クロレラ錠摂取による光過敏性皮膚炎の原因物質とその生成過程について^{*1}

(昭和 53 年 11 月 20 日受理)

田村 行弘^{*2} 真木 俊夫^{*2} 嶋村 保洋^{*2}
西垣 進^{*2} 直井家壽太^{*2}

Causal Substances of Photosensitivity Dermatitis due to Chlorella Ingestion (Hygienic Studies on Chlorella. I)

Yukihiro TAMURA, Toshio MAKI, Yasuhiro SHIMAMURA,
Susumu NISHIGAKI and Yasuta NAOI

(Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health: 24-1,
Hyakunincho 3-chome, Shinjuku-ku, Tokyo)

In 1977, there was an outbreak of photosensitivity dermatitis by among persons who had ingested a certain brand of chlorella tablets. At least 23 patients were identified in and around the Tokyo metropolitan area.

The unconsumed chlorella tablets collected from these patients invariably induced photosensitivity dermatitis in mice. These chlorella tablets contained large amounts of pheophorbide and its ester, which are well-known phototoxic pigments derived from chlorophyll, while chlorella tablets from another maker, which contained less than a tenth as much pheophorbide induced no photosensitivity lesion in mice.

Furthermore, a linear dose response relationship was observed between the severity of photosensitivity dermatitis in experimental animals and the content of pheophorbide in chlorella administered. However, the reaction induced by pheophorbide extracted from the suspect chlorella was weaker than that induced by the original chlorella sample.

It was confirmed that ethanol, used in forming granules of chlorella before pelleting, activates chlorophyllase, which in turn hydrolyzes chlorophyll naturally contained in chlorella into pheophorbide and its ester.

We concluded that the photosensitivity dermatitis was caused by the chlorella tablets, which had been treated with ethanol. We believe that pheophorbide and its ester found in large amount in these tablets, have played a major role in inducing the photosensitivity dermatitis.

(Received November 20, 1978)

緒 言

昭和52年4月, 東京都衛生局に「クロレラを常用している知人4名が, 顔や手の甲などに皮膚炎を起こした」という訴えが入った。調査の結果, いずれの患者も, 主に光の当たる顔や手の甲などに, 特異的に皮膚炎が現れ

ていることから光過敏症と考えられた。このような患者は東京近郊で23名, また仙台と神戸から各1名の届け出があり, いずれもK社製のクロレラ錠(以下Kクロレラと略す)を服用していた。主な共通症状は皮膚の浮腫や腫脹に始まり, 紅~紫色の色素斑あるいは網状紅斑へと進行し痛みを伴うものもあり, また重症者では局所に出血斑, 潰瘍, 表皮の壊死, 耳の変型をきたすものもあった。これらの皮膚炎発現の概要についてはすでに報告^{1), 2)}したが, その症状には実川ら^{3), 4)}の報告と共通した点が多

^{*1} クロレラの衛生学的研究 (第1報)

^{*2} 東京都立衛生研究所: 東京都新宿区百人町 3-24-1

^{*3} 実川久美子, 肥田野信: 日本皮膚科学会, 東京地方会 548 会, Mar. 1977 (東京)

かった。そこで患者から提出された K クロレラについて、マウスを用い動物試験を行ったところ、光過敏症の発現がみられた。

光過敏症に関しては、Clare⁴⁾ や橋本⁵⁾ などの総説にあるように、食餌由来の場合、動植物中のある種のけい光性物質により起こることが知られている。この中にはポルフィリン類が含まれ、その一つに chlorophyll 分解物によるヒト⁶⁾ や家畜⁷⁾⁻⁹⁾ の中毒例がある。

クロレラは錠剤やエキスの形で販売されるようになって久しく、特に近年ではいわゆる健康食品として愛用されてきていた。しかしながら今まで、今回のような皮膚炎を起こしたという報告はなかった。

著者らは、クロレラ乾燥物中に約 3% の chlorophyll が常在していること¹⁰⁾ から、何らかの原因でこの chlorophyll が分解したために、今回のような皮膚炎が発症したものと推定した。そこで chlorophyll 分解物を主体に原因物質の検索を行い、またその成因についても検討を加えたので報告する。

