フェオホルバイド a 投与ラットの光照射による中毒発現と 血液成分の変動

(昭和 57 年 5 月 10 日受理)

松浦 栄一^{*1*4} 斎藤由美子^{*1} 石田 博子^{*1} 関 洋二^{*2}
三木 和保^{*2} 富金原 孝^{*2} 河原 裕憲^{*3} 伊藤 宏^{*4}

Toxic Effects and Changes of Blood Components by Photodynamic Action Induced by Pheophorbide-a in Rats.

Eiichi MATUURA^{*1,*4}, Yumiko SAITO^{*1}, Hiroko ISHIDA^{*1},
Yoji SEKI^{*2}, Kazuho MIKI^{*2}, Takashi FUKIMBARA^{*2},
Hironori KAWAHARA^{*3} and Hiroshi ITO^{*4}

(^{*1}Department of Food and Nutrition, Faculty of Living Science, Koriyama Womens College: 3-25-2, Kaisei, Koriyama-shi, Fukushima, Japan; ^{*2}Rokko Bio-science Research Laboratory Co., Ltd.: 730-5, Tsurugasone, Yashio-shi, Saitama, Japan; ^{*3}Department of Pathology, Tohoku Dental University: 31-1, Sankakudo, Tomotomachi, Koriyama-shi, Fukushima; Japan; ^{*4}Faculty of Animal Science, Kitasato University: 149-2 Maeyachi, Sanbongi, Towada-shi, Aomori, Japan)

In order to clarify the effects of pheophorbide-a, a *Chlorella*-derived substance with photodynamic activity, the substance was administered orally to rats and on the following day they were irradiated with 20,000 lux of visible light. The toxic effects on these animals were observed, and analysis of blood components and of the resistance of erythrocytes was performed. The results obtained were as follows:

1) Redness was frequently observed on the skin at the auricle and the tail, but scarcely any edema was observed at the occipital and the dorsal positions.

2) LD₅₀ of pheophorbide-a was reduced as the irradiation time with visible light was increased.

3) Toxicity of pheophorbide-a to rats no longer seen by the 4th day after administration, so this substance might be relatively quickly excreted or decomposed.

4) The number of erythrocytes, levels of hemoglobin concentration and hematocrit were increased in the experimental animals. It was also observed that the percentage of rod-shaped nuclear neutrophilic leukocytes in the leukocyte population increased ($p < 0.05$) and that of lymphocytes decreased significantly ($p < 0.05$).

5) Among serum electrolytes, no significant differences in the levels of calcium and inorganic phosphorus were recognized between the animals of the experimental group and the control group. However, the sodium level of the experimental group showed a significant decrease and the potassium level showed a marked increase as compared with those of the control group.

6) There were no significant differences in serum bilirubin content, serum protein fractions and lipoperoxidase level between these two groups.

7) Among serum enzymes, no differences in the levels of GOT, GPT, LDH and Al-P

^{*1} 郡山女子大学: 福島県郡山市開成 3-25-2

^{*2} (株) 鹿光生物科学研究所: 埼玉県八潮市鶴ヶ會根 730-5

^{*3} 東北歯科大学: 福島県郡山市富田町字三角堂 31-1

^{*4} 北里大学獣医畜産学部: 青森県十和田市大字三本木字前谷地 149-2

were found between these groups, but the level of CPK of the experimental group was markedly increased compared with that of the control group.

8) No difference of mean corpuscular fragility of erythrocytes was recognized between these two groups.

(Received May 10, 1982)

Key words: フェオホルバイド a pheophorbide-a; ラット rat; 光力学作用 photodynamic action; 血液成分 blood components; 半数致死量 LD₅₀; 赤血球膜抵抗性 corpuscular osmotic fragility

緒 言

クロロフィル関連物質で、食餌性の光過敏症の原因物質^{*5}として挙げられているものは、我が国ではアワビの内臓中のピロフェオホルバイド a¹⁾ 及び高菜漬のフェオホルバイド a²⁾ があり、諸外国では牧草中のフェオホルバイド a³⁾ が知られている。

