

担癌動物における網内系機能のトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導に及ぼす影響に関する実験的研究

金沢大学医学部外科学第二講座（主任：水上哲次教授）

木 藤 光 彦

（昭和47年11月9日受付）

癌は宿主の栄養状態とは無関係に増殖し、その増殖に必要と思われる蛋白質等の素材を宿主生体から奪いとるため、担癌生体は腫瘍の増大と共に負の窒素平衡におちいとされている。Whiteら¹⁾²⁾は mammary adenocarcinoma (15091A) の継代培養した担癌マウスに無蛋白食餌を与え、宿主生体の窒素平衡が負に傾くようにしておき、腫瘍の増殖を観察したが、蛋白欠乏状態の宿主生体にあっても腫瘍がよく増殖することを観察し、Miderら^{3)~5)}は Walker carcinoma 256 及び Murphy-strum lymphom で癌組織の増殖に伴って、carcass の窒素量が次第に減少して行くことを観察している。その後 Greensteinら⁶⁾をはじめ Le Page⁷⁾ や Zamecnick⁸⁾ Greenless⁹⁾ Schneider¹⁰⁾ らにより宿主生体では internal Protein deficiency の状態におちいり担癌生体では腫瘍を排除する方向ではなく、逆にその増殖を支持する方向に代謝パターンが変わってしまっていることが明らかにされつつある。

1950年頃より細菌については、その代謝の研究から酵素適応 (enzyme adaptation) という現象が認められており、特に大腸菌を使つての β -ガラクトシダーゼ (3, 2, 1, 23 β -D-galactoside galactohydrolase) の誘導が有名で、この酵素はガラクトシドが培地中に存在しないと殆ど認められないが、ガラクトシドを加えることによりきわめて急速に合成されるという現象であることが判明した。その他にも酵素合成あるいは蛋白合成のモデルとして酵素の適応的形成がしばしばとりあげられて、この方面の研究に重要な役割を果たして来たが、動物のレベルに於いてもこの適応酵素が上記のように酵素合成のモデルとしてとりあげられるようになり、Knoxら^{11)~13)}はラット及び家兎の腹腔内にトリプトファンを投与すると5時間か

ら12時間以内に、肝臓のトリプトファン・ピロラーゼの活性が著明に増大することを報告し、この現象は細菌に於ける適応的酵素形成の種々の criteria に従うことを指摘した。その後担癌生体の肝臓における酵素合成が一般の注目を浴びることとなり、そのモデルとしてトリプトファン・ピロラーゼをとりあげてその異常の有無を検した研究がなされ、土肥¹⁴⁾は正常ラット腹腔内にトリプトファンを投与し肝トリプトファン・ピロラーゼを測定、それが基質投与前の値の10倍になることを確かめた後 Rhodamin 肉腫ラット肝臓において、トリプトファン・ピロラーゼの誘導形成が著しく低下しているとし、Yamamuraら¹⁵⁾もこの様な成績を報告している。

一方 Woodら¹⁶⁾は Lewis sarcoma 9241 をマウスに移植し癌の発育と肝トリプトファン・ピロラーゼ活性の関係について検討したが、18日までは低下し正常の1/2となるがそれ以後は再び上昇するという二相性の変化が観察されていると述べたが明確な知見はないといえる。

一方生体防禦機構にあずかる主な組織系として網内系の役割が重要視され、悪性腫瘍発生増殖にも宿主網内系の Vitality が密接な関連を有していることが多数の研究家によって次第に明らかにされてきたが、悪性腫瘍と網内系の関連については Fromme¹⁷⁾ や水上^{18)~22)}によれば、網内系は上皮組織に比べて細胞分化度が低くあらゆる内因性、外因性の noxa に対して敏感に反応して障害を受けやすいものであって、生体に惹起されるすべての生理的、病理的現象は網内系の関与なくしては惹起されず、しかも各種の noxa に対して防禦的な役割を演じているものとしている。Stern²³⁾は胃癌患者に於いて網内系機能であるコンゴレッド法でその80%に於いて機能低下が認め

An Experimental Study on Effect of Reticuloendothelial Function on an Inducible Formation of Tryptophan Pyrollase Activity by Substrate in Tumor-bearing Animals Mitsuhiro Kitō Department of Surgery (II) (Director : Prof. T. Mizukami) School of Medicine, Kanazawa University.

られると述べ、大森²⁰⁾もコングレッド係数値で測定した網内系機能は80%以上の胃癌患者に於いて機能低下が見られ、しかも進展度が進むにつれて機能低下も高まってくると述べている。この様に生体網内系機能と腫瘍増殖が密接な関連を有することは推定に難くない。

そこで著者は、担癌生体に於ける代謝異常、酵素異常のモデルとしてトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能をとりあげその異常の有無を検すると共に、腫瘍増殖との関連更に担癌生体に於ける網内系機構が、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の動態を指標とした代謝調節にいかなる関係を有するかを検索し二、三の知見を得たのでここに報告する。

〔I〕 担癌生体における腫瘍増殖と網内系機能の変動

ラットに腹水肝癌A H109Aを皮下移植してその担癌過程における腫瘍増殖と、網内系の変動を検索した。

I. 実験材料及び実験方法

1. 実験動物：生後6～8週間目、体重100～120gの健康な Donryu 系雄ラットを用い、実験期間中はオリエンタル固型材料及び水を与え同一条件下で飼育した。

2. 移植腫瘍：腹水肝癌A H109A Donryu 系雄ラットの腹腔内移植7日目を使用した。

3. 移植方法：純培養状態の腹水を無菌的に採取Thoma の計算板で細胞数を計算し、1000万個を背部皮下に移植した。

4. 腫瘍増加の判定：腫瘍を摘除しその湿潤重量で表現した。

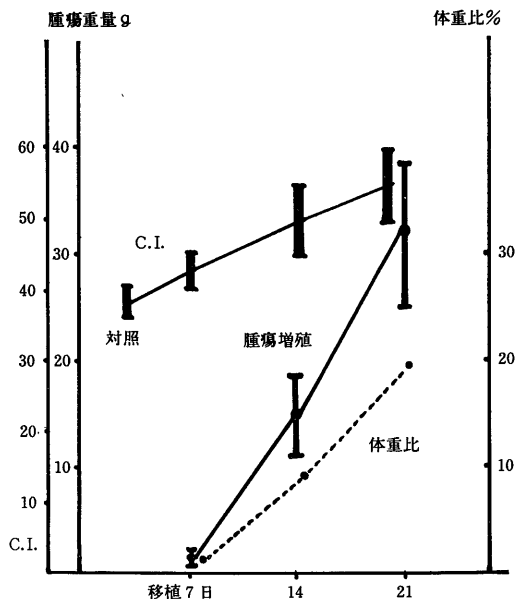
5. 網内系機能測定法：網内系機能は、コングレッド法により測定した。コングレッド法は、山形ら²⁵⁾の方法に準じて行った。すなわち、エーテルで麻酔した後、体重100gにつき1mlの0.15%コングレッド液を、尾静脈より注入し、4分後と60分後に左右の股静脈より、生理的食塩水1.75ml入りの注射器で、2.00mlまで採血し、これを別に用意した2mlの生理的食塩水中に注入、軽く振盪した後、2000回転10分間遠心し、その上清約2.5mlを取り、spectrophotometerにて、波長510m μ で吸光度を測定し、次式により、コングレッド係数を算出した。

$$\text{コングレッド係数} = \frac{60\text{分後の吸光度}}{4\text{分後の吸光度}} \times 100$$

II. 実験結果(図1)

1. 腫瘍の増殖

図1 担癌ラットの腫瘍増殖と網内系機能



A H109A皮下腫瘍の重量は、移植後1週目、1.4 \pm 0.7g(動物数10匹)2週目、14.9 \pm 4.2g(動物数10匹)3週目で31.6 \pm 7.2g(動物数9匹)で、担癌経過の進むにつれて皮下腫瘍は増大した。

2. 腫瘍の体重比

A H109A皮下腫瘍重量の体重比は、移植1週目で0.9%、2週目で9.2%、3週目で18.9%となり担癌経過の進むにつれて増大した。

3. 網内系機能の変動(コングレッド係数)

移植1週目42.5 \pm 2.3, 2週目49.5 \pm 4.3, 3週目52.6 \pm 4.5といずれも対照健常ラットのコングレッド係数38.3 \pm 2.6に比して高い値を示し、担癌経過の進むにつれて網内系機能の低下している状態が観察された。(動物数各10匹)

III. 小 括

Donryu 系雄ラットに腹水肝癌A H109A腫瘍細胞を1000万個背部皮下に移植して、腫瘍の増殖と体重比とコングレッド係数による網内系機能を検索したところ、腫瘍の増殖と体重比の増加に伴って、網内系機能は次第に低下して行くのが観察された。

〔II〕 トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能判定に関する吟味。

トリプトファン・ピロラーゼは基質であるトリプトファンを投与すると、その活性が著しく増加する誘導酵素の一つであり、動物の種類、及び基質の投与方

法、投与量に、幾分相違が見られると考えられる。そこで著者は、健常な Donryu 系雄ラットにおける、トリプトファンによる基質誘導の状態を検索した。

I. 実験動物及び実験方法

1. 実験動物

体重150g前後の、健常な Donryu 系雄ラットを、次の2群に分けて、各々につきトリプトファン・ピロラーゼの活性を測定した。

1) 第1群：トリプトファンを全く負荷しないもの。(動物数20匹)

2) 第2群：Knox²⁶⁾の方法に準じてL-型トリプトファン200mgを4mlの生理的食塩水に浮遊して、腹腔内に注射したもの。(動物数5匹×14)

2. トリプトファン・ピロラーゼの活性測定

Knox²⁶⁾の方法に準じ、ラットをエーテルで麻酔し、両側頸動脈を切断し脱血しながら腹腔を開き、門脈より約38°Cに加温した生理的食塩水を注入し、肝を灌流充分に脱血した後肝を採取、採取した肝1gを予め氷冷してあった7倍容の0.0025M. NaOHを含む0.14M. KCl溶液に入れ、2分間 homogenizer で充分磨砕した。

この whole homogenate 1mlに0.3M. L型トリプトファン0.3ml及び0.2M. 磷酸緩衝液(pH7.0)1mlを加え38°C振盪恒温槽に入れ、O₂を吹き込みながら、1分間、120回転の割合でインキューベートした。インキューベーション後、15%のメタ磷酸2mlを加えて反応を止め、5分後濾過、その濾液3mlを1N NaOHで中和して、試験管内で生成されたキヌレニンの値を測定した。キヌレニンの測定は、伊藤²⁷⁾の方法に従って倍量の10%トリクロール酢酸にて除タンパクした被検液4mlに15%塩酸0.5ml、0.2%亜硝酸

