胃癌胃液の諸酵素に及ぼす影響について

第 2 篇

胃癌胃液の肝フオスファターゼに及ぼす影響について

和歌山醫科大學 岩鶴内科

玉 置 治 彦

ON THE INFLUENCE OF CANCEROUS GASTRIC JUICE UPON LIVER PHOSPHATASE.

Haruhiko Tamaki.

(1st Medical Clinic, Wakayama Medical College)

(Prof. R. Iwatsuru)

In the previous paper, I reported that the K.I.K. factor (i. e. anemiogenic factor contained in cancerous gastric juice), unlike other cancer toxins, had no catalase depressing effect.

In this report, I investigated the effect of K.I.K. factor on the rat liver phosphatase. The estimation of phosphatase activity was performed after Kay's method.

The alkaline phosphatase activity was markedly depressed by injection of methanol precipitate as well as trichloroacetic acid precipitate of cancerous gastric juice, but suffered no change by injection of trichloroacetic acid supernatant.

As the latter fraction corresponds to our K.I.K. factor, it is evident that K.I.K. factor lacks phosphatase depressing effect too. (author's excerpt)

第1章 緒 論

フオスファターゼは廣く生体内に分布し燐酸エステルの分解を招來する酵素で、その至適 pH によつてアルカリ性フオ及び酸性フオに大別される。化骨、石灰沈着及び代謝等に關與し甚だ重要な生物學的意義を有するもので従つて種々疾患の際の血清、尿或は臓器フオの活性度の變化に關して數多くの文献を見る。即ち骨疾患時に血漿アルカリ性フオが增強すること、閉塞性黄疸の際に血清アルカリ性フオがしばしば增強して診斷的意義を有することが知られている。

岩鶴教授(1926)は慢性骨髓性白血病患者において諸臓器及び血液並びに尿中のアルカリ性フオの增強すること、堀井氏(昭和18)は重症結核患者の血液及び尿中の酸性フオ並びにアルカリ性のフオの

增強することを報告した。惡性腫瘍との關連については Davis(1934)は腫瘍組織では代謝が盛んであるのと平行してフオも増加すると報告し、Köhler(1934)は壞死に陥つた部分では減少すると述べた。p-ジメチルアミノアゾベンゼン或はクロロフォルム等發癌物質によつて作られた肝癌が極めて高いアルカリ性フオ活性度を示し、酸性フオには著明な變化を認めないことは、Greenstein¹⁾, White²⁾, Woodard³⁾, 等多くの學者によつて認められている。その他の腫瘍組織について Greenstein¹⁾ は一般に正常組織に比して低いアルカリ性フオ活性度を示すと述べた。Wachstein (1945)はマウスの腹腔内にクロロフォルムと液狀ワセリンの混合物を注射した場合肝のアルカリ性フオ活性度が減少すると報告した。Greenstein⁴⁾ は更に基

質の性質によつてフォ活性度の異なることを明らかにし、核酸塩を例外とし、他の磷酸エステルは正常肝よりも肝癌の抽出液によつて分解され難いといふ、又肝癌以外の担癌動物について肝の酸性並びにアルカリ性フォ活性度は何れも変化がないと述べた。之に反し北大中川内科の江口氏⁵⁾は担癌動物の肝アルカリ性フォ活性度の増加を認め、更に癌患者尿中にマウスの肝アルカリ性フォ活性度を増加せしめる物質が存在すると述べ、該因子は耐熱性、非透析性でアルコール及びエーテルに不溶であると報告した。酸性フォスファターゼについては Gutman A.B. & Gutman E.B. (1938), によつて前立腺癌患者の血清におてしばしば高い酸性フォ活性度を示すことが発見され、フォを臨床上的診断に利用することに成功した。柳澤氏⁶⁾ (昭25) は担癌動物の臓器及び癌患者血清中の酸性フォが Co イオンにより特異的に賦活されると述べ、之に基づいて癌診断を行ひ得ると報告した。吉田長平氏は癌患者尿中にマウス肝酸性フォをして Co イオンによつて強く賦活されるよう働く因子があると報告した。以上の如く悪性腫瘍とフォの関連については各方面よりの報告があり甚だ興味深い問題と考える。

