

腫瘍 Arginase 作用に關する研究 (II) 〔腫瘍の生化學的研究〕 A, 第六報

家兎並に廿日鼠癌腫の Arginase 作用に就きて

京都帝國大學化學研究所内野研究室

醫 學 士 海 住 優

前篇に於て述べし如く腫瘍組織の増殖乃至代謝に對する Arginin の生物學的意義並に之と不可分の關係にある Arginase 作用の有無、強弱或はその賦活性に關する知見は甚だ重要なものなり。文獻に見る如く各種可移植性腫瘍の Arginase 作用は多數の學者により觀察せられ、著者も既に家兎並に家雞肉腫の Arginase 作用に就きて觀察せり。即ち家兎肉腫 Arginase 作用は相當強力のものにして、その程度は同動物の腎又は睾丸の中間にありて、而して微弱なる筋に比すれば著しく強力なるも、兎肝又雞腎の強度に比すれば遙かに低位にあり、家雞肉腫 Arginase 作用は微弱にして同動物の筋に近く、その乾燥物質を考慮するに肝程度のものにして、強力なる腎に比すれば遙かに低位なり。本篇に於ては可移植性動物癌腫に就きて Arginase 作用を觀察せり。動物癌腫の Arginase 作用の研究に關しては Edlbacher 並に Merz¹⁾ は Mäusecarzinom (Ehrlich) に就き又 Klein 並に Ziese²⁾ は Mäusecarzinom に就きて行ひたり。著者は家兎睾丸癌腫又廿日鼠癌腫 (Bashford 63) に就きて該作用を觀察せり。家兎に於ては癌腫移植後第一期(15日~20日)、第二期(30日~40日)又第三期(60日以後)の三期に亘り、廿日鼠に於ては5日、10日、又22日の三期に亘り Arginase 作用を測定し、尙當該癌腫動物並に同種正常動物の各臓器(肝・腎・睾丸・筋)の該作用をも檢し、癌腫 Arginase 作用との比較觀察を行ひたり。

家兎の睾丸に移植せる癌腫の Arginase 作用は、添加總 Arginin に對する分解率に就きて觀るに相等度の強度を示し、同動物の腎のそれに略々等しき程度のものにて、正常家兎睾丸のそれよりは稍々強力なりき。(表1)。次に移植後その發育經過に伴ひ該作用の消長を觀察するに、第一期(15日~20日)に於ては其の Arginin 分解率は 32,0%, 第二期に於ては 18,9% 或は 22,3%, 第三期にては 10,8% 或は 20,7% なり。勿論之等の腫瘍部はその壊死部を出来るだけ除去せるものを使用せり。この成績に依れば大體初期の方が稍々強き傾向にあるものゝ如く³⁾あらはれ、少くとも末期に増強するを認め得ず。即ちこの場合に於ては Waldschmidt-Leitz の成績の如くならず、壊死部は 8,1% の分解率を示し、轉移部は腸間膜又大網に轉移せるものは 13,6%, 腎に轉移せるものは 16,8%, 或は 20,7% 又筋に轉移せるものは 25,3% なり。即ち腫瘍の老成組織なる壊死部に於ては弱く、新生組織なる轉移部に於ては明かに強し。尙注意すべきは Arginase 作用の微弱なる筋に轉移したる癌腫組織に於て相等強度に該作用を認め得るは腫瘍組織の Arginase 作用は特殊のものにして而も相當強力なる事を實證するものなり。

廿日鼠癌腫も亦相當度の Arginase 作用を認め、同動物の腎に近き値を示せり。且移植後時日を異にして觀察せしに、添加總 Arginin 量に對する分解率は 5 日のものは 30,8 %, 10 日のものは 31,7 %, 又 22 日のものは 32,0 % にして三期通じて略同等の値を示せり。壊死部は 27,6 % にして腫瘍組織に比して著しき差異を認めず(表 2)。

