氏　　名　裏出令子（うらでれいこ）

学位の種類　農学博士
学位記番号　論農博第1164号
学位授与の日付　昭和60年3月23日
学位授与の要件　学位規則第5条第2項該当

学位論文題目　STUDIES ON TOXIC EFFECTS OF DIETARY FATTY ACIDS ON CHINESE HAMSTER V79 CELLS
（チャイニーズハムスターV79細胞に対する食用油脂構成脂肪酸の毒性に関する研究）

論文調査委員　（主査）教授 鬼頭誠　教授 岩井和夫　教授 松下雪郎

論文内容の要旨

本論文は動物培養細胞を用いて，食用油脂の主要構成成分である脂肪酸の害作用のメカニズムをリン脂質代謝の面から解明したもので，その主な内容は次のとおりである。

外因性脂肪酸の直接の作用を解析するために，脱脂した血清を含む培地でも生育可能な細胞（V79-R）をチャイニーズハムスター肺由来繊維芽細胞 V79 から単離した。V79 は脱脂血清培地で生育することのできない細胞であり，モノ不飽和脂肪酸を生育のために要求した。V79 と V79-R の脂肪酸要求性の有無は，両細胞間におけるモノ不飽和脂肪酸生合成能の差に起因することを明らかにした。すなわち通常培地中では低レベルに抑えられているステアロイル-CoA 不飽和化酵素活性が，脂質欠乏によって V79-R 細胞では促進されるのに対し，V79 は本酵素活性の増加能を欠く細胞であることを明らかにした。

V79-R の主要膜リン脂質はホスファチジルコリン（PC），ホスファチジルエタノールアミン（PE）で，両者で約70％を占めていた。脱脂血清培地で生育した V79-R の PC とPE の主要分子種はともに，二つの脂肪酸がオクタデセン酸である 18：1/18：1 分子種であった。オクタデセン酸は二つの位置異性体，すなわちオレイン酸（18：1，△9）とシス-バクセン酸（18：1，△11）で構成されていた。オレイン酸とシス-バクセン酸の生合成経路は培地へ両脂肪酸の前駆体となる脂肪酸を添加し，細胞脂質の脂肪酸分析を行うことによって明らかとなった。シス-バクセン酸はパルミトイル-CoA が△9-不飽和化され鎖長伸長を受けた結果生じたものであり，一方オレイン酸はステアロイル-CoA の△9-不飽和化によって生じたものであった。オレイン酸とシス-バクセン酸の含量比はリン脂質によって異なっていた。また V79-R の生育のために，オレイン酸とシス-バクセン酸は同じように機能しうることを明らかにした。

食用油脂を構成する脂肪酸のうち，飽和脂肪酸の代表であるパルミチン酸の影響を検討した。パルミチン酸は濃度に依存して V79-R の生育を強く阻害した。パルミチン酸の添加によって，細胞当りのリン脂質とトリアシルグリセロール量が顕著に増加した。トリアシルグリセロールは細胞内では結晶化し，リン脂質は膜様のひも状構造として存在していることを透過型電子顕微鏡による観察によって明らかにした。パルミチン酸添加によって PC と PE のオクタデセン酸含量が低下した。これはリン脂質分子種のうち

18：1/18：1分子種の合成量の低下に起因していた。またリン脂質のうち PC の合成量が特に大きく減少していた。

野生種ナタネ油の主成分で，雄ラットの心筋に壊死をおこすことが知られているエルカ酸（22：1，△13）も濃度に依存して V-79-R の生育を阻害した。エルカ酸を添加した細胞の PC と PE の主要分子種は22：1/18：1と22：1/22：1分子種で，本来の主要分子種である18：1/18：1分子種が減少した。これは細胞のリン脂質合成能の低下によるものであった。さらにリン脂質合成能の低下の原因の一つが，*sn*-グリセロール3-リン酸アシルトランスフェラーゼ比活性の低下であることを明らかにした。

マーガリンやショートニングに含まれるトランス型モノ不飽和脂肪酸も，V79-R の生育を阻害した。添加したトランス型モノ不飽和脂肪酸は経時的に細胞のリン脂質に取りこまれた。その結果エライジン酸（18：1，*trans* △9）添加では *trans*-18：1/18：1と *trans*-18：1/*trans*-18：1分子種が生成した。トランス-エイコサモノエン酸（20：1，*trans*△11）とブラシジン酸（22：1，*trans*△13）を添加した場合にも，これらを脂肪酸側鎖に持つリン脂質分子種が生成した。またトランス酸で修飾された V79-R 細胞において小胞体膜に結合性のリン脂質合成酵素の比活性は，トランス酸の種類によって異なる影響を受けた。また酵素によって影響の受け方に差が認められた。

動物細胞は膜リン脂質合成に関して，脂肪酸に対する特異性が低く，外因性の脂肪酸を無条件に取りこんで，膜の構造と機能に重大な影響を与えることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

食用油脂の過剰摂取が成人病の原因の一つとなっている。また食用油脂を構成する脂肪酸の種類と，動脈硬化，血栓症，細胞性免疫能などとの相関性が研究されている。しかしこれらの詳細な作用機構は不明である。

本論文は，単純化された系である動物培養細胞を用いて外因性の脂肪酸の作用機構を解明しようとしたものであり，その内容は次の5点に要約できる。

1) 脱脂血清培地で生育できる細胞 V79-R を，チャイニーズハムスター V79 細胞より単離することに成功した。これは V79-R がステアロイル-CoA 不飽和化酵素活性を有していることによるものであることを明らかにした。

2) V79-R を構成する生体膜のリン脂質は，2個の不飽和脂肪酸を結合した分子種（U-U 分子種）と，1個ずつの飽和及び不飽和脂肪酸を有する分子種が主成分であることを示した。

3) 動物性脂肪の主成分であるパルミチン酸は，U-U 分子種の合成を抑制し，細胞を死に至らしめることを明らかにした。

4) オスラットの心臓に障害を起すことが知られている野生種ナタネ油の主成分であるエルカ酸は，細胞内にとり込まれてエルカ酸を側鎖にもつ分子種を選択的に合成し，膜内に蓄積した。その結果，U-U 分子種は減少し，小胞体膜結合酵素活性は低下することを示した。

5) 水添油でつくられたマーガリンやショートニングに含まれるトランス型不飽和脂肪酸も，やはりリン脂質の構成脂肪酸としてとり込まれ，新しい分子種を膜内に蓄積した。その結果，U-U 分子種は減少

し，小胞体膜の酵素活性をヒステリックに乱すことを明らかにした。

以上のように，動物細胞は生体膜リン脂質合成に関して，基質となる脂肪酸に対する特異性が非常に低いゆえに外因性の脂肪酸を無条件にとり込み，その結果，膜の構造と機能が重大な影響をうけるようになることが明らかにされた。これは食用油脂構成脂肪酸の害作用に関して多くの新知見を加えたものであり，食品工学，食品安全性，脂質生化学の各分野に貢献するところが大きい。

よって，本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお，昭和60年２月22日，論文並びにこれに関連した分野にわたり試問した結果，農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。