

糖尿病患者における血小板凝集能と、血中ミネラル、核酸関連物質の 変動におよぼすかき肉エキスの影響

松田 芳和¹⁾・出田 祐久²⁾・藤田 忠義²⁾・村田 道代³⁾・土井 悦四郎³⁾・
太田 隆男⁴⁾・中塚 正博⁴⁾・石津 弘視⁴⁾・坪内 凉子⁴⁾・柴田 幸雄⁴⁾

(¹⁾日本クリニック(株)・中央研究所*, (²⁾安倉病院**,

³⁾京都大学・食糧科学研究所***, (⁴⁾愛知医科大学・生化学教室****)

Influence of Oyster Extract on the Platelet Aggregation, the Nucleotides and Minerals of Blood in Diabetes Mellitus Patients

Yoshikazu MATSUDA¹⁾, Sukehisa IZUTA²⁾, Tadayoshi FUJITA²⁾, Michiyo MURATA³⁾*****, Etsushiro DOI³⁾,
Hirosi ISHIZU⁴⁾, Takao OHTA⁴⁾, Masahiro NAKATSUKA⁴⁾, Ryoko TSUBOUTI⁴⁾ and Yukio SHIBATA⁴⁾

¹⁾Japan Clinic Co., Ltd., Central Research Institute, ²⁾Agura Hospital

³⁾Research Institute for Food Science, Kyoto University

⁴⁾Department of Biochemistry, Aichi Medical University

***** Presence address, Kacho Junior College

Ohta *et al.* reported that oyster (*Crassostrea gigas*) extract (O.E) inhibited the platelet aggregation in alloxan diabetic rats and this action was caused by the nucleic acid-related substances (N.A.). Furthermore, influence of some minerals on the platelet aggregation was also reported that Zinc (Zn) and Magnesium (Mg) inhibited the platelet aggregation, but Calcium (Ca) accelerated. In this study, the changes of the platelet aggregation, the nucleotides in whole blood and the minerals in serum have been investigated in O.E. administered diabetes mellitus (D.M.) patients.

4 tablets of O.E. (containing 270 mg O.E. powder / 1 tablet) were orally administered to subjects every day for 7 months. Zn, Mg, Ca in serum, N.A. in whole blood and platelet aggregation were deter-

*所在地：京都市右京区太秦開日町10 (〒616)

**所在地：宝塚市安倉中4丁目1-15 (〒665)

***所在地：宇治市五ヶ庄 (〒611)

****所在地：愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21 (〒480-11)

*****現所属所在地：京都市東山区林下町3-456 (〒605) 華頂短期大学

mined in healthy adults (n = 7), insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) (n = 4) and non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) (n = 4).

Platelet aggregation of 8 subjects among 15 subjects was improved after continuous administration of O.E. for 1 month. In this period, the significant increase of AMP ratio [i.e. AMP / (AMP + ADP + ATP + Adenosine)] was observed in all subjects. However, ADP ratio [i.e. ADP / (AMP + ADP + ATP + Adenosine)] was significantly decreased in healthy subjects. In D.M. patients, ADP ratio tended to be decreased. About the serum minerals, serum Mg and Zn were decreased but Ca level was not changed in experimental period. In IDDM group, serum Zn was remarkably decreased compared with other groups. Effect of nucleotides on rat platelet aggregation was reported previously, but these findings suggested that some of nucleotides were related to the suppressive effect on human platelet aggregation. And oyster extract tablets might be available for the improvement of diabetes mellitus.

かき (*Crassostrea gigas*) は、亜鉛、タウリン、グリコーゲン、核酸等の栄養成分が豊富で広く一般に食品として利用されている。特に亜鉛は通常の食品の中では、最も多く含まれている¹⁾。また、かきにおける核酸の代謝も一般の魚類のように ATP から AMP へ、さらにイノシン、ヒポキサンチンへと代謝されるのではなく、AMP で代謝がとまり、AMP が蓄積される傾向があるといった貝類に特有の核酸代謝経路を持っている。

以前に太田らは、かきの熱水抽出物が、アロキサン糖尿ラットの血小板凝集能 (P.A.) を抑制し、この作用を示す物質は、核酸系物質である AMP, IMP, アデノシン, イノシン, アデニンであることを明らかにした。かき抽出物中の核酸系物質は、純品のものに比べて P.A. 抑制作用が非常に強いことも報告されている^{2,3)}。

