生体膜リン脂質に対する環境因子の影響に関する研究[†]

(昭和62年度農芸化学奨励賞受賞)

石 永 正 隆

(広島女子大学家政学部)

生体膜の構造と機能の恒常性は、その細胞の外部環境に適するように維持されている⁽¹⁻³⁾。膜構造の恒常性維持に参与しているのは主としてリン脂質であり、リン脂質は膜内では不均一に分布し、液晶構造、ゲル構造、および逆ミセル構造をとっている。これらの構造はリン脂質の化学的・物理的性質に依存し、これらの性質はリン脂質の極性基の種類と分子種組成によって一義的に決定される^(3,4)。動物の場合、膜リン脂質は食餌脂肪によって修飾を受け、物機能に影響を与えることが知られており、流動性との関連からの研究が多い⁽¹⁻³⁾。しかしながら、動物の膜リン脂質は多価不飽和脂肪酸を多量に含んでいるので、膜はかなり流動性に富んでいるはずである。したがって、*in vitro*での膜機能と流動性についての研究がどれだけ妥当性を持っているか疑問である。むしろ、リン脂質には生体にとって重要なプロスタグランディン類の前駆体であるアラキドン酸が多量にエステル結合しているので、このアラキドン酸の代謝が食餌脂肪によってどのように影響を受けるのかという点が重要であるように思われる。

本総説では、環境因子として温度・食用油脂・化学物質をとりあげ(1)大腸菌を用いた温度によるリン脂質分子種合成の調節機構、(2)食用油脂摂取による「ラット臓器の膜リン脂質の分子種組成および脂肪酸組成の変化」とくにアラキドン酸を中心として「細胞機能の変化」との関係、(3)リン脂質二重膜の物性に対する抗酸化剤の影響、について筆者の研究を中心に解説する。

I. 温度による大腸菌のリン脂質分子種合成の調節

1. リン脂質分子種分布の温度依存性

膜の流動性を支配しているのは脂肪酸組成ではなくリ

ン脂質分子組成である⁽⁵⁾。われわれは、初めてリン脂質分子種組成と生育温度との関係を明らかにした⁽⁵⁾。つまり、生育温度が低下すると1,2-ジ不飽和脂肪酸分子種(U-U)が著しく増大し、逆に生育温度が高くなると1,2-ジ飽和脂肪酸分子種(S-S)が増大した。これは、リン脂質分子種組成の変化により大腸菌の膜流動性の恒常性が維持されていることを示している。次に37°Cで生育している大腸菌を急冷して17°Cにシフトダウンしたときに、どのような分子種が合成されるのかという点を[2-³H]グリセロールを用いるパルスラベル法で調べた(表1)⁽⁶⁾。その結果、生育温度が17°Cになると直ちに、37°Cで生育していた大腸菌は37°Cではなく17°Cの分子種組成を持つホスファチジルエタノールアミン(PE)やホスファチジルグリセロール(PG)を合成することが明らかとなった。このことは、急激な温度変化に対してリン脂質分子種合成系が非常にす速く応答することを示している。

2. リン脂質分子種合成の調節機構

分子種合成の調節機構に関してはグリセロリン酸アシルトランスフェラーゼ(GPATase)を中心に鬼頭によって詳しく論じられている⁽⁵⁾ので、その後の知見を加えて簡単に述べる。

a. グリセロリン酸(GP)のC-1位へのアシル化反応

われわれは、可溶性GPATaseを用いて初めて酵素レベルでGPのC-1位に飽和脂肪酸(SFA)だけではなく不飽和脂肪酸(UFA)もアシル化されることを示した^(5,6)。Greenらも単一に精製した酵素を用いてこれを支持する結果を得ている⁽⁷⁾。また、「C-1位におけるUFA/SFA(U/S)比を決めるのは受容体GPの濃度による」というKm効果⁽⁸⁾をわれわれは可溶性酵素を用いて否定した⁽⁵⁾。GoelzとCronanも*in vivo*, *in vitro*の実験からこれを否定している⁽⁹⁾。つまり、炭素源としてグリセロールを与えると細胞内のGPは2.8mM、グルコースの場合は0.18mMとGP濃度が10倍以上変

[†] Studies on the Effects of Environmental Factors to Phospholipids in Biomembranes. Masataka ISHINAGA (Hiroshima Women's University, Minami-ku, Hiroshima 734)

表 1 37°C から 17°C への温度シフト後のホスファチジルエタノールアミン分子種合成⁽⁵⁾

分 子 種	温度シフト後の時間 (%)		
	0 分	5 分	10 分
1-16 : 1-2-16 : 1	4.2	4.5	5.7
1-18 : 1-2-16 : 1	22.6	19.4	20.8
1-18 : 1-2-18 : 1	21.8	22.3	23.8
1-16 : 0-2-16 : 1	20.5	22.2	20.1
1-16 : 0-2-18 : 1	27.9	28.1	26.7
1-16 : 0-2-16 : 0	3.0	3.5	2.9
S-S	3.0	3.5	2.9
S-U	48.4	50.3	46.8
U-U	48.6	46.2	50.3

化したが、リン脂質の C-1 位の U/S 比は変化しなかった。たとえ *in vitro* の実験から K_m 効果が説明できても⁽⁸⁾, *in vivo* の実験からは K_m 効果を説明しえない⁽⁹⁾。一方, Rock らは, 膜結合酵素を用いて, GP に対する K_m が 90 μM と 700 μM であるような 2 種類の GPATase の存在を示唆している⁽¹⁰⁾。700 μM の K_m を与えるのはミリストイル (14 : 0)-ACP (acyl carrier protein) とパルミトオレイル (16 : 1)-ACP である。これらの脂肪酸は表 1 からわかるように圧倒的に C-2 位を占めている。また, 16 : 1-ACP の場合は生成量は少なく, 合成されたのはほとんどホスファチジン酸 (PA) であった。したがって, 700 μM の K_m を示す酵素は 1-アシル GPATase である可能性が大きい。

われわれは既に示したように, 「GPATase がアシル供与体に対して幅広い特異性と異なる親和性を持つことにより C-1 位のアシル基を決めている」と考えている⁽⁵⁾。つまり, C-1 位に UFA も SFA も取り込まれるが, GPATase 自身の調節機能に主体性を持たせている。もし, GPATase によってではなく存在するアシル供与体濃度によってのみ決定されるとするならば, アシル-ACP または アシル-CoA, あるいは遊離脂肪酸の脂肪酸組成がそのまま PA や 1-アシル GP の脂肪酸組成を反映していなければならないがわれわれの結果⁽⁵⁾も Cronan の結果⁽¹¹⁾も支持していない。*(in vivo)* の場合, thioesterase によるアシル供与体プールの調節機構については不明な点が多い。Rock らは, *in vivo* では炭素数 (C) 14.5 のアシル-ACP の存在を確認しているが, C₁₆ や C₁₈ のアシル-ACP は確認していない。また, 変異株を用いてリン脂質合成系を阻害した場合, C₁₆ のアシル-ACP が蓄積していたが, この場合も C₁₈ は確認されて

