

綿実油成分,ゴシポールの雄性不妊作用

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	小林,晴男 湯山,章
発行元	日本獣医師会
巻/号	41巻8号
掲載ページ	p. 594-597
発行年月	1988年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



綿実油成分, ゴシポールの雌性不妊作用

小林晴男* 湯山 章*

(昭和 63 年 6 月 24 日受理)

綿実粕は、家畜、とくに牛の飼料に用いられている。しかし、gossypol (ゴシポール) という毒性物質を含むため、量的に調節して給与されている。いっぽう、ゴシポールはこの毒性とは異なる雌性不妊作用があることが示された。すなわち、1930年代~1940年代の10年間に、中国江蘇省望村において、経済的理由から大豆油から粗製綿実油に食用油を切り替えたことによって集団不妊が発生したことを Liu (1957)⁹⁾ が報告した。この報告に基づいて、1970年代初期に中国の研究グループによって、ゴシポールが視床下部-脳下垂体-生殖腺ホルモン系を介することなしに雌性不妊を起こすことを証明した^{10,16)}。それ以来、その強力な不妊作用についての効力、毒性、作用機序、副作用、化学特性、さらに経口男性避妊薬としての開発などに世界的関心が集められるようになった^{8,10,16,19)}。

綿実粕はともかく、綿実そのものを混合飼料として給与されることも多く、雄畜を介した繁殖障害への気配りが必要であり、他方、ゴシポールはベットの雌性避妊薬としての利用が考えられよう。

1. 綿実および綿実粕

綿実は綿花から綿繊維を除去したものであり、殻(ハル)を除去して、油脂を採取した残部が綿実粕である。綿実粕は安価であるとともに粗蛋白質を多量に含むため(蛋白質 36~43%, 粗脂肪 0.5% 以上, 粗繊維 13~17% 以下)、家畜の飼料に用いられている⁹⁾。ただし、必須アミノ酸ではリジンが少なく、これが制限アミノ酸となっているが、メチオニンは比較的多い⁹⁾。

綿実粕は、平均 0.093(0.03~0.21)% のゴシポールを含む。ゴシポールは加熱によって分解できるが、リジンなども分解して蛋白質の価値を著しく低下することになるので、上記の残存(0.093%)が限度のようである⁹⁾。ただし、家禽に対しては遊離ゴシポールを 0.03% 以下に処理した脱ゴシポール粕が生産されている。

2. ゴシポールの化学と生物活性

ゴシポール [(2, 2'-binaphthalene)-8, 8'-dicarboxaldehyde-1, 1', 6, 6', 7, 7'-hexahydroxy-5, 5'-diisopropyl-3, 3'-dimethyl] 分子量 (518.54) は図 1 A に示す構造で、黄

色結晶である。綿科植物の綿実(種子)、幹、根皮に含まれる。ゴシポールは酸性、遊離型で活性を示し、塩、エステル、エーテルの状態になって反応する。加熱や紫外線によって生物活性を失う。3種の互変異性体 (aldehyde, hemiacetate, phenolic quinoid) が知られ、通常の溶媒中では aldehyde 型である¹⁾。また、3種の光学異性体 (+, -, ±) が分離されており、(-)体だけが毒性、不妊作用をもつといわれる²²⁾。犬にゴシポールを投与すると半減期は、(-)体は遊離型で存在するため排泄されやすく18時間以内であるのに対し、(+)体は結合型になって残留するので約 80 時間である²³⁾。

3. 綿実油の有害作用ならびに一般毒性

綿実油にはゴシポールのほか、脂肪酸の不飽和化を阻止する作用をもつサイクロプロペン脂肪酸が含まれているため、綿実あるいは綿実粕の多給はバター、肉、たまごの質を低下させる¹¹⁾。

ゴシポールの家禽、家畜に対する一般毒性は、消化器の出血、水腫、変性、食欲減少、体重減少、心機能低下、低プロトロンビン血漿、貧血、産卵率低下、孵化率低下などである^{1,11)}。毒性機序は、ゴシポールは蛋白質と親和性が強いので、カルボニル基などもつ酵素の活性を阻害したり、必須アミノ酸リジンの減少による蛋白質の欠乏である。反芻動物は大きなルーメンをもつためゴシポールの影響を受けにくいのに対し、単胃動物は感受性が非常に高い^{1,9)}。ゴシポールの経口 50% 致死量 (mg/kg 体重) は、ラット (2,400~3,300)、マウス (500~950)、兎 (350~600)、モルモット (280~300)、豚 (550) および犬では1カ月未満の投与で 10~200 mg/kg である¹⁾。