一般に糖尿病においては、P.A. が亢進するという報告が多く見られ⁴⁾、また、各種ミネラルが P.A. におよぼす影響に関する報告も数多く見られる⁵⁾。P.A. は糖尿病の合併症及び脳血栓、心筋梗塞等の循環器系疾患において重要な指標の1つになっている⁶⁾。また近年、EPA 等の高度不飽和脂肪酸が P.A. を抑制すると言う報告がなされ、P.A. の測定に対する関心、意義が高くなっている。これらの事実をふまえて、高度不飽和脂肪酸以外の水溶性の P.A. 抑制物質^{7,8)}としてかきに含まれる核酸関連物質に着目し、人の糖尿病に対するかき肉エキスの効果を調べるため、健常者および糖尿病患者のボランティアにかきの主要成分を抽出濃縮したかき肉エキスの錠剤を投与し、P.A., 全血中の各種核酸関連物質、および血清中ミネラル濃度の推移を検討した。

実験方法

対象者

実験の対象は、Table 1に示すように安倉病院に通院または入院中の、糖尿病患者8名と健常者として安倉病院職員7名 (CONTROL 群) とした。糖尿病患者の内訳は、インシュリン非依存性糖尿病患者

Table 1. Characteristics of Subjects Participating in These Studies

	No. of Subject	♂ : ♀	Age	Excess Body Weight (%)	Blood Glucose	Duration of Diabetes
Control	7	2 : 5	43.1 ± 11.7	12.8 ± 12.0	88 ± 8.9	—
IDDM	4	2 : 2	55.0 ± 2.9	22.4 ± 25.6	215 ± 66.2	15 ~ 28
NIDDM	4	3 : 1	59.7 ± 5.8	16.3 ± 14.9	157 ± 44.4	3 ~ 25

IDDM : Insulin dependent Diabetes Mellitus

NIDDM : Insulin nondependent Diabetes Mellitus

The values are mean ± S.D.

4名 (NIDDM 群), インシュリン依存性糖尿病患者4名 (IDDM 群) であった。投与条件は, 1錠中の抽出エキス含量が270mgのものを1日4粒投与した。投与時間は, 午前中とし, 投与期間は平成3年7月から平成4年2月までの7ヶ月間とした。

測定方法

午前中の空腹時に採血した静脈血を3つのパートに分け, それぞれP.A., 全血中の核酸関連物質, 血清中各種ミネラルを測定した。

血小板凝集能測定法

静脈血 (9容量) と3.8% (W/V) クエン酸三ナトリウム (1容量) をプラスチック製試験管に入れて, 穏やかに混和した。160×gで10分間遠心分離を行い, その上清を採取して多血小板血漿 (PRP) とした。さらに沈澱部を1000×gで10分間遠心分離し, その上清を乏血小板血漿 (PPP) とした。

各患者のPRP (250μl) を専用キュベットに入れ, 5分間37℃にて放置後, マイクロシリンジで所定濃度の凝集惹起物質 (25μl) を静かに加えて攪拌し, 凝集を惹起させた。P.A. は各被験者のPPPの光透過率を100%凝集として, 京都第一科学社製のアグリコーダPA-3210で最大凝集率を指標として測定した。血小板凝集惹起物質として, ADP, (終濃度3μM), コラーゲン (終濃度2μg/ml) をそれぞれの濃度で使用した。

核酸関連物質測定法

全血中にPCAを加えて抽出し, 高速液体クロマトグラフィーで分析した。

ミネラル測定法

静脈血をポリスピッツ管に取り, 凝固するまで2~3時間放置後, 2000rpm, 10分間遠心分離し, その上清を採取して-20℃にて冷凍保存した。この血清にスルホサリチル酸を加え, 湿式灰化後, 原子吸光法により測定した。

結果と考察

Table 2にかき肉エキス錠剤の組織を示した。脂肪は全体の0.2%しか含まれておらず, EPAのような高度不飽和脂肪酸の影響は, 現れないものと思われる。

血小板凝集能

15例中8例でかき肉エキスの投与と共に有意なP.A.の抑制効果が見られた。この内訳は, 顕著な例

Table 2. Components of Oyster Extract

Protein	12.4 %
Fat	0.2 %
Ash	9.0 %
Taurine	2.44%
Glycogen	14.3 %
Zinc	272 ppm
Calcium	187 mg / 100g
Magnesium	172 mg / 100g
AMP	65 mg / 100g
Adenosine	55 mg / 100g

で3例で(著効群), また, いったん抑制された後再び若干の上昇傾向が見られる例が, 5例見られた。(有効群) こうなった原因は不明であるが, 可能性としては, エキスの飲用が不規則になったため, または季節の変動ということも考えられる。効果が見られなかった例は3例であった。上昇傾向を示しているが投与前と比べて有意差はなかった。また, 抑制と亢進を繰り返し, 効果の不明な例が4例あった。抑制された割合は著効群と有効群において平均約25%であった。今回の実験では, 健常者群と糖尿病患者群との間にかき肉エキス投与前の凝集率に有意な差は見られなかった。また, 健常者群よりも糖尿病患者群に効果のあった例が多く見られる。

