

胃癌，胃潰瘍及び実験的腫瘍組織の Plasminogen Activator 及び Trypsin Inhibitor の変動に関する研究

東邦大学医学部第2外科学教室（指導：柴津三郎教授）

土 屋 俊 文

〔原稿受付：昭和44年7月9日〕

A Study of Plasminogen Activator and Trypsin Inhibitor in Gastric Cancer, Ulcer and Experimental Tumor

by

TOSHIFUMI TSUCHIYA

The 2nd Clinic of Surgery, School of Medicine Toho University

(Director : Prof. Dr. SABURO AWAZU)

We have a few reports on the relation between gastrointestinal diseases and fibrinolysis. I measured plasminogen activator and trypsin inhibitor in cancer, ulcer, normal tissue of stomach, lymphnodes and ascitic fluid of carcinomatous peritonitis by fibrin plate method. Moreover, I studied EHRICH ascites tumor and the effects of dosing anticancerous agent, of which I got the results listed below.

1) In a group of cancer and the adjacent normal tissue of stomach, activator increased in the tissue of gastric cancer and inhibitor increased in the adjacent normal tissue of stomach, while both activator and inhibitor showed no regular tendency in a group of ulcer and the adjacent normal tissue of stomach.

2) Plasminogen activator activities in subcellular fractions of cancer, ulcer and normal tissue of stomach were estimated. In gastric cancer and the adjacent normal tissue of stomach, they increased in all over fractions, of cancer, in which they showed higher level in large granules fraction than in small granules fraction, while in middle fraction the highest level. Both in gastric ulcer and the adjacent normal tissue of stomach, plasminogen activator activity was high in middle granules fraction, but not significantly. Activator activities were uncertain in all cytoplasmic supernatant in this group.

3) Plasminogen activator activities in cancer and the adjacent normal tissue of stomach increased more by intravenous injection of Mitomycin C (20 mg) than those not injected. This tendency was more remarkable in the adjacent normal tissue of stomach and showed higher level than in cancer tissue. In subcellular fractions, it increased remarkably in all granules fractions, especially in middle granules fraction of the adjacent normal tissue of stomach, however, it decreased in all fractions of cancer tissue.

4) Plasminogen activator activity increased more in lymphnodes with metastatic

cancer than normal lymphnodes. And trypsin inhibitor showed the opposite result. Activator in lymphnodes with metastatic cancer showed more remarkable increase, besides that of trypsin inhibitor, by intravenous administration of Mitomycin C 20 mg than a group not injected.

5) Mitomycin C 10 mg was injected into the abdominal cavity of patient with carcinomatous peritonitis. Examining the ascites, it was found that the activator activity increased after the injection.

6) Plasminogen activator in EHRLICH ascites tumor cells began appearing in four days after inoculation and kept increasing for 7 days. Activator activity in ascitic plasma also appeared in 4 days after inoculation and kept increasing for 11 days after that. Even though the number of cells decreased clearly by injecting Mitomycin C 0.5 mg/kg and 1.0 mg/kg into abdominal cavity, activator activities both in tumor cells and ascitic plasma increased remarkably. Trypsin inhibitor in tumor cells kept increasing from the fourth day to fourteenth day after inoculation and decreased by dosing Mitomycin C.

The lysis on the heated fibrin plate could be recognized in none of these experiments.

目 次

第一章 緒 言

第二章 実験方法

第一節 実験材料

第二節 実験操作及び抽出方法

第三節 測定方法

第三章 実験成績

第一節 臨床例

第一項 胃癌，胃潰瘍及び隣接胃組織の plasminogen activator及び trypsin inhibitor

第二項 胃癌，胃潰瘍及び隣接胃組織の細胞下顆粒分画，所属リンパ節の plasminogen activator, trypsin inhibitor及びmitomycin C 投与によるその影響

第三項 癌性腹膜炎患者腹水の plasminogen activator 及び mitomycin C投与による変動

第二節 動物実験例

第四章 考 按

第五章 結 語

第一章 緒 言

生体内にあつて凝血を溶解しフィブリン沈着を処理する過程である線維素溶解現象は19世紀後半以来Green, Dastre, Morawitzらによつて研究され組織における線維素溶解現象（以下線溶）も報告されるようになつてきた。

Schickele¹⁾, Fujii²⁾は卵巣，子宮内に凝固を抑制する物質が含まれている事を発見し，Fleisherら³⁾は尿路，神経組織にはフィブリノリジンが含まれ，肝はフィブリノリジン効果を抑制すると報告した。Tilletら⁴⁾は溶連菌の線溶作用を観察しフィブリノリジンの生成を認め⁵⁾，Milstone⁶⁾によつて主張されたlytic factorをChristensenら⁷⁾は線溶酵素の前駆物質（プラスミノゲン）であるとした。Kaplanら⁸⁾はクロロホルムで処理した

血漿がフィブリノーゲン，フィブリン，ゼラチン，カゼインを溶解する事を認め，Huggins⁹⁾は犬，人の前立腺分泌液はproteolytic activityを有すると報告した。線溶を臨床的に問題にしたのはMacfarlane¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾で外傷，ショック，¹³⁾外科手術，薬物投与，精神的不安，肉体的労働時に線溶亢進を認め，Astrup and Permin¹⁴⁾及びPermin¹⁵⁾はフィブリン平板法を使用して動物組織のplasminogen activatorを証明し，以来Macfarlane¹⁶⁾，Albrechtsen¹⁷⁾をはじめ幾多の研究がある¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。亦近年，O'Meara²¹⁾等により種々の悪性腫瘍組織の成長，転移の定着におけるフィブリンの役割，線溶系²²⁾の変動が報告され，腫瘍患者の血中にproteolytic activityが増加すると云う報告は腫瘍による蛋白溶解，線溶酵素の産生や癌の伝播にこれら酵素の役割を喚起してきた。古くより，癌患者は高濃度のフィブリノーゲンと線溶系阻

示物質を所有し、フィブリン形成、保持に貢献している²³⁾といわれている。Boggustら²¹⁾²⁴⁾は人の癌組織は coagulative propertiesを有しフィブリン沈着が著明であるが、正常組織では無視し得る程度のものしか含んでいないと報告し“cancer coagulative factor” CCFなる概念を導入した。腫瘍組織が線溶活性を有する報告を Tagnonら²⁵⁾²⁶⁾は前立腺癌患者で、Cliffonら²²⁾は人原発腫瘍に低い線溶活性、plasminogen activator 活性を認めた。Tagnonら²⁵⁾²⁶⁾、Proutら²⁷⁾、Swan²⁸⁾は前立腺癌で、Frick²⁹⁾は前立腺、胃、胆嚢の腺癌で線溶亢進に伴う出血例を報告し、胃癌例では Fleischhacker³⁰⁾は低フィブリノーゲン血漿を伴う大出血例を最初に報告したが、線溶亢進を証明しなかつた。その後 Bibenら³¹⁾、Winckelmannら³²⁾、Welbornら³³⁾は線溶亢進に伴うフィブリノーゲン消費の亢進、その他種々の凝固異常による大出血例を報告し、本邦でも葛西ら³⁴⁾の報告がある。その他血液、造血器悪性疾患における線溶亢進³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾、動物における実験腫瘍の線溶⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴²⁾も報告されている。Ambrusら⁴³⁾、Fisherら⁴⁴⁾は栓塞腫瘍細胞の周囲にフィブリンが形成され腫瘍細胞を含んで血栓や細胞塊が毛細管床に停滞すると仮定し、転移はフィブリン網内にて腫瘍細胞の成長、周囲組織への浸潤によつて形成され、線溶酵素⁴⁵⁾⁴⁶⁾や抗凝固剤⁴⁷⁾はこれらの機構を妨害し転移の様相を変えるものと述べている。Dayら⁴⁸⁾は¹³¹Iで標識した抗フィブリン抗体フィブリノーゲンが in vivo でラットの移植腫瘍に局在するを認め、Ambrusら⁴⁹⁾は¹³¹I標識プラスミンは酵素活性が軽度減少する傾向を認め、Backら⁵⁰⁾はプラスミン及びフィブリンの腫瘍における病態生理学的任務を検討し腫瘍の治療にアイソトープ標識プラスミン応用の可能性を強調した。

一方人の血清が種々の抗プロテアーゼ作用を有する事は19世紀より知られており⁵¹⁾。諸種の疾患における血清の proteolytic inhibition については Ascoli and Bezzola⁵²⁾ が観察して以来すでに多くの研究がある。Briegerら⁵³⁾は悪性腫瘍における trypsin inhibitor の増加を報告し、Raab⁵⁴⁾は trypsin inhibitor の増加は主に腫瘍組織の崩壊と関係があると報告した。Dillardら⁵⁵⁾、Cliffon⁵⁶⁾は癌患者に増加を認め inhibitor 値が癌の診断に有用であると考えたが⁵⁵⁾、West⁵⁷⁾はキモトリプシンの血清 inhibitor を測定し種々の疾患に増加を認めたが診断的価値は見出されなかつた。Peacockら⁵⁸⁾は転移を有する癌に trypsin inhibitor の増加を認め、Schulman⁵⁹⁾⁶⁰⁾は健康人及びリンパ腫、白血病、結核患者の

血清 proteolytic inhibitor を測定し、trypsin, chymotrypsinに対する抑制効果はプラスミン抑制効果とは異なり、細胞、組織破潰の程度、赤沈値、フィブリノーゲン量の変動に密接な関係があると指摘した。従つて組織破潰の少ない乳癌では trypsin inhibitor は正常であるが、肺、舌、胃、結腸癌では著しい高値を示した。Astrup⁶¹⁾は牛肺組織はトリプシン及びプラスミンに対して強力なインヒビター作用を有する事を示し、KSCN抽出で易溶性 protease inhibitor と plasminogen activator を分離し、動物及び人の組織について測定した⁶²⁾。

