胃液蛋白の Polarograph 的研究
(第 2 報) 胃疾患別分劃胃液の Polarograph
的特性について

札幌医科大学内科教室 (指導: 和田武雄教授)

梅 谷 直 治

POLAROGRAPHICAL STUDIES ON THE PROTEIN MOIETY
OF GASTRIC JUICE
PART 2. ON THE POLAROGRAPHIC CHARACTERISTICS
OF FRACTIONATED GASTRIC JUICE IN
SEVERAL GASTRIC DISEASES

BY

Naoji Umetani

Department of Internal Medicine, Sapporo Medical College

(Prof.: Takeo Wada)

With a view to find a mechanism of a characteristic lowering of polarographic filtrate wave (Pfw) of 20-minute aspirate after insulin injection when compared to that of fasting gastric juice, which is called by the name of "Polarographic cancer pattern" of gastric juice, patients were divided into 2 groups, i.e., the cancerous group and healthy acidic controls, and fasting 20-minute and 40-minute aspirates drawn from respective groups were fractionated into four fractions (from F_5 to F_8) by the author's modification of Glass & Boud's method.

On each of the fractions thus obtained, polarographic behaviour was investigated.

The Pfw's in both control and cancerous specimens were the highest in F_5 (acetone-soluble fraction), and showed perpendicular figures similar to that of native gastric juice.

In addition, in the cancerous specimen, a lowering of Pfw in F_5 was obtained in the 20-minute aspirate.

From these facts, it may be declared that F_5 is a fraction having the characteristic of "Polarographic cancer pattern".

In the control specimens, typical polarographic double waves were noticed in F_8 (mucoprotein fraction according to Glass), but little polarographic activities were observed both in F_6 and in F_7 (mucoproteose fraction according to Glass).

On the contrary in the cancerous specimens, Pfw's were noticed in F_6 and F_7 , while they were negligible in F_8 .

In summary of Part I and Part II, it is concluded that the several interfering factors, e.g., contaminations by saliva, blood, and bile have no influence on the "Polarographic cancer pattern" per se.

In the cancerous specimen, it was observed that polarographic activity existed in F_7 but not in F_8 , which was a reverse result to that obtained with the control specimen.

Among the fractionated samples, F_5 seems to play an important rôle in the above cancer pattern.

前報においては「胃液 Polarograph 癌曲線」の本態の解明に関連して、まずその干渉要約と考えられる酸度並びに粘度変化、唾液、血液あるいは胆汁混入などの影響を検討した結果、その干渉程度は軽度で、この様な Insulin (Ins.) 分泌胃液の Polarograph (P) 的特性の本質的な支配条件ではないことを報告した。

従つて Ins. 分泌という条件下において、P 蛋白波 (PPW) を特性づける活性物質の所在を分析する必要を認め、今回は Glass-Boyd¹⁾ 法に準じて胃液を分劃してそれぞれの PPW の推移を検討し、あわせてこれまでに得た知見を総括報告したい。

実験方法

対象および試料採取法は前報と同様である。

胃液分劃法としては Glass-Boyd¹⁾ の方法を応用して対象別に処理したが、原法の三塩化醋酸処理は P 波に干渉するため、佐藤²⁾ の知見に従つて 20% sulfosalicylic acid (SSA) を以て代用した。すなわち Tab. 1 の如くこれを F_1 より F_8 までの 8 分劃に分け、それぞれについて P 的検討を試みたが、P 法そのものの条件は前報の如く、Luteo 塩の使用が適当であるため、今回はすべて Co^{++} 電解液を用いた。

分劃試料は表示の如く F_1, F_3, F_5 および F_7 が上清部分、 F_2, F_4, F_6 および F_8 が沈澱部分に相当する。この中 F_2 は固有の胃液蛋白というより夾雑成分を多く含むゆえ一応この場合は不要であり、 F_3 および F_4 はそれぞれ F_5, F_6 および F_7, F_8 に分離され、処理上 F_3, F_4 としての分析は不可能である。従つて今回の研究対象として

