|||||| 事例報告 |||

養殖ちょうざめの各部位の脂質の分画とそれらの ラット胎児の分化への影響について

成 瀬 宇 平^{*1}, 小 柳 津 周^{*2}, 秋 田 正 治^{*1},
梅 沢 勝 正^{*3}, 関 本 邦 敏^{*4}, 廣 田 才 之^{*3}

^{*1}鎌倉女子大学, ^{*2}武蔵野栄養専門学校, ^{*3}日本大学農獣医学部, ^{*4}日本農産工業(株)中央研究所

Studies on Fractionation of Lipids from Cultured Sturgeon and Growth and Differentiation of Rat Whole Embryo by Their Lipids

Uhei Naruse ^{*1}, Makoto Oyaizu ^{*2}, Masaharu Akita ^{*1},
Katsumasa Umezawa ^{*3}, Kunitoshi Sekimoto ^{*4} and Saishi Hirota ^{*3}

^{*1}Kamakura Women's College ; ^{*2}Musashino Nutrition School ; ^{*3}Department of Agriculture and Veterinary
Medicine, Nihon University ; ^{*4}Reserch Central of Nippon Nosan Kogyo Co.

は じ め に

著者らはこれまでに、ちょうざめ (*Bester* 種) の各部位の脂質の脂肪酸組成について検討してきた。その主要脂肪酸はC_{16:0}, C_{18:1}であり、ポリエン酸 (Polyenoic acid) ではC_{20:4}, C_{20:5}であることを明らかにした^{1,2)}。

近年、魚類の多価不飽和脂肪酸に、興味ある生理活性があることが明らかにされた。このことと関連して、長寿であるちょうざめにも未知の生理活性物質が存在するのではないかと仮定して、脂質区分の生理活性について検討した。

すなわち、本研究においては、養殖ちょうざめから総脂質を抽出し、更にそれを分画し、これら脂質の生理活性を検討する方法として、ラット胎児の哺乳類全胚培養法を利用して予備的検討を行った。この方法は試験物質が*in vivo*試験に比べ、微量でも実験可能である。また、細胞培養 (Cell culture) による試験よりも得られる情報が多い実験である。本実験においては、微量の試料しか得られなかったため、この全胚培養法で検討することを試みた。併せて組織の脂質反応の確認のために、組織の切片の顕微鏡的観察を行った。

実 験 方 法

1. 実験試料

試料の養殖ちょうざめは、サイトエンジニアリング(株)成田研究所の閉鎖式水槽で飼育している *Bester* 種 (8年魚の雄) である。1992年7月に水槽より水揚げし、直ちに延髄に包丁を入れ即殺して各部位を分取し、ドライアイスで冷却して実験室に運び、実験に供した。体表面に分泌された粘質液は包丁及び駒込ピペットでプラスチックフィルム製の袋に集め、密封した後、ドライアイスで冷却した。

本試料の体長は110cm、体重は12kgであった。

2. 実験方法

(1) 筋線維及び脂肪組織の顕微鏡的観察³⁾

ちょうざめの背部及び腹部の小肉片を切り出し、10%ホルマリン固定液で7日間固定し、これを3時間水洗いし、パラフィン及びゼラチンで包埋し、それぞれをマイクロトームで約8 μ の切片とした。染色はヘマトキシ

Table 1 Composition of lipid fractions of total lipid in sturgeon

(%)

	Fatty meat	White meat	Liver	Serum	Testis	Skin	Mucilage
Sterol ester	trace	4.1	13.6	20.0	4.1	3.8	6.2
Triglyceride	84.0	58.3	45.4	40.0	57.8	61.0	50.0
1,3-Diglyceride	trace	12.5	13.6	—	8.3	7.6	12.5
1,2-Diglyceride	trace	8.3	9.0	—	8.2	7.6	—
Sterol	10.5	8.3	9.0	20.0	12.3	11.4	18.7
Compound lipids	0.5	8.3	9.0	20.0	8.2	7.6	12.5
Content of total lipid (g/100g)	43.6	5.1	25.6	—	8.7	12.0	0.5

リン・エオジン染色（以下、H・E染色と略す）とヘマトキシリン・ズダンⅢ染色を行った。

(2) 脂質の抽出と分画

総脂質の抽出は、Folchら⁴⁾の方法に、脂質の分画は和田ら⁵⁾に従った（Table 1）。

(3) ラット胎児の哺乳類全胚培養法^{6,7)}

胎齢12日目のラット胎児を、麻酔下の母獣より無菌的に取り出し、48時間回転培養を行った。気相は混合ガス（95% O₂ + 5% CO₂）を用い、120～150ml/分の割合で送気した。また、培養液は100% ラット IC（Immediately centrifuged）血清を1胎児当たり4ml使用し、この培養液中でちょうぎめの精巢粘質物、肝臓より抽出した総脂質をそれぞれ2～48時間直接添加して培養した。そして培養終了後の胎児の心拍動数、血液循環、頂殿長（胎児の身長の意味）、総たん白質量及び総体節数を測定した（Table 2）。対照群は無添加の100% ラット血清で培養した胎児群とし、それぞれ比較を行った（Table 2）。