クロレラの光過敏症の原因物質^{*5}は田村ら⁴⁾、天野ら⁵⁾ 及び真野ら⁶⁾ により、フェオホルバイド a であることが報告されている。

又遠藤ら⁷⁾ によりアルコール処理したクロレラより、10-ヒドロキシフェオホルバイド a と同定される光力学的物質^{*5}が分離されている。

最近天野ら⁵⁾ は、高菜漬で今までフェオホルバイド a として取扱れていた物質は、ピロフェオホルバイド a であることを確認し、又、三木ら⁸⁾ も両物質を純粹に取り出し、クロレラの光毒性を示す物質^{*5} はフェオホルバイド a であり、高菜漬のそれはピロフェオホルバイド a であることを確かめた。

昭和52年、市販のクロレラを比較的大量摂取した人が、直接日光に照射されると、皮膚炎が発生することが報告⁹⁾ された。又、松浦ら¹⁰⁾ は、ラットに高菜漬の粉末を投与し、これに光照射すると、皮膚に紅斑や浮腫、局所の脱毛、耳介及び背部の壊死を引き起こし、ときに致死するもののあることを認め、これは漬物中に含まれるクロロフィル誘導体によることを明らかにした。又、磯部ら⁹⁾ はこの際の動物の死亡原因は、赤血球膜の脆弱化が起こり、そのため赤血球内のカリウムが溶出し、これが心臓の刺激伝導系に作用することによると推察している。

本研究ではクロレラより抽出されたクロロフィル誘導体の1つであるフェオホルバイド a をラットに投与し、その後光照射することによって生ずる外観的症状、致死量及び残存活性、並びに血球数、血液像、血清成分及び

赤血球膜の抵抗性の変化について検索した。

実験材料及び実験方法

1. 実験材料

1) ラット

購入時6週令(体重80~100g)のドンリュウ系雄ラットを、ラット用固型飼料(日本クレア(株)製、CE-2)で3日間、恒温恒湿(温度25±2°、湿度50±5%)の部屋で飼育観察した後、実験に供した。

2) 飼料

供試した基礎飼料の組成は、小麦デンプン70%、ミルクカゼイン20%、大豆油5%、混合塩4%及びビタミン末1%で、等量の熱湯で固型にして給与した。

3) フェオホルバイド a

混合培養法で生産されたクロレラの熱風乾燥粉末(台湾産)約50gをとり、これに70%アセトン約40mlを加えて、一夜暗所で室温(20~25° 冬期はサーモスタット内)で、クロロフィル関連物質の抽出を行った。これをG4のガラスフィルターでろ過し、残渣はアセトンで洗いアセトン抽出液を得た。これに同量のエチルエーテルを加えて、色素をエチルエーテルに移行させ、上層のエーテル層をとり、これを濃度の異なる塩酸(1.8及び15%)で分画抽出し、15%塩酸区分を分取し、同量のクロロホルムを加えて激しく振とうし、しばらく放置して15%塩酸区分をクロロホルムに転溶させた。これをエバポレーターで減圧濃縮してクロロホルムを除き、濃縮物が溶けるまでアセトンを加えた後、エバポレーターで減圧してアセトンをとばし、更に前記同様アセトンを加えた。その中に約3倍量のヘキサンを加え、これを冷蔵庫内に放置して結晶化を計り、折出した結晶をヘキサンで洗いながら吸引ろ過し、フェオホルバイド a の結晶を得た。

この結晶はほとんど純粹に近いが、微量のクロロフィライド、ピロフェオホルバイド a などを含むので、この量の多いものは、再精製した。このようにして、試験材料には夾雑物が可及的に微量のものを用いた(なお、ここで用いたフェオホルバイド a は、鹿光生物科学研究所で精製したものである)。

2. 光照射装置

光照射装置は Hashimoto¹⁰⁾ の使用したものと同一装置を使用した。すなわち、200 W タングステンランプ 8

^{*5} これらの文献に用いられた語は同義語でなければならないが、多少疑義があるので、本稿では、以降光力学的活性物質の語を用いる。

^{*6} 真野 覚、松浦 栄一、関 洋二、富金 原孝：昭和 53 年。日本農芸化学大会講演要旨、p. 394 (1978)

