

腫瘍の生化学的研究 (B 第一報)

家鶏肉腫構成基質成分の窒素分布に関する研究

醫學博士 内野仙治
飯田敏行

腫瘍組織の化学的成分, 殊に含窒素成分に関する研究は甚だ少い. 悪性腫瘍 Lipoid に関して, R. Bierich⁽¹⁾ 氏等は, Phosphorlipoid: Cholesterinester の比が正常組織に比し著しく低下する事實を認め, 其理由は Ester 増加に依るものと説明して居る. 含窒素成分としては, 腫瘍蛋白成分として Globulin が Albumin に比し多量であると言はれて居る程度で, 比較的, 分析結果を挙げ, 興味あるものとしては, R. Willheim 氏⁽²⁾ の人間の癌組織中の核酸に関する研究で, 氏は癌核酸は Thymonucleinsäure と異り Pyrimidinbase を有せず, Guanin 1, Adenin 1, Hexose 4, 燐酸 4 分子の組成を挙げ, N:P 比を 10:4 として計算して居る. 然し使用材料は數瓦にも達せず, 研究は決して容易なものでなかつたと想像する.

腫瘍組織の水抽出性含窒素成分の研究に既に着手し, 材料の採集に努力して居るので, 後日公表の機会ありと信じて居るが, 茲に腫瘍組織構成基質成分の概念的基礎知見を得む爲め, 先

第 1 表 家鶏肉腫構成基質の加水分解産物中の窒素分布
(移植後 7 日目)

	Versuch 1 N=14.86 % N=15.52 % (aschefrei) Asche=4.27 %		Versuch 2 N=14.43 % N=14.87 % (aschefrei) Asche=3.04 %	
	in 0.9750 g	in %	in 1.0088 g	in %
Amid-N	11.060 mg	7.16	10.010 mg	7.15
Humin-N	2.660 mg	1.72	2.940 mg	2.10
Purin-N	0.406 mg	0.26	0.868 mg	0.62
Arginin-N	23.100 mg	14.95	18.480 mg	13.20
Histidin-N	0.756 mg	0.49	0.840 mg	0.60
Lysin-N	4.200 mg	2.72	4.165 mg	2.98
Monoaminosäure-N	92.166 mg	59.63	82.320 mg	58.80
Summe	134.348 mg	86.93	119.625 mg	85.45
Gesamt-N (Kjeldahl)	154.560 mg	100.00	140.000 mg	100.00

づ其水解産物中の窒素分布に就いて實驗を行つた。是は材料の點から最も容易な方法であるが、單一性物質と言へないので、其成績から一定の判断を下す場合勿論非常に注意深くなくてはならない。

第2表 家鶏肉腫構成基質の加水分解産物中の窒素分布
(移植後13日目)

	Versuch 1 N=13.93 % N=14.59 % (aschefrei) Asche=4.62 %		Versuch 2 N=13.99 % N=14.59 % (aschefrei) Asche=4.54 %	
	in 0.9768 g	in %	in 1.0010 g	in %
Amid-N	9.800 mg	7.45	11.900 mg	8.39
Humin-N	2.660 mg	2.02	2.996 mg	2.12
Purin-N	0.924 mg	0.70	0.907 mg	0.64
Arginin-N	20.980 mg	15.95	20.664 mg	14.57
Histidin-N	0.238 mg	0.18	0.126 mg	0.09
Lysin-N	3.150 mg	2.39	4.200 mg	2.95
Monoaminosäure-N	78.400 mg	59.57	78.120 mg	55.02
Summe	116.161 mg	88.46	118.913 mg	83.78
Gesamt-N (Kjeldahl)	131.600 mg	100.00	141.800 mg	100.00

第3表 家鶏肉腫構成基質の加水分解産物中の窒素分布
(移植後19日目)

	Versuch 1 N=13.59 % N=14.21 % (aschefrei) Asche=4.38 %		Versuch 2 N=13.62 % N=14.47 % (aschefrei) Asche=6.17 %	
	in 1.0022 g	in %	in 0.9982 g	in %
Amid-N	11.844 mg	7.81	10.080 mg	6.99
Humin-N	2.254 mg	1.49	3.108 mg	2.16
Purin-N	1.218 mg	0.80	1.874 mg	1.29
Arginin-N	12.040 mg	7.94	9.520 mg	6.60
Histidin-N	0.168 mg	0.11	0.672 mg	0.47
Lysin-N	2.772 mg	1.83	2.912 mg	2.02
Monoaminosäure-N	90.608 mg	59.73	85.050 mg	58.98
Summe	120.904 mg	79.71	113.216 mg	78.51
Gesamt-N (Kjeldahl)	151.700 mg	100.00	144.200 mg	100.00

正常組織では、片岡氏が⁽⁹⁾豚胸腺、豚膵及び牛膵の構成蛋白成分の「アミノ酸」を分離し比較研究を行つて居るが、牛膵及び豚膵の間には動物種に依る差異を認めざるも、其胸腺との間には多少の差異を發見して居る。

各種腫瘍組織の生化学的研究に於いて、將來、その詳細説明を得んとする爲め、かゝる研究は其基礎知識として、重要なのみならず、或は之に依つて既に一定の豫想を得るかも知れない。本研究は家鶏肉腫成分を時期を異にして觀察した。即、移植後七日目の尙増殖旺盛なるもの、移植後十九日目の相當壞死組織の現れたる及び其中間として移植後十四日のものを採つた。

