

腹水肝癌移植妊娠ラットのリンパ節の 核酸量の変動について

金沢大学医学部産科婦人科学教室(主任: 赤須文男教授)

小 出 春 樹

(昭和43年7月24日受付)

本論文の要旨は1966年12月第25回日本癌学会総会において発表した。

妊娠と癌との合併, 殊に妊娠に癌が発生した場合の妊娠あるいは癌に対する影響については臨床的^{1)~5)}, ならびに実験腫瘍学的^{6)~9)}の報告はあるが一致した見解には至っていない。妊娠時は児を防衛する立場から妊婦体内の生理的変動は合理的に改変され非妊時に比して, ある意味では抵抗が強いという考え方¹⁰⁾があるが, 他面各種ストレスによって障害をうけやすいという論述もある。近時, 生化学の著しい進歩によって核酸代謝の面から癌を理解しようとする考え方が Casperson¹¹⁾ および Brachet¹²⁾ の発表以来, 核酸の構造, 機能に関する研究^{13)~15)}の進むにつれて急速な進展をとげ, 殊に核酸が物質代謝, 就中蛋白質, 酵素合成に重要な役割を演じている¹⁶⁾という点を考えあわせると担癌生体における代謝異常を核酸の面から解明しようとする試みは極めて意義深いものと考えられる。周知の如く妊娠時はその代謝の様相が非妊時に比して著しく異るといわれ, 特に癌を合併した場合の妊体内核酸量の変動について検討することは妊娠と癌との相互関係の解明のいとぐちをつかみ得るのではないかという期待を抱かせるものである。赤須ら¹⁷⁾¹⁸⁾は先にラットに副腎皮質ステロイドを投与して萎縮した正常リンパ節には移植癌が転移しにくいことや, その時のリンパ節内の核酸の動態について報告した。著者は今回, 妊娠に癌が発生した場合の妊娠および癌に対するそれぞれの影響について, 特に臨床上癌の予後を支配する最も重要な因子とみられるリンパ節転移の問題を中心として核酸の面から動物実験を試み, 妊娠ラットに AH 130 腹水肝癌を移植した時の腰部リンパ節内の核酸量について検討したので以下これについて記述する。

実験材料および実験方法

I. 実験材料

1. 実験動物および被験臓器

可及的一定条件のもとに飼育し, 交尾時における体重が平均 170 g 前後の呑竜系メスラットを実験動物とした。被験臓器は腰部リンパ節(大動脈側および坐骨部リンパ節)である。重量不足のリンパ節には頸部リンパ節の適当量を加え, 別に測定した成績から相当値を差引いて実験成績とした。

2. 腹水肝癌 AH 130

金沢大学医学部産科婦人科学教室にて継代移植して保存中の AH 130 株(624代, 細胞数 $48 \times 10^6/\text{ml}$)を使用した。

II. 実験方法

腔脂膏により発情期を決定したメスラットを, オスラットと同棲させ, 翌朝スポイトで腔内容採取し, 塗抹標本を作製して検鏡し精子の出現した日を妊娠第1日目と推定した。実験は非妊, 妊娠初期(第8日目), 中期(12日目), および後期(18日目)の各群, 更にそれらの各群について一方は腹水肝癌を移植したもの, 他は移植しないものの合計8群に分けて実験を施行した。予想した妊娠各期が, 屠殺開腹後, 非妊例が若干みられたがこれらは勿論実験対象から除外した。

1. 前処置

移植は Fig. 1 の如く, 各群(移植群)とも, 屠殺前7日に, AH 130 腹水 0.5 ml (細胞数 24×10^6) を腹腔内に注入し, 対照の正常ラットおよび正常妊娠ラット(非移植群)には生食水 0.5 ml を同様注入した。

2. 屠殺および臓器の剔出

Variations of the Nucleic Acids Contents of Lymphnodes of Pregnant Rats Implanted Ascites Hepatoma **Haruki Koide**, Department of Obstetrics and Gynecology (Director; Prof. F. Akasu), School of Medicine, Kanazawa University.

Fig. 1 Experimental system :
Administration of saline solution
and AH 130 ascites hepatoma
implantation

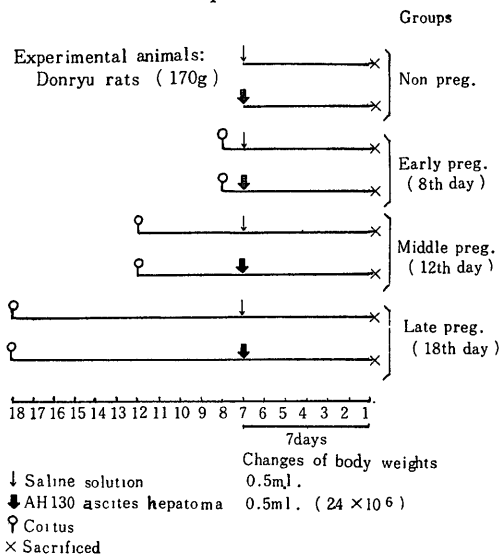
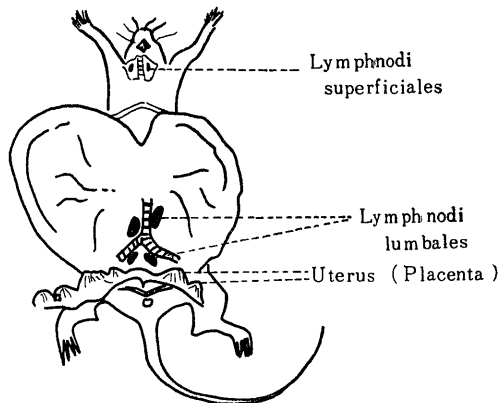


Fig. 2 Diagrammatical picture
of lymphnodi extirpated



ether 麻醉下に両頸動脈を切断脱血し、移植群では開腹後、腹水を完全に除去した後、Fig. 2 に示す大動脈側リンパ節と坐骨部リンパ節を眼科用小摂子を用いて剔出し、既述の如く重量不足のリンパ節では頸部リンパ節を加えて測定誤差を少なくし、臓器剔出後は torsionsbalance でその wet weight を秤量した。資料とした AH 130 移植群の腰部リンパ節は癌転移のないものであることは勿論である。一般に AH 130 腹水肝癌の腹腔内移植では転移が大網や腸に転々と播種されているのがみられたが臓器への転移はむしろ少ないようであり、著者もリンパ節転移の有無につ

