U.D.C. 615.361.316

27. 伊藤四十二, 青沼 繁: 顎下腺の研究 (第 6 報)

顎下腺抽出物の血糖量に及ぼす影響について

Yosoji Ito and Shigeru Aonuma: Studies on the Submaxillary Gland. VI.
Effects of Submaxillary Gland Extracts on Blood Sugar Level.(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo, and
Pharmaceutical Faculty, University of Osaka.)

Physiological saline, ether, acid ethanolic extracts, and an extract by the Best method were prepared from bovine submaxillary gland but none possessed the action of lowering blood sugar level in a rabbit. The pH 4.5-precipitate, and the fractions which lowered the serum phosphate level and serum calcium level, all obtained from the bovine submaxillary gland were devoid of the action of lowering blood sugar level in rabbits by intravenous injection, as in the case of parotin. The fraction which lowers serum phosphate level in rabbits significantly increased the blood sugar level at a 5% danger rate by subcutaneous injection.

(Received September 23, 1955)

唾液腺と糖質代謝との関係については 1890 年以來, 多数の研究がなされている。Best, Scott 等¹⁾は顎下腺にインシュリン様物質が含まれているといい, 前原²⁾は犬の顎下腺及び耳下腺の 20%食塩水エキスを及び酸エタノールエキスを家兎血糖量低下作用があると報告している。また, 伊藤³⁾は共に家兎(用量: 5, 15 及び 25 mg/家兎 静注)につき, 柴田⁴⁾等は犬(用量: 30 mg/犬 静注)について parotin は血糖量に影響を及ぼさないと報告している。これに対し, 為田⁵⁾は犬で parotin (用量: 100 mg/犬 静注)は 1~3 時間後に, またわれわれの抽出した顎下腺抽出物 pH 4.5 沈澱⁶⁾も 100 mg/犬 静注で 30~1 分時間後に軽度の減少を示し, 以後徐々に試験前値に復する事を報告している。われわれ⁷⁾は顎下腺中には parotin に酷似した家兎血清 Ca 有効分屑と耳下腺では認められない家兎血清磷有効分屑の少くとも 2 成分が存在する事を知つたので, この両成分につき家兎血糖量を測定し所見を得たので報告する。なお血糖量の測定は Hagedorn-Jensen⁸⁾法によつた。

実 験 の 部

1) 食塩水エキス 牛顎下腺を摘りつぶし, 5 倍量の生理食塩水につけ 24 時間放置後遠心分離, 上清を前原法に準じ取り, 家兎の皮下に注射し, 採血の時間及び降下率の算出は総べて前原の報告に従つた。

Table I. Influences of Injection of Saline (5cc.) on Blood Sugar Level (Control)

Rabbit No.	Body Wt.	Blood-sugar level (mg./dl)						Decrease rate† (%)
		Before injection	After injection					
			0.5 hr.	1 hr.	2.5 hrs.	4 hrs.	5.5 hrs.	
50	2740	110	112	117	107	107	110	2.7
44	2670	117	118	114	114	116	116	2.6
51	2600	117	⁄	110	113	113	106	9.4
48	2440	106	113	106	106	112	⁄	0

1) Best, Scott: J. Am. Med. Assoc. 81, 382(1923).

2) 前原: 日本内分泌学会誌 10, 433(1934).

3) 伊藤, 小林: 第 71 回日本薬学会年会発表(1951); 昭和 26 年度文部省総合研究集録(医学薬学編) 193 (1953).

4) 田所, 鈴木, 中村, 柴田: 日本内分泌学会東部部会 9 月例会口演 (1954).

5) 為田: 日本内分泌学会誌 27, 285(1952).

6) 伊藤, 青沼: 本誌 72, 1517(1952).

7) 伊藤, 青沼, 篠田: 本誌 73, 1366(1953).

8) Hagedorn-Jensen: Biochem. Z. 135, 46(1923).

49	2940	107	116	112	116	114	107	0
44	2840	104	111	112	114	104	104	0

$$\dagger \text{ Decreasing rate} = \frac{\text{initial value} - \text{minimum value after injection}}{\text{initial value}} \times 100$$

Table II. Influence of Injection of a Mixed Solution of Saline (2.5 cc) and Saline Extract (2.5 cc.) of Bovine Submaxillary Gland on Rabbit Blood Sugar Level.

