肝臓の造血成分に関する研究 (第2報) 數種水産動物肝臓の造血効力の測定*

米 康 夫・富 山 哲 夫

(九州大学農学部水産化学教室)

Studies on Antianaemic Ingredients of the Liver

II. The Estimation of Antianaemic Potency in Livers
of Several Marine Animals.

Yasuo YONE and Tetsuo TOMIYAMA

The minimum daily dose of the liver which after the administration over consecutive three days was effective in prolonging the time-period for the minimum red cell count, was found about 0.5 gr fresh bovine liver per kg body weight (Table I).

By using the above minimum daily dose of a sample liver-extract, accordingly, an approximate estimation has been made on the antianaemic potency in livers of several marine animals. Nearly no difference in the potency has been found between the liver-extracts of whale, yellow tail, shark and bovine (Table I and II). It has been observed in both whale and yellow tail that the subcutaneous administration of an extract of mixture of liver and stomach showed a greater potency than that of the liver-extract only (Table III). A comparison of the results contained in Table IV with those in Table II and III reveals that the oral administration of liver-extract showed a little higher potency than the subcutaneous administration.

I 緒 言

牛¹⁾, 馬²⁾, 鶏³⁾等の肝臓には造血成分の存在が確認されているが, 水産動物肝臓中に於けるその存在は, 研究者によつて一致を欠いている。例えば Whipple, Robscheit-Robbins 両氏³⁾は, 魚類肝臓は瀉血貧血の恢復に対し効果がないと報告している。また Hansen, Stub, Forbech 三氏⁴⁾の研究によると, 魚類肝臓は経口投与に当つてムカツキや嘔吐を催すために, 投与が困難であるだけでなく, 悪性貧血に対し微弱な治療効力しかもつていない。Connery 氏⁵⁾もまた6例の悪性貧血患者に魚類肝臓エキスをを用いているが, やはり弱い効力を認めたに過ぎない。

他方, これに反し, Davidson 氏⁶⁾は悪性貧血の患者に対し, 凍結脱脂したタラ肝臓を一日に 250 g 投与したところ, 患者が嫌忌して継続できなかつたが, 生肝臓の 500 g に相当するエキスを 9 例の患者に毎日与えた結果, 24~48 時間後に網状赤血球数の増加を認め, また数日後には赤血球数及び血色素量の 2~3 倍の増加がみられ, 哺乳動物肝臓による治療効果と全く同様であつたと報告している。また佐々木氏等⁷⁾は白鼠に phenylhydrazine (以下 ph-hydz. と略記する) を注射すると同時に, スケソウタラ肝臓粉末を体重 1 kg につき 7 g 与えて, 貧血の抑制試験を行つたところ, この肝臓粉末には対照の馬肝臓と同様な有効物質が含まれるのを確認している。かように魚類肝臓の造血効力についての既往の研究結果は區々であるので, 著者等は魚類肝臓抽出液の効力と牛肝臓抽出液のそれとの比較を企てた。

* 1947 年 6 月農芸化学会西日本支部例会 (福岡) に於て発表した。

昭和 25 年 7 月 24 日受理

肝臓の造血効力判定法については、著者等は Erdös の ph-hydz. 貧血法を種々検討した結果、この方法にかなりの信頼度があることを明かにし、既に第1報¹⁾に報告した。しかし本法を造血効力の比較に適用する場合に、もし多量の肝臓を投与すれば、動物の種類による効力の差異を明示できない可能性が予察される。依て先ず牛の肝臓を用いて最小有効量を決定した。次にこの最小有効量だけ各種肝臓を投与した場合の効力の比較をなし、更に肝臓に対する胃の影響、皮下投与と経口投与との比較について研究したので、以下第2報として報告する。

II 実験の部

A. 牛肝臓抽出液の最少有効注射量

佐々木氏等²⁾は肝臓中の造血成分を水、稀アルカリ液、或は 70% エタノールにて抽出試験を行つてゐる。しかし水或は稀アルカリ抽出液はいずれも濾過が困難であり、またエタノール抽出では変性凝固した塊の内部の抽出が困難であつたから、著者等は次のような方法で試験用の抽出液をつくつた。即ち搗碎した牛肝臓粥に 80% の水と塩酸とを加えて微酸性とし、約 50° に加温し数時間放置後濾過し、一定量の濾液をとつて中和し、次にエタノールを加えて 70% として濾過し、再び一定量の濾液を減圧濃縮し 1cc が生肝臓 1g に相当する液をつくり、之を適当に稀釈して試験に供した。

