癌 組 織 の 脂 質 (第 2 報)

気管支癌および癌性胸水の脂質

福 住 一 雄*・岩 田 佳 昭*・川 島 和 世*

Lipids of Cancerous Tissue. II.

Lipids of Bronchial Carcinoma and Cancerous Pleural Fluid

Kazuo FUKUZUMI, Yoshiaki IWATA and Kazuyo KAWASHIMA

Abstract

In the previous paper, authors presumed that the cancerous cell might be produced, probably changing the status of cell-division if the oxidized lipids would form the complexes with nucleoproteins.

There has been the suggestion that all carcinogenic compounds are able to concern themselves in reactions leading to produce free radicals. Besides, it has been recognized that lipids is oxidized through catalysis by the free radicals.

But it can be hardly assumed that cancer of lung may be generated by taking oxidized lipids directly through trachea. If the substances containing free radicals such as cigarette smoke enter into the lung, lipids of the tissue may be oxidized with free radicals as catalysts. In such a case, cancerous tissue in lung may contain oxidized lipids. From this point of view, lipids were extracted from the tissue of bronchial carcinoma, a kind of cancer of lung, and fatty acid methyl esters of the lipids prepared. All procedures were performed at room temperature under the stream of nitrogen. The methyl esters of fatty acids of lipids from cancerous pleural fluids were also obtained. Then acids compositions were calculated from ultraviolet spectrum. It was made clear that trans-trans or cis-trans conjugated diene hydroperoxide was contained in the methyl esters of fatty acids obtained from the lipids of all samples from the infrared spectrum.

1 緒 言

癌発生の本態ははっきりしていない。しかし加熱脂質が胃粘膜に腺癌でないが腺腫様異型増殖を誘発しうること、発癌性物質とタンパク質とは結合すること、酸化した不飽和脂肪酸を含む脂質とタンパク質とは溶剤では抽出分離できない強い結合の複合体をつくること、酸化脂質は毒性を持っており、酵素抑制、ビタミン破壊効果を有することなどから、酸化した脂質が細胞の核タンパク質と複合体をつくるに至ったとすれば、当然細胞分裂の様相が通常の細胞と異なってきて癌細胞になるということは推定しうる¹⁾。この場合癌組織中に酸化脂質を見出すはずである。このような見地から出発して研究を行ない前報¹⁾(この前報を癌組織の脂質(第1報)とする)においては胃の硬性癌、胃の腺癌、直腸の腺癌、乳腺の単純癌組織の脂質中にトランス-トランス 共役 ジエンヒド

ロパーオキシドが存在することを確かめた。

癌発生物質の作用を説明する試みとして、癌発生物質はすべてフリーラジカル(遊離基)を生ずる反応に関係があるという説がある²⁾。しかるに酸化脂質は遊離基を生ずるといわれている³⁾。これは酸化脂質によって癌が発生するであろうという前報¹⁾の推定と合致する。しかるに肺癌などにおいては、体外から酸化脂質が直接摂取されて癌が発生すると推定することは困難である(肺癌は日本では少ない癌であったが発生率が急激に増大している。肺癌発生率の増大は世界各国にみられる)。紙巻煙草の煙には発癌性炭化水素が含まれ⁴⁾、また遊離基が検出された⁵⁾。肺癌の発生は紙巻煙草の煙の吸入と関連があると最近いわれているが、もし紙巻煙草の煙に含まれる遊離基が気管を通して入ってきたとすれば、これが触媒となって組織の脂質が酸化されて酸化脂質となり、これより遊離基を生じ⁶⁾、遊離基によりさらに酸化脂質を生じ⁶⁾、肺癌を生ずるに至ることは推定しうる(ただし体外から気管を経て摂取される遊離基としては紙巻煙草の煙に含まれるもの以外の遊離基も考える)。この

* 名古屋大学工学部応用化学教室(名古屋市中種区不老町)
Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Nagoya University

場合肺癌組織中に酸化脂質を見出すはずである。このような観点にたつて、肺癌の一種である気管支癌組織から脂質を抽出しその脂肪酸の性状を調べた。なお癌性胸膜炎患者の癌性胸水についても同様な研究を行なった。