ゴシポールを反復投与した場合の所見を QUIAN と

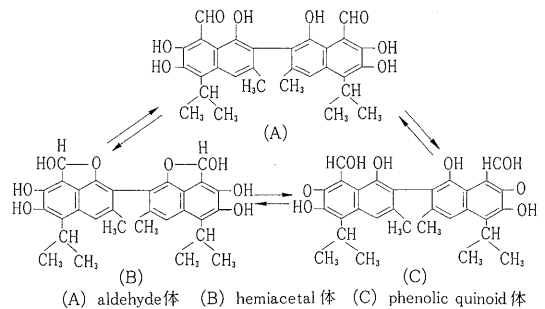


図 1 ゴシポールの互変異性体

* HARUO KOBAYASHI and AKIRA YUYAMA; 岩手大学農学部 (盛岡市上田3-18-8)

表1 ゴンポールの反復投与による毒性ならびに雄性生殖への影響（経口投与）

投与量 (mg/kg/day)	投与期間	所	見
[ラット]			
7.5	52週	SGPT, BUN, および ECG は正常; 骨髄および血液像は正常; 受精率の低下, 交配能は正常; 胚上皮の損傷 (大きな変性は無し); ライデヒ細胞は無影響.	
7.5	12週	諸器官の組織像は正常; 大部分が受精不能, 交配は正常.	
10	12週	ECG は正常; SGPT およびガンマグロブリンは僅かに増加したが, ゴンポール投与停止後回復; 12例中1例に肝臓の巣状壊死を伴った SGPT の著増がみられたが, 腎臓, 心臓の組織は正常; 残り 11 例は肝臓, 腎臓, 心臓は正常. ライデヒ細胞は無影響.	
10	26週	骨髄, 血液像は正常; 重要臓器の組織は正常; 肝臓のオイルレッドオー染色, G6Pase, G6PDH, ATPase, AKPase, ACPase, RNA および DNA は不変; 腎臓のオイルレッドオー染色, G6PAase, G6PDH, ATPase, AKPase, および ACPase は不変; 副腎のオイルレッドオー染色およびスーダンブラック染色は不変; 受精不能であるが交配可能.	
15	10週	心臓, 肺, 腎臓, 肝臓, 脾臓, 胃および小腸は正常; 骨髄像は正常.	
20	39週	肝臓の MAO, AKPase, PAS およびオイルレッドオー染色は正常; 個体によっては肝細胞の僅かな退行性変化と SDH 活性の増加.	
30	10週	体重および副生殖腺重には無影響; 精巣の hCG 結合は正常; 精巣および肝臓の SDH, ATPase は正常; 受精不能; 一部のラットで胚上皮の破壊.	
30	16週	体重および副生殖腺重量には無影響; 心臓, 肝臓, 肺, 腎臓および脾臓の組織像は正常; 臓器によっては小巣状の炎症性浸潤が時にみられた; 5週目以降受精不能, 2週目に胚上皮の破壊が始まった; 電顕では間質細胞には無影響. 上皮の破壊が始まった; 電顕ではライデヒ細胞には無影響.	
*30	52日	完全に受精不能. 精巣上体尾部精子の LDH-X の低下および精液のカルニチン量減少.	
*20	52日	部分的受精不能. 精巣上体尾部精子の LDH-X の低下および精液のカルニチン量減少.	
*30	38日	上と同じ.	
[ウサギ]			
16	14~140日	SGPT, NPN および血液像は正常; 個体によっては徐脈と心電図に変化; 投与後 14~140日の間に 10匹中 6匹死亡.	
80	8~17日	体重減少, 食欲不振, 呼吸困難, 後肢麻痺, 虚脱. 投与後 8~17日に死亡始まった; 剖検: 肝臓, 肺の鬱血; 死の直前まで受精能および精液中の精子は正常.	
40	23~35日	上記と略同; 投与後 23~35日に死が始まった.	
20	35~84日	上記と略同; 投与後 35~84日に死が始まった.	
10	77~250日	上記と略同; 投与後 77~250日に死が始まった.	
[イヌ]			
1.5	60~140日 (4)	体重減少, 食欲減退, 虚弱, 泥状便, 呼吸困難. 全動物が投与後 60~141日に突然死亡. 剖検: 心臓拡張; 心筋の水腫, 壊死と萎縮; 肝臓の鬱血; 腎尿細管の混濁腫脹とヒアリン変性; 肺の鬱血と水腫. 胚上皮は僅かに破壊.	
3.0	51~64日 (4)	肝臓に僅かに脂肪変性が加わるほかは上記と略同; 胚上皮は僅かに破壊.	
30	18~28日 (4)	激しい食欲減退, 体重減少, 虚弱, 悪心, 嘔吐, タール様便, 貧血, 悪液質; 投与後 18~28日に死亡, 剖検: 肝臓で軽度の脂肪変性と肝硬変が見られる以外は上記と類似. 死因は悪液質. 胚上皮の欠損は痕跡が軽度.	
1.0	129~130日 (2)	食欲不振, 体重減少, 虚弱, 頻脈. 心電図, NPN および SGPT は正常. 投与開始後 129~130日に突然死亡. 剖検: 心筋炎および心内膜炎.	
5.0	73日 (2)	1頭は投与 73日目に不意に死亡し, もう1頭を同日に屠殺. 所見は上記とほぼ同じ.	
1.0~3.0	25~131日 (12)	食欲不振, 嘔吐, 下痢, 虚弱, 徐脈, 心電図の異常 (T波平坦化し, U波顕著化). 数頭が投与 25, 43, 60, 131日に死亡. 剖検: 心臓の拡張と肥大, 心内膜炎, 腎臓および脾臓の鬱血, 肝臓の脂肪変性と壊死, 肺の水腫と出血. 精子形成は明らかでなかった.	

