

腹水肝癌移植妊娠ラットの胎盤内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、その合併頻度は極めて低率ではあるが注目すべき問題として、由来各方面からこの関係についての検討がなされ、これまで多くの臨床的¹⁾~⁴⁾、ならびに実験腫瘍学的⁵⁾~⁷⁾報告がみられるが一致した見解には至っていないことなどは既報したところである。更に著者は先にこの相互関係の一端を追求する目的で腹水肝癌 AH 130 を妊娠ラットに移植し、その時の腰部リンパ節の核酸量の変動について検討した⁸⁾。妊娠は胎児成熟 280 日間という短期間の生体内の変化であって、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とがあり、代謝の様相も非妊時にくらべて著しく異なり、殊に正常妊婦では体蛋白の蓄積は著明で蛋白同化傾向は極めて強い状態であるといわれている。これに対して担癌生体では一般に体蛋白生合成能は低下していると考えられ、妊娠個体を一つの生理的腫物担体として対比して考えれば両者はいずれも旺盛な自己増殖系を自己の体内に有する点で共通であって、蛋白代謝の面からみるとその状況は全く対蹠的である(大橋⁹⁾)と考えられる。近時、蛋白合成に RNA が深い関係を有することが Casperson¹⁰⁾ および Brachet¹¹⁾ によって発表されて以来、癌研究の新しい動向として核酸が注目されその構造と機能に関する研究¹²⁾~¹⁴⁾も活潑となった。著者は前回⁸⁾のリンパ節内核酸量の報告に続いて、今回はこの時の胎仔への物質代謝に直接影響をあたえ、その生命を支配すると考えられる胎盤の核酸量について検討し、対蹠的な蛋白代謝の関係にあると考えられる妊娠と癌との合併が、仔に対して如何なる影響をあたえるかを中心として核酸の面から考察を加えてみた。

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妊娠させ、その胎盤を剔出後、氷冷生食水で血液を充分洗い落とし、更に濾紙で可及的に水分を除去した後、主として中央部の母体面を使用した。

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

陰脂膏により性周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を探取し、塗抹標本作製して検鏡し、精子の出現した日を妊娠第 1 日目と推定した。実験は妊娠中期 (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 4 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

ether 麻酔下に両頸動脈を切断して脱血し、移植群では開腹後、腹水を腹腔外に完全に除去した後、Fig. 2

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

に示す胎盤のうちの1個を無選択に眼科用小摂子を用いて剔出し、既述の如く極力、生食水で脱血、濾紙で水分を除去後 torsionsbalance でその wet weight を秤量した。

3. 組織の前処理法

既報論文の如く、組織を細かく碎いた後、酸可溶性分画を、脂質溶媒で脂質をそれぞれ抽出除去した残渣

から核酸Pを抽出するために、よく使わたるのは Schneider 法¹⁵⁾と Schmidt & Thannhauser 法¹⁶⁾とがあり、著者は 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。

4. RNA の定量

前回と同様、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 Mejbaum¹⁷⁾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 は既報論文と同様に調整した。

5. DNA の定量

DNA を構成する deoxypentose 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¹⁸⁾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 の調製も既報論文と同様であるから省略する。

実験結果

以上の如くして行なった実験成績は Table 1~3, Fig. 3~6 の如くである。核酸値は胎盤の 100 mg あたりの値 r (μg) であらわした。なお妊娠初期の胎盤については事実上測定ができないので止むをえず除外した。総核酸量は RNA と DNA の値の和によった。

I. 総核酸量

対照(正常妊娠群)は中期および後期に 650 r および 696 r を示し 両期に有意な差は認められなかったが、移植群では中期に 821 r を示して対照の同期に対して有意な増加がみられ、以後後期に至り 675 r と有意の減少を認めた。後期では移植群は対照と殆んど差はなかった (Fig. 3)。

II. RNA

対照群は中期は 494 r 、後期は 501 r で両期に変化がみられず、ほぼ一定した値を示した。これに対して癌移植群では中期および後期にそれぞれ 585 r および 482 r を示して有意の減少がみられ、この間においては RNA 値は対照より高値を示す傾向がみられ、特に中期では対照に対して有意な増加を認めた。また移植群は後期で対照とほぼ一致した値を示した。以上から癌移植は胎盤内 RNA を増加させ、末期ではほぼ

