

サケ (Salmon) 白子の生理作用に及ぼす影響

中塚正博¹⁾・太田隆男¹⁾・羽根田みや子¹⁾・柴田幸雄¹⁾
渥美ふく子²⁾・松永政司³⁾・森重福美⁴⁾・木本英治⁵⁾
(愛知医科大学*, ¹⁾生化学教室, ²⁾動物実験施設, ³⁾日産化学工業(株)**
(⁴⁾ライナスポーリング化学医学研究所***, ⁵⁾福岡大学理学部化学****)

Physiological Studies of Salmon Soft Roe

Masahiro NAKATSUKA¹⁾, Takao OHTA¹⁾, Miyako HANEDA¹⁾, Yukio SHIBATA¹⁾
Fukuko ATSUMI²⁾, Masashi MATSUNAGA³⁾, Fukumi MORISHIGE⁴⁾ and Eiji KIMOTO⁵⁾

¹⁾Department of Biochemistry, Aichi Medical University

²⁾Laboratory Animal Research Center, Aichi Medical University

³⁾Planning and Development Department, Nissan Chemical Industries, Ltd.

⁴⁾Linus Pauling Institute of Science and Medicine

⁵⁾Faculty of Science, Fukuoka University

Fish soft roe contains protamine, histone (they are basic protein.) and nucleic acids. Protamine in fish soft roe has been well studied, while little is known about the nucleic acids in it. In this study, we studied about the nucleic acids in salmon soft roe.

Salmon soft roe was boiled and delipidated with EtOH to obtain sample A. Sample A was further extracted with 2M NaCl and protein fraction in sample A was removed to obtain sample B. The nucleic acids and amino acids were analyzed by HPLC. Sample A contained AMP 12.2%, TMP 10.0%, GMP 9.3% and CMP 6.4%. Sample A contained much arginine (16.1%). About the PCA soluble substances, Sample A contained adenine 0.013%, hypoxanthine 0.08% and inosine 0.014%, while sample B contained adenine 3.4% and hypoxanthine and inosine were not detected.

Clinical trials were done to study the influence of ingestion of sample A and vitamin C on the number of leukocyte and platelet of cancer patients who received 5-FU (anticancer agent). In control group,

*所在地：愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21 (〒480-11)

**所在地：東京都千代田区神田錦町3-7-1 興和一橋ビル (〒101)

***所在地：440 Pagemill Road Palo Alto, California 94306, U.S.A.

****所在地：福岡市城南区七隈8-19-1 (〒814-01)

the number of leukocyte and platelet was decreased and the administration was stopped. In contrast, that of the group that received the sample A and vitamin C were in more normal range than control group (especially the group that received the mixture of sample A and vitamin C).

Sample A, B and other authentic nucleic acids were administered orally to the Wistar male rats for two weeks to examine the influence on the platelet aggregation. DNA (Wako) and RNA (Sigma) were used for authentic nucleic acids.

The administration of DNA suppressed the ADP-induced platelet aggregation slightly, while other samples did not.

魚の精巢中にプロタミンという塩基性蛋白質が存在する事はかなり古くから知られており、その化学的研究は Kossel¹⁾や Felix²⁾らによってなされてきた。またその生理作用や医学的応用についても、プロタミンがヘパリンに拮抗すること³⁾や抗プロトロンピン作用⁴⁾、フィブリノーゲン沈澱作用⁵⁾等が研究されており、プロタミン・インスリン・亜鉛水性懸濁液は医薬品として用いられている。一方、この魚の精巢いわゆる白子は食物として古来から人間の生活に取り入れられていた。しかし白子中の核酸部についての研究や応用は、あまりなされていない。

今回、サケの白子の応用の一端として、その栄養学的分析、および *in vivo* での血小板凝集能への作用、進行癌患者への投与による臨床的意義について実験を行い、その結果を報告する。

実 験 方 法

1) 試料の調製⁶⁾

凍結サケ白子を煮沸 (85°C 1時間) 後、粉碎、乾燥後エタノールにて脱脂したものを試料 A とした。その後、食塩水 (2M) にて抽出 (pH を 11~12 に調節) し、たんぱく質部分とアルカリ溶性部分とに分画した後、その沈澱部分を 60°C にて真空乾燥したものを試料 B とした (Fig. 1)。

2) 核酸の分析

試料中の核酸については試料 (0.1g~0.5g) に対して 5 ml の 70% エタノールに溶解後遠心分離 (3000rpm 10分) を行いその後 5 ml のエタノール:エチルエーテル (3:1) にて分画する。再度遠心分離後、10%の食塩水 30ml を加え 100°C 2時間還流し、核酸部分とたんぱく質部分を分離した。その後ろ過し、50ml の 10% 食塩溶液に溶解した。それをリン酸緩衝液に溶解し HPLC にて分析した (島津社製, LC-5A)。

3) アミノ酸の定量

常法により行い Trp については水酸化バリウムにて 110°C 12時間加水分解後、HPLC にて分析を行い、シスチンについては、過ギ酸酸化後 20% 塩酸で加水分解しアミノ酸自動分析機にて測定した。

