

腫瘍の生化学的研究(第一報)

家鶏肉腫の蛋白分解酵素作用に就て

内野仙治

吉岡政七

島津和雄

腫瘍組織の旺盛なる増殖とその壊死現象を生化学的に考察するに、其主成分たる蛋白分子の化学的変化の研究は其第一義である。茲にその蛋白分解酵素作用の性狀消長を探究し、腫瘍細胞の生物學的現象の知見を明にしたい。既に腫瘍組織の作用の Autolyse 又 Heterolyse 増強に就て報告され、又近時その賦活度に關する研究を聞くが、これは主として高級蛋白分子を主題とするものとして之は後報にゆづり、本文は一定化学構造を有する種々 Polypeptide 誘導體に關する酵素作用の研究に限り、尙その一部は既に發表したる正常動物臟器又消化管系蛋白分解酵素作用の研究成績を考慮し、又之を背景として觀察したる研究の一部である。E. Abderhalden⁽¹⁾の記載は腫瘍組織蛋白分解酵素作用の atypische Spaltung を掲げ、既に所謂酵素作用特性に關する問題を提供して居る。

Molavan⁽²⁾は Dipeptidase に就て、Rattensarkom (Jensen) 切片を以てし、その陰性成績を報告して居るが、之は其特殊方法を餘程考慮して説明しなければならない。

E. Maschmann⁽³⁾は Mäusecarcinom, Sarkom 又 Hühnersarkom を以つて又 Waldschmidt-Leisz⁽⁴⁾は Sarkom Philadelphia 又 Carcinom-Walker 256 (Rattencarcinom) を以つて Leucylglycin 及び Leucyldiglycin の分解陽性を證明し、殊に後者は、その分解作用能が、腫瘍移植後經過日數多きものも、著しく低下せざる旨を述べて居る。

著者等が、各水素イオン濃度を考慮して行へる成績では Diglycin 分解能 (表1)

に就ては至適水素イオン濃度として PH 7.5—8.0 を得た。

Leucylglycin 分解 (表二) を観察するに、対照とせし、肝組織に依る分解度 (表二) が既報の如き酸性側に偏し居るに拘らず、家鶏肉腫に依るものは、鹼性側で著しく、この成績は、対照筋組織 (表二) の分解作用に類するものである。

腫瘍組織移植後経過日数との関係は、移植後 7 日目のものにて、同調製法に依る酵素液半量 (0.5 ccm) 使用 (表一) せるものも著明の分解値を示す。尙移植後 19 日目にして、既に壊死部あるものも相當の分解値を示し、特に作用減退と言へない。参考の爲め各、使用酵素液 1 ccm に就いて乾燥物質質量、總窒素量を比較するに (表五)、乾燥物質質量、總窒素量は移植後経過日数とともに減少するを見るも、乾燥物質中の窒素百分率には差違を認めず。

Glycylaminobenzoessäure (表六) 誘導體の分解に就ては、Anthranilderivat は抵抗著しく、その成績は Erepisin 系 Dipeptidase に相似たるも、Glycylsulfanilsäure の不分解性はその趣を異にする。

Histozym (表三) の存在は肉腫組織又肝組織に就て、之を證明し得ず。

所謂 Carboxypolypeptidase (Waldschmidt-Leitz) 又 Acylase (Abderhalden) の作用に依ると見る可き Benzoyldiglycin, Chloracetyldiglycin, 又 Chloracetylphenylalanin 等の分解試験は 殆ど總て陰性に近き成績である (表三)。鶏肝に依りても Benzoyldiglycin 殆ど分解されず。

然るに dl-Bromisocapronylglycin (表四) の分解は著明にして、腫瘍乾燥粉末を以つてしても遊離アミノ基の増加を認め、分解陽性の結果を得た。注意すべきは本誘導體は檢液 (種々 PH) の 37°C 消化のみにて臭素を遊離し、酸値増加を示したので特にアミノ窒素の増加を以てその分解となした。対照試験として煮沸水中加熱酵素液を使用した場合は何等アミノ窒素の増加を認めなかつた。

尙筋又肝組織を以つてしても、分解陽性を観察したので、この分解能は腫瘍細胞の特殊性と断定する事は出来ないが、更に詳細に研究する價值あるものと考へる。

實 験 部

1) 酵素液 家鶏肉腫(藤浪一加藤系)の移植後7日, 13日, 19日目のものを, 注意して剔出し, 壊死部又出血部を除去し, 磨潰し粥状となし, 之にその重量3倍容量のグリセリン水(グリセリン6:水4)を加へ更によく磨潰し, 細目篩を篩したるものを, トルオールを重層して氷室に貯へ, 之を試験に於て一消化液(20 ccm)につき1—2 ccmを添加す.

