

Fig. 5 Wind Rose Average
(1965. 12-1966. 9, 1969. 1-1969. 2)
average wind speed is 2.3m/sec.

謝 辞

本調査に御協力を賜った岐阜市公害課宇野邦郎氏，当時本学学生太田貞己，鬼頭時子の両嬢に御礼申上げる。

石黒伊三雄，池野武行，松原弘*：ラット肝ミトコンドリアの 呼吸におよぼすローヤルゼリーの影響

Isao Ishiguro, Takeyuki Ikeno, Hiromu Matsubara: The Effect of Royal Jelly on Respiration of Rat Liver Mitochondria

Summary

The effect of Royal Jelly on respiration of rat liver mitochondria is observed and the following results were obtained.

- 1) Royal Jelly promoted respiration of rat liver mitochondria 32% high in comparison with control.
- 2) Ca^{2+} was one of the promoting factors of respiration and this ion was accumulated in mitochondria.

蜜蜂の唾液腺から分泌されるローヤルゼリー (RJ と略記) は，女王蜂の幼虫の食餌¹⁾として不可欠なもので，その生育を支配する重要な物質が含まれ，実際に栄養効果を期待して滋養食品や医薬品などに利用されている²⁾。それにもな^{3,4,5,6)}って RJ に含まれる化学的⁷⁾成分も次第に⁸⁾解明されるようになった。既に Rembold らは RJ の特有成分としてピオプテリンやデセン酸の存在を明らかにし，著者の一人石黒⁸⁾らは RJ が活性型ビタミン B_1 ， B_2 を多く含み，キヌレニン，パロチン様物質の存在を確認している。このように RJ に含まれる生理活性物質は可成り明らかにされたが，RJ の栄養効果を決定づける物質についてはまだ見出されていない。

既に著者らは，幼若ラットに RJ を添加した飼料で飼育すると生育効果が極めて良好なことを報告した。そこで，この生育効果の解明を目的としてラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼす RJ の影響について検索した。その結果，RJ はラット肝ミトコンドリアの呼吸を明らかに促進し，その因子の一つが Ca イオンであることを認めた。

* 中津商業高等学校

実験材料および方法

1. 実験材料

1) **RJの採取ならびに調製法** 実験に用いたRJは, 五月中旬に蜜蜂の巣箱の中へ人工王台をつくり, これに働蜂の分泌した新鮮なRJを採取して実験前に insect ringer で 20mg/ml 溶液になるようにホモゲナイズした.

2) **ミトコンドリアの調製** ラット肝ミトコンドリアは体重 150 g 前後の wistar 系雄ラットを断頭出血死させて肝を摘出し, これを常法の Schneider 法¹⁰⁾に従って調製した. また, 働蜂の蛹も同様方法にてミトコンドリアを調製し実験に用いた.

2. 実験方法

1) **ミトコンドリアの呼吸測定法** ラット肝ミトコンドリアの呼吸は, ワールブルグのマノメーターを用いて測定した. 反応系は主室に 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 0.9ml, 0.25M sucrose 0.3ml, ミトコンドリア 0.3ml (12.6mg protein/ml) を入れ, 側室に基質の 2.5mM コハク酸ソーダ 0.2ml とこれに 20mg/ml の RJ を加え, 中央室には 30% KOH 溶液を入れた. これを 37°C で 10 分間プレインキュベーションを行ないその後基質と RJ を主室に混合し, 10 分毎に酸素吸収量を測定した.

2) **RJ中の金属の定量** RJを乾式灰化後5%硝酸で溶解し, 水で一定量に希釈して原子吸光法によって定量した.

結果および考察

1. ラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼすRJの賦活効果

前述の反応系に従ってラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼすRJの影響を調べ図1に示す結果を得た. すなわち, 反応系に新鮮なRJを2mg添加した場合にはいずれの系も30分のインキュベーションによる酸素吸収はほぼ直線的に上昇することが認められた. この酸素吸収は10分間平均値でみると対照例では28 μ l, RJ添加例では37 μ lの呼吸量を示した. これを対照例と比較するとRJ添加例では32%の賦活効果がみられた.

2. ラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼすRJの添加濃度変化による賦活効果

ラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼす賦活効果は, RJが顕著に促進することが明らかになったのでRJの添加量について検討を行うと図2のようになった. すなわち, RJ1mg添加例で約10%, 2mg, 8mg添加例では25~30%の賦活化がみられた.

3. ラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼすRJの前処理画分の添加効果

以上のようにRJ添加例では対照例に比べラット肝ミトコンドリアの酸素吸収量の明らかな増加が認められた. こ

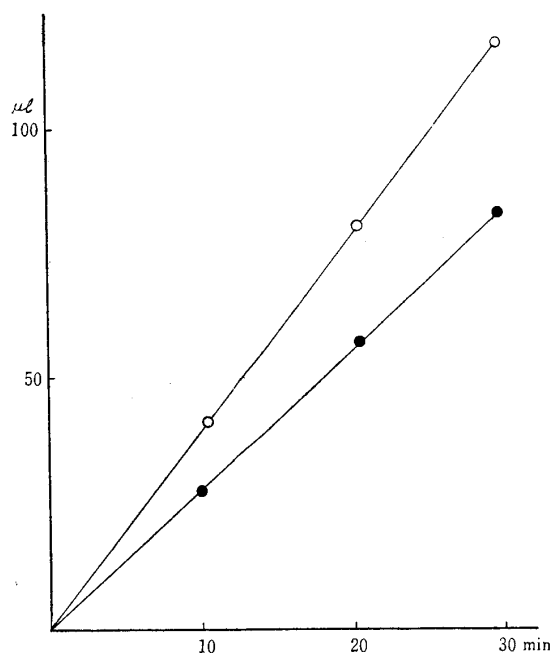


図1 ミトコンドリアの呼吸におよぼす蜂蜜, RJの影響

●—コントロール
