総 説

大麦若葉青汁粉末の生理機能性物質

萩原義秀*・萩原秀昭**・上山英夫***

Physiologically active substances in young green barley leaf extract

Yoshihide HAGIWARA*, Hideaki HAGIWARA** and Hideo UYAMA***

*Hagiwara Institute of Health, 1173 Maruyama, Asazuma-cho, Kasai 679-0105, Japan ; Department of Environmental Toxicology, University of California, Davis, California 95616, USA

** Hagiwara Institute of Health, 1173 Maruyama, Asazuma-cho, Kasai 679-0105, Japan

*** Hagiwara Institute of Health, 1173 Maruyama, Asazuma-cho, Kasai 679-0105, Japan ; Food and Drug Laboratory, Japan Pharmaceutical Development Co., Ltd, 1-26, 1-chome, Mitsuya Minami, Yodogawa-ku, Osaka 530-0035, Japan

はじめに

一般に植物の新鮮な若葉青汁中にはその成長を支える各種の生理活性物質が含まれており、それらは人間の健康にも役立つ可能性があると考えられるが、残念ながらそれらについてはまだ十分には解明されていない。本稿では大麦 (*Hordeum vulgare* L. var. *nudum* Hook) の若葉青汁をとりあげ、その中に含まれる抗酸化物質をはじめとする各種の生理機能性物質に関する研究の現状、今後の展望などにつき、著者らの研究成果を中心に他の研究グループの成果も含めて述べる。

人間の健康維持・増進に対する緑黄色野菜の摂取の重要性は十分認識され、特に生野菜の形で有用性は古くから知られていた。植物の細胞には細胞壁があり、十分に噛み砕き、細胞壁を壊さない限りその中に含まれている栄養素は吸収され難い。しかし生鮮野菜の搾汁液である青汁は細胞壁を破碎して繊維分を除き野菜中の各種成分を消化吸収性のよい形として取り出したものであり、タンパク質、炭水化物、各種のビタミン、ミネラル、ク

ロロフィル、酵素などを含有する。この青汁の摂取は栄養学的に優れた方法であるが、多くの緑葉植物の搾汁液である青汁は保存性、嗜好性に問題がある。この青汁特有の問題を解決するために、刺激性が少なく、しかも有用成分を十分含有し、定常的に大量供給できる植物を探索して人間の主食のひとつに位置づけられている大麦の若葉 (若葉の草丈: 20~30 cm) を選択した。更に大麦若葉青汁の保存性を改良するために、青汁を噴霧乾燥時に、乾燥粉末の表面温度を 45℃ 以下、数秒以内の条件により乾燥し、また凍結乾燥を行うことによりほぼ生鮮野菜に近い状態を保持した摂取し易い青汁粉末を開発した¹⁾。

以下に大麦若葉青汁粉末中に確認された主たる成分の機能について述べる。

1. 2'-O-グリコシルイソビテキシン^{22)50)52)~55)}

最近、植物は抗酸化物質、抗変異原性物質、抗ガン性物質などの生物学的活性物質の宝庫として注目されている。一方、今世紀始め以降、食品の保存に用いられてき

* 萩原健康科学研究所; カリフォルニア大学デービス校環境毒性学部 (〒679-0105 兵庫県加西市朝妻町丸山 1173; Davis, California 95616, USA)

** 萩原健康科学研究所 (〒679-0105 兵庫県加西市朝妻町丸山 1173)

*** 萩原健康科学研究所; 現在、日本薬品開発株式会社薬食総合研究所、(〒679-0105 兵庫県加西市朝妻町丸山 1173; 〒532-0035 大阪市淀川区三津屋南 1-1-26)

た BHA および BHT のような合成抗酸化剤はその毒性等のために制限され始め²⁾³⁾、植物由来の抗酸化物質の重要性が増してきた。

大麦若葉青汁粉末は、抗炎症作用⁴⁾、抗潰瘍作用⁵⁾、抗高コレステロール血症作用⁶⁾、変異原物質の消去作用⁷⁾⁸⁾、血糖降下作用⁹⁾、抗血栓作用及び血管保護作用¹⁰⁾¹¹⁾、脳神経細胞障害に対する保護作用¹²⁾などを有することを我々は発見し、証明してきたが、これらの作用の一部は大麦若葉青汁粉末が示す抗酸化作用により説明される。この観点より大麦若葉青汁粉末に含有される抗酸化物質の探索を行い、抗酸化活性を有する各種のフラボノイドを分離した。

フラボノイドは植物に広く分布する植物色素であり、フェノール性水酸基をもち、植物中に配糖体またはそのアグリコンとして含まれている。その数は4000種にも達する¹³⁾。フラボノイドは植物の表皮細胞に比較的多量に含まれており、植物の紫外線損傷からの防御、各種の活性酸素種の消去に関与している。更に食物として摂取されたフラボノイドはその一部が生体に取り込まれ、生体内で抗酸化作用をはじめとする様々な反応に関与し、生体のホメオスタシスの維持にも一部貢献していると考えられている^{14)~17)}。

フラボノイドのうちフラボン、イソフラボン、カテキン類、フラボノールおよびアントシアニンは植物体に多量に含まれ、また広く分布しており、この他にもカルコン、フラバノン、ジヒドロフラボノール、ネオフラボノイド、オーロンなどがある。

現在、植物由来の抗酸化物質として研究の対象とされているフラボノイドとしてはイソビテキシン、ビテキシン、アピゲニンのようなフラボン、ケルセチン、ルチンのようなフラボノール、カテキン、アントシアニン、イソフラボンなどがあり、またそれらは各種の生理機能を有することが報告されている^{13)17)~21)}。

このような研究の一環として、大麦若葉青汁粉末には多くのフラボノイドが含まれているが、そのひとつとして2"-O-グリコシルイソビテキシンを単離し、顕著な抗酸化作用を有することを明らかにした。

大麦若葉の発芽後2週間で収穫して得た大麦若葉青汁粉末より淡黄色結晶の物質を分離し、紫外線吸収スペクトル、FAB-MS、¹H NMR および¹³C NMR の測定結果より Fig. 1 に示す構造の2"-O-グリコシルイソビテキシン (2"-O-GIV) であると推定した²²⁾。2"-O-GIV は *Oxalis acetosella* L.²³⁾、*Siphonoglossa buchii*²⁴⁾、*Siphonoglossa incerta*²⁴⁾、*Passiflora incarnata* L.²⁵⁾²⁶⁾ の

Fig. 1 Structure of 2"-O-glycosylisovitexin obtained from young barley leaf extract.