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

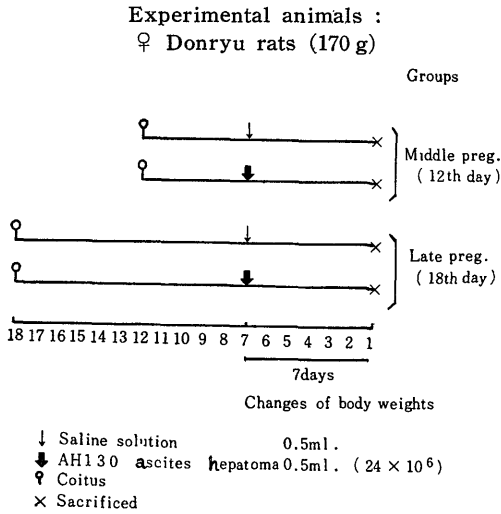
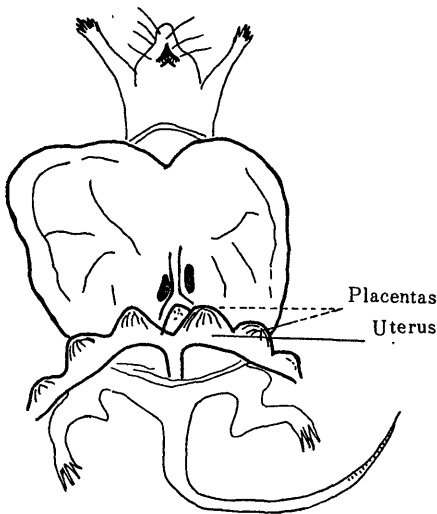
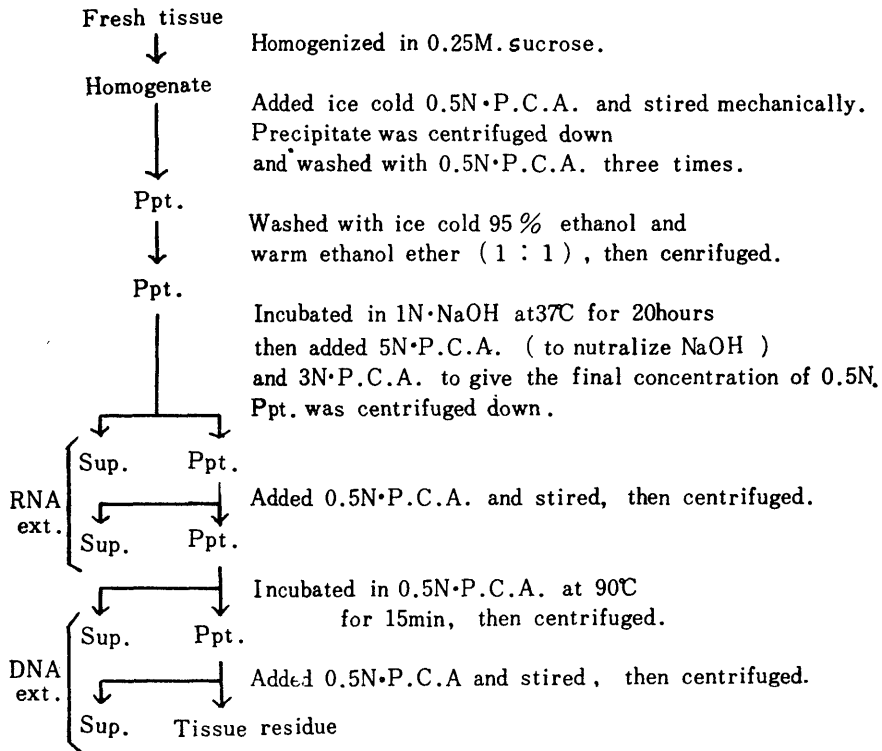


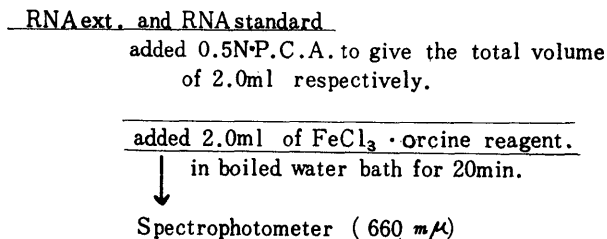
Fig. 2 Diagrammatical picture
of placentas extirpated



