

担癌生体における腫瘍増殖と副腎皮質機能の相関

金沢大学医学部外科学第二講座(主任 水上哲次教授)

藤 井 浄

(昭和44年9月12日受付)

本論文の要旨は1968年4月第41回日本内分泌学会総会および1968年10月第27回日本癌学会総会において発表した。

生体内における殆んどすべての代謝過程はホルモンによって調整されていることは周知の事実であるが、個体の体細胞から発生する癌の発育増殖に際してもその宿主のホルモン環境が重要な影響を及ぼすものであろうことは推定に難くないところであって、少なくとも性ホルモンと癌との関連性についてはすでに Laccasagne¹⁾ は実験的にエストロゲンを中心としたホルモン内環境を転換することによって性ホルモン依存性の臓器癌、例えば乳癌の発生増殖を左右せしめ得たことを報告し、さらに近年ヒトの末期乳癌や前立腺癌に対するホルモン療法の有効性等^{2)・8)} が一般の容認を得ているところである。このような癌の増殖と宿主ホルモン環境との関連性はいわゆるホルモン非依存性の臓器の癌腫の場合にも考慮されるべき問題であって、この方面の研究は癌増殖の本態の究明に迫るのみならず癌治療において従来とその趣を異にした新分野の開発にも重要な手懸りを与えるものと考えられ、また一方担癌生体においては副腎の形態学的な変化がもたらされることはすでに Sholiton⁹⁾、中島¹⁰⁾ 等によって報告されているし、かつまた副腎の機能亢進が認められることも Furth¹¹⁾ によって指摘されているが、その機作に関しては不明な点も多い。そこで著者は主としていわゆるホルモン非依存性臓器癌を有する担癌生体のホルモン環境について、その副腎皮質の機能を中心として癌の増殖との関連性において検討し、2、3の興味ある知見を得たので報告する。

〔I〕皮下担癌ラットの担癌経過における副腎重量および血漿コルチコステロン値の変化

I. 実験方法

腹水肝癌 AH 109A の腫瘍細胞 1,000万個または20-メチルコラントレン誘発肉腫の小豆大切片を体重150gのドンリュール系雄性ラットの背部皮下に移植

し、AH 109A 担癌ラットでは移植後1、2、3週目に、20メチルコラントレン肉腫担癌ラットでは移植後1カ月目にそれぞれ体重、皮下腫瘍重量、副腎重量および血漿 11-OHCS 値を測定した。ラット体重および皮下腫瘍重量は上皿天秤で、副腎は周囲組織より十分に剝離摘出し、左右の副腎を合一して直ちにその湿重量をトオシオンバランスで測定した。また、血漿 11-OHCS の定量は De Moor の方法¹²⁾ に従い、蛍光比色はベックマン社製 Ratio Fluorometer で1次フィルター 470 m μ 、2次フィルター 520 m μ 、キューベットは 8×50 mm 円形のものを用いておこなった。

II. 実験成績

AH 109A 皮下腫瘍の重量は移植後第1週目で 2.1 ± 0.6 、第2週目で 21.9 ± 2.3 、第3週目で 36.0 ± 4.5 g と担癌経過のすすむにつれて増大し、20-メチルコラントレン肉腫の重量は移植後1カ月目で 45.1 ± 6.2 g であった。この経過における AH 109A 担癌ラットの副腎重量は、対照非担癌ラットの 25.2 ± 3.1 mg に対し、移植後1週、2週、3週では各々 27.4 ± 3.3 (体重比 0.163%)、 52.5 ± 3.2 (体重比 0.274%)、 59.8 ± 2.4 mg (体重比 0.281%) と2週目以後に著明な増加が認められ、20-メチルコラントレン肉腫移植後1カ月の副腎重量は 60.7 ± 1.1 mg (体重比 0.239%) であった。また、血漿 11-OHCS 値は非担癌対照の 14.6 ± 0.7 μ g/dl に対し AH 109A 担癌ラットにあっては移植後1週、2週、3週で各々 22.5 ± 1.4 、 26.1 ± 0.8 、 28.7 ± 0.7 μ g/dl と担癌経過のすすむにつれて増加することが認められ、20-メチルコラントレン肉腫担癌ラットでも移植後1カ月に 30.2 ± 1.4 μ g/dl と高値を示した。さらに、AH 109A 移植後2週目に皮下腫瘍を全摘除し、その後2週目の副腎重

On Correlation between Tumor Development and Adrenocortical Function in Tumor-Bearing Rats. Jo Fujii, Department of Surgery (II) (Director: Prof. T. Mizukami), School of Medicine, Kanazawa University.

量, 血漿値 11-OHCS を測定したところ各々 31.2 ± 3.4 mg, 18.2 ± 2.2 μ g/dl と非担瘤対照のそれらに近い値に減少していることが認められた (表1).

〔II〕担瘤ラットにおける副腎皮質コルチコステロン合成能

第I項で述べた如く AH 109A 担瘤ラットにおいて皮下腫瘍の発育にともなって副腎重量が増加し, かつ, 血漿 11-OHCS が増量することが観察されたのであるが, 本項においてはさらに皮下担瘤ラット副腎のコルチコステロン合成能を検討するために, in vivo および in vitro における 3 H-コレステロールの 3 H-コルチコステロンへのとりこみを観察した.

I. In vivo におけるコルチコステロン合成能

1. 実験方法

腹水肝癌 AH 109A の腫瘍細胞 1,000万個を体重約 150 g のドンリュウ系雄性ラット背部皮下に移植し, 移植後 1 週目および 3 週目に第 1 化学製 3 H-コレステロールの 1.25 mCi (エタノール 0.05 ml に溶解し生理食塩水で 0.5 ml に調製した) を尾静脈より静注した. 静注後 2 時間および 4 時間に頭部を打撲失神させ直ちに開腹, 両側副腎を摘出するとともに腹部大動脈よりヘパリナイズした注射器により採血したが, この際腹部諸臓器が, 脱血により変色蒼白化するまで採血を継続し, 可及的全採血になるようにつとめた.

採取した両側副腎に 7 ml の生理食塩水を加えてホモジナイズし, また, 血液は 2,000回転15分間遠心して血漿を分離し, これらホモジネートおよび血漿に各々 3 倍容の石油エーテルを加えて30秒間よく振盪洗滌し, 分液漏斗にて下層を採取, これに倍量のジクロロメタンを加えて 20回転倒振盪して 11-hydroxycorticoids (11-OHCS) の抽出を行なった. 次いで1,000回転10分間遠心し, これに 10 量の 10 N-水酸化ナトリウムを加えて15秒間強く振盪洗滌し, ジクロロメタン層をのこしてこれを60度の温浴にて蒸発乾固し試料

とした. なお石油エーテル, ジクロロメタン, エタノールおよび 10 N-水酸化ナトリウムは和光純薬製特級を使用した.

薄層クロマトグラフィ: Kieselgel G nach Stahl を用い, 250 μ の薄層とし, 100°C の乾熱に30分間放置して活性化し, 前記の試料を 0.05 ml のメタノールに溶解したものを 0.01 ml 宛マイクロシリンジにより Spot して付け, 展開溶媒はクロロホルム: メタノール 97: 3, 展開距離 100 mm, 所要時間は約30分, 展開後濃硫酸の噴霧により発色せしめた. なお, 分画を明瞭にするため, 東京化成製コルチコステロン 5~10 μ g を試料中に添加した. メタノールおよびクロロホルムは和光純薬製特級, 硫酸は高純度特級を使用した. 次に, 薄層クロマトグラムの分画をかき採り, ウィンドレスガスフローカウンターで同分画の放射能を計測し, 1 分間のカウント数 (C.p.m.) であらわした.