核酸関連物質

以前より動物実験等で核酸関連物質はP.A. に大きな影響を与えることがわかっている。そこでADPとAMPの血中濃度を調べた。ADP比 $\{ADP / (AMP + ADP + ATP + Ad)\}$ は健常者群で有意な減少傾向が見られ, 糖尿病患者群でも減少傾向が見られた。AMP比 $\{AMP / (AMP + ADP + ATP + Ad)\}$ は健常者, 糖尿病患者とも有意に上昇した。また, アデノシン比も有意に上昇した。

Fig. 1は, 著効群3例における最大凝集率とAMP比, ADP比の推移を現わしたものである。図に見られるように, AMP比と最大凝集率との間に負の相関, ADP比と最大凝集率との間に正の相関が見られた。有効群5例についても同様の結果が見られた。(Fig. 2) また, Table 3に各相関係数を示す。

血中ミネラル

P.A. に影響を与えるといわれるカルシウム(Ca), マグネシウム(Mg), 亜鉛(Zn)の変化を調べた。一般にP.A. を亢進させる働きがあるといわれるCa量には変化が見られなかった。また, Caと拮抗的に働くといわれるMg量には有意な低下傾向が見られる。これらの事から, 前に示したP.A. の抑制効果がこれらの金属量の変化によるものではないということが示唆される。

Zn量は, 今回の実験では糖尿病患者においてZn量が減少している傾向は見られなかったが, かき肉エキスの投与開始とともに健常者とインシュリンに依存性糖尿病患者群においてZn量の有意な低下が見られた。また, インシュリン非依存性糖尿病患者群では有意な変化は認められなかった。血清を採取した後の血餅中のZn量も測定したが, 血餅中にZnが移行している傾向は認められない。このことについて演者らは2つの可能性を考えるに至った。1つは, 膵臓等の臓器に効率よく配分された可能性,

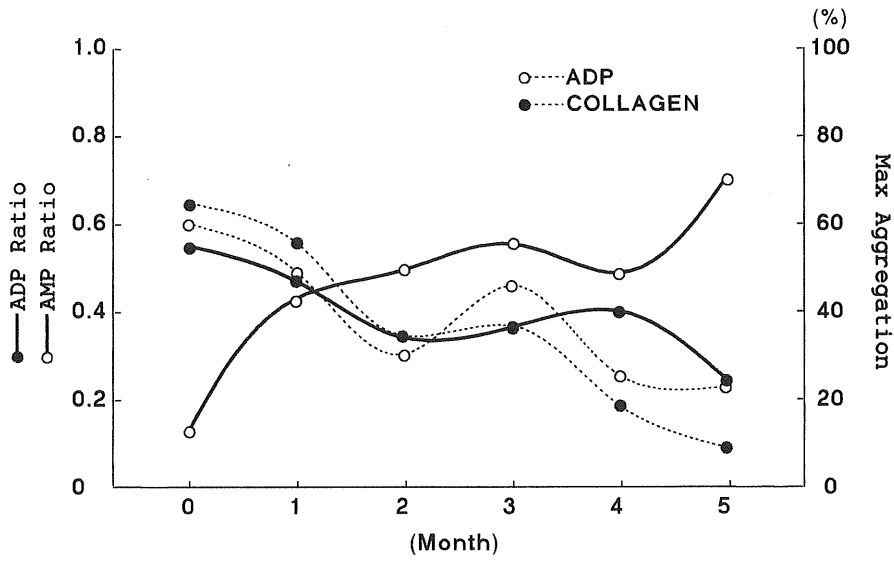


Fig. 1. Changes of platelet aggregation and nucleotide ratio in remarkable effect group (n = 3). Aggregation agonists are ADP (3 μ M) and Collagen (2 μ g/ml).

