

処理油飼育によるシロネズミの実験的研究

(第1報)

田 中 徹
奥 村 ミサヲ
恩 田 京 子

緒 言

食生活の改善により摂取脂肪量は増加している。しかし一般家庭の日常生活における摂取方法は揚げ物、炒め物の如く同一油脂をくり返し加熱利用することが少なくない。この場合、貯蔵日数が長ければ長い程、貯蔵温度が高い程酸敗は促進され、或は加熱利用により高度不飽和脂肪酸含量の多い程変敗は強く、かつ加熱時間が長い程過酸化価は上昇し、消化吸收に悪影響を与えることが知られている。¹⁾その他処理油の害作用についてその分析法が進むにつれ代謝機構も明らかにされつつある。しかしながら一般家庭での油脂の利用はかなり盲目的で改善される点が多い。

我々は家政学の立場から日常生活に利用されている天ぷら油を用い実際に動物性材料、植物性材料にて衣揚げ処理を加え、その油でシロネズミを飼育し体重の増減、肝脂質TBA値の測定、肝組織の顕微鏡所見を得たのでここに報告する。

実 験 材 料

1. 供試油脂

味の素製天ぷら油 Rot No. 8618のものを購入し、径22cm、深さ4.5cm、厚さ0.1cmのフライパンにて油を600ml注入、動物性材料2,000g（豚・牛肉、イカ、アジetc.）、植物性材料3,000g（ピーマン、人参、いも、ゴボウ、レンコン、玉ネギetc.）を用い、別々に170~180°Cにて前者は120分、後者は135分衣揚げ処理を行い、油脂の性状を第1表に示す如く調製し実験に

第1表 油脂の性状

	過酸化価	T B A 価	酸 価
無 処 理 油	0.767	4.5	0.112
動物性材料処理油	1.483	26.0	0.337
植物性材料処理油	5.000	26.0	0.168

供した。なお油脂の分析は基準油脂分析試験法³⁾によった。

2. 実験動物および飼料

体重50g前後のウイスター系純系雄シロネズミを用いた。標準飼料は Forker⁴⁾らの方法に従った。詳細は既報⁵⁾に同じ。

実 験 方 法

1. 動物の飼育

シロネズミは1群を6頭とし、1頭ずつ別々のカゴにて飼育した。飼料は Forker⁴⁾らの処方で油脂を天ぷら油におきかえ次の5群につき比較検討した。すなわち無処理油9%を投与したものをB群、動物性材料にて処理した油を投与したものをE群、植物性材料にて処理した油を投与したものをD群とし、更に油脂大量投与の弊害を見るため無処理油18%を投与したものをC群（但し casein を30%投与）とした。対照群には固型飼料を投与した（A群）。

飼料は1日1頭当たり平均10gを任意摂取、ビタミン類は強制的に経口投与、水は自由に摂取させた。かくして60日間飼育の後エーテルで麻酔し、断頭放血の後肝臓をすばやく摘出、秤量の後一部にて組織標本を作製した（H. E染色及び Sudan III染色）。また肝総脂質の抽出、測定は Bloor⁶⁾の方法に従い、肝TBA値の測定は Tarladgis⁷⁾らの方法に従った。

2. 組織標本の作製

飼育シロネズミは実験開始より対照群を含めて各群1～2頭ずつを選び51日目、58日目、65日目、72日目に前述の方法にて肝臓を取り出し、次の如き組織標本を作製した。

イ、ヘマトキシリン・エオジン重染色⁸⁾

染色液は P. Mayer の染色液を用い通常のヘマトキシリン染色→塩酸アルコール脱色→水洗→エオジン染色→アルコール分別・脱色→透徹→封入とした。

ロ、脂肪染色（Sudan III染色）⁹⁾

肝臓の水結切片を作り60%アルコール処理→Sudan III 70%アルコール飽和溶液染色→水洗→ヘマトキシリン（P. Mayer）核染色→水洗→グリセリン封入とした。

3. 肝臓脂質の測定

肝臓より脂質の抽出、測定は第2表に示す如く、肝臓の一定量（2～3g）を細かく刻み5倍容のエタノール・エーテル混液（v/v・3：1）を加えて磨砕、更に50mlの同溶媒を加えて60°C、1時間加温抽出を行い冷却の後遠沈する（上清Ⅰ）。その沈渣に同じく50mlの溶媒を加えて攪拌、60°C、30分間加温抽出操作を行い冷却遠沈する（上清Ⅱ）。この操作を再度くり返し（上清Ⅲ）、えられた沈渣を30mlのエーテルで洗い遠沈して先の上清Ⅰ、Ⅱ、Ⅲに合し（抽出液、約180ml）、エバポレーターにて減圧濃縮を行う。後石油エーテルにて一定量（25ml）に溶解、その5mlをとり石油エーテルを蒸発乾固（室温24時間）後秤量して脂質量を求めた。