癌腫動物の腫瘍並に各臓器(肝、腎、筋)の Arginase 作用を比較し尙之を同種正常動物のそれに對しても比較對照せり(表 1, 表 2)。即ち肝 Arginase 作用は甚だ強力にして他臓器並に腫瘍組織に比すれば約 100 倍程度の Arginase 作用を有し腎は中等度の値を示せり。癌腫は腎よりも稍々弱き程度のものなり。但し最低値の部に屬する筋のそれに比すれば遙かに著明なるものなり。以上癌腫家兎又廿日鼠の各臓器の成績を正常家兎又廿日鼠のそれに比すれば、肝 Arginase 作用は稍々低下するかの傾向を示し、筋 Arginase 作用は稍増強するかの傾向を示すも之等の數値は相等に動搖ある該作用に就きての觀察なれば、もとより確かなる斷定は困難なるも亦觀過すべからざるものなり。G. Klein 並に W. Ziese²⁾ 兩氏の研究によれば Karzinom-maus, Sakomratte 又 Sarkomhühner の筋は、正常該動物の筋が Arginase 作用陰性なるに反し、陽性となるとの觀察に對照し上述の筋 Arginase 作用の増強は稍々注意に値するものと考へらる。

以上の癌腫動物の Arginase 作用の時期的觀察並に他臓器のそれに對する比較關係は Arginase 全賦活化と見做すべき條件下に於ても行ふべきなり。既に述べし如く Arginase 賦活劑としては硫酸 Mangan が酵素の Begleitstoff 並に Redoxpotential に關係なく作用し而も著明なる効果を呈するに依り、之を使用し上記作用の比較觀察を行ひたり。前篇に於ける觀察に依れば硫酸 Mangan 濃度 0,0005 Mol 乃至 0,00025 Mol に於て最も強く賦活せられる事を確認せるに依り、本篇に於ては硫酸 Mangan 各濃度に於て試験するの煩を避け、0,00025 Mol にて賦活試験を行ひ之を以て全賦活化に近きものと見做し上記の比較觀察に資せり。以下この結果に就きて記す。家兎に於ては癌腫組織は其の添加總 Arginin に對する分解率は初期 62,2 %, 中期 51,7 % 又 末期 43,0 % にて、正常家兎辜丸の 20,2 % に比し強力にして、且發育旺盛なる初期又中期に強く末期に減弱せる傾向を示す。壊死部は稍弱程度(33,4 %)にして、轉移部は強力なる作用を示せり(表 1)。廿日鼠癌腫に於ては其の分解率は初期は 65,6 %, 中期は 72,0 %, 末期は 50,6 % にして、時期的に觀て特に異變を認めず。壊死部は 47,5 % にして弱し。

斯の如く家兎又は廿日鼠に於てその全賦活化と見做すべき條件下に於ても腫瘍 Arginase 作用の比較關係は賦活せざる場合と略同様なり。肝、腎又筋の賦活狀態に於ける該作用の比較關係も亦賦活せざる場合に略、等し。即ち肝は正常動物のそれよりは稍減弱の傾向を示し、筋は正常動物のそれよりは稍増強の傾向を示す。腫瘍老成に伴ふ變化は各臓器共に著明ならず。

實 驗 部; 一

1) 酵素液調製: 雄性家兎辜丸に移植せられたる癌腫は約二週間にして辜丸實質を癌組織化する故に、腫瘍部と周圍組織を分割し得ず、從て辜丸實質をその儘全部剔出し磨潰す。中期又末

期に於ては其の壊死部を出来るだけ除去して之を潰磨す。廿日鼠癌腫は之を注意して剔出し壊死部のあるものは出来るだけ之を除去し潰磨す。腫瘍剔出と同時に各臓器並に轉移部をも剔出し之を潰磨す。之等の潰磨したる組織粥を夫々その重量の3倍容量の Glycerin-Wasser (Glycerin と水を等量に混じ之に 0.05 % の割合に Essigsäure を加へたるもの) を加へ更に潰磨して細目篩を篩したるものを Toluol を重層して氷室に貯ふ。之等の潰浸液は試験に臨み酵素液として 1 ccm を使用する。但し肝(家兎又廿日鼠)はこの場合この潰浸液を水にて 100 倍に稀釋せしものを 1 ccm 用ふ。對照として正常家兎の辜丸、肝、腎、筋及び正常廿日鼠の肝、筋又腎に就きても同様に酵素液を調製せり。