胃腸疾患と線溶現象との関連についての報告例は少なく、本邦では矢嶋⁶³⁾が胃癌、胃潰瘍組織の plasmin 様物質、antiplasmin 様物質の存在を認め、雨宮⁶⁴⁾は plasminogen activator が胃潰瘍、胃癌、正常胃組織の順に高いと報告し、石原⁶⁵⁾も胃癌、胃潰瘍患者血中プラスミン値について研究しているが、細胞下顆粒分離、所属リンパ節及び制癌剤投与による変動を検索した報告は見当たらない。著者は今回、胃癌、胃潰瘍、隣接胃組織について plasminogen activator, trypsin inhibitor を細胞下顆粒分離についても検討し、所属リンパ節、制癌剤投与による胃癌、隣接胃組織、所属リンパ節の線溶系の変動及びエールリッヒ腹水癌、癌性腹膜炎患者の腹水についても研究し、若干の知見を得たので報告する。

第二章 実験方法

実験は4群別について行なつた。

第一節 実験材料

i) 胃癌組織、胃潰瘍組織及び各正常隣接胃組織を1.0g採取、生食水にて充分洗滌した。

ii) 胃癌組織、胃潰瘍組織及び各正常隣接胃組織を3.0g、所属リンパ節を1.0g採取、生食水にて充分洗滌した。更に胃癌患者に対し、術前1週内に、マイトマイシンC(以下MMC)20mgを経静脈的に投与。術後、胃癌組織、隣接胃組織を3.0g採取、所属リンパ節を1.0g採取した。

iii) 癌性腹膜炎患者腹水を採取、MMC10mgを腹腔内へ注入、1週後腹水を採取した。

iv) ddy マウス、週齢6~10週、18~20g、早に 2×10^6 数細胞のエールリッヒ腹水癌⁶⁶⁾⁶⁷⁾を移植、腹水を経日的に採取、更に移植1日後MMC0.5mg/kg、1.0mg/kgを腹腔内へ注入し、8日後、10日後腹水を採取し、癌細胞と上清を分離した。

尚、胃癌、胃潰瘍、リンパ節は病理組織学的に、癌性腹膜炎は臨床症状、腹水の物理化学的所見、細胞診⁶⁸⁾⁶⁹⁾によつて診断した。

第二節 実験操作及び抽出方法

i) 胃癌、胃潰瘍、隣接胃組織 1.0 g を 2 M-KSCN 液にて plasminogen activator (以下 Plg. Act.), trypsin inhibitor (以下 Tryp. Inh.) を分離、抽出した¹⁹⁾⁶²⁾⁷⁰⁾。先ず、各組織 1.0 g に 2M-KSCN 10 ml を加え Potter-homogenizer にて 10 分間均質化し、3000r. p. m. 10 分間遠心する。上清を分離し、沈渣に 2M-KSCN 10 ml を加え、10 分間均質化し、再度遠心して沈渣と上清を分離、更にもう一度、都合 3 度くり返す。得た 3 回の上清 30 ml を混和し 1 時間放置する。1N-HCl で pH 1.0 にし、生じた沈渣を 2M-KSCN 10 ml に溶かし、NaHCO₃ で pH 7.0 にする。これが Plg. Act. 被検液である。前記 1N-HCL にて pH 1.0 にした時生じた上清を分離し 0.1M-sod. tangstate を 3.0 ml 加え 30 分放置、生じた沈渣に 0.05M-barbitul buffer (pH 7.8) 10 ml を加え溶解させる。これが Tryp. Inh. 被検液である。

ii) 胃癌、胃潰瘍、隣接胃組織 3.0 g を細胞下顆粒に分画した。蔗糖で抽出する Claude⁷¹⁾の方法、Tagnon and Palade⁷²⁾による変法、食塩水ーリン酸緩衝液にて分画する Lewis and Ferguson⁷³⁾の記載せる方法等があるが、著者は次の如くして行なつた⁷⁴⁾。先ず、各組織 3.0 g を Potter-homogenizer にて、冷却した 0.25M-蔗糖 30 ml で均質化し、800 g 10 分間遠心し、大顆粒分画を分離、更に超遠心沈澱(日立製作所 40-P 型、最高回転数 40000r.p.m. 175000 g) 18000 g 30 分間遠心し、中顆粒分画を分離、更に 105000 g 60 分間にて小顆粒分画を得、上清を cytoplasmic supernatant として使用した。更に各分画に 2M-KSCN 10 ml を加え、前記の方法にて Plg. Act. を抽出した。リンパ節は 2M-KSCN にて Plg. Act., Tryp. Inh. を分離抽出した。

尚、大顆粒分画は核を、中顆粒分画はミトコンドリアを、小顆粒分画はミクロゾームを主に含有していると思われる。

iii) 癌性腹膜炎の腹水は、そのまま使用した。

iv) エールリッヒ 腹水癌は上清及び細胞沈渣に遠心分離し、沈渣には 2M-KSCN 液処理によつて Plg. Act., Tryp. Inh. を分離抽出、上清はそのまま使用した。

第三節 測定方法

i) Permin, Astrup らの標準フィブリン平板法¹⁵⁾⁷⁵⁾⁷⁶⁾⁷⁷⁾と加熱して Plg. を変性させる Lassen⁷⁸⁾の加熱フ

ィブリン平板法を用いた。加熱フィブリン平板法には上記にて分離抽出した Plg. Act. 被検液 0.5 ml に プラスミノゲン 12.5 mg 0.5 ml を加え、加熱フィブリン平板上に 0.03 ml 滴下、37°C 18 時間後、溶解面積を長径と短径の積 mm² で表わした。更に対称として各平板にトリプシン 1 万単位の 64 倍液 0.5 ml 加生食水 0.5 ml を滴下 (0.03 ml) した。Plg. の自然活性²²⁾を考慮して、Plg. 0.5 ml 加生食水 0.5 ml を対称 Plg. とし、対称トリプシンの溶解面積の % を以て対称 Plg. 及び各組織溶解面積を表わし、更に各組織のトリプシン % を プラスミノゲンのトリプシン % で除した値を以て表わした。Tryp. Inh. 被検液には 1 万単位 64 倍のトリプシンを等量加え、溶解面積を対称トリプシン (64 倍 + 等量生食水) % で表わし、抑制能を表わすために百から減じた。標準フィブリン平板法による測定は Plg. Act. 被検液を 0.03 ml 平板上に滴下、溶解面積を mm² で表わした。

ii), iii), iv) Plg. Act. は標準フィブリン平板法にて溶解面積 mm² を計測し、Tryp. Inh. は加熱フィブリン平板法にて溶解面積を計測、対称トリプシンの % で表わした。

第三章 実験成績

第一節 臨床例

第一項 胃癌、胃潰瘍組織 及び 隣接胃組織 における plasminogen activator 及び trypsin inhibitor (Tab. 1, 2, 3)

i) Plasminogen activator (Tab. 1, 2)

標準フィブリン平板法 (Tab. 1) にて胃癌組織と隣接胃組織を比較すると 10 例中約 2 倍を示したものの 4 例を含んで全例胃癌に高値を示し 104 mm² 乃至 198 mm²、平均 154.0 mm² であり、隣接胃組織は 72 mm² より 110 mm² の範囲にあり、平均 89.4 mm² であつた。胃潰瘍組織は 56 mm² から 143 mm²、平均 102.4 mm²、隣接胃組織 72 mm² から 132 mm²、平均 105.7 mm² の如く両者の間に有意の差を認める事はできなかった。この結果から胃癌は胃潰瘍に比して Plg. Act. は増加している様に思われる。

加熱フィブリン平板法 (Tab. 2) にて胃癌組織と隣接胃組織を比較すると、19 例中 15 例は胃癌組織に増加の傾向あり、特に 10 例は隣接胃組織の 2 倍以上の値を示した。隣接胃組織と有意差のない症例が 3 例、低値は 1 例のみで、胃癌組織では最低 8.9 Plg. Tryp. % から最高 66.0 Plg. Tryp. %, 平均 27.3 Plg. Tryp. %, 隣接胃組織では 1.5 Plg. Tryp. % から 43.7 Plg. Tryp.

Table 1 Tissue plasminogen activator in stomach

			lysis area mm ²		
No.	carcinoma	normal	No.	ulcer	normal
1	143	72	1	110	110
2	132	90	2	75	108
3	169	100	3	56	72
4	198	99	4	121	132
5	104	81	5	110	117
6	182	100	6	143	99
7	169	90	7	120	121
8	144	80	8	100	110
9	143	110	9	99	108
10	156	72	10	90	80
mean	154.0	89.4	mean	102.4	105.7

Table 2 Tissue plasminogen activator in stomach

			plasminogen trypsin %		
No.	carcinoma	normal	No.	ulcer	normal
1	17.6	7.0	1	19.9	15.5
2	10.7	8.9	2	19.0	52.6
3	35.7	29.7	3	43.6	34.8
4	40.0	33.3	4	12.1	2.3
5	66.0	42.0	5	6.3	6.3
6	11.7	1.5	6	5.2	3.3
7	8.9	8.9	7	8.9	8.0
8	11.1	5.1	8	16.8	10.6
9	19.9	5.4	9	41.7	41.7
10	9.0	2.6	10	19.2	15.6
11	32.4	43.7	11	27.4	41.0
12	24.8	15.5	12	4.2	13.6
13	70.0	4.0	13	8.9	29.8
14	11.3	2.1	14	10.1	5.7
15	52.0	24.5	15	19.7	6.2
16	13.3	8.0	16	4.7	6.0
17	38.7	7.5	17	14.0	8.5
18	12.2	5.3	18	16.5	24.4
19	32.5	26.9			
mean	27.3	14.8	mean	16.6	18.1

%で平均14.8 Plg. Tryp. %で胃癌組織は隣接胃組織の約1.8倍の値を示す。胃潰瘍組織を隣接胃組織と比較すると (Tab. 2) 18例中 7 例は胃潰瘍組織に高値を示し、5 例は低値、有意差なしが 6 例で、胃潰瘍組織の4.2~43.6 Plg. Tryp. % (平均16.6 Plg. Tryp. %) は隣接胃組織の2.3~52.5 Plg. Tryp. % (平均18.1 Plg.