実験材料と方法

1. 試料

- 1) K クロレラ (患者および苦情者服用残品) 12, 同 (市販品) 37
- 2) K 社所有乾燥クロレラ原末 10
- 3) K 社製クロレラ顆粒 12
- 4) 市販クロレラ錠 (K 社製を除く) 38
- 5) 乾燥クロレラ原末 15
- 6) クロレラ関連製品 (シロップ, CGF カプセル等) 5
- 7) クロロフィル製剤 (試薬用) 3

以上合計 132 検体について試験を行った

2. 試薬

- 1) Pheophorbide a: (株) ヤクトから提供されたも

のをエチルエーテルに溶かし、15% 塩酸で抽出される区分を、3.3 項の条件により薄層クロマトグラフィー (以下 TLC と略す) を行い、そのメインスポットを抽出して標品とした。

2) Pheophorbide a 標準溶液: 1) で得た標品 2 mg をエチルエーテル 250 ml に溶解し標準溶液とした。

3) Methylpheophorbide a: (株) 多摩生化学研究所から提供されたものを、エチルエーテルに溶かし、10% 塩酸と 0.05% 水酸化ナトリウム溶液で洗浄した後、16% 塩酸に抽出される区分を pheophorbide a と同様に TLC に付し標品とした。

4) TLC 用プレート: Merck 社製, Kieselgel 60 を用いた。

5) その他の試薬類はすべて市販特級品を使用した。

3. Chlorophyll 分解物の化学試験

Chlorophyll 分解物では、光過敏症の原因となるものとして pheophorbide や chlorophyllide のような phytol 基の離脱したもの⁴⁾⁻⁹⁾ が知られている。これらの分解物は、Fig. 1 に示すような種々の条件下で chlorophyll から生成され、[] 内に示すようなそれぞれ個々の塩酸数¹¹⁾⁻¹³⁾ を持っている。そこで分解物のエチルエーテル溶液を低濃度塩酸から順次抽出していくと、分解物は各々の塩酸数の順に従い、塩酸層へ抽出分離されてくる。

そこで試料中には塩酸数 21 の pheophorbide b のエステル類などの混在も予想されたことから、当初 22% 塩酸を分解物の抽出に用いることにした。しかし予試験の結果、22% 塩酸中には光毒性のない pheophytine⁴⁾ も多量に移行してくることが分かり、またクロレラ中には chlorophyll a が b の 3 倍量存在する¹⁰⁾ ので、a 型の分解物を対象にして実験を進めることとした。すなわち

Fig. 1. Transformation figure of chlorophyll a and hydrochloric acid numbers

[]: Hydrochloric acid number — % (w/w) of hydrochloric acid which extract two-thirds of chlorophyll derivatives from an equal volume of an ethereal solution

(+): Phototoxicity

(-): Non phototoxicity

pheophorbide a やそのエステルが抽出でき、しかも pheophytine がほとんど移行してこない17%塩酸を使用し、この画分に抽出される分解物の同定と、総量の測定を行った。

3.1 装置

1) 分光光度計 (株)日立製作所製自記分光光度計 EPS-3 T

2) 紫外線ランプ マナスランプ (3650Å) マナス社製

3.2 抽出

クロレラ原末はそのまま、また錠剤と顆粒は乳鉢で粉碎した後、それぞれ約0.1gをホモジナイザーカップ(ガラス製)に秤取り、85 v/v%アセトン 20, 10, 10 ml ずつで3回ホモジナイズし、次いで遠心分離 (3000 rpm) して得られた上清をエチルエーテル 30 ml の入った分液漏斗中に注加した。このエーテル-アセトン混液からアセトンを除去するために、5%硫酸ナトリウム溶液 50 ml ずつで4回緩和に振とうし洗浄した。エーテル層は無水硫酸ナトリウムで脱水後、エチルエーテルで 50 ml とし、これを色素原液とした。

色素原液から 20 ml を分取し、17%塩酸 20, 10 ml ずつで2回振とう抽出後、塩酸層を合わせ飽和硫酸ナトリウム溶液 150 ml を加えて、塩酸濃度が3%以下になるように希釈した。次いでエチルエーテル 17 ml を加え振とうして、chlorophyll 分解物をエーテル層へ再び転溶させた。エーテル層を分取してエチルエーテルで全量を 20 ml とし、これを分解物抽出液とした。