図 1 大腸菌の脂質合成系

⇒取り込まれやすい, ⇨取り込まれにくい。() 内はアシルトランスフェラーゼの基質となりうる。

いない。また, いずれの場合も遊離の脂肪酸組成は測定していない⁽¹²⁾。

一方, C-2 位については表 1 にわかるようにほとんど UFA で占められている。おそらく, 1-アシル GPATase は UFA に対してきわめて特異性が高いと思われる。

b. 温度による分子種合成の調節

図 1 からわかるように, リン脂質分子種合成は脂肪酸合成系と PA 合成系の 2 つの段階から成っている。われわれは PA 合成段階に注目した。数種類のアシル供与体の共存下で, 膜に結合している PG 合成系および可溶化した GPATase を用いて *in vitro* で分子種合成を行った (表 2, 表 3)。その結果, 反応温度が低下すると相対的に不飽和脂肪酸ないし, シス-バクセン酸 (18 : 1) をよく取り込むことがわかった^(5,6)。最近, Kesselles らも可溶化酵素を用いてわれわれと同様に GPATase のアシル供与体の取込みに対する温度依存性を明らかにしている⁽¹³⁾。18 : 1-CoA の取込みがパルミチル-CoA (16 : 0-CoA) の取込みに対してかなり低いが, 18 : 1-ACP を用いたならば 18 : 1 の取込みはもっと高くなるものと思われる⁽¹⁰⁾。

さて, 表 2 と表 4 からわかるように, アシル供与体の割合によっても分子種合成が調節されているので, 脂

表 2 膜結合ホスファチジルグリセロール合成系による種々の脂肪酸-CoA よりの
ホスファチジルグリセロール分子種の合成⁽⁵⁾

実験	脂肪酸-CoA (μ M)			温度 ($^{\circ}$ C)	分 子 種 (%)					
	16:0	16:1	18:1		16:1- 16:1	18:1- 16:1	18:1- 18:1	16:0- 16:1	16:0- 18:1	16:0- 16:0
1	30	—	—	37	1	0	0	1	4	94
2	—	—	30		1	3	89	2	5	0
3	15	—	15		0	2	9	5	69	15
4	10	10	10		2	11	10	53	18	6
5	10	10	40		3	23	33	22	18	1
6	10	40	10		8	9	18	59	5	1
7	40	10	10		2	4	4	52	21	17
8	10	10	10	17	15	14	13	40	16	2

表 3 可溶化した *sn*-グリセロール-3-リン酸 アシル
ルトランスフェラーゼによる1-アシルグリセ
ロリン酸分子種の生成に及ぼす温度の影響⁽⁵⁾

温 度 ($^{\circ}$ C)	1-アシルグリセロリン酸分子種 (%)	
	16:0 分子種	18:1 分子種
7	69	31
17	83	17
27	89	11
37	93	7

表 4 可溶化した *sn*-グリセロール-3-リン酸 アシル
ルトランスフェラーゼによる1-アシルグリセ
ロリン酸分子種の生成に及ぼす 16:0-CoA
と 18:1-CoA の割合の影響⁽¹⁵⁾

脂肪酸-CoA (μ M)		1-アシルグリセロリン酸 分子種 (%)	
16:0- CoA	18:1- CoA	16:0 分子種	18:1 分子種
32	8	86	4
20	20	93	7
8	32	62	38

反応は 37 $^{\circ}$ C で行った。

脂肪酸合成系が温度に呼応してリン脂質に取り込まれる脂肪酸を調節することは当然考えられる。脂肪酸合成に対する温度の影響については Okuyama ら^(8,14,15), Mendoza と Cronan^(11,16-18) によって研究がなされている。彼らは、温度によるリン脂質分子種合成の調節部位は GPATase ではなく脂肪酸合成系であるとしている。その根拠として (i) GPATase の温度依存性が小さく、むしろ (ii) *in vivo*, *in vitro* において脂肪酸合成系の温度依存性が大きい^(8,14,18), (iii) *in vivo* でリン脂質の脂肪酸組成も遊離脂肪酸の脂肪酸組成も温度の影響を受けること^(11,16,18), (iv) β -ketoacyl-ACP synthetase II (Enz II) を欠いた変異株は 16:1 から 18:1 を合成でき

表 5 酵素レベルが異なる菌株のリン脂質の脂肪酸組成

菌 株 Synthetase levels*	生育 温度 ($^{\circ}$ C)	脂肪酸 (Weight %)				U/S
		C 14:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	
I = 1; II = 0	30	3.6	41.4	53.9	1.1	1.2
	42	1.8	49.6	47.8	0.8	0.9
I = 10; II = 0	30	0.6	25.8	55.7	17.9	2.8
	42	0.3	33.6	50.3	15.8	1.9
I = 1; II = 1	30	2.0	40.7	29.5	27.8	1.3
	42	4.7	47.7	35.0	12.6	0.9
I = 10; II = 1	30	1.0	23.4	28.3	47.3	3.1
	42	1.1	36.5	34.0	28.4	1.6

文献(19)から抜粋し, U/S を算出した

I ; β -keto-acyl-ACP synthetase I

II ; β -keto-acyl-ACP synthetase II

* 相対的な酵素レベルを示す。

ず^(18,19), かつ、低温で生育した大腸菌には 18:1 が少ない⁽¹⁸⁾ことをあげている。(i) に関してこの Cronan らの実験はない。Okuyama らの場合、確かに GPATase の温度依存性は小さい⁽¹⁴⁾。われわれの場合、*in vivo* と *in vitro* での分子種合成を比較したとき、個々の分子種の割合は異なっているが、U-U 分子種の割合の増加の程度でみれば両者はよく一致している。たとえば、表 1 の *in vivo* の実験では 17 $^{\circ}$ C では 37 $^{\circ}$ C に比して U-U 分子種は 2.0~2.3 倍、表 2 の *in vitro* の場合は 1.9 倍、表 3 の可溶化酵素の場合(この場合は 1-アシル GP) は 2.4 倍であった。

われわれの場合も Okuyama らの場合も 18:1-CoA の取込みが低い⁽¹⁴⁾、18:1-ACP を用いたならば、*in vivo* と同様に 18:1 を含む分子種の割合が増大するだろう。(ii) と (iii) に関して、彼らの実験から脂肪酸合成系に温度依存性があることは明確であるが、*in vitro* の実験系では正常な生育の場合にみられない長鎖の