Rabbit No.	Body Wt.	Blood sugar level						Decrease (%)
		Before injection	After injection					
			0.5 hr.	1 hr.	2.5 hrs.	4 hrs.	5.5 hrs.	
47	2630	97	97	104	95	105	119	2.1
51	2620	104	104	107	116	116	119	0
47	2690	99	105	103	108	112	94	5.1
49	2770	115	115	118	120	120	112	2.6
51	2600	117	117	120	120	118	120	0
44	2680	116	116	118	120	118	120	0

Table III. Influence of Injection of Saline Extract of Bovine Submaxillary Gland (5 cc.) on Rabbit Blood Sugar Level

Rabbit No.	Body Wt.	Blood sugar level						Decrease (%)
		Before injection	After injection					
			0.5 hr.	1 hr.	2.5 hrs.	4 hrs.	5.5 hrs.	
50	2480	107	107	119	101	102	105	5.6
48	2430	119	119	123	121	132	132	0
50	2470	112	112	117	103	103	96	14.3
44	2670	118	118	110	118	116	99	16.1
51	2600	117	119	120	125	120	110	6.0
49	2950	107	107	105	110	105	106	0

前原²⁾は犬の顎下腺より抽出した食塩水エキスの血糖降下率は14.5%と報告しているが、我々が牛の顎下腺より抽出した食塩水エキスは Table I, II 及び III に示す如く対照に比し有意に血糖量を降下するとはいえない。ただ生理食塩水エキスを5.0 cc 注射した場合には6匹中2匹が前原の如き減少を示したが別の2匹は逆にかなりの上昇を示しており値は一定していない。そこで念のためこれらの降下率平均値について差の検定を行ったところ生理食塩水エキス2.5 cc と生理食塩水2.5 cc の混液を注射した場合も生理食塩水エキス5 cc 注射の場合もいずれも対照に比し5%の危険率で有意性を示さない。

2) 牛顎下腺より各種抽出法により抽出したエキスの血糖量試験 牛顎下腺よりの食塩水エキスが効力を認められなかつたので次に下記3種のエキスを製し血糖量に及ぼす影響をみた。

(a) エーテルエキス：牛顎下腺500 g を摺りつぶし、エーテル2 L で抽出し、エーテルを留去する。(b) エタノールエキス：牛顎下腺500 g を摺りつぶし99.2%エタノール1 L で抽出しエタノールを留去。

(c) 酸性エタノールエキス：牛顎下腺500 g に3% HCl 20 cc, 純エタノール500 cc を加えて抽出。40°以下で減圧濃縮し、更に低温乾燥しこの残渣を500 cc の生理食塩水で溶解し不溶物を除いてエキスとする。この3種のエキスも Table IV に示す如く殆んど影響は認められない。なお減少率の計算は前表と同様である。

Table IV. Influences of Ether, Ethanol, and Acid-Ethanol Extract of Bovine Submaxillary Gland on Rabbit Blood Sugar Level

Sample	Dose	Blood sugar level					Decrease (%)
		Before injection	After injection				
			1 hr.	2 hrs.	3 hrs.	5 hrs.	
Ether ext.	5 cc. subcutan	117 108	114 108	114 105	109 105	114 108	6.8 2.8
EtOH ext.	"	124 116	120 119	124 116	124 111	121 116	3.2 4.3
Acid-EtOH ext.	"	124 119	121 114	119 114	119 118	112 119	9.7 4.2

3) Best 法⁹⁾ による抽出物の血糖量に及ぼす影響 牛顎下腺 1 kg を磨潰し Table V の如く Best 法に準じて抽出した。

Table V 中の a, b 及び c の各フラクションを 0.01 N 塩酸 50 cc に溶かしこれらをそれぞれ家兎の皮下に注射したが実験の結果 Table VI の如く特に血糖量に影響のあるフラクションがあるとは思われない。

4) 牛顎下腺抽出物のカルシウム有効分屑と燐有効分屑の血糖量に及ぼす影響 著者等が牛顎下腺から抽出した血清 Ca 有効分屑と血清燐有効分屑について血糖量に及ぼす影響を試験した。検体として粗製品である pH 4.5 沈澱 (血清 Ca 低下効力: 6.41%, 血清燐低下効力: 10.52%, いずれも家兎 6 匹の平均値, 注射量: 1 mg/kg (body weight) と血清燐有効分屑として硫酸 12.5% 沈澱* 血清 Ca 低下効力: 7.21%, 血清燐低下

Table V

Table VI. The Influences of a, b, c Fractions in Table V on the Rabbit Blood Sugar Level