^{*7} 遠藤 寛、市岡 稔、小山 隆子：昭和 55 年度日本農芸化学大会講演要旨集、p. 81 (1979)

個を光源とし、途中に熱線と紫外線を遮断するためガラス製の水槽（水深 2 cm）を設け、常に水道水を流し、照度を 20,000 lux に調整（光電池照度計 SPI 5 型、東芝（株）製）し、照射した。

3. 実験方法

1) 一般症状の観察

飼料 5 g を秤量し、同量の熱水を加えて固型にし、その飼料にフェオホルバイド a 16 mg を加え光照射前日の夕方経口投与し（自由摂取）、翌日 15 時間後に 1 時間照射して、照射中の外観の症状を観察した。

2) 致死量の測定

基礎飼料を 1 匹 1 日当たり 5 g とし、同量の熱水を加えて固型にした。飼料 5 g にフェオホルバイド a を公比 1.5 で 2.00, 3.00, 4.50, 6.70, 10.00, 15.00, 22.50, 33.75, 50.63, 75.99 mg を添加した 10 種の飼料を作り、それぞれ 15 匹のラットに光照射前日の夕方投与し、きれいに摂取したことを確認した。15 時間後照射を行い、1, 2, 3, 4, 5 時間照射時における死亡率を求め、Behren-Kärber^{11), 12)} 法に準じて 50% 致死量 (LD 50 mg/5 g diet/rat) を算定した。

3) 残存活性

5 g 中にフェオホルバイド a 22 mg を含む飼料を光照射前日の夕方投与し、その 15 時間後 (group 1)、2 日目 (group 2)、3 日目 (group 3)、4 日目 (group 4)、5 日目 (group 5) に各々光照射を 5 時間行った。光照射後生存していたラットは、市販飼料 CE-2 を自由摂取させ、恒温恒湿（温度 $25 \pm 2^\circ$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ ）の部屋で 10 日間飼育し、その健康状態を観察した。

4) 血液性状及び血液像

光照射前日の夕方対照群ラット 15 匹に基礎飼料 1 匹当たり 5 g を、実験群ラット 30 匹に 1 匹当たりフェオホルバイド a 16 mg 添加飼料 5 g を投与し、15 時間後照射を 1 時間行った。照射 1 時間後生存ラットを断頭し、放出する血液を採取しヘパリン処理後、500 倍、5000 倍に希釈（東亜自動希釈器 HD 683、東亜医用電子（株）製）し、赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値は Coulter Counter ZF 型 (Coulter Electronics Inc.)、総ヘモグロビン濃度は Coulter Hemoglobinometer (Coulter Electronics Inc.) で測定した。又、これらの値に基づき赤血球恒数、MCH, MCV, MCHC¹³⁾ を求めた。

血液像は塗抹標本を gimsa 染色し、光学顕微鏡で赤血球形態、白血球形態を観察し、その数を百分率で表わした。

5) 血清中の電解質、ビリルビン、タンパク分画、過酸化脂質、酵素活性

光照射前日の夕方実験群ラットにフェオホルバイド a 16 mg を基礎飼料 5 g に添加したものを、対照群には基礎飼料 5 g を投与した。電解質、ビリルビン、タンパク分画、過酸化脂質及び酵素活性の測定にはそれぞれ 30,

28, 30, 45 及び 32 匹のラットを用い、対照群には 15 匹を用いた。15 時間後 1 時間光照射し、直ちに生存ラットの血液を断頭採取し、血清を分離した。血清中のナトリウム、カリウムは炎光分析法、塩素はクロライドメーター法⁴⁾、カルシウムは o-cresolphthalein complexone (ocpc) 法¹⁵⁾、無機リンは Fiske-Subbarou 法、ビリルビンは Evelyn-Malloy 法¹⁶⁾で測定した。

