

# 悪性腫瘍及び貧血患者血漿中水・脂溶性 フォルマリン生成物質,併せて所謂フォル マリン生成コルチコイド含量について

金沢大学医学部日置内科教室(主任 日置教授)

玉 井 健 雄

Takeo Tamai

(昭和30年3月5日受附)

## 緒 論

人血漿をアルコール中に投じ、大体の除蛋白操作を行うと共に、その濾液を乾固、一旦アセトンにとり、クロロホルムに転溶し、水洗せる後、クロロホルム分劃をベンゼンに溶解し、石油エーテルを添加してこれより水抽出を行うときは、その中に水溶性副腎皮質ホルモンの全部を收容し得る。かくてこのものについて、或いは過沃度酸酸化によるフォルマリン生成量を測定し、或いはその還元量を測定し、所謂ヘモコルチコイド含有量を知り得る。尤もこの量は、流血中に存する水溶性皮質ホルモンの実際の含量よりは、なお数等高いものであるので、これを以て副腎皮質ホルモンそのものの測定となすことは難いが<sup>1),2)</sup>、著者等は、ともかくも各疾患について、一応これが従事しあるうち、たまたま血漿の前記クロロホルム抽出物について未だベンゼンに転溶せざるに先立つて、これが水エキスを作製せるそのうちのフォルマリン生成

物質をも測定せるに、各種の疾患について一定の増減を示すことを知り得た。

然るに本分劃は、現在までの検討によれば従来未だ深く追究することのなかつた物質に属するので、本文においては、悪性腫瘍患者血漿についてその含量を究めると同時に、悪性腫瘍に合併する貧血とその含量の増減が如何に關係するかを知るべく、その他の高度の貧血患者の血漿についても同様の測定を行い、比較検討した。

因に、本分劃中におけるフォルマリン生成物質量が、本態性高血圧症<sup>3)</sup>において健常よりも著しく増加し、腎疾患<sup>3)</sup>、糖尿病<sup>5)</sup>において健常よりも減量し、又特に気管支喘息患者<sup>6)</sup>においては発作時にその激減を見ることは、吾が教室において既に報告された所であつて、何れも興味ある知見に属する。

## 実 験

### 1. 臨床材料

検索の対象となつた貧血患者並びに腫瘍患者はその大部分が本教室の入院、外来患者に属し、肘静脈より採血、その時間を大体昼食前3時間、或いは夕食前3時間に限つた。

### 2. 水・脂溶性フォルマリン生成物質 (F.S.) 測定法

### 試 薬

1) アルコール：局方アルコールを脱アルデヒドする。即ちアルコール1立につき50%苛性ソーダ溶液5cc及び亜鉛末5gを加え、 $\frac{1}{2}$ 時間還流冷却器を付して煮沸後蒸溜する。

2) アセトン：純品。

- 3) 飽和塩化マグネシウム : アルコール溶液。
- 4) クロロホルム : 市販のクロロホルムを1/2量の N/10 過マンガン酸カリ溶液にて洗滌すること3回, 最後に蒸留水で数回洗滌, 蒸溜, 芒硝で脱水する。
- 5) ベンゼン : 純品。
- 6) 石油エーテル : 純品。
- 7) 過沃度酸試薬 : 0.25mol 硫酸 100cc に 690 mg の過沃度酸カリを溶解する。
- 8) 塩化錫試薬 : 280mg の塩化錫を 2cc の加熱した濃塩酸に溶解し, 8cc の蒸留水を加える。これは測定の前度新製する。
- 9) クロモトロプ酸試薬 : 150mg のクロモトロプ酸を 2cc の蒸留水に溶解し, 濃硫酸を 48cc 加える。測定の前度新製する。
- 10) 3mol 硫酸。

