

第15回日本産科婦人科学会総会宿題報告

婦人科領域における悪性腫瘍の酵素学的研究

名古屋大学医学部産科婦人科学教室 (主任 石塚直隆教授)

助教授 石 原 実

共同研究者

川島 吉良, 内田 正, 井筒 重彦, 中塚 勉, 三木 充, 山尾登美子
 蜷川 映己, 長谷川 玄, 堀尾 仁, 岡本 美枝, 寺尾 俊彦, 伊藤 敬
 中島 貞利, 山田 英雄, 野畑銀四郎, 茶谷 勲

目 次

I 緒 言

II 研究課題

III 実験材料

IV 実験結果

1. 子宮頸癌における enzymatic pattern
2. 血中酵素量からの診断及び予後
 - i) Aldolase 活性
 - ① 血清 Aldolase 活性
 - ② 組織 Aldolase 活性
 - ③ 小括 ii) 核酸代謝酵素系
 - ① Desoxyribonuclease 活性
 - ② Ribonuclease 活性
 - ③ Adenosine deaminase 活性
 - ④ Polynucleotide phosphorylase 活性
 - ⑤ 小括 iii) Catalase 活性
 - ① 血液 Catalase 活性
 - ② 肝 Catalase 活性
 - ③ 子宮 Catalase 活性
 - ④ 小括 iv) 酵素活性の診断的応用
 - v) 酵素活性と予後との関係
3. 酵素流出機序に関する基礎実験
4. Catalase を中心とした tumor-host relationship
 - i) 血清鉄量
 - ii) 組織鉄量
 - iii) Toxohormone
5. 治療への応用
 - i) 血清 Aldolase 活性の治療経過による消長
 - ii) 血清 Catalase 活性の治療経過による消長
 - iii) 制癌剤の酵素阻害作用
6. 酵素組織化学的検索

V 結 語

I 緒 言

最近の酵素化学の進歩はめざましく、単なる生化学的研究の段階から既に臨床の補助診断、治療経過、予後の判定などに応用される機運に達している。ひるがえって癌と酵素系に関する研究は古くは1910年 Blumenthal, Brahn による担癌動物の肝 Catalase 活性の著明な低下の報告に始まり、その後 Warburg, Greenstein らによつてその集大成がなされた感を深くする。しかしこれらの研究は動物実験を主としたものであり、われわれ臨床家にとっては臨床材料を中心に検索することが必要欠くべからざることゝ考える。癌を生化学的に解明する場合癌組織自体を対象とする場合と正常生体になく担癌生体に特異的な変化、すなわち tumor-host relationship を追求する2つの立場が考えられるが、両者は表裏一体をなす問題である。われわれは、子宮頸癌を主とした婦

人科領域における悪性腫瘍の診断及び治療面への応用、更に酵素活性変動の機序を解明する目的で実験に着手した。

II 研究課題

1. 担癌生体及び癌組織における enzymatic pattern
2. 血中酵素量からの診断及び予後
3. 癌組織からの血中流出の機序
4. Catalase を中心とした tumor-host relationship
5. 治療への応用
6. 酵素組織化学的検索

すなわち生化学的には energy source としての糖質代謝酵素系、酸化還元代謝酵素系、細胞増殖に必要な核酸代謝酵素系を中心に、Aldolase, Lactic dehydrogenase, Succinic dehydrogenase, G-6'-PDH., DNase, RNase, Adenosine deaminase, Catalase, Transaminase, β -Glucuronidase など10種類の酵素について検索し、更に組織化学的にも検討を加えた。この為に癌組織と非癌組織、担癌生体と非癌生体において酵素量に変化があるか否かを検索した。そこで組織を homogenate にして細胞膜を破壊し、細胞成分について検索する方法をとつた。もし細胞を壊さない状態、たとえばスライスでは細胞への膜透過性が問題になり、また細胞成分から酵素を精製すると精製過程における酵素の回収率が問題になつて酵素量の比較が困難になる。この点を考慮して本研究は一貫して細胞成分につき酵素量を調べることゝし、homogenate, 核, mitochondria 及び soluble fraction の4分画について調べた。soluble fraction は microsome を含む可溶性蛋白部分である。

酵素活性の測定条件は、十分多量の基質と酵素反応に最適の温度、pH などであるから、得られた活性は酵素量の相対値、端的にいえば酵素の絶対値を別の単位で表しているといつてもよい。かゝる態度で研究を行つたことを先づ強調して、以後実験結果について述べる。

III 実験材料

1. 人体材料として非癌患者及び子宮頸癌を主とする悪性腫瘍患者の血液並びに組織を使用した。これらの材料について酵素活性を至適条件下で測定したので、ほゞ

酵素量の相対値を表すものと考えてよい。

2. 癌細胞からの酵素流出その他機序に関する実験には Amnion cell, Hela cell による組織培養法並びに実験腫瘍動物を使用した。

3. 分子レベルでの制癌剤の作用を知るためには純粋酵素を用いた。

IV 実験結果

1. 子宮頸癌における enzymatic pattern

一般に代謝経路において、A物質がB物質をへて、DおよびC物質に代謝されるときA→B→Cなる経路がA→B→Dなる経路よりも亢進しているときは、E2量はE3量よりも増大してくることが知られている。(第1

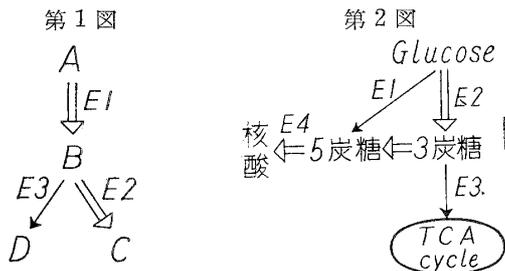
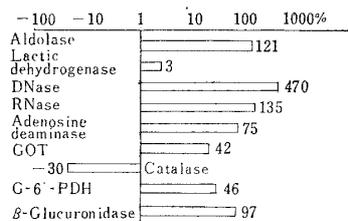
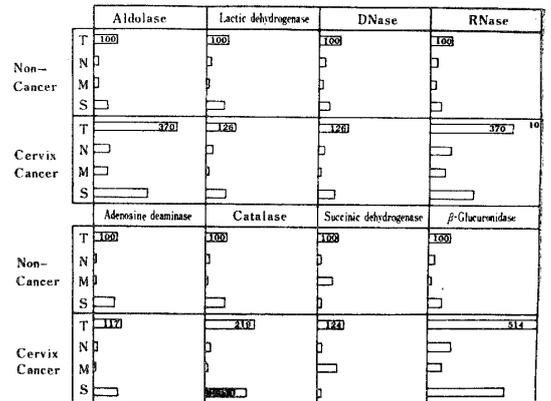


