
 臨 床

胃液 Ninhydrine 反応 (田崎) の本態に関する二, 三の知見

京都大学医学部外科学教室第2講座 (指導: 青柳安誠教授)

寛 守

(原稿受付 昭和34年7月5日)

STUDIES ON THE NINHYDRINE REACTION
OF GASTRIC JUICE.

by

MAMORU KAKEI

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

In 1958 Tazaki reported that ninhydrine positive substances were present in methanol precipitate of gastric juice aspirated from patients with cancer of the stomach. But the entity of this ninhydrine positive substances has been still completely unknown. In the present work efforts were made to clarify the entity of this ninhydrine positive substances.

1) After gastric juices were adjusted to pH. 5.0, the ninhydrine reaction was positive in all cases.

2) The ninhydrine reaction was changed to negative, after the methanol precipitate was washed three times or more with methanol.

3) In the study using the new combined method of high voltage paper-electrophoresis and polarography, it was clarified that the ninhydrine positive substances in methanol supernatant fluid of gastric juice were low molecular peptides as well as amino acids.

結 言

1) 1955年田崎は胃液メタノール沈渣について Ninhydrine 反応を行い, 胃癌診断の適中率は90.3%で早期診断の一助となることを報告した。

その後多くの追試成績が報告されたが, Ninhydrine 呈色物質の本態に関してはなお不明の点が多いので, この点について検討を試みた。

方 法

A) 田崎の原法にしたがい, 早期空腹時に採取した胃液を遠沈し, その上清 4.0ml に 8.0ml のメタノールを加えてよく混合し, 30分間静置してから遠沈 (3000rpm., 15分間) し, 上清を十分に切つて沈渣を 1.0ml の水に溶かし, これに 0.25% Ninhydrine 溶液を数滴加え 100°C の水浴中に数分間保つて呈色反応を行う。判定はかすかに紫色に呈色したものを弱陽性として (+) で表し, 紫色の濃さに応じて (+) から (++) に分類した。

B) 胃液に 1.0N NaOH を加えて pH が 5.0 にな

る様に調整してから上記 (A) Ninhydrine 反応を行う。

C) Ninhydrine 反応陽性例についてはメタノール沈渣を70%のメタノール液で3~4回洗滌してから Ninhydrine 反応を行う。

D) 胃液のメタノール上清を低温低圧下で濃縮し高圧濾紙電気泳動 (2000 Vot, 20分間) を行い、その濾紙に0.25% Ninhydrine の水飽和ブタノール溶液を噴霧し 90°C で数分間加熱して Ninhydrine 染色を行う。次に Ninhydrine の spot に応じて濾紙を切り 2.0ml の生理的食塩水で12時間氷室内で溶出し、その¹⁶⁾溶出液 1.0ml についてボーラグラフ蛋白波を撮る (三価の Cobaltamin 試験液を使用)。

結 果

1) 胃癌5例中陽性のもの2例、胃潰瘍で病理組織

学的に前癌性変化があると診断された1例 (No. 6, 三瀬) は陽性であつた。非癌例では16例中陰性のもの10例で、胃液が無酸であつたものは全例陽性であり、反対に正酸乃至高酸例は総て陰性であつた (表1)。

2) 胃液を pH 5.0 に調整してから Ninhydrine 反応を行うと全例が陽性となつた (表1)。

3) メタノール沈渣を70%のメタノールで3回以上洗滌してから Ninhydrine 反応を行うと、2例を除いて総て陰性乃至は弱陽性となり、洗滌後なお陽性であつた2例も洗滌前に比べるとかなり呈色度が低下している (表1)。

4) Ninhydrine 反応強陽性であつた無酸胃癌例 (No. 5, 赤松) について、メタノール沈渣の洗滌した後の液について Ninhydrine 反応を行つて、その呈色度を比色計で測定すると (図1)、洗滌するにつれて洗滌した後の液は次第にその呈色度が低下し、同時に