葉と茎などに含有されるが、抗酸化活性については知られていなかった。

その他のフラボンとしては、穀類の葉にアピゲニン及びルテオリンのC-グリコシル化合物の存在が知られており²⁷⁾、更に大麦の若葉中にサポナリン、ルトナリンが見出され^{28)~32)}、また種子にも存在することが報告されている³³⁾。大麦の種子にはカテキン、プロアントシアニンなどが含有されているが、これらの物質はビール醸造との関係が研究の対象とされている^{34)~37)}。また穀物の種子の保存に関する研究から、米種子の糊殻よりイソビテキシンが単離され、抗酸化活性を有することが明らかにされている³⁸⁾³⁹⁾。

2. 2"-O-GIV の脂質に対する抗酸化活性^{22)50)52)~55)}

活性酸素による脂質酸化に関する研究^{40)~45)}は多く、脂質酸化は生体膜に障害を与え、各種の炎症性疾患の原因となる。脂質酸化の2次産物であるマロンアルデヒド(MA)、アセトアルデヒド、グリオキサール、4-ヒドロキシノネナールなどはDNA、RNA、タンパク質などに損傷を与え、ガン、老化などの誘発に関与することが知られている^{46)~49)}。抗酸化物質の有用な働きのひとつは、細胞膜中での不飽和脂肪酸の酸化に関与する活性酸素のスカベンジャー作用である⁵⁰⁾。

2"-O-GIV の脂質に対する抗酸化活性について次のような結果A)~G)が得られた。

A) pH 7.4 におけるフェントン試薬によるスクアレンからのMA生成に対する2"-O-GIV および α -トコフェロール(α -Toc)の阻害効果をTable 1に示した⁵¹⁾。

Table 1 Effect of 2"-O-GIV or α -tocopherol on formation of MA from squalene with Fenton's reagent at pH 7.4

Antioxidant concn, μ M	MA formed, ^a nmol/mg of squalene	
	2"-O-GIV	α -Tocopherol
0	0.94 $\pm$ 0.05	0.94 $\pm$ 0.05
20	0.77 $\pm$ 0.02	0.75 $\pm$ 0.02
50	0.72 $\pm$ 0.07	0.71 $\pm$ 0.04
100	0.69 $\pm$ 0.05	0.59 $\pm$ 0.01
150	0.64 $\pm$ 0.01	0.66 $\pm$ 0.03

^a Values are mean $\pm$ SD (n=4).

2"-O-GIV および α -Toc は 150 μ M で ca. 32% の阻害活性を示した。

B) pH 3.5, 7.4 および 11 での UV 照射によるリノール酸エチルからの MA 生成に対する 2"-O-GIV と α -Toc の阻害効果を Table 2 に示した⁵¹⁾。リノール酸エチルからの MA 生成に対して 2"-O-GIV 及び α -Toc は pH 3.5 と 11 では効果はないが, pH 7.4 では 100 μ M の濃度で ca. 40% 抑制した。

C) 2"-O-GIV および α -Toc 100 μ M は pH 3.5 でのフェントン試薬によるリノール酸エチルからの MA 生成を共に 40% 阻害し, pH 7.4 では 20 μ M で MA 生成を共に 90% 以上阻害した⁵¹⁾。これは生理的条件に近いときに 2"-O-GIV はより効果的であることを示唆する。

D) スクアレンおよびリノール酸エチルの紫外線照射による MA 生成に対する 2"-O-GIV, α -Toc および BHT の阻害効果を Fig. 2 に示した⁵²⁾。2"-O-GIV 2 μ mol はスクアレン 0.2 mmol からの MA 生成を ca. 100% 抑制したが, BHT 12 μ mol では ca. 70% であった。同様に紫外線照射により 2"-O-GIV 1 μ mol はリ

ノール酸エチル 0.2 mmol から MA 生成を ca. 90% 抑制したが, BHT 20 μ mol および α -Toc 10 μ mol の阻害効果は ca. 70% および ca. 35% であった。エタノール溶液中での UV 照射による α -Toc の分解生成物が TLC により検出されたが, 2"-O-GIV は分解産物を生成しなかった⁵²⁾。

E) アラキドン酸エチルのフェントン反応による MA 生成に対する 2"-O-GIV 及び α -Toc の抗酸化活性は Fig. 3 のように類似のパターンを示した⁵²⁾。タラ肝油のフェントン反応による MA 生成に対する抗酸化作用は Fig. 4 に示した⁵³⁾。

F) リノレン酸エチルおよびアラキドン酸エチルのフェントン反応によるグリオキサール生成に対して 2"-O-GIV は顕著な抗酸化活性を示した⁵⁴⁾。

G) 2"-O-GIV による EPA のフェントン反応系での酸化抑制作用を MA 生成を指標として β -カロチン, α -Toc および BHT と比較した結果を Fig. 5 に示した⁵⁵⁾。

フラボノイドおよびその誘導体は様々な強さの抗酸化活性を示すものが知られているが, フラボノイドの抗酸化活性は 3-ヒドロキシ/4-ケト基または 5-ヒドロキシ/4-ケト基による金属イオンのキレート作用およびその構造中のフェノール部位によるフリーラジカルのスカベンジャー作用⁵⁶⁾, O₂⁻ のスカベンジャー作用^{57)~60)}, *in vivo* 及び *in vitro* における抗酸化活性とフェノール部位との関係^{58)61)~63)}, 速度論的研究⁶⁴⁾ などが多数報告されている。

生体成分としても重要な位置にあるリノール酸はフェントン反応により MA と 4-ヒドロキシノネナールにまで酸化され, ラット肝ミクロソームはフェントン反応により MA, 4-ヒドロキシノネナールを生成し⁴³⁾, またアラキドン酸, リノレン酸, リノール酸および対応するエ

Table 2 Effect of 2"-O-GIV or α -tocopherol on MA formation from ethyl linoleate upon UV irradiation at different pH values

Antioxidant concn, μ M	MA formed, ^a nmol/mg of ethyl linoleate					
	pH 3.5		pH 7.4		pH 11	
	2"-O-GIV	α -Tocopherol	2"-O-GIV	α -Tocopherol	2"-O-GIV	α -Tocopherol
0	6.29 $\pm$ 0.61	6.29 $\pm$ 0.61	12.17 $\pm$ 1.12	12.17 $\pm$ 1.21	4.70 $\pm$ 0.56	4.70 $\pm$ 0.56
20	6.70 $\pm$ 0.13	6.96 $\pm$ 0.45	9.17 $\pm$ 0.89	8.25 $\pm$ 1.09	4.62 $\pm$ 0.18	4.73 $\pm$ 0.98
50	5.81 $\pm$ 0.48	6.56 $\pm$ 0.63	7.20 $\pm$ 0.17	7.08 $\pm$ 1.01	4.65 $\pm$ 0.72	4.64 $\pm$ 0.78
100	6.78 $\pm$ 0.03	6.43 $\pm$ 0.68	7.53 $\pm$ 0.25	7.46 $\pm$ 0.40	4.68 $\pm$ 0.57	5.05 $\pm$ 0.78

^a Values are mean $\pm$ SD (n=4).