SFA や UFA が生じている点が問題として残っている^(11,14)。(iv)に関して、Mendoza と Cronan は Enz II (16:1 から 18:1 を合成する酵素)が温度によって調節を受ける部位であるといっている^(18,19)。しかしながら、彼らの実験結果(表 5)からわかるように、Enz II の有無にかかわらずリン脂質中の U/S 比は温度が低くなると高くなっている。これは U-U 分子種が増大したことを示唆している。既に明らかにされているように、膜の流動性は厳密に言えばリン脂質の脂肪酸組成ではなく、分子種組成に依存している⁽⁹⁾。したがって、たとえ 18:1 が増大していなくても全体として低温で U-U 分子種が増大しておればよいのである。それゆえ、18:1 合成の面からみれば Enz II に温度依存性があっても、リン脂質の流動性という点からみれば Enz II の温度依存性は大きくなく、Okuyama が指摘しているように 16:1 合成の前段階に温度依存性があると思われる(図 1)^(8,15)。

以上、現在までの知見を要約すると、脂肪酸合成系の温度依存性は *in vivo*, *in vitro* で確認された。また、PA 合成系の GPATase 反応の温度依存性は *in vitro* で確認され、*in vivo* では外部からの脂肪酸の取り込みによって確認された⁽¹¹⁾。したがって、現段階では脂肪酸合成系と PA 合成系の両方が温度依存性を有し、協調的に作用し合って分子種合成を行い、流動性を維持していると考えたほうがよいと思われる。

ところで、Okuyama らは脂肪酸合成系の hyperresponse 説を提唱している⁽⁶⁾。つまり、大腸菌の生育温度を低下させた場合、脂肪酸の U/S 比はその温度で生育していた大腸菌の脂肪酸のそれよりも高くなるというものである。これに対して、われわれは既に表 1 に示したように生育温度をシフトダウンさせると直ちにその温度で生育している菌と同じ割合の分子種を合成していることを見出した。一方、Garwin と Cronan もリン脂質の脂肪酸組成を調べることによりわれわれと同じ結論を得ている⁽¹⁰⁾。Okuyama らとわれわれとの違いの原因はよ

くわからないが、1 つには分析法の違いによるのかもしれない。

以上、GPATase を中心に分子種合成の調節機構について述べた。その他の GPATase の特徴的な性質としては、膜結合酵素および可溶性酵素の活性がリン脂質分子種によって影響を受けること^(6,20)、可溶性酵素は PG によって著しく活性化されることがわかっている^(6,7)。現在、Bell のグループは本酵素の再構成実験を行っているが⁽²¹⁾、アシル供与体に対する温度依存性の実験が待たれる。

大腸菌におけるリン脂質合成についてはその他いくつかの総説が出ているので参考にされたい^(17,22)。

II. 食用油脂による動物の膜リン脂質の修飾

大腸菌は培地中の脂肪酸を膜リン脂質に取り込む。その結果、膜の物性および機能に変化する⁽²³⁾。同様に動物においても食餌脂肪は容易に膜リン脂質の脂肪酸組成を修飾する。最近、このような膜リン脂質の修飾と膜機能⁽²⁴⁾および細胞機能との関連性が、食餌脂肪と疾患との関係から明らかにされつつある(魚油の項の文献を参照されたい)。食用油脂の構成脂肪酸で毒性を有するものについては最近の総説⁽²⁴⁾を参照されたい。

1. エルカ酸 (C_{22:1}, 413: *cis*-9,10-ドコセン酸)

われわれはなぜナタネ油が雄ラットの心臓に necrosis を生ぜしめるのかを調べるため、エルカ酸そのものに注目し、脂質代謝、とくにリン脂質代謝に対する影響を調べた。実験には雄と雌のラットを用い、心臓および対照として肝臓の脂質を分析した。表 8 に示すような 5 種類の食餌を与え、5 週間後、脱血してから臓器を摘出し、実験に供した。なお、低脂肪食はほとんど油脂を含んでいない。

a. 中性脂質に対する影響

エルカ酸は肝臓のトリグリセリドには蓄積せず、心臓のトリグリセリドに蓄積した^(25,26)。遊離脂肪酸中のエルカ酸は肝臓より心臓に多く蓄積したが、その量は雄・雌

表 6 心臓の遊離脂肪酸中のエルカ酸の割合⁽²⁶⁾

食 餌	遊離脂肪酸 (μg/g 臓器)				心臓の遊離脂肪酸 % (W/W)			
	オ	ス	メ	ス	オ	ス	メ	ス
低 脂 肪 食	37.7 ± 4.5		51.8 ± 11.6					
5% エルカ酸食	60.0 ± 11.2		76.0 ± 11.5		37.0 ± 0.9		50.4 ± 4.5	
20% エルカ酸食	192.9 ± 8.9		174.8 ± 21.3		79.0 ± 1.7		75.8 ± 2.7*	

* 未発表

表 7 肝臓および心臓のリン脂質へのエルカ酸の取込み⁽²⁷⁾ (% W/W))

リン脂質	肝臓 5%エルカ酸食 オス	心臓			
		5%エルカ酸食		20%エルカ酸食	
		オス	メス	オス	メス
スフィンゴミエリン	5.9	14.0	18.5	24.9	26.2
ホスファチジルコリン	—	T	1.0	3.0	4.7
ホスファチジルセリン	—	5.8	5.2	10.2	13.0
ホスファチジルイノシトール	—	—	2.2	2.7	3.9
ホスファチジルエタノールアミン	—	T	T	3.1	4.5
カルジオリピン	T	1.2	3.4	14.0	16.2

表 8 心臓の PC および PE のステアロイル-アラキドノイル分子種の割合に対する食餌脂肪の影響 (%(W/W))

食餌	ステアロイル-アラキドノイル			
	PC		PE	
	オス	メス	オス	メス
低脂肪食	13.9±0.0	15.3±0.9	40.7±1.7	58.5±1.6*
5%エルカ酸食	22.9±1.4	17.8±1.3	44.5±0.7	49.8±0.4*
20%エルカ酸食	33.4±0.4	31.6±1.3	49.8±3.2*	45.5±3.0*
1.5%リノール酸食	33.3±1.6	32.9±1.2	40.4±2.8*	49.2±3.8*
5%ステアリン酸食	15.6±0.8		38.9±0.4*	

