たか菜漬投与で生ずる白ネズミの光過敏症と 血清成分の変動ならびに組織学的変化について

松浦 栄一*, 平野 隆司*, 山田 幸二*,
飯島 直子**, 河原 裕憲**

* 郡山女子大学家政学部食物栄養学科

** 東北歯科大学病理学講座

Serum Composition and Histological Change of Hypersensitized Rats Caused by Salted Takana

Eiichi MATUURA,* Ryuji HIRANO,* Koji YAMADA,*
Naoko IJIMA,** Hironori KAWAHARA**

* *Department of Food and Nutrition, Faculty of the Living Science,
Koriyama Women's College, Koriyama, Fukushima*

** *Department of Pathology, Tohoku Dental University,
Koriyama, Fukushima*

In the present paper, the authors studied changes of the serum composition and histologic features in hypersensitiveness to light of the rats fed on salted takana.

Three groups of rats were fed on casein diet containing 0.5 g, 1.0 g or 1.5 g of salted takana per head, and then these groups were exposed to 20,000 luxes visible light. All of these rats became restless and then showed edema on the neck and the back of body, and finally died within several hours. Mean survival period of each animals were calculated to be 189, 75 or 38 minutes respectively.

These hypersensitiveness were relatively soon released when they ceased to take salted takana. None of these treated rats died at the exposure of light after refeeding on normal casein diet only for two days. Therefore it may be possible that the photodynamic substance in salted takana is not so long time remained in animal body.

In the serum analysis of irradiated rats, albumin fraction was found to be decreased, but potassium concentration and TBA value were shown to be increased significantly, and GOT, GPT and LDH activities were elevated.

In the histopathological examination, exsudative dermatitis, myositis and congestion of organs were observed. Sudden death of these treated rats may be attributed to failure of peripheral circulation.

(Received November 24, 1977)

たか菜漬を投与し照射した場合に起こる過敏症には、照射後急激にショック様症状を呈し、全身に浮腫を生じ短時間に死亡するものと、死はまぬがれるが1週間以内に耳や皮ふの壊死性変化を生ずるものの二つのタイプがあり、その差は光や原因物質の量的な差に関係があると考えられる。これら光過敏症の発現の機序について最近、磯部ら^{1)~3)}はこれを病態生理学的に検討し、致

死原因が溶血による血清カリウム濃度の上昇にもとづく心臓障害にあることを指摘している。著者らも、たか菜漬投与と照射によって起こる致死原因を解明するため、先に赤血球に対する影響について報告し⁴⁾、強い細胞毒性のあることを明らかにした。本研究はたか菜漬粉末の投与濃度と死に至るまでの照射時間の関係、光過敏症原因物質の体内残留の可能性、光過敏症と血清成分、血清酵素活性値との関係および病理組織学的所見について検討した。

* 〒963 郡山市開成 3-25-2

** 〒963 郡山市富田町 31-1

実験方法

1. 試供品

実験には市販のたか菜漬を十分水洗し、塩抜きした後、できるだけ茎の部分を除き、70°Cの熱風乾燥機で乾燥し微粉末としたものを用いた。

2. 光照射装置

前報⁹⁾と同じものを用い光の照射は 20,000 lux とした。

3. 実験動物と飼料

実験動物は体重 100 g 前後のドンリュウ系雄白ネズミを各群5頭用いた。飼料は牛乳カゼイン 20%, 大豆油 5%, 塩混合 4%, ビタミン末 1% に小麦でん粉を加え 100 とした。試験食はこれらの飼料にたか菜漬粉末を添加した。なお、たか菜漬の添加分は小麦でん粉で調整した。

4. 血清成分と酵素活性値の測定

白ネズミに 5% たか菜漬添加飼料を自由に摂取させ、2日間暗室で飼育し、3日目より 20,000 lux の可視光線を1日1時間の割合で2日間にわたって照射した後、断頭採血して血清を分離し、血清たん白分画比は、常光産業KKの電気泳動装置でセルロース、アセテート膜を用い、たん白質を分離しデンストメーターで測定した。