Tab. 1. Method of Fractionation

は $F_5 \sim F_8$ にいたる各分劃を用いた。

また各分劃の P 活性比較にあつては、その波高は溶液中のモル濃度を示す関係上、各分劃の用量を等しくする必要がある、この上清部および沈澱部はいずれも F_1 の用量 (5 cc) に等しくなるよう調製した。すなわち沈澱部は 1 N NH_4OH 液に溶解して 5 cc とし、上清部は蒸留水を加えて 5 cc に補正した上で、それぞれの 0.5 cc を試験に供した。なお沈澱部は溶解液として 1 N NH_4OH 液を用いているので、電解液内 NH_4OH 濃度についても内容が一致するように留意した。

実験成績

(1) 症例別分劃試料内 P 活性

胃癌と対照別に Ins. 注射前、注射後 20 分目および 40 分目の胃液をそれぞれ分劃し、 $F_5 \sim F_8$ について PPW を測定した。

Fig. 1. PPW of the fractionated Gastric Juice

Fig. 1に示す如く、各分割のP活性としてはIns.注射前後および対照・胃癌の別なくF₅が特に高い。F₆以下については多少の変動はあるが、対照はF₆およびF₇のP活性は極めて弱い。F₈のPPWは定型的蛋白二重波を示す。しかし胃癌についてはかなり著明な差異がみられ、P活性はF₆およびF₇で高くF₈のPPWはむしろ低い。これをIns.注射前後の時間的なP波曲線としてみる時は、その胃癌および対照曲線に相当する20分目試料内P活性の消長は、F₅のみが忠実にこれを反映し、F₆以下の波は一定せず胃癌も対照も大体において20分目、40分目試料で高くなる。

(2) Poolした胃液についての分割試料内P活性

前項の症例毎の実験は試料不足のため一部を欠く場合もあるので、胃癌と対照別にこれをPool

Fig. 2. PPW in Every Fraction of Pooled Gastric Juice

してIns.注射前後の各分割内P活性の消長を観察した。

すなわちFig. 2に示す如く、胃癌の20分目にP活性の低下する部分はF₅で、わずかにF₈の分

Fig. 3. Correlation between PPW of nonfractionated gastric juice and PPW of F_5 .

泌減弱が随伴していることが一層と明らかにわかる。また対照ではP曲線に直接の影響はないが、 F_7 がIns.注射後に低下し、その他はすべて高くなる。すなわち胃癌では F_5 、 F_6 および F_7 特に F_5 、 F_7 にP活性を認め、対照では F_5 、 F_8 に活性を認める。Ins.前後のP曲線としては F_5 のP活性が比較的忠実に伴ない、その他は一定しない。

(3) 原胃液P活性と各分割内P活性の相関

P曲線形成にあずかる分割の関係を一層明らかにするため、原胃液内P活性と各分割内P活性との間の相関を、自由にとつた胃癌と対照試料別に比較すると、Fig. 3の如く F_5 のみに原胃液と有意な正の相関を認める。

小 括

胃液P活性の分割試料内推移をGlass-Boyd法の変法により追求すると、胃癌・対照の別なくGlassらの記載しない仮称 F_5 分割、すなわちacetone移行部分に最もP活性が高い。

次いで対照および胃癌別に比較すると、対照では F_8 、すなわちMp (Glass)分割に活性を認めるが、胃癌ではむしろ F_6 および F_7 、すなわち

Mps (Glass)分割に活性が移行し、 F_8 にはほとんど認めない。

これをIns.注射前後についてみても大体同様の傾向を認めるが、対照では F_7 がむしろIns.注射後に活性低下を呈し、胃癌例では F_5 のP活性低下を認める。