* 未発表

共に同程度であった(表 6)。したがって、雄心臓の中性脂質に対するエルカ酸の特徴的な効果というものは観察されなかった。

b. リン脂質の脂肪酸組成に対する影響

個々のリン脂質の脂肪酸組成に対するエルカ酸の影響を調べた(表 7)⁽²⁵⁻²⁷⁾。長鎖モノ不飽和脂肪酸を主要構成脂肪酸とするスフィンゴミエリンにはエルカ酸はよく取り込まれていた。しかし、エルカ酸はカルジオリピン(CL)に蓄積するといわれていたが、5%エルカ酸食では肝臓、心臓共に CL にはわずかに取り込まれたにすぎなかった。むしろ、ホスファチジルセリン(PS)によく取り込まれ、しかも肝臓より心臓のほうが高い割合であった。CL には 20%エルカ酸食で多く取り込まれた。CL と PS への取り込みに関しては雄・雌に共通であった。主要リン脂質であるホスファチジルコリン(PC)とホスファチジルエタノールアミン(PE)へのエルカ酸の取込みは 20%エルカ酸食において観察された。以上のように、各リン脂質へのエルカ酸の取込みに対して雄の心臓における特徴的な現象は観察されなかった。

一方、エルカ酸を多く含むナタネ油をラットに与えたと心臓のミトコンドリアの PC が増大し、かつ、リン脂質の脂肪酸組成が変化する。これによってミトコンドリアの ATPase 活性が影響を受けることから、Innis と Clandinin はミトコンドリアの PC の割合の変化が ne-

crosis と関係があるのではないかとしている^(28,29)。しかしながら、エルカ酸含量の低いナタネ油でも necrosis は生ずるが⁽³⁰⁾、このようなナタネ油投与ではミトコンドリアのリン脂質組成に変化はみられていない⁽²⁸⁾。しかも、彼らは彼らの見出した現象が雄の心臓に特徴であることを示していない。

c. リン脂質分子種組成に対する影響

ラット心筋の膜リン脂質の脂肪酸組成の変化⁽³¹⁾や数種のプロスタグランディン⁽³²⁾は、心筋の収縮性を変化させることが知られている。Guhbiarnason と Hallgrims-son は、ラット心臓の necrosis と膜脂質中のアラキドン酸含量との関係についても言及している⁽³³⁾。膜リン脂質中のアラキドン酸はプロスタグランディン類の前駆体である。ラット心臓においても数種のプロスタグランディンが合成される⁽³⁴⁾。以上のようなことから、アラキドン酸の供給は心臓にとって重要である。そこでアラキドン酸の主要な供給源である PC と PE の分子種組成に対するエルカ酸食の影響を調べた(表 8)。

肝臓では、リノール酸食以外の食餌を与えたとき、ステアリン酸とアラキドン酸から成る PC (18:0/20:4 PC) 分子種が激減した^(25,26)。これは、リノール酸欠の食餌ではアラキドン酸の前駆体であるリノール酸が供給されなかったためである。しかし、心臓では異なっていた。すなわち、5%エルカ酸食では 18:0/20:4 PC の値は低

脂肪食とリノール酸食との中間値を示し、20% エルカ酸食に至ってはリノール酸欠にもかかわらず、リノール酸食と同じ値を示した。ステアリン酸食の場合は低脂肪食と同じ値であった。したがって、雄の場合は雌と異なっており、心臓の 18:0/20:4 PC 代謝がエルカ酸食によって抑制されていることが明らかとなった。一方、PE の場合は 18:0/20:4 PE の代謝が抑制されることはなかった^(25,26)。雌の場合、20% エルカ酸食において、18:0/20:4 PC の蓄積が観察された。以上の結果は、「ナタネ油による心臓の necrosis が雄の心臓において観察され、また、エルカ酸含量が高い場合には雌にも necrosis が観察される」という現象が、18:0/20:4 PC 代謝と密接な関係があることを示唆している。既にみたように、プロスタグランディンは心臓機能にとって重要である。エルカ酸摂取によってプロスタグランディンの基質であるアラキドン酸の供給が抑制されると、すなわち、18:0/20:4 PC からのホスホリパーゼによるアラキドン酸の遊離が抑制されると、心臓に障害が起こることは当然考えられる。どのような機構によって 18:0/20:4 PC 代謝が抑制されているか不明であるが、ウサギの場合、心臓にアラキドン酸を選択的に遊離するホルモン感受性のホスホリパーゼが存在することが知られている⁽³⁵⁾。また、ラットの血管系において、トロンボキサン

やプロスタサイクリン産生(図2)に性差があることも報告されている⁽³⁶⁾。今後、これらとの関連において18:0/20:4 PC 代謝の研究を進めることにより、ナタネ油とラット心臓における necrosis との関係を分子レベルで解明できると考えている。

2. 魚 油

魚油に含まれている ω -3 系の多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の摂取と血栓症抑制の関係について、血小板や動脈壁におけるトロンボキサン A_2 (TXA_2)、プロスタグランディン I_2 (プロスタサイクリン I_2 , PGI_2) (図2) 産生の面から多くの研究がなされている⁽³⁷⁻⁴²⁾。この項では、魚油摂取によるラット血小板リン脂質の修飾と血小板凝集について述べる。

血小板凝集は血栓形成の引き金である。血管内側の内皮細胞がはがされるとコラーゲンが露出し、血小板は粘着し、凝集して顆粒を放出する。その結果、血小板の凝集塊(放出される TXA_2 による)は大きくなり、血栓を形成するようになる。しかし、通常は、血小板の塊が生じて内皮細胞から凝集を阻害する PGI_2 が放出されるので血栓は形成されない。ところが、内皮細胞がはがると PGI_2 の産生能が低下し、 TXA_2 と PGI_2 のバランスは TXA_2 のほうに傾き血栓が形成されるようになる。それゆえ、 PGI_2 のほうにバランスを傾けることによ

図2 動脈壁および血小板におけるアラキドン酸およびエイコサペンタエン酸の代謝経路

図3 コーン油食およびイワシ油食を与えたラット血血小板のトログキサン B_2 生成⁽⁴⁵⁾

●○, コラーゲンによる凝集; ▲△, トロンビンによる凝集, ○△, コーン油食; ●▲, イワシ油食.