図) われわれが子宮頸癌について検索した Glucose の代謝経路については LDH, SDH (E3) が弱く, ALD (E2) が強いことからおのずと Glucose から 3 炭糖, 5 炭糖をへて核酸が合成される経路が亢進していることが考えられるであろう。(第2図) その根拠となる実験を臨床的に血液及び組織酵素活性の面からとりあげると、頸癌患者血液酵素活性は非癌患者に比し ALD (E2) 121%, LDH (E3) 3%, G-6'-PDH (E1) 46%, DNase (E4) 470%, RNase (E4) 135% の上昇を認め、Catalase は、30% の低下傾向にある。(第3図) 頸癌組織扁平上皮癌酵素活性は非癌子宮頸部上皮を 100% とした場合 ALD 370%, LDH 126%, SDH 124%, G-6'-PDH 3000%, DNase 126%, RNase 3700% Catalase 219% を示した。(第4図) すなわち LDH, SDH (E3) はほとんど変動を認めず, ALD (E2), RNase (E4) 活性は血液、組織とも著明な活性上昇を認めている。そこでわれわれは頸癌の場合解糖系が亢進するが、これは 6 炭糖が ALD により 2 つの 3 炭糖になり、pentose phosphate shunt を通つて Pentose をつくり、核酸合成の素材となつていようことを想定し、次の実験を行った。すなわち Glucose-1-¹⁴C を負荷するとたゞちに 5 炭糖へゆく経過は ¹⁴C が CO₂ となる

第3図 Alteration of Blood Enzymatic Activities in Cervix Cancer to Normal

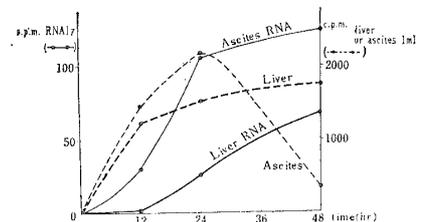


第4図 Enzymatic Pattern in Non-Cancerous & Cancerous Tissue



ため、RNAへは incorporate されず、3 炭糖、5 炭糖経路があるとすれば、RNA 中に ¹⁴C の incorporation を認めるはずである。純培養期にある吉田肉腫に Glucose-1-¹⁴C を 50μc 投与し、肝及び腹水から RNA を抽出したところ、腹水では 12 時間後から incorporation が増加した。これは嫌気性解糖より Glucose-1-¹⁴C が 3 炭糖となり、更に 5 炭糖となつて RNA の Pentose 部分を構成した結果と考えられ、われわれの推測した代謝経路が実証された。また肝 RNA では腹水より 12 時間おくれでとりこまれることがわかつた。すなわち腹水 RNA は肝 RNA より turn over が速いことを推察せしめる。(第5

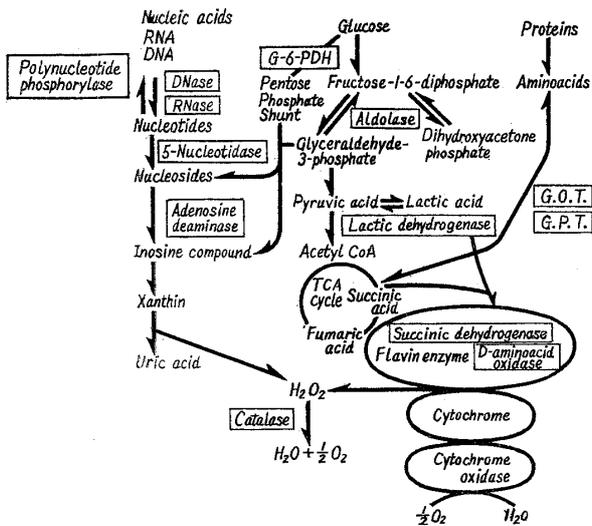
第5図 Incorporation of G-1-¹⁴C to RNA



2. 血中酵素量からの診断及び予後 (第6図, 第1表)

われわれは10種類に及ぶ血中酵素について非癌患者、および子宮頸癌、子宮体癌、絨毛上皮腫、クルーケンベルグ氏腫瘍など悪性腫瘍患者についてその変動並びに診断的意義について検討を加えた。なかんずく、頸癌患者の非癌患者に対する酵素量の上昇乃至下降率は A.L.D., DNase, RNase, β-G, などは著明な上昇を、また C は中等度の上昇を示している。次に頸癌組織、扁平上皮癌では非癌子宮頸部上皮に比し、G-6'-PDH, RNase は著明な上昇を、ALD, DNase, C, β-G では中等度の上昇を、LDH, S.D.H ではほとんど上昇を認めない。血中酵素量と組織酵素量は大体平行状態にある。但し、酵素の種類によっては G-6'-PDH, C など組織から血中へ流出し難いものもある。その中主な酵素について述べる

第6図 Catalytic Points of Enzymes



第1表 Enzyme assays

Enzyme	Method of assay	Substance measured	Main reaction
Aldolase	Bruns colorimetry (540m μ)	Hydrazone	change triose Phosphate into hydrazone by adding hydrazine and develop colour with 2,4-dinitrophenylhydrazine
Lactic dehydrogenase	Cadaud colorimetry (550m μ)	Pyruvic acid	develop colour with 2,4-dinitrophenylhydrazine
Succinic dehydrogenase	T.T.C. method colorimetry (470m μ)	Triphenyl formazone	measurement of reduced substance of T.T.C.T.P.F.
DNase	Allfrey & Mirsky colorimetry (600m μ)	Desoxyribose	accumulate acid soluble desoxypentose compounds and develop colour with diphenylamine
RNase	Mc Donald ultraviolet absorption (260m μ)	Ribonucleotide	spectrophotometry of free nucleotide
Adenosine deaminase	Conway microdiffusion technique	NH ₃ - N	titration of NH ₃
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase	Glock & Mclean Spectrophotometry (340m μ)	TPNH	Measurement of Reduced TPN
D-aminoacid oxidase	Yagi & Nakano Manometry	O ₂ consumption	manometry of O ₂ consumption
G. O. T.	Sigma & Fränkel colorimetry (505m μ)	Oxaloacetic acid	develop colour with 2,4-dinitrophenylhydrazine
G. P. T.	Sigma & Fränkel colorimetry (505m μ)	Pyruvic acid	"
Catalase	Euler-Josephson titration	H ₂ O ₂	titration by permanganate
β -glucuronidase	Fishman colorimetry (540m μ)	Phenolphthalein	measurement of colour developed by phenolphthalein

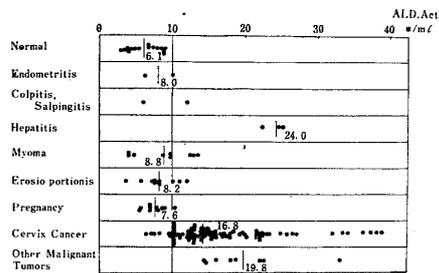
i) Aldolase 活性

A LDは解糖系の中間代謝物質 Fructose-1,6-diphosphate (HDP) を分解して Dihydroxyacetone-phosphate と Glyceraldehyde-3-phosphate を生成する酵素である。

① 血清 Aldolase 活性 (第7図)

健康人を含む非癌患者48例, 子宮頸癌患者86例, その他の悪性腫瘍患者8例について血清A LD活性を測定した。非癌患者では平均7.6単位, 内, 健康婦人では平均