2. 実験成績

担瘤 1 週ラットの副腎重量は非担瘤対照の 25.2 ± 3.4 mg に対し 27.5 ± 2.4 mg と殆んど差異を認めなかった. また, 全血中のコルチコステロン C. p. m. は, 3 H-コレステロール静注 2 時間値で対照の 37 ± 3 に対し 62 ± 8 と増加し, その単位副腎重量に対する比率は対照の 1.53 ± 0.19 C.p.m./mg に対し, 2.22 ± 0.31 C.p.m./mg と約 1.5 倍の増加を示した. 担瘤 3 週ラットでは, 副腎重量は対照の 37.6 ± 2.5 mg に対し 52.4 ± 4.1 mg と約 40% の増加を認めるが, 単位重量当りの副腎コルチコステロン C.p.m. は対照, 担瘤で各々 1.78 ± 0.03 , 1.61 ± 0.05 と殆んど差異を認めない. 3 H-コレステロール静注 2 時間後の全血中コルチコステロン C.p.m. は対照の 71 ± 4 に対し 100 ± 10 と増加しているが, 副腎単位重量に対する比率は対照の 1.94 ± 0.13 に対し 1.91 ± 0.14 と殆んど差異を認めない. しかるに静注 4 時間後の全血中コルチコステロン C.p.m. は対照 35 ± 3 に対し 78 ± 6 と増

表 1. 皮下腫瘍の増殖と副腎重量および血漿コルチコステロンの変化

	対 照 (20)	AH 109A 移植後週 (動物数)				腫瘍摘除後 2 週 (20)	MC 腫瘍移植 1 カ月 (10)
		1 (10)	2 (10)	3 (10)			
腫瘍重量 (g)	—	2.1 ± 0.6	21.9 ± 2.3	36.0 ± 4.5	—	45.1 ± 6.2	
副腎重量 (mg)	25.2 ± 3.1	27.4 ± 3.3	52.5 ± 3.2	59.8 ± 2.4	31.2 ± 3.4	60.7 ± 1.1	
体 重 (g)	143	165	193	213	155	253	
副腎体重比 (mg/g)	0.174	0.163	0.274	0.281	0.189	0.239	
漿血 11-OHCS (μ g/dl)	14.6 ± 0.7	22.5 ± 1.4	26.1 ± 0.8	28.7 ± 0.7	18.2 ± 2.2	30.2 ± 1.4	

加し、その減少率は対照の50%に比し21%であった(表2)。

II. In vitro におけるコルチコステロン合成能

ステロイド合成に影響する副腎以外の因子を除外して副腎単独のステロイド合成能をみるために J. Vander Vies の方法¹³⁾にしたがい、in vitro における副腎の³H-コルチステロールから³H-コルチコステロンへのとりこみを検討した。

1. 実験方法

腹水肝癌 AH 109A の腫瘍細胞 1,000万個をドリュウ系雄性ラットの背部皮下に移植し、移植後1, 2, 3週目にラットを断頭屠殺し、直ちに開腹、両側の副腎を周囲組織を含まぬように分離摘出し、トルージョンバランスにより正確にその湿重量を測定した。摘出した副腎を直ちに安全カミソリで四等分し、これを副腎 1mg につき 0.1 ml 宛の Krebs Ringer-

bicarbonate 液に投じ、625 μ Ci の³H-コルチステロールを加え、5%炭酸ガス含有酸素気流中で恒温振盪培養装置により 37°C 2時間培養し、培養液中に滲出した³H-コルチコステロンを前項同様の方法によりジクロールメタンで抽出して薄層クロマトグラフィで分画、この画分の放射能をウインドレスガスフローカウンターで計測し、C.p.m. であらわした。

2. 実験成績

担癌ラットの副腎重量は担癌 1, 2, 3週目で各々 21.2 \pm 2.1, 38.3 \pm 3.5, 52.2 \pm 5.5 mg と非担癌対照 1, 2, 3週目の副腎重量の各 18.5 \pm 0.8, 22.4 \pm 1.4, 40.1 \pm 2.5 mg に比し、担癌経過のすすむにつれて増加することが観察された。かかる副腎のコルチコステロン産生能は担癌 1, 2, 3週目で各々 53 \pm 5, 80 \pm 7, 113 \pm 12 C.p.m. と増加するが、副腎 100 mg 当りの C.p.m. 各々 250, 210, 217 であって、

表2. AH 109A 皮下担癌ラットのコルチコステロン産生能
—³H-コルチステロールの³H-コルチコステロンへのとりこみ— (in vivo)

移植後	注射後	実験群	動物数	副腎			全血液		減少率
				(mg)	C.p.m.	C.p.m./mg	C.p.m.	C.p.m./mg 副腎	
1週	2時間	担癌	6	27.5 \pm 2.4	54 \pm 7	1.66 \pm 0.14	62 \pm 8	2.22 \pm 0.31	
		対照	6	25.2 \pm 3.4	43 \pm 5	1.71 \pm 0.11	37 \pm 3	1.53 \pm 0.19	
3週	2時間	担癌	6	52.4 \pm 4.1	84 \pm 8	1.61 \pm 0.05	100 \pm 10	1.91 \pm 0.14	
		対照	6	37.6 \pm 2.5	66 \pm 4	1.78 \pm 0.03	71 \pm 4	1.94 \pm 0.13	
	4時間	担癌	6	50.1 \pm 3.7	38 \pm 5	0.75 \pm 0.05	78 \pm 6	1.60 \pm 0.04	21%
		対照	6	35.5 \pm 3.5	21 \pm 4	0.58 \pm 0.07	35 \pm 3	0.94 \pm 0.06	50%

$$\text{コルチコステロン減少率} = \frac{2\text{時間値} - 4\text{時間値}}{2\text{時間値}} \times 100\%$$

表3. AH 109A 皮下担癌ラット副腎のコルチコステロン産生能
—³H-コルチステロールの³H-コルチコステロンへのとりこみ— (in vitro)

実験群	動物数	副腎重量 (mg)	C.p.m.	C.p.m./100mg 副腎
無処置対照	20	12.5 \pm 1.8	31 \pm 4	248
担癌1週	5	21.2 \pm 2.1	53 \pm 5	250
1週対照	5	18.5 \pm 0.8	42 \pm 1	225
担癌2週	10	38.3 \pm 3.5	80 \pm 7	210
2週対照	10	22.4 \pm 1.4	50 \pm 3	223
担癌3週	10	52.2 \pm 5.5	113 \pm 12	217
3週対照	10	40.1 \pm 2.5	83 \pm 5	207

非担癌対照 1, 2, 3 週目の副腎 100 mg 当りの C. p.m. の各 225, 223, 207 と比較して殆んど差異を認めなかった (表 3).

Ⅲ. 副腎コルチコステロン合成予備能

担癌ラットの副腎皮質におけるコルチコステロン合成予備能を検討するために, *in vitro* において, ACTH を添加し, この際の ^3H -コレステロールから ^3H -コルチコステロン合成を薄層クロマトグラフィーにより測定した.

1. 実験方法

前第 2 項におけると同様の方法で移植後 3 週目の副腎培養液中に副腎 100 mg に対し ACTH の 1 国際単位宛を添加して 2 時間培養し, 培養液中の ^3H -コルチコステロンを薄層クロマトグラフィーで分画, その画分の放射能を計測した.

2. 実験成績

担癌ラット副腎 100 mg 当りの C.p.m. は 220 ± 15 であったが, これに ACTH を添加すると 367 ± 19 C.p.m. で, 約 66% のコルチコステロン合成の増加が認められた. これに対し, 非担癌ラット副腎 100 mg 当りの C.p.m. は 222 ± 8 であったが, ACTH 添加により 380 C.p.m. と 71% 増加し, 担癌ラット副腎でも, 対照非担癌ラット副腎と殆んど差異なくコルチコステロン合成予備能を有することが観察された (表 4).