表 I

No.	氏 名	病 名	酸 度	田 崎 反 応	pH5.0 調整後 Ninhydrine 反 応	洗 滌 後 の Ninhydrine 反 応
1	林 ○ ○	胃 癌	低 酸	(一)	(+)	(±)
2	中 江 ○ ○	胃 癌	高 酸	(一)	(+)	(一)
3	平 岡 ○ ○	胃 癌	高 酸 galle (+)	(一)	(+)	(±)
4	木 下 ○ ○	胃 癌	無 酸 galle (+)	(+)	(+)	(+)
5	赤 松 ○ ○	胃 癌	無 酸	(+)	(+)	(+)
6	三 瀬 ○ ○	胃 潰 瘍 (前癌)	低 酸	(+)	(+)	(±)
7	大 西 ○ ○	胃 潰 瘍	正 酸	(一)	(+)	(±)
8	広 川 ○ ○	胃 潰 瘍	無 酸	(+)	(+)	(±)
9	安 井 ○ ○	十二指腸潰瘍	高 酸	(一)	(+)	(一)
10	篠 原 ○ ○	〃 〃	高 酸	(一)	(+)	(一)
11	浮 田 ○ ○	〃 〃	高 酸	(一)	(+)	(一)
12	下 司 ○ ○	胃 下 垂 症	高 酸	(一)	(+)	(±)
13	堀 尾 ○ ○	〃 〃	正 酸	(一)	(+)	(一)
14	藤 田 ○ ○	〃 〃	高 酸	(一)	(+)	(一)
15	山 本 ○ ○	再生不良性貧血	高 酸	(一)	(+)	(一)
16	細 木 ○ ○	慢 性 胃 炎	無 酸	(+)	(+)	(±)
17	菅 田 ○ ○	〃 〃	無 酸	(+)	(+)	(+)
18	伊 藤 ○ ○	〃 〃	無 酸	(+)	(+)	(一)
19	武 岡 ○ ○	胃 炎	高 酸	(一)	(+)	(±)
20	角 替 ○ ○	〃 〃	低 酸	(+)	(+)	(±)
21	岡 本 ○ ○	結核性腹膜炎	無 酸	(+)	(+)	(±)
22	中 谷 ○ ○	術 後 癒 着	高 酸	(一)	(+)	(一)
23	pavlov の小胃よりの胃液		高 酸	(一)	(+)	(一)