私の第1篇において胃癌胃液中に大黒鼠肝カタラーゼ値を著明に低下せしめる因子の存在することを認め、此の因子と KIK 因子及びトキソホルモンとの異同について報告した。

本篇では續いて胃癌胃液が肝フォスファターゼに如何なる影響を與えるか、又その影響を與える因子と KIK 因子との關係について追求した。

第2章 實驗方法

1. 實驗試料及び實驗動物

實驗試料は第1篇において述べたものと同様である。即ち濃縮した胃癌胃液にメタノールを加えて生じた沈澱を少量の蒸溜水に溶解して透析後使用した。實驗動物は100g 内外の大黒鼠を用いその肩胛部の皮下に實驗試料1ccを注射して24時間後頸部を切斷して失血死せしめ肝の酵素作用を測定した。なお本實驗は秋冬の候、即ち10月より2

月の間に施行したものである。

2. フォスファターゼの測定法

Kay の方法を修飾した白井法⁸⁾により、酸性フォは pH 4.4 アルカリ性フォは pH 9.0 において測定した。

i) 酵素液、瀉血によつて殺した大黒鼠の肝を取出し、生理的食塩水にて洗い、濾紙で水分を除いて1.0g を秤量する。之を乳鉢中でよく磨碎して生理的食塩水10.0ccを加えて攪拌し遠心沈澱の後その上澄液1.0ccを酵素液として使用した。

ii) 基質、1% β -グリセロ磷酸ナトリウム溶液を HCl 液又は NaOH 液にて pH4.4 及び pH 9.0 として用いた。

iii) 緩衝液、醋酸—醋酸ナトリウム混合液 (pH 4.4) 又はベロナール緩衝液 (pH 9.0) を使用した。

iv) 測定方法、共栓三角コルベンに基質5.0cc 緩衝液5.0cc 及び酵素液1.0cc を順次注入し防腐の爲クロロフォルム 0.1cc を加えて、38°C に整調した孵卵器中に納め1日數回軽く振盪して48時間経過せしめた後、取出して直ちに25%三塩素醋酸 2.0cc を加える。次に之を濾過して濾液について Bell-Doisy 法により燐の比色定量を行う。對照として基質、緩衝液及び酵素液の混液に直ちに25%三塩素醋酸 2.0cc を加えて室溫に放置したものを用いる。對照の價を引き去つた燐の價を以つてフォ力價とする。測定方法を表示すると第1表の通りである。

第3章 實驗成績

1. 正常大黒鼠肝フォ力價

正常大黒鼠20匹について測定した肝アルカリ性フォ力價は第2表に示す如く最低 0.051, 最高 0.098 で概ね 0.05~0.10 の間にありその平均は 0.078 であつた。次に18匹の正常大黒鼠肝酸性フォ力價は最低 0.218, 最高 0.332 でその平均は 0.269 であつた。

2. 胃癌胃液注射による大黒鼠肝フォ力價

材料とした胃液は和歌山醫科大學附屬病院入院又は外來患者で診断の確實な胃癌患者より採取したものである。尚使用した胃液についての K.I.K 反

第 1 表 実験方法

	基 質	緩衝液	酵素液	25% 三塩素醋酸	操 作	25% 三塩素醋酸	操 作	燐の價 (mg/cc)
本 試 験	5.0cc	5.0cc	1.0cc	添加せず	38°C 48 時 間	2.0cc	燐の定量	A
對 照	5.0cc	5.0cc	1.0cc	2.0cc	室温 48 時 間	添加せず		B

A～B=フオスファターゼ力價

第2表 正常大黒鼠肝フオスファターゼ力價

Table 2 Phosphatase Activity of Normal Rat Liver (alkaline and acid)

番 號	肝アルカリ性フオ力價	肝酸性フオ力價	番 號	肝アルカリ性フオ力價	肝酸性フオ力價
1	0.088	0.286	12	0.086	0.276
2	0.074	0.243	13	0.093	0.304
3	0.098	0.264	14	0.051	0.284
4	0.067	0.279	15	0.063	0.255
5	0.056	0.250	16	0.076	0.268
6	0.071	0.231	17	0.069	0.280
7	0.088	0.332	18	0.078	0.273
8	0.097	0.317	19	0.082	0.269
9	0.085		20	0.077	
10	0.073	0.218	平均	0.078	0.269
11	0.080	0.262			