IV. 小 括

副腎における ^3H -コレステロールから ^3H -コルチコステロンへのとりこみは, *in vivo*, *in vitro* のいずれの実験においても, 担癌ラットで亢進しているが, 副腎単位重量当りのとりこみは担癌および非担癌ラット副腎で殆んど差異は認められず, コルチコステロン合成能はほぼ同様であると思われる. 担癌第 1 週における副腎重量は対照と殆んど差異を認めないが, 単位副腎重量当りの C.p.m. は *in vivo*, *in vitro* 実験ともに担癌 2, 3 週目ラットに比して高値を示した

表 4. AH109A 皮下担癌ラット副腎の
コルチコステロン産生予備能
—ACTH 添加による ^3H -コレステロールの
 ^3H -コルチコステロンへのとりこみの増加
(*in vitro*)

	C.p.m./100 mg · 副腎		増加分
	ACTH 非添加	ACTH 添加	
担癌	220 ± 15	367 ± 19	66%
対照	222 ± 8	380 ± 11	71%

ので, 担癌 1 週目においてはコルチコステロン合成能は著明に亢進しているものと推定される. また, *in vivo* における ^3H -コレステロール投与後 2 時間目より 4 時間目までの 2 時間の ^3H -コルチコステロンの減少率は, 担癌ラットにおいて低下し, さらに ACTH に対する反応性は, 担癌および非担癌ラット副腎で殆んど差異が認められないが, 担癌により副腎が肥大するので担癌ラット副腎のコルチコステロン合成量は全体としてその重量増加に相当して亢進しているものと考えられる.

〔Ⅲ〕 腫瘍可溶性画分の血漿 11-OHCS におよぼす影響

担癌ラットでは, 副腎重量が増加し, かつ, コルチコステロン合成の亢進が認められたのであるが, この機作を解明する目的で腫瘍の可溶性成分の健常ラット血漿 11-OHCS 値におよぼす影響につき検討を加えた.

I. 実験方法

前項同様腹水肝癌 AH 109A 腫瘍細胞 1,000 万個を体重約 150 g のドンリュウ系雄性ラットの背部皮下に移植し, その後 2 週目の腫瘍および生理食塩水灌流肝臓をナイフにより細分し, 各々 4 倍量の 0.25 モル蔗糖液を加え, Potter のガラスホモジナイザーでホモジネートし, ガーゼ 2 枚にて濾過したものを 30,000 G 5 分間遠心し, その上清をさらに日立超遠心機による 105,000 G 2 時間遠心の上清 (可溶性画分) を採取した. 以上の操作はすべて無菌的に 0°C の状態で行なった. この上清の蛋白量の測定は Biuret 法¹⁴⁾ によったが, Biuret 試薬および Thymol 加尿素液は型の如く調整し, 基準溶液として牛アルブミン (Armour Company, Chicago) の 0.5 g/dl, 1.0 g/dl, 1.5 g/dl, 2.0 g/dl 液を使用し, 比色はコールマン社製 Spectrophotometer により波長 560 m μ で測定した.

腫瘍の 105,000 G 上清の蛋白量にして 5 mg, 10 mg, 20 mg を, また対照として担癌ラット肝臓の 105,000 G 上清の蛋白量にして 20 mg を体重約 200 g のドンリュウ系雄性ラットに筋注し (静注はラットを死亡せしめる), 経時的に血漿 11-OHCS を De Moor の方法¹²⁾ に従って測定した. 螢光比色はベックマン社製 Ratio Fluorometer で, 1 次フィルター 470 m μ , 2 次フィルター 520 m μ , キューベットは 8×50 mm 円形のものを用いて行なった.

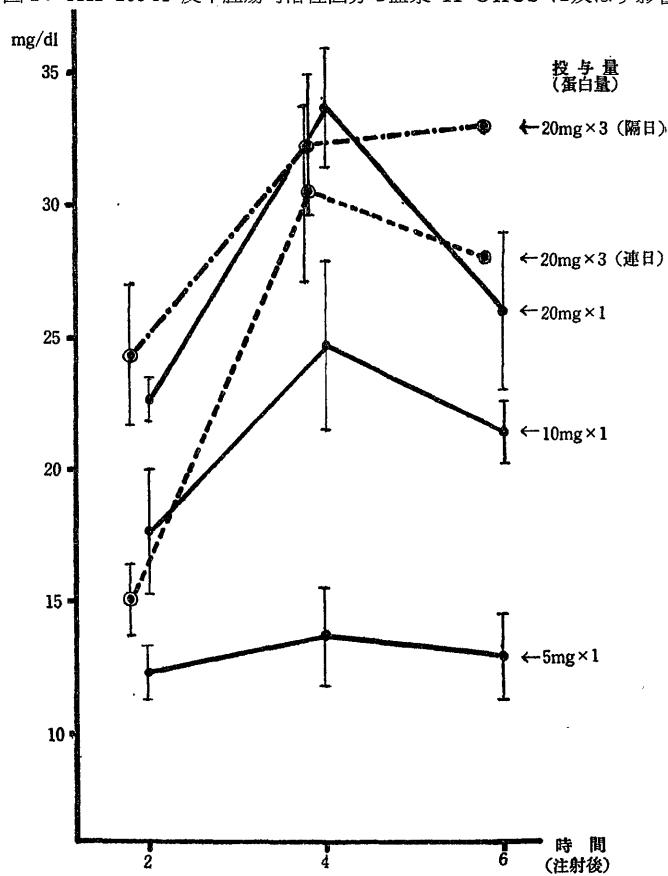
II. 実験成績

0.25 モル蔗糖液を腫瘍の 4 倍容量加えて得た, 105,000 G 上清 (可溶性画分) の蛋白濃度は 10 ない

表 5. AH 109A 皮下腫瘍可溶性画分の血漿 11-OHCS に及ぼす影響

注射後間時 蛋白量 (5mg/ml)		血 漿 11-OHCS ($\mu\text{g}/\text{dl}$)		
		2	4	6
腫瘍可溶性画分	5mg/日 1回	12.5 \pm 1.2	13.8 \pm 2.1	13.1 \pm 1.6
	10mg/日 1回	17.7 \pm 2.5	24.8 \pm 3.3	21.5 \pm 1.4
	20mg/日 1回	22.6 \pm 0.8	33.7 \pm 2.4	26.0 \pm 3.1
	20mg/日 3回(連日)	15.2 \pm 1.6	30.6 \pm 3.5	28.2 \pm 2.5
	20mg/日 3回(隔日)	24.5 \pm 2.6	32.6 \pm 3.0	33.0 \pm 1.4
担癌ラット肝可溶性画分 (蛋白量 20 mg)		12.7 \pm 1.4	13.0 \pm 0.8	12.5 \pm 1.5
0.25 モル 蔗糖液 (4 ml)		13.4 \pm 1.0	13.0 \pm 1.2	12.7 \pm 1.4