試験方法としては第1報の結果を考慮して、次のような方法を用いた。即ち白鼠の腹腔内に体重 1kg につき ph-hydz. HCl の 30mg を注射し、試験区には毎日三日間に亘り体重 1kg につき生肝臓の 1.0, 0.50, 0.25 g に相当する肝臓抽出液をそれぞれ白鼠の背部皮下に注射した。なお抽出液の投与を

Table I The effect of varying amounts of bovine liver extract¹⁾
upon the change in red blood cell count (million per cmm)

Albino (Sex rat { Body wt.	♂ 74	♀ 67	♀ 62	♂ 241	♀ 72	♂ 335	♀ 139	132	125	97	♂ 200	♂ 279
Amt. of fresh liver (g) injected per kg body wt.	0	0.25	0.25	0.25	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0	1.0
Before injection	9.91	8.55	9.93	9.00	9.30	10.1	10.1	9.02	8.93	9.59	9.50	8.80
1	9.80	7.20	9.36	8.00	8.37	9.30	7.06	7.08	6.95	7.00	8.93	8.78
2	8.18	6.30	7.85	7.10	8.18	8.79	6.89	5.85	6.32	6.74	7.30	7.85
3	7.23	5.21	5.80	--	7.35	7.86	5.27	4.84	5.82	6.55	6.68	7.50
4	8.20	5.34	6.80	5.95	5.15	5.87	4.93	4.89	6.14	5.52	5.73	6.04
5		6.34	7.32	7.69	6.68	7.12	4.66	4.02	5.24	5.39	4.68	5.68
6		8.04		7.55	8.30	6.58	5.04	4.33	7.00	6.53	6.40	6.09
7				8.51			5.93	5.58	6.89	6.78	6.79	7.09
8							6.83	6.71	7.36	6.28		
Day at minimum r. b. c. count	3.0	3.1	3.0	3.6	4.3	4.4	5.1	5.0	5.0	4.8	5.1	5.4

- 1) The liver-extract has been obtained by the following procedure: To a minced fresh liver add an appropriate amount of water and adjust pH at about 4.5 with hydrochloric acid. Warm up the mixture to 50° while stirring, leave it stand at about 50° for several hours and then filtered. Pour the filtrate into a necessary amount of alcohol to bring the mixture to 70 per cent in alcohol-concentration. Remove the insoluble part, and concentrate in vacuo. The concentrated extract thus obtained was used for the test after a proper dilution.
- 2) Injected subcutaneously in the form of extract.

三日間継続したのは注射の誤差を少なくするためである。Ph-pydz. 投与後、尾部静脈より毎日採血して、赤血球数を算定し、最低値の前後 2~3 日の血球数値を図示して、図より最低に達する日数を求めた。その結果は Table I に示す通りである。即ち赤血球数が最低に達するまでの経過日数は対照區が 3.0 日であつたのに対し、0.25 g 注射區は 3.2 日、0.5 g 注射區は 4.8 日、1.0 g 注射區は 5.3 日であつた。従て本検定法により肝臓の造血効力を検定するには、白鼠体重 1 kg に対し生肝臓 0.5 g に相当する量を三日間与える条件を採用した。

B. ナガス鯨、ブリ、及びアブラザメ肝臓抽出液の効果

供試肝臓の抽出液の調製は A 項に示した牛肝臓の場合と同様である。配合飼料**で飼育した白鼠に体重 1 kg 当り ph-hydz. HCl の 30 mg を腹腔内に注射し、その後三日間体重 1 kg 当り無脂肪肝臓 0.5 g 相当量の供試肝臓抽出液を皮下注射し、毎日赤血球数を算定して、その最低に達する日数が、対照區より遷延したものを有効とみなした。実験の結果は Table II に示す通りである。赤血球数が最

Table II The effect of subcutaneous administration of liver-extracts of several marine animals upon the change in red blood cell count (million per cmm)