タンパク分画値はセルロース・アセテート膜を用いる電気泳動法でタンパクを分離し、デンストメーター（常光産業（株））で測定した。

過酸化脂質 (lipoperoxide) は、Yagi 法^{17), *8)}で測定した。

Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvate transaminase (GPT) 活性値は Reitman-Frankel 法¹⁸⁾、lactic dehydrogenase (LDH) 活性値は tetrazolium 法¹⁹⁾、alkaliphosphatase (Al-P) 活性値は Kind-King 法²⁰⁾、creatine phosphokinase (CPK) 活性値は Formazan 比色法²¹⁾でそれぞれ測定した。

6) 赤血球膜浸透圧脆弱性試験

実験方法 5) と同一条件で 25 匹のラットに光照射 1 時間後、生存ラットを断頭し放出する血液を採取しヘパリン処理後、赤血球膜浸透圧脆弱性試験を Parpart 法²²⁾で測定した。

実験結果

1. 一般症状

照射開始後 5~10 分以内に耳介を前肢でこすり、呼吸が荒くなり、流涎、立毛、震えや四肢のけいれんが見られ、奇声を発したり、ケージの中を飛び上がったりのが見られた。その他に耳介及び尾に紅斑の出現が全例見られた。

2. 50% 致死量 (LD₅₀)

結果は Table 1 に示すように LD₅₀ (mg/5 g diet/rat) は、照射 1 時間目で 60.48 mg, 2 時間目 15.96 mg, 3 時間目 11.58 mg, 4 時間目 10.21 mg, 5 時間目 8.05 mg であった。照射時間の経過とともに LD₅₀ 値は低下したが、その程度は 1 時間値と 2 時間値において著明で、約 1/4 の値となった。2 時間以降 5 時間までの値の低下は緩慢であった (Table 1)。

3. 残存活性

結果は Table 2 に示すように投与の翌日 (15 時間後) では全例死亡、2 日目は 5 匹中 3 匹死亡、3 日目は死亡例は認められなかったが、耳介及び尾の紅斑が 5 匹中 2 匹に認められた。4 日目、5 日目では耳介及び尾の紅斑等認められなかった。生存したラットは 10 日間の観察で、皮膚の脱毛、耳介の壊死等を示さなかった (Table 2)。

*8 和光過酸化脂質測定用キット説明書：和光純薬工業（株）

Table 1. Effects of Visible Ray on 50% Lethal Dose of Rat Fed with the Diet Containing Various Doses of Pheophorbide-a

mg/5g diet/rat	n	Irradiation time				
		1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr
0 (control)	15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
2.00	15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
3.00	15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
4.50	15	0/15	0/15	2/15	4/15	6/15
6.70	15	0/15	2/15	6/15	10/15	12/15
10.00	15	0/15	2/15	6/15	9/15	10/15
15.00	15	0/15	6/15	10/15	12/15	12/15
22.50	15	3/15	14/15	15/15	15/15	15/15
33.75	15	1/15	15/15	15/15	15/15	15/15
50.63	15	1/15	15/15	15/15	15/15	15/15
75.95	15	12/15	15/15	15/15	15/15	15/15
LD ₅₀		60.48	15.96	11.58	10.81	8.05

Table 2. Toxic Responses on Rat Irradiated at Various Day after the Administration of Pheophorbide-a

Day after administration of Pheophorbide-a	Body-weight (g)	Erythema	Death	Survival time (hour: min)
1	79	+	+	1:10
	77	+	+	1:11
	84	+	+	1:03
	92	+	+	3:00
	93	+	+	1:40
2	92	+	+	2:11
	112	+	—	
	110	+	+	1.50
	94	+	+	3:19
	109	+	—	
3	102	+	—	
	116	+	—	
	110	—	—	
	115	—	—	
	122	—	—	
4	119	—	—	
	125	—	—	
	132	—	—	
	132	—	—	
	131	—	—	
5	114	—	—	
	123	—	—	
	119	—	—	
	127	—	—	
	123	—	—	

Pheophorbide-a (22 mg) was fed with diet to all animals and on the following day they were irradiated with 20,000 lux for 1 hour.