Fig. 2 Effect of 2''-O-glycosylisovitexin, α -tocopherol or butylated hydroxytoluene on formation of malonaldehyde from A) : squalene and B) : ethyl linoleate upon ultraviolet irradiation.

Fig. 3 Effect of 2''-O-glycosylisovitexin or α -tocopherol on malonaldehyde formation from ethyl arachidonate oxidized by Fenton's reagent.

Fig. 4 Effect of α -tocopherol or 2''-O-glycosylisovitexin on MA formation from cod liver oil oxidized by Fenton's reagent.

チルエステルのフェントン反応による MA, 4-ヒドロキシシノネナル, 4-ヒドロキシ-2-ヘキサナル, プロパナルおよびヘキサナルの生成メカニズムが提出されている⁴⁷⁾。皮膚成分であるスクアレンは紫外線照射による酸化により 2 次生成物である MA, アセトン, ホルムアルデヒド, アセトアルデヒドなどを生成し, そのメカニズムが提出されている⁴⁸⁾。更にスクアレン, リノール酸エチル, リノレン酸エチル, アラキドン酸エチル, タ

ラ肝油は紫外線照射により MA, アクロレイン, グリオキサールおよびメチルグリオキサールを生成し, その定量的な研究が行われている⁴⁹⁾。

フラボンの摂取量に関しては, 各国の平均値として $27.6 \pm 19.5 \text{ mg/day}$ という報告がある⁶⁵⁾。ヒトにおけるケルセチンの吸収^{66)~68)}が報告されており, 食品として摂取後, 血漿濃度は Fig. 6 のように上昇し⁶⁸⁾, 2.9 時間後には血漿濃度は 196 ng/ml に達すること⁶⁷⁾, 大豆製品の摂取により血漿中のゲニステインとダイゼインの濃度はそれぞれ $\text{ca. } 500 \sim 600 \text{ nM}$ と $\text{ca. } 300 \sim 400 \text{ nM}$ に達する

Fig. 5 Effect of α -tocopherol, 2''-O-glycosylisovitexin, β -carotene, and BHT on MA formation from eicosapentaenoic acid oxidized by Fenton's reagent. Values are means $\pm$ standard deviations ($n=3$).

Fig. 6 Time course of the quercetin concentration in plasma of nine subjects after ingestion of fried onions, apples, or quercetin rutinoides. Each subject received each supplement in random order at 14-day intervals. Data are means $\pm$ S.E.M. for nine subjects. ●, onions; ○, apples; ▲, rutinoides.

ことが報告されている¹⁷⁾。またケルセチンの経口投与による糖尿病患者の水晶体のソルビトール濃度の減少作用⁶⁹⁾、ケルセチンの経口投与によるラット乳ガンの抑制⁷⁰⁾なども報告されている。糖尿病ラットへのルテオリン-5-O- β -ルチノシドの投与による血中グリセミアレベルの低下とインシュリン濃度の上昇などが報告されてい

る⁷¹⁾。これらの結果よりフラボンは生体に吸収され、生体内での抗酸化作用の一端を担っていることが示唆される。

2''-O-GIV はフェントン試薬による不飽和脂肪酸からの酸化生成物の生成を強く抑制する⁵¹⁾⁵⁵⁾が、この酸化抑制作用は生体内で起こる様々な障害、特に細胞膜傷害に

起因する各種の疾病，例えば動脈硬化，肝疾患，脳血管障害，眼疾患，消化管疾患，心疾患，炎症など，また脂質酸化反応の2次生成物であるMA，4-ヒドロキシノネナル，グリオキサールなどによるDNA，RNA，タンパク質などの損傷を抑制し，各種疾患の抑制に寄与していると考えられる⁷²⁾⁷³⁾。

各種フラボノイドを食品として摂取することにより冠動脈疾患のリスクが減少すること⁷⁴⁾⁷⁵⁾，ルテオリン，ケルセチン，ケンフェロール，モリンなどはマウスの γ 線照射によるヒドロキシラジカルに起因する傷害を防御し， γ 線照射による微小核網状赤血球の出現頻度を減少させること等が知られている⁶³⁾⁷⁶⁾。更に α G-ルチン，ルテオリンはマウスのドキシソルピシン誘導心臓毒性を防御し⁷⁷⁾，3-ヒドロキシフラボン，モリン，ケルセチンなどはマウスマクロファージによるLDLの酸化を抑制することも報告されている⁶²⁾。

フラボノイドは抗酸化活性¹³⁾¹⁷⁾の他に，酵素阻害作用^{13)18)~21)}，抗炎症作用^{13)18)~21)}，抗アレルギー作用^{13)18)~21)}，エストロゲン様作用¹⁷⁾，抗ウイルス作用^{13)18)~20)}，抗ガン作用^{13)18)~20)}などを有することが知られている。これらのフラボノイドは食品として摂取され，消化管内で生成する活性酸素種を消去し，更に消化管を通して吸収されて生体内での作用を発揮することが推測できる^{65)~68)}。この結果は，2"-O-GIVは細胞膜，細胞内顆粒膜などに対する強い酸化傷害から生体を防御しうること示唆し，生体内における不飽和脂肪酸を構成要素とする構造体，例えばLDLの酸化を効果的に抑制することなどが類推できる。