#### 装 置

フォルマリン蒸溜器は蒸溜フラスコの内容約 25cc, フォルマリン捕集用として 3cc 及び 7cc に目盛を附せる小試験管を使用する。

#### 実 施

- 1) 血漿の分離 : 充分に脱脂, 水洗後乾熱滅菌せる 30cc の注射筒に 3.8% チトラート 1cc を採り, 肘静脈より 21 目盛迄採血, 遠心管に移して血漿を分離す。
- 2) アルコールによる抽出 : 上記血漿 10cc を 40cc のアルコール中に滴下, 良く混じて後遠心し, 上清を分ち, 沈渣物には 10cc のアルコールを加えて攪拌, 濾過して, 濾液を前記上清に合する。しかる後抽出液を長柄の蒸溜コルベンに入れ, 50°C 以下で減圧蒸溜し, 内容を全く乾燥せしめる。
- 3) アセトンによる抽出, 磷脂質の除去 : 前記抽出物質をアセトンにより抽出し, 小遠心管にとる。使用するアセトンは 8~10cc である。これに飽和塩化マグネシウム液 5 滴滴下混和し, 0°C, 30分放置, 後遠心して上清を短柄の蒸溜コルベンに入れ, 減圧蒸溜する。
- 4) クロロホルムによる抽出, 次いで水による抽出 : 前記アセトン抽出物を乾燥後クロロホルムに溶解せしめる。次いで芒硝にて脱水する。使用せるクロロホルム全量は約 6cc で, これを共栓付き遠心管に收容する。これに蒸留水 3cc を加え 3 分間振盪, 水分割を分離する。これを 2 回繰返し, 第 1 回, 第 2 回の水

分割を合し, その中を 4cc 後述の酸化並びに呈色測定に供する。

5) ベンゼン・石油エーテルによる抽出, 次いで水による抽出 : 上記水分割を分つた後のクロロホルム層を芒硝にて脱水, 再び真空蒸溜する。次いで乾固物をベンゼン 1cc に溶解後, 石油エーテル 1cc を加え混合し, 蒸留水 3cc を加え 3 分間振盪し, 後遠心し, 水層を分離する。これを 2 回繰返し, 水分割を合し, その中 4cc を後述の酸化並びに呈色測定に供する。

6) 過沃度酸試薬による酸化 : 上記 2 分割, 即ちクロロホルム水抽出分割 (C.W.), 及びベンゼン・石油エーテル水抽出分割 (B.P.W.) の夫々 4cc に過沃度酸試薬 0.5cc を加えてよく混じり, 30分間 25±1°C の水浴中に保ち酸化を行い, 塩化錫試薬 0.5cc を加えて酸化を止める。

7) 生成フォルマリンの蒸溜及び呈色 : 前記反応液を小蒸溜フラスコに移す。酸化に用いた小試験管を 3mol 硫酸 0.5cc, 次いで蒸留水 0.5cc にて洗い, 何れも蒸溜フラスコに投ずる。他方蒸溜受けの目盛付き試験管には, クロモトロプ酸試薬 3cc を容れ, 小蒸溜器の毛細管の尖端がクロモトロプ酸溶液の下端に位するようにこれを保持し, 液全量が 7cc の目盛に達する迄蒸溜を進める。次いで小試験管を 100°C の重湯煎に 30分間収めて発色せしめる。反応終了後冷却して直ちに比色計にて測定する。比色対照としては, 蒸留水 4cc に酸化試薬, 塩化錫試薬を加え, 同様処理せるものを用いた。

8) 比色測定 : 比色には日立製光電比色計 TK-120 S を用い, フィルターは YB (570m $\mu$ ) を使用した。なお比色に使用せるキュベットは液層の厚さ 10mm のものであつた。標準液としては Hydrocortisone (Merck) 結晶を蒸留水に溶解して用い, 吸光係数 242 を得た。而して血漿 100cc 中のフォルマリン生成物質 (F.S.) 量の算出は次式によつた。

$$F.S. (\gamma/dl) = K \times (A - a) \times 10 \times c \times \frac{1}{2}$$

K : 吸光係数 242 (Hydrocortisone による)

A : 血漿抽出液の吸光度

a : 盲検抽出液の吸光度

c : 血液に加えたチトラートの補正

9) 盲検 : 上記の実施において血漿を用いないで, その他は全く同様にしてこれを行い, 盲検値を予め求める。

実験成績

1) C.W. 分割中 F.S. 量について

夫々の分割における血漿中フォルマリン生成物質量を，測定の対象となつた正常人11名，悪性腫瘍患者25名，貧血患者11名について，別々に第1表，第2表，第3表に掲げたが，先ず血漿クロロホルム抽出液より水に容易に移行する分割，即ち C.W. 分割中フォルマリン生成物質含量について論ずるに，正常人では 0.56~1.4 mg/dl 上下し，平均  $0.902 \pm 0.251$  (危険率 5%における棄却限界値) mg/dl を算せるに，悪性腫瘍患者においては，その含量は 0.61~1.60 mg/dl 平均  $1.18 \pm 0.15$  mg/dl に達した。即ち悪性腫瘍患者においては僅かに高く，推計学的に危険率 5% として t を求むるに  $t = 2.146$  ( $>$ )

