

ホシゴマシズから抽出したジアシルグリセリルエーテルの リパーゼ加水分解性とマウス急性経口毒性

佐藤 剛, 徐 還淑, 遠藤 泰志, 藤本健四郎*

(2001年10月12日受付, 2002年1月31日受理)

東北大学大学院農学研究科

Diacyl glyceryl ether as the major muscle lipid in *Stromateus stellatus*
and its hydrolyzability by lipase and oral acute toxicity on mice

TSUYOSHI SATO, HWAN-SOOK SEO, YASUSHI ENDO AND KENSHIRO FUJIMOTO*

Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Miyagi 981-8555, Japan

A Stromateidei fish, *Stromateus stellatus*, caught in the South Atlantic Ocean has been presumed to be responsible for food poisoning, with diarrhea as the major symptom. The muscle lipids were analyzed to be mainly composed of the equivalent mixture of diacyl glyceryl ethers and triacylglycerols. The major alkyl and acyl components in diacyl glyceryl ether were 16:0 and 18:1 respectively. Pure diacyl glyceryl ether prepared from *Stromateus stellatus* muscle was highly resistant to hydrolysis by porcine pancreatic lipase, however, co-existence of triacylglycerol as the substrate accelerated hydrolysis. Oral acute toxicities of diacyl glyceryl ether and its hydrolyzates were compared with wax ester and triacylglycerol on mice starved for 24 h. The toxicity was found to be in decreasing order as follows: glyceryl ether > monoacyl glyceryl ether > diacyl glyceryl ether > wax ester. The simultaneous ingestion of triacylglycerol with diacyl glyceryl ether enhanced the toxicity of diacyl glyceryl ether. These results suggested that the use of fishes containing diacyl glyceryl ether for food should be carefully considered.

キーワード: ホシゴマシズ, *Stromateus stellatus*, ジアシルグリセリルエーテル, 急性毒性

1999年6月から10月にかけて、南大西洋産のイボダイ科魚類の摂取が原因とみられる、下痢を主症状とする食中毒が長野や大阪の小学校などで発生し、この食中毒について原因魚はホシゴマシズ *Stromateus stellatus* と同定されたが、同属近縁種が混在している可能性も指摘された。¹⁾ 現在までに同属魚であるゴマシズ *Stromateus maculatus* にはトリアシルグリセロール以外に、構造はよく似ているが、グリセロールの1位にエーテル結合を持ったジアシルグリセリルエーテルが多く含まれていることが既に報告されている。²⁻⁴⁾ ジアシルグリセリルエーテルを摂取したときの影響に関しては、飯田²⁾がジアシルグリセリルエーテルを含むゴマシズを食べたヒトが下痢で悩まされたことについて触れており、今回の食中毒でも魚体筋肉に含まれるこれらの脂質成分の関与が推定された。

現在下痢を主症状とする食中毒を起こす脂質成分を含

むために食品衛生法によって販売が規制されている魚種は、長鎖のアルコールと脂肪酸からなるワックスエステルを多量に含むアブラソコムツとバラムツだけである。ワックスエステルは消化されにくく、ヒトでも大量に食べると下痢を起こし、ラットへ大量投与を行うとセボレア症状を引き起こすことが知られている。⁵⁾

アルキルグリセリルエーテルはアルケニルグリセリルエーテルと共にリン脂質の構成成分として微量ながら動物組織中に広く分布しており、動物組織中にはエーテル脂質の生合成および代謝系が存在している。^{6,7)} 一方、ジアシルグリセリルエーテルは、深海ザメやイカの筋肉、肝臓に含まれていることが知られている。^{8,9)} ジアシルグリセリルエーテルの栄養ないし毒性については、ココノホシギンザメ肝油を与えたラットの体重増加は大豆油より明確に劣ったが、消化吸収率は90%とそれほど悪くなかった。¹⁰⁾ また、クロメダイ筋肉油を飼料に混合して

* Tel : 81-22-717-8798. Fax : 81-22-717-8802. Email : fujimoto@biochem.tohoku.ac.jp

