

食品中の核酸関連物質と血小板凝集抑制作用

毛利 威徳¹⁾・今倉 京子¹⁾・太田 隆男²⁾・大久保雅啓²⁾・
網島 勇²⁾・田中 達郎²⁾・奥村 重雄²⁾

(¹⁾東洋食品工業短期大学* ²⁾日本クリニック株式会社中央研究所**)

Studies on Nucleic Acid Related Substances in Food Stuffs and Inhibition of ADP-induced Platelet Aggregation

Takenori MOURI¹⁾, Kyoko IMAKURA¹⁾, Takao OHTA²⁾, Masahiro OOKUBO²⁾,
Isamu TSUNASHIMA²⁾, Tatsuro TANAKA²⁾ and Shigeo OKUMURA²⁾

¹⁾*Toyo Junior College of Food Technology*

²⁾*Central Research Institute, Japan Clinic Co., Ltd.*

Thrombotic diseases have been increasing more and more recent years. Attempts to control the platelet aggregation which is one of main factor of them has been taken a notice of in the clinical field. Ohta et al. was found that the oyster extract repressed the platelet aggregation activity strongly but the activities were not revealed in another food stuffs. In this study, we investigated the platelet aggregation control ability in various food stuffs. The result was that the low molecular fractions, especially nucleic acid related substances, had the effects of platelet aggregation control and the activity was emphasized when they were boiled. It was suggested that substrates having platelet aggregation control effect were increased during boiling process by enzyme and other things.

* 所在地：兵庫県川西市南花屋敷4-23-2 (〒666)

** 所在地：京都市右京区太秦開日町10 (〒616)

血小板凝集機構の解明はプロスタグランディンを中心にかなり行なわれている。^{1,2)} 脂質を中心に血小板凝集能抑制効果について多くの研究者の研究があるが、いまだに不明な点が多い。太田等³⁾によって牡蠣において脂質以外にも血小板凝集抑制効果を持つ物質を見出し、報告されている。本報では核酸関連物質であるヌクレオチドやヌクレオシドなどの血小板凝集抑制効果について、また、食品化学的に“ボイル”という操作を行い、その時にどのように血小板凝集抑制効果に変化しているのかを検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 抽出方法

図1の方法で抽出を行った。

2. 血小板凝集抑制能の測定⁴⁻⁶⁾

血液は健常者の血液を採血し、調整を行い使用した。血小板凝集抑制は京都第一科学製アグリコーダ TMPA-3210 を用い、太田等と同様に行った。

3. 核酸関連物質の定量

核酸関連物質の定量は Dowex 1×8, 50 W×4 を用いる液体クロマトグラフィーと高速液体クロマトグラフィー（島津 LC-3A, Shodex OH pak B-804 カラム）により分析を行った。

結 果 お よ び 考 察

1. 各種食品の血小板凝集抑制効果

各種食品を図1に示した抽出方法にて抽出し、その抽出液の血小板凝集抑制効果を調べた。その結果は表1のごとくであった。かき、イカの足、しじみ、アサリ、シイタケ、エノキタケ、マッシュルーム、ヒラタケ、ウーロン茶、トマト等に強い血小板凝集抑制効果がみられた。

2. 抽出方法による血小板凝集抑制効果

トマト、マッシュルーム、シイタケ、エノキタケ、ヒラタケについては過塩素酸抽出と煮出し抽出を行い、抽出方法による違いを検討した。また、トマトは完熟果と未熟果、マッシュルー