て血栓症の発生を抑制できると考えられている⁽³⁷⁾.

a. 血小板凝集と食餌脂肪

ラットに6カ月間、低脂肪食、アマニ油食（高 α -リノレン酸：18：3 (ω -3)）、紅花油食（高 18：2 (ω -6)）およびカカオ脂食（高 SFA）を与え、多血小板血漿（PRP）と洗浄血小板を得た。凝集剤としてコラーゲンをを用い、PRP の凝集能を比較した結果、低脂肪食>アマニ油食≈紅花油食>カカオ脂食の順に PRP の凝集能は低下した（未発表データ）。ところが、洗浄血小板を用いてコラーゲンで凝集させたところ、アマニ油食の場合にのみ凝集能は低下した⁽⁴³⁾。このように血小板凝集に対する食餌脂肪の影響が PRP と洗浄血小板で異なっていた。Nordoy らは、コーン油食や Maxepa（エイコサペンタエン酸；20：5 (ω -3) を多量に含む油脂）を与えたラットの PRP の凝集能はトロンビンや ADP を用いた場合には両者に差はなく、コラーゲンをを用いた場合に、Maxepa 食のラットにおいてわずかに凝集能が低下したことを報告している⁽⁴⁴⁾。われわれの場合、20：5 を 20% 含むイワシ油をラットに 10 日間与えたところ、洗浄血小板のコラーゲンによる凝集はコーン油食を与えたラットに比べて、著しく低下した⁽⁴⁵⁾。以上のことから、血小板機能そのものに対する食餌脂肪の影響を知るため、以後、洗浄血小板を用いて実験を行った。

b. エイコサペンタエン酸による血小板凝集の阻害機構

血小板凝集時におけるリン脂質の役割については、鬼頭と成田によって詳細に述べられているので参照されたい⁽⁴⁶⁾。

イワシ油食を与えたラットの洗浄血小板の凝集はコラーゲンの場合は抑制され、トロンビンの場合は抑制されなかった⁽⁴⁵⁾。ところが、 TXA_2 産生はいずれの凝集剤によっても、コーン油食を与えたラットの洗浄血小板に比して著しく少なかった（図3）。このことは、トロンビン凝集が TXA_2 産生と無関係であることを示している⁽⁴⁵⁾。したがって、トロンビン凝集は TXA_2 の前駆体 20：4 の代謝（リン脂質代謝も含めて）と直接的には関係がないことを暗示している。コラーゲン凝集の場合は、 TXA_2 産生に依存していたので 20：4 代謝（リン脂質代謝も含む）と関係がある。コラーゲン凝集の場合、凝集の lag 期間中に 20：4 でラベルされたリン脂質のなかでホスファチジルイノシトール（PI）が著しく変化し、PC や PE の変化はわずかであった⁽⁴⁵⁾。われわれはコラーゲン凝集の場合、既に知られているように、PI の分解が生じ⁽⁴⁷⁾、20：4 が遊離されて TXA_2 の生成が起こり、その結果としてさらに PC、PE から 20：4 から遊離され、多量の TXA_2 が産生されて凝集が完結すると考えている。最近、Takamura らは、ヒト血小板膜リン脂質の分子種分析の結果このことを明らかにしている⁽⁴⁸⁾。以上のことから、血小板リン脂質中の 20：4 含量の低下、とくに PI における 20：4 の低下がコラーゲンによる凝集能の低下につながっていることが示唆された。

イワシ油やアマニ油を与えたとき、後述するように、PI をはじめ各リン脂質に 20：5 が取り込まれ、20：4 は減少した。このことが、これらの油脂食で血小板凝集能が低下した要因でもある。ヒトでは 20：5 から TXA_2 (TXA_2 と異なり血小板凝集能はない) が生成されるが⁽⁴⁹⁾、ラットでは合成されない⁽⁵¹⁾。しかし、遊離された 20：5 はシクロオキシゲナーゼ反応による 20：4 のエンドペルオキシドへの転換（最終的には TXA_2 生成）を阻害するので^(50,51)、このことも血小板凝集を抑制する要因となっている。

上に述べた2つの点から PI における 20：4 と 20：5 の相対的割合が凝集を支配していることが示唆される。このことは次の実験によって支持された。つまり、10 日間イワシ油食を与えた後にコーン油食に切り換え、血小板 PI の 20：4 および 20：5 の増減と血小板凝集能の回復をみた実験で、20：4 (20：5 の減少) の増加に比例して凝集能は回復した（図4）⁽⁴⁵⁾。

c. 血漿、血小板および動脈における脂質代謝

ラットに ω -3 の PUFA を含む食餌を与えると血漿の

図 4 血小板凝集能とホスファチジルイノシトール中のアラキドン酸含量およびエイコサペンタエン酸含量との関係⁽⁴⁵⁾

●, アラキドン酸; ○, エイコサペンタエン酸
 トリアシルグリセロール (TG) は減少し⁽⁴¹⁾, 血小板や動脈のリン脂質組成や含量はほとんど変化しない⁽⁵²⁾. 10 日間イワシ油食, あるいはコーン油食を与えたラットにおいて, 血漿中の遊離脂肪酸と TG の脂肪酸組成は似かよっていた⁽⁵³⁾. イワシ油食を与えたラット血漿の PC, PE には 20:5 や 20:6 (ω -3) (ドコサヘキサエン酸) が蓄積し, コーン油食を与えた場合には 18:2 と 20:4 が蓄積した. イワシ油食からコーン油食に切り換えると, 血漿の全脂質中の 20:5 が短時間のうちに著しく減少し, 逆に 18:2 が増大した. 20:4 は 1 日の lag 期間を経て徐々に増大した⁽⁵³⁾.

血小板および動脈のリン脂質への 20:5 の取込みは, 食餌期間や食餌中の 20:5 の含量に依存している. 18:3 (ω -3) を含むアマニ油食を 6 カ月間与えても, 血小板リン脂質の 20:5 はイワシ油食を 10 日間与えたときの 1/2 から 1/3 量しか蓄積しなかった⁽⁴³⁾. 血小板 PC には 16:0 が 60% 近く存在し, どんな種類の油脂を与えてもこの値はほとんど変化しない. ヒト血小板 PC ではこ

図 5 イワシ油食からコーン油食に切り換えたときの血小板と動脈のリン脂質の脂肪酸組成の変化⁽⁵⁴⁾

—, 血小板; ----, 動脈; ●, アラキドン酸; ○, エイコサペンタエン酸; ▲, リノール酸.

の現象はみられない⁽⁵⁴⁾. イワシ油食を 10 日間与えた場合, 20:5 は動脈 PS を除いた血小板や動脈のリン脂質に約 10% 以上蓄積した. コーン油食を与えた場合, 血小板リン脂質より血漿リン脂質に 18:2 は多く蓄積していた. PI では 18:0 と 20:4 あるいは 20:5 が主要な脂肪酸であった. 一方, 動脈 PS では他のリン脂質に比べて 20:4 や 20:5 が著しく低かった. C_{22} の PUFA についてみると, 血漿の PE や動脈の PS には 22:6 が多く 22:5 は少ない, 血小板では逆に 22:5 が多く 22:6 は少なかった⁽⁵³⁾. イワシ油食を与えたときの各リン脂質における 20:5/20:4 の値を表 9 に示す.