いて検したが何れも未転移のもののみであった。

3. 組織の前処理法

動物組織の燐成分は、その性質から酸可溶性、lipoid、核酸および蛋白の各燐 (P) に分けられる。従って核酸の定量までの組織の前処理は、その殆んどが組織を細かく碎いて酸で酸可溶性分画を抽出除去し、ついで lipoid-P を脂質溶媒で抽出すると残渣には酸不溶性で脂質の含まれない燐化合物が含まれる。以後の核酸Pの抽出法には Schneider¹⁹⁾法と Schmidt and Thannhauser法²⁰⁾とがあるが、私は RNA と DNA を別々にとり出す目的で後者を基本とした Scheme 1 に示す方法で実験を施行した。

1) 組織の磨砕には容量 2ml のガラスホモゲナイザーを使用し、0.25mol の sucrose 中で行なった。

2) 0.5 N の過塩素酸 (以下 PCA と記す) で蛋白を落し、更に酸可溶性Pを充分に除去するため 0.5 N・PCA で数回洗った。

3) ついで 95% ethanol および ethanol と ether の等量混合液で洗って lipoid-P を除去した。

4) アルカリ処理はこの残渣に 1 N・NaOH を加え 37°C, 20時間 incubate した。この処理で少量の組織残渣を残して核酸類は溶解し、溶液中には、RNA が分解した nucleotide, DNA および phosphoproteine 由来の無機Pが含まれる。

5) このアルカリ処理液を 5 N・PCA で中和し、更に 3 N・PCA を適当に加えて終濃度を 0.5 N とすると DNA は沈澱し、RNA と少量の無機Pは上清に残るが、これを RNA 分画として扱った。

6) 残渣の DNA は 0.5 N・PCA 中 90°C, 15分の処理で分解し、上清を DNA 分画とした。なお lipoid-P の除去まではすべて氷冷中で操作し、アルカリ処理後の中和は、特に厳密を要しないが、東洋 PH 試験紙 BTB (ブロムチモールブルー、PH 5.8~8.2) を使用、中和点を求めた。

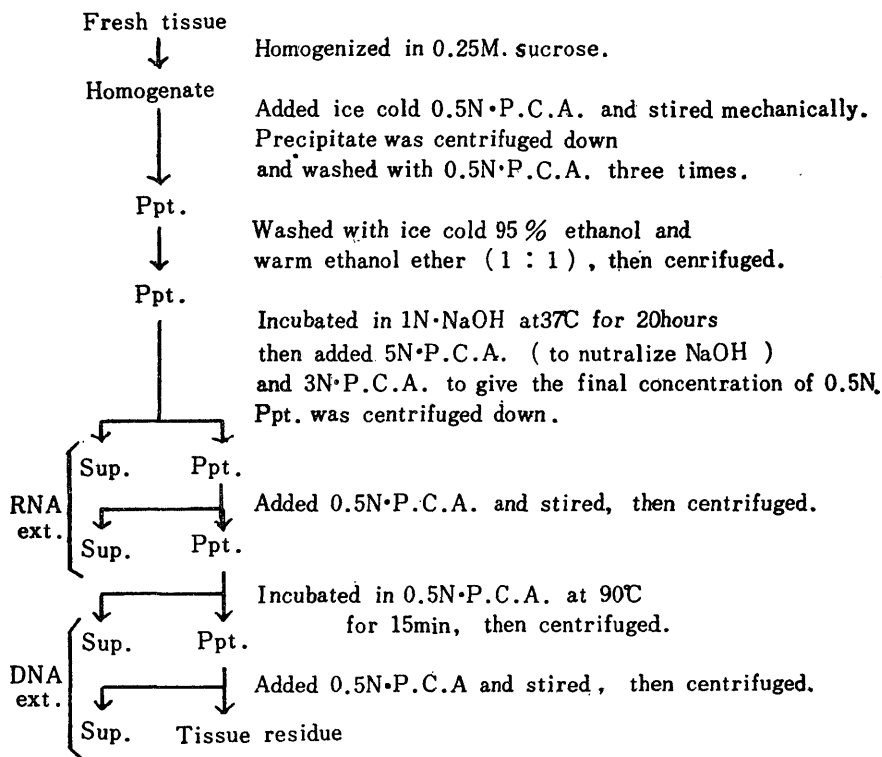
4. RNA の定量

RNA を構成する糖成分 pentose を定量して yeast の RNA のそれと比較換算して RNA 値とした。RNA は Mejbaum²¹⁾の方法による orcinic 反応を用いて Scheme 2 の如く行ない、比色は RNA 抽出液の 4 倍希釈について行なった。反応に要する試薬および standard は次の如く調製した。

1) 濃塩酸に $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を溶かし 0.1%溶液とする (FeCl_3 試薬)。

2) 使用直前に orcinic を 10% ethanol 溶液とし、

Scheme 1 Extraction of nucleic acids
(Schmidt and Thannhauser)



Scheme 2 Determination of RNA

RNA ext. and RNA standard

added 0.5N·P.C.A. to give the total volume of 2.0ml respectively.

added 2.0ml of FeCl_3 · orcin reagent.
↓
in boiled water bath for 20min.

Spectrophotometer (660 $m\mu$)

Scheme 3 Determination of DNA

DNA ext. and DNA standard

added 0.5N·P.C.A. to give the total volume of 2.0ml respectively.

added 2.0ml of diphenylamin reagent.
↓
incubated at 37°C for 20 hours.

Spectrophotometer (600 $m\mu$)

3) FeCl_3 試薬 10 ml に対し oricine 10 mg の割合に 2) を加える ($\text{FeCl}_3 \cdot \text{oricine}$ 試薬).

4) standard は yeast RNA を 1 mg/ml の割合に 0.01 N · NaOH に溶解し, 数日後 1% 溶液の $E_{260 \text{ m}\mu}^{1 \text{ cm}} \approx 300$ を目標に検定した²²⁾²³⁾ (stock standard).

5) 使用に際しては 4) に 0.5 N · PCA を等量加えて 90°C, 15分おいて working standard とした. 実験には, この 50 r, 100 r, 150 r を含有するものを作って使用した.

5. DNA の定量

DNA を構成する deoxyntose を定量し, calf-thymus DNA のそれと比較換算して DNA 値とした. DNA は Burton の方法²⁴⁾ を基本とした diphenylamine 反応を用いて Scheme 3 の如く行ない DNA 抽出液の40倍希釈したものについて測定した. 比色には RNA も同様, Hitachi Spectrophotometer を使用した. 反応に要する試薬および standard は次の如く調製した.