3.3 TLC による確認

色素原液と分解物抽出液は、30°以下で約1/10量に減圧濃縮後、その10~30 µl をプレート上に塗布した。プレートは暗所で恒湿容器(飽和食塩水を入れ一定湿度とした)中に2時間放置した後、トルエン:エタノール:クロロホルム:水 (300:15:3:0.4) 混液を展開溶媒として暗所において展開した。分離したスポットの検出は、肉眼による確認および紫外線(3650Å)照射による赤色けい光の発現により行った。

3.4 定量

分解物抽出液をエチルエーテルで必要な濃度までに正確に希釈し、667 nm の吸光度を測定する。別に 2. 試

薬の項の pheophorbide a 標準溶液について同様に吸光度を測定し、この吸光度から chlorophyll 分解物総量を算出した。したがって chlorophyll 分解物の総量は pheophorbide a に換算した値で示した。

4. 光過敏症試験⁹⁾

4.1 光線照射装置

装置は Fig. 2 に示した。光源は 500 W シネカラー用タングステンランプ ((株)岩崎電気製) を 70 cm² 当たり4個使用し、ケージ底部から 50 cm 離して設置した。この時の平均照度は約 7000 Lux である。また熱線や紫外線の影響を避けるため、ケージ上部に硬質透明塩化ビニル樹脂製水槽を置き通水(水深3cm)した。さらにケージ内温度を 27°以下に保つため送風した。

4.2 実験動物

5~6週令、体重約25gのICR系雄マウスを、1群3匹に分け使用した。

4.3 実験食

クロレラ錠剤と顆粒は乳鉢で粉碎した後、また原末はそのままをマウス飼育用 C-3 飼料粉末 ((株)日本クロレラ製) と 1:1 の重量比で混合調製した。

4.4 投与法と飼育条件

飼育室はできるだけ暗くして、橋本ら⁹⁾の方法に準じ実験食で連続5日間飼育した。なお飲水は水道水を与えた。

4.5 マウスに対する光線照射と光過敏症発現度の判定基準

実験食で飼育したマウスは、Fig. 2 に示した装置で光線を2時間照射し、症状の発現度を観察した。観察は光線照射中、終了直後、および24時間後の3時点でを行い、光過敏症の程度を次の4段階に分けて判定した。

1) 陰性 (-) 照射終了直後に何ら異常を認めないもの、あるいは照射終了後2時間ぐらいいまで、耳の血管の怒張と紅斑を認めるが24時間後には回復するもの。

2) 陽性度 I (+) 観察期間中、耳の血管怒張、紅斑、腫脹、痒痒状態が継続して認められるもの。

3) 陽性度 II (++) 2) の症状のほかに、顔面の腫脹がみられ、さらに背部などに触れると狂奔状態を呈するもの

4) 陽性度 III (+++) 2) および 3) の症状に加えて、狂奔状態が激しく照射後まもなく死に至るもの、あるいは生存しても照射後3~4日目に耳の壊死、脱落、顔面や背部の脱毛および潰瘍を起こしたものの。

5. クロレラ顆粒の調製

K社が顆粒の原料としていた光過敏症陰性の乾燥クロレラ原末を用い、chlorophyllase の至適作用濃度¹⁰⁾ が 50%含水メタノールであるので、50%含水メタノールと同エタノールおよび水の3種の溶媒を用いた。原末をそれぞれの溶媒で練り合せ顆粒を作り、K社の場合と同条件の80°で30分乾燥した。

Fig. 2. Apparatus of photosensitivity test

Fig. 3. Thin-layer chromatograms of chlorophyll-derivatives in chlorella
TLC plate, Merck Kieselgel 60; Mobil phase, toluene: ethanol: chloroform: water
(300:15:3:0.4)

- (1) Chlorella induced photosensitivity dermatitis in mice
- (2) Chlorella no induced photosensitivity dermatitis in mice
- (3) Chlorella granule produced with 50% ethanol
- (4) Pheophorbide a
- (5) Methylpheophorbide a
- (6) Pheophytine a
- (7) Chlorophyll a and b

結果と考察

1. Chlorophyll 分解物の化学試験

1.1 TLC による定性

色素原液と分解物抽出液の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示した。

1) 色素原液 いずれの試料も緑、黄、黒かつ色など10数種のスポットが検出された。動物で光過敏症を発現するKクロレラでは、Fig. 3 [I] の (1) にみられるように多数のスポットが認められ、特に大きな黒かつ色のスポット A と B が特異的に検出された。また光過敏症陰性のクロレラでは、[I] の (2) のクロマトグラムにみられるようにスポット A は著しく小さく、またスポット B は検出されなかった。