ラットに与えた際の体重の増加はトリアシルグリセロールの約1/2と低かったが, ワックスエステル油(アラソコムツ抽出油)よりはタンパク質効率が良かったと報告されている。¹¹⁾しかし, ジアシルグリセリルエーテルを18%含む脂質を添加した飼料でマウスを2年飼育しても病状は全く観察されなかったため, マウスに対する毒性はあっても非常に弱いと判定された。¹²⁾このようにアルキルグリセリルエーテルおよびそのエステルは, 栄養価の点ではトリアシルグリセロールより劣るものの実験用小動物に対する毒性は極めて弱いというのが一般的な考え方である。^{13,14)}

経口摂取したエーテル脂質のヒトへの影響については極めて限られた情報しかないが, 45 mgのパチルアルコールを健康な成人に10日間連続投与しても全く異状は観察されなかった¹⁵⁾のをはじめとし, 長年エーテル脂質を含むサメ類を食用としてきた諸国でも問題がないことから, 少量に限れば毒性の問題はないと考えられている。^{13,14)}しかし, 食中毒例のようにかなり多量のジアシルグリセリルエーテルを一度に摂取した場合の影響については詳しい研究はなく, 飯田²⁾は筋肉脂質にジアシルグリセリルエーテルを含むゴマシズを摂取したヒトが下痢に悩まされた場合があると報告しているが, これは一緒にワックスを含む卵巣を食べた影響とも疑われている。

このように, ジアシルグリセリルエーテルは少量摂取した場合には問題がないことがほぼ確立しているが, かなりの量を一度に摂取した場合の影響については良く分かっておらず, 毒魚の指定を受けているワックスエステル含有魚との比較もなされていない。そこで本研究では, ホシゴマシズから筋肉脂質を抽出し, さらにジアシルグリセリルエーテルおよびその加水分解物を調製してマウスに対する経口急性毒性をワックスと比較しながら検討した。

実験方法

試料 ホシゴマシズはアルゼンチン沖で漁獲され, -30°C で冷凍状態で輸入されたものを平成11年12月に入手した。試料魚は実験に供するまで -25°C で保存した。

試料魚の処理および全脂質の抽出 試料魚6匹は体長, 重量を測定した後, Bligh-Dyer¹⁶⁾の方法に準拠してクロロホルム/メタノール混液(1:2, v/v)を用いて筋肉・肝臓・生殖巣から脂質を抽出した。スケトウダラ肝油はマルハ(株)中央研究所から提供を受けたものを使用した。ワックスエステルはコヒレハダカ *Stenobranchius leucopsarus* の筋肉から抽出, 精製したものをを使用した。¹⁷⁾

脂質クラスの分析 筋肉・肝臓・生殖巣から抽出した

脂質10 mgを1 mLのクロロホルムに溶かし, 薄層クロマトグラフィー(プレート/Kieselgel 60, Merck, Germany; 展開溶媒/ヘキサン: ジエチルエーテル(7:3, v/v))を用いて分離し, 50% H_2SO_4 液を噴霧後 120°C で加熱し, 脂質を検出した。脂質組成を確認した後, イアトロスキヤン TLC-FID法(ロッド/クロマロッド S-III; 展開溶媒/ヘキサン: ジエチルエーテル: ギ酸(80:20:1, v/v); 装置/TH-10, ヤترون)を用いて脂質クラスの定量分析を行った。分析は個体ごとに行い, 平均値 \pm SD.で示した。

ジアシルグリセリルエーテルの精製 ホシゴマシズの筋肉から抽出した脂質試料は, 120°C で2 h活性化させたフロリジル(関東化学)を充填したカラムに供した。溶媒にはジエチルエーテル: 石油エーテル(1:4, v/v)を用いてジアシルグリセリルエーテルを単離し, 消化および毒性試験用試料とした。

ジアシルグリセリルエーテルの組成分析 精製したジアシルグリセリルエーテルをケン化後, BF_3 を用いてメチルエステル化し,¹⁸⁾ GLC分析に供した。また, ジアシルグリセリルエーテルのアルキル鎖は以下のように2,3-O-イソプロピリデン誘導化後,¹⁹⁾ GLC分析を行った。

グリセリルエーテルの精製 精製ジアシルグリセリルエーテルを常法どおりKOHでケン化し, 不ケン化物を水洗後, 無水硫酸ナトリウムで脱水し, 減圧濃縮して試料とした。