2) 分解試験; 前篇に述べたる如く Ureasmethode に依りたり。この場合添加總 Arginin の全分解時に於ける $0.02n\text{-SO}_4\text{H}_2$ 消費量は 43.43ccm なり。従ひて分解率は消費 $0.02n\text{-SO}_4\text{H}_2$ 量/43.43×100 なり。

3) 對照試験; 前篇に記載せる如し。この場合にも腫瘍組織又臓器組織に依る添加 Arginin よりの安門發生如何を檢查せしが(表 3)試験量に於てはすべて陰性結果を示せり。

4) 賦活試験; 2 % Arginin 鹽酸鹽(中和) 5.0 ccm 酵素液 1.0 ccm, 0.005 Mol MnSO_4 溶液 1.0 ccm, 水 3.0 ccm 及び Glykokoll-NaCl-NaOH-Puffer 10.0 ccm を以て分解を行はしむ即ち硫酸 Mangan 濃度は 0.00025 Mol なり。この試験は常に賦活せざる通常試験と同時に行ひたり。

總 括

1) 家兎癌腫 Arginase 作用は多少の動搖を示すも相等著明に之を證明す。その程度は家兎の腎と辜丸の中間にありて辜丸よりは稍、強力なり。

2) 廿日鼠癌腫 Arginase 作用は多少の動搖を示すも相等著明に之を證明す。その程度は廿日鼠の腎に近きものなり。筋は最も微弱なり。

3) 家兎又廿日鼠の癌腫 Arginase 作用は相等度のものとは云へ之等の動物の肝の該作用に比すれば遙かに低位なり。

4) 家兎又廿日鼠共にその癌腫 Arginase 作用の強度は其の腫瘍老成に伴ひ特に増減するを認め得ず。但し家兎癌腫はその老成に伴ひ稍、減弱の傾向あり。

5) 家兎又廿日鼠に於てその癌腫移植により他臓器の Arginase 作用に特に認むべき異變なきも、肝は移植後稍、該作用の低下を、筋は増強の傾向を示す如し、

6) 以上の Arginase 作用の比較關係((3), (4), 又 (5) に記せし如き)は硫酸 Mangan に依る全賦活化と見做すべき條件下に於ても略同様の成績を得たり。

(昭和十二年六月, 化學研究所春期講演會 = テ發表)

擲筆に臨み恩師内野教授の懇切なる御指導並に御校閲の勞に對し衷心より謝意を表す。

尙材料腫瘍種の惠與を賜りし京大皮膚科教室に謝意を表す。

文 獻

- 1) Edlbacher, S., Merz, K.W. und Mitarbeiter: Zeits. f. physiol. Chem. **171**, 252 (1927)
- 2) Klein G. und Ziese W.; Krebsforsch., **37**, 323 (1932)
- 3) Waldschmidt-Leiz, E.; Zeits. f. physiol. Chem., **219**, 115 (1933)

表 1 家 兎 癌 腫

賦 活	正 常 家 兎				癌 腫 家 兎 (15日~20日)			
	(-)		(+))		(-)		(+))	
潰 浸 液 (試験量)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)
辜 丸 (1.00 ccm)	4,20	9,7	8,80	20,2	/	/	/	/
腫 瘍 (1.00 ccm)	/	/	/	/	13,90	32,0	27,00	62,2
壊 死 部 (1.00 ccm)	/	/	/	/	/	/	/	/
轉 移 部 (1.00 ccm)	腸 間 膜 及 大 網				/	/	/	/
	腎				/	/	/	/
	筋				/	/	/	/
肝 (0.01 ccm)	19,80	45,5	32,90	75,7	17,50 14,60	40,3 33,6	24,00 28,10	55,2 64,7
腎 (1.00 ccm)	10,70	24,6	24,90	57,3	13,00	29,9	31,10	71,6
筋 (1.00 ccm)	1,20 1,10	2,7 2,5	2,90 3,60	6,6 8,3	1,35	3,1	4,00	9,2