実験結果及び考察

ちょうぎめを解体すると、皮下にははっきりした脂肪組織がみられたので、組織の顕微鏡的観察を行った。筋線維のH・E染色では、海産魚の筋線維との違いがみられ、ヘマトキシリン・ズダンⅢ染色によって脂肪組織の筋線維間に脂肪染色反応が確認された。これらのことより、筋線維間に脂肪細胞の存在を明らかにした（Fig. 1）。

ちょうぎめの各部位から抽出した総脂質の試料重量に対する割合（%）、総脂質を薄層クロマトグラフィーにより分画した各脂質の構成比をTable 1に示した。皮下の脂肪組織の総脂質の含有量は試料中最も高く、43.6%であった。次に多いのは肝臓の25.6%であった。血清中の脂質は試料が非常に少なかったので、重量（%）を計算することはできなかった。

脂質構成比をみると、各部位とも主成分はトリグリセリドであったが、血清からの脂質にはジグリセリドは存在しなかった。粘質物の脂質として1,3-ジグリセリドは12.5%が存在していた。これは白身肉からの脂質と同じ含有比であったが、白身肉と違って1,2-ジグリセリドは存在しなかった。また、血清からの脂質のステロール類の構成比は、ステロールエステルと遊離のステロールを合わせると40%も存在した。また、粘質物のステロール類の構成比はジグリセリドよりも高かった。

ラット胎児を用いた全胚培養法の結果、培養終了時の胎児群は、心拍動数、血液循環及び総体節数において、全群差は認められなかった。しかし、粘質物から抽出した総脂質を添加した胎児群のみ対照群と比較し、成長の指標である頂殿長と総たん白質量において、それぞれ6%、14%の増加が確認された。以上の結果より、粘

Table 2 Growth and differentiation of rat embryo culture test by adding sturgeon lipids

parts of lipid	heart rate beat (time/min)	Crown rump length (mm)	Total somites	Blood circulation	Total protein (μ g/embryo)
Control	230	9.0	58	+++	4,200
Mucilage	220	9.6	60	+++	4,800
Testis	240	9.3	57	+++	4,300
Liver	230	9.0	57	+++	4,150

(Hematoxylin-eosin phase)

(Hematoxylin-sudan III phase)

Fig.1 Lipid dyeing reaction between muscle fiber of the sturgeon

M : Muscle fiber, N : Nuclear, F : Fat

質物からの総脂質には、培養胎児の成長に必要な栄養成分の吸収速度を促進させる効果、または栄養成分を吸収しやすくさせる効果、あるいは全く別の成長因子の存在などの可能性が示唆された。

ちょうざめは水揚げされ、即殺されてもしばらくの間、生体防御のために、多量の粘質物を分泌する。魚介類の粘質物の薬理効果⁸⁾、生体防御としての粘質物の分泌を合わせて考えると、ちょうざめの粘質物の脂質中にも未知の生理活性物質が存在するのではないかと推察される。

要 約

養殖ちょうざめの各部位の総脂質を薄層クロマトグラフィーで分画し、脂質構成比を調べた。更に、これらの脂質のラット胎児の育成成長への影響を検討した。また、筋線維と脂肪組織の確認のために顕微鏡的観察を加えた。

- 1) 顕微鏡的観察により、充実した筋線維構造と筋線維間に脂肪染色反応が確認された。
- 2) ちょうざめの各部位総脂質の主要脂質はトリグリセリドであった。
- 3) 血清脂質の40%はステロール類であったが、ジグリセリドは存在しなかった。
- 4) 粘質物の脂質には1,2-ジグリセリドは存在しなかった。
- 5) 粘質物の脂質を添加した培養胎児群は対照群と比較すると、頂殿長6%、総たん白質で14%の増加がみられた。

文 献

- 1) 成瀬宇平, 小柳津周, 廣田才之: 養殖ちょうざめの脂肪酸組成とコレステロールについて, 栄養学雑誌, **46**, 95~99 (1988)
- 2) 成瀬宇平, 小柳津周, 廣田才之: 養殖ちょうざめの各部位の脂肪酸およびコレステロール含量, 栄養学雑誌, **47**, 293~297 (1989)
- 3) 梅沢勝正, 木村貞司, 斉藤義蔵: ドメスティックソーセージ製造時における粒度とテクチャーについて, 東京獣学畜産学雑誌, **24**, 55~59 (1977)
- 4) Folch, J. M. and Sloane-Stanley, G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 465~500 (1957)
- 5) 和田正太, 菅野道廣: グリセロ脂質分析法の実際, 九州大学農芸学雑誌, **26**, 505~516 (1972)
- 6) 秋田正治, 横山 篤, 江藤一洋: 全胚培養, 細胞, **21**, 37~41 (1989)
- 7) 秋田正治, 横山 篤, 江藤一洋: ラット全胚培養による催奇形性試験系の開発, 組織培養研究, **7**, 33~36 (1989)
- 8) 神谷久夫, 村本光二, 後藤利奈, 菅野信弘, 遠藤良夫, 佐々木琢磨, 高須賀信夫, 内田博之: Antineoplastic glycoprotein from abalone *Haliotis discus hennai*, 日水誌, **59**, 889 (1993)

(受付: 平成 5 年 9 月 30 日)