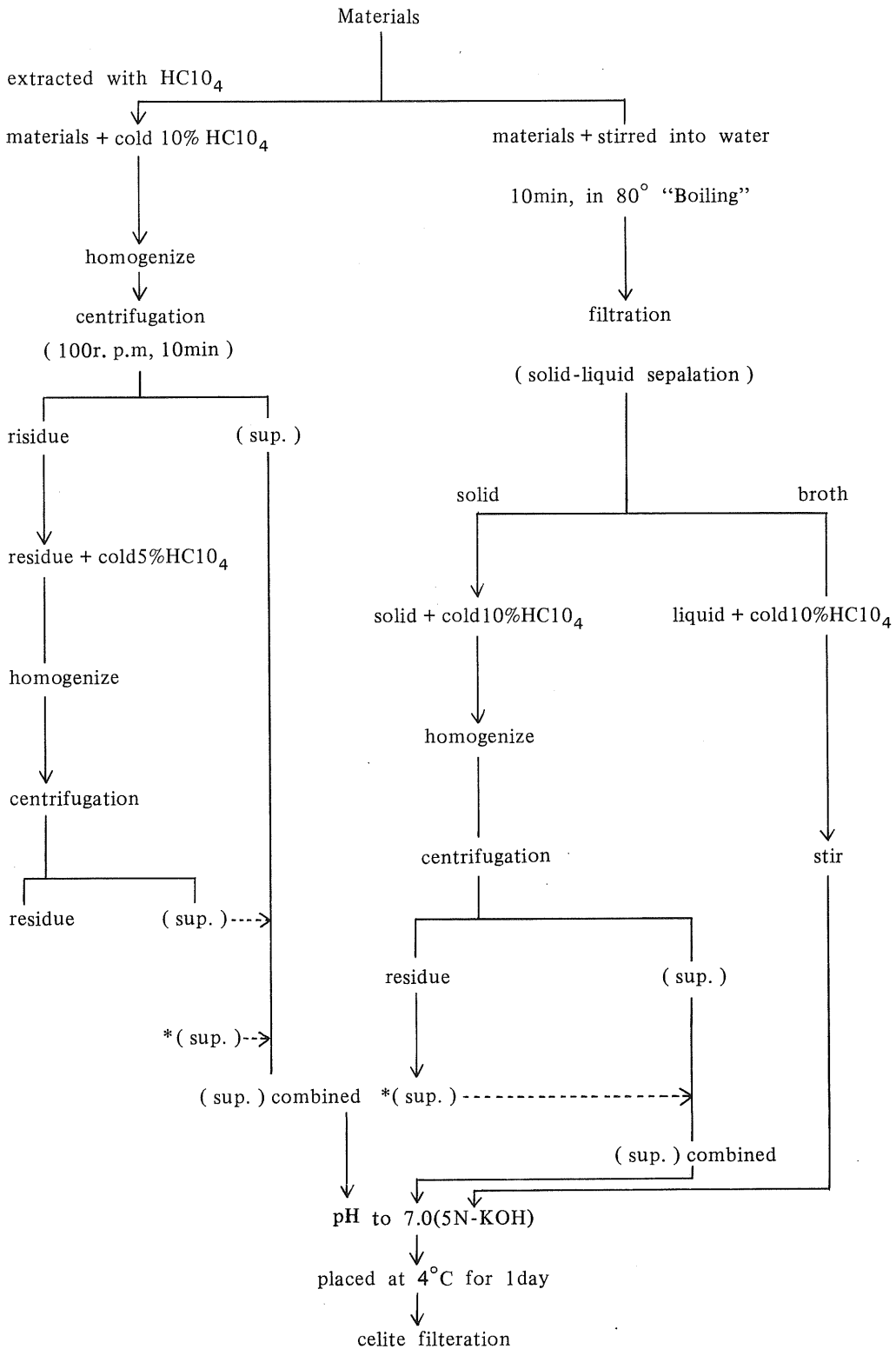


Fig. 1. Extraction of nucleic acid related substance.

Table 1. Effects of various food stuffs on 5 μ M ADP-induced human platelet aggregation.

Food	Final concentration (μ g/ml)	Activity	Food	Final concentration (μ g/ml)	Activity
Mackerel	486.2	—	Enokitake	9.4	+++
Japanesa pilchard	364.5	—	Common mushroom	2.4	+++
Cuttlefish (trank)	237.6	—	Hiratake	2.4	+++
Cuttlefish (leg)	10.8	+++	Oolong tea	83.6	+
Konbu	848.8	—	Amachazuru tea	655.6	—
Corb shrll	20.4	+++	Tomato	11.9	+++
Short-necked clam	56.5	++	Spinach	392.1	—
Raw shiitake	2.9	+++	Sweet potato	153.8	+
Dried shiitake	0.7	+++	Oyster	10.8	+++

ムはホワイト種とブラウン種、シイタケは生シイタケと乾シイタケなどの違いによる血小板凝集抑制効果についても調べた。その結果は表2のごとくであった。

Table 2. Effects of various food stuffs on 5 μ M ADP-induced human platelet aggregation.

