

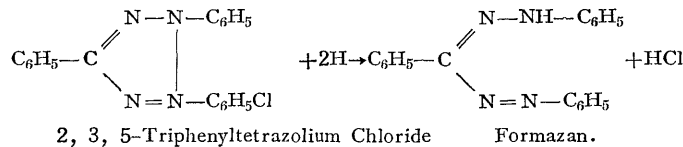
IV 考 按

Succinic dehydrogenase (コハク酸脱水素酵素) は生活細胞の呼吸に重大なる役割を演じ、細胞の Mitochondria 中に存在するとされている。

初め Semenoff は古典的な Thumberg の Methyleneblue 法を改良して、組織切片に応用して本酵素の証明を試みた。この方法は未固定凍結切片を Methyleneblue と Phosphate-buffer とに入れて染色する方法であつた。即ちコハク酸の存在の下に不完全な嫌気性条件の下に、Methyleneblue が無色に変換する程度を顕微鏡下で検討したのであつた。これよりさき、Pechman and Runge は 2, 3, 5-Triphenyl-tetrazolium Chloride (T.T.C) を創製した。このものは白色粉末で、光で黒変し、水に易溶である。Dehydrogenase の存在により容易に還元されて Formazan となり、このものは水に不溶で赤橙色を呈する。Lakon は植物発芽力の検査に T. T. C を標示薬として使用し、1948 年

Shuel は小麦、燕麦の検査から 1% 溶液、48°C が好適条件であることを報告した。一方同年 Straus, Cheronis and Straus は悪性腫瘍に応用したが、しかし赤変は顕著でなかつた。即ち高率の陽性成績を得ることは出来なかつた。1949 年 Gunz は本反応は 60°C で抑制されることを発見している。1950 年に至り、Schuermann は結核性、梅毒性及び化膿性病変、肉芽組織、外傷性潰瘍、湿疹等を対照として、皮膚癌及び黒色腫に応用して、悪性腫瘍は良性病変に比し速かに還元される、即ち赤変が強度で速かなことを発表した。

上記 T. T. C が Dehydrogenase 活性度の標示として用いられるのは、T. T. C が Dehydrogenase の存在により還元されて Formazan となり、これが赤橙色を呈し、水に不溶である性質を有していることによるものであり、その化学変化は下記の如く示される。



Dianzani はコハク酸以外の基質 9 種類について実験を行い、市川氏等も又更に多数の基質 (19種) を使用して、夫々比較検討した成績を発表している。Seligman and Rutenberg は本反応に対する抑制物質を検討すると共に、切片の厚さ並びに汚染の程度の影響を研究した。彼等は T. T. C 2 分子の結合と思われる Ditetrazolium を使用した。大原等によれば、上述の組織化学的反応は、マロン酸の存在により完全に抑制され、Ethylurethan でかなり阻害されるが、青酸ソーダで全く阻害されない点から、Succinic Dehydrogenase の特異的な反応によるものと見做して差支えないものと断定した。又浜崎氏等は正常、肉腫、Ehrlich 腹水癌、吉田肉腫等各種組織について本反応を検査し、T.

T. C. 顆粒は癌に特異なものと考えて差支えなからうと結論した。

以上の諸実験は何れも組織について行つたものであつて、分泌物についての研究は比較的少ない。本邦では御園生は子宮癌患者の陰分泌物について実験し、その信頼度は Papanicolaou 氏法より高いことを報告している。我々は胃液について実験し、上記の成績を得たのであるが、その本態は胃液中に脱落せる細胞、特に癌細胞の有する著明な Dehydrogenase 活性度に関連するものと思われる。即ち胃癌が発育する際個々の癌細胞は胃内腔に脱落し、これが胃液によつて変性融解等の変化を受けない中に、胃液と共に吸引せられるならば、本反応を陽性化せしめるに至るものと考えられる。勿論本酵素は正

常細胞にも含有せられ、長時間の反応では T. T. C を還元赤変せしめるものである。癌細胞はその無酸素呼吸と関連して、本酵素含有量が格段に多く、速かに且つ強度に還元作用が行われるものと思惟される。我々は反応時間を2時間に限定した。

なお胃癌胃液においては、その無酸と関連して大量の細菌を含有するものと思われ、この細菌が反応に何らかの形で関与することが考えられるが、Seligman 等によれば 37°C、2時間では、判定を左右するほど強力なものとは考えられない。大原等によれば赤血球には本酵素活性度は証明せられない。

Dehydrogenase の証明には T. T. C のみならず、現今は更に、Neo-tetrazolium, Blue-tetrazolium 等が使用せられ、青変、黒変を以て示標とせられ、その優秀性が強調されているが、我々は赤変が判定に際し容易である点から T. T. C のみを使用した。