図 1. AH 109A 皮下腫瘍可溶性画分の血漿 11-OHCS に及ぼす影響



し 20 mg/dl であった。可溶性画分の蛋白量にして 5 gm 筋注後 2, 4, 6 時間目のラット血漿 11-OHCS 値は各々 12.5 ± 1.2 , 13.8 ± 2.1 , 13.1 ± 1.6 $\mu\text{g/dl}$ であって、対照の $12.5 \mu\text{g/dl}$ に比し、注射後 4 時間目にピークをもつ増量が認められ、蛋白量にして 10 mg の可溶性画分筋注後 2, 4, 6 時間目の血漿 11-OHCS 値も各々 17.7 ± 2.5 , 24.8 ± 3.3 , $21.5 \pm 1.4 \mu\text{g/dl}$ であった。また、蛋白量 20 mg の可溶性画分筋注後 2, 4, 6 時間目の血漿 11-OHCS 値は各々 22.6 ± 0.8 , 33.7 ± 2.4 , $26.0 \pm 3.1 \mu\text{g/dl}$ であって、可溶性画分の蛋白量の多寡にかかわらず投与 4 時間目にピークをもつ増加傾向が認められ、また、画分中の蛋白量の増加にともなって、血漿 11-OHCS 値も増量していることが観察された。さらに、蛋白量 20 mg の可溶性画分 1 日 1 回連日 3 回投与群では、3 回目投与後 2, 4, 6 時間目の血漿 11-OHCS 値は各々 15.2 ± 1.6 , 30.6 ± 3.5 , $28.2 \pm 2.5 \mu\text{g/dl}$ であり、同じく蛋白量 20 mg の可溶性画分を 1 日 1 回隔日 3 回投与群では、3 回目投与後 2, 4, 6 時間目で各々 24.5 ± 2.6 , 32.6 ± 3.0 , $33.0 \pm 1.4 \mu\text{g/dl}$ であって、連続投与は 1 回投与群に比し投与後 6 時間目の血漿 11-OHCS 値の減少の遅延が認められ、20 mg 隔日 3 回投与群においては、投与後 6 時間目に至ってもなお 2 時間値より高値を示した。なお担癌ラット肝臓の可溶性画分の蛋白量にして 20 mg の筋注では血漿 11-OHCS 上昇作用は認められなかった (表 5, 図 1)。

III. 小 括

腹水肝癌 AH 109A の皮下腫瘍の可溶性画分を健常ラットに筋注すると血漿 11-OHCS 値は筋注後 4 時間目にピークをもつ上昇を示し、この画分の血漿 11-OHCS 増量作用は蛋白含有量に比例し、蛋白量 20 mg の可溶性画分の連日または隔日 3 回筋注群では、同 1 回筋注群に比し血漿 11-OHCS 値は持続的な高値を示した。なお、対照として行なった担癌ラッ

ト灌流肝の可溶性画分にはかかる血漿 11-OHCS 上昇作用は認められなかった。

〔IV〕 腫瘍可溶性画分の腫瘍移植率および腫瘍増殖におよぼす影響

前述の如く、腫瘍の可溶性画分の投与により、血中 11-OHCS 値の上昇することが観察されたのであるが、かかる処置ラットに Walker carcinosarcoma 256 または 20-メチルコラントレン誘発肉腫を皮下移植した際の移植率および増殖態度につき検討を加えた。

I. 実験方法

20-メチルコラントレン肉腫の移植にはドンリュース系雄性ラットを、Walker carcinosarcoma 256 の移植にはウィスター系雄性ラットを使用した。前項と同様の操作により AH 109A 腫瘍の 105,000 g 上清を作製し、蛋白量にして 20 mg 相当量をラット背部に 1 日 1 回連日注射した群と隔日注射した群を設定し、各々 3 回目の注射終了後に Walker carcinosarcoma 256 の腫瘍細胞 1,000 万個または 20-メチルコラントレン肉腫の小豆大切片をそれぞれラット背部皮下に移植し、その発育を観察した。

II. 実験成績

20-メチルコラントレン肉腫の小豆大切片による皮下移植率は移植 10 日目で 8%, 20 日目で 46%, 30 日目で 48% と低率であるが、AH 109A 皮下腫瘍の 105,000 G 画分の連日 3 回投与群における同肉腫の移植率は移植後 10 日目で 38%, 20 日目で 84% と移植率の増加を認め、同画分の隔日 3 回投与ラットにおける移植率も移植後 10 日目で 74%, 20 日目で 94% と明らかな移植率の上昇が観察された (表 6)。また、Walker carcinosarcoma 256 の移植率は 85% と高率であるが、これに同画分を隔日 3 回投与すると、移植率は 100% に上昇し、かつ、腫瘍の増殖も促進されて移植後 14 日目の観察で、腫瘍重量は無処置対照の 14.7 g に対し 22.4 g であった (表 7)。

表 6. AH 109A 皮下腫瘍可溶性画分の 20-メチルコラントレン皮下腫瘍移植率に及ぼす影響

実 験 群	移 植 率		
	10 日 目	20 日 目	30 日 目
対 照 群	4/50 (8%)	23/50 (46%)	24/50 (48%)
連日 3 回投与後移植	19/50 (38%)	42/50 (84%)	42/50 (84%)
隔日 3 回投与後移植	37/50 (74%)	47/50 (94%)	47/50 (94%)

1 回投与量は蛋白量 20 mg

Ⅲ. 小 括

腹水肝癌 AH 109A 腫瘍の可溶性画分の蛋白量にして 20 mg 相当量を健常ラットに投与すると血中 11-OHCS 値の増加が認められたが、かかるラットに 20-メチルコラントレン肉腫または Walker carcinosarcoma 256 を移植するとそれぞれの移植率の上昇が認められ、Walker carcinosarcoma 256 においてはその増殖の促進が観察された。

〔V〕 AH 109A 腫瘍可溶性画分の作用機序

以上の如く、腫瘍成分中には血中 11-OHCS 値を上昇せしめる作用をもつ物質の存在することが観察されたのであるが、この物質が直接副腎皮質に作用するのか、あるいは下垂体を介して副腎皮質に作用するのかを下垂体摘除ラットを用いて検討した。

Ⅰ. 実験方法

右側副腎摘除 1 週間後のドンリュウ系雄性ラットにオウロパンソーダ 10ないし 12.5 mg/100 g 体重を腹腔内に投与して麻酔し、外聴道より小山氏法田中氏変法¹⁵⁾により下垂体を 5 cc 注射器にて吸引摘出し、採血後開頭により下垂体の摘除を確認した。かかる下垂体摘除ラットに AH 109A 皮下腫瘍の可溶性画分の蛋白量にして 20 mg を筋注し、筋注直後、1 時間後および 2 時間後に開腹して下大静脈の左副腎静脈分岐部にポリエチレンチューブを挿入しヘパリナイズした注射器で極めて徐々に吸引し、15 分間に約 1 ml の血液を採取し得た。この血液の血漿 11-OHCS を De Moor の方法により測定した。

表 7. AH 109A 可溶性画分の Walker carcinosarcoma 256 増殖に及ぼす影響

	14日目移植率	腫瘍重量
対 照 群	19/23 (85%)	14.7g
隔日 3 回投与後移植	25/25 (100%)	22.4g

1 回投与量は蛋白量 20 mg

表 8. 下垂体摘除ラットにおける AH 109A 腫瘍可溶性画分投与後の 11-OHCS OUTPUT ($\mu\text{g}/\text{dl}$)

摘 除 前	下垂体摘除後 2 時間	
	可溶性画分投与 1 時間後	対 照
13.2 \pm 1.3	1.05 \pm 0.15	1.07 \pm 0.12

可溶性画分投与量は蛋白量 20 mg

Ⅱ. 実験成績

下垂体摘除 2 時間後のラット血漿 11-OHCS 値は 3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ までであって、非下垂体摘除ラットの 13.2 $\mu\text{g}/\text{dl}$ に比し低値を示した。下垂体摘除ラットに AH 109A 腫瘍可溶性画分の蛋白量 20 mg 筋注 1 時間後の静脈血中 11-OHCS 値は、1.05 \pm 0.15 $\mu\text{g}/\text{dl}$ で可溶性画分非投与の 1.07 \pm 0.12 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と殆んど差異が認められず、下垂体摘除ラットにおいては、腫瘍可溶性画分の血漿 11-OHCS 上昇作用は認められなかった (表 8)。