1) 3 g の diphenylamine を 200 ml の氷醋酸に溶かし 3 ml の濃硫酸を加える.

2) 16 mg/ml の acetaldehyde 水溶液を作る.

3) 使用前に 1) の 20 ml に対し 2) を 0.1 ml の割合に加える (diphenylamine 試薬).

4) standard は 500 r/ml の割合に calf thymus DNA を 0.01 N · NaOH に溶かし, 数日後 1% 溶液の $E_{260 \text{ m}\mu}^{1 \text{ cm}} \approx 280$ を目標に検定した.

5) 使用に際し 4) と 0.5 N · PCA を 1:4 に混ぜて 90°C, 15分おいて working standard とし 25 r, 50 r, 100 r 含有するものを作って使用した.

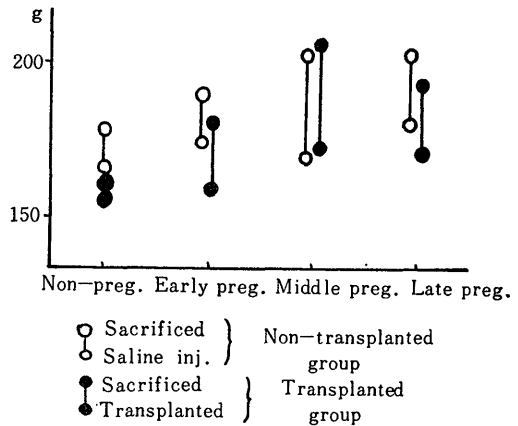
実験結果

上述した実験方法による各群, 各項の成績は Table 1~4, および Fig. 3~8 に示す如くで核酸値はいずれも腰部リンパ節の 100 mg あたりの値 r (μg) であらわした. 総核酸量は RNA と DNA の値の和によった. また, 実験成績は正常ラット (非妊, 非移植) を対照として比較した.

I. 体重

妊娠群では, 生食水または AH 130 腹水処置までは両群とも正常妊娠経過を示すものであるから処置時体重はその進行とともに体重の増加が認められた. しかし処置 1 週間後の屠殺時においては, 移植群は初期 181 g, 中期 207 g と増加傾向を認め, 後期に至り 191 g と著減を示したが, これは移植時体重が, 173 g で少なかったための「みかけ」の減少と考えられる.

Fig. 3 Changes of average body weights



しかし生食水で処置した非移植群は初期, 中期および後期にそれぞれ 191 g, 203 g および 203 g とほぼ順調な増加を示した. 後期の生食水処置時の体重が 181 g であったから AH 130 移植時の体重もほぼこれと同値を示すはずで, これを後期の移植時体重とみなして補正しても, 移植群の後期における屠殺時体重は軽度減少するものと推定される. 次に生食水または腹水処置後, 屠殺までの 1 週間の体重変化についてみると非妊の生食水処置群では 14 g で自然増加とみることができる. 一方, AH 130 腹水処置群は僅か 2 g の増加を示したのみで, 腹水の増量から考えて母体の癌性のい瘦があると思われる. 次に妊娠群では, 初期の生食水処置群は 14 g で, 非妊群の同処置群と同値で, 未だ胎仔発育による体重の増加は顕著でないことを示している. これに対して癌を移植した場合は 20 g の体重増加がみられ, 胎仔重量の増加は少ないので主として自然増加と腹水量による増加が考えられ, 母体のい瘦は少ないのではないかと推定される. 中期では生食水処置群は 27 g, 癌移植群は 33 g の増加を示し, 両群とも胎仔の急速な発育を示しているものとみられ, 後者には腹水重量による増加も含まれる. 妊娠後期に至ると, 生食水処置群は 22 g の増加に対して癌移植群は 18 g とむしろ減少し, 開腹時の胎仔所見, 腹水量からみて母体の体重減少が考えられ, 癌移植による母体への影響は後期では強いのではないかという印象をうけた (Fig. 3).

II. 腰部リンパ節重量

体重増加にともなうリンパ節重量の自然増加も軽微ながら考慮しなければならないと思うが無視して考えた. 対照の 37 mg に対し, 癌移植により 53 mg と

有意な増加を示した。正常妊娠群では初期は 35 mg を示して有意な変化はなく、殆んど同値か、極めて僅かな減少傾向を認めたのみであったが、以後中期および後期にそれぞれ 48 mg および 57 mg と著明な増加がみられ、後期は対照に対して有意な差を示した。一方、正常妊娠ラットに癌を移植すると初期、中期および後期にそれぞれ 54 mg, 61 mg および 63 mg を示して妊娠進行により漸増の傾向がみられ、いずれも対照に対して有意の増加を示した (Fig. 4)。

III. 総核酸量

対照は 2426 r を示したのに対し、癌を移植すると 2363 r と軽度の減少傾向が認められた。正常妊娠群の総核酸量は初期、中期および後期にそれぞれ 2337 r, 1716 r および 1897 r と減少傾向がみられ、特に中期

および後期で著明に減少し、対照との間に有意差が認められた。これに対して妊娠群に癌を移植したものは、初期は 2401 r で対照との間に著差はみられなかつた。

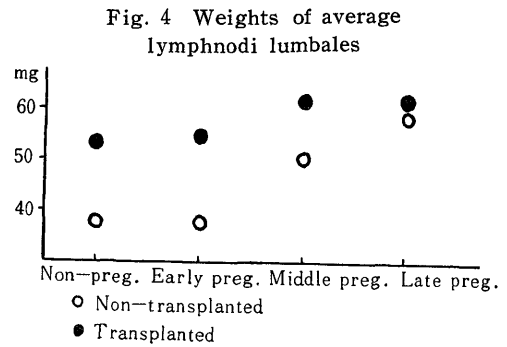


Table 1 Nucleic acids contents of non-pregnant rat's lymphonodes

1) Control

Rat No.	Body weights (g) (Saline inj.)	Body weights (g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	180	198	61	2016	800	1216	0.657
2	184	192	39	2246	656	1590	0.412
3	186	210	38	2494	810	1684	0.480
4	160	180	33	2376	800	1576	0.507
5	178	194	51	2368	760	1608	0.472
6	174	182	38	2484	800	1684	0.475
7	150	171	33	2170	715	1455	0.491
8	151	162	21	3105	819	2286	0.358
9	156	170	39	2286	679	1589	0.438
10	150	167	24	2450	700	1750	0.400
11	162	165	35	2879	708	2171	0.326
12	164	170	36	2233	622	1611	0.386
Av.	166	180	37	2426	741	1685	0.45