Tryp. %) との間に有意差を見出す事はできなかった。この事から胃癌組織では、標準、加熱平板法、胃潰瘍組織に比して増加の傾向あり、胃潰瘍組織では隣接胃組織との間に有意差がない様に思われる。

ii) Trypsin inhibitor (Tab. 3)

胃癌及び隣接胃組織例においては、16例中 4 例は胃

Table 3 Trypsin inhibitor in stomach (100-trypsin) %

No.	carcinoma	normal	No.	ulcer	normal
1	0	72.2	1	0	22.2
2	0	2.8	2	18.2	10.0
3	0	19.9	3	6.0	14.5
4	18.1	10.0	4	46.9	16.6
5	24.1	11.9	5	0	12.5
6	40.7	38.9	6	0	50.8
7	15.9	28.3	7	1.8	45.4
8	12.3	42.6	8	43.9	40.7
9	9.3	65.1	9	38.4	31.1
10	0	6.3	10	15.6	12.5
11	32.7	12.2	11	12.5	0
12	58.4	59.9	12	46.8	15.4
13	19.0	12.7	13	29.2	15.8
14	28.4	33.7	14	30.7	25.4
15	45.7	44.7	15	4.6	0
16	10.0	35.0			
mean	19.7	30.9	mean	19.6	20.9

癌組織に高値を，8例は低値を示し，有意差なしは4例であり，4例は Tryp. Inh. を証明する事ができなかった。胃癌組織では9.3 Tryp. %乃至58.9 Tryp. %，平均19.7 Tryp. %を示し，隣接胃組織における2.8 Tryp. %から72.2 Tryp. %，平均30.9 Tryp. %は癌組織の値より高い。胃潰瘍及び隣接胃組織について検討すると，15例中6例は胃潰瘍組織に，5例は隣接胃組織に高値を示し，4例は有意差なく，亦胃潰瘍3例，隣接胃組織1例には Tryp. Inh. を証明できなかった。胃潰瘍では1.8～46.9 Tryp. %，平均19.6 Tryp. %，隣接胃組織においては，10.0 Tryp. %乃至50.8 Tryp. %，平均20.9 Tryp. %を示したが，両者の間に有意の差を認める事はできなかった。胃癌と胃潰瘍組織とを比較しても，有意差は全くみられない。

小 括

個々の胃癌組織においては Plg. Act. に相当の変動があり，夫々の隣接胃組織の値より増加の傾向を示し，Tryp. Inh. では逆の傾向を示す。胃潰瘍組織では隣接胃組織に比して Plg. Act., Tryp. Inh. は共に一定の傾向がみられない。

第二項 胃癌，胃潰瘍及び隣接胃組織の細胞下顆粒分画，所属リンパ節の plasminogen activator, trypsin inhibitor 及び MMC 投与による影響

i) 胃癌組織と隣接胃組織の細胞下顆粒分画の plasminogen activator 及び MMC 投与による影響 (Tab. 4, 5, 6, Fig. 1, 2)

a) Tab. 1, 2 の如く胃癌組織は隣接胃組織に比して Plg. Act. は高値を示したが，本項では組織を細胞下顆粒分画で検べると Tab. 4, Fig. 1 の如く，胃癌組織は高値を示し，大顆粒分画は平均111.3mm²，中顆粒分画は平均129.8mm²，小顆粒分画は平均98.8mm²で中顆粒分画が最も多く Act. を認めた。上清の Act. は不定で一定の傾向はみられない。隣接胃組織における顆粒分画の Plg. Act. は大顆粒分画に平均69.7mm²，中顆粒分画は平均82.7mm²，小顆粒分画は平均61.8mm²で，胃癌の場合と同じく，中顆粒分画に多く，小顆粒分画は低い。上清は不定で，一定の傾向はみられない。

b) MMC 投与による影響を検べるに Tab. 5 の如く，胃癌組織は隣接胃組織に比して，10例中3例にのみ高値を示したが，7例は低値であり，平均225.1mm²，隣接胃組織の平均250.1mm²に比べてやや低い値を示している。しかしMMC非投与群 (Tab. 1) と比較すると両者共明らかに増加しており，隣接胃組織における増加は約2.8倍弱である。顆粒分画の Plg. Act. は Tab. 6, Fig. 2 の如く，胃癌組織において，大顆粒分画は平均74.8mm²，中顆粒分画は平均95.0mm²，小顆粒分画は平均73.0mm²と中顆粒分画に高く，大顆粒，小顆粒に

Table 4 Tissue plasminogen activator in stomach (Subcellular fractions)

carcinoma		lysis area mm ²			
No.	large granules	middle granules	small granules	super-natant	
1	104	120	88	—	
2	106	125	132	—	
3	110	156	90	56	
4	90	126	108	—	
5	110	121	61	—	
6	143	240	110	—	
7	90	100	100	121	
8	120	100	126	121	
9	100	120	90	—	
10	110	90	80	48	
mean	111.3	129.8	98.8		

normal		lysis area mm ²			
No.	large granules	middle granules	small granules	super-natant	
1	64	83	63	—	
2	63	88	52	—	
3	72	90	81	42	
4	60	50	60	50	
5	63	132	80	—	
6	80	72	77	—	
7	90	70	70	117	
8	96	90	42	117	
9	49	72	54	—	
10	60	80	49	88	
mean	69.7	82.7	61.8		

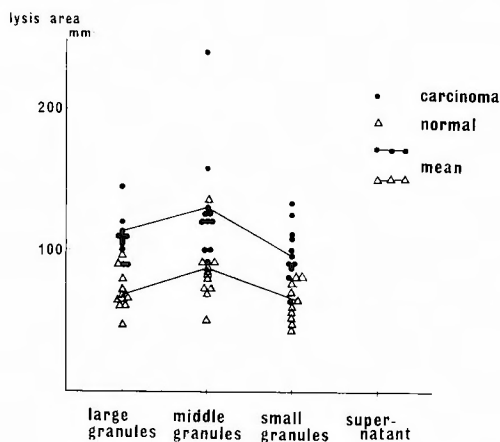


Fig. 1 Tissue plasminogen activator in stomach (Subcellular fractions)

は差がない。MMC非投与群 (Tab. 4, Fig. 1) に比して全顆粒分画共低い値を示している。しかし上清 (細胞漿) において、全例 Act. が出現し、平均63.4mm²の溶解面積を示した。隣接胃組織における顆粒分画の Act. は大顆粒分画は平均97.4mm²、中顆粒分画は平均198.0mm²、小顆粒分画は平均84.8mm²とMMC非投与群 (Tab. 4, Fig. 1) に比べて何れも増加の傾向を示し、特に中顆粒分画に著しい。上清にも全例出現、平均49.9mm²であった。Fig. 2の如く顆粒分画では隣接胃組織に、特に中顆粒分画に著明な増加を示し、上清では癌組織に増加している。この結果からみると、MMCによつて細胞が破潰され顆粒内の Act. が放出され易い

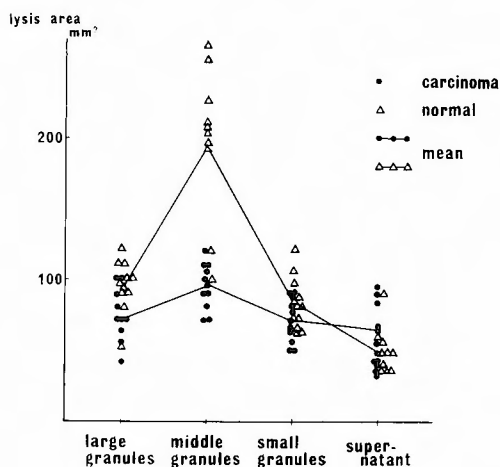


Fig. 2 Tissue plasminogen activator in stomach after MMC (20mg)-administration intravenously (Subcellular fractions)

状態になっていると思われる。亦、MMC が癌のみでなく正常胃組織にも影響を与えている事が伺われる。

ii) 所属リンパ節の plasminogen activator 及び trypsin inhibitor 及び MMC 投与による影響 (Tab. 7, 8)

Plg. Act.は癌転移リンパ節についての成績ではTab. 7の如く56~249mm²、平均147.3mm²、非癌リンパ節は18~180mm²、平均98.5mm²で癌リンパ節は非癌リンパ節より高値を示し、Tryp. Inh. は癌リンパ節に2例、非

Table 5 Tissue plasminogen activator in stomach after MMC (20 mg) -administration intravenously

No.	lysis area mm ²	
	carcinoma	normal
1	272	323
2	220	286
3	169	208
4	286	204
5	300	286
6	190	286
7	190	286
8	208	252
9	234	270
10	184	100
mean	225.1	250.1

Table 6 Tissue plasminogen activator in stomach after MMC (20 mg) -administration intravenously

carcinoma					normal				
No.	lysis area mm ²				No.	lysis area mm ²			
	large granules	middle granules	small granules	super-natant		large granules	middle granules	small granules	super-natant
1	42	104	90	42	1	64	256	121	48
2	100	110	49	90	2	100	195	64	36
3	72	90	56	96	3	90	100	80	48
4	81	121	90	56	4	121	225	81	36
5	100	81	64	56	5	99	204	88	56
6	56	90	49	85	6	110	120	63	60
7	63	72	77	54	7	90	208	108	49
8	72	100	66	49	8	81	196	99	40
9	90	110	88	48	9	110	210	64	36
10	72	72	81	64	10	100	266	80	90
mean	74.8	95.0	73.0	63.4	mean	97.4	198.0	84.8	49.9