2) 分解物抽出液 光過敏症を発現する K クロレラでは、Fig. 3 [II] の (1) にみられるように A, B, C および D の4種のスポットが検出され、特に A と B は大きく、めいりょうに認められた。しかしながら光過敏症陰性の K クロレラでは、[II] の (2) に示したようにスポット A が辛うじて認められただけであった。

そこで分解物抽出液から検出された4種のスポットをそれぞれかき取り、エチルエーテルで溶離した後、可視

部吸収スペクトル測定、3段階 (3%, 8%, 17%) の塩酸分配、0.05%水酸化ナトリウム溶液中への移行性、熱水酸化カリウムメタノール溶液中における chlorin e_8 生成の¹⁴⁾有無などを調べた。その結果から4種のスポットは、それぞれ次のような chlorophyll 分解物であると同定した。

(a) スポット A R_f 値および吸収スペクトルが pheophorbide a 標品と一致し、また文献記載^{15), 16)} の pheophorbide a の吸収スペクトルとも一致した。さらに17%塩酸や、アルカリに転溶すること、chlorin e_8 が生じることなどから、A は色素酸の一種である pheophorbide a である。

(b) スポット B R_f 値および吸収スペクトルが methylpheophorbide a 標品と一致し、また文献記載^{17)~19)} の吸収スペクトルとも一致した。さらに17%塩酸に転溶するが、アルカリには転溶しないことから、B は pheophorbide a のエステルである。なお後述のように、含水メタノールおよびエタノールで顆粒を調製した時に生成するエステル類は、前述の TLC でも分離不可能であり、また吸収スペクトルも同一であることから、エチルあるいはメチルエステルであるかは判別できな

った。しかしながら本調査中に K 社では製造工程でエタノールを使用していた事実が明らかとなったことから、B は ethylpheophorbide a であると考えられる^{13,17)}。

3) スポット C および D A および B に比べ少量であることから同定できなかったが、吸収スペクトルなどの性状から chlorophyll 分解物であると考えられる。

Pheophorbide a は、Clare^{4),6)} や Topper⁷⁾ などにより光毒性物質であることが明らかにされているが、しかし ethylpheophorbide a の光毒性については明らかでない。

1.2 クロレラ中の chlorophyll 分解物の総量

光過敏症を発現する K クロレラから得た分解物抽出液と pheophorbide a 標品の吸収スペクトルは、Fig. 4

Fig. 4. Absorption spectra of chlorophyll-derivatives in diethylether

—, Chlorophyll-derivatives in 17% hydrochloride fraction extracted from the chlorella that induced photosensitivity dermatitis in mice

---, Pheophorbide a

にみられるようによく類似している。一方、光過敏症を発現しないクロレラの場合でも、同様な吸収スペクトルを示すが、発現するものと比較すると吸光度は著しく低い。そこで各種試料の一部から得た分解物抽出液中の分解物の総量を pheophorbide a に換算してその値を Table 1 に示した。

マウスで光過敏症を発現する K クロレラ (患者服用残品および市販品) は平均 510 mg % (最高 815 mg %, 最低 290 mg %) であり、また K 社製造の顆粒では平均 420 mg % であった。一方、光過敏症を発現しない他社製クロレラ錠剤と K 社または他社使用の原末は、平均 50 mg % (最高 160 mg %, 最低 10 mg %) と低値であった。したがってクロレラのうち光過敏症を発現するものとし、ないものとを比較すると、分解物を pheophorbide a としてみた場合、発現するものの方が平均値で約 10 倍も多く含まれていたことになり、患者服用残品の K クロレラには、すべて多量の chlorophyll 分解物が存在していたことが明らかになった。

2. クロレラ錠などの光過敏症試験

供試試料すべてについてマウスによる光過敏症試験を実施し、その結果を Table 2 に示した。光過敏症を発現する試料は K 社製品に限られ、K クロレラの患者服用残品 12 件すべてと市販品 37 件中 24 件、および顆粒 12 件中 11 件であった。これらのうち患者服用残品は、陽性度 II (H) 以上という強い光過敏症を呈した。なお患者服用残品を投与したマウスでも、光線を照射せず暗所に放置したものは、全く異常が認められなかった。一方、K 社が使用していた乾燥クロレラ原末も 10 件全部と、他社の原末 15 件および錠剤 38 件は、1 件も光過敏症を発現するものがなかった。