表1の続き

投与量 (mg/kg/day)	投与期間	所見
[サル]		
1~2	14月 (3)	腎機能, 心臓と腎臓の組織像および腎臓のLDHとATPaseは正常. 肝臓は一過性の電顕的变化(小胞体の拡張とリソソームの増加).
4.0	24月 (3)	血清のNa, K, Mg, Cl, クレアチニン, LDH, NPNおよびSGOTは正常. 腎臓のNa, K, Mg, Cl, クレアチニン, LDH, NPN, SGOTおよびAKPは正常; 尿濃縮能正常. 細胞K正常, 細胞Na増加. 心筋: やや鬱血, LDH-1, 2は減少, LDH 3, 4, 5は増加, ATPaseは無変化, SDHは増加あるいは無変化. 電顕像は本質的には正常. 肝臓: 肝洞様静脈はやや拡張; 電顕像は一過性の変化(小胞体の拡張と空胞化, リソソーム増化, リボソーム減少, ミトコンドリアの損傷, ミトコンドリアのクリスタ減少); LDH, G6PDH, ATPaseおよびRNAは不変. 腎臓: 近位尿細管の混濁腫脹, ミトコンドリアの損傷; ATPaseとACPaseは減少, G6PDHおよび糸球体傍細胞顆粒は不変. 脾臓, 胃, 腸管および副腎は正常. 2頭に胚上皮細胞著明な損傷, 1頭は正常精子細胞および精子が少し残存.
8.0	2月 (2)	時折, 混濁腫脹と酸性細胞化で心筋横紋が不鮮明. 肝臓: やや混濁腫脹, 脂肪浸潤, 巣状炎症および酸性細胞化. 腎尿細管は混濁腫脹.
5 or 10	6月	重度の臨床一病理学的副作用は無. 精子数と運動性は減少.
*[ニワトリ]		
0.04% 混餌	10~28日	体重の増加: 低下, 0.04% FeSO ₄ 添加群は正常: トサカおよび肉垂の成長は著しく悪く, 紫色を呈する. 脚は白っぽく, 筋の発達は悪く, 特に胸筋が薄い. 運動不活発. 精巣重量著しく低く, 組織像は顕著な萎縮を示し, 精子形成皆無.

① カッコ内の数字は使用動物数; ② *印は著者追加; ③ 略号, ACPase: 酸性フォスファターゼ; AKPase: アルカリフォスファターゼ; ATPase: アデノシントリフォスファターゼ; BUN: 血液尿素窒素; ECG: 心電図; G6Pase: グルコース-6-フォスファターゼ; G6PDH: グルコース-6-リン酸脱水素酵素; hCG: 絨毛性腺刺激ホルモン; LDH: 乳酸脱水素酵素; MAO: モノアミンオキシダーゼ; NPN: 非蛋白性窒素; PAS: パス染色; SDH: コハク酸脱水素酵素; SGOT: 血清アスパラギン酸アミノ基転移酵素; SGPT: 血清アラニンアミノ基転移酵素

WANG¹⁶⁾の表を和訳し, 一部追加して表1にまとめた. 犬は一般毒性に較べて, 精巣への影響はとくに顕著なものでない.