Sample	Dose (cc.)	Blood sugar				Dec. rate (%)	
		Before Injection	After injection				
			1.5 hrs.	3 hrs.	5 hrs.		
a	5	104	106	102	101	2.9	
		105	114	103	98	6.7	
		97	112	99	95	2.1	
	2	99	104	102	96	3.0	
		114	110	112	105	7.9	
b	5	110	106	107	106	3.6	
		115	112	112	108	6.1	
		98	96	95	96	3.1	
	2.5	108	108	105	104	3.7	
		89	90	86	86	3.4	
c	5	117	114	108	114	7.7	
		97	96	90	92	7.2	
		108	110	108	104	3.7	
	2.5	124	124	125	118	4.8	
		89	92	88	87	2.2	

9) C.H. Best et al.: Am. J. Physiol. 100, 285(1932).

Table VII. Influences of the Intravenous Injection of Various Bovine Submaxillary Gland Extracts on the Rabbit Blood Sugar Level

Sample	Dose	Blood sugar				Increase (+) or decrease (-) %
		Before injection	After injection			
			1.5 hrs.	3 hrs.	5 hrs.	
pH 8.0-water (control)	1cc	118	120	122	118	+1.7
		108	111	110	114	+3.4
		120	120	120	124	+1.1
		104	103	103	108	+0.7
		112	//	115	120	+0.6
pH 4.5- Precipitate	2.5 mg/kg in 1 cc pH 8.0 water	108	110	114	111	+3.4
		120	120	127	124	+3.1
		118	//	124	127	+4.7
		108	108	115	112	+3.4
		105	110	105	110	+3.1
Serum- phosphate decreasing fraction	"	127	125	125	120	-2.9
		//	126	119	125	-2.9
		105	124	94	88	-2.9
		112	103	110	110	-3.8
		118	110	114	118	-3.4
Serum-Ca decreasing fraction	"	//	120	124	115	+1.4
		//	120	115	118	-0.3
		97	112	96	94	+3.8
		104	106	102	101	-1.0
		98	96	95	94	-3.1

Table VIII. Influences of the Subcutaneous Injection of Various Bovine Submaxillary Gland Extracts on the Rabbit Blood Sugar Level

Sample	Dose	Blood sugar				Increase (+) or decrease (-) %
		Before injection	After injection			
			1.5 hrs.	3 hrs.	5 hrs.	
pH 8.0-Water (control)	5 cc	120	117	116	127	0
		124	125	124	124	+0.2
		92	92	96	98	+3.6
		99	104	103	102	+4.0
		120	120	127	124	+3.1
pH 4.5 Precipitate	15 mg/kg in 5 cc pH 8.0 water	117	114	114	117	-1.7
		97	96	97	92	-2.1
		124	124	127	124	+0.8
		108	110	114	116	+4.9
		105	114	103	114	+5.0
Serum- phosphate decreasing fraction	"	92	94	105	94	+6.2
		112	115	127	119	+7.4
		99	108	108	105	+8.1
		99	114	101	108	+8.8
		120	139	142	127	+13.3
Serum-Ca decreasing fraction	"	114	114	108	120	0
		105	114	104	105	+2.9
		99	96	105	104	+2.7
		117	117	115	121	+0.6
		92	92	96	98	+3.6

効力：13.58%，いずれも家兎6匹平均値，注射量：1 mg/kg 及び血清 Ca 有効分層として透析硫酸 12.5% 沈澱*
 血清 Ca 低下効力：16.50%，血清磷低下効力：10.30%，家兎6匹平均値，1 mg/kg を選り実験した。ただ
 この場合は注射後最低血糖値の代りに3回の平均値を求めて変動率とした。（変動率 = $\frac{\text{直前値} - 3 \text{ 回平均値}}{\text{直前値}} \times 100$ ）

Table VII に示す如く静脈内注射の場合には pH 4.5 沈澱，磷有効分層，Ca 有効分層とも対照に比して有意の差がない。しかし皮下注射の場合には Table VIII に示す如く pH 4.5 沈澱及び Ca 有効分層では対照に比して有意の差がないが磷有効分層では平均値の差の検定により対照に対し 5% の危険率で有意差を認めた。この実験で磷有効分層が 15 mg の皮下注射で有意に血糖量を上昇させる事を認めたので念のため 25 mg を皮下注射し