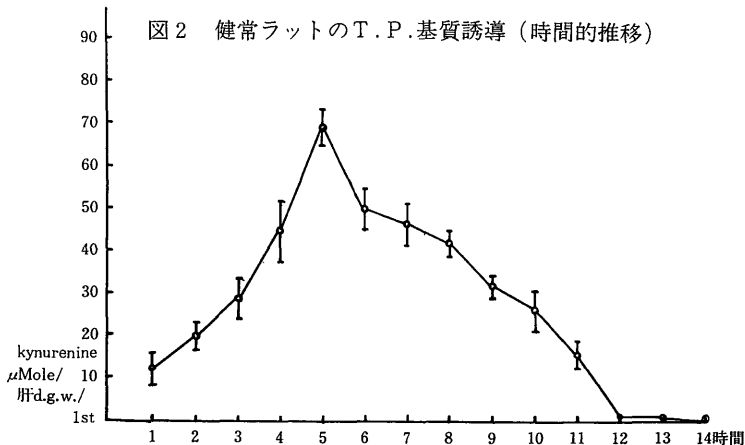
Na0.2mlを加えて室温に放置(3分間)し、ジアゾ化を完成させ次に25%尿素液0.3mlを加え25°C~30°C孵卵器中に15分間入れ過剰の亜硝酸を分解除去、次いで0.2%津田試薬0.25mlを加え30°C、60分にて発色を完成せしめ、水飽和ブタノールを加えて振盪し放置して、キヌレニン以外の物質を除去、水層をピペットでとり spectrophotometer を用いて波長560μmで測定した。

なお肝 whole homogenate 乾燥重量1g当りの生成キヌレニン値μMol数でもってトリプトファン・ピロラーゼの活性値とした。

II. 実験結果

1. トリプトファンを全く投与しなかったラットの肝臓のキヌレニンの測定は不能であって、トリプトファン・ピロラーゼの活性値は0であった。(動物数20匹)

2. 腹腔内にL-型トリプトファン200mgを生理的食塩水4mlに浮遊液として注射投与したラットでは(図2)投与1時間目よりその活性が認められ、1時間目の活性値は11.5±4.2であった。2時間目では19.8±2.5と1時間目よりやや増大し、3時間目では、27.9±4.2、4時間目は44.6±7.5となり5時間目には、69.3±4.2と1時間毎に漸次増大して行くのが観察された。(動物数各5匹)6時間目には、50.4±4.6となり、5時間目の値よりやや低下し、7時間目46.9±5.4、8時間目42.3±3.1、9時間目34.3±4.8と5時間目以後は、次第に減少して行くのが観察された。その後、10時間目では、26.3±5.1、11時間目14.7±2.7と活性が認められたが、12時間目より14時間目までの測定では、そのほとんどが測定不能となった。(動物数各5匹)



Ⅲ. 小 括

トリプトファンを全く負荷しなかったラットのトリプトファン・ピロラーゼの活性値は0であった。L-型トリプトファン200mgを腹腔内に注射投与したラットでは、トリプトファン・ピロラーゼの活性が認められ、5時間目に最高となり、その後次第に減少し、12時間目以後は0となった。

Donryu 系雄ラットでは、トリプトファンを全く負荷していない群のトリプトファン・ピロラーゼの活性値は0で、測定的に認めることができなかった。

このことより Donryu 系雄ラットを用いたこの実験に限って、トリプトファン腹腔内投与によって得られる、トリプトファン・ピロラーゼの活性値は、トリプトファンによるトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能と判断される。以後、L-型トリプトファン200mgを生理的食塩水に浮遊液として腹腔内に投与して得られる投与後5時間目の肝のトリプトファン・ピロラーゼの活性値をもって、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の判定に使うこととした。

〔Ⅲ〕 担癌ラットに於けるトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能と蛋白代謝

一般に担癌生体では、それが実験動物でも人間でも、終局的には癌悪液質という代謝障害におちいり、ある特定の臓器の破壊の有無にかかわらず癌死に至ることは明らかである。しかし酵素系が合目的によくバランスのとれた状態にある時、細胞は正常な代謝活動を営むと思われるが、何らかの原因によってバランスが乱れた場合にはその細胞活動にも破綻をきたし、やがて全身的な代謝障害へと発展して行くであろうと考えられる。

そこで担癌生体の担癌経過および腫瘍増殖過程におけるトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成の状態、更にその誘導形成の状態と宿主蛋白代謝の関連性について検索した。

I. 実験動物及び実験方法

体重100~120gの Donryu 系雄ラットを用いAH109A腹水肝癌の腫瘍細胞1000万個をその背部皮下に移植し、5日目、10日目、15日目、20日目に各々10匹づつ、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能を測定し、同時に基質トリプトファン投与後の、肝と血中のトリプトファン濃度及び血清蛋白像の推移を追究した。又、担癌ラットに、トリプトファンを腹腔内に投与して、投与24時間に排泄される、トリプトファンの総量を測定した。

1. トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能

の判定は、実験Ⅱの方法に従って行った。

2. 肝及び血中の遊離トリプトファン濃度の測定.

ホルムアルデヒド並びに酸化剤として Fe^{+++} の存在下に蛍光体として、トリプトファンを定量する Hess, Udenfriend²⁸⁾ 柏木ら²⁹⁾の方法に準じて測定した。すなわち肝1gを7倍容の0.14M. KCl whole homogenate 0.1ml及び血清0.1mlに 2.5×10^{-3} M. $FeCl_3$ を含んだ $FeCl_3-HCl$ 試薬3.6mlを加えた後、75%トリクロール酢酸を0.5ml加えて21000Gで30分遠心後、上清全容を10%トリクロール酢酸で5ccとした後、fluorospectrometerで励起波長365m μ 受光435m μ で測定した。肝臓遊離トリプトファン濃度は、肝1gについて、血中のそれは血清1mlについてのトリプトファン濃度で表現した。

3. 血清蛋白像の測定

セルローズ・アセテート膜による、濾紙電気泳動法を用いた。

4. 尿中24時間トリプトファン排泄量の測定

1) 尿採取法

尿瓶のついた装置に収容し、24時間に排泄された尿を採取し、各ラットの尿を濾過後蒸留水で、全容を20mlとして、その一部を試料として使用した。

2) 尿中トリプトファンの定量

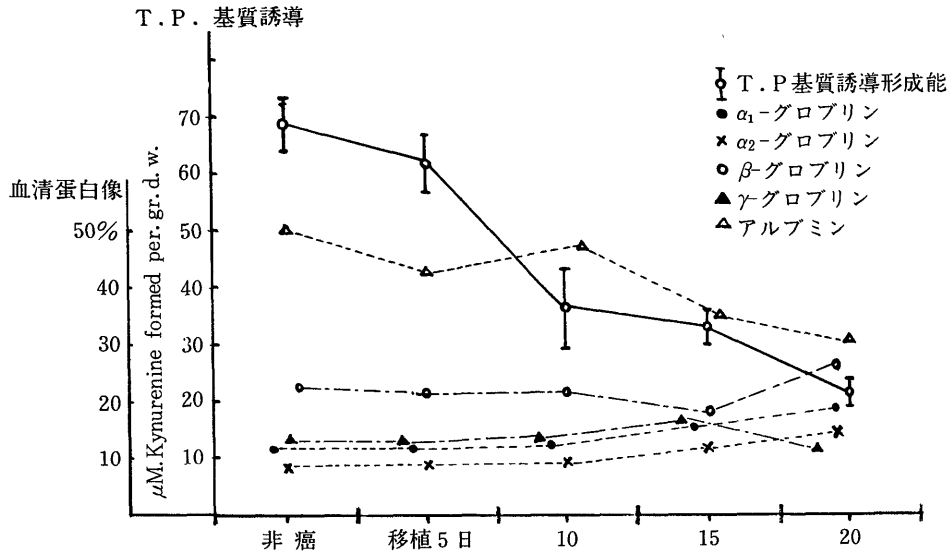
処理24時間尿3ccに、等量の10%トリクロール酢酸を加えて遠心後、1mlの上清を試料として、Spiesら³⁰⁾の方法により、spectrophotometerにて波長590m μ で測定した。

II. 実験結果

1. 腹水肝癌AH109A皮下腫瘍担癌ラットのトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能 (図3)

移植5日目では、AH109A皮下腫瘍の重量は、最高2.1gで最低0.7g、2.1g以上になるものは一匹もなく、 1.2 ± 0.4 gであった。この時のトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能は、最高69.4、最低55.0で、 62.2 ± 5.1 と健常ラットのその、 69.3 ± 5.8 の値に比して、やや低下しているのが観察された。移植10日目の皮下腫瘍重量は、最高9.1g、最低6.2gで 7.7 ± 1.1 g、この時のトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能は、最高49.3、最低27.0で、 36.7 ± 7.5 の値を示した。対照健常ラットのその 62.2 ± 5.1 に比較して、低下しているのが観察された。更に移植15日目では腫瘍重量は 14.3 ± 3.8 となり、その時のものは 33.4 ± 2.1 、移植20日目のものでは 21.3 ± 1.6 と低下し、皮下腫瘍重量は 30.6 ± 5.2 gに達した。この様に腫瘍の増大につれて、その宿主ラットの肝における、トリ

図3 担癌ラットのT.P.基質誘導形成能と血清蛋白像の推移



プトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能の低下が観察された。(動物数各10匹)

2. トリプトファン投与5時間目の担癌ラット肝臓の遊離トリプトファン濃度 (図4)

移植5日目ものでは512±84で、健常ラットのトリプトファン投与後5時間目のその504±21に比して、差異は殆ど認められなかった。移植10日目ものでは、488±66と対照に比して差異はなく、移植15日目では536±37と幾分増加の傾向が観察されたが、移植20日目ものでは、496±52となり、対照との間に差異がなかった。(動物数各10匹)

腹水肝癌A H109A皮下腫瘍担癌ラットでは、トリプトファン投与後の肝臓遊離トリプトファン濃度は、同じくトリプトファンを投与した健常ラットの肝臓の、遊離トリプトファン濃度に比較して、移植15日目ものを除き、特に差異は認められなかった。