モノアシルグリセリルエーテルの精製 精製ジアシルグリセリルエーテル10 mgに蒸留水10 mLを加え, 1,3位特異性のリパーゼ, Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*由来, EC3.1.1.3, Novo Nordisk, Denmark)10 mgを用いて 37°C で20 h インキュベートしたのち, ヘキサン10 mLで3回抽出した。抽出後ヘキサン層は脱水・減圧濃縮し, 分取用TLC(プレート/Kieselgel 60, Merck, Germany; ヘキサン: ジエチルエーテル=7:3, v/v)で展開, プレートにローダミン6Gエタノール溶液を噴霧後, 366 nmの紫外線を照射して検出した。モノアシルグリセリルエーテル画分をかき取り, ジエチルエーテルで抽出, 濃縮し精製試料とした。

モノアシルグリセリルエーテルの脂肪酸分析 酵素分解により調製したモノアシルグリセリルエーテルから BF_3 を用いて脂肪酸メチルエステルを調製して,¹⁸⁾ GLCで分析した。

GLC分析の条件 脂肪酸メチルエステルおよびグリセリルエーテルのイソプロピリデン誘導体はGC-380(ジーエルサイエンス, 東京)を用いて, 次の条件で分析した。

脂肪酸メチルエステルおよびグリセリルエーテルイソプロピリデン誘導体のGLC分析条件。

カラム：CP-SIL 88. (0.25 mm×50 m, Chrompack, Netherland)

検出器：FID.

カラム温度：170 から 225°C まで 3°C/min で昇温.
(ただし、グリセリルエーテル-2,3-O-イソプロピリデン誘導体については、昇温を 4°C/min にした)

注入口および検出器温度：250°C.

キャリアーガス：N₂.

流速：1.0 mL/min.

スプリット比：50：1.

豚すい臓リパーゼによる *in vitro* 加水分解試験 豚すい臓リパーゼ (EC3.1.1.3, 750~1400 units/g, 和光純薬) 20 mg に対してスケトウダラ肝油 (マルハ中央研究所提供), ワックスエステル (コヒレハダカより抽出・精製), ジアシルグリセリルエーテル/トリアシルグリセロール混合物 (ホシゴマシズの筋肉脂質 DAGE/TAG (56 : 44, w/w), ジアシルグリセリルエーテル, モノアシルグリセリルエーテルの 5 基質について *in vitro* の加水分解試験を行った。²⁰⁾ 5 種類の各基質 (10 mg, 50 mg), 1% タウロコール酸ナトリウム 0.4 mL, 45% CaCl₂ 1 mL, 5% アラビアゴムを含む 0.25 M トリス緩衝液 (pH 8.0) 16.6 mL と共に 37°C で 30 min インキュベートした。反応後, ヘキサン/エタノール/濃硫酸 (30 : 20 : 0.1, v/v/v) 20 mL で反応を止め, 遠心分離後, 上澄について TLC-FID 法 (ロッド/クロマロッド S-III ; 展開溶媒/ヘキサン : ジエチルエーテル : ギ酸 (80 : 20 : 1, v/v) ; 装置/TH-10, ヤトロン) により脂質組成を分析した。加水分解試験は各試料について 5 回行い, 平均値±SD. で示した。

マウス経口急性毒性試験 4 週齢 ICR 雄性マウス (日本エスエルシー東京) 体重 17 g を一群につき 5-7 匹づつ 5 群に分け, それぞれに以下の試料を強制経口投

与した。(1)スケトウダラ肝油, (2)ワックスエステル (コヒレハダカより抽出・精製), (3)ジアシルグリセリルエーテル, (4)ジアシルグリセリルエーテル (DAGE)/トリアシルグリセロール (TAG) 混合物 (ホシゴマシズの筋肉脂質 DAGE/TAG (56 : 44, w/w), (5)モノアシルグリセリルエーテル, (6)グリセリルエーテルの 6 試料について, 胃カテーテルを使用して経口投与し, 毒性に応じて減じて投与した。飼料添加物の毒性試験法²¹⁾ ガイドラインに準じ, 投与量はマウスの体重の 1/40, 1/80, 1/160, ジアシルグリセリルエーテルの加水分解物はジアシルグリセリルエーテル相当モル量を投与した。マウスは 24 h 絶食後に試料投与し, その後は固形飼料 (F-2, 船橋農場) を与えた。投与後 2 日間のマウスの死亡数, 体重変化および症状を観察した。尚, 本試験は東北大学大学院農学研究科動物実験委員会により承認を受けて行った。