2) Implanted group

Rat No.	Body weights (g) (Slime inj.)	Body weights (g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	151	160	67	2209	743	1466	0.506
2	153	155	45	2496	687	1809	0.379
3	152	159	61	2618	736	1882	0.391
4	156	169	40	2430	705	1725	0.408
5	149	148	38	2267	652	1615	0.403
6	168	178	45	2178	663	1515	0.437
7	175	156	73	2336	660	1676	0.393
8	165	166	54	2372	706	1660	0.423
Av.	159	161	53	2363	694	1669	0.42

Table 2 Nucleic acid contents of normal pregnant rat's lymphnodes

1) Early pregnant group

Rat No.	Body weights(g) (Saline inj.)	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (μ /100mg)	RNA (μ /100mg)	DNA (μ /100mg)	RNA/DNA
1	168	156	35	1965	715	1250	0.572
2	180	187	35	2220	620	1600	0.387
3	194	224	29	2407	752	1655	0.454
4	192	216	40	2480	730	1750	0.417
5	163	183	50	2292	932	1360	0.685
6	148	162	16	2155	780	1375	0.576
7	190	208	32	2780	780	2000	0.390
8	178	187	40	2400	800	1600	0.500
Av.	177	191	35	2337	764	1574	0.50

2) Middle pregnant group

Rat No.	Body weights(g) (Saline inj.)	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (μ /100mg)	RNA (μ /100mg)	DNA (μ /100mg)	RNA/DNA
1	172	206	44	1700	564	1136	0.496
2	176	205	27	1747	636	1111	0.572
3	200	220	87	1781	586	1195	0.490
4	172	208	55	1614	705	909	0.775
5	160	194	47	1591	698	893	0.781
6	176	194	37	1838	703	1135	0.619
7	178	210	44	1691	555	1136	0.488
8	170	190	44	1763	718	1045	0.687
Av.	176	203	48	1716	646	1070	0.62

3) Late pregnant group

Rat No.	Body weights(g) (Saline inj.)	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (μ /100mg)	RNA (μ /100mg)	DNA (μ /100mg)	RNA/DNA
1	200	196	54	1736	518	1218	0.425
2	184	185	48	2125	625	1500	0.416
3	186	228	70	1801	651	1150	0.566
4	174	192	51	2024	784	1240	0.632
5	186	194	53	1953	732	1221	0.599
6	173	190	63	2144	762	1382	0.551
7	176	215	66	1747	654	1093	0.598
8	200	212	92	1765	765	1000	0.765
9	176	182	35	1679	594	1085	0.547
10	194	202	84	1881	833	1048	0.794
11	160	204	38	2038	673	1365	0.493
12	190	228	43	1926	670	1256	0.533
13	160	198	60	1899	666	1233	0.540
14	180	220	40	1840	590	1250	0.472
Av.	181	203	57	1897	680	1217	0.57

ったが、中期および後期では 2212r および 1931r と著減を示し、ことに後期は対照に対して有意の低下を示した (Fig. 5),

IV. RNA

対照の正常ラットは 741r を示したしに対し、これに癌を移植すると 694r と軽度の減少がみられた。正

常の妊娠群では初期は 764r で対照との差は殆んどみられなかったが、中期および後期ではそれぞれ 646r および 680r を示して軽度の減少を示した (Fig. 6).

一方、正常妊娠ラットに癌を移植すると一般に対照より高値を示す傾向がみられ、非妊の癌移植時とはむしろ逆の影響が認められ、初期では 818r を示して有意

Table 3 Nucleic acids contents of AH130 implanted pregnant rat's lymphnodes

1) Early pregnant group

Rat No.	Body weights(g) (Saline inj.)	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	172	148	59	2315	854	1461	0.584
2	170	186	56	2371	764	1607	0.475
3	154	176	54	2362	881	1481	0.594
4	156	195	49	2384	792	1592	0.497
5	148	174	44	2327	782	1545	0.506
6	172	206	50	2496	776	1720	0.451
7	155	183	68	2552	876	1676	0.522
Av.	161	181	54	2401	818	1583	0.52

2) Middle pregnant group

Rat No.	Body weights(g) (Saline inj.)	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	172	184	48	2383	758	1625	0.466
2	168	176	54	2245	800	1445	0.553
3	174	186	49	2461	743	1714	0.433
4	160	218	61	1994	846	1148	0.736
5	170	230	63	2192	700	1492	0.469
6	202	248	90	1995	884	1111	0.795
Av.	174	207	61	2212	789	1423	0.58

3) Late pregnant group

Rat No.	Body weights(g) (Saline inj.)	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weights (mg)	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	165	195	73	1835	645	1190	0.542
2	180	236	68	2011	723	1288	0.561
3	182	198	85	2128	775	1353	0.572
4	190	174	44	2217	763	1454	0.524
5	196	194	84	2175	770	1405	0.548
6	150	160	36	2010	677	1333	0.507
7	149	181	53	2022	777	1245	0.624
8	170	196	63	1650	793	857	0.925
9	172	190	60	1773	640	1133	0.564
10	172	184	63	1491	603	888	0.679
Av.	173	191	63	1931	717	1215	0.60

Table 4 Nucleic acids contents of rat's lymphnodes of each groups

	Body weights(g) Saline inj. or transplanted	Body weights(g) (Sacrificed)	Lymphnod weight(s) (mg)	Total amounts of nucleic acid (γ /100mg)	RNA (γ /100mg)	DNA (γ /100mg)	RNA/ DNA
Control (non-preg.)	166±3.9	180±4.4	37±3.1	2426±87.1	741±19.2	1685±83.3	0.45±0.025
Transplanted (non-preg.)	159±3.5	*161±3.3	*53±4.5	2363±52.6	694±12.2	1669±49.2	0.42±0.015
non- transplan- ted	Early preg. 177±5.7	191±8.6	35±3.5	2337±85.9	764±31.1	1574±85.6	0.50±0.038
	Middle preg. 176±4.0	*203±3.6	48±6.2	*1716±29.6	646±24.3	*1070±39.6	*0.62±0.044
	Late preg. *181±3.4	*203±4.0	57±4.3	*1897±39.1	680±23.1	*1217±36.6	*0.57±0.029
Transplan- ted	Early preg. 161±3.8	181±6.9	*54±2.9	2401±30.0	*818±19.0	1583±33.1	0.52±0.019
	Middle preg. 174±5.9	*207±11.9	*61±6.3	2212±79.0	789±27.9	1423±100.6	*0.58±0.064
	Late preg. 173±4.9	191±6.3	*63±5.0	*1931±79.1	717±21.9	*1215±64.5	*0.60±0.040