このような光過敏症を発現した K クロレラの製造年月日は、打錠の中間工程に顆粒成型を入れた方式をとっていた 52 年 4 月初旬以前ののものに限られていた。K 社では同年 4 月中旬以降直接打錠方式 (直打式) に切り替えており、これ以降の製品については、光過敏症を発現

Table 1. Relation between the Contents of Chlorophyll-derivatives and the Photosensitive Responses in Mice Fed with Tablets, Granule or Dried Powders of Chlorella

Maker	Materials	No. of sample	Photosensitive response in mice	Contents of pheophorbide ^{a)}		
				Max. mg%	Min. mg%	Av. $\pm$ S. D. mg%
K Co.	Tablet	16	+	815	290	510 $\pm$ 150
		9	—	230	65	110 $\pm$ 60
	Granule	2	+	470	360	420
		1	—	60		60
	Dried powder	4	—	130	10	60 $\pm$ 50
Other than from K Co.	Tablet	23	—	160	10	50 $\pm$ 40
	Dried powder	15	—	110	10	60 $\pm$ 30

^{a)} Contents of total chlorophyll-derivatives in chlorella were calculated as pheophorbide a.

Table 2. Results of Photosensitive Response in Mice Fed with Chlorella or Related Products

Materials	Maker	Discription	No. of sample	Photosensitive response in mice	
				(+)	(-)
Tablet	K Co.	Leftovers collected from patients	12	12	0
		Goods on the market	37	24	13
Granule		—	12	11	1
Dried powder		—	10	0	10
Tablet	Other than from K Co.	Goods on the market	38	0	38
Dried powder		—	15	0	15
Related products of chlorella (syrup; etc.)	Other than from K Co.	Goods on the market	5	0	5
Mg-chlorophyll Cu-chlorophyllin Fe-chlorophyllin	Reagent grade		3	0	3

Table 3. Relation between the Photosensitive Responses in Mice Fed the Diets Containing Chlorella and the Contents of Chlorophyll Derivatives in Chlorella

Group	Contents of pheophorbide ^{a)} mg%	Mice			Photosensitive responses	
		No.	Body weight g	Intake of chlorella (g/day/animal)		
A	80	5	25±0	ca 1.5	(-)	0/5
B	300	5	25±0.7	1.5	erythema on the ears	5/5
					swelling on the ears	4/5
C	400	5	25±1.2	1.5	erythema & swelling on the ears	5/5
					edema on the face	3/5
					rashing habbit	3/5
D	600	5	25±0.8	1.5	death	5/5

^{a)} Contents of total chlorophyll-derivatives in chlorella were caluculated as pheophorbide a

するものはなかった。一方、今回調査した K 社以外の製品は、すべて直打式をとっているものであった。これらのことから K 社における製法の切り替えと、皮膚炎の発生時期との間に深い関係があることが明らかとなった。

3. Chlorophyll 分解物の含有量とマウスの光過敏症発現度との相関関係

分解物含有量の著しく異なる 4 種の K クロレラで実験食をつくり、マウスに対して 1 日間摂取させた後光線を照射し、光過敏症発現度の比較を行った。この結果を Table 3 に示したが、分解物含有量の多いものほど光過敏症が強く発現し、用量-反応関係が認められた。特に最も分解物量の多い D 群では激しい症状を呈し、照射後 3 時間以内にすべて死亡した。また D 群の実験食に用いた K クロレラを 1/5 量の 10% 添加食にして試験したところ、50% 添加の場合より症状は軽減し、B 群食と同

じ陽性度 I (+) となった。

次いで A 群と D 群に与えた K クロレラについて、実験方法 3 項の操作に従い分解物の抽出を行い、抽出残留物、色素原液、分解物抽出液およびその残液（このものは中性となるまで水洗した）の 4 画分に分けた。それぞれの画分を原クロレラ 50% 添加に相当する量を飼料に加え、減圧下で溶媒を留去して実験食を調製した。これらでマウスを飼育し、光線照射を行ったところ、D 群のクロレラから抽出した色素原液と分解物抽出液とだけに光過敏症の発現がみられた。しかし症状の程度は、K クロレラをそのまま実験食に添加して飼育した場合よりも弱かった（陽性度 I）。このような相違は、光を当てた pheophorbide が光学的活性を失うという報告⁹⁾があることからみて、抽出精製過程で分解物の活性度が変化したことによるものとも考えられる。