対照としたる鶏肝又鶏筋酵素液も當該鶏より得たるものより, 同法にて調製す.

乾燥粉末は Aceton-Aether 法に依れり.

2) 消化試験液. 一定 PH 値の Citratpuffer を以つて, 基質の 20 分 1 モル溶液となる様に調節添加し, 全量 20 ccm となし. 之に 1—2 ccm 酵素液又粉末(0.05 g)を加へよく混和し, トルオールを重層し, 37° に一定時消化せしめ, 消化液 4 ccm に就き, Formoltitration により, 又その 2 ccm につき Van Slyke 法によりて, 酸値又アミノ窒素量の増加を検査す. 基質を加へざる, 酵素液のみを同條件に消化せしめたるもの右數値を對照として, 主實驗數値より, 引去りたる値を表に掲げたり.

尙各消化液調製は次の如し.

Diglycin 0.133 g + 20 ccm Citratpuffer + 1 ccm Enzymlösung

Leucylglycin 0.188 g " "

Glycylaminobenzoessäure 0.194 g + 1 ccm N-NaOH + 4 ccm H₂O

+ 15 ccm Citratpuffer + 1 ccm Enzymlösung

Chloracetyldiglycin 0.194 g + 1 ccm N-NaOH + 2 ccm H₂O

+ 15 ccm Citratpuffer + 2 ccm Enzymlösung

Chloracetylphenylalanin 0.241 + " " " "

Benzoylglycin 0.179 g + " " " "

Benzoyldiglycin 0.236 g + " " " "

dl- α -Bromisocapronylglycin 0.252 + " " " "

Glycylsulfanilsäure 0.230 g + " " " "

表一 Diglycin の分解

酵素液	PH	酸値増加 (ccm N/10 NaOH in 4 ccm)		
		三時間	八時間	廿四時間
家鶏(七 移植後) 肉腫	6.1	0.05	0.05	0.05
	6.6	0.13	0.42	1.35
	7.0	0.20	0.62	1.69
	8.4	0.22	0.71	1.51
	9.3	0.10	0.27	0.65
同(酵素 半量) 上	6.0	0	0	0
	6.5	0.06	0.13	0.21
	7.0	0.07	0.31	0.80
	7.5	0.17	0.56	1.26
	8.0	0.13	0.39	0.94
家鶏(同 上) 胸筋	6.0	0.05	0.05	0.09
	7.0	0.08	0.29	0.99
	7.5	0.09	0.48	1.18
	8.0	0.10	0.36	0.93
	9.0	0.05	0.13	0.25
家鶏(同 上) 肝	6.0	0.21	0.91	1.59
	7.0	0.60	1.70	1.78
	7.5	0.94	1.82	1.84
	8.2	1.26	1.70	1.79
	9.2	0.76	0.95	1.13
		五時間	十時間	廿四時間
家鶏(十三 移植後) 肉腫	6.0	0	0	0
	6.5	0.13	0.18	0.27
	7.0	0.16	0.24	0.33
	8.0	0.31	0.60	1.13
	9.0	0.26	0.25	0.58
家鶏(同 上) 胸筋	6.0	0	0	0
	6.5	0.10	0.16	0.50
	7.0	0.23	0.35	1.04
	8.0	0.31	0.57	1.25
	8.9	0.17	0.40	0.57
家鶏(同 上) 肝	6.1	0.23	0.30	0.64
	6.6	1.15	2.16	2.76
	7.2	1.44	1.73	1.85
	8.2	1.56	1.71	1.85
	9.0	0.70	0.71	0.85
		三時間	八時間	廿四時間
家鶏(十九 移植後) 肉腫	6.0	0	0	0
	6.5	0.01	0.02	0.04
	7.0	0.05	0.16	0.34
	7.5	0.13	0.33	0.90
	8.1	0.18	0.43	0.94
家鶏(同 上) 胸筋	6.0	0	0	0
	6.5	0.05	0.12	0.30
	7.0	0.11	0.33	0.95
	7.5	0.18	0.46	1.21
	8.0	0.24	0.49	1.13
家鶏(同 上) 肝	6.0	0.04	0.10	0.18
	6.5	0.92	1.57	1.84
	7.5	1.65	1.76	1.76
	8.6	1.67	1.73	1.72
	9.0	1.60	1.61	1.67
9.3	1.05	1.04	1.15	