我々の実験では非癌28例中5例において陽性化を認めたが、これら切除標本の組織学的所見は、何れも粘膜の高度な破壊乃至は脱落を認め、且つその部の強力な粘膜再生像を証明出来たのであつて(図参照:顕著な例を図示したものが第1-4図である)、旺盛な呼吸活性度の要求される如き状態の存在を物語っているものと思われる。

Neo-tetrazolium を用いる時は反応は更に鋭敏であり、女性性器組織の如く、活潑な増殖、生長等の惹起される際に本酵素活性度増強を証明し得る場合が多いという。

これを要するに、従来よりの文献を総合判断するならば、Dehydrogenase 活性度高揚の意味するものは、酸化還元機構に関連する酵素系に

よつて促進される機序、即ち生長、増殖等著明な呼吸活性度亢進と正比例するものであり、この事実はとりもなおさず癌組織發育の旺盛な事実と関連すると共に、非胃癌例における本酵素活性度増強は如上の機序の昂進を示すものであり、既に正常組織と遠く隔絶せる状態の存在を暗示するものと考えて差支えないものと思われる。所謂慢性胃炎及び慢性胃潰瘍の組織像は高度の破壊であり広範な退行性変化である(即ち Degeneration)、と同時に一方同一箇所において修復が(即ち Regeneration)活潑に行われんとする場であり、かかる条件は癌化に好適な素地を提供するものと考えられる。非癌症例に本酵素活性度増強を認めたことは、前癌性変化への移行を示唆するものと推定され、本反応の陽性化はかかる変化の臨床的把握に役立ち得るものと思われる。勿論胃液内に本酵素活性度増強を証明し得るためには、かかる細胞が多数胃内腔に脱落することが必要であり、従つて粘膜下にかくれた如き胃癌(極めて初期の迷入癌の如き)に対しては応用価値は少ないものと思われる。

我々の得た成績中胃癌にして陰性例3例を見るが、何れも癌巣は小乃至中等度であつたがすべて胃内腔に露出していたものであつた。これらが陰性成績を示した理由は、なお不明であるが、実験初期においては被検液としての胃液は必ずしも採取直後のものに限らなかつたこと、遠心沈降乃至沈渣検鏡を併せ実施しなかつたこと等が一部の原因かと推察される。