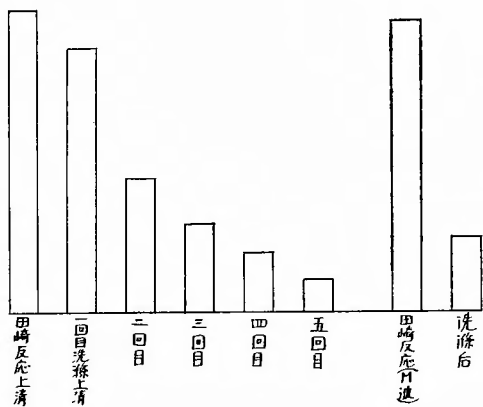


図 I 赤松 無酸癌 田崎反応強陽性 洗滌による変化

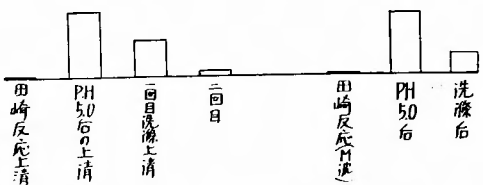


図 II 有酸非癌 pool 胃液田崎反応陰性

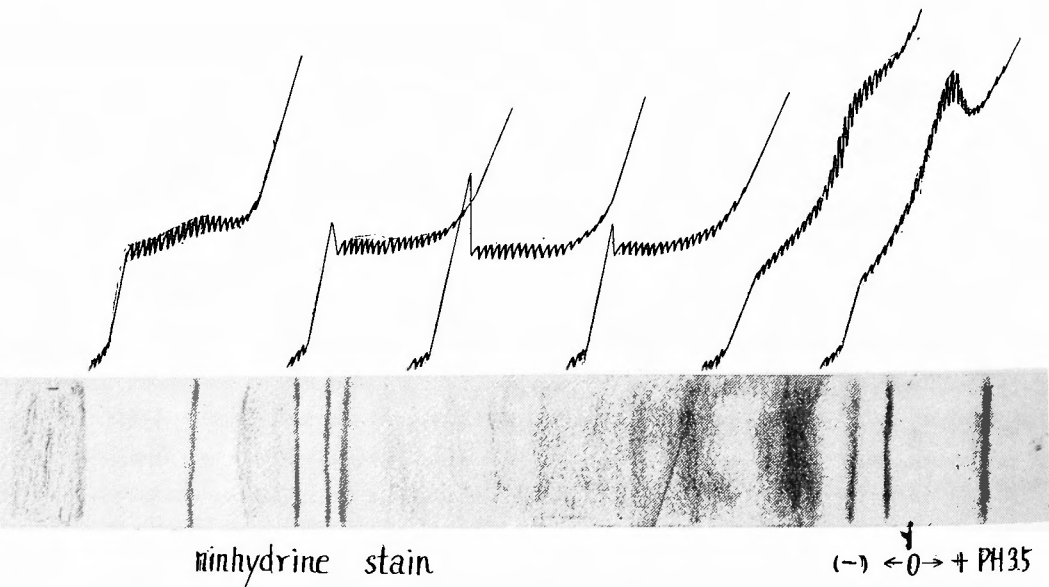


図 III 高圧濾紙電気泳動とその polarogram

メタノール沈渣の呈色度も減少する。

5) Ninhydrine 反応陰性であつた高酸非癌例 (No. 12, 下司) の pH 5.0 に調整後及び洗滌後のメタノール上清並びに沈渣の呈色度を比色計で測定すると (図 II), pH 5.0 に調整後のメタノール上清及び沈渣は共にかなりの呈色度を示し, 洗滌するにつれて陰性化して来る。

6) メタノール上清を高圧濾紙電気泳動で展開しその濾紙の Ninhydrine 染色では Amino 酸に相当するいくつかの細い縞と, この他に tail して Ninhydrine に強く染つている部分とがあり, この tail した部分は

Polarograph で minimum point の高い蛋白波 (所謂 peptide 波) を示した (図 III)。

考 按

多くの追試者が指摘している様に胃液の pH が 3.0 以下では Ninhydrine 反応は疾患の如何にかかわらず陰性である。このことは Amino 酸に対する Ninhydrine 反応が反応時の pH によつて呈色強度を著しく異にし, pH 5.0 のときが一般の α -amino 酸については最も強く, pH 2.5 以下ではプロリン (pH 1.0 でも黄色に呈色する) 以外総ての Amino 酸が発色しない

¹⁸⁾ 事実より考えて明らかな事である。従つて胃液を Ninhydrine の至適 pH 5.0 に調整してから本反応を行うと全例が程度の差はあるが陽性となること、及び無酸例では癌のあるなしにかかわらず総て陽性を示した事は、上の事実を裏書していると共に、本反応が全く非特異的で胃液の pH によつて左右されていると云わねばならない。勿論多くの研究者が報告している様に胃癌の胃液は^{19)~21)}50~69%が無酸であるから、軽度の低酸 (pH 3.0 以上) 例を含めれば Ninhydrine 反応の適中率に近い値となる。

次にメタノール沈渣を70%のメタノールで3回以上洗滌すると、洗滌した後の液の呈色度が減少するにつれてメタノール沈渣の呈色度も減少してくる。このことはメタノール上清に移行すべき Ninhydrine 陽性物質がメタノールで沈澱する蛋白に吸着乃至は結合して共沈している事を示している。更にこの共沈物質はメタノール上清の高圧濾紙電気泳動後の Ninhydrine 染色図と、その polarograph 蛋白波との間に一定の関係があることより Amino 酸の他に低級 peptide が関係していると考ええる。