表二 Leucylglycin の分解

酵素液	PH	酸値増加 (ccm N/10 NaOH in 4 ccm)		
		三時間	八時間	廿四時間
家鶏(七 移植後) 肉腫	6.0	0	0	0
	6.5	0	0.05	0.30
	7.0	0.02	0.10	0.74
	7.5	0.10	0.27	0.79
	8.3	0.26	0.76	0.79
	9.3	0.62	0.71	0.72
家鶏(同 上) 胸筋	6.0	0	0	0
	6.5	0	0	0.09
	7.0	0.02	0.02	0.21
	7.5	0.04	0.09	0.74
	8.1	0.14	0.39	0.75
	9.2	0.36	0.55	0.65
家鶏(同 上) 肝	6.0	0.13	0.68	0.68
	6.5	0.78	0.84	0.88
	7.0	0.82	0.86	0.90
	7.5	0.74	0.74	0.79
	8.1	0.74	0.74	0.76
	9.2	0.62	0.65	0.66
家鶏(十三 移植後) 肉腫	6.0	0	0	0.05
	7.0	0.03	0.09	0.30
	7.4	0.10	0.16	0.67
	8.0	0.12	0.40	0.69
	9.2	0.31	0.55	0.66
	家鶏(同 上) 胸筋	6.1	0	0.02
7.0		0.03	0.18	0.80
7.4		0.18	0.44	0.76
8.0		0.27	0.73	0.73
9.2		0.47	0.60	0.66
家鶏(同 上) 肝		6.0	0.03	0.53
	6.5	0.70	0.69	0.75
	7.0	0.66	0.66	0.71
	8.0	0.68	0.69	0.70
	9.0	0.55	0.54	0.59
	家鶏(十九 移植後) 肉腫	6.0	0	0
6.5		0	0	0.10
7.0		0.02	0.07	0.14
7.5		0.02	0.09	0.28
8.0		0.08	0.24	0.75
9.0		0.25	0.62	0.72
家鶏(同 上) 胸筋	6.0	0	0	0.04
	6.5	0.06	0.11	0.26
	7.0	0.04	0.11	0.40
	7.5	0.08	0.16	0.83
	8.1	0.12	0.59	0.72
	9.1	0.47	0.63	0.65
家鶏(同 上) 肝	6.0	0.51	0.81	0.84
	6.5	0.81	0.81	0.84
	7.0	0.77	0.78	0.88
	7.6	0.59	0.63	0.77
	8.4	0.58	0.62	0.66
	9.2	0.48	0.50	0.66

表三 Acyl-derivate の分解

基質	酸値増加 (ccm N/10 NaOH in 4 ccm)											
	家鶏肉腫 (移植後十三日)				家鶏肉腫 (移植後七日)				家鶏肝 (肉腫移植後七日)			
	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0
Benzoylglycin	16	0.01	0.01	0	24	0	0	-0.01	16	-0.07	-0.04	-0.08
	48	0	0	-0.01	48	0	0	0	48	0.02	0.03	-0.05
Benzoyldiglycin	16	0.01	0.01	0	24	-0.03	-0.02	-0.02	16	0.08	0.05	-0.06
	48	0	0	-0.01	48	0	0	0	48	0.10	0.02	-0.05
Chloracetylphenylalanin	16	-0.06	0.07	-0.01	72	0	0	0	72	0.10	0.08	0.03
	48	-0.06	0.17	-0.01								
Chloracetyldiglycin	16	0.03	0	0.04								
	48	-0.01	0.09									
	72	0										

表四 dl- α -Bromisocaprolyglycin の分解

(括弧内の数字は消化後の PH 値)