		Final concentration (μ g/ml)			Final concentration (μ g/ml)
Tomato (Wasedaruma)	fruit unmaturred	extracted with HC10 ₄	Shiitake	Raw Shiitake	extracted with HC10 ₄
		Broth			Broth
		Solid			Solid
	fruit maturred	extracted with HC10 ₄		Dried Shiitake	extracted with HC10 ₄
		Broth			Broth
		Solid			Solid
		Final concentration (μ g/ml)			Final concentration (μ g/ml)
French mashroom	White Spesis	extracted with HC10 ₄	Enokitake		extracted with HC10 ₄
		Broth			Broth
		Solid			Solid
	Brown Spesis	extracted with HC10 ₄		Hiratake	extracted with HC10 ₄
		Broth			Broth
		Solid			Solid

調べたすべての食品で、煮出し抽出の方が過塩素酸抽出より強い活性を見出した。また、トマトでは完熟果の方が活性が強かった。マッシュルームではホワイト種とブラウン種との間には差はなかった。シイタケでは乾シイタケの方が強い活性を見出した。

3. トマト、マッシュルームおよびシイタケ子実体の核酸関連物質と血小板凝集抑制効果

トマトの核酸成分と血小板凝集抑制効果 図2にトマト抽出液の血小板凝集測定データを示した。その抽出液の高速液体クロマトグラムを図3、図4に示した。その核酸含有量は表3の

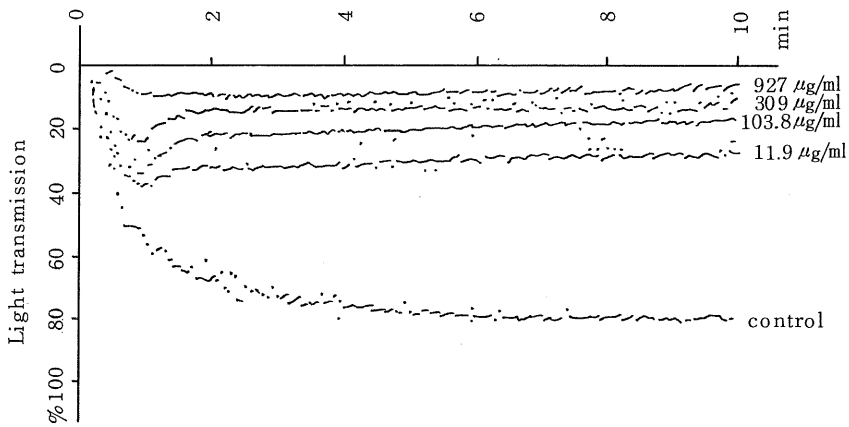


Fig. 2. Effect of Tomato extract (HClO_4) on $5\mu\text{M}$ ADP-induced human platelet aggregation.



Fig. 3. High performance liquid chromatogram of extract from Tomato.

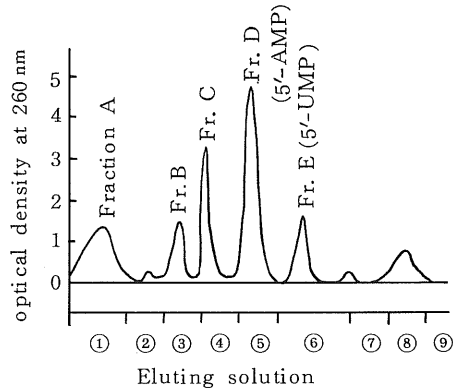


Fig. 4. Fractionation of Tomato extract (“Boiling”) on Dozex 1x8 column.

Table 3. Nucleic acid related substance compositions of Tomato.

Material		Peak No.	1	2	4	5	6
		Retention time	16.7	17.7	19.3	20.5	23.1
		Components	ATP	ADP	5'-UMP	5'-AMP	uridine
Tomato (Wasedaruma)	HC10 ₄ : extracted with HClO ₄	24.3	47.3	26.3	125.0	33.6	
	Broth: Broth of extract with hot water (80°C, 10min)	15.8	37.8	23.1	109.2	22.1	
	Solid: Residue of extracted with hot water (80°C, 10min)	7.4	10.5	3.2	18.9	4.2	

(mg% dry wet)

ごとくであった。5'-AMPが主成分である。次にトマトの各画分の血小板凝集抑制効果を表4に示した。Fr. C (5'-AMP) に強い血小板凝集抑制効果を認めた。

マッシュルームの抽出液の核酸成分と血小板凝集抑制効果 マッシュルームの抽出液の液体クロマトグラムを図5に、その核酸含有量を表5に示した。ATP, ADP, UDPAG, 5'-AMP, ウリジン, アガリチンが主成分である。次ぎにマッシュルームの各画分の血小板凝集抑制効果を表6に示した。Fr. B-2, B-3, B-4, (アガリチン), Fr. D (5'-AMP), Fr. F (UDPAG) に強い抑制効果を認めた。