Scheme 1 Extraction of nucleic acids (Schmidt and Thannhauser)



Scheme 2 Determination of RNA



Scheme 3 Determination of DNA

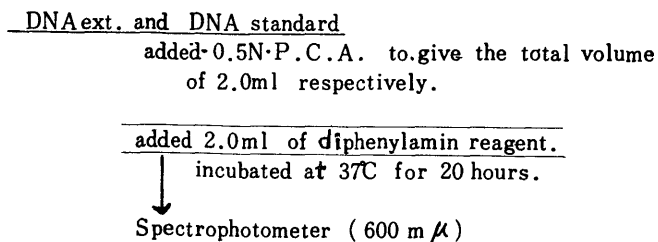


Table 1 Nucleic acids contents of normal pregnant rat's placentas

1) Middle pregnant group

Rat No.	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	635	471	164	2.817
2	699	530	169	3.136
3	667	533	134	3.977
4	599	466	133	3.503
5	717	552	160	3.450
6	589	451	138	3.268
7	680	500	180	2.777
8	612	451	161	2.801
Av.	650	494	155	3.22

2) Late pregnant group

Rat No.	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	584	392	192	2.041
2	784	514	270	1.903
3	932	705	227	3.105
4	614	451	163	2.766
5	729	583	146	3.993
6	—	—	—	—
7	—	—	—	—
8	662	512	150	3.413
9	593	455	138	3.297
10	588	448	140	3.200
11	774	583	191	3.052
12	774	474	300	1.580
13	658	458	200	2.290
14	656	431	225	1.915
Av.	696	501	195	2.71

Table 2 Nucleic acids contents of AH130 implanted pregnant rat's placentas

1) Middle pregnant group

Rat No.	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	790	550	240	2.291
2	922	648	274	2.364
3	737	529	208	2.543
4	821	635	186	3.413
4	857	595	262	3.270
6	800	553	247	2.238
Av.	821	585	236	2.52

2) Late pregnant group

Rat No.	Total amounts of nucleic acid (r/100mg)	RNA (r/100mg)	DNA (r/100mg)	RNA/DNA
1	711	479	232	2.064
2	737	520	217	2.396
3	742	542	200	2.710
4	728	508	220	2.309
5	673	449	224	2.004
6	628	449	179	2.508
7	606	459	147	3.122
8	592	492	100	4.920
9	—	—	—	—
10	661	439	202	2.173
Av.	675	482	191	2.69

Table 3 Nucleic acids contents of rat's placentas of each group

		Total amounts of nucleic acid (r/100 mg)	RNA (r/100 mg)	DNA (r/100 mg)	RNA/DNA
Non-transplanted	Middl epreg.	650±16.9	494±14.1	155± 6.2	3.22±0.147
	Late preg.	696±30.4	501±24.9	195±15.1	2.71±0.216
Transplanted	Middl epreg.	*821±25.8	*585±19.9	*236±13.5	*2.52±0.183
	Late preg.	•675±19.1	•482±12.0	191±14.3	2.69±0.301

* Indicate that the significant difference were observed from the middle preg. (non-transplanted group value). (level of significancy 5%)

• Indicate that the significant difference were observed from the middle preg. (transplanted group value). (level of significancy 5%)

対照と同値を示し、癌移植の影響は軽微であった (Fig. 4).

III. D N A

移植の有無にかかわらず DNA は極めて低値を示し、対照群 (正常妊娠ラット) は中期および後期にそれぞれ 155 r および 195 r を示し、両期に有意の差はなく、妊娠進行による変化は殆んどみられなかった。一方、癌移植群は妊娠中期で 236 r を示して対照に対して僅差ながら有意の増加がみられ、以後後期に至り 191 r を示して軽度の減少傾向を認めた。以上から RNA と同様に、癌移植は DNA を増加させ末期では正常妊娠ラットの DNA 値にほぼ一致した値を示して移植による影響は殆んどみられなかった (Fig. 5).