4) 癌患者に対するビタミン C およびサケ白子の投与実験

癌患者における化学療法では、白血球数および血小板数の減少が観察されることがある。進行癌患者に 1日 300mg の 5-フルオロウラシル (5-FU) を投与すると、白血球および血小板の減少を認めるが、

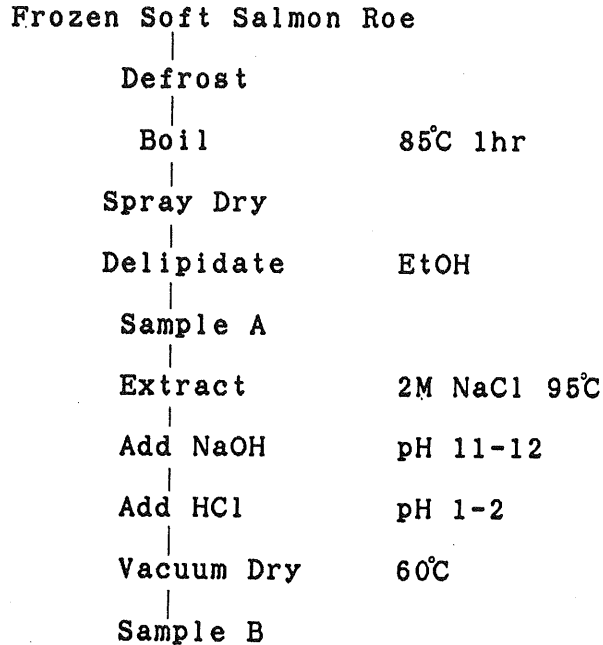


Fig.1. Extraction of salmon soft roe.

そのような患者に対しサケ白子とともにビタミンCを投与し、血中の白血球および血小板数の減少を調べた。各試験区はサケ白子抽出物単独投与区（3g/日）、ビタミンC単独投与区（10g/日）、サケ白子抽出物（3g/日）とビタミンC（6g/日）の同時投与区、およびコントロール区とした。なお、サケ白子抽出物としては試料Aを用いた。

5) *in vivo* におけるラットに対する作用

ウイスター系雄性ラット（体重約150g）に試料を2週間経口投与した後、常法にて採血し、血小板凝集能を検討した。各試験区における試料の投与量（mg/日・kg）は、試料Aは600mg、試料Bは300mgとし、対照として、DNA（サケ精子起源、和光純薬製）を300mg、RNA（酵母起源、シグマ社製）を300mgとし、各試料を生理食塩水に懸濁し、経口投与を行った。なおコントロール区には、生理食塩水を同様に経口投与した。

6) ラット血小板凝集能の測定

実験に供したラット（ウイスター系雄性）2～5匹より常法により心臓採血を行い、その後3.8%クエン酸ナトリウム液と混合し遠心分離（1000rpm 10分）後多血小板血しょう（PRP）を、これをさらに再度遠心分離を行い乏血小板血しょう（PPP）を得た。凝集惹起物質として、ADP（ 10^{-5} M）、コラーゲン（100 μ g/ml）を用い、アグリコーダー（京都第一科学社製 Model PA-3210）を使用し常法にて測定した⁷⁾。

結 果

1) 食品化学的分析

サケ白子(試料A)中の核酸塩基については、AMP12.2%、TMP10.0%、GMP9.3%、CMP6.4%であり総塩基量として37.9%であった。

また、同じく試料A中のアミノ酸については、アルギニン16.1%、グルタミン酸4.62%、リジン4.24%、グリシン4.00%、トリプトファン0.38%であり従来報告されているようにアルギニンがアミノ酸の中では特異的に多かった。

過塩素酸抽出により、試料中の遊離の酸可溶性物質は、試料A中においてはアデニンが0.013%、ヒポキサンチンが0.08%、イノシンが0.014%含まれており試料Bにおいては、アデニンが3.4%でヒポキサンチン、イノシンについては検出されなかった。

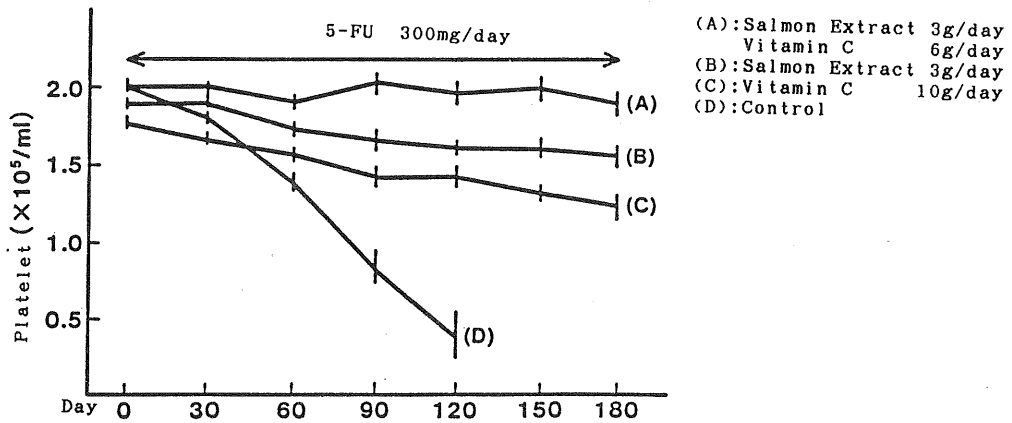


Fig.2. Effect of salmon extract and vitamin C on number of leucocyte.