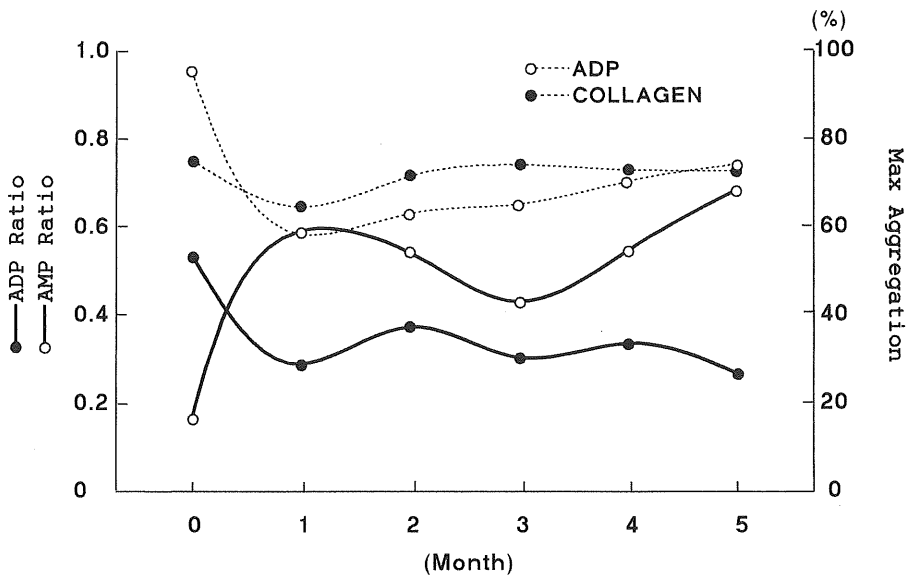


Fig. 2. Changes of platelet aggregation and nucleotide ratio in effect group (n = 3). Aggregation agonists are ADP (3 μ M) and Collagen (2 μ g/ml).

もう一つは、尿中に排泄された可能性である。

核酸量の比較

Table 4は、かき肉エキス中と血液中に含まれるアデノシンと AMP の量を比較したものである。これらの濃度はいずれも7カ月後で有意に増加している。このうち AMP 量の増加は2つの可能性が考えられる。1つはかき肉エキス中の AMP が直接吸収された結果、AMP 量の増加に繋がったと考えるもので、2つ目は ADP から AMP に代謝される過程に関与する酵素が、かき肉エキス中のなんらかの物質によって活性化されたためと考えるものである。AMP 量は投与前と比べて7カ月後では約3倍の量になっており、かき肉エキスからの摂取量が1.3mg しかないことを考えると増加の割合が非常に大きいことがわかる。また、ADP 量が減少傾向にあることを考えると、内部的な代謝の変化によってこの様な結果になったものと考えられる。アデノシンについては、AMP と比べて1日摂取量の1.1mg に対する増加の割合が小さいのであるいは摂取したアデノシンが血中に取り込まれた可能性もあるが、AMP からの代謝産物としてアデノシン量が増加したものとも考えられる。今後は *in vitro* で核酸の代謝系を作り、この系にかき肉エキスがどのような影響を及ぼしているのかを検討して行きたい。

以上のことから糖尿病患者へのかき肉エキスの投与は、核酸の代謝になんらかの影響を与え、P.A. を抑制する効果があることを示唆された。

文 献

- 1) HAMBIDGE, K.M., C. CASEY and N.F. KREBS (1986) : Trace elements in human and animal nutrition,

Table 3. Correlation Coefficient of Max Aggregation and Nucleotide Ratio

Nucleotide Ratio	Agonist	Remarkable Effect Group (n = 3)	Effect Group (n = 5)
AMP	ADP	- 0.799**	- 0.728**
AMP	Collagen	- 0.854**	- 0.495
ADP	ADP	0.698*	0.790**
ADP	Collagen	0.862**	0.461

Values are correlation coefficient between nucleotide ratio and agonist

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

Table 4. Amount of Nucleotide in Oyster Extract and Whole Blood

	Oyster Extract (mg / day)	Whole Blood	
		0 Month (mg / l)	7 Month (mg / l)
AMP	1.3	26 ± 5.66	76 ± 15.4
Adenosine	1.1	2.75 ± 1.53	6.15 ± 1.80

The values are means ± S.D.

0 Month : Before administration of oyster extract

7 Month : After administration of oyster extract

ed. by Mertz, W., Academic Press, Orlando : pp1-137

- 2) 太田隆男, 大久保雅啓, 奥村重雄, 毛利威徳, 秋山 弘, 服部雅康 (1985) 微量栄養素研究 2 : 169
- 3) 太田隆男 (1990) 愛知医科大学医学会雑誌18(6) : 589
- 4) KWAAN, H.C., J.A. COWELL, S. CRUZ, N. SUWANWELA and J.G. DOBBIE (1972) J. Lab. Clin. Med. 80(2) : 236
- 5) CIVAPLL, M., C.F. ZUKOSKI, B.G. HATTLER, L. STANKOVA, D. MONTGOMERY, E.C. CARLSON and J.C. LUDWIG (1976) Zinc and Cells. in Trace Elements in Human Health and Disease Vol. 1, Academic Press, N.Y. pp.269-281
- 6) 山中学, 植田 穰 編 (1982) 血小板
- 7) DYERBERG, J., H.O. BANG, E. STOFFERSEN, S. MONCADA and J. VANE (1978) Lancet2 : 117
- 8) 並木和子, 山中みどり, 立山千草, 五十嵐紀子, 並木満夫 (1991) 日本食品工業学会誌38(3) : 189
- 9) 早川道彦, 葛谷文男 (1983) 日本老年医学会雑誌22(2) : 151