IV. R/D 比

移植の有無にかかわらず R/D 比は 1.0 より大であって対照 (正常妊娠ラット) は中期および後期にそれぞれ 3.22 および 2.71 と減少傾向が認められたのに対し、移植群では中期に 2.52 を示して対照の同期とくらべてむしろ有意の低下がみられ、後期では 2.69 とほぼ対照の値に一致している。癌の移植は R/D 比の低下を来し、末期では対照の値にほぼ一致してその影響は軽微であった (Fig. 6).

考 察

妊娠時は蛋白同化傾向が強く、竹内¹⁹⁾は妊娠母体

および胎児の栄養、育成に必要な蛋白代謝の根源を妊娠中の肝内核酸の増量に求め、その機序が胎盤内蛋白同化ホルモンの作用に意義があると考えている。従って胎盤が母体および胎児の蛋白代謝に何らか寄与しているのではないかと考えられるが、胎盤の機能、物質代謝の状況については未だ不明の点が多く、各方面からの検討がなされているが、担癌生体内における胎盤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。胎盤では DNA は中期から後期にかけて対照、移植の両群とも有意な変化はみられなかったが、中期において癌移植群は対照より僅差ながら有意の増加がみられ、細胞密度は大で癌移植によって細胞分裂は活潑になるものと思われる。この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 個当りの DNA 量は一定であるという Voivin-Vendrely²⁰⁾の法則から推知されるところである。一方 RNA も中期で対照より僅かに高値を示したが、R/D 比はむしろ低下がみられ、細胞 1 個当りの RNA 量は対照より減少していることが考えられ、従って中期における胎盤は癌移植によって細胞数は増加しているにもかかわらず RNA の合成は低下した状態にあるかまたは破壊されて減少したのではないかと考えられる。RNA の単位重量当りの増加は細胞数の増加による二次的なものではないかと思う。

Casperson¹⁰⁾ および Brachet¹¹⁾によれば、未熟な細胞では RNA は増加して蛋白合成は旺んとなり、

Fig. 3 Total amounts of nucleic acids

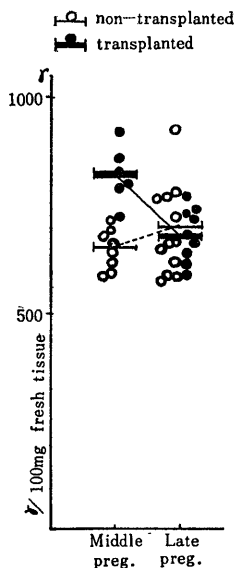


Fig. 4 RNA Value

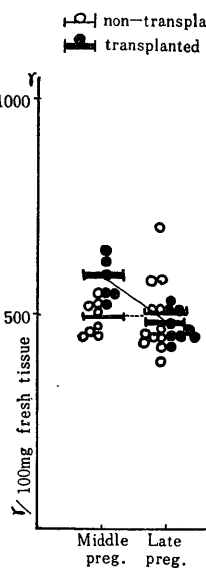


Fig. 5 DNA value

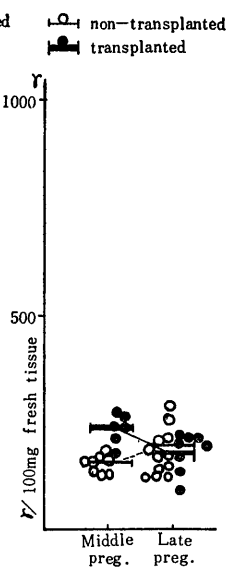
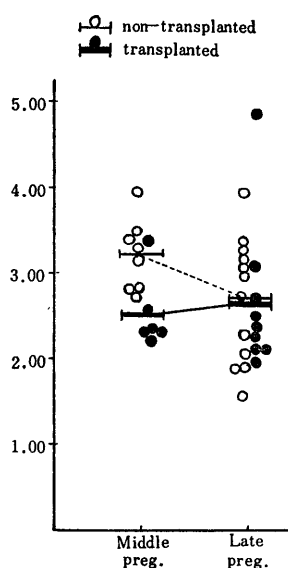