4. クロレラ中 chlorophyll 分解物の摂取量

患者の分解物摂取量は、服用残品中の chlorophyll 分解物量と服用量 (15~70錠) から換算すると, pheophorbide a に換算して 25~130 mg/man/day となる。またこれから人に対する最少作用量を, 25 mg/man/day と仮定すると, 光過敏症を発現しない他社製のクロレラ錠で分解物が最高値を示した 160 mg% のものを 1日 100 錠服用した場合には, 最少作用量に達することになり, 光過敏症を発現する可能性があると思われる。今回の調査においても, 実際に 1日 100 錠服用していた者もあり, このような多量服用の危険性について認識を深める必要があるものと思われる。

また, 本実験に用いたマウス (体重約 25 g) の K クロレラ摂取量は 1日平均約 1.5 g であった。これをもとに, マウスが摂取した chlorophyll 分解物の総量を算出すると, pheophorbide a に換算して 18~36 mg/100 g body weight (B. W.)/day となる。また前述の 3. 項で述べたように, D 群の場合には K クロレラを 10% 添加に減じて弱く光過敏症を呈するので, 本実験におけるマウスに対する最少作用量は, 7 mg/100 g B. W./day という結果が得られた。

光毒性物質の中毒量については, ラットに対する pheophorbide の 1 回経口投与の場合, Topper ら⁷⁾は 5 mg/100 g B. W., 山田⁸⁾や磯部⁹⁾らは 10 mg/100 g B. W., また堤ら²¹⁾はマウスに pyropheophorbide a 5 mg/100 g B. W. を与えて光過敏症が起きたと報告しており, 今回得られたクロレラ中の chlorophyll 分解物摂取量もこれらに匹敵する量で発症している。

5. Chlorophyll 分解物の成因

前述のように, K 社で使用していた乾燥クロレラ原末は, 光過敏症が発現しないのに, これから作られた顆粒や錠剤では光過敏症が発現したことから, 顆粒製造工程で分解が起きたものと推定された。この顆粒は, K 社が打錠しやすくするために独自に含水アルコールを使い製造していたものである。

そこで, K 社所有乾燥クロレラ原末で実験的に顆粒 3 種をつくり, chlorophyll 分解物の定性, 定量および光過敏症試験を行った。Table 4 に示したように, 3 種の顆粒はいずれも原料の乾燥クロレラ原末に比べて著しく多量の分解物が生成され, その総量は患者服用残品 K クロレラと同程度のレベルにまで達した。また TLC の結果では, Fig. 3 の [I] の 3 と [II] の 3 に示したように, 50% 含水エタノールで作った顆粒は, 患者服用残品 K クロレラと同様に pheophorbide a のスポット A が多量に検出され, ethylpheophorbide a と思われるスポット B も著明に検出された。また含水メタノールで作った顆粒から得たスポット B はメチルエステルのはずである^{11), 12), 13)}が, これら 2 種のエステル類は, TLC 上で同一の R_f 値を示し分離できなかった。また可視部

Table 4. Relation between the Contents of Chlorophyll-derivatives in Experimental-made-granule and the Photosensitive Responses in Mice Fed the Diets Containing those Granules.

Chlorella	Kneading solvent	Contents of pheophorbide ^{a)} mg%	Photosensitive response in mice
Powder A	(-)	40	-
	50% MeOH	730	+
	50% EtOH	460	+
Powder B	(-)	40	-
	50% MeOH	560	+
	Water	700	+

^{a)} Contents of total chlorophyll-derivatives were calculated as pheophorbide a.