第1表 健康人血漿中 F.S. 含量

実験番号	姓名	性	年齢	職業	C.W. (mg/dl)	B.P.W. (mg/dl)
1	木村	♂	30	医師	0.519	0.159
2	中村	♂	25	"	1.196	0.103
3	"	"	"	"	0.640	0.049
4	竹田	♂	25	"	1.460	0.023
5	奥山	♂	29	会社員	0.920	0.024
6	後藤	♂	23	学生	0.569	0.010
7	小村	♂	28	医師	0.568	0.121
8	"	"	"	"	0.655	0.033
9	今井	♀	22	看護婦	1.310	0.043
10	工	♀	20	"	0.715	0.034
11	石田	♀	19	学生	1.370	0.114
平均値					0.902	0.065

第2表 悪性腫瘍患者血漿中 F.S. 含量

実験番号	姓名	性	年齢	病名	血液所見			C.W. (mg/dl)	B.P.W. (mg/dl)
					赤血球数 (万)	血色素 (%)	色素指数		
1	田中	♀	33	胃癌	—	—	—	1.11	—
2	義本	♂	60	"	230	40	0.89	0.61	0.063
3	米	♂	49	"	—	—	—	2.40	—
4	中川	♀	49	"	—	—	—	1.23	—
5	山口	♂	65	"	—	—	—	1.26	—
6	今井	♀	53	"	250	49	0.98	0.69	—
7	佐々木	♂	48	"	320	63	0.94	0.84	—
8	小島	♂	43	"	370	70	0.92	1.23	—
9	山本	♀	57	"	315	36	0.58	1.23	—
10	米田	♂	49	"	—	—	—	1.02	—
11	山村	♀	45	"	230	35	0.76	0.77	0.093
12	清水	♀	74	"	—	—	—	1.05	0.103
13	奥	♀	58	"	240	50	1.04	1.12	0.121
14	中川	♀	49	"	—	—	—	1.26	0.124
15	新保	♀	38	"	360	65	0.90	1.41	0.093
16	水尾	♀	60	"	350	65	0.92	1.52	0.093
17	礼谷	♂	51	肝臓癌	337	63	0.94	1.18	—
18	矢地	♀	60	"	—	—	—	1.00	—
19	中川	♂	37	"	—	—	—	0.70	—
20	正田	♂	65	"	—	—	—	1.53	0.124
21	上田	♀	29	慢性骨髓性白血病	346	55	0.84	1.32	—
22	内田	♂	8	急性淋巴性白血病	271	42	0.77	0.92	0.093
23	成瀬	♀	36	乳腺癌	—	—	—	1.60	0.093
24	野竹	♀	35	直腸癌	360	65	0.90	1.29	—
25	山下	♀	47	肺臓癌	—	—	—	1.11	—
平均値								1.18	0.100

第3表 貧血患者血漿中 F.S. 含量

実験 番号	姓 名	性	年 齢	病 名	血 液 所 見			C.W. (mg/dl)	B.P.W. (mg/dl)
					赤血球数 (万)	血色素 (%)	色素指数		
1	岡 本	♀	26	減色性貧血	73	12	0.16	0.142	0.049
2	広 川	♂	29	再生不能性貧血	93	22	1.18	0.096	0.054
3	堀 川	♂	24	溶血性貧血	165	33	1.00	0.352	—
4	〃	〃	〃	〃	309	64	0.96	(0.675)	—
5	山 本	♂	16	再生不良性貧血	210	32	0.76	0.192	—
6	望 月	♀	23	(産後)失血性貧血	240	46	0.95	0.350	—
7	指 原	♀	24	減色性貧血	242	43	0.89	0.384	0.054
8	佐 野	♂	42	(痔核)失血性貧血	290	41	0.70	0.274	—
9	奥 山	♂	29	減色性貧血	293	32	0.54	0.124	—
10	〃	〃	〃	〃	430	87	1.01	(0.615)	—
11	辻	♀		鉤虫症貧血並びに 胸膜炎	310	50	0.80	0.244	0.087
12	木 村	♀	24	減色性貧血	320	50	0.79	0.274	0.056
13	伊 藤	♀	21	〃	380	40	0.52	0.282	—
平 均 値								0.246	0.060