Ⅲ. 小 括

下垂体摘除ラットにおいては AH 109A 腫瘍可溶性画分の蛋白量にして 20 mg 相当量を投与しても副腎静脈中血漿 11-OHCS 値の上昇が認められなかったことから、AH 109A 腫瘍可溶性画分は下垂体を介して副腎に作用し、血漿 11-OHCS 値を上昇せしめるものと思われる。

考 察

担癌生体においては副腎が肥大してその重量が増加することは広く容認されているところであるが¹⁶⁾⁻²⁰⁾、著者の腹水肝癌 AH 109A 皮下担癌ラットにおける観察でも同様であって、AH 109A の腫瘍細胞 1,000 万個をドンリュウ系ラットに皮下移植すると、移植後 1, 2, 3 週の腫瘍の重量は各々 2.1 \pm 0.6, 21.9 \pm 2.3, 36.0 \pm 4.5 g と漸増していくのであるが、これにともなって副腎重量も増大して移植後 1, 2, 3 週のそれは各々 27.4 \pm 3.3, 52.5 \pm 3.2, 59.8 \pm 2.4 mg と対照非担癌ラットの 25.2 \pm 3.1 mg に比し増大することが認められた。担癌経過にあっては担癌動物の体重も変化するので副腎重量の変化を体重の変化との相関において吟味すべく副腎重量の比体重を算出検討したが、担癌 1, 2, 3 週のそれは各々 0.163, 0.274, 0.281 (mg/g) であって非担癌対照の副腎重量比体重は 0.174 (mg/g) であったのに対し、担癌経過にともなって、宿主生体の体重の変化にかかわらず副腎重量の増加することが判明し、また、20-メチルコラントレン肉腫担癌ラットにおいても、同腫瘍移植後 1 カ月目の観察では腫瘍重量の平均値は 45.1 g であったが、この時期における副腎重量は 60.7 mg であり、副腎重量の比体重は 0.239 mg/g であって、20-メチルコラントレン肉腫担癌ラットにおいても副腎重量の増加が認められた。かかる副腎重量増加は、組織学的には皮質部分とくに束状層の肥大であることが指摘されている¹¹⁾。また、Sholiton⁹⁾によれば、肺癌およびその他の臨床癌症例の剖検例

での副腎皮質幅は各々平均 1.68 mm, 1.57 mm であって、非癌症例の剖検 100例の平均 1.46 mm と比較して臨床癌症例における副腎皮質幅の増加が認められている。しかしかかる肥大した副腎皮質の機能に関してはこれを機能亢進と解するもの¹⁸⁾⁻²⁰⁾、あるいは機能低下とするもの²¹⁾等があつて一定した見解が得られていない。そこで著者はこの問題を解明するために、まず、担癌ラット血中の副腎皮質ホルモンの測定を行なつた。ラットの血中コルチコステロイドは大部分がコルチコステロンとされているので著者は、De Moor の方法により、血漿 11-Hydroxycorticosteroids (11-OHCS) を定量して、担癌ラットにおける経時的な血中コルチコステロンの変動を追求した。対照非担癌ラット20頭の血漿 11-OHCS の平均値は $14.6 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$ であつたが、AH 109A 皮下移植後 1, 2, 3 週各 10頭の血漿 11-OHCS 値は各々 22.5 ± 1.4 , 26.1 ± 0.8 , $28.7 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$ であり、また、20-メチルコラントレン肉腫担癌ラットにおいても担癌 4 週目の血漿 11-OHCS 値は $30.2 \pm 1.4 \mu\text{g/dl}$ であつて、腫瘍の種類に如何にかかわらず担癌経過のすすむにつれて血漿 11-OHCS の増量していくことが観察された。ところで血漿 11-OHCS 値の増加は副腎皮質におけるホルモン産生の増加および同ホルモンの末梢における利用低下、肝臓での代謝障碍ならびに腎臓での排泄遅延に起因するものと考えられるが、著者の実験から得られた成績から担癌ラットにおける血漿 11-OHCS 値の上昇はその副腎重量の増加と相関するように思われるが、この点をさらに明確にするために、副腎皮質におけるホルモン産生能について検討を加えた。副腎皮質ホルモンはコレステロールを基材として合成されるので著者は *in vivo* および *in vitro* における ^3H -コレステロールの副腎コルチコステロンへのとりこみにつき検討を加えた。すなわち、AH 109A 皮下担癌 1 週目のラットに 1.25 mCi の ^3H -コレステロールを尾静脈内に投与し、その 2 時間後における副腎の ^3H -コルチコステロンの放射活性は 45 C.p.m. で対照非担癌ラットのそれは 43 C.p.m. であり、これを副腎の単位 mg 当りにしても担癌および非担癌対照ラットで各々 1.66 および 1.71 C.p.m. と殆んど差異を認めなかつた。さらに AH 109A 皮下担癌 3 週目のラットにおける検討でも、 ^3H -コレステロール投与後 2 および 4 時間後の副腎 ^3H -コルチコステロンの放射活性は各々 52.4 および 50.1 C.p.m. でそれぞれの対照各々 37.6 および 35.5 C.p.m. より高値を示したが、担癌 3 週目では副腎の重量が増加しているのをこれを副腎単位 mg 当りに

換算して比較すると、担癌ラットの ^3H -コレステロール投与 2 時間、4 時間後の副腎コルチコステロンの放射活性は各々 1.61, 0.75 C.p.m./mg 副腎であつて、対照非担癌ラットのそれらが 1.78, 0.58 C.p.m./mg 副腎であつたことから、担癌ラット副腎は単位重量当りにおいては、対照非担癌ラットと同様のホルモン産生能を保持していることが判明した。しかし担癌ラットにあつては副腎の重量が増加するのでその増加分だけホルモン産生量が増加しているものと推定される。次に、副腎における皮質ホルモンの産生に影響をおよぼす因子を除外するために *in vitro* における ^3H -コレステロールの副腎コルチコステロンへのとりこみを検討したが、AH 109A 皮下担癌 1, 2, 3 週目のラット副腎の ^3H -コレステロールのコルチコステロンへのとりこみは各々 53, 80, 113 C.p.m. であつて、これら放射活性の副腎 100 mg 当りの C.p.m. は各々 250, 210, 217 であり、各対照の 225, 223, 207 C.p.m. と大差を認めず、先述の *in vivo* における成績とはほぼ同様の傾向が観察され、担癌ラットにおいては副腎皮質ホルモンの産生量が増加していることが強く推定された。従来、担癌生体における副腎の肥大はその機能低下を補助するために惹起されたとするものもあるが、著者の実験では副腎の単位重量当りのホルモン産生量が担癌、非担癌ラットで殆んど差異を認めなかつたことから、担癌ラットにおける副腎肥大は機能低下に起因するものとは考え難い。

一方担癌ラットで認められる副腎の肥大と高コルチコステロイド血状態は腫瘍の摘除により消失することが観察されたので、かかる状態の発現には腫瘍のある種の成分の関与が推定されることである。そこで著者は腫瘍に 4 倍容の 0.25 M 蔗糖液を加えてホモジネートし、その 105,000 G 遠心上清 (腫瘍可溶性画分) の血漿コルチコステロイド値におよぼす影響につき検討を加えたところ、AH 109A 皮下腫瘍のホモジネートの 105,000 G 遠心上清の蛋白量 20 mg 相当量の投与により健常ラットの血中コルチコステロンは著明に上昇し、しかも同画分の連続投与により持続的な高コルチコステロイド血状態を惹起することが認められた。しかるに肝ホモジネートの 105,000 G 上清および 0.25 M 蔗糖液の筋注によってはかかる血漿 11-OHCS 値の上昇作用は認められなかつたので、著者の腫瘍可溶性画分の血漿 11-OHCS 値上昇作用は腫瘍のある種の成分によるものであることが確認された。かかる腫瘍可溶性画分中には種々の成分を含有しているものと考えられるが、そのうち如何なる成分が血漿コルチコステロイド上昇作用を有するかについて

