

腫瘍の生化学的研究(A第九報)

マウス癌腫組織の蛋白分解酵素作用に就きて

内野研究室

醫學博士 内野仙治
吉岡政七

家兎癌腫組織の Kathepsin, Peptidase 又 Acylase 作用に就きては前報の如く, 家兎肝又辜丸組織のそれ等との間に特性的差違を發見し得ざりしも, 量的には多少の差異を認めたり (内野, 吉岡, 1939¹⁾。

本研究に於ては, Mäusecarzinom (Bashford 63) に就きて, 家兎辜丸癌腫の場合と同一基質を使用し, その酵素作用を觀察せり。マウス皮下に移植後30日前後, 即ち癌腫組織成長し, 壊死部の發生を見る前後のものに就きて實驗を行ひたり。

其結果は P. Rondoni (1932)²⁾ の Mäusecarzinom-Kathepsin 作用に関する報告又 H. Kleinmann (1931)³⁾ の Mäusecarzinom 或は Mäusesarkom の Kathepsin 作用に関する研究成績とほぼ一致せり。第1表の如く PH 6.0 に於て Casein は著明に分解せられ, 癌組織の Casein に對する Kathepsinaktivität は著明なりと云ふ可し。

尚 Cystein 添加に依り Casein 又 Gelatine 共にその分解増強を認め得るも, 同動物肝のそれに比して弱し。同動物肝組織の Kathepsinaktivität 又 Cystein 賦活後の Vollaktivität は甚だ強大なり。

Dipeptidase 作用 (PH 7.0—8.0) は家兎癌腫同様 Diglycin 又 dl-Leucylglycin の分解著明にして, その程度は同動物肝に類似せり。

dl-Leucyldiglycin に関しては P. Rondoni (1932)²⁾ は Mäusecarzinom (Ehrlich) に就きて分解陰性を報告せるも, E. Maschmann 等 (1933)⁴⁾ は Mäusecarzinom (Ehrlich) と肝と同程度に陽性結果を得たり。著者等の試験せし Mäusecarzinom (Bashford 63) に於ても, 表2に記載せる如く, E. Maschmann 等の成績と同一結果を得たり。癌腫組織に依る Pepton 分解は著明なり。

Glycylsulfanilsäure はマウス癌腫組織又肝組織に依りて分解陽性にして、前報の家兎癌の場合とは趣を異にせり。

第3表に示す如く、マウス癌腫 Acylase 作用は家兎肉腫又癌腫の場合と同じく何れも陰性なるに、マウス肝組織に非常に強力なる Acylase 作用を発見せり。Mausacylase に関しては他日詳細に報報すべし。

尙 Halogenacylase に就きては、家鶏肉腫（市岡, 1937⁵¹）は dl- α -Bromisocapronylglycin を分解せず, Chloracetyl-l-phenylalanin を分解せり。後者の分解試験にて家兎肉腫（市岡, 1937⁵）又家兎癌腫（内野, 吉岡, 1939¹³）は陰性成績なるが、マウス癌腫並にマウス肝組織の分解陽性結果を得たり、之れ動物種類又組織を異にする事に依り觀察せられし酵素作用の特性にして、更に腫瘍組織の特性を窺知する知見なりと言ふ可し。

實 験 の 部

（1）酵素液： マウスの皮下に無菌的操作に依り癌腫組織（Bashford 63）を移植す。移植後30日後のものを取り、壊死部を出來得るだけ注意の許に除去し、細斷し、磨潰せし組織粥の重量の3倍容量の Glycerin-Wasser（Glycerin 1 : Wasser 1 の割合に混和し、0.05% Essigsäure を含有す）を加へて再び磨潰して細目篩を篩したる潰浸液を酵素液として使用す。

（2）基質溶液： 蛋白質は1%溶液又合成 Peptide は $\frac{1}{20}$ Mol 溶液を用ふ。Benzoylglycin, Benzoyldiglycin 及 Halogen-acyl-derivate は計算量の n-NaOH 溶液を加へて Na 鹽として溶解し、何れも Citratpufferlösung を加へ一定 PH 値となし、濃度 $\frac{1}{20}$ Mol とす。

（3）賦活試験： Cystein 賦活は一定量の Cystein 鹽酸鹽溶液を NaOH 溶液にて中和し、全量 8 ccm となし、之に 2 ccm の酵素液を加へて一定 Mol 濃度（ $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{15}$ Mol）となす、（濃度決定は Kjeldal 法に依る總 N 測定より計算す）。一定 PH 値のもとに室溫にて30分間保置したる後に基質溶液を加へて消化を行ふ。

（4）分解試験法： 消化液 20 ccm に對して 2 ccm の割合に酵素液を加へ、Toluol を重層し 37°C にて消化す。

一定消化時間後、4 ccm をとり Formoltitration にて酸値測定をなす。或は 2 ccm に就き Van Slyke 法に依り $\text{NH}_2\text{-N}$ を測定す。試験直後及酵素液のみの測定値を對照として引去りたる増加酸値（0.1 n-NaOH）ccm 又は増加 $\text{NH}_2\text{-N}$ 値（mg）を分解値として記載す。