Table 7 Tissue plasminogen activator and trypsin inhibitor in lymphnodes with normal and metastatic carcinoma

plasminogen activator			trypsin inhibitor		
lysis area mm ²			(100-trypsin)%		
No.	carcinoma	normal	No.	carcinoma	normal
1	149	80	1	0	25.0
2	156	88	2	10.5	29.2
3	72	180	3	12.0	20.2
4	91	156	4	21.3	20.3
5	195	100	5	8.6	48.8
6	126	49	6	10.0	48.0
7	56	120	7	0	57.2
8	249	48	8	11.3	70.5
9	260	120	9	10.6	28.6
10	120	144	10	10.1	0
mean	117.3	98.5	mean	10.4	34.7

癌リンパ節1例に認められなかつたが、癌リンパ節は平均10.4 Tryp. %, 非癌リンパ節は平均34.7 Tryp. %で逆に非癌リンパ節に増加している。MMC 20mg投与群の Plg. Act. は Tab. 8 の如く癌リンパ節138mm²~315mm², 平均246.5mm²で非投与群に比して著明に増加している。Tryp. Inh.は17.3 Tryp. %から58.1 Tryp. %, 平均37.3 Tryp. %で非投与群より増加している。このことは癌組織と同様MMC投与によりリンパ組織から酵素の遊出が増加する事が暗示される。

iii) 胃潰瘍及び 隣接胃組織における 細胞下顆粒分画の plasminogen activator (Tab. 9, Fig. 3)

胃潰瘍組織の大顆粒分画は平均83.7mm², 中顆粒分画は93.1mm², 小顆粒分画は71.2mm²で中顆粒分画が最も多く、大顆粒、小顆粒分画の順に多い。隣接胃組織においては大顆粒分画85.7mm², 中顆粒分画97.0mm², 小

Table 8 Tissue plasminogen activator and trypsin inhibitor in lymphnodes with metastatic carcinoma after MMC (20mg) -administration intravenously

lysis area mm ² (100-trypsin) %		
No.	Activator	Inhibitor
1	138	51.6
2	288	11.9
3	190	25.5
1	210	25.0
5	150	33.4
6	300	45.3
7	352	25.6
8	234	58.1
9	315	49.0
10	288	17.3
mean	246.5	37.3

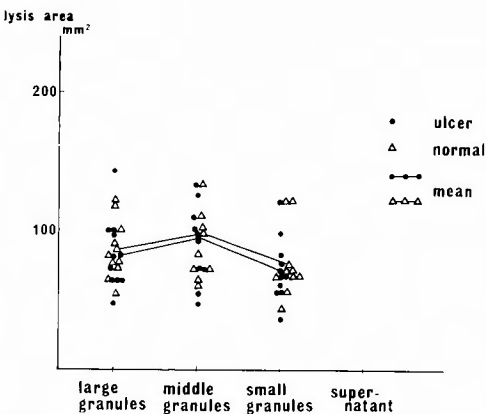


Fig. 3 Tissue plasminogen activator in stomach (Subcellular fractions)

Table 9 Tissue plasminogen activator in stomach (Subcellular fractions)

ulcer		lysis area mm ²			
No.	large granules	middle granules	small granules	super-natant	
1	144	132	60	—	
2	100	125	120	—	
3	64	100	64	18	
4	64	49	56	42	
5	72	72	81	—	
6	64	72	56	—	
7	49	54	36	—	
8	81	99	63	—	
9	100	110	99	—	
10	99	88	77	—	
mean	83.7	93.1	71.2		

normal		lysis area mm ²			
No.	large granules	middle granules	small granules	super-natant	
1	121	63	121	49	
2	120	60	64	40	
3	77	132	120	80	
4	77	81	72	90	
5	72	99	64	—	
6	64	100	56	—	
7	56	72	42	—	
8	81	72	64	—	
9	90	100	70	—	
10	100	110	72	—	
mean	85.8	97.0	74.5		

顆粒分画74.5mm²を示し、中>大>小顆粒分画の順に認められる。しかし両組織との間に有意差は全く認められず、上清も各々不定であつた。胃癌と胃潰瘍組織顆粒分画の Plg. Act. を比べてみると両者共中顆粒分画にAct.の増加がみられたが、全顆粒分画に亘つて胃癌例に増加が認められた。

小 括

胃癌、胃潰瘍及び夫々隣接胃組織の細胞下顆粒分画の Plg. Act. は胃癌、隣接胃組織群では全分画共癌に増加、両組織共中顆粒分画に多い。MMC 投与群は非投与群より更に増加するが、特に隣接胃組織に著明で、

癌組織より増加しており、全顆粒分画共、高い値を示している。増加は中顆粒分画に著しく、両組織共、上清にも出現するが、上清のAct.は胃癌に高い値を示し、この事はMMC投与による細胞破壊に基づくものと考えられる。胃潰瘍組織は癌組織と同じく、中顆粒分画に多く認められたが、隣接胃組織に対して有意差は認められなかつた。胃癌、胃潰瘍組織を比較すると胃癌組織において、Act.が増加している。リンパ節のAct.は癌リンパ節が非癌リンパ節より高値を示し、MMC投与により更に著しい増加を認めた。Tryp. Inh. は癌リンパ節より非癌リンパ節に高い値を認め、MMC投

与により癌リンパ節は増加し、Act. と逆の相関を示した。

第三項 癌性腹膜炎患者腹水の標準及び加熱フィブリン平板法による線溶能及び MMC 投与による変動 (Tab. 10, Fig. 4)

標準フィブリン平板法にて MMC 非投与群は121~289mm², 平均183.8mm²を示し MMC 投与群は168~352mm², 平均260.8mm²で約2倍に増加し, MMC 投与により全例に Plg. Act. は増加の傾向を示した。又, 加熱フィブリン平板には全例, 溶解を認める事はできなかった。

第二節 動物実験例

エールリッヒ腹水癌の plasminogen activator, trypsin inhibitor及びMMC投与による影響 (Fig. 5, 6, 7)

i) Plasminogen activator

移植後癌細胞の経日的増減は Fig. 5 に示す如く, 癌細胞は移植後漸増を示し10日にて最高に達し, その後平行的推移を示している。癌細胞の Plg. Act. は移植後4日目より出現し始め, 10日後最高値45.5mm²に達し, その後14日迄変動は僅かである (Fig. 6)。腹水上清の Act.は移植4日後は微量であるが, 経日的に増加し始め, 14日迄上昇し続け, 48.2mm²となる (Fig. 7)。MMC を注入し8日後及び10日後の細胞, 上清の Act.を検すると Fig. 5 の如くMMC投与により細胞数が著しく減少するにも拘らず, Fig. 6 の如く0.5mg/kg 投与群では8日後67.0mm², 10日後68.0mm²と非投与群

に対して約1.6倍の増加を示し, 1.0mg/kg 投与群では8日後100.0mm², 10日後110.0mm²と約2.5倍も著明に上昇を示した。上清においても Fig. 7 の如く, 0.5mg/kg 投与群は8日後88.0mm², 10日後72.0mm², 1.0mg/kg 投与群は8日目121.0mm², 10日目104.0mm²と同様に増加した。この成績は前述, 癌組織 MMC 投与時における Act. の増加と明らかに一致し, 癌細胞破壊に伴う Act. の遊出を立証しているものと思われる。

ii) Trypsin inhibitor (Fig. 8)

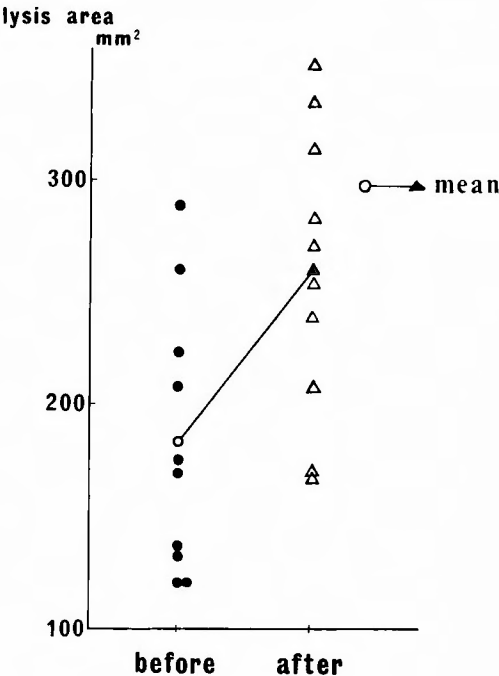


Fig. 4

Table 10 Plasminogen activator in ascitic fluid with peritonitis carcinomatosus and effects of MMC (10mg)-administration into abdominal cavity

No.	lysis area mm ²	
	Before	After
1	289	324
2	208	352
3	132	284
4	176	255
5	224	240
6	138	272
7	169	208
8	121	168
9	260	336
10	121	169
mean	183.8	260.8

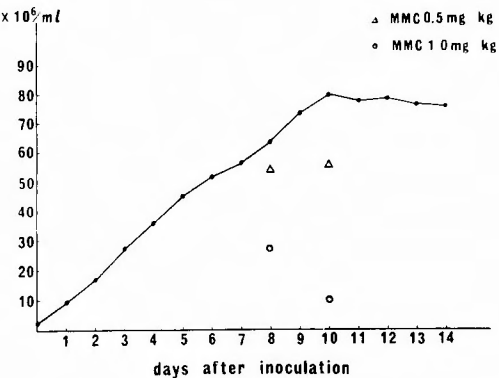


Fig. 5 Growth curve of Ehrlich ascites tumor cells

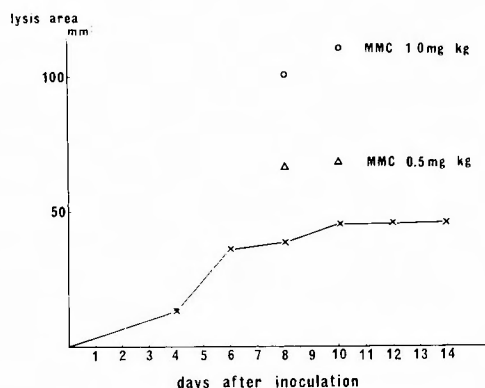


Fig. 6 Plasminogen activator in Ehrlich ascites tumor cells and effects of MMC-administration into abdominal cavity