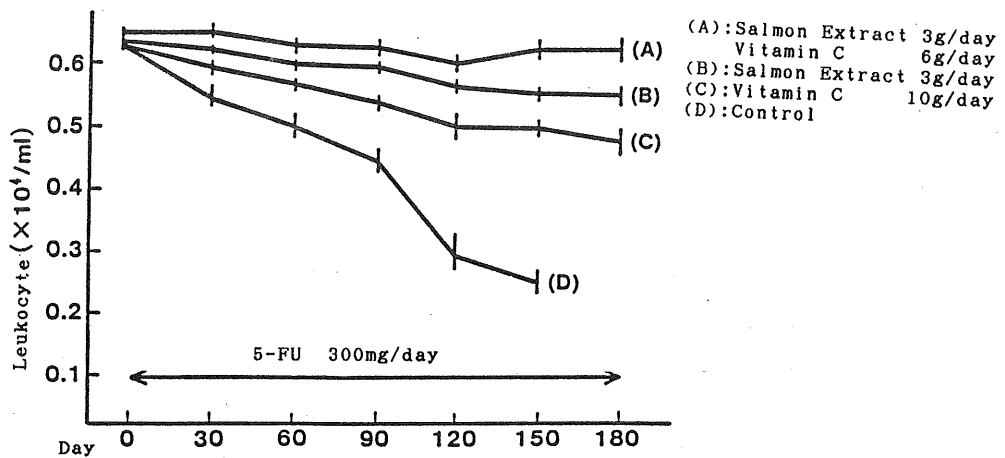


Fig.3. Effect of salmon extract and vitamin C on number of platelet.

2) 臨床検査

5-FU 投与中の癌患者の白血球および血小板数へのサケ白子抽出物とビタミンCの影響を見た (Fig. 2, Fig. 3)。

コントロール区においては白血球数, 血小板数ともに5-FU 投与後徐々に減少し投与後120日で投与を中止した。

テスト区においては各区ともに白血球数, 血小板数の減少が抑制され, サケ白子抽出物とビタミンCの同時投与区が最も抑制効果が強かった。

3) *in vivo* における血小板凝集能への影響

惹起物質としてADP ($10^{-5}M$) およびコラーゲン ($100 \mu g/ml$) を用いて行った結果, ADP 惹起による血小板凝集に対してDNA (和光純薬製) 投与区において抑制傾向が見られたが他の試験区においては, 有意な差は観察されなかった (Fig. 4)。

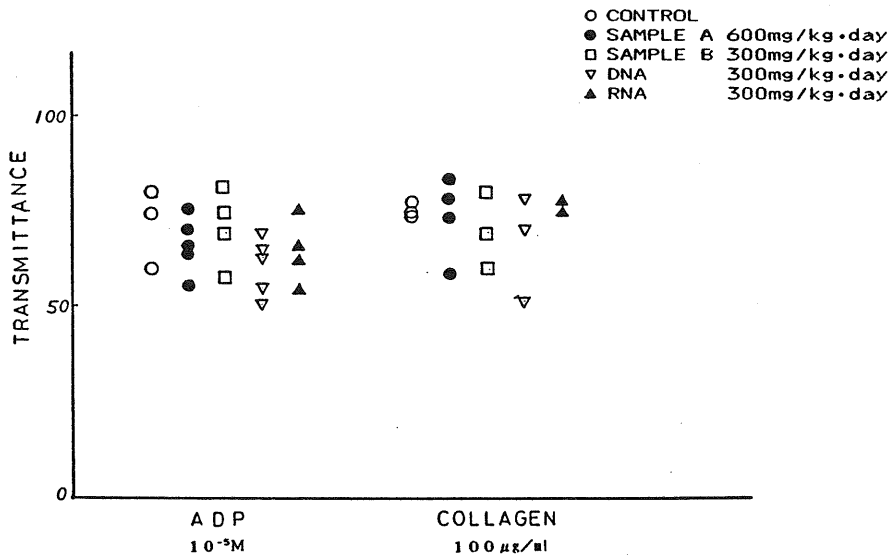


Fig.4. Effect of salmon soft roe extract on rat platelet aggregation.

文 献

1. KOSSEL, K. (1928) The Protamines and Histones
2. FELIX, K. V. (1953) The Chemical Structure of Proteins, Ciba Foundation Symposium, 151. J. & A. Churchill Ltd., London : 151
3. JORPES, J. E. (1939) Lancet 2 : 975
4. FERGUSON, J. H. (1940) Am, J. Physiol. 130 : 759
5. MYLON, E. et al. (1942) J. Biol. Chem. 143 : 21
6. 渡辺格, 鈴木堅之 (1951) 日本化学雑誌 72 : 578
7. 太田隆男, 大久保雅啓ら (1985) 微量栄養素研究 2 : 169