有機脱水劑にて脱水し、次で脱脂し、恆量に乾燥したる材料を、鹽酸加水分解し、其産物の窒素分布を觀察した。分析結果は大體次の如くである。

乾燥材料中總窒素量は移植後日數多きものは減少を示して居るが、總灰分には殆ど差異を認めない。

Purinfraction-N 又 Monoaminosäurefraktion-N は大體は時期に依り著しき差異を示さない。後者は約 60% 内外にて、この數値は Casein 中の Monoaminosäurefraktion-N に似て居る。

最も著明な變化は Diaminosäurefraktion-N で、移植後十九日のものは、七日のものに比し、殆ど半減値を示し、然も之は Argininfraction-N の減少に依ると見らる。

勿論動物を別にし、組織を異にして居るが、片岡氏の牛膵豚膵の Histidin 量も最少値を示して居る。尙又 Lysin は Arginin より稍多量に分離されて居るが、窒素としては大體相似たものであるが、腫瘍の Argininfraction-N は甚だ大である。Argininfraction 中には Arginin 以外の物質もあらうが、大體 Arginin と見て差聞へあるまい。

移植後十九日目の家鶏肉腫中、基質水解産物中に Argininfraction-N の減少する事は Waldschmidt-Leitz 氏等の觀察した、Arginase 作用が時期の遅き程増強すると言ふ事實と、直接關係はないとしても、何か連絡があるのかも知れない、或は又腫瘍組織代謝と Arginin と特殊の意味があるのかも知れない。

實 験 部

家鶏肉腫組織を出来る丈け周圍組織と分離し、粥狀に磨潰し、重量の約 20 倍容量 95% 酒精を加へよく攪拌し、上澄液を傾倒分離し、残渣を更に二回 10 倍容量 Aceton にて處理し、次で Äther にて、抽出器中に脂肪體を浸出除去す。減壓硫酸乾燥器中に、次で減壓 80°—90° にて恆量に乾燥す。

乾燥試料一定量の 15 倍容量 20% 鹽酸にて 12 時間煮沸加水分解し、加水分解物は減壓蒸溜を繰返し、出来る丈け鹽酸を除去す。残渣に少量水を加へ Magnesiumoxyd にて弱鹼性とし、Krüger-Reich 法にて Ammoniak を定量し、Amidstickstoff となす。

殘液を稀鹽酸にて中和し、沈澱物を濾過す。沈澱物中の窒素を定量 (Kjeldahl 法) し、Hummin-

stickstoff となす。

濾液に硫酸量 5% の割になる様に硫酸を加へ、20% Phosphorwolframsäurelösung を沈澱の生ずる限り加混し、一夜放置後沈澱を吸引濾過す。沈澱は 5% SO_4H_2 にて 4—5 回十分洗滌し、洗液を濾液と合し、含有窒素量を Kjeldahl 法にて定量し、Monoaminosäurestickstoff となす。

Phosphorwolframsäure 沈澱を濕りたるまゝ注意して乳鉢中に移し、約同量水を加へ、重土細粉を加へ、よく混和磨潰分解し、滴反應を呈するに至る。更に二倍容量水を加へ十分磨潰して、吸引濾過し、沈澱を更に Barytwasser にて處理し吸引濾過し、次で三回水洗す。濾液と洗滌液と混和し直に炭酸瓦斯を通じ Baryt を沈澱せしめ、暫時放置後濾過す。

濾液を硝酸酸性となし、20% 硝酸銀液を沈澱の生ずる限り加へ、沈澱を濾過し、之にて二回洗滌す。沈澱中の窒素を定量し Purinstickstoff となす。

濾液に更に硝酸銀液を加へ、其の試液一滴を硝子上に採り、Barytwasser を滴加するに、褐色酸化銀を沈澱するに至らば、溶液に Barytwasser を過剰に加へ、沈澱を吸引濾過し、沈澱を Barytwasser にて三回洗滌す。(濾液と洗滌液に合す)。

Silber-Baryt 沈澱を容器中に水を以て浮游せしめ、先づ硫酸を加へ、附着せる Baryt を SO_4Ba として沈澱せしめ、次で SH_2 を通じて Ag を AgS として沈澱せしむ。この濾液中の過剰 SO_4H_2 を先づ Baryt にて除き、減壓蒸溜濃縮したるものに 2.5% の割に SO_4H_2 を加へ、次で飽和 Quecksilbersulfatlösung を加へ沈澱を生ぜしむ。

沈澱を吸引濾過し、沈澱を二回 2.5% SO_4H_2 にて洗滌す。(濾液と洗滌液と合す)。沈澱の窒素を(濾紙のまゝ)定量し (Kjeldahl 法) Histidinstickstoff となす。濾液中の窒素を定量し Argininstickstoff となす。

前掲の Silber-Baryt 沈澱の濾液(洗滌液と合す)に硫酸を加へて Baryt を、 SH_2 を通して Silber を除きたる濾液 (5% 硫酸含有溶液として) に更に Phosphorwolframsäure を加へて Lysin を沈澱せしめ、この沈澱を更に上記同様に Baryt にて磨潰し分解して得たる濾液中の窒素を定量して (Kjeldahl 法) Lysinstickstoff となす。

(本研究の一部は昭和 9 年 6 月大阪電氣俱樂部に於ける京大化学研究所第 8 回講演會に發表せり)

文 獻

- (1) R. Bierich u. A. Lang., Zeits. f. physiol. Chem., 201, 157 (1931); 216, 217 (1933).
- (2) R. Willheim, Bioch. Zeits., 163, 488 (1925).
- (3) E. Kataoka, J. of Bioch., 19, 21 (1934); 19, 25 (1934).
- (4) E. Waldschmidt-Leitz, Zeits. f. physiol. Chem., 219, 115 (1933).