遠沈
↓
20mlに希釈
↓
{試料 5ml
{0.02M TBA 5ml
↓
15hr. 室温
↓
O. D. 532 - O. D. 600

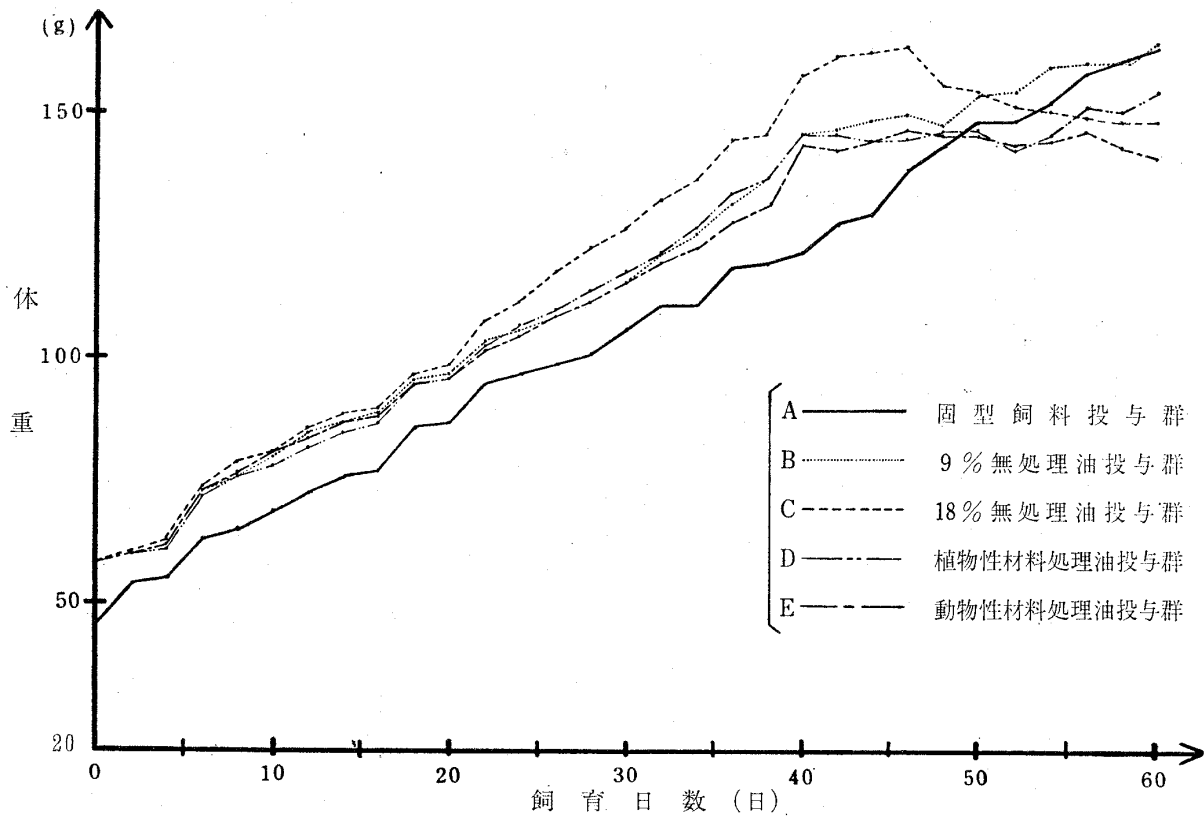
注：O. D. 600は濁りの成分として補正

実験結果

1. 体重の増減

前述の如くA～Eの5群を2ヶ月余飼育した体重増減の状態は第1図に示すように固型飼料投与の対照群，並びに9%無処理油投与群では順調な発育を示すが，同じ無処理油でも18%連続投与すると蛋白質を倍量に補っても飼育2週間経過する頃より鼻出血が目立ち，1.5ヶ月を過ぎる頃より体重の減少をきたす。また動物性材料処理油投与群と植物性材料処理油投与群を比較すると，前者においては飼育40日目頃より下痢，鼻出血，脱毛が生じ，50日目より体重の減少がみられるが，後者においてはそのような肉眼的所見はみられず遅々ではあるが体重も増加の傾向を示した。

第1図



2. 臓器重量

各群の肝臓重量を測定し体重に対する比を求めた結果を第4表に示した。これより対照群、並びに9%無処理油投与群では総じて低く、他の3群では体重に比して臓器重量は高かった。しかしながら植物性材料処理油投与群では他の2群に比してやや低く、この結果は上記成績を指示するものといえよう。