我々の方法は手技において簡易であり、而も呈色反応であるため、その判定に特殊な技術熟練などを要しない点で、実地に応用の価値があるものと信ずる。

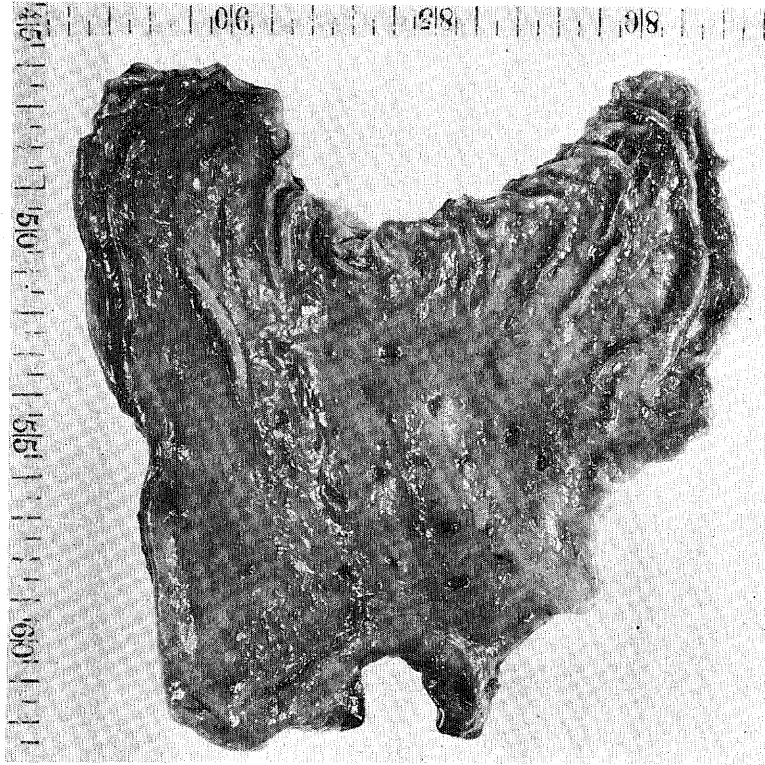
V 結 論

我々は少数例であるが T. T. C を示標とした Succinic dehydrogenase 証明を胃液に應用して、胃癌並びに前癌状態の診断に利用し得るこ

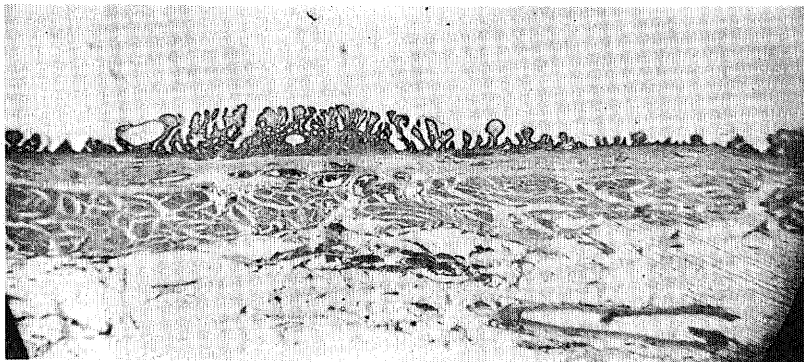
とを報告した。得られた成績は優秀とはいへないが、被検体の処理を適切にすることによつて更に向上し得るものと期待される。諸賢の御追

高瀬論文附圖 (1)

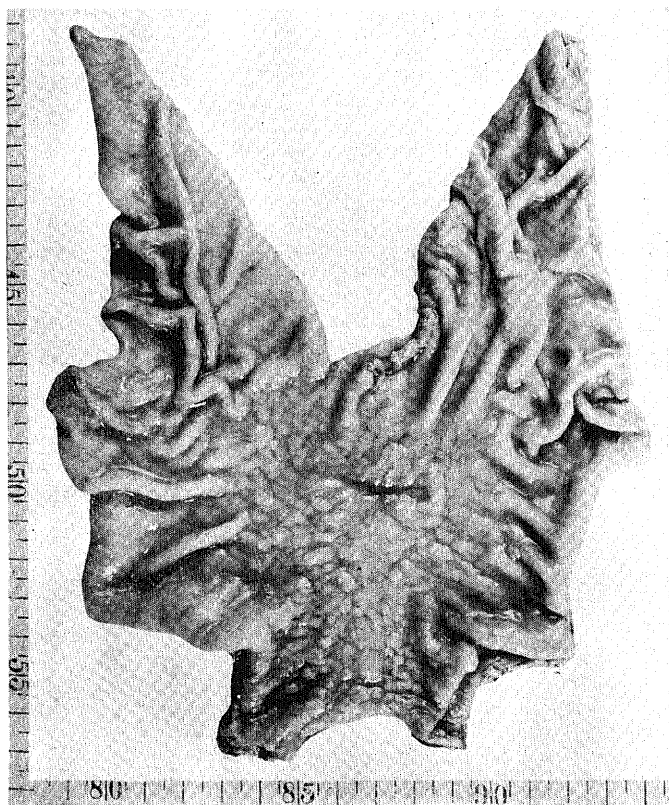
第1図 田○氏 50歳 ♂ Gastritis ulcerosa 肉眼的所見
粘膜皺壁尠く、新鮮、陳旧多数の潰瘍を認める。
(術前診断：慢性胃炎、胃液 T.T.C 反応陽性)



第2図 第1図 小彎部 H. E. 染色弱拡大(この標本の両端は潰瘍につづく、粘膜の一部は破壊脱落の状態を思わせるが大部分特に右側半は明らかに再生の像を認める)



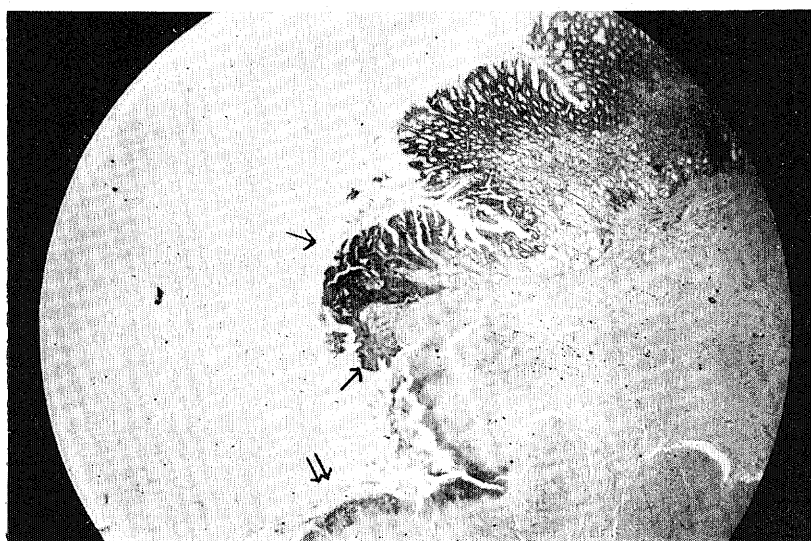
第3図 上○氏 27歳 ♂ Ulcus vent. 肉眼標本. 胃液 T.T.C 反応陽性



第4図

第3図 潰瘍部横断面組織所見 (H. E. 染色)

→ 印……は辺縁部再生粘膜が肉芽創を被覆せんとする像を示す.
⇓ 印……は潰瘍底.