^{16) 22)~24)} 著者等は胃癌の際に胃液内に peptide が増加していることを数回にわたつて報告して来たが、胃癌胃液内に Amino 酸の増加していることも多くの研究者によつて報告されている。従つて胃液メタノール沈渣の Ninhydrine 反応は胃癌の胃液が多くは無酸乃至低酸であることと、その胃液内に peptide 及び Amino 酸が増加していることによつて比較的高い陽性率を示すものと考ええる。なお Ninhydrine 反応強陽性を示した無酸の2例(内1例は胃癌例)は洗滌後もなおかなりの程度に発色した事はメタノール上清に移行しない Ninhydrine 陽性物質の存在することを暗示している。

総 括

1) 胃液を pH 5.0 に調整してから Ninhydrine 反応を行うと全例陽性となる。

2) メタノール沈渣を更にメタノールで数回洗滌すると Ninhydrine 反応は陰性化する。但し強陽性を示した2例(内1例は胃癌)は洗滌後もなお陽性であった。

3) メタノール上清の高圧濾紙電気泳動及び泳動濾紙の polarogram によつてメタノール上清中の Ninhydrine 呈色物質には Amino 酸の他に低級 peptide の関係することがわかつた。

結 語

胃癌胃液のメタノール沈渣が Ninhydrine 反応で陽性を示すことの多いのは胃癌胃液が無酸乃至は低酸のものが大部分を占めることと、その胃液内に Amino 酸及び peptide が増加しているためであると考えられる。

(本論文の要旨は日本消化機病学会第45回総会(東京)に発表した。)

稿を終るにあたり御指導を給つた京大化学研究所講師笹井外喜雄博士、高圧濾紙電気泳動装置の使用に便宜をあたえられた京大中央検査部助教授富田仁博士並びに実験に際して御援助を給つた京大中央検査部高木康史博士に深謝致します。

主 要 文 献

- 1) 田崎：日消誌，52，281，1955.
- 2) 原：日消関東地方会，1955，6月.
- 3) 佐藤：臨床消化器病学，3，493，1955.
- 4) 後藤，他：日消誌，53，164，1956.
- 5) 後藤，他：臨床消化器病学，4，283，1956.
- 6) 黒川：最新医学，11，1683，1956.
- 7) 湯田，他：日消誌，53，714，1956.
- 8) 小阪，他：癌の臨床，3，35，1956.
- 9) 伊藤，他：日内誌，45，1291，1957.
- 10) 岡本，他：日外誌，58，1654，1958.
- 11) 山下：済生，342号，11，1956.
- 12) 吉田，他：医療，10，(増刊号)，229，1956.
- 13) 岸川，他：日本臨床，14，1147，1956.
- 14) 篠田，他：日内誌，45，184，1956.
- 15) Heilmeyer L. et al: Klinische Wochenschrift Jg. 32, Heft 35/36, 831, 1954.
- 16) 寛：in printing.
- 17) 原：癌，49巻附録 (17回日本癌学会総会記事) 309，1958.
- 18) 赤堀，他：蛋白質化学，1巻，共立出版.
- 19) Comfort. M. W.: Ann. Int. Med. 34, 1331, 1951.
- 20) Segal, H. L. et al: J. Nat. Cancer Inst. 13, 1079, 1958.
- 21) 黒川：日内誌，47，551，1958.
- 22) 寛，他：日消誌，55，726，1958.
- 23) 寛，他：癌，49，308，1959.
- 24) 寛，他：日本消化機病学会45回総会発表，1959.
- 25) 水沼：日消誌，54，268，1957.
- 26) 水沼，他：東京慈恵会雑誌，71，2190，1956.
- 27) 大内，他：Tohoku J. Exp. Med. 67, 123, 1958.
- 28) Gilligan D. R. et al: J. Nat. Cancer Inst. 12, 657, 1951.