第4表 C.W. 分割 F.S. 量平均値

	測定 回数	平均値及び棄却限 界値(危険率5%)
健 常 人	11	0.902±0.251 mg/dl
悪 性 腫 瘍 患 者	25	1.18 ±0.151 mg/dl
貧 血 患 者	11	0.246±0.020 mg/dl

2.032=自由度34危険率5%のt分布表の値)でその差は有意義であると考えられる. 次いで一般貧血患者においては C.W. 分割中 F.S. 含量として 0.096~0.352mg/dl (回復期患者の2例における値を除く)なる値が得られ, その平均は 0.246±0.020mg/dl となり, これは推計学的処理をまつまでもなく明らかに大なる減量を示した. (第4表参照)これによつて若し悪性腫瘍患者血漿中 C.W. 分割 F.S. 含量に何らかの変動があれば, もしやそれが悪性腫瘍に伴う貧血によるものではなからうかという懸念は毛頭なく, 寧ろ悪性腫瘍患者において健常者と余り異なる所なく稍々増量さえ示し, F.S. 量の減少は貧血なるが故に存し, 悪性腫瘍患者では仮令貧血が存しても減量することがない所にその特徴を見出すことを得たのである.

2) B.P.W. 分割中 F.S. 量について

第1, 2, 3表中より正常人, 悪性腫瘍患者, 各種貧血患者血漿中 B.P.W. 分割 F.S. 量を抜萃せるに第5表の如くで, 悪性腫瘍患者においては, 正常人との間に若干の差異があり, これを

第5表 B.P.W. 分割 F.S. 量平均値

	測定 回数	平均値及び棄却限 界値(危険率5%)
健 常 人	11	0.065±0.034 mg/dl
悪 性 腫 瘍 患 者	10	0.100±0.013 mg/dl
貧 血 患 者	5	0.060±0.018 mg/dl

第6表 悪性腫瘍患者 C.W. 分割  
F.S. 量と本態性高血圧患者  
C.W. 分割 F.S. 量比較

	測定 回数	平均値及び棄却限 界値(危険率5%)
悪 性 腫 瘍 患 者	25	1.18±0.151 mg/dl
本 態 性 高 血 圧 患 者	11	1.70±0.48 mg/dl

(上記の値より危険率5%としてtを求むるに t=3.286 (>2.032=自由度34のときのt分布表の値)で推計学的に有意の差があると認める.)

推計学的に危険率5%としてtを求むるに  $t=4.559$  ( $>2.093$ =自由度19危険率5%のt分布表の値) で有意の差があると認める。次に貧血患者においては正常人との間に推計学的には  $t=0.25$  ( $<2.145$ =自由度14危険率5%のt分

布表の値) で有意の差を認め難い。しかし乍らこれは副腎皮質ホルモンそのものより精密なる測定法を以てこれを解決すべきであり、著者の研究は目下その方向に進みつつあるので、近くこれが報告をなす機会を有することと思う。

### 総括並びに結論

1) 悪性腫瘍患者血漿中著者等の所謂水・脂溶性フォルマリン生成物質は、健常人血漿におけるよりも僅かに増加する。但し、本態性高血圧患者の増量には及ばない。(第6表参照)。所謂ヘモルチコイド含量も亦健常におけるよりも僅かに増加する。

2) 種々なる貧血患者血漿は、一般に前記水・脂溶性フォルマリン生成物質含量の低下を来すが、所謂ヘモルチコイド含量は健常におけると大差がない。

擧筆するに臨み恩師日置教授の終始御懇篤なる御指導並びに御校閲を衷心より深謝する。

### 参 考 文 献

- 1) 金田・竹田・織田：日新医学，41，609，1954。  
2) 織田邦夫：日新医学，42，87，1955。  
3) 中村和夫：十全医学会雑誌，56，201，1954。  
4) 安川栄一：十全医学会

- 雑誌，56，193，1954。  
5) 小村裕：十全医学会雑誌，印刷中。  
6) 森井寛二：内科学会雑誌，44，109，1955。