表 2 廿 日 鼠 癌 腫

賦 活	正 常 廿 日 鼠				癌 腫 廿 日 鼠 (5日)			
	(-)		(+))		(-)		(+))	
潰 浸 液 (試験量)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)
肝 (0.01 ccm)	21,20	48,8	36,60	84,2	18,50	42,5	32,60	75,0
腎 (1.00 ccm)	9,10 14,60	20,9 33,6	23,80 28,10	54,8 64,7	14,50	33,3	27,80	64,0
筋 (1.00 ccm)	0,90	2,0	1,55	3,5	1,00	2,3	2,10	4,8
腫 瘍 (1.00 ccm)	/	/	/	/	13,40	30,8	28,50	65,6
壊 死 部 (1.00 ccm)	/	/	/	/	/	/	/	/

の Arginase 作 用

癌腫家兔 (30日~40日)				癌腫家兔 (60日~)			
(-)		(+))		(-)		(+))	
消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0.02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)
/	/	/	/	/	/	/	/
8,20 9,70	18,9 22,3	35,50	81,7	4,70 9,00	10,8 20,7	18,70	43,0
/	/	/	/	3,50	8,1	14,50	33,4
/	/	/	/	5,90 14,00	13,6 32,2	19,70	45,4
/	/	/	/	7,30 9,00	16,8 20,7	20,50	47,2
/	/	/	/	11,00	25,3	22,10	50,8
17,90	41,2	26,50	61,0	17,50	40,3	27,50	63,3
10,20	26,0	26,70	61,5	12,10	28,8	26,30	60,5
0,90	2,1	3,25	7,5	1,00	2,3	3,60	8,3

の Arginase 作 用

癌腫廿日鼠 (10日)				癌腫廿日鼠 (22日)			
(-)		(+))		(-)		(+))	
消費酸量 0,02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0,02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0,02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)	消費酸量 0,02n-SO ₄ H ₂ (ccm)	分 解 (%)
14,45	33,2	25,50	58,7	13,50	31,0	22,35	51,4
14,00	32,2	26,00	59,8	15,70	36,1	27,00	62,1
1,40	3,2	2,50	5,7	2,00	4,6	3,50	8,0
13,80	31,7	31,30	72,0	13,90	32,0	22,00	50,6
/	/	/	/	12,00	27,6	20,80	47,8

表 3 癌腫組織又臓器組織に依る安門發生量

		癌 腫 家 兎				癌 腫 廿 日 鼠			
漬 浸 浸 (試 驗 量)		肝 (0.01ccm)	腎 (1.00ccm)	筋 (1.00ccm)	腫 瘍 (1.00ccm)	肝 (0.01ccm)	腎 (1.00ccm)	筋 (1.00ccm)	腫 瘍 (1.00ccm)
蒸 溜 安 門 量 (0.02n-SO ₄ H ₂) ccm	a	0.75	1.00	0.65	0.80	0.85	1.10	0.45	0.90
	b	0.70	0.95	0.65	0.75	0.80	1.00	0.55	0.90
	a - b	0.05	0.05	0	0.05	0.05	0.10	-0.10	0

a :	2 % d-Argininmonochlorhydrat (neutralisiert)	5.0 ccm
	Fermentlösung (Mazerationssaft)	1.0 "
	Glykokoll-NaCl-NaOH-Puffer (PH=9.2)	10.0 "
	Wasser	4.0 "
b :	Wasser	5.0 "
	Fermentlösung (Mazerationssaft)	1.0 "
	Glykokoll-NaCl-NaOH-Puffer (PH=9.2)	10.0 "
	Wasser	4.0 "

a b 共に 37° 24Std 保置し然る後之を Folin 氏法により發生安門を 0.02 n-SO₄H₂ 中に蒸溜定量す。