○—RJ 2 mg 添加

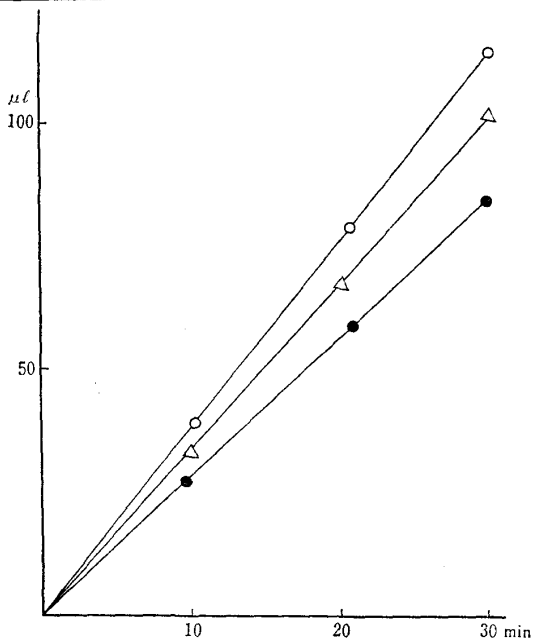


図2 ミトコンドリアの呼吸におよぼすRJの賦活作用

- コントロール
- △—RJ 1mg 添加
- RJ 2mg, 8mg 添加

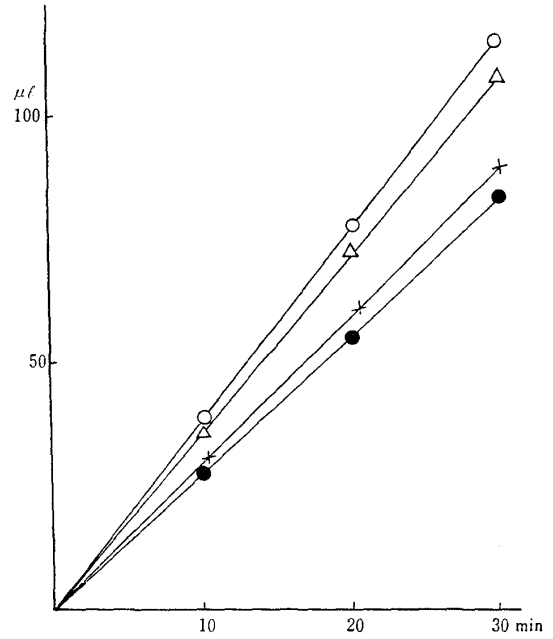


図3 ミトコンドリアの呼吸におよぼす前処理RJの影響(加熱処理)

- コントロール
- 未処理 RJ 添加
- △—加熱上清液添加
- ×—加熱沈澱物添加

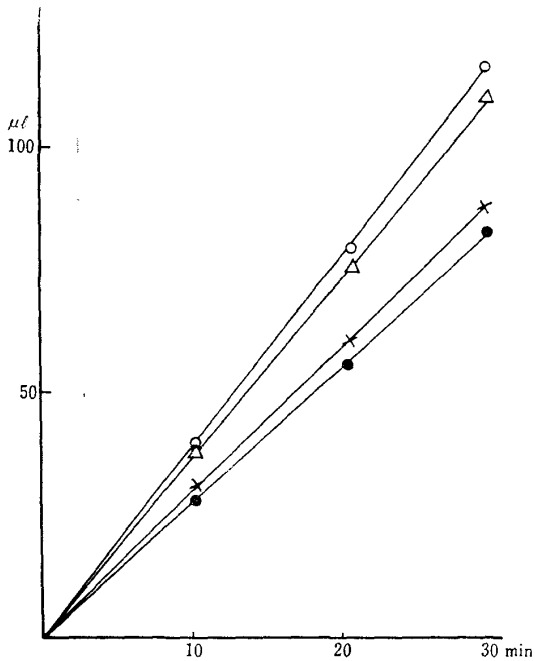


図4 ミトコンドリアの呼吸におよぼす前処理RJの影響(透析処理)

- コントロール
- 未処理 RJ 添加
- △—透析外液添加
- ×—透析内液添加

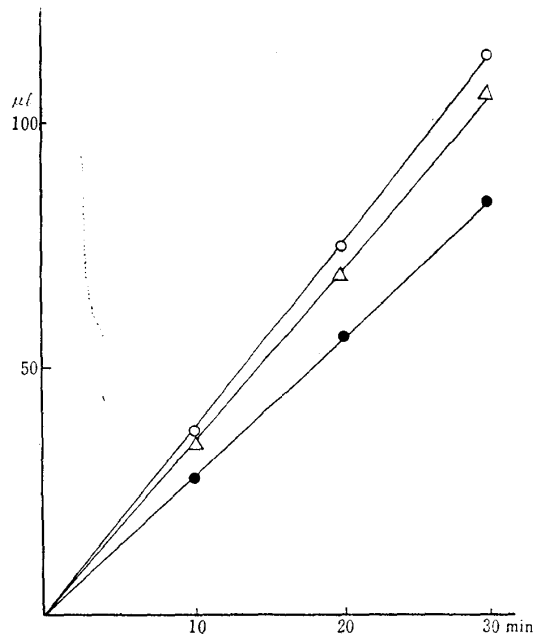


図5 ミトコンドリアの呼吸におよぼす前処理RJの影響(灰化处理)