生体は外部因子による酸化も受けており，そのひとつとして紫外線による皮膚表層の酸化がある。皮脂の構成成分であるスクアレン，リノール酸などは紫外線照射により生成する O_2^- ， $HO\cdot$ ， H_2O_2 により酸化され，MA，4-ヒドロキシノネナル，グリオキサール，アクロレイン，アセトアルデヒドなどを生成する⁴⁸⁾⁴⁹⁾，この紫外線による酸化反応を2"-O-GIVは抑制すると考えられる。

3. 2"-O-GIVの食品保存への応用⁵³⁾⁸⁰⁾

2"-O-GIVはフェントン反応系，紫外線による酸化により不飽和脂肪酸から生成するMA，グリオキサール，アクロレイン，アセトアルデヒドなどの生成を抑制することから広く食品保存にも有効であると推測される。Fig. 4に示すようにタラ肝油の酸化防止に有効であり，油脂製品の酸化防止に有用であると考えられる⁵³⁾。

ビールは長期に保存する場合，味，香り共に劣化し，色調も濃く変化してくるが，この劣化は種々の要因に起因するものであり，温度の上昇⁷⁸⁾，酸化反応による劣化が重要な因子と考えられる。このようなビールの変性はビール中の成分であるエタノールその他の成分の酸化により生成する各種の酸化生成物に起因するが，その酸化生成物のひとつとしてアセトアルデヒドがある⁷⁹⁾。またカルボニル化合物とアミノ酸の反応により生じるメラノイジンは褐変の原因になり，更に酸化生成物はフレーバーの生成にも影響を与えるものである。

ビールの変性をアセトアルデヒドを指標として，2"-O-GIVがビールの安定化に効果をもつことを明らかにした⁸⁰⁾。ビール試料に2"-O-GIVを添加して50℃，90日間保存し，ビール試料中のアセトアルデヒドをシステムと反応させて2-メチルチアゾリジンに誘導し，ガスクロマトグラフィーにより定量した。ビール試料はアセトアルデヒドを30~80 μ M含有するが，90日間遮光貯蔵後にビールのアセトアルデヒドの濃度は873%にまで増加してビール特有の香りは著しく減少し，新鮮さに乏しいカードボード臭を生成した。ビール試料に2"-O-GIVおよびBHT 1 μ g/mlを加えて50℃，10日間保存したとき，Fig. 7に示すようにアセトアルデヒドの含有量は抗酸化剤を添加しない対照に比較して60%減少した。

4. サボナリン誘導体⁸³⁾

大麦若葉青汁粉末は2"-O-GIV以外にもFig. 8に示すサボナリン，6"-シナポイルサボナリン，6"-フェロイルサボナリン，4'-グルコシル-6"-シナポイルサボナリン，イソビテキシン-4'，7'-ジグルコシド，イソビテキシン-7'-ラムノシルグルコシドを含有することを報告

Fig. 7 Inhibitory effect of 2"-O-glycosylisovitexin, BHT, and α -tocopherol toward acetaldehyde formation in beer stored at 50℃ for 10 days.

Fig. 8 Structure of apigenin derivatives obtained from young barley leaf extract.

Fig. 9 Effects of compounds 1-7 on superoxide anion formation.

- 1: 6''-sinapoylsaponarin
- ▲ 2: 6''-feruloylsaponarin
- 3: 4'-glucosyl-6''-sinapoylsaponarin
- ◇ 4: saponarin
- △ 5: isovitexin 4',7-diglucoside
- 6: isovitexin 7-rhamnosylglucoside
- 7: isovitexin

した⁸³⁾。これらの物質はいずれも Fig. 9 に示すフェナジンメトサルフェート (PMS)-NADH 系を用いて測定し

た O_2^- の消去作用^{57)(81)~(83)}を有し、また 1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカルの非ラジカルへの変換を行うことから、過酸化脂質の消去にも重要な働きを有することがわかった^{83)~(85)}。更にリボフラビン、ピリドキシン、フィロキノンの酸化を顕著に抑制した。一例としてリボフラビンについて Fig. 10 に示す⁸³⁾。

5. 抗高コレステロール血症作用⁶⁾⁽⁹¹⁾

近年、平均寿命の延長、食生活の変化により生活習慣病の増加が著しく、動脈硬化症、肥満症、高血圧症などの脂質代謝障害、特に生体内コレステロールの変動と密接な関係のある諸疾患が増加している。

高コレステロール血症は、血液中にコレステロールや中性脂肪の多い症状であり、動脈硬化、血栓症との関連が大きいと考えられている。コレステロールは HDL, LDL および VLDL 中にリポタンパク、リン脂質、トリグリセリドなどと共存している。

LDL は血中でコレステロールの ca. 70% を運搬し、血中のコレステロール値が高い場合、LDL 濃度は高い。LDL は比重 1.019~1.063 g/ml の間にあり、コレステロールエステルに富み、LDL 受容体を介して細胞に取り込まれ、細胞にコレステロールを供給する働きを有する⁸⁶⁾。血中 LDL は活性酸素種により酸化 LDL に酸化され、血管内皮下でマクロファージにより貪食されて泡沫細胞となり、血管内皮に沈着し、粥状動脈硬化を起こす

Fig. 10 Effects of compounds 1, 3-7 on the photo-oxidation of vitamin B₂

- ×— : control
- 1: 6''-sinapoylsaponarin
- 3: 4'-glucosyl-6''-sinapoylsaponarin
- ◇— 4: saponarin
- △— 5: isovitexin 4', 7-diglucosaide
- 6: isovitexin 7-rhamnosylglucosaide
- 7: isovitexin

ことになる^{74)87)~90)}。フラボノイドのうち、3-ヒドロキシフラボン、クリシン、ガランジン、フィゼチン、モリン、ケルセチン、ヒポレチン、ゴシペチンは LDL のマクロフェージによる修飾、ヒポレチン-8-グルコシド、ゴシペチン、ゴシピン、ミリセチンは Cu²⁺ による LDL の酸化を抑制することが報告されている⁶²⁾。この他にも LDL および VLDL 混合物の Cu²⁺ による酸化に対する各種フラボノイドの効果が報告されている⁴⁵⁾。

Fig. 11 Antioxidative activities of 2''-O-glycosylisovitexin and probucol measured in blood.