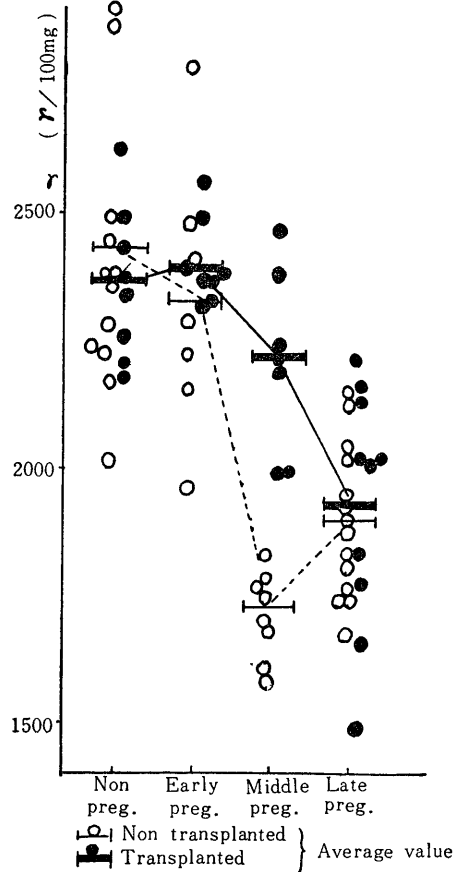
* : Indicate that the significant difference from the control value were observed (level of significance 5%)

の増加がみられた。中期でも増加の傾向はあったが軽度で、後期に至り 717r を示し極めて僅かの低下をみたがこの程度のものはほぼ不変とみられる (Fig. 6)。

V. D N A

対照は 1685 r を示したのに対し、これに AH 130 を移植すると 1669 r と殆んど差はなく、移植によっては DNA への影響はないと考えられる。これに対して正常妊娠ラットのリンパ節 DNA には大きな変動がみられ、初期には 1574 r で軽度であったが中期および後期ではそれぞれ 1070r および 1217 r で著明な減少が認められ、対照に対して有意の差であった。一方、正常妊娠ラットに癌を移植すると初期、中期および後期にそれぞれ 1583 r, 1423 r および 1215 r を示し、正常妊娠群と同様、その進行によって減少傾向がみられ、特に後期は対照との間に有意差が認められて全般

Fig. 5 Total amounts of nucleic acids in rat's lymphnodes



的に減少の程度は軽度であった。この事実から妊娠移植群の DNA に与える影響は、むしろ正常妊娠群のそれに近似した変化を示し、癌移植の影響とみられる変化はみあたらなかった (Fig. 7)。即ち正常ラットに癌を移植したとき DNA に与える影響は殆んどみられなかったのに対して、正常妊娠ラットおよびこれに癌を移植したものでは DNA の減少が特徴的であった。

VI. RNA/DNA 比

対照では 0.45 を示したのに対し、癌の移植によって 0.42 と低下の傾向がみられた (Fig. 8)。しかし正常妊娠群では各期ともいずれも上昇がみられ、初期は 0.50 と軽度であったが、中期および後期においては 0.62 および 0.57 を示して対照に対し共に有意な上昇が認められた。一方、正常の妊娠ラットに癌を移植した群では、R/D 比の低下はみられず初期、中期および後期にそれぞれ 0.52, 0.58 および 0.60 を示して、ほぼ正常妊娠群とよく似た変化を示して上昇し、特に中期および後期は対照と有意の差を認めた。以上から妊娠移植群の R/D 比には移植の影響はみられず妊娠によってその低下が阻止されたものと考えられる (Fig. 8)。

考 察

妊娠時は、胎児発育にともない蛋白要求度も増すため体内窒素の蓄積傾向は極めて顕著であって、妊娠時の核酸代謝に関する研究は主として蛋白代謝に関連した業績^{25)~30)}が多く、従って検索の対象となる臓器は肝、胎盤等で、妊娠時のリンパ節内核酸量についての報告は殆んどみられないようである。更に妊娠中は胎盤に由来すると考えられる数種のステロイドホルモンの著しい増量と、妊娠に特有な蛋白体ホルモンの出現があり、また蛋白質、糖質、脂質、電解質等代謝の様相が非妊時に比して著しく異なるため、妊娠と癌との合併を host-tumor relationship の立場から考えた場合、このような妊娠という生活条件の変化が当然癌に対して何らかの影響を与えるのではないかとの考えから、たとえその合併頻度は低率であっても各方面からこの関係についての検討がなされてきた。妊娠癌の発生頻度や発生前年との関係、子宮癌と経産回数については報告者によって多少の差はあるが、その相互間に特に有意な関係は見出せないようである。頸癌も妊娠癌もその発生が分娩5回以上の多産婦に多いという報告から妊娠中の内分泌状態の著明な変化がそ

Fig. 6 RNA value in rat's lymphnodes

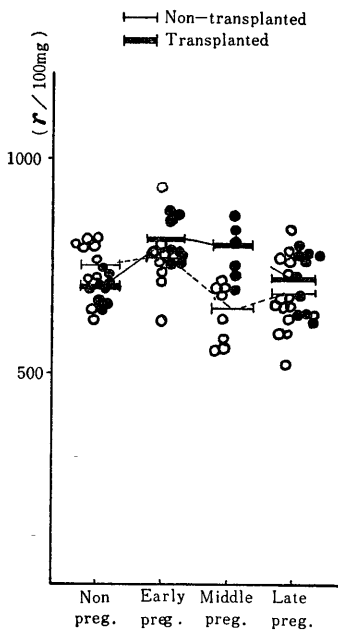


Fig. 7 DNA value in rat's lymphnodes

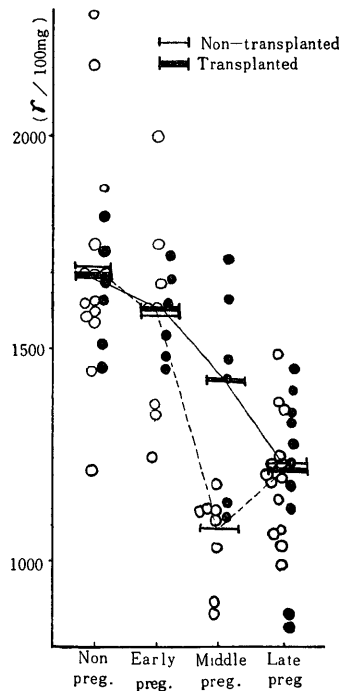
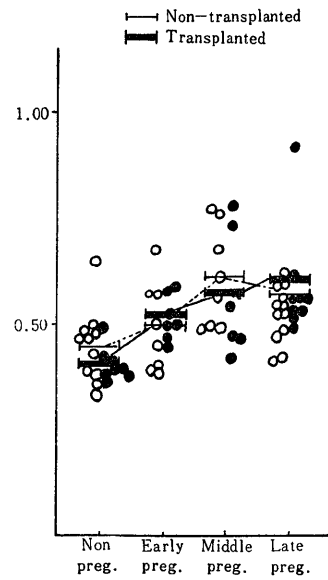