- コントロール
- 未処理 RJ 添加
- △—灰化物添加

の賦活効果は, RJ を 100 °C で 10 分間加熱しその上清画分と沈澱画分に分けてそれぞれを反応系に添加すると図 3 のように, 可溶性画分に存在することが明らかとなった. また, RJ を一昼夜透析してその外液と内液について賦活効果をみると図 4 のようにその賦活作用は透析外液にみられた. 次に, RJ を乾式灰化後 RJ の 2mg/ml 溶液に相当するように水で溶解し, これを反応系に添加して賦活効果をみた. その結果は図 5 に示すように未処理 RJ とほぼ同様の賦活化がみられた. 以上の成績からラット肝ミトコンドリアの酸素吸収は RJ の添加によって賦活され, その作用因子は熱に安定で低分子物質と推定された. また, RJ の灰化物によっても認められることから RJ 中の無機イオンによることが明らかとなったので灰化処理溶液を陽イオン交換樹脂 Dowex-50 および陰イオン交換樹脂 Amberlite-IRA 410 を用いて陽イオンと陰イオン分画を行ないその溶出液について賦活効果をみると図 6, 7 のようになった. すなわち, Dowex-50 処理では塩酸の溶出画分に, Amberlite-IRA-410 処理では未吸着の水溶出画分に賦活効果がみられた. これらのことより作用因子は RJ 中の陽イオンに基づくものと思われた.

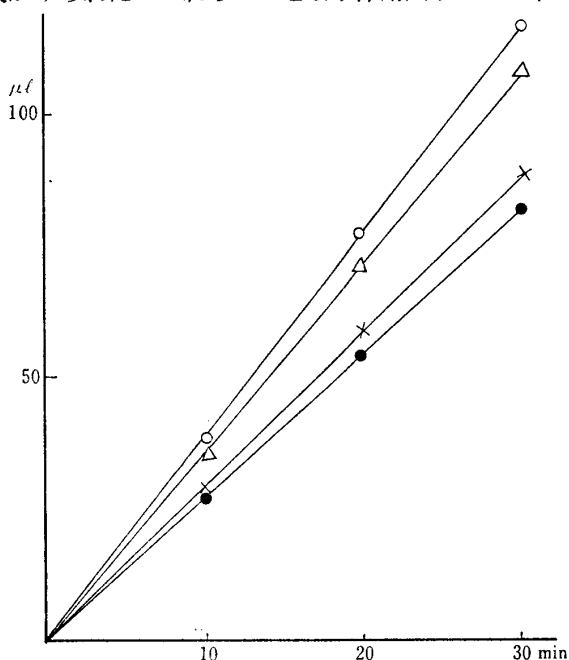


図 6 ミトコンドリアの呼吸におよぼす前処理 RJ の影響 (RJ 灰化物の Dowex-50 処理)

●—コントロール
○—未処理 RJ 添加
△—塩酸溶出画分添加
×—水溶出画分添加

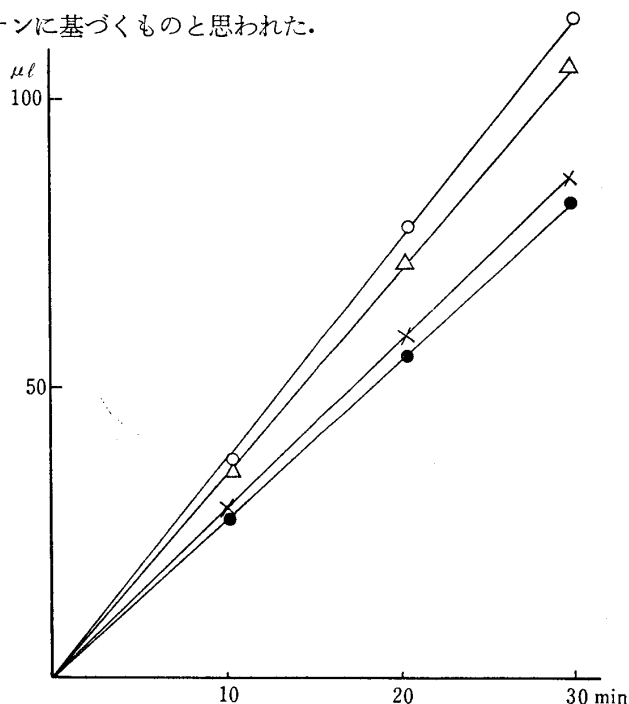


図 7 ミトコンドリアの呼吸におよぼす前処理 RJ の影響 (RJ 灰化物の Amberlite IRA-410 処理)