Kinds of the animals	Whale				Yellow tail		Shark				Control				
Body wt. of albino rat	142	75	213	167	234	83	278	305	258	304	164	113	278	143	
Before injection	8.68	10.1	8.63	7.13	10.7	8.66	8.94	7.80	9.01	8.50	9.38	8.68	9.30	8.97	
Days elapsed after injection	1	6.73	7.84	6.43	5.17	7.82	7.68	6.58	7.19	6.80	7.00	6.00	5.42	6.74	7.57
	2	6.61	6.18	6.22	4.99	7.90	6.99	5.58	6.19	6.21	6.16	5.85	4.99	4.80	6.26
	3	6.37	5.97	5.27	4.15	6.19	6.08	5.54	5.43	4.10	4.62	5.24	3.95	4.56	5.85
	4	5.62	5.30	5.07	4.07	5.80	5.73	4.99	4.57	4.84	6.30	6.36	4.91	4.78	6.19
	5	4.89	4.95	4.70	3.23	5.24	5.61	4.72	4.36	5.34	6.66	6.88	5.69	4.88	—
	6	5.85	5.22	5.24	3.34	5.96	5.78	5.57	5.24						6.80
	7		5.30	6.03	—			5.76							
	8				4.26										
Day at minimum r. b. c.	5.0	5.0	5.0	5.3	5.0	5.3	5.0	5.0	3.0*	3.0*	2.9	3.0	2.9	2.9	

* A liver-extract corresponding to 0.25 g fresh liver level was administered.

低に達する日数は、対照區が 2.9 日であつたのに対し、ナガス鯨區が 5.1 日、ブリ區が 5.2 日、アブラザメ區が 5.0 日であつて殆ど差異がない。また Table I に示した牛肝臓の効果と比較すると、僅かに優つている。従て牛肝臓と同様な有効成分が殆ど同量これらの水産動物肝臓中に含まれているものと断定できる。

一般に肝臓中のビタミン A, D, B₂ 及びニコチン酸等の含量は動物の種類によつて著しく相違している。しかし肝臓の造血成分については陸産、水産を問わずまた魚種によつても殆ど差がみられないということは、肝臓の造血成分の作用がどんな種類の動物の生体内に於ても、同程度の重要性をもつてゐるためであらうとも推定され、生化学的に興味深いものがある。

C. ナガス鯨肝臓・胃混合物及びブリ肝臓・胃混合物の抽出液の効果

**飼料としては次の二種類を用いた。 a) トウモロコシ 40, 澱粉 20, 米 10, 蚕蛹 10, 米糠 17, 混合無機塩 3。 b) ベプトン 9.1, 小麦粉 83.5, バター 4.0, 植物油 2.0, 乳酸石灰 0.6, 食塩 0.8, 肝油 1,000 I. U.

Table III *The effect of subcutaneous injection of extract of mixture of liver and stomach upon the change in red blood cell count (million per cmm).*

Kinds of marine animal	Whale			Yellow tail		Control	
Body wt. of albino rat	164	149	145	141	172	164	204
Before injection	11.20	9.75	7.68	8.55	7.46	9.38	11.14
Days elapsed after injection	1	8.30	8.91	6.66	5.92	6.58	7.17
	2	7.48	8.04	6.67	5.83	5.83	6.03
	3	5.30	6.60	5.28	5.48	5.71	5.12
	4	4.27	4.66	4.04	4.55	4.98	5.64
	5	3.05	3.79	3.64	4.42	4.81	5.74
	6	3.53	3.59	4.04	5.10	3.48	
	7	3.83	4.21	4.06	6.22	5.60	
	8	4.89	4.81	4.85	7.09	6.09	
Day at minimum r. b. c. count	5.1	5.5	5.0	5.1	5.7	3.0	3.0

肝臓攪碎物 4 に対して胃攪碎物 1 の割合に混合し、A 項に記載した方法で抽出液を調製した。実験方法は B 項に記載したものと全く同様である。抽出液の皮下注射量は無脂肪肝臓と胃との混合総量の 0.5g に相当する量である。その結果は Table III に明かなように、赤血球数の最低に達する日数は対照區が 3.0 日であつたのに対し、クジラ區は 5.2 日、ブリ區は 5.4 日であつて、肝臓のみの実験 (Table II) に比べ僅に造血効果が増強しているようである。

Table IV *The effect of oral administration of whale liver extract and liver-stomach extract upon the change in red blood cell count (million per cmm).*