第7図 Serum Aldolase Activity in Various Diseases

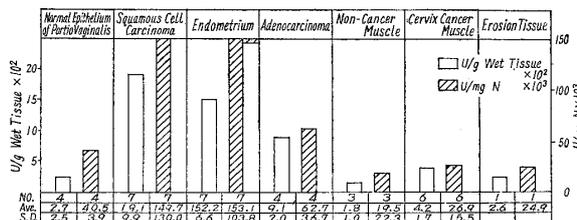


6.1単位で, 10単位を限界値とすると非癌患者で異常高値を示したものは48例中9例, 19%で, 肝炎はいずれもかなりの高値を示した。子宮頸癌患者では6.4~38.9単位の範囲内にあり, 平均16.8単位で86例中80例, 90%は10単位以上の異常値を示し, 非癌患者との間に明らかな有意差を認めた。閉経前後, 進行期, 組織分類などによる差異は認められない。頸癌以外の悪性腫瘍, すなわち子宮体癌, 絨毛上皮腫, クルーケンベルグ氏腫瘍患者などにおいても全例異常値を示した。

② 組織 Aldolase 活性 (第8図)

以上のごとく血清A LD活性が婦人性器癌患者で有意の上昇を示すことが確認された。

第8図 Aldolase Activity of Non-Cancerous & Cancerous Tissue



しかし, これはあくまで宿主側の酵素の変動であつて, 癌自体の代謝を追求したことにしならず, 多くの因子のからみあいの結果をみているにすぎない。そこで血清A LD活性変動の機序を解明するためまず癌組織自体について検索した。非癌患者においては子宮腔部上皮, 子宮筋層は低値を, 子宮内膜は高値を示した。扁平上皮癌組織は正常腔部上皮に比し4倍の活性上昇を認め, 頸癌の筋層は非癌子宮筋層に比し30%の上昇を認めた。しかし体部腺癌では扁平上皮癌に比し約3倍の高値を認めたが, 正常子宮内膜に比べれば低値を示した。非癌及び頸癌組織の細胞内A LD活性分布を調べると, soluble fractionに最も高値を認め, 両者間の差異は認められなかつた。

③ 小括

(1) 子宮頸癌患者血清A LD活性は非癌患者に比し約2倍の高値を示し, 閉経前後, 進行期, 組織分類などによる差異は認められない。

(2) 子宮頸癌組織扁平上皮癌A LD活性は非癌子宮腔部上皮に比し, 4倍の高値を認めた。

(3) 頸癌子宮筋層は非癌子宮筋層に比し, 30%のA

LD活性上昇を認めた。

(4) 頸癌患者のALD活性が血中で高値を示すことは癌組織からの流出が大部分で一部筋肉からの流出も考慮すべきことが推察される。

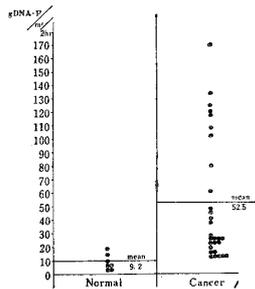
(5) しかも、ALD活性が細胞内でsoluble fractionに最も高値を認めたことはALDが分子量小さく、容易に細胞膜を通して流出するものと推察される。

ii) 核酸代謝酵素系

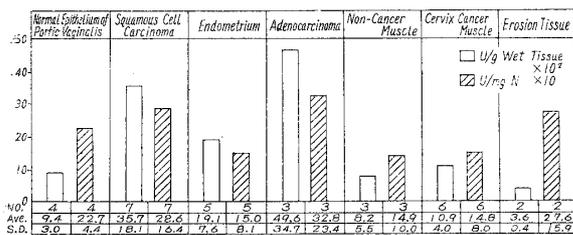
① Desoxyribonuclease 活性 (第9図, 第10図)

頸癌患者29例の血清DNase活性は12.5~134単位の間にあつて、平均52.5単位でかなりのばらつきがあるが、非癌患者の平均9.2単位に比し6倍の上昇を認めた。閉経前後、進行期、組織分類などによる差異は認められない。また頸癌以外の悪性腫瘍患者、すなわち絨毛上皮腫、クルーケンベルグ氏腫瘍患者においても高値を示した。子宮頸癌組織、扁平上皮癌では正常陰部扁平上皮に比し30%の上昇を、また子宮体部腺癌では正常子宮内膜に比し、2倍の上昇を認めた。頸癌子宮筋層と非癌子宮筋層との差異は認められない。頸癌組織における細胞内DNase活性分布はsoluble fractionに最も高値を認めた。

第9図 DNase Activity in normal and cancerous sera



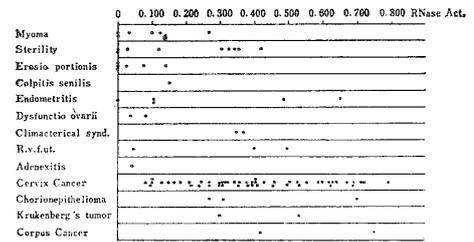
第10図 DNase Activity of Non-Cancerous & Cancerous Tissue



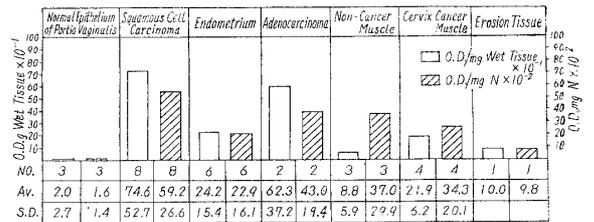
② Ribonuclease 活性 (第11図, 第12図)

頸癌患者50例の血清RNase活性は0.080~0.790平均0.401で非癌患者の平均0.170に比し、2.4倍の高値を示した。閉経前後、進行期、組織分類などによる差異は認められない。また子宮体部癌、クルーケンベルグ氏腫瘍、絨毛上皮腫患者ではいずれも高値を示した。子宮頸癌組織、扁平上皮癌では正常子宮陰部上皮に比し、47倍の高値を認め、子宮体部腺癌では正常子宮内膜に比し2倍の上昇を認めた。また頸癌子宮筋層と非癌子宮筋層との間に差異は認められない。頸癌組織の細胞内RNase

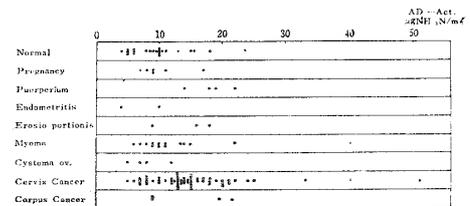
第11図 Serum RNase Activity of Various Diseases



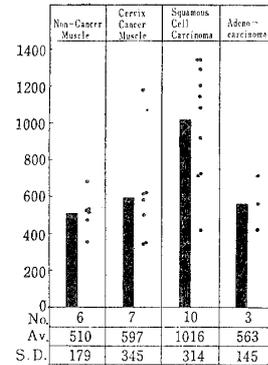
第12図 RNase Activity of Non-Cancerous & Cancerous Tissue