●—コントロール
○—未処理 RJ 添加
△—水溶出画分添加
×—アンモニア水溶出画分添加

4. RJ 中に含まれる陽イオンの定量とラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼす影響

ミトコンドリアの呼吸におよぼす陽イオンの影響についての報告は多くなされ, 特に一価陽イオンの K^+ , Na^+ , 二価陽イオンの Ca^{2+} , Mg^{2+} のミトコンドリア内への蓄積と放出の関係が呼吸活性の増減を惹起するとされている. すなわち, ラット肝ミトコンドリアでは Ca^{2+} の添加により呼吸が増大し, ミトコンドリア内への蓄積が生じ, また心筋ミトコンドリアでは, Mg^{2+} が特異的に能動輸送されるといわれている. そこでまず, RJ の Ca^{2+} と Mg^{2+} の定量を行ない, 次いでラット肝ミトコンドリアおよび蜜蜂蛹より調製したミトコンドリアへの両イオンの影響を検討した. 表 1 は RJ 中の Ca^{2+} , Mg^{2+} の含有量を示したものである. RJ 中には特異的に Ca^{2+} , Mg^{2+} 両イオン共多く含有されていた. また, ラット肝および蜜蜂蛹ミトコンドリアにおよぼすこれら両イオンの影

r/mg wet wt.		
	Mg	Ca
RJ	0.59	0.94

響は表2のごとく、ラット肝ミトコンドリアへのCa²⁺添加例において著しい呼吸増大がみられた。この際のラット肝ミトコンドリア中のCa²⁺, Mg²⁺量の変動は表3のようにCa²⁺が特異的にミトコンドリア内にとり込まれ蓄積された。一方Mg²⁺はラット肝ミトコンドリアおよび蜜蜂蛹のミトコンドリアいずれの呼吸にも顕著な影響を与えず、しかもミトコンドリア内への蓄積はみられなかった。

以上の結果より、RJはラット肝ミトコンドリアの酸素吸収を特異的に賦活化し、その呼吸増大に作用する因子の一つとしてCa²⁺が明らかとなった。しかし、RJの賦活効果はRJ中のCa²⁺量と同量のCa²⁺の添加による賦活性化率よりも高いことから、RJ中の賦活因子はCa²⁺以外にも共存することが考えられる。

要 約

ラット肝ミトコンドリアの呼吸におよぼすRJの影響について実験を行ないRJの賦活効果およびその作用因子について次の結果を得た。

- 1) RJの添加例におけるラット肝ミトコンドリアの呼吸は、対照例に比べ32%の促進がみられた。
- 2) RJ中の呼吸賦活化作用因子の一つとしてCa²⁺が明らかとなった。Ca²⁺はラット肝ミトコンドリア内に蓄積される傾向であった。しかし、この賦活作用はRJ中のCa²⁺のみに依存するのではなく他の成分もこれに関与している。

文 献

- 1) 井上丹治：薬局, **11**, 394 (1960)
- 2) 加藤好夫：薬局, **15**, 641 (1964)
- 3) T. S. K. Johansson: Bee World, **36**, 3 (1955)
- 4) 飯塚 広, 小山洋之介：栄養と食糧, **13**, (2) 50 (1960)
- 5) H, Rembold: Naturwiss., **51**, 49(1964)
- 6) G. E. Townsend, J. F. Morgan, B. Hazlett: Nature, **183**, 1270(1959)
- 7) A, Butenandt, H, Rembold: Z. Physiol. Chem., **311**, 79(1958)
- 8) 石黒伊三雄, 内藤純子, 田中きよ子：栄養と食糧, **16**, 127 (1963)
- 9) 石黒伊三雄, 内藤純子, 原田治良：岐薬大紀要, **13**, 17 (1963)
- 10) G. H. Hogeboom, W. C. Schneider: J. Biol. Chem., **183**, 123(1950)
- 11) M. Frang, H, Rasmussen: Biochim. Biophys. Acta., **153**, 88(1968)
- 12) G, R. Hunter, G. P. Brierley: Biochim. Biophys. Acta., **180**, 68(1969)
- 13) O. Hechter: Federation Proc., **24**, 91(1965)

