海獣インシュリンに関する研究—Ⅱ*

高岡 道夫・石原 義雄

斎藤 要・横山 彰

(北海道大学農学部水産化学教室)

Studies on Insulin of the Marine-Mammals Ⅱ.

Michio TAKAOKA Yoshio ISHIHARA

Kaname SAITO and Akira YOKOYAMA

In the previous work we reported about the pancreas of Seals, Fin whales, and Sperm whales in Hokkaido as resources of insulin.

Afterwards we studied on the insulin of the Lesser rorqual *Balaenoptera acuto-rostrata* LAC., Killer whales, *Orcinus rectipinna* COPE, and Beaked whales *Berardius bairdii* STEJENGER in Hokkaido (Table 1 shows yields and effects of their insulin), improved the extraction of insulin by the acetone method and examined the relation between solubilities and effects of insulin picrates (Table 2), fractional precipitates of insulin by salting out (Table 3), and Antiinsulin (Fig. 1).

畜産物の乏しい我国に於てはインシュリン資源として陸上哺乳動物の臓腑は余り問題とされない、魚類の「ランゲルハンス」氏島が専らこの工業の原料とされ又種々報告¹⁾もある所であるが、我々は先に北海道近海に於て捕獲される水産哺乳動物の臓腑がインシュリン資源となり得る事を報告した。²⁾

今回更に新しく追加試験を試みたので、此処に其の結果の一部と海獣インシュリンピクリン酸塩の溶解性と効力、塩析による分別沈澱と其の効力との関係及び海獣インシュリンに混在する血糖上昇性物質に就て報告する。

Ⅰ. 試料

試料は何れも昭和 23 年 4 月北海道網走沖に於て捕獲せるものである。

a) こいわしくぢら *Balaenoptera acuto-rostrata* LAC. 死後約 11 時間経過、平均臓腑重量 5.4 kg.

b) しやち *Orcinus rectipinna* COPE. 死後約 15 時間経過、平均臓腑重量 3.5 kg.

c) つちくぢら *Berardius bairdii* STEJNEGER. 死後約 14 時間経過、平均臓腑重量 5.0 kg.

小型鯨類の鮮度は其の捕鯨法(小型鯨船は多く日帰り)より極めて良好で、寒冷な気温(4月)を考慮に入れ有力なインシュリン資源と思われる。

Ⅱ. インシュリン抽出

第一報に於ては DUDLEY³⁾等のピクリン酸法と SCOTT, BEST⁴⁾等の塩酸酸性酒精法に従つて行つたが、何れの方法によるも酒精、アセトンの大量を要し、且之等混合溶媒の回収は種々困難を伴う故に塩酸酸性酒精法に準拠して、今回は新たに一貫してアセトンを使用する塩酸酸性アセトンによる方法を試みた。之の一般的な抽出の要点は、採取試料を細切し、アセトン 75 容、水 25 容、濃塩酸 1.5 容の混液中に投入し抽出液を

1951 年 10 月 1 日受理

* Contribution No. 138, from the Department of Fisheries, Fac. of Agr., Hokkaido Univ., Sapporo, Japan.

アンモニアにてアルカリ性とし析出物を除き塩酸にて pH2 とし 35°C で減圧下にアセトンを除いた残液に無水アセトン又は食塩或は硫酸を加えると有効成分の沈澱が得られる。一夜放置後沈澱を集め油脂溶剤で洗滌し、真空乾燥して粉末とする。斯くする時はピクリン酸を使用せぬ為アセトン脱水によつて組織が脆弱化し、従つて磨潰が容易となり以後の操作も容易でインシュリン収量も良好であるが、効力は稍々減少した。然し乍ら酒精を使用せぬ為低温処理が可能で従つて溶媒の損失少なく経済上極めて有効な方法と考えられる。

又粗インシュリンの精製法としては種々検討した結果 LUDLEY⁵⁾ 法に準じインシュリン塩酸塩酒精溶液をアンモニアでアルカリ性とし析出する沈澱を遠心分離で除き、塩酸で pH 2 とし低温 (35°C 前後) 減圧下に酒精を除いた残液に無水アセトンを加えインシュリンを析出せしめる方法によつた。

Ⅲ. 力価の測定

MARKS⁶⁾ 法及び Toronto⁷⁾ 法に準拠して行い、血糖定量は HAGEDORN-JENSEN⁸⁾ 法によつた。以下第一報の如くして注射液を調製した。

斯くして得られたインシュリン製品の収量及びその効力は Table 1. に示す。

Table 1. Yields of insulin from some marine-mammalian pancreas.

Name of marine mammals	Average weight of pancreas	Yield of insulin	Effects (Total)	
Lesser rorqual	5.4 kg.	0.75 g./kg.	3.0 i.u./mg.	2250 i.u./kg.
Killer whale	3.5	0.82	2.2	1800
Beaked whale	5.0	0.92	2.1	1930

即ち第一報の大型鯨類と比較する時は製品 mg 当りの効力に於ては稍々劣るも、各試料共脾臓 kg 当りの収量は 2 倍以上にして絶対量に於ては優つている。

更に医療用として前述の精製法を繰返せるインシュリンは 10~15 i.u./mg を示した。

Ⅳ. インシュリンピクリン酸塩の溶解性と効力

インシュリン抽出に当りピクリン酸法による場合減圧蒸溜後インシュリンピクレートが得られるが、このピクレート中には勿論インシュリン以外のピクレートも混在するもので、今海獣インシュリンピクレートを塩酸性アセトン (1 規定塩酸 20 分, アセトン 80 分) 溶解に際し其の溶解度より易溶 (ピクレート 1 g に対し酸性混液 15~20 cc で溶解せる部分), 難溶 (易溶部分を除去後更に酸性混液 30~40 cc 加え 30°C に加温して溶解せる部分), 不溶 (難溶部を除去せる残渣) の各部に分けて、この三区分の割合及び其の分別後の各部の効力を Table 2 に示す。

Table 2. Solubilities and effects of insulin picrates.