は現在検討中である。一方腫瘍よりの抽出物であるトキソホルモンについては河内ら²²⁾が、その投与により肝トリプトファンピロラーゼ活性を低下せしめることを認め、この酵素が副腎皮質ホルモンにより誘導されるところから、トキソホルモンは副腎皮質機能を抑制することを示唆しており、著者の認めた腫瘍可溶性画分中の成分とは本質的に異なるものと考えられる。次に腫瘍可溶性画分の作用点に関して、それが副腎に直接作用するのか、あるいは下垂体を介して副腎に作用するのかについては問題となるところである。Mc Euenら²³⁾、Haddowら²⁴⁾、小林²⁵⁾、島²⁶⁾らは担癌ラットにおいては下垂体に変化し、また Ball²⁷⁾は担癌による副腎の肥大が下垂体摘除で抑制されることを報告しているの、下垂体を介して副腎に作用する可能性もあるが他方、**ectopic hormone producing tumor** にあっては、産生されたホルモンは直接 **target organ** に作用するとされているので、著者の可溶性画分は副腎に直接作用する可能性もある。そこで著者はあらかじめ下垂体を摘除したラットに AH 109A 腫瘍の可溶性画分を投与したが、この際には血漿 11-OHCS 値に変動を認めなかったところから、腫瘍可溶性画分は下垂体を介して副腎皮質に作用しそのホルモンの産生、分泌を促進せしめたものと考えられる。Furth¹¹⁾は担癌動物の副腎皮質機能の亢進は腫瘍成分の高位中枢への作用による下垂体 ACTH の分泌増加によるものであることを実験的に示唆しており、また、Sydnorら²⁸⁾、島²⁶⁾も担癌動物では血中 ACTH 活性の上昇しているものが多いことを報告している。従来、副腎皮質の機能調節に下垂体は重要な役割を演じ、血中の副腎皮質ホルモンの濃度を介して ACTH の分泌が調節されるといういわゆる **long negative feedback** 機構なる概念が確立されているが、1955年 Saffranら²⁹⁾が視床下部より **Corticotrophin Releasing Factor (CRF)** を分離して以来視床下部一下垂体を中心とせるいわゆる **short feedback** 機構の作用も副腎皮質機能に影響するものと考えられるようになった。これまでの著者の実験成績からは腫瘍の可溶性画分の作用は下垂体を介するものであることが判明したが、この画分は下垂体そのものに作用しているのか、あるいは視床下部一下垂体を介して作用しているのかについては不明で、今後解明されるべき問題であろう。

次に著者の **in vivo** における ³H-コレステロールの ³H-コルチコステロンへのとりこみ実験においては副腎皮質ホルモンの産生および分泌の亢進と同時に、³H-コルチコステロンの減少率の低下が認められ

た。すなわち、AH 109A 担癌3週目のラットにおける ³H-コレステロール 1.25 mCi 投与後2時間および4時間の血中コルチコステロンの放射活性は各々 100 および 78 C.p.m. であって、投与後2時間目より4時間目までの2時間における減少率は21%であったが、対照非担癌ラットにおいてはその減少率は50%であった。かかる事実から担癌ラットにおける高コルチコステロイズ血の発現には、副腎におけるコルチコステロイズ産生の増加以外にコルチコステロイズの末梢代謝、就中その主要臓器である肝機能の変化が重要な役割を演ずるものと思われる。担癌生体における肝臓の代謝異常に関しては多数の研究がなされ³⁰⁾、肝臓に転移の認められない場合でも、血清蛋白、アルカリフォスファターゼ値、BSP、コリンエステラーゼ等が変化し、GPT の低下と GOT の上昇等が報告³¹⁾され、担癌における肝臓機能の低下が報告されている。肝障害時にはエストロゲンの不活性化が障害されるとされており、エストロゲンは血漿蛋白のコルチゾール結合能をたかめ、その投与は正常人では血中消失の半減期を延長するものとされているので、著者の担癌ラットで認めた ³H-コルチコステロンの消失速度の減少は、一応このエストロゲン効果による可能性も考えられるが、Schedel³²⁾は肝疾患ではこのようなエストロゲン効果はみられず、そのコルチゾール代謝異常は **transcortin** とコルチゾールの結合の変化によるものでないと述べており、中島¹⁰⁾は AH 109A 腫瘍担癌ラットでは腫瘍の増大にともなって、血漿のコルチコステロン結合能が漸進的に低下することを観察しており、コルチコステロン減少率の低下が、エストロゲン作用によって招来されないことを示唆している。Borkowskiら³³⁾は肝のブドウ糖-6-リン酸脱水素酵素欠乏患者においては **4⁺hydrogenase** によるコルチコステロイズ代謝異常をきたすとしており、他方、大貫ら³⁴⁾は担癌肝での **4⁺dehydrogenase** の活性低下を報告しているの、担癌肝においてはかかる機作によるコルチコステロイズの代謝異常の可能性が考慮される。さらに McGuireら³⁵⁾は甲状腺機能亢進症においてコルチコステロイズの **turn over** の亢進、グルクロン酸抱合の促進がみられるとしているが、これらは甲状腺ホルモンの作用により肝細胞内の **4⁺hydrogenase** 活性亢進と **NADPH₂** の増加に起因するとされている。しかし、担癌生体においては少くとも甲状腺機能の著明な亢進はみられず、むしろ機能低下とする報告が多い³⁶⁾⁻³⁹⁾ので担癌生体においては **4⁺hydrogenase** の活性低下または肝細胞内 **NADPH₂** の減少によるコルチコステロイズの代謝遅延も

考慮される。著者の実験では³H-コルチコステロンの減少率の低下が観察されたのであるが、この機作として、担瘤状態における酵素系の代謝異常の関与も無視し得ないであろう。

以上の如く、担瘤生体におけるコルチコステロイドの産生分泌およびその代謝に関しては今後なお解明すべき点が多いが、著者は腫瘍のある種の成分が下垂体を介して副腎皮質を刺激してそのホルモンの産生を増加せしめることが第一義的であり、他方、腫瘍成分が副腎皮質ホルモンの末梢代謝をも変調せしめて、担瘤生体をして高コルチコステロイド血状態なる内分泌環境にしているものと考えたい。

さて次に、腫瘍の可溶性画分の腫瘍の発育におよぼす影響につき検討を加えたが、20-メチルコラントレン肉腫の小豆大切片による移植率は無処置対照ラットで移植後10日、20日および30日の観察で各々8、46および48%であったが、AH 109A 腫瘍の可溶性画分の投与によってあらかじめ高コルチコステロイド血状態を惹起せしめたラットにおける同腫瘍細胞の移植率は移植後10日、20日および30日目各々74、94および94%であって、あきらかな移植率の上昇が認められた。