Fig. 8 Ratio of RNA to DNA contents of rat's lymphnodes



の発生、發育に関連があるのではないかも考えられている³¹⁾。

癌発生時期と妊娠との関係、癌發育と妊娠との関係についても種々の議論があり、意見の一致をみていない。また妊娠が頸癌の予後に与える影響についても有無両論があるが、分娩や産褥は癌に対して予後不良であるという点では異論はみられないようである。一方、頸癌の妊娠、分娩あるいは産褥への影響については妊娠初期は感染しやすく、児の死亡や流産がみられ、末期では頸管損傷、早期破水、子宮破裂、微弱陣痛等を来し、更に産褥期には頸部感染から内臓感染へと進行するものがみられるという。さて著者は今回、核酸の面から腫瘍の全身拡大に重要な関係を有するリンパ節転移が、妊娠によっていかなる影響を受けるかを検討した。核酸はそれを構成する糖の種類により、リボ核酸 (RNA) とデオキシリボ核酸 (DNA) に大別され、RNA は主として細胞質中にあり、一部は核内にも存在するのに対し、DNA は核の染色体、ないしは染色質の重要な構成成分をなし遺伝的情報の担い手として蛋白合成の際にはこの DNA の情報にもとづき RNA が鑄形的役割を演ずるものとされている。DNA について重要なことは、同一種の動物については組織の如何にかかわらず核1個あたりの DNA 含量は一定であるということが Voivin-Vendrelly によって明らかにされた点である³²⁾。一方、RNA は蛋白合成に関連して動的代謝を営むものであり、發育機能の旺盛な細胞には多量に含まれ、蛋白合成速度はその時の RNA 含量に比例するという。このような RNA と蛋白合成との重要な関係は Caspersen¹¹⁾ および Brachet¹²⁾ によってうちたてられた。さて著者が正常ラットに AH 130 を移植したものは、腰部リンパ節の RNA は低下し、DNA は殆んど不変で、従って R/D 比は低下がみられ、リンパ節重量が増加がみられた。Homburger³³⁾ や Savard²⁴⁾ は担癌動物では既に未転移リンパ節の肥大が認められることを指摘しており、また、所属リンパ節がリンパ流の下流にあって癌細胞が定着しやすいこと、更に中原、福岡らのいわゆる toxohormone の如きもの、あるいは癌の代謝産物がリンパ節内に絶えず供給されて一定の変化をうけ転移受容を容易にする可能性も理論的に考えられる³⁵⁾。このような点に注目して、額賀ら³⁶⁾ は子宮癌の局所リンパ節について組織検索を行なっているが侵入前性の変化はみられなかったようである。赤須ら^{17) 18)} の corticosteroids (以下 cds と略す) 投与によって萎縮したリンパ節には癌転移が起りにくいという報告に関連して、教室の浅

妻はこれらに関して核酸の面から追求し、cds 投与によってもたらされたリンパ節内核酸代謝の状況が癌移植時における状況とは全く対蹠的關係を示し、遊走してきた癌細胞の發育に不利な環境を作り転移形成を困難にしているのではないだろうかと結論している³⁷⁾。そして更に担癌生体の肥大したリンパ節では R/D 比が低下して RNA 代謝の変化を招来し、RNA の破壊が盛んとなり、その中間代謝物質が癌細胞の合成の組材として再利用され、転移の形成が促進されるのではないかと考えられると述べている。一方、正常妊娠ラットのリンパ節では主として DNA に大きな変化がみられ、癌移植群では既述のように主として RNA に変化がみられたのと好対称を示している。即ち妊娠初期は軽度の減少を示したのみであるが、中期と後期では著減を示し、一方、RNA は初期は対照とは差はなく中期と後期で軽度の減少傾向を示した。従って DNA の著明な低下に対して、RNA に及ぼす変化は軽度なために R/D 比は上昇して癌移植群にみられた R/D 比の低下はみられなかった。リンパ節重量は妊娠初期では 35 mg で対照の 37 mg にくらべて殆んど差はなく、むしろ萎縮傾向がみられ、しかも DNA の軽度の低下と RNA 値がほぼ不変を示したことは、cds 処置時の変化³⁷⁾ とよく一致した像を示している。中期と後期では 48 mg → 51 mg と重量は増加の傾向を認め、DNA 値はこれに反して著明な低下を示しているから、これを Boivin-Vendrelly の法則から考えて著明な核数、即ち細胞数の減少が考えられ、このことは当然リンパ節内の主要成分であるリンパ球の濃度の低下を意味するものと考えられる。この原因としてリンパ球の破壊、他臓器への流出、あるいは稀釈等が考えられるが、妊娠後半以後において特に著明にあらわれてくる水代謝や塩類代謝に関連して妊娠内臓器は浮腫状に肥大していること²⁷⁾、しかもリンパ節重量の増加が中期以後に著明にみられたことから、DNA は二次的に低下したものと解しうるが、この点に関しては組織的検索によって更に一層明らかにされるであろう。しかし黒田³⁹⁾ や Dougherty ら⁴⁰⁾ は cds を投与した場合のリンパ節の萎縮がリンパ球の崩壊によるものであり、また、赤須ら⁴¹⁾ もリンパ球を Gey 液で培養し cortisone を混和したときかなりのリンパ球の破壊がみられたと報告し、更に妊娠時の胸腺変化が cds 投与時と類似している点を指摘し、この変化を妊娠時増量する cds の作用によるものと考えた⁴²⁾。著者も妊娠時にみられたリンパ節内の DNA の変化を妊娠内に増量する副腎皮質ホルモンの影響を妊娠各期とも、みな一樣にうけてリンパ