Fraction	Rate	Effects
Easily soluble parts	89 %	2.6 i.u./mg.
Hardly soluble parts	8	0.8
Insoluble parts	3	0

即ち難溶性ピクレートはインシュリン以外の物質のピクレートが主成分となるものと考えられ、之よりインシュリンピクレートの溶解に用いる酸性混液は少量用いて、難溶性のピクレートの混在を防ぐと好結果の得られる事がわかつた。

Ⅴ. インシュリンの塩析による分別沈澱と其の効力

海獣インシュリン 500 mg を 20 cc の蒸留水に溶解し、食塩及び硫酸を用い、其の飽和度を異にした場合

析出する沈澱の収量及び其の効力を検定した結果は Table 3. の如くである。

Table 3. Effects of fractional precipitation of insulin by salting out.

NaCl	Rates of ppt.	Effects	(NH ₄) ₂ SO ₄	Rates of ppt.	Effects.
4/6 sat.	5 %	0.78 i.u./mg.	2/6 sat.	2 %	0 i.u./mg.
5/6 sat.	12	2.1	3/6 sat.	55	3.4
sat.	71	2.7	4/6 sat.	22	2.6
Non-withdrawal	12	0	Non-withdrawal	21	0

上記の如く食塩によるインシュリンの分別沈澱は飽和度附近で其の大部分が沈澱するが、其の効力の上昇は余り認められず、且 4/6 飽和の析出部は血糖降下の持続作用が飽和部よりも大で、市販インシュリンに比し約 2 倍の 10 時間の持続性を有する。之は興味のある事実で共存物質の影響と考えられる。之に対して硫酸を使用した時は半飽和附近で最も多量に析出するが、5/6 以上の飽和にする時は沈澱に硫酸が混じて析出する恐れがあり、硫酸それ自身は血糖上昇作用を有する故注意を要す。即ち硫酸の場合は半飽和で精製目的を達する事が判明した。

Ⅵ. 粗インシュリン中の血糖上昇性物質

海獣インシュリン精製の際酒精洗滌の洗液は黒褐色となり、それをアセトン中に投入すると褐色の沈澱が得られる。尙本物質はベンゾールにも溶解し、水には極めて良く溶解する。本物質の水溶液をアンモニアでアルカリ性にし、生ずる沈澱を濾別し減圧蒸留後アセトン中に投ずると吸湿性の褐色沈澱が得られる。又本物質はその 50 % 酒精溶液に酒精 1 容を加える時良く沈澱する。種々の呈色反応及び沈澱反応の結果よりアミン体ではなく、一種の蛋白質と考えられ、本物質を 3 mg/kg 皮下注射した時家兎は注射 1 時間後烈しく痙攣を起し、血糖量は Fig 1. の如く 2 時間で約 50 % 上昇を示した。

尚脾臓中の血糖上昇性物質に関しては既に FISCHER⁹⁾, GEILING¹⁰⁾ 等の発表があるが、之等の物質との関係に就ては目下検討中である。

Ⅶ. 血糖降下作用に対する考察

海獣インシュリン注射後の血糖降下作用に就て、第一報に於ては抹香鯨インシュリンの特異性の存否に就て言及したが、今回抽出した小型鯨のインシュリンを第一報の抹香鯨インシュリンの血糖降下作用と比較する時は Fig 1 の如くである。

(尙槌鯨、鯨の血糖曲線も小鯨鯨と大同小異ゆえ、図の混雑を防ぐ為省略した。)

Fig 1. Blood sugar curves following injection of some insulin.

図に示す如く小型鯨インシュリンは一般に注射後急激に血糖は降下し、其の後血糖降下の持続性も大である。之等の血糖曲線は、食塩分別沈澱の場合に述べた如くインシュリン自身の作用以外に其の精製程度により共存する物質にも少なからぬ関係を有する事は考慮しなければならぬが、精製程度同様な製品に就ての以上の比較結果より一応の持続性は認められる事と考える。

本研究は昨年高岡教授急逝後、中村幸彦教授の御導御鞭撻によるものである。又生理試験に関し種々御便宜を賜つた北海道大学医学部真崎教授、田辺助教授、高橋医学士に厚く感謝する。(本研究は文部省科学研究費に依る。併せて感謝の意を表する。)

文 献

- 1) 荒川：日水誌 **15**, 402 (1949);
末松：水誌報 **11**, 121 (1940);
遠山：農化誌 **17**, 905 (1940);
長沢・近藤：薬学雑誌 **62**, 287 (1942).
- 2) 高岡・齋藤・横山：日水誌 **14**, 302 (1949).
- 3) H. W. DUDLEY : *Biochem. J.*, **18**, 665 (1924).
- 4) C. H. BEST & D. A. SCOTT : *J. Metabolic Research*, **3**, 177 (1923).
- 5) H. W. DUDLEY, W. W. STARLING : *Bioch. J.* **18**, 147 (1924).
- 6) H. P. MARKS : *Brit. Med. J.*, **2**, 102 (1925).
- 7) The Insulin Committee of the Univ. of Toronto : *Biol. stand.* **1**, 24.
- 8) H. C. HAGEDORN, B. N. JENSEN : *Biochem. Z.*, **135**, 46 (1923).
- 9) N. F. FISCHER : *Am. J. Physiol.* **61**, 57 (1923); *J. Am. Med. Assoc.* **2**, 920 (1923); *L. G.* 220.
- 10) E. M. K. GEILING et al. : *J. Pharm. Exp. Therap.* **39**, 269 (1930).