Table 3. Effects of Visible Ray on Blood Components of Rats Fed with a Diet Containing Pheophorbide-a

Diet	Group	
	1 (n=15) Basal	2 (n=17) Basal+ Pheophorbide-a 16 mg
Erythrocyte ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	773 $\pm$ 12*	845 $\pm$ 27 ^{a)}
Hemoglobin (g/dl)	14.5 $\pm$ 0.2	16.0 $\pm$ 0.5 ^{b)}
Hematocrit (%)	50 $\pm$ 1	54 $\pm$ 2 ^{a)}
MCH (μg)	18.7 $\pm$ 0.3	19.1 $\pm$ 0.3
MCV (μ^3)	64.5 $\pm$ 1.2	63.4 $\pm$ 1.2
MCHC (%)	29.3 $\pm$ 0.3	30.0 $\pm$ 0.4
Leukocyte ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	7973 $\pm$ 692	8776 $\pm$ 724
Meta. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stab.	3 $\pm$ 0	4 $\pm$ 1
Segment.	26 $\pm$ 3	34 $\pm$ 2 ^{a)}
Lympho.	67 $\pm$ 3	58 $\pm$ 2 ^{a)}
Mono.	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Eosino.	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Baso.	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

Pheophorbide-a (16 mg) was administered orally to all animals and on the following day they were irradiated with 20,000 lux for 1 hour.

* Mean $\pm$ S.E.

^{a)} Significant difference ($p<0.05$) against Group 1

^{b)} Significant difference ($p<0.01$) against Group 1

4. 赤血球数, ヘモグロビン濃度, ヘマトクリット値, 赤血球恒数, 白血球数, 白血球百分率

照射中にラット 30 匹のうち 13 匹が死亡した。照射 1 時間終了後の生存ラット 17 匹の赤血球を対照群 15 匹のそれと比較すると, Table 3 に示すように, 赤血球数 ($p<0.05$), ヘマトクリット値 ($p<0.05$), ヘモグロビン濃度 ($p<0.01$) は有意に増加した。しかし, Win-trobe の赤血球恒数 (MCH, MCV, MCHC) に変動は認められなかった (Table 3)。

白血球数は両群間に差は認められなかったが, その組成のうち分葉核好中球が有意に増加し ($p<0.05$), 一方リンパ球は有意に減少 ($p<0.05$) した。

5. 血清成分

1) 電解質

照射終了後直ちに生存 17 匹を検査したところ, Table 4 に示すようにナトリウムは対照群に対し有意に減少し ($p<0.05$), カリウムは反対に増加した。その他, 無機リン, カルシウム及び塩素は対照群との間に有意差は認められなかった。

2) ビリルビン

Table 4. Effects of Visible Ray on Serum Constituents of Rats Fed with a Diet Containing Pheophorbide-a

Diet	Group	
	1 Basal	2 Basal+ Pheophorbide-a 16 mg
Electrolytes		
Na (mEq/L)	148.0 $\pm$ 0.8*	143.2 $\pm$ 0.9 ^{a)}
K (mEq/L)	7.5 $\pm$ 0.2	9.2 $\pm$ 0.4 ^{a)}
Ca (mEq/L)	5.1 $\pm$ 0.1	5.1 $\pm$ 0.1
Cl (mg/dl)	101.8 $\pm$ 0.6	100.6 $\pm$ 0.5
P (mg/dl)	15.7 $\pm$ 0.7	15.8 $\pm$ 0.8
Total-bilirubin (mg/dl)	0.90 $\pm$ 0.18	0.95 $\pm$ 0.15
Direct-bilirubin	0.47 $\pm$ 0.11	0.58 $\pm$ 0.10
Indirect-bilirubin	0.43 $\pm$ 0.08	0.38 $\pm$ 0.07
Total-protein (g/dl)	6.3 $\pm$ 0.1	6.6 $\pm$ 0.3
A/G (ratio)	2.4 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.1
Albumin (%)	70.0 $\pm$ 0.7	70.2 $\pm$ 0.7
α_1 -Globulin (%)	10.2 $\pm$ 0.4	11.3 $\pm$ 0.3
α_2 -Globulin (%)	5.5 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.3
β -Globulin (%)	11.3 $\pm$ 0.4	11.4 $\pm$ 0.4
γ -Globulin (%)	2.9 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.3
Lipoperoxide (nmol/ml)	10.05 $\pm$ 0.6	10.04 $\pm$ 0.8
Serum enzymes		
GOT (KU)	200 $\pm$ 7	230 $\pm$ 14
GPT (KU)	23 $\pm$ 3	24 $\pm$ 2
Al-P (U)	27 $\pm$ 3	25 $\pm$ 3
LDH (WU)	609 $\pm$ 54	771 $\pm$ 79
CPK (IU/l)	235 $\pm$ 2	280 $\pm$ 17 ^{a)}

See Tables 2 and 3.