第13図 Serum Adenosine Deaminase Activity in Various Diseases



第14図 Adenosine Deaminase Activity in Uterine Tissue AD-Activity μgNH₂-N/g moist tissue



活性はsoluble fractionに最も高値を認めた。

③ Adenosine deaminase 活性 (第13図, 第14図)

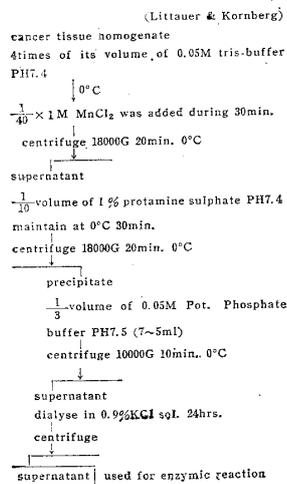
頸癌患者61例の血清AD活性は平均15.8単位で非癌患者の平均11.2単位に比し、1.4倍の高値を認めた。13単位を異常限界とすると非癌患者の71%がそれ以下の値をとり、頸癌患者の70%以上、なかんずくⅢ~Ⅳ期群の90%が異常高値を示した。閉経後、組織分類による差異は認められないが、進行期Ⅰ~Ⅱ期に比し、Ⅲ~Ⅳ期は高値を示した。子宮頸癌及び体部癌組織は非癌組織に比し、1.8倍の上昇を認めた。頸癌組織の細胞内AD活性

もまた soluble fraction に活性が高い。

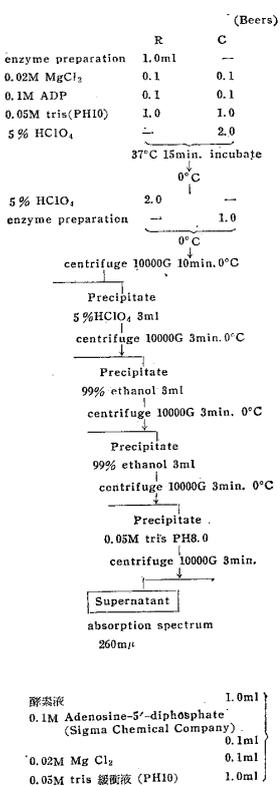
④ Polynucleotide phosphorylase 活性

現在のところ Catabolic な酵素として癌組織に特異的なものはないが、Anabolic な酵素として、われわれはリボヌクレオシドから磷酸を遊離し、Polynucleotide の生成を触媒する酵素 Polynucleotide phosphorylase が頸癌組織中にあるか否かを検索した。すなわち、Littaner & Kornberg 氏法 (第15, 16図) に従って抽出。精製した酵素が Mg²⁺ の存在下に Adenosine-5'-diphosphate に作用して polymer を生成するか否かを検索する方法である。その結果頸癌組織 7 例中 5 例に確認できた。

第15図 Isolation of Polynucleotide Phosphorylase



第16図 Measurement of Polynucleotide Phosphorylase Activity



⑤ 小括

- 頸癌患者血清 DNase 活性の平均は52.9単位で非癌患者の平均 9.2単位の 6 倍に当る。
- 子宮頸癌組織扁平上皮癌では正常陰部上皮に比し、30%の上昇を認め、体部腺癌では正常子宮内膜に比し、2.2倍の高値を認めた。
- 頸癌患者血清 RNase 活性は非癌患者の 2.4倍の高値を示した。
- 子宮頸癌組織扁平上皮癌では正常陰部上皮に比し、47倍の顕著な活性上昇を認め、体部腺癌では正常子宮内膜に比し、1.9倍の高値を認めた。
- 頸癌患者の血清 AD 活性の平均は15.8単位で非癌患者の平均11.2単位に比し、1.4倍の高値を認めた。
- 子宮頸癌組織扁平上皮癌は非癌子宮筋層に比

し、2.3倍、また体部腺癌では 1.8倍の高値を認めた。

(7) 年令、組織分類による差異はなく、進行期では AD 活性のみ、I ~ II 期に比し、III ~ IV 期は高値を認めた。

(8) 子宮頸癌組織の細胞内酵素活性の分布は、何れの酵素も上清分画に最も高値を示した。このことは核酸代謝系酵素もまた容易に細胞膜を通して血中へ流出するものと考えられる。

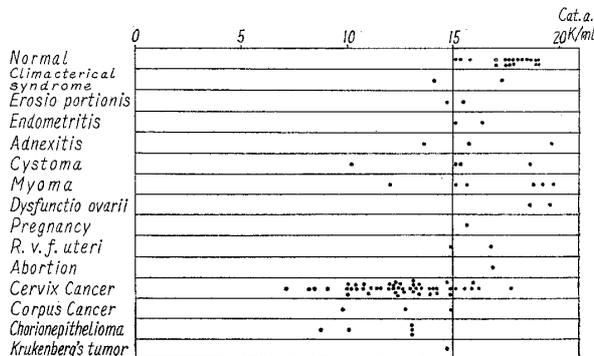
(9) 子宮頸癌組織 7 例中 5 例に核酸合成酵素 Polynucleotide phosphorylase 活性を認めることができた。

iii) Catalase 活性

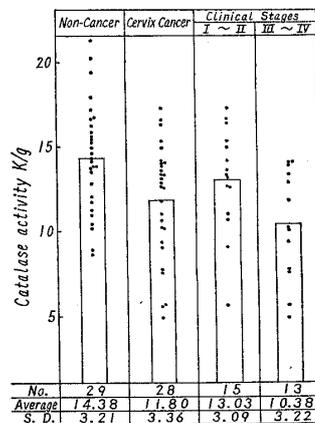
① 血液 Catalase 活性 (第17図)

健常婦人の血液 C 活性は 15.14 ~ 19.07 の間にあり、平均 17.69 で 15 以上を正常とする。非癌患者では 10.22 ~ 19.75 の間にあつて平均 16.04 で疾患による差異は認められない。子宮頸癌、その他の悪性腫瘍患者における血液 C 活性は、非癌患者に比し低下傾向が認められたが、なかんずく頸癌は 49 例中 44 例 90% が異常値を示し、閉経前後、進行期による差異は認められない。また体癌、絨毛上皮腫、クルーケンベルグ氏腫瘍などでも有意の低下を示した。更に KI, Hb KI, Ht KI の上からも低下傾向を認める。また血色素量の減少と相関々係があり、かゝる低下の原因として鉄利用障害に深い関係があ

第17図 Blood Catalase Activity in Various Diseases



第18図 Liver Catalase Activity in Non-Cancer & Cervix Cancer Patients



るであろうことを推察せしめる。

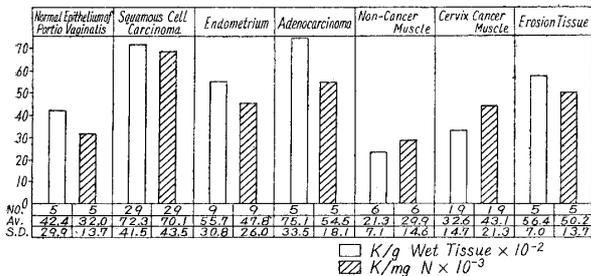
② 肝 Catalase 活性 (第18図)