球の破壊が起り DNA 値は低下するものと考えてみた。妊娠時の副腎皮質ホルモンの動態については異論もあるが、妊娠中は胎盤からも代謝産生される可能性があり、また、副腎皮質からの分泌も認められ、妊娠中のこのホルモンの増量がみられることに関して近時、active の cortisol の量について異見もあり、その大部分は globulin-binding のものであるとの見解も示されている。もしそうだとするとリンパ球の破壊は妊娠初期にみられた DNA の低下を起す程度の弱いものであろうと推定され、従つて妊娠後半の DNA の著減は cds の作用では説明しがたく、更に既述した浮腫に起因する稀釈による濃度の低下も考慮されなければならないかもしれない。RNA はリンパ節重量に変化のなつた初期を除いて軽度の減少傾向を示したが、DNA とよく似た変動を示し、しかも臓器あたりの RNA 量も著変を示さないことから、リンパ節の重量の増加がみられた中期、後期の RNA の濃度の低下も浮腫による稀釈に基づくものではないかと推定される。従つて妊娠後半のリンパ節にみられた浮腫とも考えられる肥大がなければ妊娠時のリンパ節内核酸量の動態は cds 投与時に極めて近似した変化を示すと考えられる。

妊娠初期は最も典型的な cds 処置と同様の変化を示し、非妊の癌移植群の核酸量の動態と対称的である。ついで正常妊娠ラットに癌を移植すると RNA はむしろ増加の傾向がみられ R/D 比は上昇し、非妊の移植群にみられた転移形成を容易にしているとみられる R/D 比の低下した状態における RNA の減少はみられず、一方、DNA も変化をうけて低下を来たし、むしろ正常妊娠ラットにみられた変化に近似した状態が認められて妊娠は癌移植の影響をうけにくくしていると考えられ、転移を困難にしているのではないかという印象をうけた。体重は初期に母体のい瘦が殆んどみられなかったことから初期は比較的癌に侵されにくい時期にあり、一方、妊娠後期では癌移植による母体への侵襲は強くなるものと推定される。このように妊娠時はリンパ節への転移形成に対して阻制的に働き腫瘍の全身拡大をある程度防止しうるのでないかという点において宿主の予後に与える影響は甚大であると考えられる。近時、host-tumor-relationship の観点から腫瘍の抑制に関して host の強化が強調されつつあり、その中の一つとして網内系機能の改善があげられる。一般に担癌生体では網内系機能の低下がみられ、これが腫瘍の転移、再発に密接な関連を有するのではないかという報告が多くみられることから妊娠時の網内系機能の面から腫瘍との関係を考慮する必要

がある。既に赤須らは妊娠家兎に鶏血球を注入する方法で網内系機能の亢進を認めたと報告し、その機序については妊体中の cds との関係を考えているようである⁴³⁾。これに対して外部から cds を投与した場合⁴⁴⁾にはその機能を逆に抑制して生体の防衛力を低下させるものであり、むしろ正常リンパ節を退縮させて転移を防止することに意義があると考えている。Spain ら⁴⁵⁾は cortisone 連続投与が網内系機能の低下を来たすことを認め、また、尾山⁴⁶⁾の報告からも cds が網内系に与える影響はその量的なものに左右されその大量投与によって低下を来たし、少量にて亢進を示すものとみられている。従つて妊体内の corticoids は既述の如く作用的には弱いものであり、むしろこれが妊娠時の網内系機能を亢進させているものとも解せられる。リンパ節が網内系と深い関係を有する点を考慮するとき、妊体中の cds の持つ意義は核酸の面から検討したリンパ節転移抑制の問題と関連して興味深く思われる。しかし妊娠中には各種ホルモンの増量があり、しかもホルモンが動物の発育、代謝に深い関係を有すること、これら複雑なホルモン環境は癌の発育または宿主の防衛機構に重大な影響を与えることが容易に推察され、単に cds のみをもって説明することはできないと思う。cds が癌の発育、進展に与える影響については現在なお定説がなく、例えば自然には転移不可能な腫瘍にも cds の投与によって急速な全身転移が動物実験においてみられ^{47) 48)}、網内系機能の抑制によるものとされている。これに対して癌進展の抑制を主張するものもあり、Agosin は腫瘍周囲組織の防禦作用、または腫瘍免疫等環境の変化を強調している。夏目ら⁴⁹⁾は妊娠に合併した子宮頸癌の周囲組織にみられた肥胖細胞、形質細胞等の増加が、担癌体の癌に対する抵抗性の増強を示すのではないかと述べているが、大野⁵⁰⁾は cds の支配下に死滅したリンパ球核から低分子 DNA が放出され、更にこれが形質細胞系を刺激してこれらの細胞を増殖させ抗体産生を促すと考え、夏目の癌周囲組織にみられた細胞の出現は妊娠時に増量する cds との関連性を考えさせるものである。Peller, Paarz, Stockel らは癌の転移抑制に対して妊娠は抑制的であるとして、その作用を妊娠時の gonadotropin に帰しているが、増淵³⁾はリンパ節転移が特に妊娠によってさしたる影響をうけないと報じている。また、岩崎⁹⁾は動物実験で癌の移植率は妊娠初期で低く、癌の発育に対して抑制傾向がみられるとして初期の移植癌に対する抵抗性を指摘している点、著者の核酸の面から検討した成績と対比して考えると妊娠初期は腫瘍との関係が濃厚である

と推定される。

今回は動物を対象とした癌の移植実験であって自然発生をみる人癌と妊娠との関係にそのままあてはめることはもとより危険である。

以上著者のえた実験成果は次の如く結論することができる。

結 論

1. 正常ラットに腹水肝癌を移植すると、リンパ節は肥大し DNA 量への影響はみられないが、RNA 量の減少がみられ R/D 比の低下を来す。このような状態は癌細胞の増殖に有利な条件を与えるものと考ええる。

2. 正常妊娠ラットのリンパ節では DNA に大きな変動がみられ、初期ではリンパ節の萎縮傾向とともに DNA の軽度の低下を示したが、中期以後ではむしろリンパ節の肥大を伴ってその低下は一層著明であった。一方、RNA に対しては妊娠による影響は軽微で、全く変化の認められなかった初期を除いてその低下は軽度で、従って DNA が著減を示すために R/D 比は上昇を示した。

3. 特に妊娠初期(正常妊娠ラット)は RNA 不変、DNA の軽度減少、R/D 比は上昇し正常ラットに癌を移植した場合は対称的な pattern を示し、当教室の浅妻が既報した cortisone で処置したラットの場合と同様の関係がみられた。