* 伊藤，青沼，篠田：本誌 73, 1363(1953) を参照されたい。

たが 3 時間後に明らかに 26.6% の上昇を示した。

総括 (1) 前原は犬の顎下腺の生理食塩水エキス、エーテルエキス及び酸性エタノールエキスには家兎血糖量低下作用があると報告しているが、著者等が行った牛の顎下腺のそれらのエキスは 5% の危険率で有意に家兎血糖量に影響を及ぼさなかつた。

(2) Best 等は顎下腺にインシュリン様物質が含まれているというのが牛顎下腺では証明出来なかつた。

(3) 著者等が牛顎下腺より抽出した pH 4.5 沈澱、家兎血清燐低下分層及び血清 Ca 低下分層は 2.5 mg/kg 静脈注射では parotin と同様に家兎血糖量に対して影響を及ぼさない。

(4) 牛顎下腺よりの家兎血清燐低下分層は静脈内注射量の 6 倍用量の皮下注射では 5% の危険率で有意に血糖量を上昇する。

本研究に当り種々実験上御便宜を賜わつた大阪大学川崎教授に感謝する。また本研究の一部を担当された行方正也、柏谷三輪子、菅田裕子の諸氏にも併せて感謝の意を表する。

東京大学医学部薬学科、大阪大学薬学部

U.D.C. 615.361.316

28. 青沼 繁：馬顎下腺の抽出物について（顎下腺の研究 第 7 報¹⁾）

Shigeru Aonuma : Studies on the Submaxillary Gland. VII. Extracts of Equine Submaxillary Gland.

(Pharmaceutical Faculty, University of Osaka*)

Equine submaxillary gland also afforded a substance, as the bovine gland, which lowered the serum calcium and inorganic phosphate level in rabbits. Precipitates at pH 5.4 and 4.5 were obtained by dilute alkali extraction of the equine submaxillary gland and were submitted to fractional precipitation with ammonium sulfate. The principle which lowers rabbit serum calcium level was obtained in the fraction of 12.5% ammonium sulfate from the pH 5.4-precipitate, while the principle effective for the serum phosphate was obtained from the fraction of 25% ammonium sulfate from the pH 4.5-precipitate.

(Received September 23, 1955)

著者は牛顎下腺より電気泳動試験で純度 93.8% の S-parotin を抽出し、このものは parotin と諸性質が全く類似することを証明した。更に牛顎下腺中には血清燐低下性物質も存在することを報告したが、S-parotin とこの血清燐低下性物質との分別は極めて困難でかなりの長い過程を要した。今回牛の代りに馬顎下腺を用い実験した結果、牛の場合と同じく二成分を認めると同時に牛よりもかなり容易に分離可能なことを認めたので、ここに報告する。

馬顎下腺より粗製沈澱の抽出 新鮮な馬顎下腺より既に報告²⁾ せる牛顎下腺より pH 4.5 沈澱の抽出法にならい馬顎下腺アセトン乾燥粉末を得る。この乾燥粉末 400 g (約 13 頭分) に 4 倍量の pH 8.0 (P.R.) に調整した水を加え、30 分間攪拌した後一夜放置し、翌日汙過する。残渣には再び 4 倍量の pH 8.0 の水を加え前と同様に操作し、これを 2 回繰り返して 2 回の汙液を先の汙液と合する。この汙液に氷冷下攪拌しつつ 5% HCl を滴下すると pH 6.0 位から混濁し始め pH 5.4 (C. P. R.) で明らかに沈澱が析出する。これを遠心分離し、沈澱をアセトンで Soxhlet 抽出後、エーテルで乾燥し粗製 pH 5.4 沈澱とする。収量 5.4 g (1.35%) である。次に先に沈澱を分離した上澄液に更に 5% HCl を滴下すると再び沈澱を析出するから pH 4.5 (I.P.B.) に調整した後遠心分離する。この場合の分離液は殆んど澄明になる。沈澱はアセトンで Soxhlet 抽出しエーテルで乾燥し、粗製 pH 4.5 沈澱とする。収量 8.2 g (2.05%) である。

粗製 pH 5.4 沈澱の硫酸分劃 粗製 pH 5.4 沈澱 4 g を取り、水 300 cc を加え希アルカリで pH 8.0 (P.R.)

* Hotarugaiké, Toyonaka, Osaka-fu.

1) 本報告は伊藤四十二：顎下腺の研究 (Yosoji Ito: Studies on the Submaxillary Gland) の一部である。

2) 伊藤、青沼、篠田：本誌 73, 1361(1953)。