第 1 表 マウス癌腫の Kathepsin 作用

		4 ccm中の酸値増加 (ccm 0.1 n-NaOH)						
基 質	時 間	癌 腫 組 織				肝 臓		
		PH				PH		
		4.0	5.0	6.0	7.5	4.0	5.0	6.0
Casein (1%)	24	0.02	0.10	0.14	0.03	0.40	0.77	0.49
	72	0.10	0.12	0.40	0.10	0.60	0.85	0.79
	120	0.10	0.17	0.51	0.28	0.70	0.90	.86
Casein + Cystein ($\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{15}$ Mol)	24	(4.5)	0.50	0.16	0.01	—	(4.5)	—
	72	—	0.70	0.50	0.01	—	1.53	—
	120	—	1.03	0.58	0.01	—	1.53	—
Gelatine (1%)	24	0.10	0.12	0.04	0.02	0.64	0.37	0.19
	72	0.15	0.12	0.04	0.02	0.77	0.52	0.29
	120	0.16	0.13	0.05	0.03	0.72	0.57	0.30
Gelatine + Cystein ($\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{15}$ Mol)	24	—	(4.5)	0.30	—	—	(4.5)	—
	72	—	—	0.70	—	—	1.58	—
	120	—	—	0.70	—	—	1.58	—

第 2 表 マウス癌腫の Peptidase 作用

4 ccm中の酸値増加 (ccm 0.1 n-NaOH)								
基 質	時 間	癌 腫 組 織			肝 臓			
		PH			PH			
		7.0	8.0	9.0	7.0	8.0	9.0	
Glycylglycin	{	3	0.38	0.60	0.47	0.75	0.88	0.21
		8	0.93	1.06	0.67	1.06	0.95	0.25
		24	1.43	1.25	0.72	1.28	1.11	0.47
dl-Leucylglycin	{	3	0.40	0.55	0.68	0.50	0.44	0.32
		8	0.69	0.60	0.68	0.55	0.49	0.47
		24	0.73	0.61	0.68	0.55	0.49	0.47
dl-Leucyl- diglycin	{	3	—	(7.5) 0.97	—	—	—	—
		8	—	1.07	—	—	—	—
		24	—	1.25	—	—	—	—
Glycylsulfanil- säure	{	24	—	(7.5) 0.13	—	—	(7.5) 0.33	—
		72	—	0.37	—	—	0.47	—
		120	—	0.34	—	—	0.47	—
Pepton (1 %)	{	24	—	(7.5) 0.45	—	—	(7.5) 0.53	—
		72	—	0.71	—	—	0.70	—
		120	—	0.80	—	—	0.79	—

第 3 表 マウス癌腫に依る Acylderivate の分解 (PH 7.0—7.5)

(4 ccm中の酸値増加 (ccm 0.1 n-NaOH) *) 2 ccm中の増加NH₂-N (mg)

組 織	時 間	Benzoylglycin	Benzoyldiglycin	*) Chloracetyl- l-phenylalanin	*) dl- α -Brom- isocapronylglycin
癌 腫	24	0.02	0.02	0.117	0
	72	0.03	0.03	0.146	0.006
	120	0.03	0.03	0.192	0.005
肝 臓	24	0.43	0.40	0.440	0.033
	72	1.32	1.67	1.091	0.043
	120	1.52	2.47	1.127	0.056

總 括

(1) マウス癌腫 Kathepsin 作用は弱酸性 (PH 6.0) に於て著明なる活性度を示し, Cystein 添加處理に依り Casein 又 Gelatine 分解増強を認む. 但司動物肝組織の Kathepsin 活性度その Cystein 添加後の全活性度に比するにその程度低し.

(2) Dipeptidase 又 Polypeptidase 作用は PH 7.0—8.0 にて分解最も著明なり.

(3) Pepton の分解能は同動物肝と同程度に陽性なり.

(4) Glycylsulfanilsäure は肝同様にマウス癌腫組織に依り著明に分解せらる.

(5) Acylase 作用はマウス癌腫に陰性なるに, 同動物肝組織に非常に強力なる分解作用を發見す.

(6) マウス癌腫の Halogenacylase 作用は Chloracetyl-l-phenylalanin 分解の場合を觀るに, 同動物肝組織には及ばざるも, その分解陽性を認め, 家鶏肉腫の場合と相似たる成績なり. dl- α -Bromisocapronylglycin は癌腫又肝組織酵素作用に對して抵抗あり.

文 獻

- 1) 内野仙治, 吉岡政七, 化學研究所講演集, **10**, 11 (1939).
- 2) P. Rondoni, Biochem. Journ., **26**, 1477 (1932).
- 3) H. Kleinmann u. F. Werr, Biochem Zeits., **241**, 108(1931).
- 4) E. Maschmann u. E. Helmert, Zeits. f. Physiol. Chem., **218**, 143(1933).
- 5) 市岡冬太郎, 化學研究所講演集, **7**, 224(1937).