結 果

Stromateus stellatus の脂質組成 実験に供したホシゴマシズは体長 31.2±2.3 cm, 体重は 524±131 g であった。総脂質含量は全体重の 15~25% であった。筋肉部分に含まれる脂質の主成分は雌雄に関わらず, いずれの個体でもジアシルグリセリルエーテルが 47~60% とトリアシルグリセロールが 32~49% であり, 両者で 90% 以上を占めた。また筋肉部分にはワックスエステルは検出されなかった。次に筋肉以外の肝臓や生殖巣について分析したところ, 肝臓では雌のみに遊離脂肪酸が多かったが, 雄の肝臓ではトリアシルグリセロールが主成分だった (Table 1)。また精巣では, 脂質含量が低く, トリアシルグリセロールは存在せず, リン脂質と遊離脂肪酸が主成分であった。一方, 卵巣では組成が精巣と全く異なり, ワックスエステルが主成分で (84%),

Table 1. Lipid content and composition in various organs of *Stromateus stellatus*

	Muscle	Liver		Sexual gland	
	(6)* ¹	Male (3)	Female (3)	Male (3)	Female (3)
Lipid Content (%)	20.0±5.0	12.1±2.1	10.9±3.2	2.1±0.8	5.6±0.6
Lipid class (%)					
WE* ²	0	0	0	0	84.2±3.9
DAGE	54.7±1.5	0	0	0	0
TAG	40.8±1.7	94.6±1.4	72.1±1.4	0	0
FFA	0.9±0.2	2.5±1.4	20.8±1.6	34.8±5.0	0
ST	0.4±0.3	tr	0.6±0.3	4.6±0.3	1.4±2.8
PL	1.2±0.3	2.0±1.0	3.9±1.0	58.0±6.3	14.2±9.5

*¹ Number of sample fish.

*² WE, wax ester; DAGE, diacyl glyceryl ether; TAG, triacylglycerol; FFA, free fatty acid; ST, sterol; PL, phospholipid.

Values are shown as the mean±SD.

Takada ら⁴⁾の分析値とよく一致した。

ジアシルグリセリルエーテルのアルキル鎖および脂肪酸組成 グリセリルエーテルのアルキル鎖としては 16 : 0, 18 : 1, 14 : 0 の順に多く, 特に 16 : 0 は 50% 以上と高い値を示した (Table 2)。またジアシルグリセリルエーテルの構成脂肪酸組成を Table 2 に示した。アシル化されている脂肪酸は炭素数 14~24 で構成されており, 主成分はオレイン酸で, モノエン酸が全体の約

65% を占めた。エイコサペンタエン酸 (EPA, 20 : 5n-3), ドコサヘキサエン酸 (DHA, 22 : 6n-3) の含有割合はそれぞれ 1.8%, 8.3% であった。また, 著者らのグループは先に本ジアシルグリセリルエーテルの分子種を分析したところ, ジオレオイルパルミトイルグリセロールが主成分であったこととよく一致した。²²⁾ ジアシルグリセリルエーテルよりリパーゼ反応で調製したモノアシルグリセリルエーテルの構成脂肪酸もジアシルグリセリルエーテルと類似した組成を示したが, オレイン酸はジアシル体より少なく, 逆に 20 : 1 が多かった。今回使用したリパーゼは 1,3 位特異型であり, モノアシルグリセリルエーテルの脂肪酸はある程度 2 位の脂肪酸組成を反映しているものと推定される。トリアシルグリセロールの脂肪酸組成もエーテル脂質に類似していた。

豚すい臓リパーゼによる加水分解試験 (*in vitro*)

豚すい臓リパーゼによる加水分解試験では比較対照のため, 基質にスケトウダラ肝油とハダカイワシから調製したワックスエステルを用いて加水分解を行った。Table 3 に豚すい臓リパーゼと反応させた後の脂質組成を示した。スケトウダラ肝油では加水分解がよく進み, 遊離脂肪酸が経時的に増加した。特に基質量が少ない場合には反応後にトリアシルグリセロールはわずかしかなかった。一方, ワックスエステルからは遊離脂肪酸, 遊離アルコールが存在せず, 本条件下では全く加水分解が進まないことが確認された。