表 9 イワシ油を与えたラットの血小板および動脈のリン脂質中のアラキドン酸とエイコサペンタエン酸の割合⁽⁵²⁾

	ホスファチジルコリン		ホスファチジルエタノールアミン		ホスファチジルセリン		ホスファチジルイノシトール	
	Pl.	Ao.	Pl.	Ao.	Pl.	Ao.	Pl.	Ao.
20:4	1.7	11.1	14.3	15.7	10.6	7.0	21.4	29.0
20:5	8.5	12.7	26.9	11.6	11.8	3.0	19.3	9.4
20:5/20:4	5.0	1.1	1.9	0.7	1.1	0.4	0.9	0.3

Pl., 血小板; Ao., 動脈.

すべてのリン脂質において、血小板のほうが動脈より 3～5 倍高かった。このことは TXA_2 と PGI_2 のバランスが PGI_2 のほうに傾きやすいことを示し、イワシ油等魚油を摂取したときに血栓症が生じにくいことを裏づけている。

イワシ油食からコーン油食への切り換えた後の血小板および動脈の各リン脂質中の主要脂肪酸の変化を図 5 に示した。血小板リン脂質では素早い 20:5 の減少がみられた。20:4 の増大はリン脂質間で異なっており、18:2 の取込みは PI においてのみ観察されなかった。また、動脈リン脂質では、20:5 の減少はあっても 20:4 の増大は 4 日間の間にはみられなかった。血小板の PE, PS および PI の 20:5 は血漿中の遊離脂肪酸の 20:4 と置換していると考えられる。一方、血小板 PC の脂肪酸の変化は血漿 PC の脂肪酸の変化と類似していたので⁽⁵⁸⁾、おそらく、血小板と血漿の間で PC の変換反応が生じていると考えられる^(55,56)。動脈の場合、20:5 の減少は観察されたが、20:4 の増大はほとんどみられなかった。これは、血漿からの 18:2 の取込みはあっても 20:4 の取込みは起こりにくいことを示しており、前述した 10 日間イワシ油食を与えたときのリン脂質中の 20:5/20:4 値が血小板で動脈の場合の 3～5 倍高かったことを裏づけている。

一方、Iritani らは、イワシ油食から低脂肪食に切り換えると、ラット血小板のリン脂質の ω -3 系脂肪酸は速やかに消失するが、20:4 は消失しにくいことを報告している⁽⁵²⁾。われわれの実験でも、6 カ月間低脂肪食を与えても血小板リン脂質にはかなりの量の 20:4 が保持されており、コラーゲンによる凝集はコントロール食（紅花油食）の場合と同じであった。このように、18:2 や 20:4 の供給がないときは 20:4 の消失が遅く、しかも、かなりの量が保持されていることは 20:4 の量を保持する特別の機構が存在していることを示唆している⁽⁵⁷⁾。

以上、エルカ酸や魚油を与える実験で、リン脂質中のアラキドン酸代謝の変化が細胞機能に重要な変化を引き起こすことを明らかにした。

III. 合成抗酸化剤のリン脂質二重層の物性に対する影響

合成抗酸化剤の BHT, BHA, 没食子酸プロピルなどは食品添加物として主に油脂食品に含まれている。これ

らの抗酸化剤は抗酸化作用以外に微生物の生育を阻止する作用⁽⁵⁸⁻⁶⁰⁾や発ガンの促進作用の抑制効果も合わせて持っている。しかし、これらの作用が抗酸化機構と関係があるのかはっきりとした証明はない。一方、多量摂取では種々の疾患を生ずる。

これまで、天然抗酸化剤 α -トコフェロールと膜との相互作用についてはよく調べられている。 α -トコフェロールはゲル状態の二重層に入り込み、炭化水素側鎖の運動性を高め、相転移温度 (T_m) を低下させる⁽⁶¹⁾。 α -トコフェロールのフィニル側鎖と PUFA との相互作用は膜の安定性をもたらす⁽⁶²⁻⁶⁴⁾。 α -トコフェロールの場合もコレステロールの場合と同様にその濃度を増大させると約 30 mol% で PC の転移ピークを消失させてしまう⁽⁶⁵⁾。一方、BHT は α -トコフェロールと同様に、二重層の炭化水素側鎖の運動性を高め、 T_m を低下させる⁽⁶⁶⁾。われわれは、BHA や BHT と異なり、水にも溶ける両親媒性の化合物、没食子酸プロピル (PrG) を用い、大腸菌リン脂質および合成リン脂質二重層の物性に対する影響を示差走査熱量計 (DSC) で調べた。

1. 大腸菌リン脂質の二重層に対する影響⁽⁶⁷⁾

大腸菌より得たリン脂質 (PE: 77.2%, PG: 15.4%, CL: 6.9%, リゾ PE: 0.3%, PA: 0.2%) を DSC で調べると、9°C と 25°C に転移ピークが得られた。文献によって T_m が異なるが、これは脂肪酸組成が異なることと精製リン脂質を用いたかどうかによる。20 mol% PrG の添加で低いほうの転移ピークは著しくブロードになり、50 mol% では消失してしまった。高いほうの転移ピークも低温側にシフトした。これは、低い T_m を示すリン脂質分子種と PrG が強く相互作用することを示している。PrG によって大腸菌の生育は阻止されるが⁽⁶⁷⁾、このような膜の物性の変化もこの抗菌作用の要因と考えられる。

2. ジバルミトイルレシチン (DPPC) の二重層に対する影響⁽⁶⁸⁾

DPPC は、低温に長時間保っておかないときは 33°C に前転移、約 41°C に主転移の相転移ピークを持つ。PrG の濃度が増大するにつれて DPPC の主転移は 41.5°C から徐々に低下し、26°C に収れんした (図 6)。没食子酸だけを加えてもピークの形は変わらず、2°C 低下したにすぎなかった。PrG の濃度が高すぎるが、PrG は水に 350 mg/100 ml (at 25°C) の割合で溶けるので、DPPC と相互作用している濃度は低いと考えられる。

図 6 ジバシリンと没食子酸プロピルの混合物の DSC プロファイル⁽⁶⁸⁾
没食子酸プロピルの mol% : a) 0, b) 4, c) 12, d) 18, e) 31, f) 48, g) 73, h) 79, i) 100.