4. ゴシポールの体内代謝

ゴシポールは胃や小腸上皮から吸収され, おもに肝臓, 胆汁, 小腸, 門脈, 肝臓の腸肝循環をくり返して糞便中に排泄される^{1,19)}. 投与後24時間の臓器分布は, 消化管>肝臓>心臓>腎臓>脾臓>肺>血液>筋>脂肪>精巣>脳である^{1,2)}. ゴシポールの生物学的半減期は, 豚78, 鶏30, ラット13~60時間である¹⁾. (±), (+)および(-)体ゴシポールの半減期はそれぞれ, 犬で約60, 80および17時間, また人で約286, 133および4.5時間である²²⁾.

5. ゴシポールの作用部位

ゴシポールには精子形成阻害作用と精子の活性抑制作用がある^{10,16,19)}. 作用部位は精巣であって, 精巣上体ではないと一般に考えられているが, 反論もある²⁰⁾. 精巣上体に存在する精子はゴシポールの影響を受ける^{16,18)}. ゴシポールはセルトリ細胞(S細胞)に対して破壊, 空胞化, 密着帯の破壊などを起こすことによって, 完成の過程および有糸分裂期の精母細胞に働いて精子形成を妨げ, 精子数を減少させると考えられている^{5,16)}. ゴシポ

ールは血液-精巣関門の透過性およびライディヒ細胞の機能には影響しないとの見方もある^{3,17)}. 精巣上体の精子に対して, ゴシポールは生存, 運動性および受精能力を低下させる^{4,24)}.

6. ゴシポールの作用機序

ゴシポールの精巣ならびに精子に対する作用機序についてはまだ十分わかっていない.

ゴシポールが酸化的リン酸化の uncoupler 作用(ATPの産生を阻止する作用)を有することはよく知られているが, 精子および精巣にかぎられた特異的な作用でないと考えられる^{1,10,16)}. 現在, 最有力視されているゴシポールの作用機序は乳酸脱水素酵素(LDH)-X(またはLDH-C₄)の阻害である^{12,18,21)}. LDH-XはLDHのアイソザイムで, 成熟精巣と精子にのみ存在する⁹⁾. 精子細胞の後期に高リジンヒストンは高アルギニンヒストンに塩基転移して精子に成長する. この高リジンから高アルギニンヒストンへの転移に関与するLDH-Xなどの酵素を阻害することによって解糖を侵し, 精子形成を阻害すると考えられる¹⁷⁾. さらに, 解糖の低下は精子の活性を抑制するであろう^{14,15)}. LDH-Xのみならずゴシポールは acrosin, proacrosin, NAD-イソクエン酸脱水素酵素, フマラーゼ, ATPaseなどを阻害することによって精子の

活性や解糖を低下させることが考えられる¹⁰⁾。また、ゴシポールによる精子形成阻害がプロスタグランジン (PG) 阻害剤であるアスピリンの投与によって阻止されること、そして PG の投与は精巢の精子細胞などを破壊することから、ゴシポールの精子形成阻害作用には PG が関与しているとの説もある¹⁰⁾。サイクリック AMP 関与説もある¹²⁾。

いっぽう、ゴシポールは解毒に重要なグルタチオン-S-トランスフェラーゼを阻害する欠点を有している¹⁰⁾。

7. ゴシポールの副作用

ゴシポールの一般毒性については前記した人では、ゴシポール服用期間中にカリウム (K) の摂取量が少ないと低 K 血漿を引き起こすことがある¹⁰⁾。運動麻痺、心筋障害および腎臓障害を現わす。これは、ATPase が全身および腎臓において阻害されるためと考えられている¹⁰⁾。低 K 血漿は人以外にはめったに起こらないといわれる¹⁰⁾。その他の問題として、ゴシポール投与後の精巢機能の回復、内分泌系や神経系への影響、細胞膜への作用などが明らかにされなければならない¹⁰⁾。

8. 飼料を介した雄性不妊の可能性

綿実粕あるいは綿実の給与によって、雄畜が不妊になるか否か明らかでない。人、ラット、マウスなどの実験から、ゴシポールが一般毒性を生じる量以下で、ある場合は数 100 分の 1 の投与量で不妊を起こすという事実は銘記される必要がある。