次にホシゴマシズの筋肉抽出脂質およびそれから単離したジアシルグリセリルエーテルの加水分解を行った。その結果, ジアシルグリセリルエーテルのみを基質とした場合はほとんど加水分解されず, 基質量は加水分解性に影響しなかった。しかし, ジアシルグリセリルエーテル/トリアシルグリセロール混合物 (ホシゴマシズ筋肉脂質, DAGE/TAG (56 : 44, w/w)) を基質とした時

Table 2. Alkyl and acyl compositions of DAGE, MAGE and TAG in *Stromateus stellatus*

Alkyl composition (%)		Acyl composition (%)			
		TAG*	DAGE	MAGE	
10 : 0	0.5	14 : 0	6.3	4.0	3.9
12 : 0	1.0	14 : 1	0.4	0.5	0.9
14 : 0	8.3	16 : 0	18.9	6.9	5.3
15 : 0	1.9	16 : 1 n-7	6.3	3.9	5.7
16 : 0	57.3	17 : 0	nd	1.6	0.7
16 : 1	1.3	18 : 0	4.7	3.4	3.0
17 : 0	0.7	18 : 1 n-9	31.8	40.6	30.7
18 : 0	3.5	18 : 2 n-6	1.1	1.0	1.4
18 : 1	12.8	18 : 3 n-3	nd	1.6	3.0
others	12.7	18 : 4 n-3	2.3	1.4	2.8
		20 : 0	0.1	1.0	nd
		20 : 1 n-11	5.7	5.5	11.9
		20 : 5 n-3	3.1	1.8	4.6
		22 : 1 n-9	8.5	14.3	16.7
		22 : 5 n-3	nd	1.0	1.6
		22 : 6 n-3	8.7	8.3	3.8
		24 : 1 n-9	nd	1.8	2.1
		others	2.1	1.4	1.9

* TAG, triacylglycerol; DAGE, diacyl glyceryl ether; MAGE, monoacyl glyceryl ether.

Table 3. Lipid composition after incubation with porcine pancreatic lipase (20 mg) *in vitro* (%)

	Pollack liver oil		WE		DAGE		DAGE/TAG (56 : 44, w/w)	
	Before* ¹	After	Before	After	Before	After	Before	After
Substrate weight (mg)		50 10		50 10		50 10		50 10
DAGE* ²		0 0		0 0	100	98.0±0 98.0±0	56.0	51.3±0.6 2.2±0.5
WE		0 0	100	100 100				0 0
TAG	100	72.3±1.9 16.0±2.0		0 0		0 0	44.0	13.3±0.6 0
FFA		11.3±0.5 52.3±2.5		0 0		0 0		14.0±1.0 48.6±2.3
Fatty alcohol		0 0		0 0		0 0		0 0
DAG and/or MAGE* ³		10.5±1.3 9.3±0.6		0 0		1.0±0 1.0±0		18.0±1.7 37.2±3.5
MAG and/or GE		0.8±0.9 21.0±2.6		0 0		1.0±0 1.0±0		3.3±1.2 12.2±3.8

*¹ Lipid composition before and after the incubation with pancreatic lipase.

*² See abbreviations for Tables 1 and 2.

*³ DAG, diacyl glycerol; MAG, monoacyl glycerol; MAGE, monoacyl glyceryl ether; GE, glyceryl ether.

Values are shown as the mean ± SD. (n = 5)

は、基質量が多い場合にはジアシルグリセリルエーテルはほとんど分解しなかったが、基質量が少ない場合にはトリアシルグリセロールが加水分解を受けると共にジアシルグリセリルエーテルもよく加水分解を受けた。またジアシルグリセリルエーテルの部分的加水分解物であるモノアシルグリセリルエーテルについても同時に加水分解試験を行ったが、豚すい臓リパーゼではほとんど加水分解されなかった（データ示さず）。