第3表 胃癌胃液注射による大黒鼠肝フオ力價

Table 3. Effect of Methanol Precipitate from Cancerous Gastric Juice on Liver Alkaline and Acid Phosphatase of Rat

番 號	患者姓	性別	年 齡	肝アルカリ性フオ力價	肝酸性フオ力價
1		♂	58	0.050	0.242
2		♂	58	0.039	0.233
3		♂	74	0.032	0.263
4		♂	49	0.049	0.248
5		♀	41	0.033	0.277
6		♂	44	0.045	
7		♂	50	0.040	0.280
8		♂	49	0.048	
9		♂	60	0.043	0.286
10		♂	51	0.045	0.259
11		♂	48	0.041	0.235
12		♀	43	0.047	0.251
13		♂	68	0.036	0.271
14		♂	63	0.028	
15		♂	56	0.042	
16		♀	61	0.051	
17		♀	42	0.038	
18		♂	47	0.041	
平均				0.042	0.258

應はすべて陽性であつた。18例の胃癌胃液において肝アルカリ性フオ力價は最低0.028最高0.050で平均0.042であつた。之を正常大黒鼠と比較すると

第4表 非胃癌胃液注射による大黒鼠肝フオ力價

Table 4. Effect of Methanol Precipitate from Non-cancerous Gastric Juice on Liver Alkaline and Acid Phosphatase of Rat

番 號	患者姓	性別	年 齡	病 名	肝アルカリ性フオ力價	肝酸性フオ力價
1		♂	41	胃酸過多症	0.088	0.296
2		♀	38	鉤蟲症	0.065	0.267
3		♀	22	胃下垂	0.076	0.237
4		♀	49	膽石症	0.078	0.252
5		♂	52	胃潰瘍	0.077	0.269
6		♂	42	胃 炎	0.061	0.257
7		♀	36	膽石症	0.052	0.273
8		♂	58	鉤蟲症	0.067	
9		♀	28	肺結核	0.010	
10		♂	40	胃潰瘍	0.085	
11		♂	27	健 康	0.075	0.248
平 均					0.075	0.251

概ね0.050を境界として著明な低下が認められる。酸性フオ力價は12例において最高0.286最低0.233で平均0.258である。之は正常大黒鼠と概ね同じ範囲内にあり著明な變化は認められない(第3表)。

3. 非胃癌胃液注射による大黒鼠肝フオ力價

對照として健康者、胃疾患、鉤虫症、胆石症及び肺結核患者の胃液を注射して測定した成績は第4表に示す通り、アルカリ性フオ力價は最低0.052最高0.088で11例の平均0.075である。之は正常大黒鼠の價と比して著明な變化は認められない。肝酸性フオ力價についても特異な變化を認めなかつた。

以上の成績をまとめて圖示すると第1圖及び第2圖の通りである。

4. 加熱實驗

胃癌胃液のメタノールによる沈澱を注射することによつて、大黒鼠肝アルカリ性フオ力價が低下を示すことは明かとなつたが、この作用をもつ因子の耐熱性について檢した。

Fig. 1. Effect of Methanol Precipitate of Cancerous and Noncancerous Gastric Juice on Alkaline Phosphatase of Rat Liver

第1圖 大黒鼠肝アルカリフォスファターゼ力價

第5表 加熱實驗 アルカリ性フォスファターゼ力價
Table 5 Effect of Heating on the Phosphatase Depressing Factor

番 號	患 者 姓	性 別	年 齡	病 名	肝アルカリ性 フォ力價	
					加熱 せず	加熱後
1	■	♂	60	胃 癌	0.043	0.038
2	■	♀	43	胃 癌	0.047	0.041
3	■	♂	68	胃 癌	0.036	0.049
4	■	♂	63	胃 癌	0.028	0.032
5	■	♂	41	胃酸過多症	0.088	0.081
6	■	♀	22	胃下垂	0.076	0.093