血清中のリンは、Fiske-Subbarow 法⁵⁾、ナトリウム、カリウムは炎光分析法 (Corning 社製)、カルシウムは、Orthocresol phthaleincomplexone 法⁶⁾、塩素は、Schales-Schales 法⁷⁾、マグネシウムは、Magnored 法⁸⁾でそれぞれ測定した。

血清中の過酸化脂質は、八木らの方法⁹⁾で上清区分、沈でん区分の TBA 値で測定した。血清中 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvate transaminase (GPT) 活性値は、Reitman-Frankel 法¹⁰⁾、Alkali-phosphatase (Al-P) 活性値は、Kind-King 法¹¹⁾、Lactic dehydrogenase (LDH) 活性値は、Tetrazolium 法¹²⁾でそれぞれ測定した。酵素活性試薬は、和光純薬KK、シノテスト商事KKのキットを用いた。

実験結果および考察

1. 白ネズミの光過敏症における飼料中のたか菜漬粉末濃度と光照射時間の関係

体重 100 g 前後の白ネズミに1頭当たりたか菜漬粉末 0.5 g, 1.0 g, 1.5 g を 20% カゼイン飼料に混じて総量 10 g として投与し1日量を完全に摂取したことを確認して、翌日の午前8時から照度 20,000 lux の光を照射し死亡するまでの時間を測定した (Table 1)。

たか菜漬 1.5 g 投与群では光照射後、ただちに耳介に発赤を生じ、2~3分後には掻痒によると思われる不穏状

Table 1. Relation between dose and response of rats.

Group	Dose (g/a rat)	Body weight (g)	Death	Survival time
I	0.5	105	+	3° 30'
		95	+	4° 56'
		101	+	2° 52'
		92	+	1° 40'
		100	+	3° 09'
II	1.0	110	+	1° 35'
		101	+	1° 30'
		100	+	1° 14'
		100	+	1° 03'
		110	+	56'
III	1.5	105	+	37'
		102	+	35'
		100	+	34'
		89	+	39'
		112	+	46'

Irradiation dose was 20,000 lux.

態をきたし、しだいに耳介後部から後頭と背部にかけて浮腫が起こり、34分から46分 (平均 38分) ですべて死亡した。1.0 g 投与群では同様の経過で 56分から1時間 35分 (平均 75分) ですべて死亡した。0.5 g 投与群では、1時間 40分から4時間 56分 (平均 189分) ですべて死亡した。すなわち3群の間に差異がみられ、飼料中のたか菜漬の濃度が高くなるほど死亡するまでに要する光照射時間は短縮された。

2. 光過敏症原因物質の作用の減弱について

著者らはたか菜漬投与によって起こる光過敏症は、たか菜漬中のフェオホーバイドaが原因物質であり、この物質はクロロフィルの分解物で脂溶性であることをすでに報告した。さらに今回、原因物質の生体内残留について手がかりを得るため、たか菜漬粉末を5%の割合に混じた飼料を2日間投与して暗所で飼育し、3日目に光照射を行なったもの (Group I) と 20% カゼイン飼料に切り換えて1日 (Group II) および2日 (Group III) 経過した後光照射を行なったものを比較した (Table 2)。

たか菜漬飼料を与えたまま光照射を行なうと白ネズミは、先の実験と同様耳介に発赤を生じて不穏となり、頭・背部に浮腫をきたして2時間 40分から6時間以内にすべて死亡した。これに対したか菜漬を含まない 20%

Table 2. Relation between period from intake and response of rats.

Group	Body weight (g)	Erythema	Death	Survival time
I	121	+	+	3° 20'
	118	+	+	3° 50'
	127	+	+	4° 30'
	121	+	+	2° 40'
	127	+	+	6° 00'
II	137	+	—	7° 10'
	113	+	+	
	127	+	—	
	148	+	—	
	102	+	—	
III	164	—	—	
	139	—	—	
	145	—	—	
	143	—	—	
	136	—	—	

Group I Rats were fed the 20% casein diet containing 5% salted takana for 2 days.