マウス経口急性毒性試験 Table 4 に脂質試料を経口投与後のマウスの体重変化を示した。トリアシルグリセロールからなるスケトウダラ肝油では体重の1/40量を経口投与しても体重の減少は認められず、また下痢等の異常な症状は全く観察されなかった。しかし、非グリセリド脂質のなかでは、ワックスエステルを投与した群よりもジアシルグリセリルエーテルを投与した群で体重減少が著しく、強い毒性が確認された。毒性の発現したマウスには体重の減少と共に動作の不活発化と衰弱、目の充血、脂漏・下痢状便が観察され、さらにその症状が進んだものは死亡した（Table 5）。ジアシルグリセリルエーテルおよびその加水分解物の毒性を比較すると、グリセリルエーテル>モノアシルグリセリルエーテル>ジアシルグリセリルエーテル/トリアシルグリセロール混合物>ジアシルグリセリルエーテルの順となった。特にグリセリルエーテルの毒性は強く、多量のグリセリルエーテルを投与した群のマウスの死亡率は高くなった。経口投与を6段階の濃度で行ったグリセリルエーテルについて、Behrens法に従ってLD₅₀の概算値を算出してみると、 1.2×10^3 mg/kgとなった。また投与量が少なくなるにつれて死亡率は減少したが、少ない投与量でも体表面が油で濡れる、毛並みが悪くなる等の症状が観察された。モノアシルグリセリルエーテルについてはグリセリルエーテルの投与量から考慮して3段階の投与量で試験を行った。この3段階の投与量では死亡したマウスは非常に少なかったが、80%以上のマウスで体

表面が脂で濡れ、衰弱する個体が多く見られた。

考 察

本研究では下痢を主症状とする食中毒を引き起こしたとされるホシゴマシズの筋肉脂質の分析を行い、主成分であったジアシルグリセリルエーテルおよびその加水分解物のマウス経口急性毒性の評価を行った。筋肉脂質はジアシルグリセリルエーテル55%、トリアシルグリセロール41%とほぼ両者の等量混合物であった。

従来の研究では、ジアシルグリセリルエーテルの消化吸収率は80~90%と比較的よく、⁸⁾ またジアシルグリセリルエーテルあるいはその加水分解物であるグリセリルエーテルの栄養価はトリアシルグリセロールよりは劣るもののワックスよりは高い⁹⁾とされ、毒性についてもないか、あっても極めて弱いというのが一般的な見解であった。¹⁰⁾ 例えば、Alexanderら¹³⁾はマウスに3.4%ジアシルグリセリルエーテルを含む飼料で、これはマウス1匹当たり39 mg/日の摂取量と見積もられるが、2年間飼育してもなんら異状は認められなかったとしている。

今回の急性経口毒性試験におけるジアシルグリセリルエーテルの投与量は体重の1/160では106 mg/日となり、Alexanderらの1日の投与量の約3倍だった。Alexanderらはこの投与量を長期間続けても異状を認めなかったのに対し、今回の実験ではジアシルグリセリルエーテルを体重の1/160量一回投与した場合、死亡したマウスは6匹中1匹だったが、いずれも体重が減少し、著しい衰弱が観察され、1/80量では半数以上が死亡し、毒性が観察された。今回は106 mg/日未満のレベルでは投与しなかったが、Alexanderらの2年間毎日投与して無症状だった2.7倍量を単回投与した結果、このような症状が見られたことから、本研究の方が毒性が強かったことになる。この作用の違いは、Alexanderら¹³⁾が飼料の成分としてジアシルグリセリルエーテルを与えたのに対し、本実験では24時間絶食後に、単独

Table 4. Changes in body weight of mice given DAGE and other lipids during 2 days

	Dose* ¹					
	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280
TAG* ²	1.7±0.7(5)* ³	—	—	—	—	—
WE	-3.2±0.8(5)	-1.0±0.9(5)	-1.7±0.5(5)	—	—	—
DAGE	-4.4±1.7(7)	-2.7±0.5(6)	-3.7±0.9(6)	—	—	—
DAGE/TAG (56 : 44, w/w)	-4.5±0.4(6)	-4.0±1.2(6)	-3.9±1.4(6)	—	—	—
MAGE	—	-3.1±3.1(6)	-3.5±2.6(6)	-3.0±2.6(6)	—	—
GE	-4.8±0.8(5)	-4.5±0.7(7)	-4.4±0.9(6)	-2.4±2.9(7)	-0.9±2.9(6)	-3.2±3.0(5)

*¹ Ratio of administered sample/body weight.