2''-O-GIV はウマ血漿から調製した LDL のフェントン反応による酸化をプロブコールと比較したところ Fig. 11 に示すように顕著な抑制効果を示した。2''-O-GIV は Fig. 12 に示すように L-アスコルビン酸の存在下で作用が増強された⁹¹⁾。

更に大麦若葉青汁粉末には血中コレステロールの濃度を低下させる他の物質も存在する。ラットにコレステロール飼料を与えると、血中コレステロール値は高くなり、LDL も多量に含まれるようになる。実験的にラットの総コレステロール値を ca. 10 倍にして、大麦若葉青汁粉末の試料を経口的に投与したところ、n-ヘキサンで抽出した画分にラットの血中総コレステロール値を低下させる物質の存在を確認し、その有効成分として n-ヘキサコサノールとβ-シトステロールを単離した。これら

Fig. 12 Antioxidative activities of 2''-O-glycosylisovitexin and vitamin C in blood plasma.

Fig. 13 Concentration-dependent influence of green barley leaf extract (BLE) on (A): prolactin and (B): growth hormone release from female rat anterior pituitary cells. Cells were incubated in RPMI containing BLE (0.05 to 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) or 100 nM thyrotropin releasing hormone (TRH) for 30 min. The data are expressed as the mean $\pm$ SEM (n=4). *P $\leq$ 0.05 compared with control.

の物質を含むヘキサン抽出画分の LD₅₀ は 8 g/kg であることを明らかにした⁶⁾

6. α -トコフェロールサクシネートによる下垂体前葉細胞からの成長ホルモンとプロラクチンの分泌促進作用^{97,98)}

大麦若葉青汁粉末は免疫系の増強、維持に必要な成分を含有する⁹²⁾。更に下垂体切除雌性ラットはヒツジ赤血球 (SRBC) に対する抗体産生が抑制され、プロラクチン (PRL)⁹³⁾ または成長ホルモン (GH) の投与により回復し⁹⁴⁾、細胞性免疫は PRL 依存性を示し⁹⁵⁾、また正常マウスの SRBC に対する抗体産生は PRL 投与により促進され、プロモクリプチン投与による PRL の血清濃度の低下は免疫応答を減少させること⁹⁶⁾、などの免疫系が下垂体ホルモンにより調節されていることが明らかにされてきた。

PRL と GH は免疫系の機能と維持に重要な役割を有するという研究結果に立脚して、大麦若葉青汁粉末には Fig. 13 および 14 に示すように *in vitro* において下垂体前葉細胞より PRL と GH の分泌を促進する物質が存在することを明らかにし⁹⁷⁾、本物質を単離して PRL と GH の生成促進作用を検討して Fig. 15 の結果を得た⁹⁷⁾。本物質は Fig. 16 に示す α -トコフェロールサクシネート (α -TocSuc) であった⁹⁷⁾。 α -TocSuc は Fig. 17 に示すように下垂体前葉細胞からの PRL の分泌促進作用に対しては特異的であり、 α -Toc、 γ -Toc、 α -トコフェロールアセテート、 α -トコフェロールニコチネートは効果を示さなかった⁹⁸⁾。

GH の分泌は、成長ホルモン放出ホルモン (GRH) が GH 産生細胞上の受容体 GRHR に結合して細胞内の

Fig. 14 Effect of BLE on prolactin release from female rat anterior pituitary cells: comparison with cAMP accumulation. The data are expressed as the mean $\pm$ SEM (n=4). *P $\leq$ 0.05 compared with control.

cAMP 濃度を上昇させ、GH 遺伝子の転写が促進される結果に起因する⁹⁹⁾。 α -TocSuc は PRL と GH の分泌を共に促進するが、Fig. 14 に示すように cAMP の増加を伴わなかった。この結果は、 α -TocSuc による GH の下垂体細胞よりの分泌促進は cAMP の増加を伴わないことから GRH とは異なる機作に起因すると考えられる。 α -TocSuc によるマウス B-16 細胞の c-myc mRNA および H-ras mRNA の減少に連動する生育阻害は cAMP の細胞内濃度の上昇を伴わないことも知られている¹⁰⁰⁾。

α -TocSuc は α -Toc、 γ -Toc、他の α -Toc 誘導体とは異なり、特異的な生理活性を有することが知られている。次に α -TocSuc の特異性に関する研究の一部を紹介する。 α -TocSuc はマウス B-16 細胞の分化誘導と生育阻害、*in vitro* でメラノサイト刺激ホルモン刺激アデニ

Fig. 15 Effect of endocrine active molecule from the RP-HPLC of active fraction on : A, prolactin and B, growth hormone release from female rat anterior pituitary cells. The experimental conditions are described in Figure 13. The concentrations are expressed as $\mu\text{g}/\text{ml}$. The data are expressed as the mean $\pm$ SEM ($n=4$). * $P \leq 0.05$ compared with control.

Fig. 16 Structure of α -tocopherol succinate

ルシクラゼ活性の阻害を示し、 α -トコフェロールニコチネート、 α -トコフェロールアセテート、 α -Toc は効果がないこと¹⁰¹⁾、また α -TocSuc はプロテインキナーゼ C 関与の培養ウシ脈絡膜血管内皮細胞の増殖を抑制するが、他の α -Toc 誘導体は抑制作用を示さないことなどが報告されている¹⁰²⁾。

7. 大麦若葉青汁粉末の抗炎症作用と抗潰瘍作用⁴⁾⁵⁾

活性酸素種は生体膜に損傷を与え、各種の炎症性疾患を誘発するが、大麦若葉青汁粉末より分離した SOD (1.15.1.1, superoxide : superoxide oxidoreductase) は 0.2 mg/kg、静脈内 (i.v.) 投与でアスピリン 100 mg/kg、皮下 (s.c.) 投与とほぼ等しいカラゲニン浮腫抑制効果を示した⁴⁾。同様に大麦若葉青汁粉末より分画した画分は 1 mg/kg、i.v. 投与でカラゲニン浮腫を抑制した⁴⁾。この抗炎症作用は大麦若葉青汁粉末に含有されている抗酸化物質に由来するものであると考えられる。

ストレスに起因する症候群として最もよく知られたものに胃潰瘍がある。心理的、精神的ストレスに伴う症状として、ラットに数時間水浸拘束ストレスを付加することにより、胃粘膜に病変を生じ、胃に水浸拘束ストレス潰瘍を発症する⁵⁾。このとき胃粘膜に過酸化脂質の産生が認められ¹⁰³⁾、胃粘膜組織内の抗酸化物質の濃度が低下

Fig. 17 Effects of α -tocopherol analogs on prolactin release from female rat AP cells *in vitro*. AP cells were cultured for 6 days and subsequently exposed to vehicle, α -tocopherol succinate, $\pm$ α -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocopherol acetate, or α -tocopherol nicotinate for 30 min. The data are expressed as the mean $\pm$ SE ($n=4$). ** $P \leq 0.01$ vs. vehicle control.