Group II After feeding rats a 20% casein diet containing salted takana for 2 days, animals were fed the 20% casein diet for 1 day.

Group III After feeding rats a 20% casein diet containing 5% salted takana for 2 days, animals were fed the 20% casein diet for 2 days. After feeding rats a 20% casein diet with or without supplementation of 5% salted takana, animals were irradiated under light intensity of 20,000 lux.

カゼイン飼料に切り換えて 24 時間後に光照射を行なった白ネズミでは、全例に同様の皮膚症状と不穏がみられたが、死亡したのは一例のみであった。また、カゼイン飼料に切り換えて 2 日間経過した白ネズミでは、8 時間光照射してもまったく異常がみられなかった。

以上本実験の結果ならびに礪部ら¹³⁾の報告からたか菜漬に含まれる光過敏症の原因物質（フェオホーバイド a）は、脂溶性であるが生体内の残留時間はおそらく短いものと想像された。今後、臓器、組織内のクロロフィル誘導体測定などにより検討を加え確認する予定である。

3. 光過敏症白ネズミの血清中たん白質分画比、電解質、過酸化脂質

5% の割合にたか菜漬粉末を混和した飼料を 2 日間自由摂取させて暗所で飼育した白ネズミに、3 日目および

4 日目に 1 日各 1 時間（午前 8 時から 9 時）光照射し、各群を断頭採血して血清の分析を行なった。なお、同じ条件で飼育し光照射を行なわなかったものを対照群とした。

光照射群は対照群に比し、総たん白濃度の低下とアルブミン分画比の減少（ $p < 0.01$ ）、 α_2 グロブリン分画比の増加（ $p < 0.05$ ）がみられた（Table 3）。A/G 比は、有意とはいえないが低下した。血清電解質を測定した結果は、カリウムのみに光照射群と対照群の間に有意な差がみられ、その他の電解質には差がなかった（Table 4）。

血清カリウムの増加について礪部ら¹³⁾は、赤血球からの溶出が原因であると述べており、致死原因の重要な因子の一つとみなしているが、著者らの実験の範囲ではまだ推論の根拠をもたない。

血清中過酸化脂質を測定した結果、1 日 1 時間の光照射では有意な差はないが、2 日目の照射後には、とくに TCA 沈でん区分の TBA 値が著明に上昇した（Table 5）。たか菜漬より分離した光過敏症原因物質フェオホーバイド a が *in vitro* の実験で不飽和脂肪酸の著明な分解能を有することを考えあわせると、*in vivo* の条件でも血液中脂質の分解を起こし、血清中 TBA 値の上昇が起こったものと考えられ、とくに赤血球膜の損傷などが推定される。また、血清中過酸化脂質の上昇は、心筋梗塞症などの組織障害と関連性があることから、白ネズミの死亡原因に関与することも考えられるが病理組織学的な裏づけは得られなかった。

4. 血清中酵素活性値の変化

5% の割合でたか菜漬粉末を含む飼料を与えて暗所で 2 日間飼育した後、3 日目と 4 日目に 1 日各 1 時間光照射し血清中の GOT、GPT、LDH、Al-P 活性値を測定した（Table 6）。

GOT、GPT、LDH 活性値は、1 回照射で若干増加するが、2 回照射ではいずれも有意に上昇した。Al-P 活性値は、2 回照射で有意な低下がみられた。

光過敏症と血清酵素活性値については、礪部らが報告しており¹³⁾、本実験はそれと同様な結果であった。一般に GOT、GPT 活性値は肝臓や心臓の障害、LDH は骨格筋および皮ふ炎等の障害で上昇するといわれている。礪部ら¹³⁾は、心臓障害が上昇のおもな原因であることを報告しているが、著者らの実験結果からは病理組織学的所見から皮ふ、骨格筋の障害も考慮に入りたい。

Al-P 活性値は一般に肝臓および骨疾患時に増加するといわれている。本実験では低下の傾向がみられたが、その意義については不明であり、なお検討を要する。

5. 病理組織学的変化

たか菜漬投与光照射により皮ふ症状を認めた 15 例と

Table 3. Effects of light on protein fractions in serum of rats fed on the 20% casein diet with supplementation of 5% salted takana.