Group 1: n=15

Group 2: electrolytes, n=17; bilirubin, n=14; protein, n=16; lipoperoxide, n=24; enzymes, n=15

生存した 14 匹を検査した結果は Table 4 に示すように各ビリルビン濃度は, 対照群のそれと有意差は認められなかった。

3) タンパク分画

生存 16 匹を検査した結果は Table 4 に示すように, 総タンパク量, アルブミン, グロブリンはいずれも対照群との間に有意差は認められなかった。

4) 過酸化脂質

生存 24 匹を検査した結果は Table 4 に示すように, 対照群との間に有意差はなかった。

5) 酵素活性

生存 15 匹を検査した結果は Table 4 に示すように,

Table 5. Effects of Visible Ray on the Osmotic Fragility (MCF) of Erythrocyte of Rat Fed with a Diet Containing Pheophorbide-a

Diet	Group	
	1 (n=15) Basal	2 (n=15) Basal+ Pheophorbide-a 16 mg
Salt solution %		
0.85	1.99±0.80*	0.34±0.16
0.80	0.24±0.12	0.17±0.11
0.75	0.33±0.12	0.52±0.11
0.70	0.53±0.10	0.76±0.14
0.65	0.84±0.18	0.82±0.12
0.60	0.65±0.14	0.75±0.11
0.55	0.83±0.20	0.87±0.13
0.50	1.07±0.17	1.66±0.23
0.45	5.54±1.25	7.77±1.68
0.40	30.71±14.76	32.77±14.59
0.35	70.00±14.02	79.12±14.59
0.30	90.63±1.72	93.29±12.69
0.20	97.85±1.31	98.01±1.48
0.10	97.76±0.02	99.68±1.64
Salt solution (%) at 50% hemolysis	0.38±0.02	0.38±0.02

See Tables 2 and 3.

CPK 活性値は対照群に対し有意に増加 ($p<0.05$) したが、その他の酵素活性値には差がなかった。

6. 赤血球膜浸透圧脆弱性試験

照射終了後直ちに生存ラット 15 匹を検査した結果は Table 5 に示すように、対照群と同様の結果を示し、50% 溶血度すなわち平均赤血球脆弱性 (mean corpuscular fragility: MCF) に差はなかった。

考 察

光力学的活性物質はいろいろ知られているが、食品に含まれるクロロフィルの分解物¹⁰⁾もその1つである。

高菜漬に含まれるピロフェオホルバイド a の光力学的活性については、ラットを用いた実験により詳しく報告した⁸⁾。今回はクロレラより抽出したフェオホルバイド a を用いた同様の実験を行い、両者における光力学的作用を比較した。

フェオホルバイド a をラットに経口投与後光照射すると、ピロフェオホルバイド a と同様、耳介、尾部の発赤、耳介を前肢でこする動作を示した。すなわち、両者における外観の症状はよく似た点があるが、細部には相違があり、高菜漬投与群は後頭部の浮腫、後頭部、耳介及び背部の潰瘍形成、壊死が認められたが、フェオホルバイドの投与群はそれらが認められなかった。

LD₅₀ 値 (mg/5 g diet/rat) は投与量と照射時間に依

存し、1 時間照射時の LD₅₀ は、2 時間照射の約 4 倍の値を示した。しかし、その後の照射時間による LD₅₀ 値は急変することなく緩やかに低下した。よって、フェオホルバイド a の光力学的活性は、照射開始後比較的短時間内に発現し、生体に著しい影響を与えていることが推察される。