酵素	酸値増加 (ccm N/10 NaOH in 4 ccm)												アミノ窒素増加 (mg in 2 ccm)																							
	肉腫浸出液				* 肉腫乾燥粉末				加熱肉腫浸出液 (煮沸水中三十分)				家鶏肝浸出液				家鶏筋浸出液				PH 6.0				PH 7.0				PH 8.0				PH 9.0			
	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0	時間	PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0						
肉腫浸出液	24	0.13 (5.8)	0.10 (6.5)	0.06 (7.0)	0.09 (7.2)	*24	0.33	0.31	0.28	0.31	72	0.55	0.52	0.46	0.46	24	0.071 (5.8)	0.122 (6.5)	-0.006 (6.8)	0.015 (7.0)	24	0.071 (5.8)	0.122 (6.5)	-0.006 (6.8)	0.015 (7.0)	48	0.33	0.31	0.28	0.31						
	72	0.55	0.52	0.46	0.46	72	0.55	0.52	0.46	0.46	72	0.55	0.52	0.46	0.46	72	0.055	0.613	0.059	0.042	72	0.055	0.613	0.059	0.042	72	0.55	0.52	0.46	0.46						
加熱肉腫浸出液 (煮沸水中三十分)	24	0.16 (5.8)	0.24 (6.5)	0.11 (6.8)	0.12 (7.0)	24	0.45	0.52	0.41	0.42	24	0.066 (5.8)	0.005 (6.5)	0.005 (6.8)	-0.002 (7.0)	24	0.066 (5.8)	0.005 (6.5)	0.005 (6.8)	-0.002 (7.0)	48	0.45	0.52	0.41	0.42	48	0.45	0.52	0.41	0.42						
	72	0.45	0.52	0.41	0.42	72	0.45	0.52	0.41	0.42	72	0.45	0.52	0.41	0.42	72	0.012	0.004	0	-0.008	72	0.012	0.004	0	-0.008	72	0.45	0.52	0.41	0.42						
家鶏肝浸出液	24	0.44 (6.1)	0.21 (6.4)	0.20 (7.0)	0.14 (7.1)	24	0.47	0.60	0.46	0.30	24	-0.010 (6.0)	0.026 (7.0)	0 (8.0)	0.090 (7.0)	24	-0.010 (6.0)	0.026 (7.0)	0 (8.0)	0.090 (7.0)	48	0.47	0.60	0.46	0.30	48	0.47	0.60	0.46	0.30						
	72	0.67	0.78	0.64	0.53	72	0.67	0.78	0.64	0.53	72	0.67	0.78	0.64	0.53	72	0.202 (5.5)	0.336 (6.2)	0.220 (6.5)	0.042	72	0.202 (5.5)	0.336 (6.2)	0.220 (6.5)	0.042	72	0.67	0.78	0.64	0.53						
家鶏筋浸出液	24	0.45	0.60	0.55	—	24	0.85	1.05	0.55	—	24	0.326	0.298	0.559	—	24	0.326	0.298	0.559	—	24	0.326	0.298	0.559	—	24	0.45	0.60	0.55	—						
	72	0.85	1.05	1.25	—	72	0.85	1.05	1.25	—	72	0.85	1.05	1.25	—	72	0.311	0.372	0.550	—	72	0.311	0.372	0.550	—	72	0.85	1.05	1.25	—						

表五 家鶏肉腫酵素液比較表(1 ccm に就きて)

移植後日数	七日目	十三日目	十九日目
乾燥物質 mg*	10.0	8.8	4.6
總窒素量 mg (1 ccm 酵素液中)	1.68	1.43	0.76
窒素 % (1 ccm ノ乾燥物質=就キ)	16.8 %	16.8 %	16.5 %

* 1 ccm 酵素液に 10 ccm アセトンを加へ析出せる部分

表六 Glycylderivate の 分解

基 質	間 隔	酸値増加 (ccm N/10 NaOH in 4 ccm)			
		PH 6.0	PH 7.0	PH 8.0	PH 9.0
Glycyl-o-aminobenzoësäure 家鶏肉腫 (移植後八日)	16	0	0	0	0.01
	48	0	0	0	0.01
	72	-0.02	0	0	0.01
Glycyl-m-aminobenzoësäure 家鶏肉腫 (移植後八日)	16	0	0.06	0.20	0.17
	48	0	0.21	0.49	0.32
	72	0.01	0.41	0.70 (7.2)	0.37 (8.6)
Glycyl-p-aminobenzoësäure 家鶏肉腫 (移植後十三日)	16	—	—	0.43	0.15
	48	—	—	0.76 (7.5)	0.35
	72	—	—	0.76 (7.0)	0.38
Glycyl-sulfanilsäure 家鶏肉腫 (移植後八日)	16	0.02	0.08	0.05	0.05
	48	0	0.08	0	0.03
	72	0	0	0	0.05

文 献

- 1) Zeits. f. physiolog. Chem., 60, 415 (1909).
 " 62, 145 (1909).
 " 66, 265 (1910).
 " 277 (1910).
- 2) Krebsforschung, 37, 277 (1932).
- 3) Zeits. f. physiolog. Chem., 218, 142 (1933).
- 4) " 219, 115 (1933).

(第6回京都講演會に於て發表)