吸収スペクトルも両者同一であり, 区別できなかった。

一方光過敏症試験では, これら 3 種の顆粒は, 分解物含有量が同レベルの患者服用残品 K クロレラよりも発症の程度は弱かったが, 光過敏症を呈した。(陽性度 I)。光過敏症の発現度が弱った原因は, 実験的に作った顆粒が K 社製のものと比べてかなり硬く, 崩壊性も悪いことから, 消化吸収率が低下したこと²²⁾などが考えられるので, この点についてはさらに検討を進めている。しかしながらこれらの分解物は, 少なくとも光過敏症発現に対して有力な因子として作用したことは間違いない。

以上の結果から, K 社の乾燥クロレラ原末には, chlorophyllase が失活することなく残存しており, 含水アルコールや水により chlorophyll の分解が促進され, 多量の分解物を生成することが確認された。

結 論

東京都内および近郊で続発した今回の皮膚炎は, 多量の pheophorbide a などの chlorophyll 分解物を含む K クロレラ服用に起因する光過敏性皮膚炎と判定した。これら分解物の成因は, 乾燥クロレラ原末に失活することなく存在した chlorophyllase による chlorophyll の分解が, 打錠に先立つ顆粒製造に使われた含水エタノールによって促進されたことによると結論付けた。

また, 光過敏症試験陰性の一般市販品にも, これらの chlorophyll 分解物が必ず微量含まれており, 多量服用した場合には, 発症する可能性もあると考えられる。また chlorophyllase 活性が残っているクロレラ製品では, 吸湿によっても分解が進んで光毒性物質をつくる恐れがある。したがって今後このような事件を繰り返さないために, 保存や流通過程における十分な取扱い上の配慮と, さらに服用量の適切な指示が必要と考える。

本事件は, クロレラだけではなく, いわゆる健康食品についても, 早急に衛生学的検討を行い, 規格基準を作

成するなどの必要性があることを示唆する事例であった。

謝 辞

本研究のために試料収集、疫学的調査などを担当された東京都衛生局食品衛生課、駒井嘉明係長ほか課員のかたがた、および標品の御提供をいただいた(株)ヤクルト研究所 遠藤 寛氏ならびに(株)多摩生化学研究所 額春樹氏に深謝致します。

本報の一部は、日本食品衛生学会第34回学術講演会(1977年10月、岐阜)で発表した。

文 献

- 1) 田村行弘, 西垣 進, 真木俊夫, 嶋村保洋, 直井家壽太: 東京衛研年報. 29-1, 250 (1978).
- 2) 駒井嘉明, 大貫憲一, 山岸 宏, 白鳥憲行: 食品衛生研究, 28, 747 (1978).
- 3) 実川久美子, 肥田野信: 皮膚科の臨床, 19, 別表-2 (1978).
- 4) Clare, N. T.: Advanc. in Vet. Sci., 2, 182 (1955).
- 5) 橋本芳郎, 堤 淳三: 食衛誌. 4, 185 (1963).
- 6) Clare, N. T.: New Zealand J. Sci. Technol., 24, 202 (1943).
- 7) Topper, B. A., Lohrey, E., Hove, E. L., Russell, M. A.: J. Sci. Fd. Agric., 26, 277 (1973).
- 8) 山田幸二, 中村延生蔵: 栄養と食糧 25, 466 (1972).
- 9) 磯部明彦, 木村俊一: 同上, 29, 221 (1976).
- 10) 武智芳郎編: “クロレラ その基礎と応用” p. 29 (1971) 学習研究社.
- 11) Willstätter, R., Stoll, A.: “Untersuchungen über Chlorophyll”, 262(1913) Verlag von Julius Springer, Berlin.
- 12) Vernon, L. P., Seely, G. R.: “The Chlorophylls” p. 75 (1966) Academic Press, New York and London.
- 13) Goodwin, T. W.: “Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment 1” p. 5 (1976) Academic Press, New York and San Fransisco.
- 14) Ellsworth, R. K., Canney, C. F.: Photosynthetica, 9, 333 (1975).
- 15) Hyninen, P. H.: Acta Chem. Scand., 27, 1771 (1973).
- 16) Wickliff, J. L., Aronoff, S.: Anal. Chem., 6, 39 (1963).
- 17) Holt, A. S.: Am. J. Botany, 41, 701 (1954).
- 18) Holt, A. S.: Can. J. Biochem. Physiol., 36, 439 (1958).
- 19) Todd, G. W., Galston, A. W.: Plant Physiol., 29, 311 (1954).
- 20) Chiba, Y., Aiga, I., Idemori, M., Satoh, Y., Matsushita, K., Sasa, T.: Plant & Cell Physiol., 8, 623 (1967).
- 21) Tsutsumi, J., Hashimoto, Y.: Agr. Biol. Chem., 28, 467 (1964).
- 22) 篠 園彦, 速水 決: 昭和33年度国立栄養研究所研究報告, p. 21 (1958).