*² See abbreviations for Table 1-3.

*³ Numbers of tested mice.

Values are shown as the mean±SD.

Table 5. Acute toxicity of orally administered DAGE and other lipids on mice

Group	Ratio of administered sample/body weight	Death rate (%)			Diarrhea rate (%) ^{*1}	
		1 day	~2 day			
TAG ^{*2}	1/40	0/5	0/5	(0)	0/5	(0)
WE	1/40	0/5	0/5	(0)	2/5	(40)
	1/80	0/5	0/5	(0)	2/5	(40)
	1/160	0/5	0/5	(0)	2/5	(40)
DAGE	1/40	0/7	4/7	(57)	3/7	(43)
	1/80	0/6	0/6	(0)	3/6	(50)
	1/160	0/6	1/6	(17)	0/6	(0)
DAGE/TAG	1/40	2/6	6/6	(100)	6/6	(100)
	1/80	1/6	4/6	(100)	6/6	(100)
	1/160	0/6	0/6	(0)	0/6	(0)
MAGE	1/160 ^{*3}	1/6	1/6	(17)	5/6	(83)
	1/320 ^{*3}	1/6	1/6	(17)	3/6	(50)
	1/640 ^{*3}	0/6	0/6	(0)	4/6	(67)
GE	1/40 ^{*3}	3/5	4/5	(80)	5/5	(100)
	1/80 ^{*3}	7/7	7/7	(100)	6/7	(86)
	1/160 ^{*3}	6/6	6/6	(100)	6/6	(100)
	1/320 ^{*3}	2/7	3/7	(43)	5/7	(71)
	1/640 ^{*3}	0/6	0/6	(0)	1/6	(17)
	1/1280 ^{*3}	0/5	1/5	(20)	2/5	(40)

^{*1} Rate causing diarrhea or lipid leakage from the vent.

^{*2} TAG, triacylglycerol; WE, wax ester extracted from *Stenobranchius leucopsarus*; DAGE, diacyl glyceryl ether extracted from *Stromateus stellatus*; MAGE, monoacyl glyceryl ether; GE, glyceryl ether.

^{*3} Hydrolysates of DAGE were administered at the equimolar level to DAGE.

で強制投与した点にあると考えられる。消化管中に食物が残っていると投与脂質の吸収に影響があるため今回は絶食後投与したが、そのために毒性が強く現れたものと推定される。今後、エステル脂質における急性毒性の評価に当たっては、絶食の有無や他の食事成分の存在等の諸条件の影響について詳しく検討を加える必要があると思われる。

またジアシルグリセリルエーテルはすい臓リパーゼによる *in vitro* の加水分解に対し抵抗性を示してほとんど分解しなかったが、トリアシルグリセロールが共に存在すると分解性が向上した。その理由としてトリアシルグリセロールの存在によるジアシルグリセリルエーテルのリパーゼの活性化、さらにはトリアシルグリセロールの部分加水分解によって生じたジアシルグリセロールやモノアシルグリセロールさらには脂肪酸が乳化を促進し、酵素作用を受けやすくなったことなどが考えられる。さらにジアシルグリセリルエーテルの経口急性毒性についても、ジアシルグリセリルエーテル単独よりも、ジアシルグリセリルエーテルとしては 1/2 量に相当するジアシルグリセリルエーテルとトリアシルグリセロールの等量混合物からなるホシゴマシズ筋肉脂質の方が毒性は強かった。今回投与したエステル脂質の中で不ケン化物であるグリセリルエーテルの毒性が最も強く、モノアシル

体がそれに続いたことを合わせて考えると、毒性はシル基を失った方が強くなり、筋肉脂質の場合にはジアシルグリセリルエーテル単独よりも消化管内での加水分解が進行しやすいため、毒性が強く現れたものと思われる。ジアシルグリセリルエーテルの単独投与でも毒性が認められたのは、以上のすい臓リパーゼ以外のリパーゼの関与が考えられる。