頸癌患者肝C活性は非癌患者に比し18%の低下傾向を認め、I~II期患者よりIII~IV期患者において一層大なる低下傾向を示した。

③ 子宮 Catalase 活性 (第19図)

非癌子宮のC活性は肝C活性に比し、頗る低く、腔部上皮は $1/40$ 、内膜は $1/30$ 、体部筋層は $1/100$ であった。頸癌組織C活性は非癌組織に比し、扁平上皮癌で約2倍の活性上昇を示し、体部腺癌では軽度の上昇傾向を認めたにすぎなかつた。子宮腔部糜爛組織C活性は非癌腔部上皮に比し、56%の上昇傾向を、また頸癌子宮筋層は非癌子宮筋層に比し、50%の活性上昇を認めた。C活性の細胞内分布は **microsome fraction** に最も高く、非癌、癌組織における差異は認められなかつた。

第19図 Catalase Activity of Non-Cancerous & Cancerous Tissue



④ 小括

- (1) 健康婦人の血液C活性は平均 17.69で15以上を正常とする。
- (2) 頸癌患者では非癌患者に比し、低下傾向が認められたが、なかんずく49例中40例90%が異常値を示し、閉経前後、進行期による差異は認められなかつた。更にKI, Hb KI, Ht KI の上からも低下傾向を認める。
- (3) 頸癌患者肝C活性は非癌患者に比し、18%の低下傾向を認め、I~II期患者に比し、III~IV期患者は一層大なる低下傾向を示した。
- (4) 扁平上皮癌組織では非癌子宮腔部上皮に比し、約2倍の活性上昇を示した。
- (5) C活性の細胞内分布は **microsome fraction** に最も高く、非癌、癌組織における差異は認められなかつた。

iv) 酵素活性の診断的応用 (第20図)

子宮頸癌患者血液諸酵素活性の中、ALD, RNase, DNase, AD 活性は有意の高値を、またC活性は有意の低値を示した。これらの変動は **discriminant function** 一次判別函数の応用により危険率1%の有意差をもつて補助診断の意義を有することがわかつた。すなわち判別値が-14.4より大なる時は非癌、小なる時は癌と診断できる。血中酵素の簡易測定法の完成と電子計算機との連動が可能になれば、一種類のみの酵素活性の測定でなく、多種類を組合せて診断するところに今後極めて有力な診断方法となるであろう。

第20図 Linear Discriminant Function

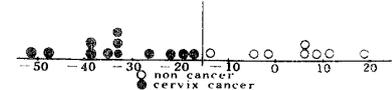
	cervix cancer n=12			non cancer n=8		
	Catalase X ₁	Aldolase X ₂	DNase X ₃	Catalase	Aldolase	DNase
\bar{x}	13.31	15.38	51.19	16.92	7.04	6.83
Cat.	87.7363	9.0744	-617.0538	18.0428	-6.2234	-20.0652
Ald.	9.0744	75.1072	-110.6264	-6.2234	42.8774	
DN.	-617.0538	-110.6264	25128.8768	-20.0652	352.5904	272.577

$$Z = \lambda_1 X_1 + \lambda_2 X_2 + \lambda_3 X_3 = 1.78 X_1 - 3.66 X_2 - 0.01 X_3$$

S. S. d. f. M. S. F.
Between Groups 2.5768 3 0.8589 18.757 **
Within Groups 0.7327 16 0.0458

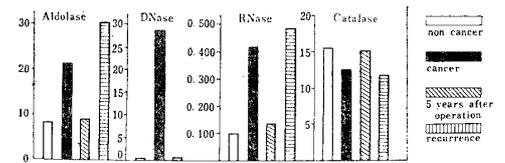
Discriminant value : -14.4
non cancer > -14.4 < cervix cancer

	n	Z	S
non cancer	8	4.25	10.12
cervix cancer	12	-33.13	10.31



non cancer Pr. {Z < -14.4} = 0.032
cervix cancer Pr. {Z > -14.4} = 0.035

第21図 Blood Enzyme Activities of Patients Survived 5 Years and Those Recurred by Cervix Cancer



次に胃癌門脈血と正中静脈血について酵素活性を比較したところ、前者に高値を認めた。すなわち酵素活性は肝にて相当量が不活性化されるものと考えられ、従つて胃癌と子宮癌との活性の差異をきたすものと考えられる。

v) 酵素活性と予後との関係 (第21図)

頸癌手術後5年治癒している予後良好群及び再発群について酵素活性を調べると、36例の良好群は何れも正常範囲内の活性値を認め、再発例ではいずれも異常値を示した。

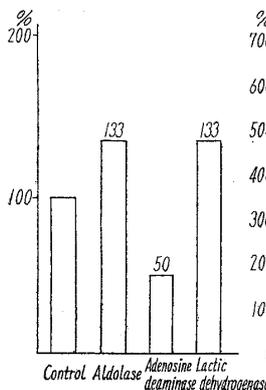
以上の実験結果より血中酵素量の測定は補助診断法としてきわめて有力な手段であると考えられる。

3. 酵素流出機序に関する基礎実験 (第22, 23図)

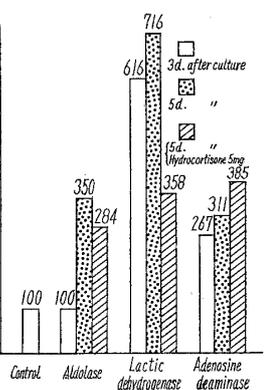
ALD, DNase, RNase, AD 活性などが癌患者では、非癌患者に比し、血中及び組織中では高活性にあることが、確認された。

この機序として癌組織からの流出を考えるにしても実際癌細胞からなのか、間質反応としても間質細胞からなのか判然としない。従つてわれわれはこれらの問題を解決するために組織培養法を用いて追求した。すなわち癌細胞として人癌より遊離された **Hela** 細胞と、正常細胞として羊膜より得られた **F1** 細胞について、ALD, LDH, AD 活性を比較すると、前者の方が何れも培養液中に高活性を示した。更に **Hydrocortisone 5 mg** 添加群では低値を示した。以上の実験結果から、

第22図 Enzyme Activities in Supernatant of Tissue Culture (Amnion Cells) (Culture time 48hr)



第23図 Enzyme Activities in Supernatant of Tissue Culture (Hela Cells)



(1) Hela 細胞の細胞膜透過性が Fl 細胞より大である。恐らく分子量20万程度までの蛋白質は流出するものでないかと考えられる。

(2) 糖質代謝酵素系 (ALD, LDH), 核酸代謝酵素系 (DNase, RNase, AD) などは直接癌細胞から血中へ流出するものと考えられる。

(3) Hydrocortisone により癌細胞の透過性は抑制されるものと推察される。

4. Catalase を中心とした tumor-host relationship

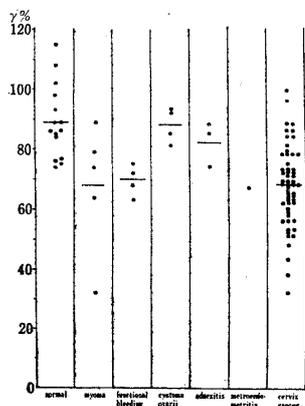
C活性は血液、肝では低下、頸癌組織では上昇していることが確認された。tumor-host relationship として C活性は最もよく研究されているが、その機序については尚不明の点が多い。