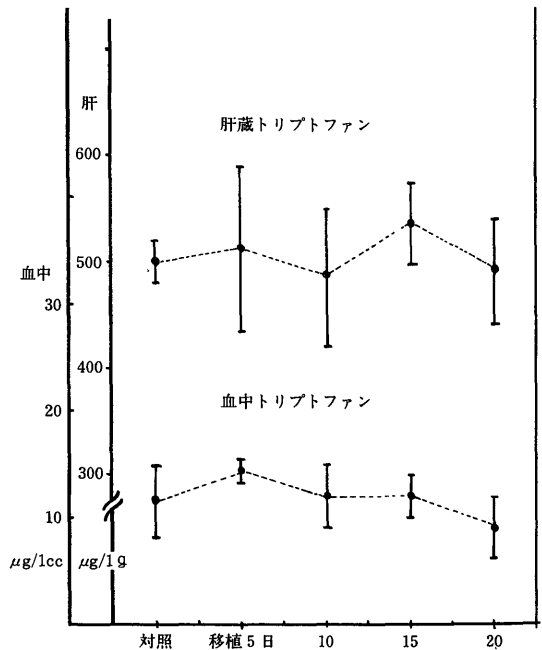
3. トリプトファン投与後5時間目の血中トリプトファン濃度 (図4)

移植5日目では、12±1、10日目では11±3、移植15日目では12±2と対照健常ラットのその11±4に比して、殆ど差異を認めなかったが、移植21日目ものでは、9±3と幾分低下の傾向を示しているのが観察された。

4. 血清蛋白像の推移 (図3)

トリプトファン投与5時間目の健常ラット10匹の血清蛋白分画は、アルブミン50±4%、α₁-グロブリン11±2%、α₂-グロブリン7±1%、β-グロブリン23±

図4 担癌ラットのトリプトファン投与後(5時間目)の肝、血中のトリプトファン



2%、γ-グロブリン11±1%であったが、移植10日目のもでも、アルブミン44±3%、α₁-グロブリン11±2%、α₂-グロブリン7±1%、β-グロブリン21±2%、γ-グロブリン13±2%とそれらに比して殆ど変動が認められなかった。移植15日目ものになるとア

ルブミン分画は $40 \pm 3\%$ とやや低下し、 α_1 -グロブリン $14 \pm 1\%$ 、 α_2 -グロブリン $10 \pm 2\%$ とやや増加の傾向が見られ β -グロブリンは $11 \pm 2\%$ と幾分低下しているのが観察され γ -グロブリンは $17 \pm 3\%$ と対照に比して高い値を示しているのが認められた。移植20日目のもものでは、アルブミン分画 $38 \pm 2\%$ と低下、 α_1 -グロブリン $18 \pm 3\%$ 、 α_2 -グロブリン $12 \pm 3\%$ と増加し、 β -グロブリンも $27 \pm 3\%$ と幾分増加の傾向が観察されたが、 γ -グロブリンは $11 \pm 3\%$ となり、対照に比して

表1 担癌ラットのトリプトファン投与後、尿中排泄(24時間)

	動物	T. 排泄量	平均
対 照	No. 1	2 5 8 0	2676 μ g/day
	No. 2	2 7 0 0	
	No. 3	2 8 2 0	
	No. 4	2 9 4 0	
	No. 5	2 3 4 0	
移植5日	No. 6	2 8 8 0	2760 μ g/day
	No. 7	2 7 6 0	
	No. 8	3 3 6 0	
	No. 9	2 1 0 0	
	No. 10	2 7 2 0	
移植10日	No. 11	2 7 0 0	2484 μ g/day
	No. 12	1 9 2 0	
	No. 13	1 7 4 0	
	No. 14	3 3 0 0	
	No. 15	2 7 6 0	
移植15日	No. 16	3 1 8 0	2836 μ g/day
	No. 18	2 7 6 0	
	No. 19	3 2 4 0	
	No. 20	2 2 8 0	
	No. 21	2 7 0 0	
移植20日	No. 23	2 1 0 0	2630 μ g/day
	No. 24	2 7 2 0	
	No. 25	2 2 8 0	
	No. 26	2 9 4 0	
	No. 28	3 1 8 0	

差異が認められなくなった。

血清蛋白像は、移植15日目頃より対照に比して変動が見られ、アルブミンが減少、 α ・ γ -グロブリンが増加してくる傾向が観察されたが、移植21日目になると、 β -グロブリンも増加し、逆に γ -グロブリンの増加している傾向は見られなくなった。(動物数各10匹)

5. トリプトファン投与後24時間、尿中トリプトファンの排泄量(表1)

移植5日目のもものでは、2100~3360 μ g/day 平均2670 μ g/day、健常ラットのトリプトファン投与後の尿中排泄量2340~2940 μ g/day、平均2676 μ g/dayに比較してやや幅があるが、殆ど差異はないと思われる。移植10日目のもでも1740~3300 μ g/day、平均2484 μ g/day、移植15日目のもものでは、2280~3240 μ g/day、平均2836 μ g/day、20日目のもものでは、2100~3180 μ g/day、平均2630 μ g/dayとなっており、担癌経過を通じて特にその排泄には、対照群との間に差異は認められなかった。(動物数各5匹)

III. 小 括

以上の実験結果より、担癌ラットAH109A皮下腫瘍ラットでは、腫瘍の増殖に伴って、トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が低下し、担癌経過が進むにつれて、悪化して行くのが認められた。

更に腫瘍増殖に伴って、血清蛋白像に於いて、アルブミンの減少と、グロブリンの変動が認められたが、これらの変化に先行して、トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能の低下が観察された。この結果より、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能は、体蛋白代謝の指標となり得るものと考えられ、更にその異常は体蛋白代謝の異常、ひいては全身の代謝異常癌悪液質のモデルとなり得るであろうとの推定に難くない。

又、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能に、著しい障害の認められる担癌経過の進んだ状態の際でも、その投与されたトリプトファンは、肝及び血中、更に尿中にも、トリプトファンを投与された健常ラットのそれらに比して、特に増加している傾向は、観察されなかった。

〔IV〕 網内系機能のトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能に及ぼす影響

実験Iと実験IIIの結果より、AH109A皮下腫瘍担癌ラットに於いて、腫瘍の増殖に伴って網内系機能低下と、トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能の低下が観察された。

そこで、網内系機能と、トリプトファン・ピロラー

ゼ基質誘導形成能との関連性の有無を検索するため、健康なラットに薬剤投与と、脾動脈結紮を施し、網内系機能を賦活及び減弱せしめて、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能及び、基質トリプトファン投与後の、肝と血中の遊離トリプトファン濃度の変動を観察した。

I. 実験材料及び実験方法

1. 使用動物：生後6～8週目、体重100～120gの健康な雄の donryu 系ラットを用い、10匹を1群として対照群を含め、5群を作成した。

2. 動物処置及び薬剤投与方法

1) 網内系賦活措置法

i) 脾動脈結紮：24時間、絶食せしめたラットを、エーテル吸入麻酔下のもとに、無菌的に上腹部正中切開にて開腹し、その脾動脈を短胃動脈の分岐部より中枢側の本幹で結紮切断し、脾門部において、脾動脈の拍動が停止しているのを確認して閉腹した。

ii) パロチン投与：0.2mg/10gを3日間連続大腿筋肉内注射。

2) 網内系阻害措置

i) 1%トリパンブルー生理的食塩水溶液2ml(20mg)を3日間隔で2回、計40mgを大腿筋肉内注射。

ii) コルチゾン・アセテート25%水性懸濁液0.2ml(5mg)を隔日3回、計15mgを大腿筋肉内注射した。

3. 網内系賦活及び阻害措置の吟味

脾動脈結紮ラットは、術後7日目、パロチン投与群、コルチゾン投与群は何れも投与終了後3日目、トリパンブルー投与群は、投与終了後10日目、血中のトリパンブルー濃度が減少してからコンゴレッド法により網内系機能を測定した。

なお、生理的食塩水0.2mlを隔日に3回大腿筋肉内に注射した3日目のラットを対照として、各種間の網内系賦活、及び阻害措置ラットの網内系機能を測定し、比較観察した。

4. トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能測定

網内系賦活及び阻害措置効果の確認のためのコンゴレッド係数測定2日後に測定した。

5. 肝及び血中のトリプトファン濃度測定

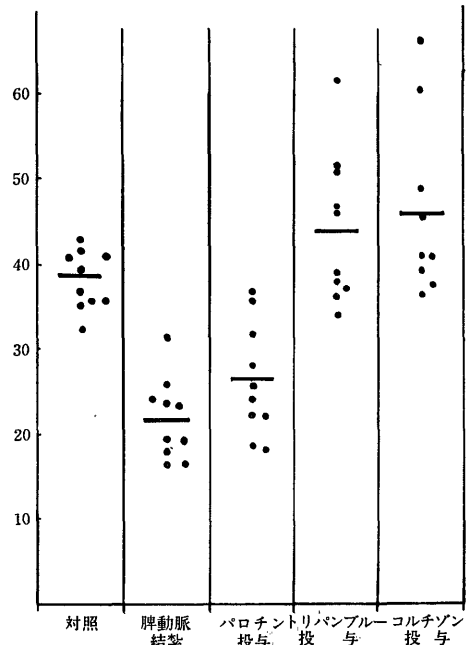
実験Ⅲと同様、トリプトファン投与後5時間目の肝及び血中濃度を測定し、肝1g、血清1mlについてのトリプトファン濃度 μg で表現した。

II. 実験結果

1. 網内系賦活及び阻害措置の吟味(図5)

網内系賦活並びに阻害措置を施した網内系機能

図5 網内系賦活及び阻害ラットの Congo Red Index



は、対照群ラットのコンゴレッド係数 38.3 ± 2.6 に比し、脾動脈結紮した7日目のラットのコンゴレッド係数は、 21.5 ± 3.9 と低値を示し、パロチン投与群ラットに於いても、 26.5 ± 5.7 と両群共に網内系賦活措置によって、網内系機能の亢進がもたらされていた。網内系阻害措置を行なったラットのコンゴレッド係数は、コルチゾン投与群において 46.5 ± 6.9 と高値を示し、トリパンブルー投与群においては、 44.4 ± 7.2 と両群共に網内系機能阻害措置によって、網内系機能の低下がもたらされていた。

2. 網内系賦活及び阻害措置ラットの、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能(図6)

脾動脈結紮群では、 65.7 ± 1.8 パロチン投与群では 65.4 ± 6.2 であり、対照群 69.3 ± 4.2 と比べて殆ど差異は認められなかった。

一方網内系阻害措置を施したトリパンブルー投与群における、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能は、 44.9 ± 4.2 と対照群のそれに比し、低下しているのが観察された。又、コルチゾン投与群においても、1匹を除き残り9匹全部が、50以下の値を示し、 47.1 ± 2.6 と対照群のそれに比して、低下しているのが観察された。