Fig. 6 Ratio of RNA to DNA contents



細胞の発育、機能は旺盛で細胞分化が進むと RNA 量は減少してくるという。従って癌移植群の胎盤内では RNA の代謝異常を伴った細胞分裂が促進されているのではないかと推定され、腫瘍組織から放出される代謝産物、あるいは中原、福岡ら²¹⁾のいわゆる *toxohormone* によってこのような胎盤内の核酸代謝の変化が招来したのかもしれない。悪液質の原因とも考えられている *toxohormone* は当然正常な RNA 代謝を阻害し、細胞発育のための蛋白合成は障害され、胎盤完成に重大な影響を与えているのではないかと予想されることである。一方、後期に癌を移植した場合には RNA, DNA および R/D 比は対照と殆んど差はみられず胎盤への影響は軽微でほぼ正常の機能状態にあると考えられる。正常な胎盤内の核酸量についての報告はこれまでに多くみられるが沢崎²²⁾の人胎盤における成績では初期の R/D 比は 2.5 前後で各期中最高を示し、中期では 1.0 以下となり最低を示し、以後僅かな上昇傾向がみられるが、RNA-P, DNA-P は共に初期は低値で中期に最高を示し、以後は著明な変化はみられないとし、著者の成績もほぼこれと一致した変動を示している。Brody²³⁾も同じく人胎盤について DNA-P は妊娠各期を通じて著変なく、むしろ RNA-P が妊娠経過とともに著減し R/D 比は妊娠 9 週目の 1.43 から 40 週目の 0.60 と低下を報告しているが、これとは逆に丹沢²⁴⁾は家兎胎盤について中期から後期にかけ DNA-P に著減がみられ、RNA-P は軽度の減少を示して R/D 比の上昇を報告している。一方、核酸の組織化学的報告^{22) 25) 26)}からみると、syncytium 細胞の RNA は妊娠初期に著明にみられるが、Langhans 細胞では初期に中等度に発現し、以後妊娠経過とともに減少するものとみられる。村上²⁵⁾によれば母体に純アミノ酸液を负荷した場合の syncytium 細胞には RNA の増加がみられ、これは細胞自体の増殖のためではなく、絨毛上皮の機能としての蛋白合成の亢進を示すもので胎児蛋白合成機序に重要な役割を有するものであると述べている。従って癌移植群の中期にみられた RNA 代謝の異常(低下)が、胎盤内の細胞の発育に障害を与える他、胎仔蛋白の合成にも影響を与えることが予想される。これらは後期で RNA, DNA, R/D 比が対照との間に殆んど差が認められないことから仔への影響は末期では軽度とみられ、前回の報告の如くリンパ節では妊娠初期に転移阻止の傾向がみられたのに対し、仔に対してはむしろ癌による悪影響が軽度ではあるが認められるのではないかと考えられるが、一方、このことは仔への悪影響を胎盤が極力抑制しているとも解せ

られる。岩崎⁷⁾は妊娠前期に腫瘍死したラットの 3 例中、2 例に異常妊娠を認め腫瘍から生産される物質により妊娠が何らかの傷害をうけるのではないかと推定し、一方、後期では移植陰性、陽性の両群とも正常分娩がみられ、仔の奇型もみられなかったと報告していることからこのような関係の成立がある程度肯定しうるものと思う。ところで担癌生体ではその蛋白代謝について特徴的なことは癌蛋白質の強大な生合成のため宿主が負の窒素平衡を示すに至っても、腫瘍はそれと全く無関係に自律的増殖を続けて正の窒素平衡を維持し、死の直前には体蛋白が腫瘍の窒素源となり²⁷⁾、遂に死の転機をとるものと考えられている。また、中原、福岡²¹⁾は担癌体の悪液質の由来を *toxohormone* に求め、肝カタラーゼの低下を来たす重要な因子であるとみなしている。従って肝カタラーゼの減少は肝機能の減退を示すもので肝における蛋白合成、解毒機能は障害をうける²⁸⁾と同時に、一方においては宿主体内の蛋白合成組材が腫瘍により消費されるため一般に担癌生体の体蛋白合成能は低下していると考えられている。これに対して妊娠時の蛋白代謝の様相は担癌体におけるそれと全く対蹠的関係にあることは既に述べたところであって、妊娠と癌との合併は、一方において癌蛋白の生合成に好材料を提供し、他方、胎児発育に対する蛋白代謝に障害を与えることが予想されるものである。村上の母体アミノ酸負荷実験にてみられた syncytium 細胞の RNA の増加の事実に対して、癌の合併はむしろ母体からアミノ酸を奪取するという点、全く逆の関係にあると考えられるからこのようなことから胎児蛋白の合成に対する悪影響が理解できるのではないかと思う。今回も前回の実験と同じく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をそのままあてはめることは、もとより危険であるといわなければならない。以上から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. 正常妊娠ラットの胎盤では、RNA も DNA もともに量的に中期以後殆んど変化をみず、胎盤完成後の安定した状態を示すものとみられる。
2. 正常妊娠ラットの中期に腹水肝癌を移植すると、DNA は軽度の増加を来たし、R/D 比はむしろ低下を示し、RNA 代謝の異常を伴った細胞増殖が旺んになるものと考えられる。妊娠末期に移植した場合にはその影響は殆んどみられなかった。
3. 以上の成績から胎仔に対し、移植群と対照群と