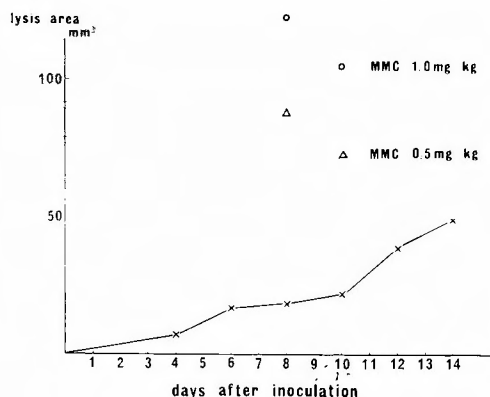


Fig. 7 Plasminogen activator in Ehrlich ascitic plasma and effects of MMC-administration into abdominal cavity

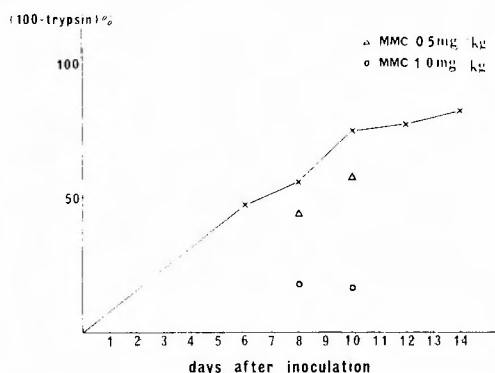


Fig. 8 Trypsin inhibitor in Ehrlich ascites tumor cells and effects of MMC-administration into abdominal cavity

癌細胞の Tryp. Inh.は移植後増加し始め、14日迄増加し、83.1 Tryp. %であつた。MMC注入による変動は Plg. Act. とは逆に減少の傾向を示し、0.5mg/kg投与群より1.0mg/kg投与群に著明であつた。

尚、加熱フィブリン平板上ではMMC投与の如何に拘らず癌細胞、腹水上清共溶解を示さなかつた。

小 括

エールリッヒ腹水癌における Plg. Act. の態度は移植後4日目より出現し、10日迄増加する。MMCの腹腔内注入によつて細胞が破壊され、細胞数は著しく減少するにも拘わらず、Act.は増加している。腹水上清に増加する事と併せて、Plg. Act.は産生され、増加する事とは別に、細胞破壊によつて放出されるのではないかと考える。癌細胞の Tryp. Inh.は移植後14日迄増加し、MMC注入によつて、逆に減少した。

加熱フィブリン平板上には溶解を認める事ができなかった。

第四章 考 按

動物各組織、人臓器組織における plasminogen activator の検索は astrup¹⁴⁾、Permin¹⁵⁾、Albrechtsen¹⁷⁾、⁶²⁾をはじめ幾多の研究者により報告されており、外科的侵襲時における臓器組織の activator 系の変動を竹内⁷⁹⁾は犬に出血性ショックを起こさせて検討し、血中 plasmin の増加に比例すると述べている。岡田⁸⁰⁾は外傷及びショックに際し脳組織 activator の増加を認め、美島⁸¹⁾は犬に外科的侵襲を与えた際の各臓器組織 Act. の変動を検討し、低体温により増加し、復温により更に増加を報告した。Tagnon and Palade⁷²⁾ はラットの肺組織の細胞顆粒分画の Act. を調べミクロゾーム分画に活性を認め、ミクロゾーム上清に Inh. の存在を報告した。Lewis and Ferguson⁷³⁾ は、動物各組織の顆粒分画について Act. activity を検討し、肺、子宮に高値を認め、ミクロゾーム分画と large granule 分画に activity の増加を報告している。Sasaki et al⁸²⁾ は人鼻腔粘膜の Act. はミクロゾーム分画ではなく、ミトコンドリア分画に局在していると報告し、Ali and Lack⁸³⁾ は家兎腎のリゾゾーム分画に Act. を見出し、岡本⁸⁴⁾ は家兎腎のミクロゾーム分画では Act. は結合型、リゾゾーム分画では遊離型及び結合型として存在すると述べている。岡田⁸⁰⁾は脳浮腫著明な大脳皮質各分画に Act. の存在を認め、特にミクロゾーム分画に著明であり、美島⁸¹⁾も外科的侵襲犬各組織、各分画共 Act. の存在を指摘、出血、輸血により増加し、経時的に減少し、血液中に放

出されていると述べている。高木⁸⁵⁾、田中⁸⁶⁾、柴津⁸⁷⁾、近藤⁸⁸⁾、小野⁹⁰⁾、多田⁹¹⁾等の研究による外科的侵襲における血中、髄液中、尿中線溶系の変動のみならず、麻酔の影響による血中線溶系の変動⁹²⁾も報告されており、線溶現象の多様性を思わせる。

悪性腫瘍の局所的発育、遠隔区域への伝播の原因は未だ解明されておらず、腫瘍が正常組織に浸潤、進行する過程には酵素活性、恐らく蛋白分解酵素活性や、周囲組織の崩壊、壊死、融解が一因になつていられる。著者は plasminogen の tissue activator について研究してきたが、Act. による腫瘍の影響、腫瘍自身の Act. activity を研究する事は興味ある問題と思われる。O'Meara²¹⁾²⁴⁾等は癌組織の coagulative properties について述べており、フィブリンが悪性腫瘍の周囲に附着し、フィブリン網が癌細胞の発育に沿つて形成され、進行する癌組織と共同して毛細血管や間質を含む肉芽組織の進展、器質化を促進するよう中胚葉細胞に刺激として働き、フィブリノーゲンやフィブリンが腫瘍細胞に附着して蛋白源としての役割を果たしており、線溶酵素及びそれらのAct.はCCFやその効果を阻止し、周囲の正常組織と共に腫瘍増大、浸潤に影響を及ぼしていると論じている。1903年 Schmidt は正常人血漿は腫瘍細胞を破壊するか、急速に増悪した癌患者の血漿は腫瘍細胞の成長を促進すると報告して以来、この種の研究は多いが、和田⁹³⁾は正常人血清と癌患者血清のエールリッヒ腹水癌細胞溶解現象に及ぼす影響と間葉組織機能との関係について研究し、正常人血清は溶解率が高く、間質反応強度群と溶解能は比例すると述べている。Ginsburg⁸⁴⁾は種々の streptococcal haemolysin で傷害されたエールリッヒ腹水癌細胞は諸種の動物性、植物性の蛋白分解酵素によつて崩壊されると報告している。Cliffon and Grossi²²⁾は癌組織200例の線溶能をフィブリン平板法で測定し、乳癌、胃癌、大腸癌にAct.を認めたが、扁平上皮癌にはAct.は存在せず、肉腫では高い線溶活性を示すと述べている。雨宮⁸⁴⁾は胃癌に於けるAct.の存在を報告し胃癌組織は正常組織より活性が高いと述べ著者の成績と一致する。しかし胃癌の plasmin 様物質の存在を認めているか、正常組織より活性が低いと報告しているものもある⁶³⁾。胃潰瘍組織においては、Act.は正常組織との間に有意差はなかつたが、潰瘍組織に活性が高いと云う報告もある⁶³⁾⁶⁴⁾が、増殖、破壊機転の旺んな癌組織に活性が高く、破壊、治癒機転の潰瘍組織には活性は低いものと思われる。

Norman⁸⁵⁾⁹⁶⁾らは plasmin 阻示物質と trypsin 阻示物質が同一の物質より起こる事を示唆し、Tryp. Inh. を antiplasmin と考えているが、Tryp. Inh. と antiplasmin が異なるとするもある⁵⁹⁾⁶⁰⁾。著者は antiplasmin を測定せず、Tryp. Inh.を測定したが、癌組織は正常組織に比して減少の傾向にあり、潰瘍組織と正常組織との間に有意差を認めず、癌組織、潰瘍組織相互の間にも有意差を認めなかつた。これに反して矢島⁶³⁾は antiplasmin を測定し胃潰瘍組織は活性が小であり、胃癌組織における活性は大であるとし、胃潰瘍の成因に関係があると述べている。組織破壊の程度が高い程 Tryp. Inh. は高くなる⁵⁹⁾⁶⁰⁾と考えられるが、悪性腫瘍では経過と共に増加するが、末期では却つて減少する⁹⁷⁾と述べているものもあり、このことに関しては、更に検討を要する。

細胞顆粒分画における Plg. Act. は胃癌、胃潰瘍、隣接正常胃組織共、ミトコンドリア、リゾソームを含む中顆粒分画に増加している。顆粒分画全てに亘つて、癌組織は潰瘍組織より活性が高く、正常組織より増加している。細胞漿の活性は不定で少数例に存在を認めたのみであつた。癌組織は増殖機転が旺盛なる故 activatorが産生⁹⁸⁾され、他の酵素と同様、ミクロゾームで合成⁸⁴⁾され、リゾソーム、ミトコンドリアに移行⁸⁴⁾すると思われる。Tryp. Inh. は不定で一定の傾向を示さなかつた。

Schultzら³⁵⁾、Girolami ら³⁸⁾は lymphoma 患者における血中の線溶亢進を認め、又、plasminogen が低下していても線溶活性が亢進しており、plasminogen と線溶活性との間には相関はなかつたと述べているものもある⁹⁹⁾。リンパ節には大量の Act. が含まれており¹⁷⁾¹⁰⁰⁾、Act.の存在する結腸癌の転移リンパ節はAct.を含んでいるが、Act.活性を示さない喉頭癌、舌癌のような扁平上皮癌の転移リンパ節にはAct.は存在しないと云う報告²²⁾がみられるが、著者の成績では、正常リンパ節より癌転移リンパ節にAct.活性が高かつた。急速に成長、進行し血行性に転移する肉腫は線溶活性が高く、tissue Act. も多量に含まれており、成長、進行のおそい扁平上皮癌にAct.の認められない事²²⁾は癌の転移と線溶活性、フィブリン、フィブリノーゲンとの間に興味ある問題を提起している。一方癌組織は coagulative properties を所持し、フィブリンや変性フィブリノーゲンが細胞を集簇粘着、血管壁に附着させ、増殖し穿通させる。加えて、癌患者は高値のフィブリノーゲンと線溶系インヒビターを有し、フィブリン形