網内系阻害措置を施行したラットの、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能は、対照及び網内系賦

図6 網内系賦活及び阻害ラットのT.P.基質誘導

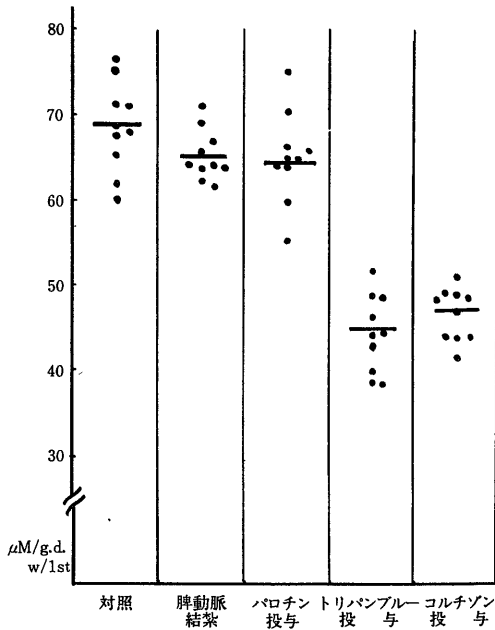
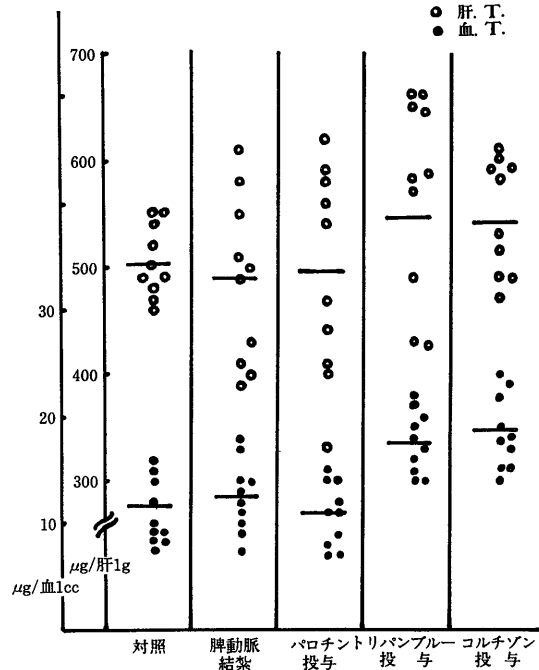


図7 網内系賦活及び阻害ラットのトリプトファン投与後の肝、血中のトリプトファン



活措置群のそれに比して、低下しているのが認められた。

3. トリプトファン投与後の肝及び血中のトリプトファン濃度 (図7)

脾動脈結紮群では、肝臓の遊離トリプトファン濃度は $488 \pm 78 \mu\text{g} / 1\text{g}$ 、血中のそれは $12 \pm 3 \mu\text{g} / 1\text{cc}$ 、パロチン投与群の肝遊離トリプトファン濃度は $496 \pm 84 \mu\text{g} / 1\text{g}$ 、血中のそれは $11 \pm 3 \mu\text{g} / 1\text{cc}$ で網内系賦活措置群は対照に比して肝、血中共その遊離トリプトファン濃度に、殆ど差異は認められなかった。

網内系阻害措置を施した、トリパンプルー投与群の肝遊離トリプトファン濃度は、 $576 \pm 62 \mu\text{g} / 1\text{g}$ 、血中のそれは、 $17 \pm 2 \mu\text{g} / 1\text{cc}$ と、対照のそれらに比較して、増加の傾向が認められた。又、コルチゾン投与群においては、肝臓 $543 \pm 41 \mu\text{g} / 1\text{g}$ 、血中 19 ± 3 とトリパンプルー投与群と同様、対照群のそれらに比して、増加している傾向が認められた。

Ⅲ. 小 括

脾動脈結紮、パロチン投与にて、網内系機能が亢進し、トリパンプルー並びにコルチゾン投与にて、網内系機能が低下しているのが、網内系機能検査コンゴレッド法により認められた。

脾動脈結紮、パロチン投与による網内系賦活群と、

トリパンプルー、コルチゾン投与による網内系減弱群につき、トリプトファン投与後、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能と同時に、肝、血中の遊離トリプトファン濃度を測定した所、網内系賦活群においては、脾動脈結紮、パロチン投与群共、特に基質誘導形成能の亢進は認められず、肝及び血中のトリプトファン濃度も、対照と殆ど差異を認めることができなかった。

しかし、網内系機能を減弱せしめたトリパンプルー投与群、コルチゾン投与群共、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の低下が観察され、肝及び血中の基質トリプトファン濃度が、増加する傾向が観察された。

〔V〕 網内系賦活及び阻害担癌ラットの腫瘍増殖と、トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能

これまでの実験結果より担癌ラットにおける網内系機能低下と、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能低下が観察され、更に網内系機能低下がトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能を低下させ、基質として投与されたトリプトファンが、肝及び血中に蓄積される傾向が健常ラットに於いて観察された。そこ

で担癌ラットの網内系を賦活及び阻害して、その腫瘍増殖とトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の変動を検索した。

I. 実験動物及び実験方法

1. 実験動物

体重100g前後の Donryu 系雄ラットを用い、実験Iの方法に従って腹水肝癌AH109A腫瘍細胞を背部皮下に移植した。

2. 網内系賦活及び阻害措置法

担癌ラットを10匹づつ対照群を含めて5群に分け、実験IVの方法に準じて、網内系賦活及び阻害措置を講じた。

脾動脈結紮：脾動脈結紮に於いては、そのストレスより完全に回復する2日後に、腫瘍細胞の移植を行った。

パロチン投与：移植と同時にパロチン0.2mg/10gを隔日に投与した。

トリパンブルー投与：移植と同時に、1%トリパンブルー1mlを3日間間隔で投与した。

コルチゾン投与：移植と同時に、コルチゾンアセテート水性懸濁液0.2ml(5mg)を隔日に投与した。

3. 腫瘍増殖の判定

実験Iと同様な方法で、皮下腫瘍重量を測定した。

4. 生存率

30匹を一群として、網内系賦活及び阻害群の各々2群と、対照群1群を作成して、生存日数と、50%生存日数より判定した。

5. トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の判定

実験IIと同じ方法で測定したが、トリパンブルー投与担癌ラットの、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の測定の際のキヌレニン測定には、トリパンブルーの影響を除くために、トリパンブルー投与、トリプトファン非投与の健常ラットの、その差でもって表わした。

II. 実験結果

1. 網内系機能の腹水肝癌AH109A皮下腫瘍増殖に及ぼす影響

1) 脾動脈結紮担癌ラット群の腫瘍増殖(図8)

移植5日目で、 1.1 ± 0.4 g, 移植10日目で 8.2 ± 1.2 g, 移植15日目で 12.5 ± 1.6 g, 20日目で 23.8 ± 4.5 gと担癌経過の進むにつれて、その皮下腫瘍は漸次増大するが、無処置担癌ラットの皮下腫瘍重量5日目 1.2 ± 0.4 g, 10日目 7.7 ± 1.1 g, 15日目 14.3 ± 3.8 g, 20日目

図8 網内系賦活担癌ラットの腫瘍増殖 (脾動脈結紮)

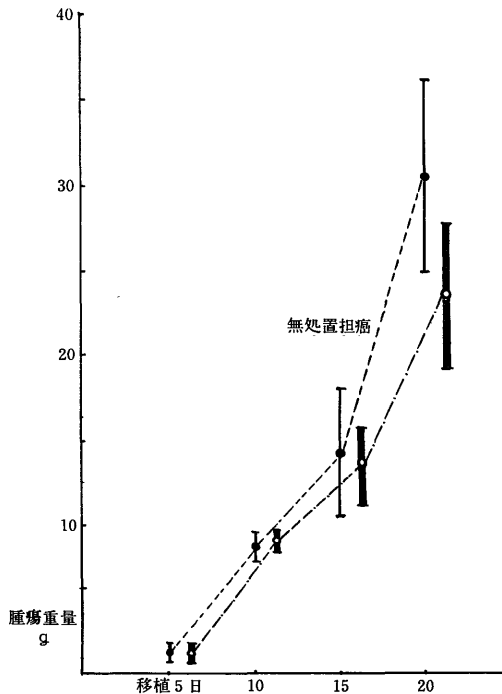
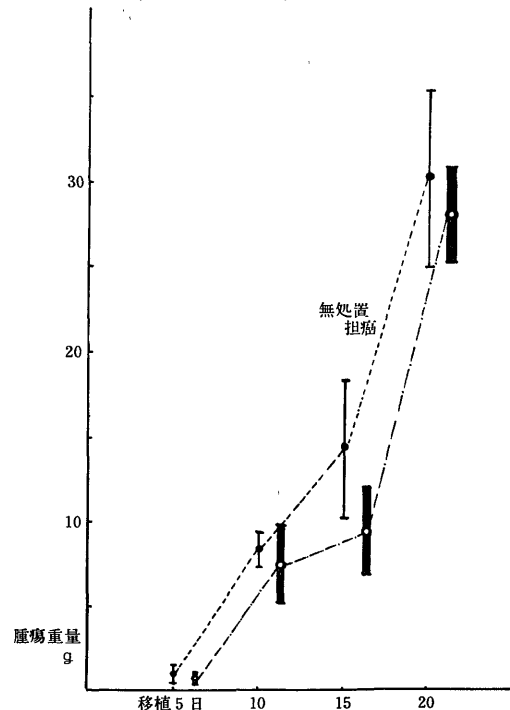


図9 網内系賦活担癌ラットの腫瘍増殖 (パロチン投与)



30.6±5.2gのそれらに比較して、移植20日目に於いて、幾分低値の傾向が認められた。(動物数各10匹)

2) パロチン投与担癌ラット群の腫瘍増殖(図9)

移植5日目では、0.8±0.1g、10日目で7.6±2.4gと対照に比して殆ど差異はなかった。移植15日目の皮下腫瘍重量は、9.6±2.8gで、無処置担癌ラットの移植15日目の皮下腫瘍重量14.3±3.8gに比して、幾分低値の傾向が観察された。移植20日目では、28.3±3.3gで対照の30.6±5.2gに比して、殆ど差異は認められなくなった。(動物数各10匹)