MACNAB と NOLLEN⁷⁾ は眼吸虫を寄生させた幼若鶏にゴシポールを含む飼料 (0.04% W/W) を与えたところ、ホストの精子形成は完全に抑えられたのに対し、寄生虫の精子形成にはほとんど影響がなかったと報告している。

飼料に鉄剤や蛋白質を添加することは、ゴシポールを消化管内でキレート結合あるいは吸収されにくい結合型に変えるので、不妊予防効果があると考えられる⁷⁾。

ペットの雄性避妊薬としての開発は、犬はゴシポールに対して非常に敏感であることから無理であろう。他の動物については今後の検討が必要である。すなわち、1) 低 K 血漿を生じないか否か、2) 投与停止後どの程度不妊作用が持続するか、3) 不妊以外の毒性 (発癌性、内臓器官および内分泌系への影響など)、4) 作用機序の検討と、低毒性で不妊作用の強いゴシポール誘導体の開発、さらにその誘導体の犬への応用、等が考えられる。

おわりに

最近、YAO ら、および KIM ら²⁰⁾ は LDH-X はゴシポールの target ではないらしいと述べており、論議を呼び

そうである。

綿実など資料を提供いただいた斉藤文也氏 (小岩井農場) に謝意を表します。

引用文献

- 1) ABOU-CONIZ, M. B.; *Residue Rev.*, 61, 124~159 (1976).
- 2) CHANG, M. C., GU, Z. P. and SAKSENA, S. K.: *Contraception*, 21, 461~469 (1980).
- 3) COUTINHO, E. M., MELO, J. F., BARBOSA, I. D., et al.: *Fertil. Steril.*, 42, 424~430 (1984).
- 4) HADLEY, M. A. and BURGOS, M. H.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 458~459 (1984).
- 5) HOFFER, A. P.: *Biol. Reprod.*, 28, 1007~1020 (1983).
- 6) 劉 宝善: 上海中医薬誌, 6, 43~47 (1957).
- 7) MACNAB, R. K. and NOLLEN, P. M.: *J. Parasit.*, 73, 749~755 (1987).
- 8) MAUGH, T. H.: *Science*, 212, 314 (1981).
- 9) 森本 宏: 改著 飼料学, 123~127, 養賢堂, 東京 (1985).
- 10) MORRIS, I. D.: *IRCS Med. Sci.*, 14, 1177~1180 (1986).
- 11) 中村亮八郎: 新飼料学(上), 総論, 50~51, チクサン出版, 東京 (1977).
- 12) OLGIATI, K. L., HOFFER, A. P. and TOSCANO, W. A.: *Biol. Reprod.*, 31, 759~770 (1984).
- 13) PEARCE, S., SUFI, S. B., O'SHANGHNESSY, P. J., et al.: *Contraception*, 34, 639~646 (1986).
- 14) POSO, H., WICHMANN, K., JANNE, J., et al.: *Lancet*, I, 107 (1980).
- 15) POSO, H., WICHMANN, K., JANNE, J., et al.: *Lancet*, I, 885~886 (1980).
- 16) QUIAN, S.-Z. and WANG, Z.-G.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 24, 329~360 (1984).
- 17) SHI, Q.-X.: *Develop. growth Defferent.*, 28, Suppl., 29~30 (1986).
- 18) SHI, Q.-X. and FRIEND, D. S.: *Biol. Reprod.*, 29, 1027~1032 (1983).
- 19) 肖 怡仙, 顧 永清: 東京女子医大誌, 54, 1~8 (1984).
- 20) SOUFIR, J. C., DANTEC, M. C., JEGOU, B., et al.: *Lancet*, II, 107 (1984).
- 21) WHALEY, K. J., STEPHENS, D. T., KLIMKOW, N. M., et al.: *Contraception*, 33, 605~615 (1986).
- 22) WU, D. F., YU, Y.-W., TANG, Z.-M., et al.: *Clin. Pharmacol.*, 39, 613~618 (1986).
- 23) YAO, K.-Q., GU, Q.-M. and LEI, H.-P.: *J. Ethnopharmacol.*, 20, 25~29 (1987).
- 24) ZHOU, L.-F., QI, S.-Q. and LEI, H.-P.: *J. Ethnopharmacol.*, 20, 39~43 (1987).