また、Walker carcinosarcoma 256 では、AH 109A 腫瘍の可溶性画分投与処置群および無処置対照群においてその移植後14日目の移植率はそれぞれ100%および85%で、20-メチルコラントレン腫瘍ほどの顕著な差異は認めなかったが、可溶性画分処置群の皮下腫瘍重量は平均22.4gと無処置対照のそれの14.7gに比し著明な腫瘍の発育促進が認められた。小林²⁵⁾はエストロゲン投与による高コルチコステロイド血状態ではDAB肝癌の発生およびDMBA肉腫の増殖が促進されていることを指摘しているが、著者はAH 109A 腫瘍の可溶性画分投与により高コルチコステロイド血状態を惹起せしめ、かかるラットに20-メチルコラントレン肉腫またはWalker carcinosarcoma 256を移植してもそれぞれの腫瘍の発育が促進されるという成績が観察されたので、一般に高コルチコステロイド血状態は腫瘍の発育を促進せしめる内部環境とすることができよう。

従来、腫瘍の発育と個体のホルモン環境に関しては主としてホルモン産生臓器の腫瘍を中心として研究され、その腫瘍をしてホルモン依存性および非依存性なる二つの概念に分類されるようになり、ホルモン依存性腫瘍に対しては今日種々の内分泌療法が試みられ、可成りの効果を挙げうるに至っている^{1),40),41)}。しかし著者の実験に用いたAH 109A、20-メチルコラントレン腫瘍はそれぞれ肝臓、皮膚より化学的に誘発され

た悪性腫瘍であって今日までその発育がホルモン非依存性とされてきたものであるが、かかる腫瘍をもつ個体にあってもコルチコステロイド代謝を中心とした内分泌環境の変調が惹起され、その変調した内環境が逆に腫瘍の発育に好都合な場を提供しており、腫瘍の増殖にはその担瘤生体の副腎皮質ホルモンとの関連においていわゆる *Circulus vitiosus* の現象が発現しているものと考えられる。このことはヒトのいわゆるホルモン非依存性とされてきた腫瘍の発育でも、それをもつ個体の内分泌環境によって影響されうる可能性を窺知せしめるものであって、他方このことは担瘤により変調した内分泌環境を是正することによって癌の発育を抑制せしめる可能性をも示唆するところであって、向後この方面の研究が期待される。

結 論

担瘤ラットの副腎皮質機能を *in vivo* および *in vitro* における³H-コレステロールの³H-コルチコステロンへのとりこみをもって検討し、腹水肝癌AH 109A 皮下腫瘍の可溶性画分のラット下垂体-副腎系におよぼす影響と腫瘍増殖との相関を20-メチルコラントレン肉腫担瘤ラットおよびWalker carcinosarcoma 256について観察し次の結果を得た。

1. 腹水肝癌 AH 109A 皮下担瘤ラットにおいては腫瘍の増大に伴って副腎重量が増加し、かつ、血漿11-OHCS値の上昇することが観察された。さらにこの腫瘍を摘除すると、副腎重量、血漿11-OHCS値はともに非担瘤ラットのそれらと殆んど差異を認めなくなった。20-メチルコラントレン肉腫皮下担瘤ラットでも同様の傾向が観察された。

2. 副腎における³H-コレステロールから³H-コルチコステロンへのとりこみは、*in vivo*, *in vitro* のいずれの実験においても、担瘤ラットで亢進しているが、副腎単位重量当りのとりこみは担瘤および非担瘤ラット副腎で殆んど差異は認められず、コルチコステロン合成能はほぼ同様であると思われる。担瘤第1週における副腎重量は対照と殆んど差異を認めないが、単位副腎重量当りのC.p.m.は*in vivo*, *in vitro* 実験ともに担瘤2、3週目ラットに比して高値を示したので、担瘤1週目においてはコルチコステロン合成能は著明に亢進しているものと推定される。また、*in vivo* における³H-コレステロール投与後2時間目より4時間目までの2時間の³H-コルチコステロンの減少率は、担瘤ラットにおいて低下していた。さらにACTHに対する反応性は、担瘤および非担瘤ラット副腎で殆んど差異を認めなかった。担瘤によ

り副腎は肥大するので担癌ラット副腎のコルチコステロン合成量は全体としてその重量増加に相当して亢進しているものと考えられる。

3. 腹水肝癌 AH 109A の皮下腫瘍の可溶性画分を健常ラットに筋注すると血漿 11-OHCS 値は筋注後4時間目にピークをもつ上昇を示し、この画分の血漿 11-OHCS 増量作用は蛋白含有量に比例し、蛋白量 20 mg の可溶性画分の連日または隔日3回筋注群では、同1回筋注群に比し血漿 11-OHCS 値は持続的な高値を示した。

4. 腹水肝癌 AH 109A 皮下腫瘍の可溶性画分の蛋白量 20 mg 相当量の筋注処置ラットに20-メチルコラントレン肉腫および Walker carcinosarcoma 256 を移植すると、それぞれの移植率が上昇し、Walker carcinosarcoma 256 にあってはその増殖が著明に促進された。

5. 腹水肝癌 AH 109A 腫瘍の可溶性画分を健常ラットに投与すると血漿 11-OHCS 値の増加が認められたが、下垂体摘除ラットにおいてはかかる血漿 11-OHCS 上昇作用は認められなかったことから、AH 109A 腫瘍可溶性画分は下垂体を介して副腎に作用し、血漿 11-OHCS 値を上昇せしめるものと思われる。

これらの実験成績から、担癌ラットにおいてはある種の腫瘍成分(可溶性画分)が下垂体を介して副腎に作用し、その皮質機能を亢進せしめて高コルチコステロイズ血状態を惹起する。かかる状態は腫瘍の発育を促進せしめる内分泌環境であることが判明した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を贈わつた恩師水上哲次教授に謹んで謝意を捧げるとともに、本研究の達成に御協力頂いた西尾功博士、ならびに教室の諸先生に篤く感謝する。なお研究は文部省がん特別研究費ならびに厚生省がん研究助成金の援助を受けている。

文 献

- 1) Lacassagne, A. : C. R. Acad. Sci. Paris, 195, 630 (1932).
- 2) 桑原 悟 : 乾燥腫瘍と内分泌療法, 1 頁, 東京, 南江堂, 1957.
- 3) Block, C. E. : Surgery, 47, 877 (1960).
- 4) Byron, R. L. & Yonemoto, R. : Surgery, 52, 725 (1962).
- 5) 藤森正雄・泉 勝・饗場正一 : 外科治療, 11, 470 (1964).
- 6) 和田 潮 : 米子医誌, 16, 460 (1916).
- 7) Atkins, H. : Lancet, 1, 827 (1966).
- 8) Huggins, C. : Cancer Res., 27, 1925 (1967).
- 9) Sholiton, L. G., Incze, J. S. & Werk, E. E. : Cancer, 14, 105 (1916).
- 10) 中島 良明 : 十全医会誌, 78, 92 (1969).
- 11) Furth, J. : Acta Un. Int. Cancer., 20, 1417 (1964).
- 12) De Moor, P., Steeno, O., Raskin, m., & Hendrix, A. : Acta Endocr. 33, 59 (1960).
- 13) J. van dar Vies : Acta Endocr., 33, 59 (1960).
- 14) 藤井 暢三 : 生化学実験法(定量篇), 第13版, P. 366, 東京, 南山堂 1964.
- 15) 田中 明 : 塩野義研究所年報5号, 678 (1955).
- 16) Sure, B., Theis, R. M. & Harrelson, R. T. : Amer. J. Cancer, 36, 252 (1936).
- 17) Doloton, A. J. : J. Nat. Cancer Inst., 5, 99 (1944).
- 18) Saverd, K. : Science, 108, 381 (1948).
- 19) Haven, F. L., Blvor, W. R. & Randall, C. : Cancer Res., 9, 511 (1949).
- 20) Begg, R. W. : Cancer Res., 11, 1 (1951).
- 21) Begg, B. W. : Advances Cancer Res., 5, 1 (1958).
- 22) Kawachi, T., Fujii, S., Uesaki, N., Suzuki, T. & Yamamura, Y. : GANN, 52, 219 (1961).
- 23) McEuen, C. S., Selyl, H. & Thomson, D. L. : J. Exp. Pathol., 16, 221 (1934).
- 24) Haddow, A., Horning, E. S. & Smith, N. C. : Schweiz. Med. Woche-nschr, 396 (1957).
- 25) 小林淳介 : 十全医会誌, 77, 506 (1969).
- 26) 島 弘三 : 十全医会誌, (1969) 印刷中.
- 27) Ball, H. A. & Samuels, L. T. : Proc. Soc. Exp. Biol., 38, 441 (1938).
- 28) Sydnor, K. L., Sayers, G., Burgess, L. & Heiselt, L. : Endocrinology, 55, 621 (1954).
- 29) Saffran, M. & Schally, A. V. : J. Clin. Endocr., 15, 839 (1955).
- 30) Popper, H. & Schaffner, F. : Advances in Inst. Med., 4, 357 (1950).
- 31) Goodlad, G. A. J. & Clark, C. M. : Nature, 195, 186 (1962).
- 32) Schedel, H. P. : Aktuelle Prbloeme der Hepatologie, s 142, Stuttgart, Georg Thieme, 1962.
- 33) Borkowski, A. J., Marks, P. A., Katz, F. H., Lipman, M. M. & Christy, N. P. : J. clin. Invest., 41, 1346 (1962).
- 34) 大貫 稔・大塚英司・小西弦一郎・河内 卓 : 医学のあゆみ, 63, 296 (1967).
- 35) McGuire, J. & Tomkins, G. M. : Nature, 182, 261 (1958).
- 36) Stevens, C. D., Meinken, M. A., Quinlin,

