付けする計画である。作付けは10州に及ぶものとみられ、その後数年間にわたる大規模栽培に向けての予備栽培とみられる。

☆インド、ミール輸出規制を緩和

インドは油糧種子ミールの輸出に関する規制を緩和した。7月12日に新しい規制が制定され、コメヌカ、落花生、綿実のミールの輸出が許可された。輸出に先立つ許可証の必要が免ぜられることになった。同様な改訂が大豆ミールについてはなされていた。

☆NCPA のトレーディング・ルール、入手可能に

1988-89年の全米綿実製品協会(NCPA)のトレーディング・ルールが入手可能となっている。本出版物は綿実及びその製品、ひまわり種子、ミール及び油、及び落花生ミールと外皮に対するトレーディング・ルールを記載している。価格は1冊10米ドル。申込先:NCPA, 2400 Poplar Ave., PO Box 12023, Memphis, TN 38182-0023, USA

☆カナダのPOS、増設

カナダのサスカトゥーンにあるPOSパイロットプラント社の第15回年会におけるハイライトは、数十万ドルを投じて増設した設備の開所式である。本年会は9月19~20日に開催される。増設は新実験設備と学習室で、14,520平方フィートである。現在POSの総面積は56,000平方フィートである。