成に貢献, 保持する働きがあり^{21)23)24)48)51)~60)101)102)}, 凝固促進剤, 線溶阻示物質は転移を促進するとの報告もみられる¹⁰³⁾¹⁰⁴⁾. 従つて, 理論的にはもし, フィブリン形成が抑制され, 急速に溶解が起こるなら, 転移が妨げられ, 癌転移が抑制されるとの企図のもとに実験的研究が行なわれている^{43)~47)105)~107)}. 今日衆知の事実である生体の腫瘍抵抗性は, host-tumor-relationship なる考えを基礎としており, 組織細胞学的, 体液学的, 生化学的, 免疫血清学的見解より説明しようとしている. 宿主個体に抗癌機構が存在するとすれば, 生体防衛と云う点から網内系を中心とした間葉組織系が論ぜられ, 悪性腫瘍患者における網内系機能の消長が腫瘍の増殖, 発育に対して密接な関連にあり, 腫瘍増殖に対して拮抗的態度を示すと云う成績から, 網内系が宿主抗癌機構の中心的役割を演ずると云う見解を主張しているものもあり¹⁰⁸⁾, 正常人血清の癌細胞溶解現象が一種の補体結合反応であるとする説もあつて, 線溶現象と悪性腫瘍, 網内系機能の消長との関係は興味ある課題であり, 網内系組織であるリンパ節に Act. が多く認められ, 癌組織に増加する Act. は一種の生体防衛反応の表われであるかも知れない. 悪性腫瘍が局所的な疾患でなく, 全身的な疾患である故に, 外科的療法, 放射線療法, 化学療法等が行なわれ, 各種の制癌剤が諸種の方法で投与されている. 制癌剤による治療効果や副作用も幾多報告されており, mitomycin C の出血傾向が plasmin 活性化と関係があり, ϵ -アミノカプロン酸で抑制¹⁰⁹⁾され, 家兎及びマウスの腎, 心, 肺等に認められた組織 Plg. Act. の活性が, ϵ -アミノカプロン酸の併用投与により抑制されたとの報告¹¹⁰⁾もある. 亦, 岡本ら¹¹¹⁾は MMC の連口投与により腎組織の Act. が消失するが, 組織 inhibitor 作用の増加によるものではないと述べている. 著者の実験によれば MMC 投与により, Act. は胃癌組織, 隣接胃組織, リンパ節の癌転移に増加がみられ, 特に隣接胃組織に著しい. MMC の細胞の傷害, 破壊作用¹¹²⁾による Act. の放出が増加の原因かどうか不明であるが, 細胞顆粒分画の Act. は胃癌組織においては全顆粒分画に逆に減少しており, 隣接胃組織では増加している. しかし MMC 非投与群では不定であつた細胞漿には Act. が出現し, 胃癌組織に高い. これは MMC の細胞破壊作用により Act. が顆粒から放出されたと考えられる. しかし何故, 隣接胃組織に Plg. Act. の増加が著しいか不明であり, 今後の検討を要する問題である.

癌性腹膜炎患者の腹水における Act. 作用も MMC 投

与後増加したが, 加熱フィブリン平板法では MMC 投与の如何に拘らず溶解を示さなかつた. Kwaan ら¹¹³⁾は肝硬変を合併した肝癌例の腹水は plasminogen, plasmin, plasminogen activator を含まず, lysokinase activity と antilysokinase の存在を報告した. Sharp¹¹⁴⁾は胸膜, 腹膜は activator activity を有すると述べており, 著者も腹水の Act. 作用が腹膜の Act. に由来すると考えている.

以上の臨床実験における plasminogen activator 及び trypsin inhibitor の変動を動物移植癌(エールリッヒ腹水癌)にて追求検討したか, 癌細胞移植後4日目より癌細胞に Act. が認められ, 以後増加する. 腹水上清にも Act. が出現するが, 恐らく癌細胞や, 腹膜由来の Act. と思われる. Funahara ら⁴⁰⁾⁴¹⁾はエールリッヒ腹水癌細胞, 腹水上清に Plg. Act. の存在を指摘し, 腹腔の局所線溶を論じた. 癌細胞, 腹水上清の Act. の存在は認めたが, 著者は加熱フィブリン平板上では何れも溶解は起こらなかつた. MMC 投与により癌細胞数の激減にも拘らず, Act. は増加し, 特に腹水上清に著明であつたが, 細胞破壊による Act. の放出が増加の原因であり臨床実験と一致するように思ふ. Tryp. Inh. は MMC 投与により減少したか, その意義は不明である.

炎症, 癌組織等の周囲ではフィブリン沈着が起こり, フィブリン溶解機構として plasmin 系が作用する. 癌の coagulative factor, 線溶物質, 線溶阻示物質や, 癌の増殖, 転移との関係等の研究は未だ充分とは云えず, 単純に論ずる事はできない. 放射性アイソトープ標識フィブリンノーゲン, プラスミンの腫瘍局在性による腫瘍の診断, 治療, プラスミン系物質による腫瘍の転移抑制療法等, 今後の研究が期待される.

第五章 結 語

1. 標準及び加熱フィブリン平板法により胃癌組織, 隣接胃組織の plasminogen activator (以下 Plg. Act.) 及び trypsin inhibitor (以下 Tryp. Inh.) を測定し, Act. は胃癌組織に増加し, Inh. は隣接胃組織に増加した.

2. 標準及び加熱フィブリン平板法による胃潰瘍組織, 隣接胃組織の plasminogen activator 及び trypsin inhibitor は一定の傾向がみられなかつた.

3. 胃癌, 胃潰瘍及び隣接胃組織の細胞下顆粒分画における plasminogen activator は胃癌, 隣接胃組織群では全顆粒分画に亘り癌に増加, 中顆粒分画に高く, 大顆粒, 小顆粒分画の順であつた. 胃潰瘍, 隣接胃組

織群では共に、中顆粒分画に多いが、有意差は認められず、全群、細胞漿のAct. は不定であつた。

4. リンパ節の plasminogen activator は癌リンパ節は正常リンパ節より増加し、 trypsin inhibitor は逆の関係を示した。

5. Mitomycin C (以下MMC) 20mg の経静脈的投与により胃癌、隣接胃組織のAct. は非投与群に比べて増加したが、隣接胃組織に著明であり、癌組織より高値を示した。顆粒分画において、隣接胃組織では全顆粒分画、特に中顆粒分画に著しく増加したが、胃癌組織で全顆粒分画に亘り減少した。しかし両組織共、細胞漿に出現し、胃癌組織に高値を示した。

6. MMC 20mgの経静脈的投与により、非投与群に比して癌リンパ節の Plg. Act. は著しい増加を示し、Tryp. Inh. も増加した。

7. 癌性腹膜炎患者に MMC 10mg を腹腔内へ注入し、腹水のAct.を検討したが、投与後Act.は増加した。加熱フィブリン平板上では溶解を示さなかつた。

8. エールリッヒ腹水癌細胞の Plg. Act. は移植4日後より出現、10日迄増加し、腹水上清の Plg. Act. も4日後より出現、14日迄増加した。MMC 0.5mg/kg, 1.0mg/kg腹腔内注入により、細胞数は激減したが、癌細胞、腹水上清共にAct. は著明に増加した。癌細胞のTryp. Inh. は移植4日後から14日迄増加しMMC投与により減少した。加熱フィブリン平板上には、何れも溶解を認める事ができなかつた。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜つた恩師栗津三郎教授に深甚なる謝意を表し、終始御指導、御鞭撻下さいました長山寛博士、竹内節夫講師ほか教室員諸氏に厚く謝意を表します。また御指導、御助言を戴いた持田製薬相沢博士、小川博士に深く感謝致します。

本論文の要旨は第24回、第31回日本血液学会総会、第68回日本外科学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Schickele, G. : Untersuchungen über die innere Sekretion der Ovarien. I. Das Vorkommen von gerinnungshemmenden Stoffen im weiblichen Genitalapparat und im Menstruationsblut. *Biochem. Ztschr.*, **38** : 169-190, 1912.
- 2) Fujii, T. : Über das Vorkommen von gerinnungshemmenden Substanzen in den weiblichen Geschlechtsorganen und in der Placenta. *Biochem. Ztschr.*, **66** : 368-388, 1914.
- 3) Fleisher, M. S. and Loeb, L. : On tissue fibrinolysins. *J. Biol. Chem.*, **21** : 477-501, 1915.
- 4) Tillet, W. S. and Garner, R. L. : The fibrino-