2 実 験

2.1 試 料

50 才の男子の気管支癌組織および 30 才男子, 66 才女子, 49 才女子の癌性胸膜炎患者の癌性胸水をそれぞれ試料 1, 2, 3 および 4 とする。それぞれの顕微鏡写真を 図-1~4 に示す。

図-1 試料 1: 気管支癌組織顕微鏡写真
倍率 200 倍

図-2 試料 2: 癌性胸水顕微鏡写真
倍率 370 倍

図-3 試料 3: 癌性胸水顕微鏡写真
倍率 400 倍

図-4 試料 4: 癌性胸水顕微鏡写真
倍率 400 倍

2.2 実験方法

試料 1 は手術終了後直ちに冷凍し, すみやかに抽出操作を施した。脂質の抽出, ケン化, 不ケン化物の除去, 脂肪酸の製取, メチルエステル化はすべてアテローム性動脈硬化症血管の脂質に関する報文⁷⁾と同様に直射日光を避け, 室温, 窒素気流中で行なった。試料 2 は癌性胸膜炎患者より胸水 (580 g) を採取後, すみやかにエーテル 800 cc, エタノール 1 l を加えて振りまぜた。沈殿物を除き, 脱水した抽出液から窒素気流中減圧下室温で溶媒を留去して脂質を得た。その他の操作はすべて試料 1 と同様に行なった。試料 3 および 4 は試料 2 と同様に処理した。試料の重量, 脂質の収量などを表-1 にあげた。

表-1 試 料

	生鮮重量 (g)	乾 燥 物 (g)	脂 質 (g)	生鮮試料に対 する脂質の%
試 料 1	4.3	2.3	0.5	11.6
試 料 2	580	—	5.0	0.9
試 料 3	100	—	0.8	0.8
試 料 4	100	—	0.5	0.5

試料 1, 2, 3 および 4 脂肪酸メチルエステルにつき, 屈折率, ヨウ素価 (ウィイス), 過酸化価 (Chapman, Mackay 法⁸⁾)などを測定した。全試料脂肪酸メチルエステルにつき, 紫外線吸収スペクトル (溶媒メタノール) および赤外線吸収スペクトル (溶媒四塩化炭素および二硫化炭素, 濃度 5 wt%, 0.1 mm 食塩セル) を測定した。かつ窒素気流中 21% 水酸化カリウム-エチレングリコール, 180°C, 15 min の条件下で異性化し, 異性化脂肪酸の紫外線吸収スペクトルをメタノール溶液で測った。

2.3 実験結果および考察

試料脂肪酸メチルエステルの屈折率, ヨウ素価, 過酸化価, 共役酸量を表-2 に示した。

試料 1, 2, 3 および 4 の脂肪酸メチルエステルのヨウ素価は胃の硬性癌, 胃の腺癌, 直腸の腺癌, 乳腺の単純

表-2 屈折率, ヨウ素価, 過酸化値, 共役酸量

脂肪酸メチルエステル (試料番号)	屈折率 (n_D^{20})	ヨウ素価	過酸化値 (m equiv./kg)	共役ジエン酸		共役トリエン酸		共役テトラエン酸	
				波長 ($m\mu$)	(%)	波長 ($m\mu$)	(%)	波長 ($m\mu$)	(%)
1	1.4532	90.1	24.6	231	1.1	268	0.1	—	—
2	1.4542	95.4	38.2	231	1.0	269	0.2	315	0.1
3	1.4550	90.2	92.3	233	1.4	—	—	—	—
4	1.4536	98.2	91.1	233	1.3	—	—	—	—

癌のそれ¹⁾よりも大である。試料 1, 2, 3 および 4 の脂肪酸メチルエステルの過酸化値 (m equiv./kg) はそれぞれ 24.6, 38.2, 92.3 および 91.1 であり, 過酸化値の存在を示している。紫外線吸収スペクトルにおいて, 試料 1, 2, 3 および 4 の脂肪酸メチルエステルでは, 共役ジエン酸は 1.1, 1.0, 1.4 および 1.3% であり, 共役トリエン酸はそれぞれ 0.1, 0.2, 0.0 および 0.0% であった。なお試料 2 においては 0.1% の共役テトラエン酸が存在する。共役ジエン酸において試料 1, 2 では吸収波長が通常の吸収波長よりも短くなっている。共役トリエン酸においては試料 2 では吸収波長が長波長の方にずれている。共役トリエン酸, 共役テトラエン酸の量は少量であるけれども, これらは胃の硬性癌, 胃の腺癌, 直腸の腺癌, 乳腺の単純癌には見出されなかったものである。