Group	Light ^{a)}	Total protein (g/dl)	A/G ratio	Albumin	α_1 -Globulin (%)	α_2 -Globulin (%)	β -Globulin (%)	γ -Globulin (%)
I	—	6.1±0.9 ^{b)}	1.45±0.10	58.9±1.4	8.2±0.5	10.6±0.7	15.1±0.7	8.1±0.7
II	+	5.5±0.3	1.02±0.40	49.7±0.1 ^{c)}	9.9±1.0	13.2±1.5 ^{c)}	13.8±1.6	8.0±0.5

^{a)} The irradiation was 2 hr for the intensities of 20,000 lux, ^{b)} standard error of the mean for 5 rats,

^{c)} significantly different from the group I at $p<0.05$.

Table 4. Effect of light on electrolytes in serum of rats fed on the 20% casein diet with supplementation of 5% salted takana.

Group	Light	P	Mg	Cl	Na	K	Ca
		(mg/dl)			(mEq/l)		
I	Non irradiation	12.4±0.4 ^{b)}	2.8±0.1	99.0±0.9	151.0±0.3	6.9±0.2	4.7±0.2
II	Irradiation ^{a)}	11.9±0.1	3.0±0.1	99.0±0.6	145.0±0.8	8.6±0.6 ^{c)}	4.3±0.1

^{a)} The irradiation time was 2 hr for the intensities of 20,000 lux, ^{b)} standard error of the mean for 5 rats,

^{c)} significantly different from the group I at $p<0.01$.

Table 5. Effect of light on TBA value in serum of rats fed on the 20% casein diet with supplementation of 5% salted takana.

Group	Light	Supernatant by the 10% phosphotungstic acid (Absorption at 512 nm)	Precipitate by the 10% phosphotungstic acid (Absorption at 532 nm)
I	Non irradiation	0.031±0.003 ^{c)}	0.184±0.017
II	Irradiation ^{a)}	0.034±0.007	0.175±0.015
III	Irradiation ^{b)}	0.034±0.007	0.265±0.037 ^{d)}

^{a)} The irradiation time was 1 hr for the intensities of 20,000 lux, ^{b)} the irradiation time was 2 hr for the intensities of 20,000 lux, ^{c)} standard error of the mean for 5 rats, ^{d)} significantly different from the group I at $p<0.05$.

Table 6. Effect of light on the enzyme activity in serum of rats on the 20% casein diet with supplementation of 5% salted takana.

Group	Light	GOT (KU)	GPT (KU)	A1-P (U)	LDH (WU)
I	Non irradiation	87.2±4.0 ^{c)}	26.8±0.9	40.0±2.5	620±43
II	Irradiation ^{a)}	107.7±3.0 ^{d)}	34.3±1.5 ^{d)}	33.7±6.7	755±81 ^{d)}
III	Irradiation ^{b)}	270.8±77.3 ^{e)}	62.0±8.2 ^{e)}	23.3±3.5 ^{d)}	1,020±60 ^{d)}

^{a)} The irradiation time was 1 hr for the intensities of 20,000 lux, ^{b)} the irradiation time was 2 hr for the intensities of 20,000 lux, ^{c)} standard error of the mean for 5 rats, ^{d)} significantly different from the group I, at $p<0.001$, ^{e)} significantly different from the group I at $p<0.05$.