すること¹⁰⁴⁾, グルタチオンの投与により潰瘍形成が阻止され, 水浸拘束ストレスの負荷により肝のグルタチオン合成が停止し細胞内レベルも低下して他臓器へのグルタチオン供給が減少する¹⁰⁴⁾などの知見は心理的, 精神的なストレス並びに生理的ストレスにより活性酸素の生成が亢進し, 各種の障害を導くことを示唆する。

ストレス潰瘍は急性胃潰瘍を, 酢酸潰瘍は慢性潰瘍を誘発し, アスピリン潰瘍は外傷性潰瘍を誘発するが, このようなラットの実験的胃潰瘍の誘発を行う前に, 大麦若葉青汁粉末を 500 mg/kg 経口投与することによりストレス潰瘍の誘発は 48.6% 抑制され, 酢酸潰瘍およびアスピリン潰瘍に対する抑制率は 68.5% および 33.3% であった⁵⁾。大麦若葉青汁粉末による水浸拘束ストレス潰瘍の予防的効果のひとつの根拠として, 大麦若葉青汁粉末に含まれる 2"-O-GIV をはじめとするフラボノイドの作用が大きな役割を果たしているものと考えられる。

結 語

植物は強い太陽光により酸化的な損傷を受けやすい環境に生存しているが, 更に光合成による酸素の産生を行い, 酸化的な環境をも形成している。植物は正常に生育するために, 過剰な酸化的環境を解消する SOD, カタラーゼ, ペルオキシダーゼなどの酵素, また抗酸化作用を有するフラボノイド, 抗酸化ビタミンなどの物質を備えている。

一方, 生物の生存には酸素 ($^3\text{O}_2$) が必要であり, 酸素は生体の構成成分並びに生物学的エネルギー獲得反応に必要であり, このエネルギー獲得過程で利用される酸素の一部, 普通 1~数% は活性酸素に変換される。

生体内の代謝過程で生成する活性酸素種を消去する機構は, 生体のホメオスタシスを維持する他の条件と共働して, 生体の恒常性の維持に一部関与していると考えられる。

生体における活性酸素種の生成は, 生体内外の条件により著しく変動し, 生体内で防御機構が働くとはいえ, 食品或いは種々の抗酸化剤を用いて防御することが望ましい。特に, 抗酸化成分を含有する食品を用いて活性酸素種に対する防御に役立てることは, 安全でしかも理になったことである。

この観点より, 本総説においては大麦若葉青汁粉末から分離したフラボンのうち, アピゲニン誘導体である 2"-O-GIV, およびサボナリン誘導体の顕著な抗酸化作用を説明した。また更に, α -TocSuc が下垂体細胞に作用してプロラクチン及び成長ホルモン分泌を促進する作用

を見出した。フラボノイドの幅広い生理活性と構造, また α -TocSuc の特異な作用を明らかにし, それらの生物学的作用の酵素レベル或いは分子レベルでの解明を行うことはこれらの物質の医薬, 食品への応用, 安全性の確認なども含め, 今後不可欠な研究対象となるものと考えられる。

文 献

- 1) 日本国特許第 645378 号。
- 2) BRANEN, A.L.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 59 (1975).
- 3) ITO, N., FUKUSHIMA, S., HAGIWARA, A., SHIBATA, M. and OGISO, T.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 343 (1983).
- 4) 松岡 隆・関 裕史・久保田和彦・大竹英俊・萩原義秀: 炎症, **3**, 602 (1983).
- 5) 大竹英俊・湯浅英雄・小村千世子・宮内徹二・萩原義秀・久保田和彦: 薬誌, **105**, 1046 (1985).
- 6) 大竹英俊・野中涼代・澤田淑子・萩原義秀・萩原秀昭・久保田和彦: 薬誌, **105**, 1052 (1985).
- 7) 萩原義秀・宮内徹二・幸 盛正・大竹英俊・山瀬邦良・足立忠夫: 日本薬学会第 98 年会講演要旨集, p. 406, 岡山 (1978).
- 8) 萩原義秀・小村千世子: 日本薬学会第 104 年会講演要旨集, p. 114, 仙台 (1984).
- 9) 萩原義秀・宇留野強・小茂田忠之・松岡 隆・久保田和彦: 日本薬学会第 106 年会講演要旨集, p. 492, 千葉 (1986).
- 10) 江川文生・萩原義秀・萩原秀昭・McCRAW, A. P.・SIM, A.K.・久保田和彦: 日本薬学会第 110 年会講演要旨集 3, p. 180, 札幌 (1990).
- 11) 萩原義秀・上山英夫・萩原秀昭・MOUSSAZADEH, M.・BADAMCHIAN, M.・GOLDSTEIN, A. L.: 日本薬学会第 112 年会講演要旨集 3, p. 113, 福岡 (1992).
- 12) 久保田和彦・松岡 隆・菊池主税・安中敏光・二宮智尚・砂金信義・宇留野強・萩原義秀: 日本薬学会第 114 年会講演要旨集 3, p. 30, 東京 (1994).
- 13) MIDDLETON Jr., E. and KANDASWAMI, C.: *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*, ed. by HARBORNE, J.B. (Chapman & Hall, London), p. 619 (1994).
- 14) 高濱有明夫: 活性酸素 生物での生成・消去・作用の分子機構, 中野 稔・浅田浩二・大柳善彦編 (共立出版(株), 東京), p. 342 (1993).
- 15) BOMBARDELLI, E. and MORAZZONI, P.: *Fragrance J.*, **22**, 90 (1994).
- 16) 戸田登志也・田村淳子・奥平武則: *Foods Food Ingredients J. Jpn.* No. 172, 83 (1997).