第4表 分析結果

実験群	体重 (g)	肝臓 (%)	肝脂質量		TBA/ g組織	TBA/ 脂質mg
			mg/g組織	総脂質(mg)		
対照群	147	3.24	54.5	176.58	11.1	0.204
9%無処理油投与群	152	5.35	57.7	208.70	15.3	0.265
18%無処理油投与群	148	6.77	55.8	377.67	16.7	0.299
動物性材料処理油投与群	132	6.57	48.0	315.36	22.9	0.477
植物性材料処理油投与群	142	6.10	53.2	324.52	23.6	0.444

注：肝臓 (%) は体重比を表わす

3. 肝臓の顕微鏡所見

肝脂肪の蓄積の度合いを第5表に示した。対照群を(±)とし、それより強い順に軽度(+), 中等度(++) , 強度(+++)とした。

対照群は体重の増加とほぼ並行して肝脂肪の蓄積を認めるが、肝細胞、小葉の変化をみなかった。9%無処理油投与群も対照群とほとんど変化はなかったが、飼育9週を過ぎて大脂肪滴変性の傾向を示し、肝周辺に軽微なる周辺性脂肪化をみた。植物性処理油投与群は飼育7週目までは所見を認めないが、8週を過ぎて同様に周辺性脂肪化が現われ、10週で(++)を示した。もっとも脂肪変性が著明であったのは18%無処理油投与群と動物性材料処理油投与群で、前者は10週、後者は9週で肉眼的に肝臓の色がやや薄れ、肝臓全体がなめらかに丸味を帯び、顕微鏡下では肝臓は脂肪に満ち、脂肪滴は融合して大小の空泡状を呈し(標本作製の際、使用したアルコールにより脂肪が抽出されたものと思われる)、肝細胞、肝小葉の形状も判然としがた

第5表 肝脂肪の蓄積

	対照群	9%無処理油 投与群	18%無処理油 投与群	動物性材料 処理油投与群	植物性材料 処理油投与群
飼育51日	(±)	(±)	(+)	(+)	(±)
飼育58日	(±)	(±)	(++)	(++)	(+)
飼育65日	(±)	(+)	(++)	(+++)	(+)
飼育72日	(±)	(+)	(+++)	(+++)	(++)

(±)対照群, (+)軽度, (++)中等度, (+++)強度

く、中心性脂肪化と周辺性脂肪化が同時に現われた如き所見を示した。この状態は後者に強く、出血を伴う例もあった。

これらの肝脂肪蓄積状態は第4表に示す肝総脂質量並びにTBA値とほぼ一致した。

4. 肝総脂質量並びにTBA値

第4表にみる如く、肝総脂質量は対照群・無処理油投与群では低く、18%無処理油・動物性材料処理油・植物性材料処理油投与群においては総じて高く、三者における大差はみとめられなかった。TBA値についてもやはり対照群・無処理油投与群では低く、18%無処理油投与群では総脂質量が高いにもかかわらずTBA値の上昇はみられなかった。動物性材料処理油・植物性材料処理油投与群では、それより更に上まわる数値を示したが、著しい上昇はみられなかった。おそらく本実験で示した条件では著しい脂質並びにTBA値の増量は認められないものと思われる。しかしながら過酸化脂質の多い油を投与すれば体脂肪の蓄積、並びにTBA値の上昇をきたす事実はこの成績からも伺う事ができる。

考 察 及 び 結 語

1. 体重の増減

森らは植物性の加熱油をネズミに与え、0.5%では阻害なく、1%では成長遅延、2%では生理的阻害作用が現われたと報じ、また梶本は変敗油飼育ラットは生長が劣り、毛並が荒れていると報告した。

我々の知見では、9%無処理油投与群では特に生理的阻害は認められず、体重はゆるいカーブを画いて増加した。しかし18%無処理油投与群では投与蛋白質を倍量に増加したにもかかわらず飼育45日を過ぎ体重は減少を示し、毛並は荒れ、脱毛もみられ性質が荒くなった。これらの所見は動物性材料処理油投与群に強く、飼育40日頃より現われ、且つ鼻出血をみるものがあった。

これらの体重の増減は勿論、主として体脂肪の増減、即ち生体の脂肪処理能力によるものと推察され、脂質の処理能力が円滑であるうちは摂取脂肪の増加に伴って体脂肪の蓄積が見られ、摂取脂肪がその処理能力をこえた場合には、本実験に於ても肝臓の重量が増し肝臓の総脂質量が上昇しているにもかかわらず逆に体重減少をきたしている。

2. 肝臓の重量と顕微鏡所見

肝臓の重量は第4表に示す如く(体重比%)対照群を1とすると、9%無処理油投与群は1.004倍、18%無処理油投与群は2.009倍、動物性材料処理油投与群は2.003倍、植物性材料処理油投与群は1.880倍といずれも増加した。また飼育72日目の肝臓重量(平均)そのものは対照群5.35gに比べて