胃癌胃液の注射試料を pH 7.0 において100°Cの水浴上で30分間加熱した後大黒鼠に注射して肝のアルカリ性フォ力價を測定した。

Fig. 2. Effect of Methanol Precipitate of Cancerous and Noncancerous Gastric Juice on Acid Phosphatase of Rat Liver

第2圖 大黒鼠肝酸性フォスファターゼ力價

實驗成績は第5表に示した通り、加熱しても胃癌胃液の肝アルカリ性フォ力價を低下せしめる作用は失われないことを認めた。

5. 三塩素醋酸處理實驗

胃癌胃液に三塩素醋酸を加えて、分離した上澄液及び沈澱のおのおのについて肝フォに對する作用を検した。型の如く胃癌胃液を濃縮して10%三塩素醋酸を等量加えた後遠心沈澱し、分離した沈澱は少量の N/10 NaOH に溶解せしめ、上澄液はそのまゝおのおの流水中で充分透析する。

上澄液は更に濃縮して使用する。

實驗成績は第6表に示す通り肝アルカリ性フォ力價は胃癌胃液の三塩素醋酸による沈澱により明らかに低下せしめられるが、上澄液では何等變化を認めなかつた。對照として行つた胃癌以外の胃

第6表 三塩素醋酸處理實驗

Table 6 Effect of Trichloroacetic acid Precipitate from Cancerous and Non-cancerous Gastric Juice on Alkaline and Acid Phosphatase of Rat Liver

番號	患者姓	性別	年齢	病名	アルカリ性 フォ力價		酸性フォ力價	
					上澄液	沈澱	上澄液	沈澱
1	■	♂	51	胃癌	0.068	0.048		
2	■	♂	60	胃癌	0.081	0.032		
3	■	♀	43	胃癌	0.071	0.047	0.273	0.291
4	■	♂	68	胃癌	0.053	0.040	0.301	0.262
5	■	♂	63	胃癌	0.089	0.035	0.246	0.258
6	■	♂	52	胃潰瘍	0.076	0.084		
7	■	♂	41	胃酸過多症	0.092	0.054	0.279	0.231
8	■	♀	22	胃下垂	0.098	0.060	0.250	0.264

液では沈澱，上澄液の何れによるも著明な變化を認めなかつた。

酸性フォ力價については，胃癌胃液並びに對照胃液の三塩素醋酸による沈澱及び上澄液の注射によつて著明な影響は認められなかつた。

第4章 総括並びに考按

腫瘍組織のアルカリ性フォ活性度については發癌物質を投與して生成した動物の肝癌において著しく増加することが多くの學者によつて認められているが，Greensteinはその他の場合は一般に腫瘍組織の方が正常組織よりアルカリ性フォ活性度が低く，担癌動物の肝においては變化がないと述べた又基質の性質の異なるにより正常組織と腫瘍組織のアルカリ性フォ活性度の關係に相違を生じると述べている。江口氏は担癌動物の肝においてアルカリ性フォ活性度の増加を認め，このことが癌尿の注射によつても起ると報告した。之は私の胃癌胃液を注射した場合の成績と一致しない，一井，森，大橋¹⁰⁾氏等の成績によると大黒鼠にp-ジメチルアミノアゾベンゼン(DAB)及び2-アセチルアミノフロレン(AAF)を投與して肝癌を生成する際，その過程において肝アルカリ性フォ活性度は稍々減少を示し肝癌では著しい増加を認めている。Eschenbrennerによればマウスをクロロフォルムによつて飼養して作つた肝癌では，著しいアルカリ性フォ活性度の上昇を示すが，Wachstein

はクロロフォルムをマウスの腹腔内に注射した場合に肝アルカリ性フォ活性度の低下を認めたと報告した。この成績の相違についてGreenstein⁴⁾は，動物の系による差よりも量と適用法の違いによることが大きいであろうと述べている。之等のことから腫瘍の際のフォ活性度は單に増加或は減少の方向を示すものではなく各種の條件によつて複雑な推移を示すことが推測出来る。

癌尿中の肝アルカリ性フォ活性度を増加せしめる作用と，胃癌胃液の之を減少せしめる作用は何れも癌組織に由來するものであるが，各種の條件の相違により異つた因子の作用によるものであると考えられる。