Table 4. Effects of each fraction from Tomato on 5 μ M ADP-induced human platelet aggregation

	Final concentration (μ g/ml)	Activity
Tomato (Broth)	10.6	+++
Fr. A	65.4	+
Fr. B	—	—
Fr. C (5'-AMP)	0.56	+++
Fr. D	—	—
Fr. E	86.4	+

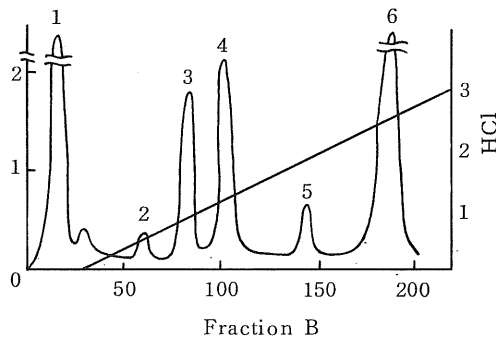
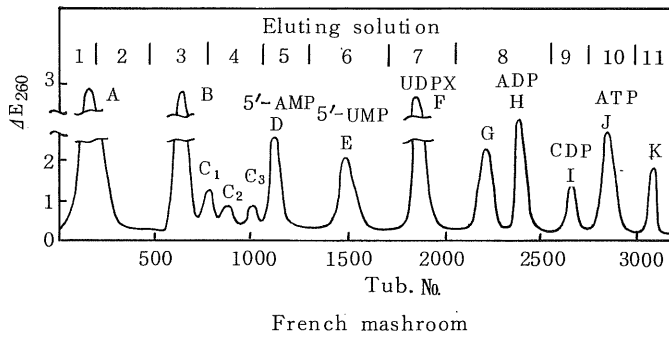


Fig. 5. Fractionation of French mushroom extract ("Boiling") on a Dowex 1 \times 8 column and fractionation of fraction B on a Dowex 50W \times 4 column.

Table 5. Nucleic acid related substance compositions of French mushroom.

Peak No.	1	2	3	4	5	6	7
Retention time	16.7	16.8	17.7	19.3	20.5	23.1	49.1
Compositions	ATP	UDPAG	ADP	5'-UMP	5'-AMP	uridine	agaritine
Material							
HClO ₄ : extracted with HClO ₄	232.8	690.0	135.6	6.4	11.3	15.8	226.9
Broth: extracted with hot water (80°C, 10min)	23.3	420.0	54.3	65.5	116.3	122.1	211.5
Solid: Residue of extracted with hot water (80°C, 10min)	11.2	160.0	14.0	11.5	10.8	38.7	25.6

(mg% dry wet.)

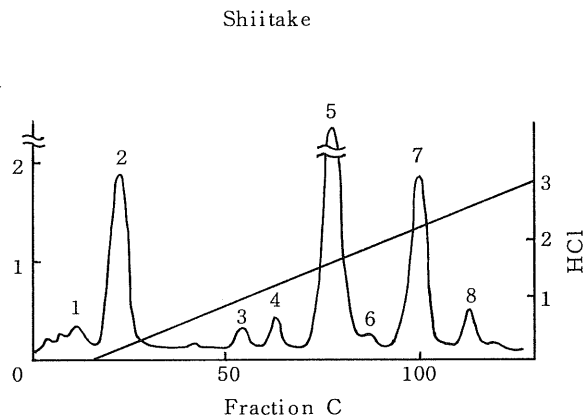
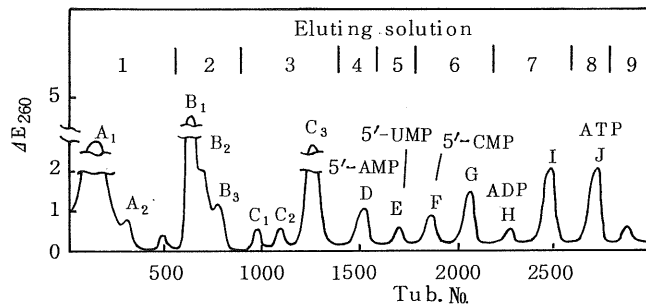


Fig. 6. Fractionation of Shiitake extract on a Dowex 1x8 column and fraction of fraction C on a Dowex 50Wx4 column.

Table 6. Effects of each fraction from French mashroom on 5 μ M ADP-induced human platelets aggregation.