3) トリパンプルー投与担癌ラットの腫瘍増殖(図10)

移植5日目で2.1±0.5g、10日目で11.4±2.1g、15日目で21.4±5.1g、20日目で34.6±6.6gとなっており、無処置担癌ラットのそれらに比較して、移植10日目、15日目に幾分増加の傾向が観察された。(動物数各10匹)

4) コルチゾン投与担癌ラット群の腫瘍増殖(図11)

移植5日目で2.8±0.4gと対照の1.2±0.4gに比較して幾分増加しているが、移植10日目では、8.9±1.2

gと殆ど差異はなくなり、移植15日目では18.7±3.9g、移植20日目で38.2±6.9gとなり移植20日目に於いて再びやや増加の傾向が観察された。

2. 網内系賦活及び阻害措置担癌ラットの生存率

1) 脾動脈結紮担癌ラット群の生存率(図12)

生存日数は、18日より37日で、その50%生存日数は30日であり、無処置担癌ラットの生存日数は、16日より34日までで50%生存日数25日、脾動脈結紮担癌ラット群は、無処置担癌ラット群に比較して、幾分延命の傾向が観察された。

2) パロチン投与担癌ラット群の生存率(図13)

移植と同時に、パロチン0.2mg/10gを隔日に投与を続けた担癌ラットの生存日数は、15日より38日で、50%生存日数は29日であり、無処置担癌ラットに比較して、幾分延命の傾向が観察された。

3) トリパンプルー投与担癌ラット群の生存率(図14)

網内系阻害の目的で、1%トリパンプルー1mlを3日間隔で投与した担癌ラットの生存日数は、16日より29日までで、その50%生存率は22日であり、無処置担

図10 網内系阻害担癌ラットの腫瘍増殖
(トリパンプルー投与)

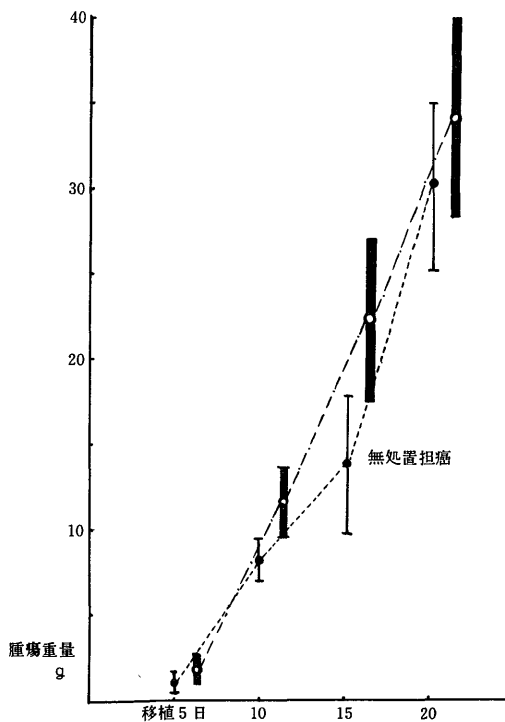


図11 網内系阻害担癌ラットの腫瘍増殖
(コルチゾン投与)

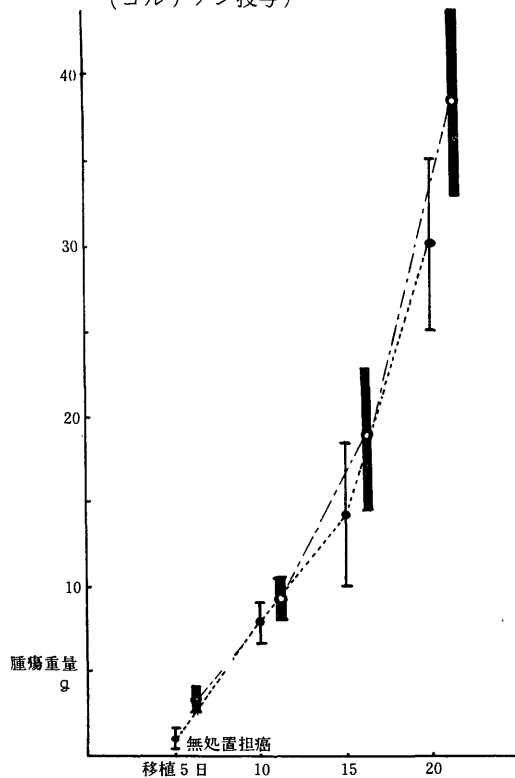


図12 網内系賦活担癌ラットの生存率 (脾動脈結紮)

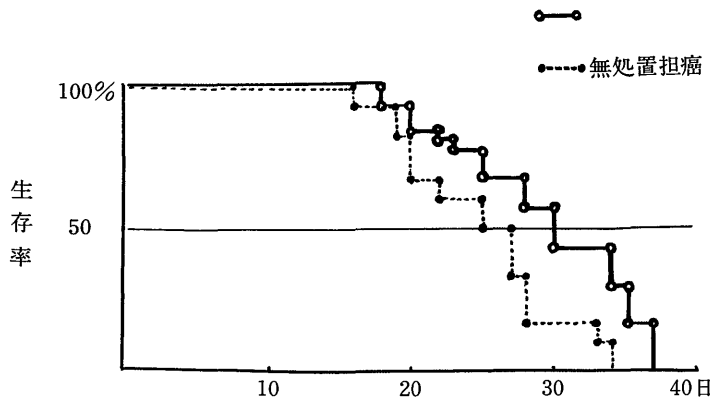


図13 網内系賦活担癌ラットの生存率 (パロチン投与)

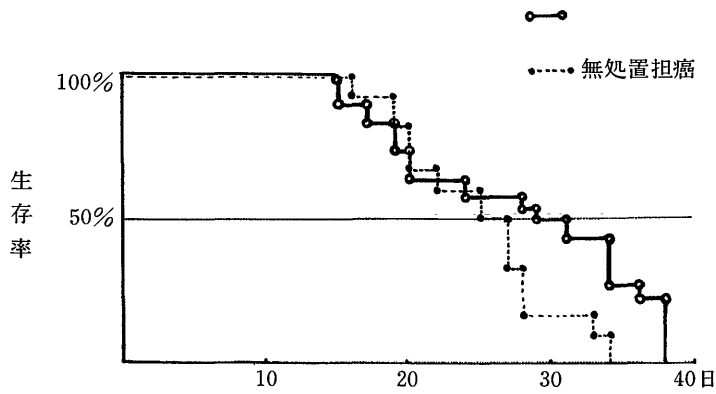


図14 網内系阻害担癌ラットの生存率 (トリパンプルー投与)

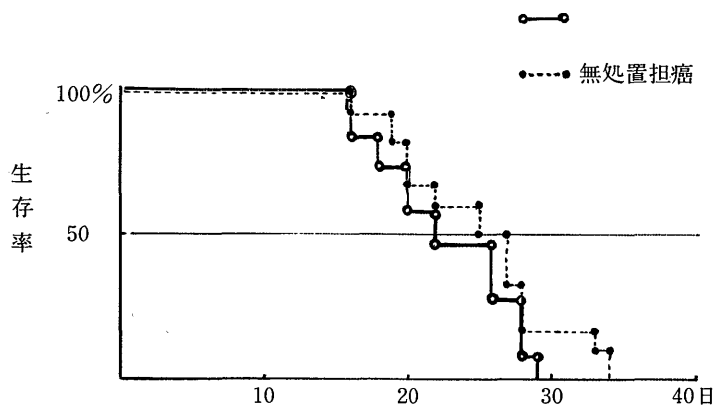
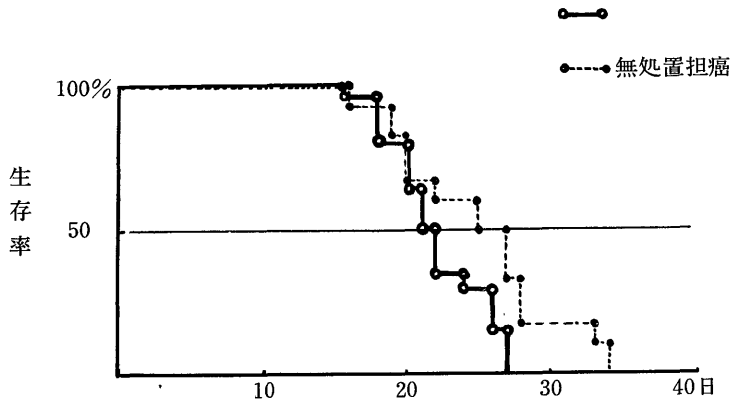


図15 網内系阻害担癌ラットの生存率（コルチゾン投与）



癌ラットに比較して、やや生存日数の短縮される傾向が観察された。

4) コルチゾン投与担癌ラット群の生存率（図15）

網内系阻害の目的で、コルチゾン5mgを隔日に投与した担癌ラットの生存日数は、16日より27日までで、その50%生存日数は21日であり、無処置担癌ラットに比して、幾分生存率が短縮されるのが観察された。

3. 網内系賦活及び阻害措置担癌ラットのトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能

1) 脾動脈結紮担癌ラットのトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能（図16）

移植5日目のもでは、 60.3 ± 4.1 、移植10日目では 51.9 ± 3.2 、移植15日目では 33.4 ± 2.1 、移植20日目では 34.4 ± 1.1 となっており、担癌経過と共に漸次低下しているが、無処置担癌ラットに比較すると、移植10日目より、幾分高い値が得られている。脾動脈結紮担癌ラットでも、腫瘍の発育と共に、その基質誘導形成能の障害が認められるが、無処置担癌ラットの障害程度に比較すると、移植10日目以後は、幾分軽度となっている様子が観察された。（動物数各10匹）

2) パロチン投与担癌ラット群のトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能（図17）

移植5日目では、 60.8 ± 5.2 で対照の 62.2 ± 5.1 に比較して殆ど差異は認められないが、移植10日目では 48.1 ± 2.0 、15日目では 38.2 ± 2.7 、20日目は 29.3 ± 2.1 となっており、移植10日目以後では、無処置担癌ラットのそれらに比較して、幾分高い値を示し、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能障害の程度が、軽くなっている様子が観察された。（動物数各10匹）

3) トリパンプルー投与担癌ラット群のトリプト

ファン・ピロラーゼ基質誘導形成能（図18）

移植5日目のもでは、 44.4 ± 4.2 と対照群移植5日目の 62.2 ± 5.1 の値に比較して、幾分低い値を示していた。移植10日目では 34.4 ± 3.6 と対照群との間に差異は認められなかったが、移植15日目 20.2 ± 1.4 、移植20日目 15.1 ± 1.5 と対照無処置担癌ラットのそれらに比較して、幾分低い値を示し、移植10日目のものを除いては、その障害の程度は、対照群よりも幾分つよくなっている傾向が観察された。（動物数各10匹）