Sturtevant の実験からもわかるように、水にも溶ける物質を用いた DSC 測定では、その効果が現れるにはリン脂質の濃度に対してかなり高い濃度が要求される⁽⁶⁹⁾。(DSC 測定の限界ないし欠点である)。図から明らかに、相転移ピークや半値幅 ($\Delta T_{1/2}$: 協同性の指標となる) は 20~30 mol% PrG まではブロードになったが、さらに濃度を増していくと転移ピークはシャープになり、 $\Delta T_{1/2}$ も小さくなった。これと平行して、相転移のエンタルピー変化 (ΔH) もいったん減少した後、増大し DPPC 単独の場合より 1.5 倍高い値を示した。このような効果は没食子酸では得られなかったが、没食子酸のメチルおよびエチル誘導体でも得られた。ただ、ブチル誘導体になると、非対称的なブロードな転移ピークを呈した。したがって、 ΔH の増大と協同性の増加には

非常に短いアシル基を有する没食子酸誘導体が必要であると考えられる。以上のような現象は、コレステロールやトコフェロールの場合と全く異なっている。これはコレステロールやトコフェロールがリン脂質二重層のなかに存在しているためであり、一方、PrG の場合は二重層の極性近傍に存在していると考えられるからである。

DPPC を長時間 2°C 以下に保存しておくと L β' より、より秩序性の高い結晶構造である Lc 層が出現することが知られている^(70,71)。20 mol% まではこの Lc 層は観察されたが、50 mol% 以上の濃度ではこの Lc 層は消失した。このことは、20 mol% PrG までは PrG と相互作用していない DPPC 領域が存在し、50 mol% 以上ではすべての DPPC が PrG と相互作用を起こしていることを示している。

DMPC や DPPC は脂肪酸 (FA) や長鎖アルコール (FA-OH) と 1:1 ないし 1:4 の複合体を形成し、その結果、炭化水素側鎖の協同性は著しく増大する⁽⁷²⁻⁷⁴⁾。この場合、複合体の T_m は DMPC および DPPC 単独の T_m より高温側にシフトする⁽⁷²⁻⁷⁴⁾。FA や FA-OH のカルボキシル基やヒドロキシル基が PC の極性基と水素結合を形成し、かつ、炭化水素側鎖が二重層内に埋め込まれている。その結果、二重層内において炭化水素側鎖間の相互作用が強くなり協同性が増大したのである。一般に、同一極性基を持つリン脂質では ΔH の増大は T_m の増大をもたらす。これは当然のことであるが、同一炭化水素側鎖を有していても極性基が異なると ΔH の増大と T_m の増大は一致しない。DMPE と DMPS の場合がその例である⁽⁷⁵⁾。したがって、DPPC に対する PrG の作用に対して (T_m を低下させるが ΔH を増大させることに対して) 次のように考えている。PrG のプロピル基は二重層に浅く入り込み、没食子酸部分の 3 個の OH 基は PC の極性基と水素結合し、複合体を形成していると思われる (ただし、両者の定量的関係は不明である)。この複合体が 26°C に T_m を持ち、bulky な極性基を有しているゆえに大きい ΔH を持っていると考えている。このような複合体を考えることにより、図 6 の DSC プロファイルを説明できる。つまり、20~30 mol% PrG までは DPPC の Lc 層が観察されるので非常に低い濃度の複合体と DPPC が共存し、複合体が DPPC-DPPC 間の相互作用を弱めている。30 mol% 以上になると DPPC 領域は小さくなり、複合体の領域が大きくなり、50 mol% では Lc 層は観察されな

いので, DPPC はすべて複合体を形成しているとみなせる。

DSC では系全体の大きな変化しか追うことができない。今後の課題として NMR やスピニング法を用いて局在化した部分での相互作用を解明しなければならない。いずれにしろ、初めて明らかにされた上記の事実はフェノール系抗酸化剤と生体膜との相互作用を考えるうえで重要な示唆を与えるものである。現在, PrG と種々のリン脂質との相互作用について興味ある現象を見出しているがそれについては別の機会にゆずりたい。

以上、3つの観点からリン脂質の研究を進めてきた。しかし、ここに得られた成果は完結したものではなく、さらに多くの研究が必要であることはいうまでもない。

本研究の遂行にあたり、終始御指導御鞭撻いただきました京都大学食糧科学研究所教授鬼頭誠先生に心から感謝いたします。西原正照博士、成田宏史博士をはじめとする共同研究者の方々に厚く感謝します。また、研究の進展を御支援下さいました広島女子大学の近藤義和教授はじめ食物栄養学科の方々に厚くお礼申し上げます。

- (1) A. S. Spensor and M. A. Yorek : *J. Lipid Res.*, **26**, 1015 (1985).
- (2) F. A. Kummerow, G. Benga and R. P. Holmes: "Biomembranes and cell function," N. Y. Academy of Science, New York, 1983.
- (3) C. D. Stubbs and A. D. Smith : *Biochim. Biophys. Acta*, **779**, 89 (1984).
- (4) A. J. Verkleij : *Biochim. Biophys. Acta*, **779**, 43 (1984).
- (5) 鬼頭 誠 : 生化学, **49**, 1301 (1977).
- (6) M. Kito, M. Ishinaga and M. Nishihara : *Biochim. Biophys. Acta*, **529**, 237 (1978).
- (7) P. R. Green, A. H. Merrill, Jr. and R. M. Bell : *J. Biol. Chem.*, **256**, 11151 (1981).
- (8) 奥山治美 : 生化学, **56**, 1234 (1984).
- (9) S. E. Goelz and J. E. Cronan, Jr. : *J. Bacteriol.*, **144**, 462 (1980).
- (10) C. O. Rock, S. E. Goelz and J. E. Cronan, Jr. : *J. Biol. Chem.*, **256**, 736 (1981).
- (11) J. E. Cronan, Jr. : *J. Biol. Chem.*, **250**, 7074 (1975).
- (12) C. O. Rock and S. Jackowski : *J. Biol. Chem.*, **257**, 10759 (1982).
- (13) J. M. M. Kessels, H. Ousen and H. van den Bosch : *Eur. J. Biochem.*, **138**, 543 (1984).
- (14) H. Okuyama, K. Yamada, Y. Kameyama, H. Ikezawa, Y. Akamatsu and S. Nojima : *Biochemistry*, **16**, 2668 (1977).
- (15) Y. Oh-hashishashi and H. Okuyama : *Biochim. Biophys. Acta*, **876**, 146 (1986).
- (16) J. L. Garwin and J. E. Cronan, Jr. : *J. Bacteriol.*, **141**, 1457 (1980).
- (17) J. E. Cronan, Jr. : *Ann. Rev. Biochem.*, **47**, 163 (1978).
- (18) D. de Mendoza and J. E. Cronan, Jr. : *TIBS*, **8**, 49 (1983).
- (19) D. de Mendoza, A. Klages and J. E. Cronan, Jr. : *J. Biol. Chem.*, **258**, 2098 (1983).
- (20) M. Ishinaga : *J. Biochem.*, **99**, 303 (1986).
- (21) M. A. Scheideler and R. M. Bell : *J. Biol. Chem.*, **261**, 10990 (1986).
- (22) 太田明徳 : 農化, **61**, 175 (1987).
- (23) J. J. Baldassare, G. M. Brenkle, M. Hoffman and D. F. Silbert : *J. Biol. Chem.*, **252**, 8797 (1977).
- (24) G. A. Dhopeswarkar : "Prog. Lipid Res.," Vol. 19, ed. by R. T. Holman, Pergamon Press, Oxford, 1980, p. 107.
- (25) S. Yasuda, Y. Kitagawa, E. Sugimoto and M. Kito : *J. Biochem.*, **87**, 1511 (1980).
- (26) M. Ishinaga, J. Sato, Y. Kitagawa, E. Sugimoto and M. Kito : *J. Biochem.*, **92**, 253 (1982).
- (27) J. Sato, M. Ishinaga and M. Kito : *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 887 (1983).
- (28) S. M. Innis and M. T. Clandinin : *Biochem. J.*, **198**, 231 (1981).
- (29) M. T. Clandinin, C. J. Field, K. Hargreaves, L. Morson and E. Zsigmond : *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **63**, 546 (1985).
- (30) F. D. Sauer and J. K. G. Kramer : "Advances in Nutritional Research," Vol. 3, ed. by H. H. Draper, Plenum Press, New York, 1980, p. 207.
- (31) J. S. Charnock, W. F. Dryden, E. J. McMurchie, M. Y. Abeywardena and G. R. Russel : *Comp. Biochem. Physiol.*, **75 B**, 47 (1983).
- (32) M. Karmazyn, C. K. Leung and N. S. Dhalala : *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **57**, 1275 (1979).
- (33) S. Gudbjarnason and J. Hallgrímsson : *Acta Med. Scand. Suppl.*, (587), 17 (1975).
- (34) E. A. M. De Decker, D. H. Nugteren and F. Ten Hoor : *Nature*, **268**, 160 (1977).
- (35) W. Hsueh and P. Needleman : *Lipids*, **14**, 236 (1979).
- (36) E. Giani, I. Masai, C. Colombo and C. Galli : *Prostaglandins*, **28**, 573 (1984).
- (37) J. Dyerberg : *Nutr. Rev.*, **44**, 125 (1986).
- (38) A. P. Simopoulos : *J. Nutr.*, **116**, 2350 (1986).