- lytic activity of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.*, **58** : 485-502, 1933.
- 5) Christensen, L. R. : Methods for measuring the activity of components of the streptococcal fibrinolytic system and streptococcal desoxyribonuclease. *J. Clin. Invest.*, **28** : 163-172, 1949.
- 6) Milstone, H. : A factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis. *J. Immunol.*, **42** : 109-116, 1941.
- 7) Christensen, L. R. and MacLeod, C. M. : A proteolytic enzyme of serum: Characterization, activation, and reaction with inhibitors. *J. Gen. Physiol.*, **28** : 559-583, 1945.
- 8) Kaplan, M. H., Tagnon, H. J., Davidson, C. S. and Taylor, F. H. L. : Studies on blood coagulation: The nature and properties of proteolytic enzyme derived from plasma. *J. Clin. Invest.*, **21** : 533-537, 1942.
- 9) Huggins, C. and Vail, V. C. : Plasma coagulation and fibrinogenolysis by prostatic fluid and trypsin. *Amer. J. Physiol.*, **139** : 129-134, 1943.
- 10) Macfarlane, R. G. : Fibrinolysis following operation. *Lancet*, **1** : 10-12, 1937.
- 11) Macfarlane, R. G. and Biggs, R. : Observations on fibrinolysis: Spontaneous activity associated with surgical operations, trauma, & C. *Lancet*, **2** : 862-864, 1946.
- 12) Biggs, R. and Macfarlane, R. G. : Observation on fibrinolysis: Experimental activity produced by exercise or adrenalin. *Lancet*, **1** : 402-405, 1947.
- 13) Tagnon, H. J., Levenson, S. M., Davson, C. S. and Taylor, F. H. L. : The occurrence of fibrinolysis in shock, with observations on the prothrombin time and plasma fibrinogen during hemorrhagic shock. *Amer. J. Med. Sci.*, **211** : 88-96, 1946.
- 14) Astrup, T. and Permin, P. M. : Fibrinolysis in the animal organism. *Nature*, **159**, : 681-682, 1947.
- 15) Permin, P. M. : Properties of the fibrinokinase-fibrinolysin system. *Nature*, **160** : 571-572, 1947.
- 16) Macfarlane, R. G. and Biggs, R. : Fibrinolysis. Its mechanism and significance. *Blood*, **3** : 1167-1187, 1948.
- 17) Albrechtsen, O. K. : The fibrinolytic agents in saline extracts of human tissues. *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.*, **10** : 91-96, 1958.
- 18) Permin, P. M. : The fibrinolytic activator in animal tissue. *Acta Physiol. Scand.*, **21** : 159-167, 1950.
- 19) Astrup, T. and Sterndorff, I. : The plasminogen activator in animal tissue. *Acta Physiol. Scand.*, **36** : 250-255, 1956.
- 20) Astrup, T. : Fibrinolysis in the organism. *Blood*, **11** : 781-806, 1956.
- 21) O'Meara, R. A. Q. : Fibrin formation and the

- growth of spontaneous cancers in man. Bull. Soc. Int. Chil., **23** : 24-30, 1964.
- 22) Cliffton, E. E. and Grossi, C. E. : Fibrinolytic activity of human tumors as measured by the fibrin-plate method. Cancer, **8** : 1146-1154, 1955.
 - 23) Freiman, A. H., Bang, N. U. and Cliffton, E. E. : Studies on the production of intravascular thrombi and their treatment with fibrinolysin. Circ. Res. **8** : 409-418, 1960.
 - 24) Boggust, W. A., O'Brien, D. J., O'Meara, R. A. Q. and Thornes, R. D. : The coagulative factors of normal human and human cancer tissue. Irish J. Med. Sci., **447** : 131-144, 1963.
 - 25) Tagnon, H. J., Whitmore, W. F. and Shulman, N. R. : Fibrinolysis in metastatic cancer of the prostate. Cancer, **5** : 9-12-1952.
 - 26) Tagnon, H. J., Whitmore, W. F., Shulman, P. and Krawitz, S. C. The significance of fibrinolysis occurring in patients with metastatic cancer of the prostate. Cancer, **6** : 63-67, 1953.
 - 27) Prout, G. R., Siegel, M., Cliffton, E. E. and Whitmore, W. F. : Hemorrhagic diathesis in patients with carcinoma of prostate. J. A. M. A., **160** : 840-846, 1956.
 - 28) Swan, H. T. and Kerridge, D. F. : Fibrinolysis and carcinoma of the prostate. J. Chin. Path., **18** : 330-333, 1965.
 - 29) Frick, P. G. : Acute hemorrhagic syndrome with hypofibrinogenemia in metastatic cancer. Acta Haemat., **16** : 11-29, 1956.
 - 30) Fleischhacker, H. : Über die Herkunft der Plasmaeiweißkörper. Wien Arch. Inn. Med., **34** : 96-108, 1940.
 - 31) Biben, B. L. and Tyan, M. L. Hemorrhagic diathesis in carcinoma of the stomach A case report. Ann. Int. Med., **49** : 917-922, 1958.
 - 32) Winckelmann, G., Schirmeister, J. und Helms, M. : Fibrinolyse als Blutungsursache beim metastasierenden Magencarcinom. Klin. Wschr., **40** : 748-752, 1962.
 - 33) Welborn, J. K., Brennan, M. J. and Hathaway, J. C. : Acute fetal fibrinolysis with gastric carcinoma. Amer. J. Surg., **108** : 344-348, 1964.
 - 34) 葛西喜夫ら : 典型的線溶出血を伴った胃癌. 最新医誌, **21** : 889-902, 1966.
 - 35) Schultz, F. H. und Knoblock, H. Über den klinischen Wert der Fibrinolysebestimmung. III. Mitteilung. Fibrinolysebestimmung bei Tumoren, Leukämien und Retikulosen. Münch. Med. Wschr., **96** : 1534-1536, 1954.
 - 36) Pisciotto, A. V. and Schultz, E. J. : Fibrinolytic purpura in acute leukemia. Amer. J. Med., **19** : 824-828, 1955.
 - 37) 長谷川弥人, 松木康夫, 渡辺 裕 : 急性前骨髓球性白血病. 臨床血液, **6** : 191-203, 1965.
 - 38) Girolami, A. and Cliffton, E. E. : Fibrinolysis and proteolysis in patients with lymphoma. Arch. Int. Med., **117** : 778-783, 1966.
 - 39) Girolami, A. and Cliffton, E. E. : Fibrinolytic and proteolytic activity in acute and chronic leukemia. Amer. J. Med. Sci., **51** : 638-645, 1966.
 - 40) Funahara, Y., Mihara, H. and Kinjo, K. : Studies on the fibrinolysis in tumor bearing mice. III. Demonstration of the plasminogen activator in Ehrlich ascites tumor cells. Kobe J. Med. Sci., **11** : 73-78, 1965.
 - 41) Funahara, Y. : Studies on the fibrinolysis in tumor bearing mice. IV. Mechanism of ascites retention with special reference to plasmin activity of tumor origin. Kobe J. Med. Sci., **11** : 79-88, 1965.
 - 42) 野田正彦 : 動物癌の線維素溶解酵素. 1. 自然発生 C₆H ハツカネズミ乳癌. 医学と生物学, **71** : 66-69, 1965.
 - 43) Ambrus, J. L., Ambrus, C. M., Byron, J. W., Goldberg, M. E. and Harrison, J. W. E. : Study of metastasis with aid of labeled ascites tumor cells. Ann. N. Y. Acad. Sci., **63** : 938-961, 1956.
 - 44) Fisher, B. and Fisher, E. R. : Host factors influencing the development of metastasis. Surg. Clin. N. Amer., **42** : 335-351, 1962.
 - 45) Cliffton, E. E. and Grossi, C. E. : Effect of human plasmin on the toxic effects and growth of blood-borne metastasis of the Brown-Pearce carcinoma and the V₂ carcinoma of rabbit. Cancer, **9** : 1147-1152, 1956.
 - 46) Agostino, D., Grossi, C. E. and Cliffton, E. E. : Effect of human fibrinolysin on hepatic metastases in simulated colon carcinoma in rats. Ann. Surg., **153** : 365-368, 1961.
 - 47) Agostino, D. and Cliffton, E. E. : Decrease in pulmonary metastases Potentiation of nitrogen mustard effect by heparin and fibrinolysin. Ann. Surg., **157** : 400-408, 1963.
 - 48) Day, E. D., Plaminsek, J. A. and Pressman, D. : Localization in vivo of radioiodinated anti-ratfibrin antibodies and radioiodinated rat fibrinogen in the Murphy rat lymphosarcoma and in other transplantable rat tumors. J. Nat. Cancer Inst., **22** : 413-426, 1959.
 - 49) Back, N., Ambrus, J. L. and Mink, I. B. : Distribution and fate of I¹³¹-labeled components of the fibrinolysin system. Circ. Res., **9** : 1208-1216, 1961.
 - 50) Back, N., Shields, R. R., Dewitt, G., Branshaw, R. H. and Ambrus, C. M. : Uptake of fibrinogen and fibrinolytic enzymes by neoplastic tissue. J. Nat. Cancer Inst., **36** : 171-180, 1966.
 - 51) Hildebrandt, H. III. Weiteres über hydrolytische Fermente, deren Schicksal und Wirkungen, sowie über Fermentefestigkeit und Hemmung der Fermentationen im Organismus. Arch. Path. Anat. und Physiol. und Klin. Med., **131** : 5-39, 1893.