4. 正常妊娠ラットに腹水肝癌を移植した場合はリンパ節内の RNA は、むしろ高値を示す傾向がみられ、DNA は正常妊娠群にみられたと同様低下を示し、従って R/D 比は上昇し癌細胞増殖に有利とみられた RNA の減少と R/D 比の低下はみられず、妊娠によってこれらの変動が阻止された印象をうけた。

5. 以上の成績は癌の転移形成に対して妊娠はその初期を典型として、ある程度阻止的に働く可能性が考えられ、従って予後を多少とも良好とするのではないかと思う。もっともこの傾向は末期に至るにつれて減弱する印象をうけた。

撰筆するにあたり終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師赤須文男教授に対し深甚の謝意を表するとともに、更に御助言、御文援を賜った西田助教授、館野、浅妻両博士をはじめとして教室員各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Cade, St. : J. Obst. & Gynec. Brit. Comm., 71, 341 (1964).
- 2) 岩崎 博 : 日産婦会誌, 12, 869 (1960).
- 3) 増淵一正・小野正和 : 産婦の世界, 16, 1485 (1964).
- 4) 布目貫一 : 日産婦会誌, 10, 372 (1958).
- 5) Prem, K. A., Maskowski, E. L. & Mckelvey, J. L. : Amer. J. Obstetr. Gynec., 95, 99 (1966).
- 6) Schrimpf, H. : Zbl. Gynäk., 80, 559 (1958).
- 7) 桑原慶人 : 日産婦会誌, 37, 307 (1942).
- 8) 広野 巖 : 日病理会誌, 39号, 地方号, 277 (1950).
- 9) 岩崎 博 : 日産婦会誌, 12, 929 (1960).
- 10) 赤須文男 : 日産婦会誌, 7, 655 (1955).
- 11) Casperson, J. : Naturwissenschaften, 29, 33 (1941).
- 12) Bracht, J. : Arch. Biol., 53, 207 (1942).
- 13) Hepel, L. A., Whitfeld, P. R. & Markham, R. : Biochem. J., 60, 8 (1955).
- 14) Jeener, R. : Biochim. Biophysica acta, 2, 633 (1948).
- 15) Brues, A. M., Tracy, M. M. & Cohn, W. E. : J. Biol. Chem., 155, 619 (1944).
- 16) 遠藤英世 : 癌の生化学 (中原和郎編), 第1版, 289頁, 東京, 医学書院, 1960.
- 17) 赤須文男・館野政也 : Gann, 54, 27 (1963).
- 18) 赤須文男 : 産婦の世界, 15, 1291 (1963).
- 19) Schneider, W. C. : J. Biol. Chem., 161, 293 (1945).
- 20) Schmidt, G. & Thannhauser, S. J. : J. Biol. Chem., 161, 83 (1945).
- 21) Mejbaum, W. : Zschr. physiol. Chem., 258, 117 (1939).
- 22) 渡辺 格・三浦謹一郎 : 実験化学講座, Vol. 23, 281, 東京, 丸善, 1963.
- 23) 三浦謹一郎 : 核酸の化学, 第1版, 17, 東京, 化学同人, 1962.
- 24) Burton, K. : Biochem. J., 62, 315 (1956).
- 25) 竹内正七 : 臨産, 11, 739 (1957).
- 26) 竹内正七 : 日産婦会誌, 9, 330 (1957).
- 27) 沢崎千秋 : 日産婦会誌, 5, 545 (1953).
- 28) 大橋敏郎 : 日産婦会誌, 5, 653 (1953).
- 29) 丹沢章八 : 日産婦会誌, 9, 719 (1957).
- 30) 村上恒男 : 日産婦会誌, 11, 1751 (1959).
- 31) 古賀康八郎 : 医学のあゆみ, 48, 464 (1964).
- 32) Boivin, A., Vendrely, R. & Vendrely, C. : Compt. rend., 226, 1061 (1948).
- 33) Homburger, F. : Science, 107, 648 (1948).
- 34) Homburger, F. & Savard, K. : Proc. Soc. exper. Biol. Med., 70, 68 (1949).
- 35) 太田邦夫 : 癌研究の進歩

- (中原和郎・吉田富三監修), 第2版, 666頁, 東京, 医学書院, 1960.
- 36) 額賀 弘・松尾一郎 : 癌, 41, 138 (1953).
- 37) 浅妻茂美 : 日内分泌会誌, 41, 776 (1965).
- 38) 赤須文男・館野政也・浅妻茂美 : 日本癌学会総会記事 (第23回), 207 (1964).
- 39) 黒田道夫 : 日血会誌, 18, 149 (1955).
- 40) **Dougherty, T. F. & White, A.** : Amer. J. Anat., 77, 81 (1945).
- 41) 赤須文男 : 日産婦会誌, 7, 655 (1955).
- 42) 青木正子 : 日産婦会誌, 6, 1176 (1954).
- 43) 石井文博 : 日産婦会誌, 6, 583 (1954).
- 44) 赤須文男・斎藤 真・桑原惣隆・館野政也 : 産婦の世界, 15, 1291 (1963).
- 45) **Spain, D. M. & Molumut, N.** : Science, 112, 335 (1950).
- 46) 尾山 彰 : 日新医学, 39, 5 (1952).
- 47) **Pomeroy, C. T.** : Cancer Res., 14, 201 (1954).
- 48) **Basergra, R.** : Cancer Res., 14, 12 (1954).
- 49) 夏目 操・野田克己・林 徹・平野恭弘 : 日本癌学会総会記事 (第23回), 175 (1964).
- 50) 大野 乾 : 日新医学, 38, 618 (1951).

Abstract

The pregnancies complicated by cancer are found with low frequency, hence mutual interferences have hardly been clarified.

It is generally accepted that the metastasis of lymphnodes exerts a bad prognosis on cancer patients clinically.

This study was performed to investigate the effect of the pregnancy on the metastasis of lymphnodes.

The author estimated the amount of nucleic acids of pregnant rat's lymphnodes implanted ascites hepatoma by Schmidt and Thannhauser method.

The results of experiments indicated by the average value of nucleic acids contents of lymphnodes compared with controls (non-pregnant, non-implanted) were as follows :

1. RNA value of the lymphnodes tends to be elevated compared with that of the controls.
2. On the other hand, DNA value showed remarkable fall like the normal pregnant groups (non-implanted).
3. Therefore, R/D ratio was elevated.
4. The results mentioned above suggested that the pregnancy might exert an inhibitory action on the metastasis of cancer.