アルカリ異性化試料脂肪酸メチルエステルの紫外線吸収スペクトル結果からジエン酸以上の不飽和酸含有量を算出し, この結果とヨウ素価などからモノエン酸および飽和酸含量を算出し, それらの脂肪酸組成を表-3 に記した。

表-3 脂肪酸組成

脂質 (試料番号)		ヘキサエン酸	ペンタエン酸	テトラエン酸	トリエン酸	ジエン酸	モノエン酸	飽和酸
1	波長 ($m\mu$)	373	346	316	268	232	—	—
	比吸収係数	0.32	0.75	1.74	3.30	13.74	—	—
	脂肪酸 (%)	1.1	0.9	1.5	1.8	11.3	54.4	23.4
2	波長 ($m\mu$)	373	346	315	269	232	—	—
	比吸収係数	0.42	1.39	3.34	4.40	22.03	—	—
	脂肪酸 (%)	1.4	2.0	3.0	1.2	19.4	33.7	33.7
3	波長 ($m\mu$)	374	346	315	268	233	—	—
	比吸収係数	0.38	2.28	3.52	4.00	23.21	—	—
	脂肪酸 (%)	1.3	3.8	1.6	0.9	20.1	25.4	41.1
4	波長 ($m\mu$)	374	347	315	268	233	—	—
	比吸収係数	0.81	1.69	4.38	5.12	25.41	—	—
	脂肪酸 (%)	2.8	1.9	4.2	1.0	21.8	21.5	41.1

紫外線吸収スペクトルにおいて, アルカリ異性化により生じた各共役不飽和酸に相当する吸収極大を与える波長は通常の場合と相違するときがある。アルカリ異性化共役ジエン酸において吸収極大を与える波長は試料 1 および 2 ともに短波長の方にずれている。アルカリ異性化共役トリエン酸において, 試料 2 の吸収極大を与える波長は長波長の方にずれ, アルカリ異性化共役テトラエン酸および共役ペンタエン酸において, それぞれ試料 1 およ

び試料 4 の吸収極大は長波長の方にずれている。アルカリ異性化共役ヘキサエン酸においては, 吸収極大が試料 1 および 2 とも短波長の方にずれている。共役ジエン酸, 共役トリエン酸の場合, 一般に紫外線吸収スペクトルの吸収極大波長が長波長側にずれるのはシス型の存在するときであり, 短波長側にずれるのはトランス異性体の存在するときである。共役テトラエン酸, 共役ペンタエン酸, 共役ヘキサエン酸の場合も同様のことがいえよう。胃の硬性癌, 胃の腺癌, 直腸の腺癌, 乳腺の単純癌の脂質脂肪酸メチルエステル¹⁾に比し, 気管支癌, 癌性胸水の脂質脂肪酸メチルエステルでは飽和酸の含有量が少ないことが目立つ。

赤外線吸収スペクトルの結果を図-5~8 に示す。

図-5 試料 1 脂質脂肪酸メチルエステルの赤外線吸収スペクトル

図-6 試料 2 脂質脂肪酸メチルエステルの赤外線吸収スペクトル

全試料とも $3,450\text{ cm}^{-1}$ 付近に O-H 伸縮振動による吸収が現出するが, メチルエステルであるから遊離酸はほとんどなく, 水分あるいはメタノールもない。これは $2.9\sim 2.94\mu$ に現われるヒドロパーオキシドの吸収^{9), 10), 11)}で, -OOH 基による吸収である。全試料とも $3,010\text{ cm}^{-1}$ における吸収があまり認められない。これは 3.31μ における α -メチレン基の吸収¹¹⁾に相当する。 α -メチレン基に -OOH 基がつくからであろう¹¹⁾。試料 1, 2 ともに 988 cm^{-1} にトランス-トランス共役ジエン酸エステルに