- 52) Ascoli, M. und Bezzola, C. Das Verhalten des antitryptischen Vermögens des Blutserums bei der croupösen Pneumonie. Berl. Klin. Wschr., **40** : 391-394, 1903.
- 53) Brieger, L. und Trebing, J. : Über die antitryptische Kraft des menschlichen Blutserums, insbesondere bei Krebskranken. Berl. Klin. Wschr., **45** : 1041-1044, 1908.
- 54) Raab, W. . Verhinderung der fermentativen carcinolyse durch Eiweisskörper und Zellschutzwirkung des Blutserums. Z. Ges. Exp. Med., **96** : 60-94, 1935.
- 55) Dillard, G. H. L. and Chanutin, A. The protease and antiprotease of plasmas of patients with cancer and othr diseases. Cancer Res., **9** : 665-668, 1945.
- 56) Cliffton, E. E. . An evaluation of the antiproteolytic reaction of serum as a test for malignant neoplasia. J. Nat. Cancer Inst., **11** : 33-50, 1950.
- 57) West, P. M. and Hillard. J. : Prteolytic enzyme inhibitors of human serum in health and disease. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **71** : 169-172, 1949.
- 58) Peacock, A. C. and Sheehy, J. J. : Studies of various tests for malignant neoplastic diseases. VII. Serum inhibitors of chymotrypsin and trypsin. J. Nat. Cancer Inst., **12** : 861-876, 1952.
- 59) Shulman, N. R. : Studies on the inhibition of proteolytic ezymes by serum. II. Demonstration that separate proteolytic inhibitors exist in serum, their distinctive properties, and the specificity of their action. J. Exp. Med., **95** : 593-603, 1952.
- 60) Shulman, N. R. : Studies on the inhibition of proteolytic enzymes by serum. III. Physiological aspects of variations in proteolytic inhibition. The concurrence of changes in fibrinogen concentration with changes in trypsin inhibition. J. Exp. Med., **95** : 605-618, 1952.
- 61) Astrup, T. : Ox lung tissues as a proteolytic inhibition. Acta Physiol. Scand., **26** : 243-251, 1952.
- 62) Astrup, T. and Albrechtsen, O. K. : Estimation of the plasminogen activator and the trypsin inhibitor in animal and human tissues. Scand. J. Clin. and Lab. Invest., **9** : 233-243, 1957.
- 63) 矢嶋国孝：胃潰瘍の成因に関する酵素学的研究. 第1編, 各種切除胃の Plasmin様物質及び Antiplasmin 様物質について. 第2編, 胃液に対する胃粘膜の抵抗性に及ぼす Plasmin の影響, 信州医誌, **8** : 358-364, 365-369, 1959
- 64) 雨宮 浩：線維素溶解現象の研究. 千葉医誌, **41** : 114-137, 1965.
- 65) 石原 晃：胃，十二指腸潰瘍及び胃癌に於ける線溶現象について. 日消会誌, **65** : 1097-1105, 1967.
- 66) 伴 義雄ら：医薬品研究法：382-394. 朝倉書店，東京，1968.
- 67) Egashira, Y., Takano, K., Yamada, M. and Hirokawa, Y. : Standarization of procedures for cancer chemotherapy screening with Ehrlich ascites tumor cells. Jap. J. Med. Sci. and Biol., **12** : 463-470, 1959.
- 68) 田嶋基男, 坂井保信：胸腹水の細胞診 —特に癌患者の検索を中心に—. 最新医学, **20** : 1262-1270, 1965.
- 69) 金子 仁：腹水の細胞診について. 癌の臨床, **13** : 753-756, 1967.
- 70) Astrup, T. and Stage, A. : Isolation of a soluble fibrinolytic activator from animal tissue. Nature., **170** : 929, 1952.
- 71) Claude, A. Fractionation of mammalian liver cells by differential centrifugation. II. Experimental procedures and results. J. Exp. Med., **84** : 61-89, 1946.
- 72) Tagnon, H. J. and Palade, G. E. : Activation of proplasmin by a factor from mammalian tissue. J. Clin. Invest., **28** : 317-324, 1949.
- 73) Lewis, J. H. and Ferguson, J. H. Studies on a proteolytic enzyme system of the blood. II. Fibrinolysokinase activators for profibrinolysin. J. Clin. Invest., **29** : 1059-1068, 1950
- 74) 赤堀四郎編：酵素研究法, 4. 第1章, 細胞分画法. 1-39. 朝倉書店, 東京, 1966.
- 75) Astrup, T. and Alkjoersig, N. : Estimation of proteolytic enzymes by means of their fibrinolytic activity. Arch. Biochem. and Biophys., **37** : 99-105, 1952.
- 76) Astrup, T. and Müllertz, S. : The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. Biochem. and Biophys., **40** : 346-351, 1952.
- 77) 牧野利一, 佐藤保則, 林 喬義：Fibrin plateによる plasmin 活性測定法の改良. 医学のあゆみ, **56** : 142, 1966.
- 78) Lassen, M. : Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. Acta Physiol. Scand., **27** : 371-376, 1952.
- 79) 竹内節夫：ショックの際の血液及び臓器組織の Plasmin系及び Activator系, それらの Inhibitor に関する実験的研究. 日外宝, **32** : 825-833, 1963.
- 80) 岡田价弘：外傷及びショックの際の脳組織 Plasminogen Activator 系及びそれらの Inhibitor 系に関する実験的研究. 日外宝, **37** : 387-398, 1968.
- 81) 美島利通：外科的侵襲による臓器組織の線溶系の変化に関する実験的研究. 特に低体温麻酔に関して. 東邦医会誌, **15** : 504-513, 1968.
- 82) Sasaki, Y., Okamoto, S., Ohwada, H. and Nishihata, T. Some observations on a remarkable fibrinolytic activity in the extract of nasal tissues and the related tissues. Keio J. Med., **8** : 235-246, 1959.
- 83) Ali, S. Y. and Lack, C. H. : Studies on the tissue activator of plasminogen distribution of activator and proteolytic activity in the subcellular fractions of rabbit kidney. Biochem. J., **96** : 63-74, 1965.

- 84) 岡本彰信, 金城清勝, 美原恒: 線溶の生理と病態, 線溶現象の基礎と臨床, 65-108. 医学書院, 東京, 1966.
- 85) 高木 寛: 外科的侵襲によるプラスミン及び抑制因子の変動についての臨床的研究. 日外宝, 28: 487-493, 1959.
- 86) 田中正忠: 脳脊髄液及び脳実質中の Plasmin 系に關しての研究. 日外宝, 29: 447-456, 1960.
- 87) 栗津三郎: 手術による線維素溶解系の変動. 外科治療, 3: 395-399, 1960.
- 88) 栗津三郎: 外科領域における線溶現象, 線溶現象の基礎と臨床, 258-280. 医学書院, 東京, 1966.
- 89) 近藤 孝: 外科的侵襲による血中 Fibrinogen 量の変動, 並に血清 Fibrinolytic activity, Fibrinogenolytic activity の変動: 及び人精製 Plasmin の Fibrinolytic activity と Fibrinogenolytic activity の差異についての臨床的研究. 日外宝, 30: 373-385, 1961.
- 90) 小野久弥: 侵襲による尿中の Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor に関する研究. 日外宝, 33: 800-811, 1964.
- 91) 多田隆信: 温度条件の変化に伴う実験的脱血, 還血及び実験的黄疸時に於ける線溶能の変動. 日外宝, 37: 657-672, 1968.
- 92) 杉山卓哉: 低体温麻醉及び普通全麻手術時の Plasmin 系に関する臨床的, 実験的研究. 日外宝, 35: 89-106, 1966.
- 93) 和田寛治: 流血中腫瘍細胞の研究. 第1編, 第2編, 新潟医会誌, 81: 185-207, 1967.
- 94) Ginsburg, I.: Action of streptococcal haemolysins and proteolytic enzymes on Ehrlich ascites tumor cells. Brit. J. Exp. Path., 40: 417-423, 1959.
- 95) Norman, P. S.: Studies of the plasmin system. II. Inhibition of plasmin by serum or plasma. J. Exp. Med., 108: 53-68, 1958.
- 96) Norman, P. S. and Hill, B. M.: Studies of the plasmin system. III. Physical properties of the two plasmin inhibitors in plasma. J. Exp. Med., 108: 639-649, 1958.
- 97) Bodman, J.: The measurement, physiological importance and control of proteolytic enzyme inhibitors. Clinica Chimica Acta, 3: 108-110, 1958.
- 98) Barnett, E. V. and Baron, S.: An activator of plasminogen produced by cell culture. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 102: 308-311, 1959.
- 99) Girolami, A., Mootse, G. and Clifton, E. E.: Blood plasminogen (profibrinolysin) levels in patients with leukemia and lymphoma. Amer. J. Med. Sci., 254: 334-341, 1967.
- 100) Albrechtsen, O. K.: The fibrinolytic activity of human tissues. Brit. J. Hemat., 3: 284-291, 1957.
- 101) Lawrence, E. A., Bowmann, D. E., Moore, D. B. and Bernstein, G. I.: A thromboplastic property of neoplasm. Surgical Forum., 3: 694-698, 1953.
- 102) 吉田奎介: 癌患者の血漿 Gamma Globulin と Fibrinogen について, 第1編, 胃癌患者の Fibrinogen 値と病巣所見について. 新潟医会誌, 81: 396-405, 1967.
- 103) Clifton, E. E. and Agostino, D.: The effects of fibrin formation and alterations in the clotting mechanism on the development of metastases. Vasc. Dis., 2: 43-52, 1965.
- 104) Clifton, E. E. and Agostino, D.: Effect of inhibitors of fibrinolytic enzymes on development of pulmonary metastases. J. Nat. Cancer Inst., 33: 753-763, 1964.
- 105) Grossi, C. E., Agostino, D. and Clifton, E. E.: The effect of human fibrinolysin on pulmonary metastases of Walker 256 carcinosarcoma. Cancer Res., 20: 605-609, 1960.
- 106) Larsen, V., Mogensen, B., Amris, C. J. and Storm, D.: Fibrinolytic enzyme in the treatment of patients with cancer. Danish Med. Bull., 11: 137-140, 1964.
- 107) Rudentam, C. M.: Effect of fibrinolytic and antifibrinolytic therapy on the dissemination of experimental tumors. Bibl. Anat., 9: 418-424, 1967.
- 108) 大森幸夫: 癌の進展と生体反応像について. 最新医学, 18: 613-625, 1963.
- 109) 中川自夫: 制癌剤と出血傾向に関する臨床的並に実験的研究. Chemotherapy, 14: 43-52, 1966.
- 110) 山本修三: 制癌剤とプラスミン活性値に関する実験的研究. Chemotherapy, 14: 53-65, 1966.
- 111) 岡本歌子, 高田由美子: Mitomycin C 投与によるウサギ腎組織における Plasminogen Activator の消失に関する研究. 日本生理学雑誌, 26: 297-302, 1964.
- 112) 芝 茂, 田口鉄男編: マイトマイシンの基礎と臨床. 医学書院, 東京, 1968.
- 113) Kwaan, H. C., Lai, K. S., McFadzean, A. J. S.: Lysokinase activity in ascitic fluid. Lancet, 1: 1327-1329, 1960.
- 114) Sharp, A. A.: Pathological fibrinolysis. Brit. Med. Bull., 20: 240-245, 1964.