- (39) W. E. M. Lands : *Nutr. Rev.*, **44**, 189 (1986).
(40) A. L. Willis : *Nutr. Rev.*, **39**, 289 (1981).
(41) P. M. Herold and J. E. Kinsella : *Am. J. Clin. Nutr.*, **43**, 566 (1986).
(42) 田村 泰, 平井愛山, 寺野 隆, 吉田 尚, 熊谷朗 : 炎症, **15**, 379 (1985).
(43) M. Ishinaga, M. Kakuta, H. Narita and M. Kito : *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 903 (1983).
(44) A. Nordoy, E. Davenas, Ciavatti and S. Renaud : *Biochim. Biophys. Acta*, **835**, 491 (1985).
(45) M. Kito, H. Narita, M. Ishinaga, H.-J. Park and H. Takamura : *J. Biochem.*, **97**, 765 (1985).
(46) 鬼頭 誠, 成田宏史 : 細胞工学, 別冊 1 : 第 7 回 ABC シンポジウム「細胞と分子レベルにおける生体認識」, 1986, p.3.
(47) 竹縄忠臣 : 生化学, **57**, 1 (1985).
(48) H. Takamura, H. Narita, H.-J. Park, K. Tanaka, T. Matsuura and M. Kito : *J. Biol. Chem.*, **262**, 2262 (1987).
(49) S. Fischer and P. C. Weder : *Nature*, **307**, 165 (1984).
(50) G. Hornstra, E. Christ-Hazelhof, E. Hadde-man, F. ten Hoor and D. H. Nugteren : *Prostaglandins*, **21**, 727 (1981).
(51) I. Morita, Y. Sato, W. C. Chang and S. Murota : *Lipids*, **18**, 42 (1983).
(52) N. Iritani and R. Narita : *Biochim. Biophys. Acta*, **793**, 441 (1984).
(53) M. Ishinaga, H. Takamura, H. Narita and M. Kito : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 2741 (1985).
(54) A. A. Ahmed and B. J. Holub : *Lipids*, **19**, 617 (1984).
(55) J. H. Joist, G. Dolezel, J. V. Lloyd and J. F. Mustard : *Blood*, **48**, 199 (1976).
(56) G. Bereziat, J. Chambaz, G. Trugnan, D. Pepin and J. Polonovski : *J. Lipid Res.*, **19**, 495 (1978).
(57) *Nutr. Rev.*, **44**, 213 (1986).
(58) A. L. Branen, P. M. Davidson and B. Katz : *Food Tech.*, **34**, 42 (1980).
(59) C. C. S. Lin and D. Y. C. Fang : *J. Food Sci.*, **48**, 576 (1983).
(60) E. Rio-Munõz and P. M. Davidson : *J. Food Sci.*, **48**, 1284 (1983).
(61) S. R. Wassal, J. L. Thewalt, L. Wong, H. Gorrisen and R. J. Cushley : *Biochemistry*, **25**, 319 (1986).
(62) K. Fukuzawa, H. Chida and A. Suzuki : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **26**, 427 (1980).
(63) J. A. Lucy : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **203**, 4 (1972).
(64) A. L. Tappel : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **355**, 18 (1980).
(65) J. B. Massey, H. S. She and H. J. Pownall : *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **106**, 842 (1982).
(66) M. Singer and J. Wan : *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 2259 (1977).
(67) M. Ishinaga, K. Mukai, N. Suemune and m. Asai : *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 483 (1987).
(68) M. ishinaaga, Y. Okita and A. Ito : *J. Biochem.*, **100**, 1663 (1986).
(69) J. M. Sturtevant : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **79**, 3963 (1982).
(70) M. J. Rucocco and G. G. Shipley : *Biochim. Biophys. Acta*, **691**, 309 (1982).
(71) S. C. Chem, J. M. Startevent and B. J. Gaf-fney : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **77**, 5060 (1980).
(72) S. Marbrey and J. M. Sturtevant : *Biochim. Biophys. Acta*, **486**, 444 (1977).
(73) S. E. Schullerg, T. A. Seder, D. A. Weinstein and D. A. Bryant : *Biochemistry*, **20**, 6818 (1981).
(74) H. L. Kantor and J. H. Prestegard : *Biochemistry*, **17**, 3592 (1978).
(75) J. M. Boggs : *Can. J. Biochem.*, **58**, 755 (1980).