4) コルチゾン投与担癌ラット群のトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能（図19）

移植5日目では、 47.1 ± 5.7 であり、対照群のそれらに比較して、幾分低い値を示しているが、移植10日目では、 35.3 ± 2.1 とほとんど差異はなく、移植15日目になると 23.1 ± 2.2 、移植20日目では 13.1 ± 1.1 となっており対照群のそれらよりも幾分低値を示しその障害の程度が幾分つよくなっている傾向が観察された。（動物数各10匹）

Ⅲ. 小 括

脾動脈結紮及びパロチン投与によって網内系賦活措置を施した腹水肝癌A H109A皮下腫瘍担癌ラットの腫瘍重量は無処置担癌ラットに比較して脾動脈結紮群では移植20日目において、パロチン投与群では移植、15日目において、幾分低い値を示し、生存率においても軽度の延命効果が認められた。又、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の障害の程度も移植10日目以後のものでは対照群のそれらに比して幾分軽くなっているのが観察された。

一方トリパンプルーやコルチゾン投与によって網内系阻害措置を施した担癌ラットの腫瘍増殖は、対照無処置担癌ラットに比較して幾分はやく、生存日数も

図16 網内系賦活担癌ラットのT.P.基質誘導
(脾動脈結紮)

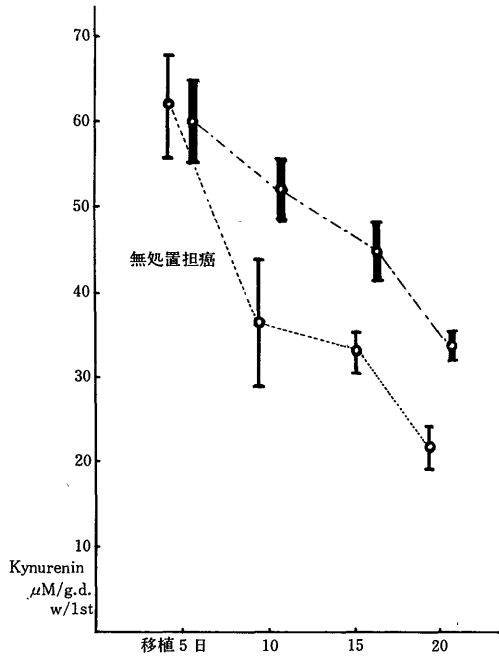


図17 網内系賦活担癌ラットのT.P.基質誘導
(パロチン投与)

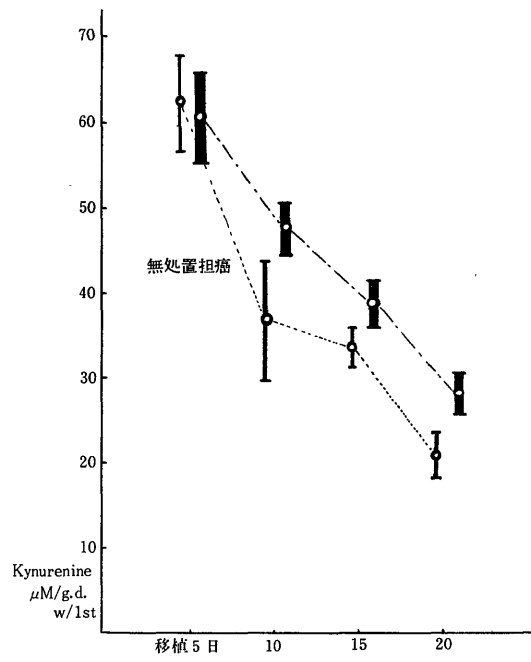


図18 網内系阻害担癌ラットのT.P.基質誘導
(トリパンプルー投与)

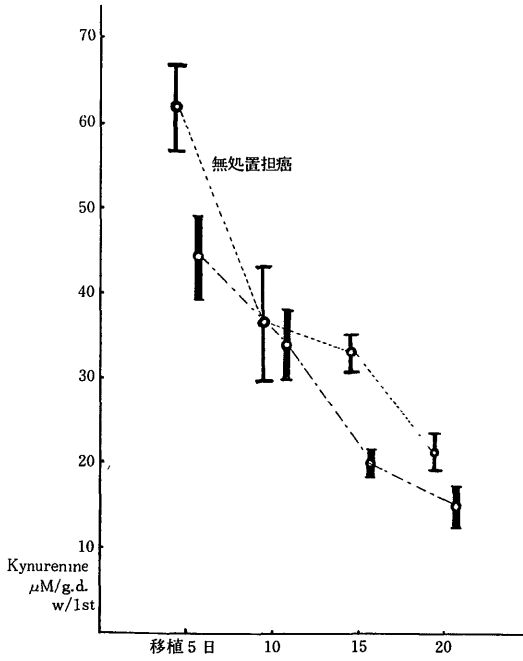
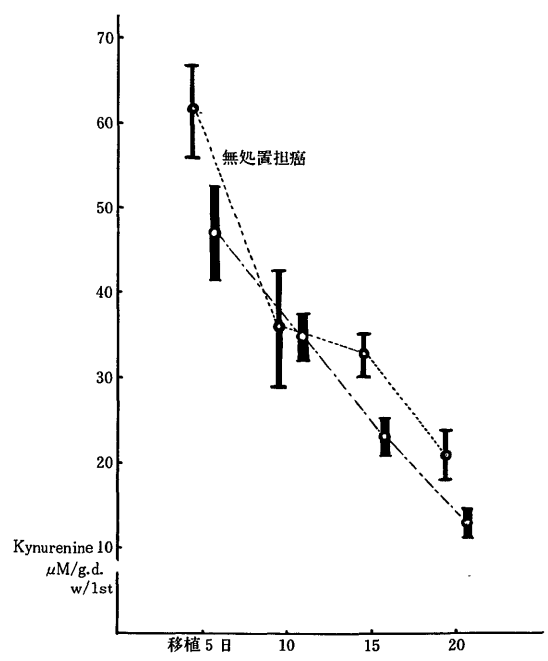


図19 網内系阻害担癌ラットのT.P.基質誘導
(コルチゾン投与)



軽度短縮される傾向が観察され、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の障害程度も移植10日目ものを除き、対照群のそれらに比較して幾分悪化している様子が観察された。

考 察

網内系は、広く生体防禦の主役を演じていると見做されているから、担癌生体の抗腫瘍的な反応にも、網内系が何らかの形で関与していることは推定に難くない。

最近に至り Stern³¹⁾ は、生体に於ける腫瘍発育を、局所的ならびに全身的網内系の disorder なる概念の下に理解しようとし、腫瘍発生は網内系の脆弱化、および腫瘍に対する抵抗性の減弱、あるいは腫瘍発育の促進的物質の過剰増加にともなう網内系の乱調等の諸因子の協同に負うと述べ、宿主生体と腫瘍間の host-tumor Relationship なる考え方にに基づき、網内系と腫瘍の相関を論じている。

網内系機能としては、1. 異物摂取能 2. 免疫体産生 3. 新陳代謝調節 4. 解毒 5. 造血の諸機能が、一般に認められているが、異物摂取能は網内系細胞の最も顕著なものであり、Aschoff³²⁾ により、最初に注目された特徴である。

現在、異物摂取能を測定する方法としては、異物を静注し、その流血中より異物の消失状態を追求して、間接的に網内系の食作用状態を観察する方法が一般的であるが、網内系機能検査の目的で、血中に注入される異物は無毒で、注射によってなら反応がなく、容易に網内系細胞に摂取されるもので、しかも微細な膠質となり、拡散性がなく、血清中の分量が測定をしやすい物でなければならぬため、この諸条件を備えたコングレッド赤色素を用いたコングレッド法が、臨床的にも応用されている。

Alder³³⁾ によると、健康人のコングレッド係数値は50~70、山形²⁵⁾ によれば50~72、明石³⁴⁾ によれば51.3~72.2、上田³⁵⁾ によれば40~80と言われ、コングレッド係数の上昇は、網内系機能の減退、その低下は、網内系機能の亢進と判定されている。又、Stern³⁶⁾ や山形³⁷⁾ は、悪性腫瘍患者のコングレッド係数を測定し、正常人のそれに比して、網内系機能が低下していることを示している。又、水上³⁸⁾ も癌患者において、免疫学的反応能力としての、網内系機能の低下を報告しているが、更に抗体産生能とコングレッド係数とは、相関関係にあるものとも報告している³⁹⁾。しかし担癌生体における網内系機能低下が、癌発生増殖に有利な条件を提供したのか、或いは、いわゆ

る癌毒素の障害を受けて、網内系機能の減退を来たしたのかについては、直ちに断定し難い所であるが、少なくとも Stern³⁶⁾ も述べているごとく、コングレッド係数が高い程、すなわち網内系機能が低下している程、癌患者の予後は不良であると言っている。何れにしても網内系は、癌の増殖と密接な関係を有して、特にその機能の障害は癌の増殖に有利な条件を提供するものと考えられる。

一方癌の増殖に伴い、担癌生体には、栄養の欠乏状態のみでは説明のつかない種々の代謝異常が起こり、癌悪液質の状態に陥り死に至る事実は臨床的にもよく経験する所であり、担癌生体の代謝調節の異常例として、Morris⁴⁰⁾ は、Hepatoma 5123 に於いてトリプトファン・ピロラーゼの存在にもかかわらず、トリプトファンを投与しても酵素活性の増加が全く見られないことを報告している。

トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導に関しては、動物にトリプトファンを投与すると数時間後に肝臓トリプトファン・ピロラーゼの活性が著明に増加することは、Knox⁴¹⁾ により初めて報告され、その後 Michels⁴²⁾ は連日長期トリプトファンを注射すると、17日目に基質によるトリプトファン・ピロラーゼの誘導が最高で2倍近くになり、50日目に誘導が起こらなくなると述べている。

Price⁴³⁾ は家兎及びラット摘出肝を用いた還流実験により基質トリプトファンを還流液に加えると、トリプトファン・ピロラーゼの活性は約3倍に増加したと報告している。基質による誘導は、経口、皮下、腹腔内いずれの投与方法によっても同様の効果が認められると言われ、著者の行った Donryu 系雄ラットを用いた実験でもL型トリプトファン200mg/Ratを腹腔内投与にすると、5時間後に最高の活性値を示しその後次第に低下、12時間目には0となる結果を得た。

トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成の機序に関しては Feigelson⁴⁴⁾ は、基質によるトリプトファン・ピロラーゼ誘導時の細胞内分画での核酸のturn overの変化を追究し、酵素蛋白合成増加が適応の主因ではないかと推論し、Greengard⁴⁵⁾ はトリプトファンに対する抗体家兎γ-グロブリンを得、これを用いて免疫学的にトリプトファン注射後のラット肝におけるトリプトファン・ピロラーゼの合成の増加を証明し、単なる酵素の活性化ではなくて酵素蛋白分子濃度の増加であろうと推論している。

担癌生体に於いては、前述した Morris⁴⁰⁾ による Hepatoma 5123 によるトリプトファン・ピロ

ラーゼ基質誘導異常例の他にも、Ichii⁴⁶⁾も Ehlich 腹水癌マウスに於いて、そのトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が低下することも報告し、Yamamura¹⁵⁾はローダミン肉腫ラットに於いてトリプトファン・ピロラーゼの活性が低下していると述べ、トリプトファン・ピロラーゼの活性を低下せしめる物質として、癌組織より塩基性蛋白物質を抽出した。土肥¹⁴⁾はローダミン肉腫ラットに於いて腫瘍の増大と共にそのトリプトファンによる基質誘導形成が著明に低下して行くことを観察し、ローダミン肉腫ラットから抽出した alcoholprecipitate を投与しても同様な現象が見られたとし、これと Toxohormon との関連性を推測している。

一方必ずしも担癌経過と共に低下するとは限らないと言う Lewis sarcoma 241 を用いた Wood¹⁶⁾の実験報告や Knox¹⁷⁾の報告もあるが、著者の行った腹水肝癌 AH109A を使用した実験では、トリプトファン腹腔内投与によるトリプトファン・ピロラーゼの誘導形成は、腫瘍の増大と共に低下して行くのが観察された。

又、基質によるトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が腹水肝癌 AH109A 皮下腫瘍の増殖と共に著しく悪化して不良となるにもかかわらず、投与した基質トリプトファンは肝臓にも血中にもその濃度の増加は認められず、尿中への排泄増加の傾向も観察されなかった。

従ってトリプトファン・ピロラーゼの誘導形成能低下によって、分解が抑制されていると思われる投与後のトリプトファンは、肝臓及び血中、尿中にもその増加の傾向が観察されず、著者のこの実験範囲では不明であるが、トリプトファン代謝はトリプトファンからキヌレニンへ分解する代謝経路の他に、トリプトファンからセロトニンに分解される代謝経路が一般に知られており、宮武¹⁸⁾は正常並びに担癌ラットのトリプトファン投与後の24時間尿中のセロトニン及び5-ヒドロキシインドール酢酸を測定し、両者の間に有意の差が認められなかったと述べている。

又 Rostein⁴⁹⁾はトリプトファン代謝系にセロトニン代謝系及びキヌレニン代謝の他に a new Pathway の存在を示唆する成績を報告している。しかし放射性同位元素で標識したアミノ酸及び血清蛋白の腫瘍組織へのとり込みを観察した研究は現在まで数多く見られ、たとえば Cambell⁵⁰⁾は¹⁴C-L-アラニンを DAB 肝癌シロネズミに注射して、肝及び肝臓組織内の遊離アミノ酸と蛋白結合アミノ酸との放射性活性の比を求めて両者に差異のないことから、血清蛋

白から遊離アミノ酸を経ないで癌蛋白に転換されるものとは考えられないとし、Henderson⁵¹⁾も¹⁴C-グリシンを使った実験で、血清蛋白が予め完全分解された後に利用されると示唆している。

一方 Babson⁵²⁾は¹⁴C-ロイシンで標識された血清蛋白の¹⁴Cが癌組織内へとり込まれる際無標識のロイシンの投与によって希釈されない事実から、血漿蛋白は完全分解を受けなくて癌蛋白へ転換されることを指摘している。Chin⁵³⁾も Ehlich 腹水癌を³⁵S-メチオニン或いは¹⁴C-ロイシンで標識した血漿蛋白と共に保温し細胞蛋白がラベルされる過程に於いて、細胞内遊離アミノ酸の放射活性が増加しないことをもとにして、やはり分解されないで利用されることを示唆している。

Ishikawa⁵⁴⁾は腹水肝癌 AH130 細胞を用いて in vitro で血漿蛋白が分解されることを明らかにした。すなわち¹⁴C-L-フェニールアラニンによって標識した血漿蛋白と癌細胞とを保温し、その放射活性の行く方を追求した所、¹⁴Cの細胞内のとり込み及び細胞内トリクロール酢酸可溶性放射性活性が増加していることを見出し、DNP・P~フルオルフェニールアラニン等を温置反応液中に共存させると、細胞内蛋白への¹⁴Cのとり込みが減少すると共に、それだけ細胞外液へ¹⁴C物質が追い出されて¹⁴C物質の大部分は、遊離¹⁴C-フェニールアラニン及び¹⁴C-チロシンで、癌組織は血漿蛋白をとり込んだ後アミノ酸レベルまで分解して自己の蛋白の合成に利用すると述べている。

いずれにしても癌細胞によって血漿蛋白が利用されると言う研究成績は、単に透過性の亢進に基づくものか特異的な蛋白質のとり込み機構が存在するののかという様な問題点はあるにせよ、多くの学者によって支持されている。

著者の研究でも腫瘍が増大すると共にトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能の低下が著しく、その低下は腫瘍増大と共にほぼ相関関係にあるので、分解が障害されて蓄積されるはずのトリプトファンが、癌組織の増殖に利用され腫瘍増殖を助長しているものと推定される。

言うまでもなくトリプトファンは必須アミノ酸の一つであり、その分解過程に関与する酵素は生体のアミノ酸-蛋白代謝の動きと密接な関係にあり、更にトリプトファン・ピロラーゼはトリプトファン代謝の第一の段階に作用する分解酵素で、生体の調節機構の影響を受けて活動が動揺するということは推定に難くない所である。網内系と蛋白代謝の関係についての報告は未だ少ないが R. F. Kampshmidt⁵⁵⁾は zym-

osan による網内系刺激の際肝カタラーゼ活性が低下すると報告し、三浦ら⁵⁶⁾は家兎を用い墨汁投与によって網内系を填塞した群で、アルブミンが減少し α_1 、 α_2 -グロブリンは2週間まで増加するという成績を上げている。加藤ら⁵⁷⁾はSMA系雄マウスを用い、網内系機能の変化と肝酵素活性の関係を研究し、網内系の刺激では肝カタラーゼ、アミノトランスフェラーゼ活性に変化がなくて網内系機能低下のみられる絶食状態時には肝カタラーゼ低下が認められたと報告しているところから網内系と蛋白代謝の関連性については無視することはできないところである。

従って著者の行ったAH109A皮下腫瘍担癌ラットに於ける実験でも皮下腫瘍の増殖に伴い網内系機能低下とトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の低下がみられたところから網内系機能とトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能に代表される蛋白代謝の一環との関係については注目せざるを得ないように思われる。

そこでトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能が網内系により、いかなる影響を受けるものかを調べるために予め網内系を賦活及び阻害したラットにて、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能を調べる実験に着手したのであるが、網内系賦活措置として脾動脈結紮並びに網内系賦活剤パロチンの投与を行った。脾動脈結紮については、すでに水上⁵⁸⁾が報告されているがごとく一定の組織の血行が障害されると Caspari⁵⁹⁾ が提唱しているいわゆる Nekrohormon が発生し、これと同一系統に属する組織に、新生細胞の増殖が起こると言われる現象に基づいて、網内系の代表的な臓器である脾臓に注入する動脈血を急激に減少せしめ、これによって造成される脾ネクロホルモンによって生体全網内系を賦活しその活性を増大して、防禦力を増強せしめんとするものである。

一方パロチンについては、哺乳動物の新鮮な耳下腺より抽出精製された唾液腺ホルモン製剤で、全身の網内系組織に働いてその機能を賦活する生物学的な作用を有するものとして臨床的にも応用されている。

基礎実験に於いて上記両網内系賦活法の効果を検索したが、網内系機能検査コングレド係数が対照に比べて低値を示した。

次に網内系阻害措置として、トリパンプルーの投与並びにコルチゾン大量投与を行った。トリパンプルーの投与は網内系細胞を過剰の色素により充填し、その貪食能を見るのみならず、あらゆる機能を減弱せしめんとするものであり、コルチゾン投与はその網内系組織の再生の阻害ひいては機能の抑制をもたらすとされ

ている。この両措置を講じたラットに於いてコングレド係数は高値を示し、機能的に網内系活力低下が認められた。

以上の確認された方法により、網内系賦活措置を施こされた健常ラット及び網内系阻害措置を施こされた健常ラットにトリプトファンを投与し、基質によるトリプトファン・ピロラーゼの活性を見た実験では、網内系阻害措置によりトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の低下が認められた。更に投与されたトリプトファンの肝及び血中の蓄積が観察された。この様に健常ラットに於いてその網内系機能が低下している時には、トリプトファン投与によるトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が低下し、しかも肝及び血中のトリプトファン濃度が上昇する傾向が観察された。したがって担癌生体に於けるその網内系機能の低下は、腫瘍増殖に有利に作用しているものと推定される。

Ishikawaら⁵⁴⁾もGH130腹水肝癌の固型腫瘍を用いた実験によって血漿蛋白が腫瘍組織に多くとり込まれることを報告すると共に、更に同じ腫瘍の腹水細胞を用いて *in vitro* に於いても腫瘍細胞が血漿蛋白を利用しうることを確認しており、宿主血漿蛋白が腫瘍細胞に多くとり込まれる事実は、腫瘍細胞の旺盛な蛋白代謝に基因するものであると推定される。

著者の実験にも観察された担癌ラットのトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能の低下は、腫瘍増殖に有利に作用すると思われる担癌生体の網内系機能障害によって、少なからず影響を受けるものがあることは推定に難くない。

更に古川⁶⁰⁾宮崎⁶¹⁾宮城⁶²⁾磨伊⁶³⁾によっても癌原性物質の投与と共に、トリパンプルー或いはコルチゾン投与により網内系を阻害して腫瘍の発生並びに増殖状態を観察した所、対照に比べて腫瘍発生までの期間が短縮し、発生した腫瘍の増殖も速やかで、更に通常癌の発生を見るに至らない少量の癌原性物質を投与した場合でも、網内系阻害措置を講ずると発癌する動物が認められたことから、網内系機能低下は癌の発生増殖に対して促進的に作用することが指摘されている。