Kinds of extract	Whale				Whale liver-stomach			Yellow tail liver	
Body wt. of albino rat	117	151	137	101	169	147	145	66	263
Before injection	8.53	8.31	9.92	9.92	8.66	9.85	9.04	8.20	10.28
Days elapsed after injection	1	7.39	8.86	6.68	7.81	8.19	9.05	7.82	7.34
	2	7.02	8.19	6.56	7.41	6.71	7.66	6.34	6.84
	3	4.71	4.96	6.45	6.68	6.10	4.84	6.22	5.64
	4	4.56	5.18	6.30	6.48	5.08	4.45	4.73	4.96
	5	4.06	4.98	4.97	6.36	4.24	3.43	4.23	4.83
	6	4.85	6.01	6.19	6.17	3.58	3.78	3.91	4.80
	7	5.09	5.78		6.79	3.88	4.36	4.22	5.33
	8	6.10	6.81			4.59	4.95	4.74	
Day at minimum r. b. c. count	5.4	5.3	5.2	5.8	6.2	5.5	6.1	5.8	5.8

D. ナガス鯨肝臓抽出液並に肝臓・胃混合物抽出粉末を経口投与した場合の効果

体重 1 kg 当り ph-hyd. HCl の 30 mg を腹腔内に注射した白鼠の一群には、体重 1 kg 当り生肝臓 0.5 g に相当するクジラ肝臓抽出液を注射器で直接腹腔内に三日間投与し、他の一群には肝臓・胃混合物抽出液の噴霧乾燥*** した粉末を体重 1 kg 当り生肝臓と胃との合量 0.5 g 相当量だけ三日間少量の飼料と混じて完全に食下させた。この両群につき毎日赤血球数を算定した結果は Table IV に示した。即ち赤血球数の最低に達する日数は、ナガス鯨肝臓抽出液の経口投与区では 5.5 日、肝臓・胃混合物抽出粉末の経口投与区では 5.9 日であつた。他方、前者を同時に皮下注射した場合には平均 5.1 日 (Table II)、後者の水溶液を皮下注射した場合には 5.2 日 (Table III) であつた。之等の比較から明かに経口投与の方が、造血効果は強く現われることがわかる。恐らくは白鼠の胃に於て、肝臓抽出液中の外在因子が変化をうけて、全体としての効果が増強されたものと推定される。また経口投与の場合にも、肝臓・胃混合物の方が肝臓のみの場合よりも多少効果が大きであつた。

III 総 括

Phenylhydrazine 貧血に対する牛肝臓の最小有効量を求め、次にこの最小量の肝臓を三日間 Phenylhydrazine 貧血の白鼠に投与する方法によつて、数種水産動物肝臓の造血効力を比較検討し、次のような結果を得た。

- 1) 牛肝臓抽出液の造血効力判定に必要な最少注射量は、三日間皮下注射する条件では、白鼠の体重 1 kg 当り生肝臓 0.5 g 相当量である。
- 2) ナガス鯨、ブリ及びアブラザメの肝臓は、無脂肪肝臓当りみな殆ど近似した造血効力をもつている。
- 3) ナガス鯨、ブリ及びアブラザメ肝臓の造血効力は、牛肝臓のそれに劣らない。
- 4) ブリ或は鯨の肝臓・胃混合物の造血効力は、それらの肝臓のみの効力より多少大である。
- 5) 肝臓の抽出液を経口投与した場合の造血効力は、皮下注射した場合よりも多少大である。

本研究の一部は文部省科学研究費によつて遂行した。また鯨肝臓は大洋漁業株式会社、サメ肝臓は日本水産株式会社より提供されたものである。茲に記して深謝の意を表する。

文 献

1. Minor, G. R., and Murphy, W. P. : J. Amer. Med. Assoc., **87**, 470 (1926).
2. 佐々木林治郎, 中村和夫, 鬼原新之丞: 糧食研究, No. 205, 1 (昭. 18).
佐々木林治郎, 中村和夫, 鬼原新之丞: 同 前, No. 216, 10 (昭. 19).
3. Whipple, G. H., and Robscheit-Robbins, F. S. : Amer. J. Physiol., **79**, (271) 1926-7).
4. Hansen, O., Stub, O., and Forbech, V. : Acta. Med. Scand., **76**, 26 (1931).
5. Connery, J. E. : Amer. J. Med. Sci., **180**, 603 (1930).
6. Davidson, L. S. P. : Brit. Med. J., **2**, 347 (1932).

*** 噴霧乾燥条件は送風温度 130°C, 排風温度 70°C, 気圧差水柱 10 mm であつた。