Cは Heme 酵素として Fe ポルフィリン蛋白質よりなる。そこで tumor-host では、Cの合成素材であるポルフィリン鉄の減少があるためにCが減少するのではないかと考えた。

i) 血清鉄量 (第24図)

健康婦人の血清鉄量は89%で、頸癌患者では68%を

第24図 Serum Fe in Non-Cancer and Cervix Cancer Patients



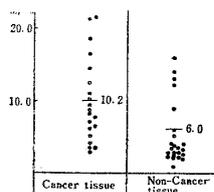
示し、24%の低下傾向を認めた。

癌末期に至るに従って急激な減少傾向を示した。

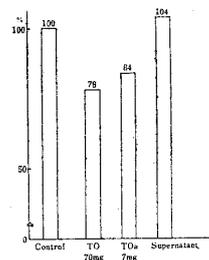
ii) 組織鉄量 (第25図)

子宮頸癌組織鉄量は非癌組織の170%を示し、明らかに多い。更に癌、非癌組織のCを抽出し、その鉄量を調べたところ、癌組織ではC鉄0.089mg%, 非癌部では0.052mg%で癌部は71%の増加を示している。しかし総鉄量とC鉄との比をみると、癌部0.6%, 非癌部0.7%で組織鉄量とは比例して増加を来すことがわかった。更に⁵⁹Fe投与後、癌及び非癌部のincorporationをみると非癌組織は癌組織の66%であり、癌組織へのとりこみが大なることを確認した。またC内⁵⁹Feのincorporationをみると癌組織の総⁵⁹Feの約3%であった。なお癌、非癌組織の細胞分画にわけると、可溶性分画に放射活性が高かった。以上の実験結果から頸癌組織にC活性が上昇することは頸癌組織に集まる鉄の一部がこれに利用されることが、推察され、このことが更に癌患者血清鉄量低下、ひいてはhostにおけるC量の低下の一因となっていることが考えられる。

第25図 Amount of Fe in Cancerous & Non-Cancerous Tissue



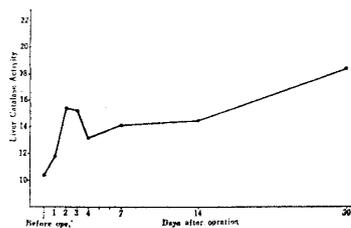
第26図 Inactivation Rate of Toxohormone on Liver Catalase Activity (in vivo)



iii) Toxohormone

次に頸癌患者肝C活性低下の機序として、Toxohormoneをとりあげた。in vitroではCatalase活性の低下作用は認められない。頸癌組織及び癌尿から安息香酸吸着法(pH 4.0)でToxohormoneを抽出し、マウス肝C活性抑制作用をみた。非手術患者尿から得たToxohormone (TO) 70mg投与では22%の肝C活性低下を来し、更に癌尿エキスを#Ca-phosphate-gelで精製するとTOa_{1/10}量で同一の阻害作用を認めた(第26図)。また頸癌患

第27図 Effect of Operation on Liver Catalase Activity of Urine Extract in Uterine Cancerous Patients



者の手術療法による消長をみると、癌巣の剔出によつて癌尿中のToxohormone作用も次第に消失する(第27図)。以上の実験結果より、癌組織内ではToxohormone様作用は不活性状態であり、血中に出て活性形となり、肝でC活性を阻害するものと考えられる。

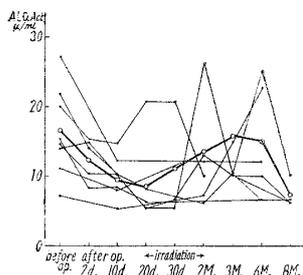
5. 治療への応用

諸酵素活性の消長が手術、放射線、化学療法などの経過を知る上に参考となるか否かを検討した。

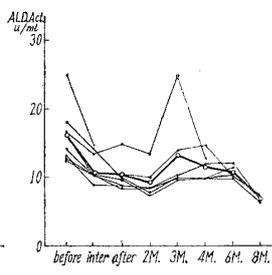
i) 血清 Aldolase 活性の治療経過による消長 (第28, 29, 30図)

手術療法では手術後10日には正常範囲内に低下した。しかし後照射療法開始により再び上昇傾向を示し、3~6カ月をピークとして下降傾向に至る。また⁶⁰Co (6000γ) 及び Ra (7200mgh) 照射患者では漸次低下傾向を示し照射終了時には正常値に近づくが、2~3カ月後再び活性上昇を来し、6カ月頃まで高値を示し、それ以後予後良好なものは低下傾向を示した。Mitomycin Cによる化学療法でも手術後並びに照射前に30~60mg使用し、一般に低下傾向を認め、手術群で8例中6例75%、照射群で7例中5例71%を示した。

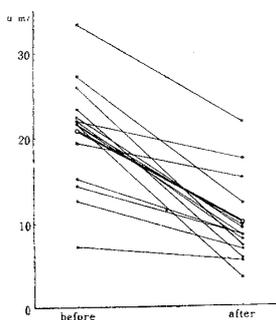
第28図 Alteration of Serum Aldolase Activity by Operation Therapy



第29図 Effect of Irradiation on Serum Aldolase Activity (Co 6000γ Ra 7200 mgh)



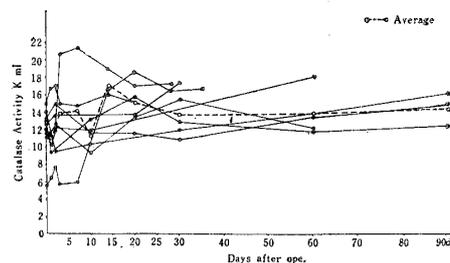
第30図 Effect of Mitomycin C (40~60mg) on Serum Aldolase Activity



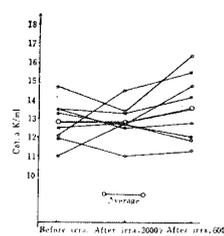
ii) 血液Catalase 活性の治療経過による消長 (第31, 32, 33図)

手術療法で一時的低下傾向をみるが、術後20日頃より正常値に近づくようになり、その後⁶⁰Co 照射によつて著変はない。放射線、化学療法においても漸次上昇傾向を示した。すなわち、酵素活性を治療経過に従つて測定す

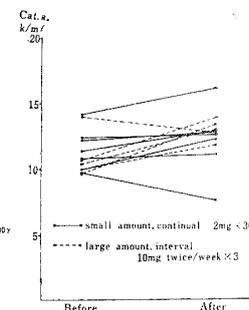
第31図 Alteration of Blood Catalase Activity by Operation Therapy