の間には予想外に大差がみられなかったことから、癌移植による悪影響は軽微であると考えられ、むしろ仔に対する影響を胎盤が最小限に抑制しているという印象をうけた。

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教授に対し深甚の謝意を表するとともに、更に御助言、御支援を賜った西田助教授、館野、浅妻両専士をはじめとして教職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・小野正治 : 産婦の世界, 16, 1485 (1964).
- 4) Prem, K. A., Makowski, E. L. & McKelvey, J. L. : Amer. J. Obstetr. Gynec., 95, 99 (1966).
- 5) Schrimpf, H. : Zbl. Gynäk., 80, 559 (1958).
- 6) 広野 巖 : 日病理会誌, 39号, 地方号, 277 (1950).
- 7) 岩崎 博 : 日産婦会誌, 12, 929 (1960).
- 8) 小出春樹 : 未発表 (十全医会誌掲載予定).
- 9) 大橋敏郎 : 日産婦会誌, 5, 653 (1953).
- 10) Casperson, J. : Naturwissenschaften, 29, 33 (1941).
- 11) Brachet, J. : Arch. Biol., 53, 207 (1942).
- 12) Heppel, L. A., Whitfield, P. R. & Markham, R. : Biochem. J., 60, 8 (1955).
- 13) Jeener, R. : Biochim. Biophysica acta, 2, 633 (1948).
- 14) Brues, A. M., Tracy, M. M. & Cohn, W. E. : J. Biol. Chem., 155, 619 (1944).
- 15) Schneider, W. C. : J. Biol. Chem., 161, 293 (1945).
- 16) Schmidt, G. & Thannhauser, S. J. : J. Biol. Chem., 161, 83 (1945).
- 17) Mejbaum, W. : Zschr. physiol. Chem., 258, 117 (1939).
- 18) Burton, K. : Biochem. J., 62, 315 (1956).
- 19) 竹内正七 : 臨婦産, 11, 739 (1957).
- 20) Voivin, A., Vendrely, R. & Vendrely, C. : Compt. rend., 226, 1061 (1948).
- 21) 中原和郎・福岡文子 : Jap. Med. J., 1, 271 (1948).
- 22) 沢崎千秋 : 日産婦会誌, 5, 545 (1953).
- 23) Brody, S. : Exptl. Cell. Res., 3, 702 (1952).
- 24) 丹沢章八 : 日産婦会誌, 9, 719 (1957).
- 25) 村上恒男 : 日産婦会誌, 11, 1751 (1959).
- 26) 田村良男 : 日産婦会誌, 18, 1045 (1966).
- 27) Mider, G. B. : Cancer, Res., 11, 821 (1951).
- 28) 福岡文子 : 癌研究の進歩 (中原和郎・吉田富三郎監修), 第2版, 531頁, 東京, 医学書院, (1960).

Abstract

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

The protein metabolism of the pregnant woman is regarded as opposite to that of the cancer patient.

Therefore, if pregnancy is complicated by cancer, special investigation should be carried out on the effect of cancer on the development of fetus.

In view of probable close relationships among the placental hormones, maternal and fetal protein metabolism, the author estimated the amount of nucleic acids of pregnant rat's placentas implanted ascites hepatoma by Schmidt and Thannhauser method.

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

1. DNA value in rat's placentas implanted ascites hepatoma showed a slight increase.
2. On the other hand, R/D ratio indicated a lower value, and metabolic disorder of RNA in placentas was suggested.
3. But the author is of opinion that the effect of cancer on the fetal development tends to be inhibited to some extent by reason of the slight difference of nucleic acids contents between the controls and the implanted groups.