ところで著者の行なった実験では、網内系を賦活した担癌ラットに於いて、網内系を賦活したことによってトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能障害の改善が認められ、網内系を阻害した担癌ラットに於いては、そのトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が増悪し、腫瘍の増殖が促進され生存日数も短縮するのが観察された。

従って生体防禦機構に主役を演じる網内系は癌の増

殖に伴うトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成障害をモデルとした癌代謝系に関連性を有し、担癌生体に於いて認められる網内機能の障害は宿主の正常な代謝パターンの乱れを助長し腫瘍増殖に有利な方向に作用するものと考えられる。

結 論 文 献

担癌ラットに同時に認められた網内系機能低下とトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能低下に注目し、網内系機能とトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能との関係を検索すると共に、網内系機能が代謝の面からどの様に癌増殖に有利に働くかを追求し次の結論を得た。

1. Donryu 系雄ラットにAH109A腹水肝癌を背部に移植すると、その皮下腫瘍の増殖に伴い網内系機能(コンゴレッド法)は低下した、

2. Donryu 系雄ラットにAH109A腹水肝癌を背部に移植すると、その皮下腫瘍の増殖に伴いトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能は低下した。

3. Donryu 系雄ラットを用いたAH109A皮下腫瘍担癌ラットに於いて、基質トリプトファン腹腔内投与によって得られる肝臓のトリプトファン・ピロラーゼの活性すなわちトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が障害されているにもかかわらず、その分解が抑制されていると思われるトリプトファンは肝臓及び血中、尿中に於いても増加している傾向は認められなかったことから腫瘍増殖の素材として利用されるものと推定する。

4. 健常 Donryu 系雄ラットの網内系を阻害するトリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が低下し、肝及び血中にトリプトファンの増加する傾向が認められた。

5. AH109A担癌ラットに於いて網内系を減弱せしめると、トリプトファン・ピロラーゼの基質誘導形成能が増悪し腫瘍の増殖が促進する傾向が認められた。

6. AH109A担癌ラットに於いて網内系を賦活せしめると、トリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能障害が軽度改善され腫瘍の増殖が幾分抑制され、延命効果が得られた。

以上の実験結果から生体防禦機構に主役を演ずる網内系は、癌の増殖に伴うトリプトファン・ピロラーゼ基質誘導形成能低下をモデルとした癌代謝系に関連性を有し、担癌生体に於いて認められる網内系機能の障害は宿主の正常な代謝パターンの乱れを助長し、腫瘍増殖に有利な方向に作用するものと考えられる。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御鞭撻、御校閲を賜った恩師水上哲次教授に深甚の誠意を捧げ、貴重なる御助言、御支援を賜わった宮崎逸夫助教授、化学定量に関して直接御尽力いただいた本学附属病院薬剤部大滝武雄博士に感謝いたします。

- 1) White, F. R. & M. Melkin : J. Natl. Cancer Inst., 5, 261 (1945).
- 2) White, F. R. : J. Natl. Cancer Inst., 5, 265 (1945).
- 3) Mider, G. B., Tesluk, H. & Morton, J. J. : Acta. Unio. Intern. contra cancrum, 6, 409 (1948).
- 4) Mider, G. B. : Cancer Res., 11, 821 (1951).
- 5) Mider, G. B. : Cancer Res., 11, 731 (1951).
- 6) Greenstein, T. R., Birn Baum, S. M., Winitz, M. & Sugimura, T. : Arch. Biochem. Biophys., 81, 448 (1951).
- 7) Le Page, G. B., Potter, V. R., Busch, H., Heidelberger, C. & Hurebert, R. B. : Cancer Res., 12, 153 (1952).
- 8) Zamechick, P. C. & Hurebert, R. B. : Cancer Res., 12, 153 (1952).
- 9) Greenless, J. : Cancer Res., 15, 256 (1955).
- 10) Schneider, W. C. : Cancer Res., 685 (1946).
- 11) Knox, W. E. : Brit. J. Exp. Path., 32, 462 (1951).
- 12) Knox, W. E. & Mehler, A. H. : J. Biol. chem., 187, 419 (1950).
- 13) Knox, W. E. & Mehler, A. H. : Science, 113, 237 (1951).
- 14) 土肥淳二 : 奈良医誌, 12, 635 (1951).
- 15) Yamamura, Y., Fujii, S., Suzuki, T., Uesaki, N. & Kawachi, T. : gann, 52, 213 (1961).
- 16) Wood, S. Jr., Rivlin, R. S. & Knox, W. E. : Cancer Res., 16, 1053 (1950).
- 17) Fromme, A. : Das Mesenchym und die Mesenchymtheorie des Karcinoms, P. 130, Dresden und Leipzig, Theodorsteinkopff, 1953.

- 18) 水上哲次：最新医学，13，1770 (1958).
- 19) 水上哲次：日医新報，1805，21 (1958).
- 20) 水上哲次：老年病，5，30 (1951).
- 21) 水上哲次：老年病，3，746 (1959).
- 22) 水上哲次：癌と研，39，247 (1962).
- 33) Stern, K. : J. Lab. chin. Med., 26, 809 (1941).
- 24) 大森幸雄：日網会誌，3，47 (1963).
- 25) 山形徹一・三浦清美・金子照雄・菊田 豊：最新医学，5，1065 (1958).
- 26) Knox, W. E. : Methods in enzymology, academic. Press. Inc. N. Y., 2, 238 (1955).
- 27) 伊藤 澄：光電比色法各論，2，P.108，東京，南江堂，1960.
- 28) Hess, S. M., Udenfriend, S. : J. pharmacol. Exper. therap., 127, 175 (1959).
- 29) 拍木 力・平井淳子・長谷川敬彦：環境医学研究所年報XX，243 (1969).
- 30) Spices, S. & Chambers, D. : Anal. chem., 20, 30 (1948).
- 31) Stern, K. : Reticuloendothelial structure and function, 233, New York, Ronald, Press. Comp., 1966.
- 32) Aschoff, L. : Vortrage uber pathologie G. Fischer. Jena (1925).
- 33) Alder, H. U. & Reimann, H. : Beitrag zur Function's Prufung des Reticuloendothelialen Systems Zschr. Exper. Med., 47 : 617-633 (1925).
- 34) 明石真隆・渡辺文雄・橋口不可之：日内会誌，23：1229~1247 (1942).
- 35) 上田春次郎・原田福象：日内会誌，23：1229 (1962).
- 36) Stern, K. : J. Laborate. chin. Med., 26, 809 (1941).
- 37) 山形徹一・三浦清美・結城時男・内海信雄・添田 実・佐藤正次：癌，47，489 (1956).
- 38) 水上哲次・小坂 進：日医新報，2264，17 (1967).
- 39) 水上哲次・西尾 功・土原一弘・木藤光彦・藤田秀春：日本癌学会記事，第2回，163 (1969).
- 40) Morris, H. B. & Pitot, M. G. : Cancer Res., 21, 1009 (1961).
- 41) Knox, W. E. & Goswami, M. N. D. : Biochin. Biophys. acta., 50, 35 (1961).
- 42) Michels, R., Ratner, M. & Clouet, D. H. : Arch. Biochem., 273, 633 (1957).
- 43) Price, J. B. Jr. & Dietrich, L. S. : J. Biol. chem., 227, 633 (1957).
- 44) Feigelson, P. & Feigelson, M. : Biochim. Biophys. Acta., 32, 430 (1959).
- 45) Greengard, O. & Feigelson, P. : J. Biol. Chem., 237, 3714 (1962).
- 46) Ichii, S. : Gann, 49, 125 (1958).
- 47) Knox, W. E. : Cancer Res., 16, 1053 (1960).
- 48) 宮武 実・芝 茂：Gann, 55, 41 (1964).
- 49) Rothstein, M. & Greenberg, D. M. : Biochim. Biophys. acta., 34, 598 (1958).
- 50) Campbell, P. N. & Stone, N. E. : Biochem. J., 66, 669 (1957).
- 51) Henderson, J. F. & Lepage, G. A. : Cancer Res., 19, 749 (1959).
- 52) Babson, A. L. & Winnik, J. : Cancer Res., 14, 606 (1957).
- 53) Chin, L. E., Tannerberg, W. J. & Moldave, K. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 101, 140 (1959).
- 54) Ischkawa, E. & Suda, M. : Gann, 53, 81 (1962).
- 55) Kampschmidt, R. F. & Clabough, W. A. : J. Natl. Cancer Inst., 25, 713-718 (1960).
- 56) 三浦清美・宇塚善郎：日網会誌，8,16(1969).
- 57) 加藤美明・須賀昭二：日網会誌，8,18(1969).
- 58) 水上哲次：治療，42，1566 (1960).
- 59) Caspri, W. : Z. Krebsforsch., 19, 74 (1922).
- 60) 古川 信：十全医会誌，78，607 (1970).
- 61) 宮崎誠示：十全医会誌，71，84 (1960).
- 62) 宮城文男：十全医会誌，76，541 (1968).
- 63) 磨伊正義：十全医会誌，76，562 (1968).

Abstract

In order to clarify anti-tumor effects of infection, the survival time was investigated in the mice in which the RES was activated by infection, aseptic inflammation or fever.

The infection was induced by an injection of *E. coli* and *Staph. aureus* into the backs of mice and the inflammation was induced by an injection of Croton Oil. The fever was induced by an intravenous injection of TTG.

- 1) The activated RES function in the infection persisted for 7 days with the maximum on the third day. It persisted for 10 days, reaching the maximum on the fifth day in the inflammation and persisted for 5 days, getting to the maximum on the second day in the fever. The reticuloendothelial function was activated most remarkably in the infection.
 - 2) In the infection, when Ehrlich ascites carcinoma was implanted in the activated stage of the reticuloendothelial system, the survival time was prolonged, but in the non-activated stage of the reticuloendothelial system, the survival time was not prolonged.
 - 3) In the aseptic inflammation or fever also when Ehrlich ascites carcinoma was implanted, the survival time was prolonged but not longer than in the infection.
 - 4) When infection was induced in the early stage of Ehrlich ascites carcinoma the survival time was more prolonged.
 - 5) In a mixed injection of *E. coli* or *Staph. aureus* and Croton Oil into the backs of Ehrlich ascites carcinoma bearing mice, the survival time was more prolonged.
 - 6) From these results it follows that a bacterial infection activates the reticuloendothelial function and inhibits the tumor growth.
-