9%無処理油投与群	9.20g	74%
18%無処理油投与群	9.58g	79%

動物性材料処理油投与群	7.93 g	48%
植物性材料処理油投与群	8.98 g	68%

といずれも増加した。

これは中村ら¹¹⁾の食餌中に脂肪15%を含む食餌を与えると肝脂肪は20%以上になる報告より著しく増えている。この肝臓重量の増加は肝臓に蓄積される脂肪それ自体によるもので、組織的に肝構造に変化の少ないことでも明らかである。蓄積される肝脂肪は周辺性脂肪化で始まり、次第に小葉全般にわたり脂肪肝の所見を示した。この現われ方は向脂肪性物質の欠除と吸収・排泄が障害される為に小葉周辺より発するものと思われる。

一方、動物性材料処理油投与群で脂肪化が高度になる例は中心性脂肪化が同時に発している如き所見を認めたが、この場合の肝細胞の変化は蓄積される脂肪滴にかくれて明らかでなかった。この蓄積脂肪は里和ら¹²⁾の肝脂肪酸構成の報告の如く、植物性材料処理油投与群では飽和脂肪酸が多く、動物性材料処理油投与群では不飽和脂肪酸が増加しているのであろう。

3. 肝総脂質量とTBA値

対照群及び9%無処理油投与群では肝総脂質量・TBA値が共に概して低かった。これは当然であろう。しかし18%無処理油投与群では肝総脂質量が多いにもかかわらずTBA値の上昇が認められていない。これは動物性・植物性材料処理油投与群でもほぼ同様の傾向を示した。このことは生体の個体差は別として、大量の油脂を与えた場合、または毒性を有する油脂を与えた場合にその毒性より守り生体を一定に保とうとする何らかの機構がある為と考えられる。これには脂質の消化・吸収・排泄能力の限界、及び強い毒性を持つといわれる劣化油の尿素非^{1),13),14)}付加物と肝・副腎の防禦作用、及びホルモン・ビタミンの態度など複雑な未知のメカニズムが多い。

4. 我々はシロネズミを動物性・植物性材料で処理した油で飼育し、次の如き結果を得た。

- (1) 過酸化脂質投与によるシロネズミの体重は飼育6週以後は減少を示した。また動物性材料処理油投与群では下痢・脱毛・鼻出血を認めた。
- (2) 肝臓の蓄積脂肪は体重に比して大量投与群(18%無処理油投与群)、動物性材料処理油投与群、植物性材料処理油投与群の順で多かった。病理所見に於ては動物性材料処理油投与群が最も脂肪の蓄積が多かった。
- (3) 肝総脂質量は投与脂肪量の多い群に高かったが、大量投与群と動物性材料処理油投与群では総脂質量が多いにもかかわらずTBA値の著しい上昇をみなかった。

謝 辞

本研究にあたり御便宜を御与えいただいた本学園集団調理研究室の山口講師、山本助手に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 梶本五郎, 向井克憲: 栄養と食糧, **18**(3), 230 (1965)
- 2) 森量夫, 橋本美佐子: 栄養と食糧, **22**(1), 1 (1969)
- 3) 日本油化学協会編: 基準油脂分析試験法, 朝倉書店, P.139
- 4) Forker, B. R., Morgan, A. F. : J. Biol. Chem., **209**, 303 (1954)
- 5) 小林ミサヲ, 恩田京子: 東海学園女子短期大学紀要, **2**, 1 (1966)
- 6) Bloor, W. R. : J. Biol. Chem., **77**, 53 (1928)
- 7) Tarladgis, B. G., Pearson, A. M. and Dugar, L. R. : J. Sci. Fd Agric., **15**, 602 (1964)
- 8) 緒方知三郎編: 病理組織顕微鏡標本の作り方, 南山堂, P.138
- 9) 同上, P.177
- 10) 梶本五郎, 向井克憲, 越智博思: 栄養学雑誌, **26**(3), 123 (1968)
- 11) 中村延生蔵, 山田幸二: 栄養と食糧, **21**(1), 28 (1968)
- 12) 里和スミエ, 久我達郎, 鈴木秀雄, 大島寿美子, 太田富貴雄, 菅家祐輔, 鈴木慎次郎: 栄養学雑誌, **26**(2), 63 (1968)
- 13) O. C. Johnson, F. A. Kummerow, E. Perkins, M. sugai : J. Am. Oil Chemists' Soc., **34**, 594 (1957)
- 14) E. G. Perkins, F. A. Kummerow : J. Am Oil Chemists' Soc., **36**, 371 (1957)
 - ・赤崎兼義編: 病理学各論 I, 南山堂, P.316
 - ・浜崎幸雄, 浜崎美景共著: 病理組織標本の見方と鑑別診断の付け方, 南山堂, P.113