Ins.分泌胃液内P活性度の時間的消長、すなわち「胃液P曲線」の関与因子という意味では、 F_5 の推移が主役を演ずるようであるが、念のため原胃液と各分割についてP活性の相関をみると、 F_5 のみに正の相関を認め、これを裏づけることが出来る。

考 案

以上の成績について二、三の考察を加えると、まずGlass-Boydは、胃液を三塩化醋酸処理後acetoneを加え、total dissolved mucin (F_4)をおとした上、等電点の相違を利用してさらにMps (F_7)およびMp (F_8)を単離し、主としてこの両者について詳細を報告している³⁾⁴⁾。

私はPolarograph濾液法の活性体としてはMPを問題の対象としている関係上、この分割法をSSA処理にかえて応用したものであるが、P活性そのものは意外にacetone可溶部(F_5)に残ることがわかった。この点についてはその処理過程とPatternの動き、すなわち典型的二重波というよりは直立型をとること、および別に細川の得たamino acid構成などの諸点から推測して、おそらくMP、Mpsを含まない分割において、それよりも低分子物質によつてP活性が営まれるのではあるまいかと考えられる。これは同時に、nitrogen, tyrosine, hexosamine, hexuronic acid等の含量およびDPA反応物質をみると、特に胃癌では本分割内に最も多く移行することが教室の研究で認められ、また谷野⁵⁾の報告でも胃癌胃液中に遊離tyrosineの増量を認めているなどからみて、MP分割としてのtyrosineは減少するから⁵⁾⁶⁾⁷⁾、あるいは本分割内に増量すること、関連がありはせぬかとも考えられる。また、特に本分割がIns. P癌曲線と呼唱したIns.分泌液内P活性

の一時低下を反映する点は、これまで acetone 可溶部として顧みられなかつた分割ではあるが、今後なお検討の余地があると云えよう。

次ぎに F_6 の P 活性は F_3 の acetone 蒸発後沈澱する分割で、健康対照例では PPW を形成しない。しかし癌胃液では PPW を形成し、 F_8 よりもむしろ活性が大きい。この分割も acetone 上清部に属するゆえ F_5 に近い組成が考えられるが、同時に酸度との関係を見ると、弱い逆相関が窺え、癌胃液の無酸性に関連して F_5 から移行するものではあるまいかと推測される。

F_7 は Glass¹⁾ らのいう MP_s 分割である。対照胃液では P 活性が弱く、特に Ins. 注射後液ではむしろ低下する傾向を認めるが、胃癌胃液では反対に活性増加を認める。これは細川⁶⁾、Wolf⁷⁾ らが胃癌胃液についての増量を報告したところと一致する。

F_8 は Glass¹⁾ らのいう MP 分割である。対照胃液では典型的な蛋白二重波を形成し、濾液反応上の活性物質としての単離を表現する。胃癌試料ではこの P 活性は極めて低い、これも教室細川⁶⁾をはじめ Wolf⁷⁾ および Glass²⁾ らの化学的測定上の成績に一致する。

これを要するに、 F_5 分割の詳細追求が今後の問題であると共に、対照では F_7 の P 活性は弱く F_8 にこれを認め、胃癌では逆に F_7 に高く F_8 にはほとんど見られないという F_7 および F_8 の逆転現象が目される。

Glass²⁾、細川⁶⁾によれば MP は有酸対照胃液では Ins. 注射後増量し、その点私の P 的にみた成績もこれと一致する。MPs は分泌性でなく Surface epithelium mucus の分解産物とみなされ⁸⁾、胃液を室温に放置すれば粘度は低下し、tyrosine 値も増加し⁹⁾、また Biuret 反応の増強を認めている¹⁰⁾。この粘度低下については私も前報したが、P 活性上への影響は無酸例では上昇するが、有酸例ではそれ程に変化を認めていない。これが対照ではむしろ Ins. 注射後に F_7 の一時低下をみるに對し、胃癌ではむしろ上昇を来す理由と