第32図 Effect of Irradiation on Blood Catalase Activity



第33図 Effect of Mitomycin C on Blood Catalase Activity

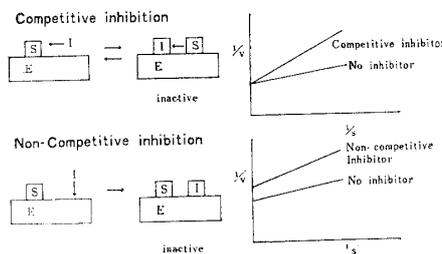


ることにより効果判定を知ることが可能である。

iii) 制癌剤の酵素阻害作用

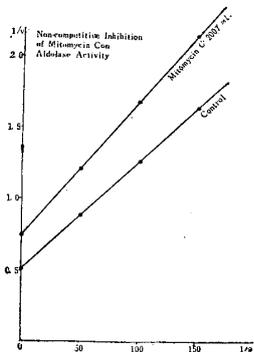
更にわれわれは各種制癌剤の制癌機序を酵素の molecular levelで解明しようとし、その一端として in vitro に精製酵素標品の活性に対する阻害様式を Michaelis-Mentenの反応速度論を用いて解析した。ここに competitive inhibition (せり合い阻害) は基質と特異的に置き変る阻害であり non-competitive inhibition (非せり合い阻害) は酵素に対する毒物としての阻害を示すものである。(第34図) Nitromin は ALD, DNase のいずれにも non-competitive inhibition を示した。

第34図

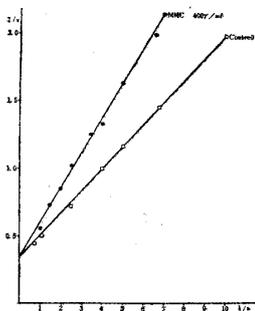


この結果は Alkyl 化剤としての Nitromin が生体内で特定の酵素を侵襲するという阻害でなく、一般に酵素に対する毒物として非特異的な阻害をすることを暗示している。一方、Mitomycin C はALDに対しては non-competitive な、(第35図) DNase RNase に対しては competitive inhibition を示した。(第36, 37図) この結果から考えると、Mitomycin C は核酸系酵素を特異的に阻害することによつて制癌作用を表わすものと

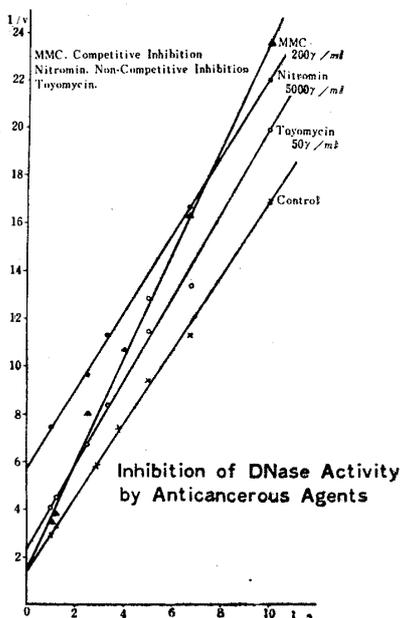
第35図 Non-Competitive Inhibition of Aldolase Activity by Mitomycin C



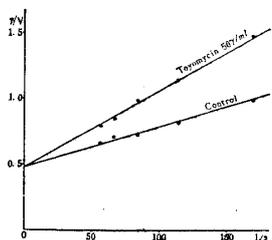
第37図 Competitive Inhibition of RNase Activity by Mitomycin C



第36図



第38図 Competitive Inhibition of Aldolase Activity by Toyomycin



考えられるが、なお解糖系にも非特異的な阻害作用をもつことがわかる。Toyomycin についてはALDにはcompetitiveであり(第38図),DNaseにはnon-competitiveである。この結果からToyomycinの制癌作用はMitomycin Cの場合と逆に解糖に対して特異的であり、核酸代謝については非特異的であることがわかった。これらの点から考えると臨床的にこれら制癌剤を使用する

際 Mitomycin C, Toyomycin の両者を適当に併用することによって制癌作用をいつそう強めることが期待できると考える。かかる面の解析が集約されれば制癌剤併用の indication など臨床的に応用される面が多いと考えられる。

6 酵素組織化学的検索

主として手術時の別出組織を用いて産婦人科領域における悪性腫瘍を対象とした酵素の組織化学的検索を16種類の酵素について行つた。腫瘍は子宮頸癌が大多数を占めるが他に子宮体癌、卵巣癌、外陰癌、癌転移リンパ節、絨毛上皮腫などが含まれ腫瘍組織と類似の形態を有する正常組織並びに非腫瘍性病変組織についても相互の酵素活性の分布、消長を Cell level から観察し、次の結果を得た。

1) 腫瘍組織は形態的に多様であると同じく酵素組織化学的にも多様性、不規則性を示し、腫瘍の種類によっても一定の所見を示すとは限らず、たとえば Phosphorylase, AL Phosphatase, Amino-peptidase の如く、同一癌巣内のみならず同一切片標本内の各癌巣間においても酵素反応の強弱がみられ、腫瘍細胞内の混乱した代謝像の一端が酵素組織化学的にも観察された。

2) 腫瘍細胞類似の正常組織細胞内の酵素活性は腫瘍細胞にもほとんどの場合存在したが、未熟形態を示す癌細胞においては成熟傾向を示す癌細胞に比し酵素活性の低下傾向がある。たとえば Phosphorylase では未熟型でほとんど陰性を示し、また Lactic dehydrogenase でも未熟型に低下傾向が伺えた。

3) 扁平上皮癌と腺癌とを比較すると、一般に酵素活性はたとえば Succinic dehydrogenase, Tween-lipase のごとく腺癌細胞の方が組織化学的反応著明で、それは正常扁平上皮細胞と正常腺細胞との差と類似している。

4) 癌転移病巣の癌細胞について原発巣の癌細胞の酵素活性分布と比較したが、例えば、Succinic dehydrogenase のごとくほぼ同様の態度を示し、癌細胞の形態的变化に伴う酵素活性の分布変動以外に特異的变化はみられない。

5) 腫瘍組織の間質における各種酵素反応は、例えば β -Esterase, β -Glucuronidase, Amino-peptidase のごとく、結合組織固有のもの或は炎症性変化などの附随的なもので腫瘍細胞代謝の特性を表現していない。

6) Chorioadenoma destruens は G-6'-P dehydrogenase 反応が著明である。

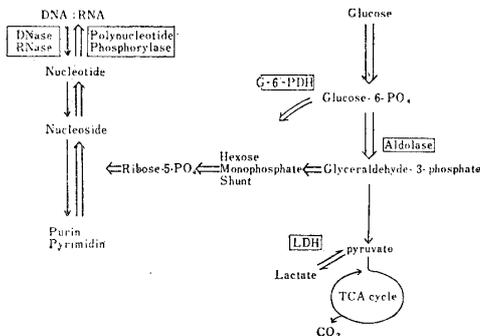
7) クルーケンベルグ氏腫瘍では、各種 dehydrogenase 共腫瘍細胞に活性を認めるが、特に G-6'-P dehydrogenase 活性は印環細胞に染色性著明である。