試御批判を乞う次第である。

のものである)。

(本実験は 著者等が 金沢大学医学部久留外科在任中

主 要 文 献

- 1) **W. Antopol, S. Glaubach and L. Goldman:** Effects of a new Tetrazolium derivative on tissue, bacteria and onion root tips. *Publ Health Rept.* **63**, 1231—1238 (1948). 2)
- M. M. Black and I. S. Kleiner:** The use of triphenyltetrazolium chloride for the study of tissue slices. *Science* **110**, 660—661 (1949).
- 3) **Dianzani M. U.:** Histochemical detection with Ditetrazolium chloride of some enzymatic activity in isolated mitochondria. *Nature* **171**, 125—126 (1953). 4) **Forker A. G. and S. W. Denham:** Succinic dehydrogenase as an indicator of cellular metabolism in the cervix of pregnant and nonpregnant women. *Surg. Gynec. & Obst.* **96**, 259—264 (1953). 5)
- 浜崎幸雄・小田修・増谷健三・大西則之: T. P. T. 癌反応の特殊性に関する研究. 第13回日本癌学会講演. (昭29). 6) **I. F. Huddleson and B. Baltzer:** Differentiation of bacterial species and variation with species by means of 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium chloride in culture medium. *Science* **112**, 651—652 (1950). 7) 市川牧: 細胞化学. その理論と術式, 東京, (昭28).
- 8) 市川牧・小倉幸子・志賀鑑時・南本実俊: 細菌に於ける Dehydrogenase の細胞化学. *日本細菌学雑誌*, **8**, 784—784 昭(28). 9) **Lakon G.:** *Plant physiol.* **24**, 144—146 (1949); *F. E. Smith* による. 10) **E. Kun and L. G. Abood:** Colorimetric estimation of succinic dehydrogenase by triphenyltetrazolium chlorid. *Science* **109**, 144—146 (1946). 11) 御園生雄三: 子宮癌細胞の新しい染色法. *産婦人科の実際*, **1**, 223—226 (昭27). 12) 松原正香: 癌の生物学的診断法. *日本医事新法*, **1041**, 558—566 (昭26). 13) 大原実・倉田自章・橋武彦: コハク酸脱水素酵素の組織化学的証明法. *医学と生物学*, **25**, 111—113 (昭27). 14)
- Padykula H. A.:** The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. *Am. J. Anat.* **91**, 107—145 (1952). 15) **Von. Pechman H. and Ruuge P.:** Oxydation der Formazylverbindungen. *Berichte dtsh. chem. gesell.* **27**, 2920—2930 (1894). 16) **Roberts L. W.:** Survey of factor responsible for reduction of 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium chloride in plant meristems. *Science* **113**, 692—693 (1951). 17) **Schuermann H.:** Triphenyltetrazolium-chloride als Indicatorsubstanz bei malignen Tumoren. *Klin. Wschr.* **28**, 464—465 (1950). 18) **Seligman A. M. Rutenberg:** The histochemical demonstration of succinic dehydrogenase. *Science* **113**, (1951). 19)
- Semenoff W. E.:** Mikrochemische Bestimmung der Aktivität der Succinodehydrase in der Organen der *Rana temporalia*. *Z. Zellforsch.* **22**, 305—310 (1935). 20) **Shelton E. and W. C. Schneider:** On the usefulness of tetrazolium salts as histochemical indicators of dehydrogenase activity. *Anat. Rec.* **112**, 61—75 (1952). 21) **Smith F. E.:** Tetrazolium Salt. *Science* **113**, 751—754 (1951). 22)
- Stein R. J. and H. W. Gerade:** Triphenyltetrazolium chloride in tissue culture. *Science* **111**, 691—691 (1950). 23) **Straus F. H., N. D. Cheronis and E. Straus:** Demonstration of reducing enzyme systems in neoplasmas and living mammalian tissues by triphenyltetrazolium chloride. *Science* **108**, 113—115 (1948). 24) 高瀬武平: 慢性胃炎の癌化. *臨床外科*, **9**, 571—582 (昭29).