図-7 試料3 脂質脂肪酸メチルエステルの
赤外線吸収スペクトル

図-8 試料4 脂質脂肪酸メチルエステルの
赤外線吸収スペクトル

よる吸収¹²⁾が存在する。なお試料2には 968 cm^{-1} にトランス-トランス非共役ジエン酸エステルによる吸収¹²⁾が現われる。試料3,4には 982 cm^{-1} および 948 cm^{-1} にシス-トランス共役ジエン酸エステルによる吸収¹²⁾がある。すなわち全試料とも $-\text{OOH}$ 基の存在、 α -メチレン基の消費、トランス-トランスあるいはシス-トランス共役ジエン酸エステルの存在が認められる。脂肪酸エステルの酸化によりトランス-トランスあるいはシス-トランス共役ジエン酸エステルが生ずることは解明されている¹¹⁾。結局全試料ともトランス-トランスあるいはシス-トランス共役ジエンヒドロパーオキシドを含有し、なお試料2はその上トランス-トランス非共役ジエン酸エステルを含んでいる。

3 総 括

気管支癌組織を低温で乾燥し、クロロホルム-メタノー

ル(2:1)を使用し、室温で脂質を抽出した。また癌性胸膜炎患者の胸水をエタノール-エーテル(5:4)で処理し、癌性胸水の脂質を得た。これらの脂質をケン化して脂肪酸として、メチルエステルとした。抽出以下の操作はすべて室温で行なった。直射日光、空気との接触を避けて窒素気流中で操作した。このようにして得た脂肪酸メチルエステルおよびそれらのアルカリ異性化物につき、紫外線吸収スペクトルを測定し脂肪酸組成を算出した。これらの脂肪酸メチルエステルの赤外線吸収スペクトルを測り、これらのエステル中にトランス-トランスあるいはシス-トランス共役ジエンヒドロパーオキシドが含まれていることを明らかにした。すなわち胃の硬性癌、胃の腺癌、直腸の腺癌などとは癌発生の直接原因が異なると推測される気管支癌の組織などの脂質中にも、前記癌組織の脂質中に認めた酸化脂質(前報に記載)と同様な酸化脂質を認めた。

この研究は文部省科学研究費(機関研究)によるものであり、試料は名古屋大学医学部内科学第2 青山進午教授および伊藤 円氏に提供を受け、試料の顕微鏡写真ならびに所見は名古屋大学医学部病理学第2 田内 久教授および小塚貞雄氏よりいただいた。ここに厚く感謝の意を表する。

(昭和37年8月18日受理)

文 献

- 1) 福住, 高木, 本誌, **10**, 643 (1961)
- 2) A.M. Brues, E.S.G. Barrón, *Ann. Rev. Biochem.*, **20**, 350 (1951)
- 3) C.E. Swift, "Biological Antioxidant", *Trans. First Conference*, p. 16 Publisher: Josiah Macy Jr. Foundation (1946)
- 4) R.L. Cooper, A.J. Lindsay, *Chem. & Ind. (London)*, 1205 (1953)
- 5) M.J. Lyons, J.F. Gibson, D.J.E. Ingram, *Nature*, **181**, 1003 (1958)
- 6) A. Robertson, W.A. Waters, *Trans. Faraday Soc.*, **42**, 155 (1946)
- 7) 福住, 田中, 本誌, **10**, 659 (1961)
- 8) R.A. Chapman, R. Mackay, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **26**, 360 (1949)
- 9) K. Adams, R.W. Auxier, *Off. Digest*, **322**, 669 (1951)
- 10) L.R. Dugan, B.W. Beadle, A.S. Henick, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **26**, 681 (1949)
- 11) O.S. Privett, W.O. Lundberg, N.A. Kahn, W.E. Tolberg, D.H. Wheeler, *ibid.*, **30**, 61 (1953)
- 12) J.E. Jackson, R.F. Paschke, W. Tolberg, H.M. Boyd, D.H. Wheeler, *ibid.*, **29**, 229 (1952)