みられよう。

なお mucolytic enzyme は中性または弱 alkali 性で、Gastric mucus を分解するという報告⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾から考えて、Ins. 注射後の有酸分割では安定ゆえ対照の F_7 はむしろ P 活性低下を示すが、無酸症特に胃癌胃液ではある程度この酵素分解作用の影響をうけ増量するとも考えられる。しかし胃癌のさいの F_8 の P 活性低下は、腺機能変化に基づく MP 分泌低下とみるのが当然であろう。

以上の考察から結論されることは、胃癌と対照の間の分割胃液内 P 活性推移の差異は、 F_5 に含まれる活性度、特にその Ins. 分泌に対応する態度と、 F_7 および F_8 への移行態度に認められ、これは胃腺分泌能、酸度あるいは酵素活性などの変化ともある程度関係をもつ胃癌胃液蛋白特異の組成変化とみられよう。

結 論

以上胃液蛋白質の疾患特異変化を P 的に研究し、第 1 報においては PPW 干渉条件を対象とした知見を報告し、今回は分割試料内 P 活性の推移を中心に研究をすゝめた。本研究は金沢・佐藤の既報した「胃液 P 癌曲線」の基本的な解決に関連するが、これらを通じて次ぎの結論を得た。

(1) pH 修正に対応する PPW 変化は胃癌が最も大きくかつ多様であり、対照無酸症がこれに次ぎ、有酸対照は安定した一定傾向を示す。胃癌胃液蛋白は P 的にみても極めて不均一、不安定構造をもつものと推測される。その点と関連して P 法上には Co^{III} 電解液の使用が望ましい。

(2) 胃癌および無酸例では粘度変化が大きい、PPW への影響は比較的少ない。

(3) 唾液、血液および胆汁混入はそれぞれ相当量に及んだ場合には干渉するが、PPW への影響を示す程度のものは肉眼的にもこれを識別しうる。

したがって「P 波曲線」など P 波昇降に対する本質的な影響条件とはみられない。

(4) Glass-Boyd 法を S S A 処理にかえて分割すると、各分割内 P 活性は Glass の顧みない F_5

(acetone 可溶部)分割に高く、「胃癌P曲線」は主としてこの分割内活性の消長により反影される。

(5) 対照のP活性は $F_7 < F_8$ であるが、胃癌では $F_7 > F_8$ で全く逆現象を呈する。

要約すると胃癌胃液PPWの特性としては、蛋白構造の易変不安定性に起因して酸度の影響をうけやすく、おそらくは無酸低酸と関連した mucolytic enzyme の作用結果として F_5 , F_6 あるいは F_7 のP活性増加を招く一方、分泌性の F_8 活性を欠くため、Ins. 分泌に対応する態度において対照との差異が一層著明に演じられる、つまりこれらの諸要因がよつて「胃液P波曲線」を形づ

くると結論される。

文 献

- 1) Glass, G.B.J., Boyd, L.J.: Gastroent. 12, 835 (1949). — 2) 佐藤(矩) : 札幌医誌, 10, 136. (1956). — 3) Glass, G.B.J., Boyd, L.J.: Gastroent. 12, 821 (1949). — 4) Glass, G.B.J., Boyd, L.J.: Gastroent. 12, 849 (1949). — 5) 谷野 : 岡山医誌, 66, 2491 (昭29). — 6) 細川 : 未発表. — 7) Wolf, S., Glass, G. B.J. et al.: J. Nat. Canc. Inst. 13, 1025 (1953). — 8) Glass, G.B. J.: J. Nat. Canc. Inst. 13, 1013 (1953). — 9) Hollander, F.: J. Nat. Canc. Inst. 13, 989 (1953). — 10) Komarov, S.A., Fels, S.S.: J. Nat. Canc. Inst. 13, 1007 (1953). — 11) Glass, G.B.J.: J. Clin. Inv. 29, 12 (1950).