胃癌胃液中のアルカリ性フォ力價を低下せしめる作用は加熱によつて失われず，また三塩素醋酸による沈澱に認められることから前篇⁷⁾において比較検討した通り，KIK因子によるものではないことは明らかで，カタラーゼ能低下作用と同様の關係を認めた。酸性フォについては骨形成肉腫及び前立腺癌を除いた他の場合腫瘍組織と正常組織の間に活性度の著明な變化がないこと，及び担癌動物の肝において變化のないことが認められている。私は胃癌胃液の注射によつても肝酸性フォ力價に著明な變化のないことを認めたがCoイオンによつて特異的に賦活されるか否かは今後検討したい。

第5章 結 論

1. 正常大黒鼠20匹について測定した肝アルカリ性フォ力價は0.051~0.098で平均0.078であつた。18匹について測定した酸性フォ力價は，0.218~0.332で平均0.269であつた。

2. 18例の胃癌胃液のメタノール沈澱注射による大黒鼠肝アルカリ性フォ力價は，0.028~0.050で平均0.042を示し著明な低下を認めた。

12例の胃癌胃液のメタノール沈澱注射による大黒鼠肝酸性フォ力價は，0.233~0.286で正常と變化を認めなかつた。

3. 對照非胃癌胃液注射では肝アルカリ性並に酸性フォ力價に對し著明な變化を認めなかつた。

4. 胃癌胃液を100°Cにおいて30分間加熱するも肝アルカリ性フォ力價を低下せしめる作用は失われない。

5. 胃癌胃液の三塩素醋酸による沈澱には肝アルカリ性フォ力價を低下せしめる作用を認め、上澄液ではその作用を認めなかつた。肝酸性フォ力價は何れによるも何等影響を受けないことを認めた。

本論文の要旨は第12回日本癌學會總會において報告した。

本研究は岩鶴教授に與えられた文部省科學研究費によ

るところ大である。記して謝意を表する。

文 献

- 1) Greenstein, J.P.: J. Nat. Cancer Inst., Vol. 2(1942). —2) White, J., Dalton, A.T., & Edward, T.E.: J. Nat. Cancer Inst., Vol. 3(1942). —3) Woodard, H.Q.: Cancer Research, Vol. 3(1943). —4) Greenstein, J.P.: Biochemistry of Cancer. New York(1947). —5) 江口勝之: 日本内科學會雜誌, 40卷8號(昭和26年). —6) 柳澤文正: 生化學, 22. 4~5號(昭和25年). —7) 玉置治彦: 日本内科學會雜誌, 43卷7號(昭和29年). —8) 白井陽一: 和歌山醫學, 1卷(昭和25年). —9) 小金井良一: 生化學的微量定量法, 杏林舍(昭和4年). —10) 一井, 森, 大橋: 癌, Vol. 45, No. 1(1954).

胆汁酸負荷に依る肝臟機能検査法

第1報 健康人及び肝疾患々者に就いて

鳥取大學第一内科(主任 淺越嘉威教授)

本 田 恭 治

A LIVER FUNCTION TEST BY ADMINISTRATION OF THE BILE ACID FIRST REPORT. ON NORMAL HUMAN BEINGS AND PATIENTS WITH LIVERDISEASE.

By

Kyoji Honda

(From the Dept. of Internal Medicine, Tottori University, School of Medicine.)

(Director: Prof. Y. Asagoe)

In order to modify Dr. Nakagawa's test into a quantitative one, the author examined the elimination of the bile acid in the urine after its administration.

In parallel with this test, some other liver function tests were performed. The results were as follows:

- 1) The liver function is expressed as the elimination quotient (E.Q.) of the bile acid, namely by D.E. (E.Q. of Dehydrocholic acid), R.E. (E.Q. of Reductodehydrocholic acid) and R.E./D.E., and when D.E.>3.0, R.E.<4.0 and R.E./D.E.<1.0, it is disturbed.
- 2) In cirrosis of the liver every patient showed a positive result in this test.
- 3) In acute hepatitis, the disturbances of the liver function by this test were rather remarkable.