フェオホルバイド a の投与後の光力学的活性は、急速に低下し、投与後 2 日目の照射では、5 匹中 3 匹死亡したが、3 日目の照射では死亡例はなく、紅斑が 5 匹中 2 匹認められたのみであった。このラットを更に 10 日間、市販ラット飼料で飼育し、観察したが、高菜漬投与ではとんどのラットに見られた皮膚の脱毛、耳介の壊死は観察されなかった。この両者の間の差は総タンパク、アルブミンの変化であり、浮腫発現及び皮膚の脱毛、耳介の壊死の有無であると思われる。

血液性状の変化は、フェオホルバイド a を投与し、光照射を行うと、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビンは有意に増加した。一方、高菜漬で生ずる光力学的作用は、白血球、ヘモグロビンはあまり変化なく、赤血球ヘマトクリットは有意に減少することが観察されている²³⁾。磯部ら²⁶⁾の報告でも、野沢菜漬投与の光力学的作用で溶血が起こるのを認めているが、今回のフェオホルバイド a 投与ラットの血液所見は、貧血状態は認められず、むしろ赤血球増多の傾向を示したことは興味深い。

白血球像は、フェオホルバイド a 投与群は白血球中の分葉核好中球が有意に増加し、リンパ球は有意に減少した。

血清電解質のうち、ナトリウムが有意に減少し、カリウムが有意に増加したが、その他の電解質は、対照群との間に差がなかった。高菜漬 (ピロフェオホルバイド a) 投与の光力学的作用発現ラットでは、血清カリウムの増加が報告されているが⁸⁾、この際のカリウムの増加は、赤血球の溶血によると考えられている。又、磯部ら⁹⁾はこの血清高カリウムの原因は、赤血球膜の脆弱化により赤血球内のカリウムが血清に溶出するためであろうと述べている。

本実験の血液は溶血が起こったとみられる所見はなかった。赤血球内のカリウムの溶出の有無については、赤血球内カリウムを検討する必要がある。

血清ビリルビンの各分画はいずれも正常範囲²⁴⁾にあり、対照群との間に有意差はなかった。ビリルビンが血清中に増加するのは、赤血球が大量に破壊され、血清中に遊離ビリルビンが放出されるためである。この点からも溶血が起こったとは考えられない。

血清タンパク分画値中、高菜漬投与の光力学的作用発現ラットは、総タンパク、アルブミンの減少が報告されているが、これはアルブミンが血清から組織に浸出するためと推察され⁸⁾、このため浮腫が生ずると考えられる。しかし、本実験の血清タンパク分画値は対照群との

間に差は認められなかった。

又、高菜漬による実験で、血清過酸化脂質が、対照群に対して有意に増加することが報告されているが⁹⁾、木村ら²⁵⁾も同様の結果を認めており、これはピロフェオホルバイドaの光力学的作用により、赤血球膜に過酸化酵素が生成され、膜内脂質を過酸化したためと推察している。更にその結果、溶血が起こると述べている。しかし、本実験の過酸化脂質は増加が見られず、対照群との間には差がなかった。クロレラ由来のフェオホルバイドaと高菜漬由来のピロフェオホルバイドaの赤血球膜に対する作用が異なるものと思われる。

血清酵素の GOT, GPT, LDH 及び AI-P 活性値は、対照群との間に有意差はなかったが、CPK 活性値は有意に増加した。これに対し、高菜漬の実験は GOT, GPT, LDH 活性値の有意な増加が報告され、これは心筋、骨格筋などに障害を受けているものと推察されている⁹⁾。磯部ら²⁶⁾も同様の結果を報告しており、酵素活性値の増加は、細胞膜の脆弱化が起こり、細胞内液の漏出をきたし、血清中の酵素活性値の増加が起これと考えられている。本実験は CPK 活性値が増加したが、この酵素は骨格筋や心筋などに多く存在するので、クロレラ由来フェオホルバイドaは、これらの臓器に何らかの影響を与えているのかも知れない。