- 17) KURZER, M.S. and XU, X. : *Annu. Rev. Nutr.*, **17**, 353 (1997).
- 18) 岩科 司 : 食品工業, **37** (12), 52 (1994).
- 19) 岩科 司 : 食品工業, **37** (14), 67 (1994).
- 20) 岩科 司 : 食品工業, **37** (16), 67 (1994).
- 21) 岩科 司 : 食品工業, **37** (18), 55 (1994).
- 22) OSAWA, T., KATSUZAKI, H., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1135 (1992).
- 23) TSCHESCHE, R. and STRUCKMEYER, K. : *Chem. Ber.*, **109**, 2901 (1976).
- 24) HILSENBECK, R.A. and MABRY, T.J. : *Phytochemistry*, **29**, 2181 (1990).
- 25) GEIGER, H. and MARKHAM, K.R. : *Z. Naturforsch.*, **41 c**, 949 (1986).
- 26) QIMIN, L., VAN DEN HEUVEL, H., DELORENZO, O., CORTHOUT, J., PIETERS, L.A.C., VLIETINCK, A.J. and CLAEYS, M. : *J. Chromatogr.*, **562**, 435 (1991).
- 27) HERRMANN, K. : *J. Food Technol.*, **11**, 433 (1976).
- 28) SEIKEL, M.K. and BUSHNELL, A.J. : *J. Org. Chem.*, **24**, 1995 (1959).
- 29) SEIKEL, M.K., BUSHNELL, A.J. and BIRZGALIS, R. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **99**, 451 (1962).
- 30) MCCLURE, J.W. and WILSON, K.G. : *Phytochemistry*, **9**, 763 (1970).
- 31) FROST, S., HARBORNE, J.B., ASKER, S. and SALEH, N. : *Hereditas*, **90**, 251 (1979).
- 32) REUBER, S., BORNMAN, J.F. and WESSENBOCK, G. : *Plant Cell Environ.*, **19**, 593 (1996).
- 33) BHATIA, I.S., KAUSHAL, G.P. and BAJAJ, K.L. : *Phytochemistry*, **11**, 1867 (1972).
- 34) BREGITZER, P., WESENBERG, D.M. and JONES, B.L. : *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **53**, 191 (1995).
- 35) MCMURROUGH, I. : *J. Chromatogr.*, **218**, 683 (1981).
- 36) JERUMANIS, J. : *J. Inst. Brew.*, **91**, 250 (1985).
- 37) BAXTER, E.D. and O' FARRELL, D.D. : *J. Inst. Brew.*, **93**, 308 (1987).
- 38) RAMARATHNAM, N., OSAWA, T., NAMIKI, M. and KAWAKISHI, S. : *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 732 (1988).
- 39) RAMARATHNAM, N., OSAWA, T., NAMIKI, M. and KAWAKISHI, S. : *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 316 (1989).
- 40) OHKAWA, H., OHISHI, N. and YAGI, K. : *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979).
- 41) TOREL, J., CILLARD, J. and CILLARD, P. : *Phytochemistry*, **25**, 383 (1986).
- 42) 長野哲雄 : 水質汚濁研究, **10**, 19 (1987).
- 43) TAMURA, H. and SHIBAMOTO, T. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **68**, 941 (1991).
- 44) MIYASHITA, K., NARA, E. and OTA, T. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1638 (1993).
- 45) VINSON, J.A., DABBAGH, Y.A., SERRY, M.M. and JANG, J. : *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2800 (1995).
- 46) YAGI, K. : *Chem. Phys. Lipids*, **45**, 337 (1987).
- 47) TAMURA, H., KITTA, K. and SHIBAMOTO, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 439 (1991).
- 48) YEO, H.C.H. and SHIBAMOTO, T. : *Lipids*, **27**, 50 (1992).
- 49) NIYATI-SHIRKHODAE, F. and SHIBAMOTO, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 227 (1993).
- 50) 島崎弘幸 : 活性酸素, 八木国夫・中野 稔監修 (医歯薬出版(株), 東京), p. 184 (1987).
- 51) KITTA, K., HAGIWARA, Y. and SHIBAMOTO, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1843 (1992).
- 52) NISHIYAMA, T., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 811 (1993).
- 53) NISHIYAMA, T., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1728 (1994).
- 54) NISHIYAMA, T., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T. : *Fd Chem. Toxic.*, **32**, 1047 (1994).
- 55) OGATA, J., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 653 (1996).
- 56) DZIEDZIC, S.Z. and HUDSON, B.J.F. : *Food Chem.*, **11**, 161 (1983).
- 57) ROBAK, J. and GRYGREWSKI, R.J. : *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 837 (1988).
- 58) RIOS, J.L., MANEZ, S., PAYA, M. and ALCARAZ, M. J. : *Phytochemistry*, **31**, 1947 (1992).
- 59) KO, F.N., CHU, C.C., LIN, C.N., CHANG, C.C. and TENG, C.-M. : *Biochim. Biophys. Acta* **1389**, 81 (1998).
- 60) ROEDIG-PENMAN, A. and GORDON, M.H. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **75**, 169 (1998).
- 61) HODNICK, W.F., KUNG, F.S., ROETTGER, W.J., BOHMONT, C.W. and PARDINI, R.S. : *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 2345 (1986).
- 62) DE WHALLEY, C.V., RANKIN, S.M., HOULT, J.R.S., JESSUP, W. and LEAKE, D.S. : *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 1743 (1990).
- 63) SHIMOI, K., MASUDA, S., FURUGORI, M., ESAKI, S. and KINAE, N. : *Carcinogenesis*, **15**, 2669 (1994).
- 64) JOVANOVIC, S.V., STEENKEN, S., TOSIC, M., MARJANOVIC, B. and SIMIC, M.G. : *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 4846 (1994).
- 65) DE VRIES, J.H.M., JANSSEN, P.L.T.M.K., HOLLMAN,