		Final concentration (μ g/ml)	Activity
Dowex 1X8	French mashroom	1.27	+++
	Broth		
	Fr. A	—	—
	Fr. B	29.5	++
	Fr. C	—	—
	Fr. D (5'-AMP)	0.11	+++
	Fr. E (5'-UMP)	49.5	+
	Fr. F (UDPAG)	0.85	+++
	Fr. G (ADP)	—	—
	Fr. H	—	—
Dowex 50WX4	Fr. B-1	—	—
	Fr. B-2		+++
	Fr. B-3	1.2	+++
	Fr. B-4		—
	Fr. B-5		—
	Fr. B-6 (agaritine)	0.8	+++

シイタケの核酸成分と血小板凝集抑制効果 シイタケ抽出液の液体クロマトグラムを図6に示した。その核酸含量は表7のごとくであった。ATP, ADP, UDPG, 5'-GMP, 5'-UMP, 5'-CMP, 5'-AMP, ウリジン, レンチナシン, デオキシレンチナシンが主成分であった。次にシイタケ各画分の血小板凝集抑制効果を表8に示した。Fr. B, Fr. C-5 (レンチナシン), C-6 (デオキシレンチナシン), Fr. D (5'-AMP), Fr. F (5'-GMP) に強い血小板凝集抑制効果を認めた。

このように各種食品の低分子画分, 特に核酸成分に血小板凝集抑制効果を認めた。また, 煮出することによって活性が高くなっている。これは食品を加熱する過程で酵素等の作用により血小板凝集抑制効果のある物質が増加したものと思われる。

Table 7. Nucleic acid related substance composition of Shiitake.

Material	Peak No.	1	2	3	4	5	13	15
	Retention time	16.4	17.4	19.7	20.6	23.5	47.3	55.5
Composition	ATP others	ADP or 5'-UMP	5'-GMP	5'-AMP	uridine	lentinacin	deoxy-lentinacin	
Raw shiitake	HClO ₄	190.0	103.9	9.6	6.5	1.9	72.6	1.7
	Broth	trace	115.5	34.2	39.4	47.7	62.2	63.4
	Solid	trace	58.1	9.1	10.4	1.3	14.3	0.9
Dried shiitake	HClO ₄	20.3	28.9	69.8	75.4	134.5	157.8	83.7
	Broth	trace	21.7	123.7	113.0	60.1	127.0	58.4
	Solid	trace	6.5	32.0	37.8	18.9	31.4	27.3
Culture	Mycelium	238.7	129.2	20.0	27.3	6.4	154.5	6.1
	Culture Media	128.9	120.1	7.2	9.0	11.5	65.4	12.6

(mg% dry wet.)

Table 8. Effects of each fraction from Shiitake on 5 μ M ADP-induced human platelet aggregation.

		Final concentration (μ g/ml)	Activity
Dowex 1X8	Raw shiitake	2.32	+++
	Broth		
	Fr. A	—	—
	Fr. B	26.2	++
	Fr. C	1.8	+++
	Fr. D(5'-AMP)	0.2	+++
	Fr. E(5'-UMP)	68.9	+
	Fr. F(5'-GMP)	3.8	+++
	Fr. G	57.2	+
	Fr. H	—	—
Dowex 50WX4	Fr. C-1	—	—
	Fr. C-2	—	—
	Fr. C-3	—	—
	Fr. C-4	—	—
	Fr. C-5	0.85	+++
	Fr. C-7	23.6	++
	Fr. C-8	—	—

要 約

近年、血栓性疾患は増加の一途にあり、その主要因子の一つである血小板凝集を抑制する試みが臨床の分野で注目されている。かきに血小板凝集抑制の強い活性を見出しているが、一般の食品については未だ報告がない。そこで本報では一般の食品について血小板凝集抑制効果を検討した。その結果、各種食品の低分子画分、特に核酸成分に血小板凝集抑制効果を認めた。また、煮出しすることによって活性が高くなっている。これは食品を加熱する過程で酵素等の作用により血小板凝集抑制効果のある物質が増加したものである。

文 献

1. DOLE, V. P. (1961) J. Biochem. 236: 3125
2. DOLE, V. P. (1962) J. Biochem. 237: 2758
3. 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
4. 丸山征郎 (1980) Medical Post Graduates 18: 17
5. 松野一彦(1981) 臨床病理 29: 364
6. 中井一吉(1981) 臨床検査 25: 457