赤血球膜浸透圧脆弱性試験は、対照群との間に差はなく、赤血球膜の脆弱化は認められなかった。

要 約

クロレラより抽出したフェオホルバイドaをラットに投与し、可視光線照射による影響を検討した。

1. 光照射後直ちに耳介を前肢でこすり、又ケージの中を激しく動きまわり、15～30分後に耳介及び尾部の発赤を生じた。

2. 投与量と照射時間に依存した致死がみられた。

3. 残存活性は投与後3日程度認められた。

4. 照射1時間終了後の生存ラットの血液所見は、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリットが共に増加し、血液像は分葉核好中球が増加し、リンパ球が減少した。

5. 血清電解質のうち塩素、カルシウム、無機リンの含有量には変化はなかったが、ナトリウムは有意に減少し、カリウムは有意に増加した。

6. 血清ビリルビンには変化はみられなかった。

7. 血清タンパク分画値及び過酸化脂質値に変化は認められなかった。

8. 血清酵素活性値のうち GOT, GPT, LDH, 及び AI-P 活性値には変化なく、CPK 活性値は有意に増加した。

9. 赤血球膜浸透圧脆弱性に変化は認められなかった。

謝 辞

本報告の発表の許可を与えられた鹿光生物科学研究所

社長、鹿野光雄氏に深く感謝の意を表します。

又、検査分析の御指導を賜りました郡山臨床検査センター所長、高橋 傑氏、主任技師、大内恵子氏に深く感謝の意を表します。

最後に御校閲、御指導を賜りました北里大学衛生学部、安斎 博教授に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 橋本芳郎, 堤 淳三: 食衛誌, 4, 185～191 (1963).
- 2) 山田幸二, 中村延蔵: 栄養と食糧, 25, 466～471 (1972).
- 3) Lohrey, E., Topper, B., Heve, E. L.: Br. J. Nutr., 31, 159～166 (1974).
- 4) 田村行弘, 直木俊夫, 嶋村保洋, 西垣 進, 直井家壽太: 食衛誌, 20, 173～180 (1979).
- 5) 天野立爾, 池 慶子, 内山 充: 食品衛生研究, 28, 739～745 (1978).
- 6) 三木和保, 田島 修, 松浦栄一, 山田幸二, 冨金原孝: 農化, 54, 721～726 (1980).
- 7) 駒井喜明, 太貫憲一, 山岸 宏, 白島憲行: 食品衛生研究, 28, 747～752 (1978).
- 8) 松浦栄一, 平野隆司, 山田幸二, 飯島直子, 河原裕憲: 栄養と食糧, 31, 459～463 (1976).
- 9) 磯部明彦, 佐々木陸郎, 木村修一: 同上, 30, 99～104 (1977).
- 10) Hashimoto, Y., Tsutsumi, J.: Bull. Japan. Soc., Sci., Fisheries, 27, 850～866 (1961).
- 11) 高木敬次郎, 小澤 光: 薬物学実験, 179 (1976). 南山堂
- 12) Kärber, G.: Arch. Exper. Pathol. and Pharmacol., 162, 480～487 (1931).
- 13) 日野志郎: 衛生検査技術講座, 血液学, 107～109 (1970). 医歯薬出版
- 14) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, VII, 33～35 (1971). 金原出版
- 15) 金井 泉, 金井正光: 同上, II, 20～26 (1971). 金原出版
- 16) 金井 泉, 金井正光: 同上, XII, 45～46 (1971). 金原出版
- 17) Yagi, K.: Biochem. Med., 15, 21, 2 (1976).
- 18) Reitman, S., Frankel, S.: Am. J. Clin. Pathol., 28, 56～63 (1957).
- 19) Caband, P. G., Wroblewski, F.: *ibid.*, 30, 234～236 (1958).
- 20) 奥田 清: 臨床検査, II, (医化学実験法講座) 313, 456～460 (1973). 中山書店
- 21) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, VII, 81～82 (1971). 金原出版
- 22) 山木きみよ, 三輪史朗: 臨床検査, 22, 2～5

- (1978).
- 23) 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**, 307~311 (1977).
- 24) 長瀬すみ, 田中寿子: 実験動物の臨床生化学データ, 236 (1976). ソフトサイエンス社
- 25) 木村修一, 磯部明彦, 斎寿 明: ビタミン, **53**, 543~548 (1979).
- 26) 磯部明彦, 木村修一: 栄養と食糧, **29**, 497~500 (1976).