- P.C.H., VAN STAVEREN, W.A. and KATAN, M.B.: *Cancer Lett.*, **114**, 141 (1997).
- 66) HOLLMAN, P.C.H., DeVRIES, J.H.M., VAN LEEUWEN, S.D., MENGELERS, M.J.B. and KATAN, M.B.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **62**, 1276 (1995).
- 67) HOLLMAN, P.C.H., V.D. GAAG, M., MENGELERS, M.J. B., VAN TRIJP, J.M.P., DE VRIES, J.H.M. and KATAN, M.B.: *Free Radical Biol. Med.*, **21**, 703 (1996).
- 68) HOLLMAN, P.C.H., VAN TRIJP, J.M.P., BUYSMAN, M. N.C.P., V.D. GAAG, M.S., MENGELERS, M.J.B., DeVRIES, J.H.M. and KATAN, M.B.: *FEBS Lett.*, **418**, 152 (1997).
- 69) VARMA, S.D., MIZUNO, A. and KINOSHITA, J.H.: *Science*, **195**, 205 (1977).
- 70) VERMA, A.K., JOHNSON, J.A., GOULD, M.N. and TANNER, M.A.: *Cancer Res.*, **48**, 5754 (1988).
- 71) ZARZUELO, A., JIMENEZ, I., GAMEZ, M.J., UTRILLA, P., FERNANDEZ, I., TORRES, M.I. and OSUNA, I.: *Life Sci.*, **58**, 2311 (1996).
- 72) UENO, H., NAKAMURO, K., SAYATO, Y. and OKADA, S.: *Mutation Res.*, **260**, 115 (1991).
- 73) TERAOKA, J., PISKULA, M. and YAO, Q.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **308**, 278 (1994).
- 74) HERTOOG, M.G.L., FESKENS, E.J.M., HOLLMAN, P.C. H., KATAN, M.B. and KROMHOUT, D.: *Lancet*, **342**, 1007 (1993).
- 75) HERTOOG, M.G.L., KROMHOUT, D., ARAVANIS, C., BLACKBURN, H., BUZINA, R., FIDANZA, F., GIAMPAOLI, S., JANSEN, A., MENOTTI, A., NEDELJKOVIC, S., PEKKARINEN, M., SIMIC, B.S., TOSHIMA, H., FESKENS, E.J.M., HOLLMAN, P.C.H. and KATAN, M.B.: *Arch. Intern. Med.*, **155**, 381 (1995).
- 76) SHIMOI, K., MASUDA, S., SHEN, B., FURUGORI, M. and KINAE, N.: *Mutation Res.*, **350**, 153 (1996).
- 77) SADZUKA, Y., SUGIYAMA, T., SHIMOI, K., KINAE, N. and HIROTA, S.: *Toxicol. Lett.*, **92**, 1 (1997).
- 78) KANEDA, H., KANO, Y., KAMIMURA, M., OSAWA, T. and KAWAKISHI, S.: *J. Food Sci.*, **55**, 881 (1990).
- 79) MIYAKE, T. and SHIBAMOTO, T.: *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1968 (1993).
- 80) NAKAJIMA, S., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T.: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1529 (1998).
- 81) PONTI, V., DIANZANI, M.U., CHEESEMAN, K. and SLATER, T.F.: *Chem. Biol. Interact.*, **23**, 281 (1978).
- 82) PINCEMAIL, J., DUPUIS, M., NASR, C., HANS, P., Haag-Berrurier, M., ANTON, R. and DEBY, C.: *Experientia*, **45**, 708 (1989).
- 83) OHKAWA, M., KINJO, J., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H., UHEYAMA, H., NAKAMURA, K., ISHIKAWA, R., ONO, M. and NOHARA, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1887 (1998).
- 84) 福沢健治・寺尾純二: 脂質過酸化実験法 ((株)廣川書店, 東京), p. 79 (1990).
- 85) RATTY, A.K., SUNAMOTO, J. and DAS, N.P.: *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 989 (1988).
- 86) 今堀和友, 山川民夫監修: 生化学辞典第3版 ((株)東京化学同人, 東京), p. 921 (1998).
- 87) STEINBERG, D., PARTHASARATHY, S., CAREW, T.E., KHOO, J.C. and WITZTUM, J.L.: *N. Engl. J. Med.*, **320**, 915 (1989).
- 88) FRANKEL, E.N., KANNER, J., GERMAN, J.B., PARKS, E. and KINSELLA, J.E.: *Lancet*, **341**, 454 (1993).
- 89) RETSKY, K.L., FREEMAN, M.W. and FREI, B.: *J. Biol. Chem.*, **268**, 1304 (1993).
- 90) JOYEUX, M., LOBSTEIN, A., ANTON, R. and MORTIER, F.: *Planta Med.*, **61**, 126 (1995).
- 91) MIYAKE, T., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H. and SHIBAMOTO, T.: Functional Foods for Disease Prevention II, Medicinal Plants and other Foods, ed. by SHIBAMOTO, T., TERAOKA, J. and OSAWA, T. (American Chemical Society, Washington, DC), p. 178 (1998).
- 92) 日本国特許第 2603360 号.
- 93) BERCZI, I., NAGY, E., KOVACS, K. and HORVATH, E.: *Acta Endocrinol.*, **98**, 506 (1981).
- 94) NAGY, E., BERCZI, I. and FRIESEN, H.G.: *Acta Endocrinol.*, **102**, 351 (1983).
- 95) HIESTAND, P.C., MEKLER, P., NORDMANN, R., GRIEDER, A. and PERMMONGKOL, C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 2599 (1986).
- 96) SPANGELO, B.L., HALL, N.R.S., ROSS, P.C. and GOLDSTEIN, A.L.: *Immunopharmacology*, **14**, 11 (1987).
- 97) BADAMCHIAN, M., SPANGELO, B.L., BAO, Y., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H., UHEYAMA, H. and GOLDSTEIN, A.L.: *J. Nutr. Biochem.*, **5**, 145 (1994).
- 98) BADAMCHIAN, M., SPANGELO, B.L., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H., UHEYAMA, H. and GOLDSTEIN, A.L.: *J. Nutr. Biochem.*, **6**, 340 (1995).
- 99) 小野雅夫: ホルモンの分子生物学-2 成長ホルモン・プロラクチンファミリー, 日本比較内分泌学会編 ((株)学会出版センター, 東京), p. 1 (1996).
- 100) PRASAD, K.N., COHRS, R.J. and SHARMA, O.K.: *Biochem. Cell Biol.*, **68**, 1250 (1990).
- 101) SAHU, S.N., EDWARDS-PRASAD, J. and PRASAD, K. N.: *J. Cell Physiol.*, **133**, 585 (1987).
- 102) 坂本泰二・大島裕司・石橋達朗・猪俣 孟: 日眼

- 会誌, **100**, 777 (1996).
- 103) 吉川敏一：活性酸素-生物での生成・消去・作用の分子機構, 中野 稔・浅田浩二・大柳善彦編 (共立出版(株), 東京), p. 334 (1993).
- 104) 川元俊二・広田昌彦・井上正康：活性酸素と病態, 井上正康編著 ((株)学会出版センター, 東京), p. 338, 339 (1992).
- (平成 12 年 2 月 2 日受理)
-