- P. M. & Stewart, P. H. : *Cancer Res.*, **10**, 155 (1950).
 37) Stevens, C. D., Stewart, P. H., Quinlin, P. M. & Meinken, M. A. : *Cancer Res.*, **9**, 488 (1949).
 38) Scott, K. G. & Daniels, M. B. : *Cancer Res.*, **16**, 784 (1956).
 39) 水上哲次・長治達雄 : *日内分泌会誌*, **43**, 251 (1967).
 40) Beatson, G. T. : *Lancet*, **2**, 104, 162 (1896).
 41) Huggins, C. : *Cancer Res.*, **27**, 1925 (1967).

A b s t r a c t

Adrenocortical function in tumor-bearing rats was investigated *in vivo* and *in vitro* from the aspect of ^3H -cholesterol incorporation into ^3H -corticosterone, and correlation between the influence of water soluble fraction of subcutaneous growth of ascitic hepatoma AH 109A on the hypophysis-adrenal system and tumor development was studied using 20-methylcholanthrene induced sarcoma and Walker carcinosarcoma 256. The obtained results were summarized as follows.

1. In animals bearing subcutaneous growth of ascitic hepatoma AH 109A, an increase in adrenal weight was observed along with the development of the tumor, with an additional increase in plasma 11-OHCS level. By the removal of the tumor in these animals, once increased adrenal weight and plasma 11-OHCS level were restored to the level with little difference from those of non-tumor-bearing animals. A similar tendency was observed also in animals with subcutaneous growth of 20-methylcholanthrene sarcoma.

2. Incorporation of ^3H -cholesterol into ^3H -corticosterone in the adrenal gland was accelerated in tumor-bearing animals both by *in vivo* and *in vitro* experiments. However, there was little difference of the incorporation within the unit weight of the adrenal gland between tumorbearing animals and non-tumor-bearing ones. Hence, it was assumed that corticosterone synthesis was in the similar situation. There was little difference in adrenal weight from that of the control animals during 1st week of tumor development, whereas C. p. m. of unit weight of the adrenal gland showed a higher level both *in vivo* and *in vitro* experiments compared with 2nd and 3rd week of tumor development. This finding suggested that in 1st week of tumor development corticosterone synthesis was markedly accelerated. The rate of decrease in ^3H -corticosterone in 2 hours between 2nd and 4th hour after administration of ^3H -cholesterol *in vivo*, was lower in tumor-bearing animals, and there was little difference in response to ACTH between tumor-bearing adrenals and non-tumor-bearing ones. However, hypertrophy occurred in the adrenal gland on the condition of tumor development, and it was assumed that the amount of corticosterone synthesis in the adrenal gland was increased as a whole corresponding to the increase in adrenal weight.

3. Intramuscular injection of water soluble fraction of subcutaneous tumor of ascitic hepatoma AH 109A resulted in normal rats in an increase in plasma 11-OHCS, showing its peak 4 hours after the injection. The effect of this fraction to increase plasma 11-OHCS was in proportion to protein content. Three injections of everyday or every other day of this fraction with 20 mg of protein resulted in a persistent elevation of plasma 11-OHCS level as compared with a single injection of the same content.

4. Water soluble fraction of subcutaneous tumor of ascitic hepatoma AH 109A with protein content of 20 mg was intramuscularly injected into rats. Transplantation of 20-methylcholanthrene induced sarcoma and Walker carcinosarcoma in these rats resulted in a higher rate of 'take', and the development of tumor was particularly enhanced in Walker carcinosarcoma 256.

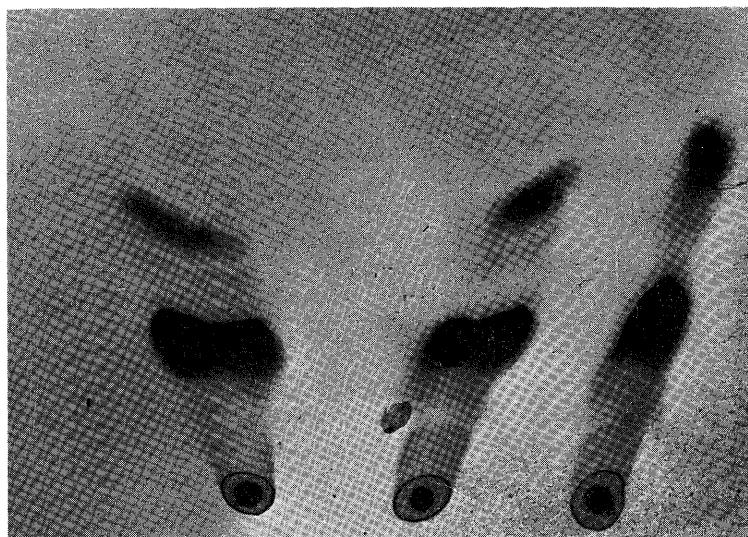
5. When water soluble fraction of subcutaneous tumor of ascitic hepatoma AH

109 A was injected into normal rats, an increase in plasma 11-OHCS level was observed. The same injection into hypophysectomized animals, however, caused little increase in plasma 11-OHCS level. From these findings, it was presumed that water soluble fraction of AH 109 A tumor acted on the adrenal gland via the hypophysis, with resulting increase in 11-OHCS level in plasma.

From the findings of these experiments, it was clarified that in tumor-bearing rats some tumor component (water soluble fraction) acted on the adrenal gland via the hypophysis to enhance the function of the adrenal cortex with resulting hypercorticosteroidism, and this situation of the tumor-bearing animals was the very environment, such as enhanced tumor development.

写 真 説 明

写真1. ラット副腎および血中 11-OHCS 薄層クロマトグラム



正常
ラット
血液

担癌
ラット
血液

担癌
ラット
副腎

写真2. AH 109 A 皮下腫瘍可溶性画分の Walker carcinosarcoma 256
増殖に及ぼす影響 (移植後14日目)



↑
可溶性画分処置群

↑
無処置対照群