

氏 名	山 内 亮 やま うち りよう
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 313 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 食 品 工 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON DISTRIBUTION AND FUNCTION OF TOCOPHEROLS IN PLANTS (植物におけるトコフェロール同族体の分布と機能に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 松 下 雪 郎 教 授 小 清 水 弘 一 教 授 鬼 頭 誠

論 文 内 容 の 要 旨

トコフェロール (Toc) 同族体は植物葉部および種子中に多量に存在する。それらは生体内においてフリーラジカル除去剤あるいは活性酸素分子の消去剤として作用し、生体膜を保護しているものと考えられている。本論文は植物における Toc 同族体の分布ならびに種々の反応性の相違から、Toc 同族体の役割を解明しようとしたもので、内容は次の諸点に要約できる。

1. 種々の野菜、果実中の Toc 同族体を分別定量し、緑色野菜に α -Toc が普遍的に存在し、その含量がクロロフィル量にほぼ比例することを認めた。

2. 大豆種子発芽時の子葉中における Toc 同族体の量的変動と細胞内分布を検討した。 α -Toc は発芽とともに形成されたクロロプラスト画分に含まれ、その量もわずかに増加した。しかしながら、細胞内の貯蔵脂質画分に多量に存在した γ - と δ -Toc は発芽とともに急激に減少し、 α -Toc とは異なる挙動を示した。

3. 脂質過酸化の開始剤となる励起一重項酸素分子 (1O_2) に対する消去作用を検討し、Toc は 1O_2 を効果的に消去し、脂質過酸化を防止することを明らかにした。 1O_2 に対する各 Toc の消去速度は、リノール酸メチルの光増感酸化反応に対する阻害効果から求め、全消去速度定数として、 α -, γ -, δ -Toc それぞれ $2.6 \times 10^8 M^{-1} sec^{-1}$, $1.8 \times 10^8 M^{-1} sec^{-1}$, $1.0 \times 10^8 M^{-1} sec^{-1}$ を、Toc 分子と 1O_2 の化学反応速度定数としてそれぞれ $6.6 \times 10^6 M^{-1} sec^{-1}$, $2.6 \times 10^6 M^{-1} sec^{-1}$, $0.7 \times 10^6 M^{-1} sec^{-1}$ の値を得た。この結果から Toc 同族体による 1O_2 消去がほとんど物理的に行なわれ、 α -Toc が最も効果的な消去剤であることを立証した。

4. Toc 同族体が 1O_2 と反応するとき、それぞれ二つのペルオキシドを生成することを TLC 分析で確認した。しかしこれらの反応物は不安定であり、室温で容易に分解し Toc キノンと Toc キノンエポキシドを生成することを、GCMS 分析によるマススペクトルから確認した。またこれらの 1O_2 反応物を還元し Toc ヒドロキノンだけを得た。 O_2 反応物のうちで比較的安定であった δ -Toc の 1O_2 反応物を TLC によって単離し、その構造を UV, IR, NMR 分析から立体異性体である 8aS- と 8aR-ヒドロペル

オキシ δ -Toc ジエノンと決定した。また単離したヒドロペルオキシジェノンは脂質過酸化の促進剤とはならなかった。

5. 生体膜モデルとしてレシチンリポソームを用い、そこでのリン脂質と Toc 同族体の相互作用をリポソーム中でのピレンの拡散速度の変化から検討した。Toc アセテートはリポソーム疎水領域におけるピレンの側方拡散速度を低下させ、その低下能は Toc のビタミン E 活性に比例した。したがって生体膜に存在する Toc は膜を構成するリン脂質と高い親和性を持って存在するものと推定された。

6. ホウレン草緑葉より単離したクロロプラストを用いて、クロロプラストの脂質過酸化とそれに対する α -Toc の役割を検討した。光照射によっては、クロロプラストの脂質過酸化が進行し、その反応には $^1\text{O}_2$ とフリーラジカルが関与するはずである。過酸化反応に伴いクロロプラスト中では α -Toc が減少し、酸化生成物である α -Toc キノンが蓄積した。しかしながら α -Toc の減少が脂質過酸化に先立っておこらず、しかも $^1\text{O}_2$ との反応物である α -Toc キノンエポキシドが検出されなかったことから、クロロプラストの光照射による過酸化反応においては、 α -Toc は $^1\text{O}_2$ 消去剤としてよりもフリーラジカル除去剤として作用するものと推定した。

論文審査の結果の要旨

トコフェロール同族体は植物葉部と種実中に多量に含まれ、生体中でラジカル除去剤あるいは活性酸素消去剤として生体膜を保護していると考えられている。本論文は植物におけるそれら同族体の分布ならびにそれぞれの反応性の相異から同族体のそれぞれの役割を解明しようとしたものである。

1. 種々の野菜、果実中の Toc の分別定量から α -Toc はクロロプラスト中に、他は貯蔵脂質画分に存在し、大豆の発芽過程においても α -Toc は出芽とともに増加するが、他は急激に減少し、同族体間における全く異なった役割の存在を思わせるものであった。

2. そこで考えられる役割について同族体間の比較を行なった。まず、脂質と直接反応して脂質過酸化物を生成する一重項酸素の消去剤としての作用を検討した。それぞれの一重項酸素消去と一重項酸素との化学反応の速度定数を求め、 α -Toc が最も一重項酸素消去能が高く、しかも物理的に消去することを明らかにした。

なお、一部は化学反応をおこし Toc キノンと Toc キノンエポキシドを生成するが、その前段階にヒドロペルオキシドが生成することを確認し、比較的安定な δ -Toc について、立体異性体である 8aS-ヒドロペルオキシ δ -Toc ジエノンと 8aR-ヒドロペルオキシ δ -Toc ジエノンを単離した。

また、Toc 同族体とリン脂質との相互作用をレシチンリポソームを生体膜モデルとし、膜中におけるピレンの拡散速度から検討したが、Toc 同族体はそれぞれ拡散速度を低下させ、その低下能はビタミン E 活性に比例することを認めた。

3. なお、実際のホウレン草クロロプラストでは、光照射によってクロロプラスト中の脂質の過酸化反応が進行し、脂質過酸化に伴い α -Toc が減少し、Toc キノンが蓄積した。しかも α -Toc エポキシドが蓄積しなかったことから、 α -Toc は一重項酸素消去よりはむしろラジカル除去剤として働いたと考えられた。

以上の結果から、トコフェロール同族体は、植物では部位を異にして存在し、それぞれラジカル除去能に加え、一重項酸素消去能をも持つが、貯蔵脂質はもちろん、膜においても主としてラジカル除去剤として働いているものと推定した。

以上のように、本論文は植物に存在するトコフェロール同族体間の各種性質を比較することから、それぞれの同族体の生体間における役割を間接的に証明したものであって、植物生理、ビタミン学に寄与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。