V 結 語

悪性腫瘍の代謝像を酵素学的見地から解明してゆくことは有力な研究方向と考えるが、そこには多くの困難を伴う。しかしわれわれは臨床的な面から諸現象を観察、整理し、その機構を追求してゆくことは必要欠くべからざることと思う。そこでこれらの線にそつて研究を行い、注目すべき知見を得たので結果を報告する。

1 子宮頸癌においては正常頸部組織に比しGlycolysisの亢進と共にPentose phosphate shuntのpathwayが亢進していることが推察される。しかもALD活性が高く、LDH活性が高くなかつた事実に対して、一部Glucoseから3炭糖、5炭糖を経て核酸の合成が行われることを確認した。(第39図)

第 39 図



2 子宮頸癌を主とする悪性腫瘍患者血液のALD, DNase, RNase, AD, C活性などの変動は補助診断的意義があり、なかんずくALD活性は86例中80%93%に 10μ 以上を示し、最も参考とすることができる。更に数種類の酵素を組合せたDiscriminant function一次判別函数の応用により診断精度は大となる。

3 血液中の解糖並びに核酸代謝系酵素変動のmechanismとして、これらの酵素は主として癌細胞膜から遊出されることを明らかにした。

4 子宮癌組織においてはC活性が高い。また組織鉄量及びC鉄量は比例して多い。癌組織の鉄とりこみによってHemin鉄が増量することにその一因がある。その結果血清鉄は減少するものと推察される(第40図)。

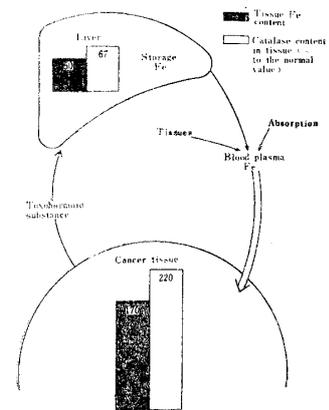
Toxohormoneは癌組織中では活性形として存在せず、血中へ遊出しC活性をおさえる。

5 これら諸酵素は手術、放射線、化学療法など治療経過、予後判定のindicatorとすることが可能である。

各種制癌剤のin vitroにおける酵素阻害を解析した結果制癌剤は各々異なつた阻害様式で酵素を阻害することがわかつた。かゝる面の解明は制癌剤の併用など臨床面に示唆するところが大きいと考える。

6 組織化学的に酵素活性の局在性は正常組織の規則性に比し、癌組織では不規則性が著しい。扁平上皮癌における癌細胞の酵素活性は、未熟型では中間型、成熟型

第 40 図



に比し低下傾向にある。同じ上皮性腫瘍であるが、腺癌は扁平上皮癌に比し酵素活性は上昇傾向にある。癌組織、特に扁平上皮癌巣では類似組織たる扁平上皮の酵素活性分布と類似の反応を示す。

7 癌組織においては細胞機能の未分化、並びに酵素配列の不規則性をみるのが特徴であると考えられる。

以上のごとく種々の知見を得たが、これはわれわれの研究の一段階を示すに過ぎない。更に未解決の問題が多く生み出された。これらの問題については今後いつそう掘り下げて解明につとめたいと思う。

終りに臨み、本研究を宿題報告として発表する名誉ある機会を与えられた樋口一成前々期会長、藤森速水現会長、はじめ日本産婦人科学会理事、評議員各位に深謝致します。なお本研究に終始懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた恩師名大吉川仲名誉教授、故山元清一前教授、石塚直隆現教授及び名市大渡辺金三郎教授に深甚な謝意を捧げます。また実際研究面で適切な指導と御助言をいただいた名大宮川正澄教授、八木国夫教授、古武弥人教授、阪大須田正己教授、熊大武内忠男教授並びに教室員、阪大森昌彦助教授並びに教室員、名大岸本英正教授、小沢高将先生、長谷川敬彦先生、加藤延夫先生に衷心から感謝申し上げます。本研究の成果は頭書の共同研究者及び実験助手の献身的努力によるものであり、また同時に名大産婦人科同窓会、東海産婦人科学会、愛知県産婦人科医会、関係各病院その他多数の御援助に厚く謝意を表します。本研究には文部省科学研究費をうけたことを附言致します。

石原助教授への謝辞

座長 岩田正道

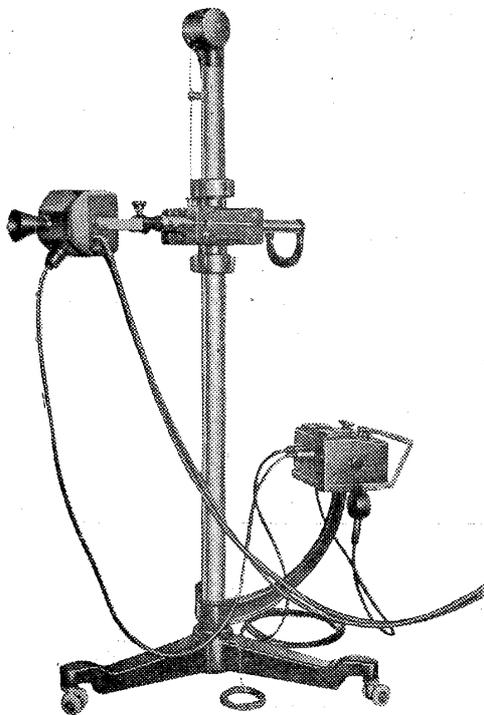
癌に関する基礎医学的並びに臨床的研究業績は洋の東西共に甚だ多方面に亘つて顕しく発表されています。然し今般演者が述べられた担癌生体における酵素学的研究については未だ業績は余りに多くないようで、殊に人生体についてのこの種研究は私の知見の狭いためか未だ他にその類がないかと存じます。

演者は婦人科領域に立つて、酵素活性が癌患者にあつて如何なる変動を示すか、また癌組織の酵素活性の変動如何更に癌の異常代謝を特異的に阻害する方法等について極めて頑鎖な研究を遂げら

れここに臨床上甚だ有意義な成果を発表されたのであります。その長年に亘る不断の御精進に心からの敬意を表する次第でありまして、この御研究によつて癌の化学療法に新しい道が開拓されることを期待するのでありますが、これは決して私共の夢ではないと信じております。

どうぞ今後も一層御自重されて引きつぎ今迄同様の真摯な御研索によつて近い将来に輝かしい成果を挙げられて吾が産婦人科学界に一大光明を放たれんことを衷心より祈る次第であります。

御開業産婦人科医院に最適のレントゲン装置



ヤマト号SS-54型移動用

胸部撮影は勿論

子宮卵管造影撮影・胎児撮影が簡便な操作で立派に撮れる。

二次電圧 kVp 直読メーター付新型配電盤は誰方にも撮影条件が図表電圧曲線表を使わずに簡単に得られます。

肥田電機工業株式会社

東京都文京区湯島三組町十二番地

電話 東京 (831) 5 5 7 2-4 番