表2 Ca²⁺, Mg²⁺添加によるラット肝および蜜蜂のミトコンドリア呼吸量の変化 $\mu\text{l/mg}'\text{protein}$

	添加量	—	4 γ	10 γ	20 γ
ラット肝 ミトコンドリア	Ca ²⁺	21.2	24.8	27.6	27.6
	Mg ²⁺	16.0	16.6	16.7	18.8
蜜蜂蛹 ミトコンドリア	Ca ²⁺	6.0	—	—	5.3
	Mg ²⁺	5.5	—	—	5.7

表3 Ca²⁺, Mg²⁺添加によるラット肝ミトコンドリア中のCa²⁺, Mg²⁺量の変動 $\gamma/\text{mg protein mitochondria}$

	Ca ²⁺	Mg ²⁺
無 添 加	1.51	0.03
20 γ Ca ²⁺ 添 加	1.90	0.05
20 γ Mg ²⁺ 添 加	1.37	0.09

- 14) F. D. Vasington, J. V. Murphy, ; Federation Proc., **20**, 146(1961)
15) G. P. Brierley, E. Mruer, D. E. Green: Science, **146**, 60(1963)

石黒伊三雄, 池野武行, 松原弘: 蜂蜜投与時におけるラット,
家兎の糖代謝の変動について

Isao Ishiguro, TaKeyuki IKeno, Hiromu Matubara:
The Effect of Administration of Honey on the Sugar Metabolism
of Rat and Rabbit

Summary

The effect of honey on sugar metabolism of rats and rabbits was investigated observing blood sugar levels, formation of liver glycogen, sugar uptake of liver cell and diaphragm and intestinal absorption of honey.

The following results were obtained.

- 1) Body weight of young rats fed on honey was 20 g higher than that fed on sucrose after feeding for 25 days.
- 2) Blood sugar levels of rabbits administered honey intravenously are not so high as those of administered glucose. Oral administration of honey caused a slight increase of blood sugar levels.
- 3) Liver glycogen of rat by administration of honey increased quickly.
- 4) Higher sugar utilization of liver cell in vitro was observed when honey rather than glucose was added as substrate.

蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) の産生する蜂蜜や王乳 (ローヤルゼリー) は栄養学的に優れた食品として今日では広く利用されており, その栄養成分もそれぞれ特徴をもち前者は糖¹⁾, 後者はタンパク質²⁾が豊富でしかも特異な生理活性を示す微量成分^{3,4,5,6)}を含んでいる. また, 蜂蜜は古くから栄養効果の高い滋養食品⁷⁾として胃腸疾患, 発育不良, 虚弱者に効果があるとされ, 一方, 王乳は強壯³⁾, 発育促進⁸⁾, 老化防止などに顕著な効果のあることが最近注目されるようになった. しかし, これら物質の生体におよぼす作用因子に関する実験的な観察は余り十分になされていない.

著者らは, 蜂蜜の主成分が還元糖⁹⁾であることから, 蜂蜜の栄養効果を確めるためラットやウサギに蜂蜜を投与した場合の糖代謝の変動について観察する目的で生育試験, 血糖値やグリコーゲン量の変動, 腸管吸収, 細胞内取込みなどについて検索し, 蜂蜜が生体に利用され易い物質であることが分かったのでその成績について述べる.

実験材料および方法

1. 実験材料および動物

蜂蜜は, レンゲ開花期に蜜蜂が蜂巢に貯えた新鮮な天然蜂蜜を実験に用いた.

生育実験に使用した幼若ラットは体重 30 g 前後のウイスター系のオスラットを選び, 5匹を1群とした. また, それ以外の実験には体重 150 g のウイスター系オスラットおよび体重 2.5~3.0 kg の正常なオス家兎を用いた.