今回の研究結果から、ジアシルグリセリルエーテルは絶食後の経口投与という条件では従来考えられてきたよりも急性毒性が強いことが明らかになった。その毒性はワックスエステルよりも強く、ジアシルグリセリルエーテル含有魚の取扱については十分な配慮が必要と言える。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課. 衛乳第 240 号, 1999.
- 2) 飯田 遙. *Stromateus maculatus* 肉油中のグリセリルエーテル. 日水誌 1971; **37**: 338.
- 3) Mori M, Hikichi S, Kamiya H, Hashimoto Y. Three species of teleost fish having diacyl glyceryl ethers in the muscle as a major lipid. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1972; **38**: 56-63.
- 4) Takada K, Kamiya H, Hashimoto Y. Studies on lipids of stromateidei fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1979; **45**: 605-610.
- 5) 佐藤美和. ワックスエステルの栄養と毒性. 「海洋動物の

- 非グリセリド脂質」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 1982; 148-158.
- 6) 林 賢治. エーテル脂質の代謝. 「海洋動物の非グリセリド脂質」(日本水産学会誌編) 恒星社厚生閣, 東京. 1982; 101-114.
 - 7) 万倉三正, 鹿山 光. 「エーテル脂質・ワックス・炭化水素」. 総合脂質科学 (鹿山光編) 恒星社厚生閣, 東京. 1989; 180-196.
 - 8) Hayashi K, Takagi T. Distribution of squalene and diacyl glyceryl ethers in the different tissues of deep-sea shark, *Dalatis licha*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1981; **47**: 281-288.
 - 9) Hayashi K, Kawasaki K. Unusual occurrence of diacyl glyceryl ethers in liver lipids from two species of gonatid squids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1985; **51**: 593-597.
 - 10) 金田尚志, 石井清之助, 酒井寿恵, 荒井君枝. 水産動物に含まれる各種成分の栄養価及び毒性に関する研究 I パチル及びセラキルアルコールの栄養価. 東海区水研報 1955; **12**: 41-44.
 - 11) 衣笠豊輔, 荒井君枝, 杉井麟三郎, 井関重夫. アルコキシグリセリドあるいはロウを肉中に多量に含有する魚類の栄養価. 東海区水研報 1977; **91**: 73-91.
 - 12) 神谷久男. グリセリルエーテルの栄養と毒性. 「海洋動物の非グリセリド脂質」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 1982; 141-147.
 - 13) Alexander P, Connell DI, Brohult A, Brohult S. Reduction of radiation induced shortening of life span by diet augmented with alkoxy glycerol esters and essential fatty acids. *Gerontologia* 1959; **3**: 147-152.
 - 14) Mongold HK. Biological effects and biomedical applications of alkoxy lipids. In: Snyder F (ed) *Ether lipids, Chemistry and Biology*, Academic Press, New York. 1972; 157-176.
 - 15) Sandler OE. Some experimental studies on the erthropoietic effect of yellow bone marrow extracts and batyl alcohol. *Acta Med Scand* 1949; **225 Suppli**: 5-72.
 - 16) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959; **37**: 911-917.
 - 17) Seo HS, Endo Y, Fujimoto K, Watanabe H, Kawaguchi K. Characterization of lipids in myctophid fish in the subarctic and tropical Pacific ocean. *Fish. Sci.* 1996; **62**: 447-453.
 - 18) Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* 1964; **5**: 600-608.
 - 19) Donald JH, Janice E, Craig MJ. Studies on the structure of glyceryl ethers and the glyceryl ether phospholipids of bovine erythrocytes. *Biochemistry* 1963; **2**: 630-641.
 - 20) Sampuguna J, Quinn G, Pitas R, Carpenter L, Jensen RG. Digestion of butyrate glycerides by pancreatic lipase *Lipids* 1967; **2**: 397-401.
 - 21) 矢ヶ崎忠夫, 向井清孝. 飼料添加物と毒性試験. 「毒性試験法講座 3 毒性試験法ガイドライン, GLP 基準」(渡邊徹, 堀内茂八編) 地人書館, 東京. 1989; 93-132.
 - 22) Endo Y, Tgiri-Endo M, Seo HS, Fujimoto K. Identification and quantification of molecular species of diacyl glyceryl ether by reversed-phase high-performance liquid chromatography with refractive index detection and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2001; **911**: 39-45.