認めなかった4例 (Table 1 の各群各3例, Table 2 のI群2例, II, III群各4例) および非照射例2例につき病理組織学的検索を行なった。

1) 皮膚 肉眼的に耳介, 頭, 背部皮膚の発赤, 浮腫を認めた15例に共通する所見は, 真皮, 皮下組織の著明な炎症性水腫であった。

耳介の潰瘍形成は皮膚に発赤を生じて5日間経過後屠殺した4例 (Table 2 のII) にみられ, うち1例は背部にも広範囲の糜爛ないし浅い潰瘍を伴った。いずれも高度の滲出性皮膚炎に, 搔破などの機械的刺激が加わったものと推定された。

2) 骨格筋 皮膚症状を呈した15例中4例に変性・壊死を伴う筋炎が認められた。うち2例には数個の細血管内にPAS染色陽性硝子様血栓の形成をみた。筋線維の変化はいずれも皮膚面に近いほど高度であった。

3) その他の臓器, 組織 皮膚症状を欠いた2例と非照射例を除く17例に中等度以上のうっ血がみられ, とくに短時間死亡例の心, 脳の細小血管に強い傾向があった。

心筋の変化は形態学的には認められず, むしろ急激な末梢循環不全が死因に関与するように思われた。

要 約

市販たか菜漬を粉末にし飼料に混じて白ネズミに投与後可視光線を照射し, その生体におよぼす影響を観察し, 血清成分の変動と病理組織学的変化を検索した。

1) たか菜漬粉末1.5g投与群は光照射時間平均38分で死亡, 1.0g投与群は平均75分, 0.5g投与群は平均189分で死亡した。すなわち飼料中のたか菜漬粉末濃度が高くなるほど死亡までの光照射時間は短縮された。

2) たか菜漬添加飼料を投与後, 1日だけCasein食に切り換えて後光照射した場合は, 頭背部の紅斑・浮腫および不穏状態が観察されるが, 死亡例は5例中1例にとどまった。casein飼料に切り換えて2日間経過した

後光照射した場合は, 皮膚症状・不穏はまったく観察されず死亡例もなかった。これらのことからフェオホーバイドaの生体内残留時間は短いものと想像された。

3) 光照射によって, アルブミン分画比, Al-Pの減少, GOT, GPT, LDH, カリウム, TBA値の有意の増加が認められた。

4) 病理組織学的には, 滲出性皮膚炎および筋炎, 諸臓器, 組織のうっ血を主要所見とし, 急激な末梢循環不全の死因に関与する可能性が示唆された。

本論文をまとめるに当たり終始貴重なご助力をたまわりました北里大学衛生学部教授安斎博先生に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 礒部明彦, 木村修一: 栄養と食糧, 29, 498 (1976)
- 2) 礒部明彦, 加藤純二, 木村修一: 栄養と食糧, 29, 504 (1976)
- 3) 礒部明彦, 佐々木陸郎, 木村修一: 栄養と食糧, 30, 99 (1977)
- 4) 松浦栄一, 青木喜代子, 平野隆司, 山田幸二, 河原裕憲: 栄養と食糧, 30, 307 (1977)
- 5) 坂岸良克: 臨床化学 (臨床検査講座 14), p. 242 (1972), 医歯薬出版
- 6) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, VII-20~26 (1968), 金原出版
- 7) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, VII-33~35 (1968) 金原出版
- 8) 坂岸良克: 臨床化学 (臨床検査講座 14), p. 236 (1972) 医歯薬出版
- 9) 八木国夫, 西垣郁雄, 大浜宏文: ビタミン, 37, 110, (1968)
- 10) Reitman, S. and Frankel, S.: *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56 (1956)
- 11) 奥田 清: 臨床化学II (医化学実験法講座 3B) p. 456 (1973), 中山書店
- 12) Caband, P.G. and Wroblewski, F.: *Am. J. Clin. Pathol.*, 30, 234 (1958)
- 13) 礒部明彦, 木村修一: 栄養と食糧, 29, 226 (1976)

(昭和52年11月24日受理)