

# 各種臓器より抽出した“CORNIN”の細胞分裂抑制作用に関する研究

(岡山大学医学部：第一生理学教室)

( “ ” : 第一内科学教室)

寺 坂 俊 明

(昭和42年9月8日受稿)

## I. 緒 言

近年、人類最大の願望である癌治療の研究は、医学の総力をあげて目覚ましい発展を示している。しかし、現在までの化学的治療方法は、その多くが副作用を持つ故に、未だに外科的切除にその治療の主力をゆだねている現状である。一方細胞学は近年急速な進歩を示し、正常ならびに病的状態における人体の構造と機能の研究の為の基礎を提供した。そして、今日の生物学の到達した遺伝機構を含めた核酸から蛋白合成に至る生物学の最高の成果を駆使して、基礎的な細胞分裂機構の研究に基づいた癌治療剤の研究の必要性が、今日程声を大にして叫ばれたことはない。

西田、等(1958)<sup>1)</sup>は、ネコの動眼神経を切断した後、長時間経過すると、時として、急に瞳孔が散大した状態から縮少し始め、遂には、スリット状にまでなる、という奇異なる現象を発見した。次いで福井(1958)<sup>2)</sup>は、この事実を基にして、微量でしかも、著しい縮瞳効果を示すこの物質が、その他に、血圧下降作用、小腸筋運動亢進作用、等を有し、ethanolで70%~90%画分として、ウシ角膜より抽出し得ること、ならびにこの物質は非透析性であること等から抽出方法を確立し、この作用物質をcorninと命名した。門(1961)<sup>3)</sup>は、ウサギの筋肉からも同様な物質の抽出に成功した。それは低分子の窒素化合物で、その本態はamino acidと推定され、既に報告されている生物学的活性体であるhistamine, acetylcholine, A. T. P., pain producing substance, substance P, bradykinin, enteramin, darmstoff, およびirinとはその性状を異にすることを報告した。次いで得本(1962)<sup>4)</sup>は、これが殆んど全てのウサギ体組織より抽出可能で、substance Pと生体内分布が似ていること、さらに日野(1962)<sup>5)</sup>はウシ角膜corninが、ウニ受精卵の初期細胞分裂に対して、

著しい分裂抑制作用を持っており、又、substance Fは、ある濃度において(10<sup>-5</sup>/ml)分裂促進作用のあることを見出した。西田、等(1964)<sup>6)</sup>は、ウシ角膜corninをDEAE-cellulose columnによつて、三つの分画に分け、fraction Iは、紫外部に特異的吸収の極大を持たず、fraction II, IIIは、260m $\mu$ に吸収の極大を持つこと。さらに金尾(1965)<sup>7)</sup>は、ウサギ筋corninも、三つの分画に画分され、fraction IIのみ、249m $\mu$ に極大を持ち、それは、hypoxanthine,あるいは、xanthineをbaseとする核蛋白であり、catalase活性や、組織の酸素消費には全く影響が無く、P/O比を減少させ、<sup>32</sup>Pの核酸分画への取込み、特にDNA及びr-RNAへの取込みを抑制することを報告した。西田、等(1966)<sup>8)</sup>は、イヌの小腸筋層corninを使用し、培養細胞に対する抑制作用を追求し、正常細胞には影響を及ぼさないこと。又、SV-40の核酸で発癌させたFS-NA細胞に対しては、分裂を抑制すること。又、同じcorninを使用し、C<sub>3</sub>Hマウスの乳癌細胞をZbマウスの皮下に移植し、腫瘤を作らせた後、1% cornin溶液を、Zbマウス腹腔内に注入すると、その成長を抑制することを報告している。

癌治療剤の最終目的は、人体に全く害を及ぼすことなく、癌細胞を特異的に破壊することにある。この意味でcorninは、生体より抽出され、軽度の生理作用があるのみで、細胞分裂を抑制するという、興味ある物質である。

しかし、現在までの所、角膜及び筋肉からのcorninは、金尾(1965)<sup>7)</sup>、及び西田、村上、等(1965)<sup>9)</sup>により、fraction Iにはその作用が殆んど認められず、また、角膜corninでは、非透析性の部分にウニ卵分裂抑制作用があり、透析される部分には、わずかながら分裂促進作用があるに反し、筋肉corninでは、透析される部分に分裂抑制作用があること。等から、抽出方法は同じでも、各臓器により得られた

cornin の分裂抑制作用ならびに、生物学的活性が必ずしも同一とは考えられない。

そこで著者は今回、各種臓器から抽出した cornin の化学的及び生理学的の差異を見出す目的で、同一方法によって抽出し、特に消化管において、細胞分裂の盛んな粘膜層と、比較的分裂象の少ない筋層とを、機械的方法によって分離し、cornin 抽出を行ない比較検討したので報告する。

## II. 実験方法並びに成績

各種 cornin は、ウサギ及びイスを ether 麻酔のもとに、頸動脈を切断、脱血し、内臓を取出して、図1の如き alcoholic fractionation にて corin を抽出し、silicagel 乾燥器に保存、六か月以内のものを使用した。胎盤はヒト分娩胎盤、再生肝はマウスの肝一部切除後、24時間経過して残りの肝を摘出したものである。

細胞分裂抑制作用の観察は、完全な同期的分裂を行ない、かつ、正常な分裂経過を経るウニ卵を使用した。実験は、1965年8月、サンショウウニ (*Temnopleurus toreumaticus*)、11月、アカウニ (*Pseudocentrotus depressus*)、1966年2月、バフンウニ (*Hemicentrotus pulcherrimus*)、6月、ムラサキウニ (*Antocidaris crassispia*)、を用い、岡山大学理学部附属臨海実験所にて行つたものである。

成熟卵は、電気刺激、または、 $1/2M$  KCl にて排卵させ、正常海水で洗ったものを実験に供した。受精率は常に95%以上のものを選び、比較対照例(正常海水のみ)が第二分裂まで完全に分裂を行った実験例のみの成績を採用した。各 cornin 溶液は、正常海水溶液とし、それに卵浮遊液を加え、最終濃度が、図記(図2, A, B, C, ...) (表1参照)になるように操作し、ウニ卵受精は、cornin 溶液を作用させて後、夏期10分(室温 $27\sim 30^{\circ}C$ )、秋期、春期10分( $18^{\circ}C\sim 20^{\circ}C$ )、冬期20分( $12\sim 15^{\circ}C$ )、放置後加精し、実験例と対照例の第二分裂までの時間的経過分裂率を、顕微鏡にて観察した。

図は、各種 cornin の最終有効濃度における成績を示したもので、各図示濃度よりも高濃度においては、より一層の抑制効果があったものである。いずれも抑制効果は、星状体の形成遅延、受精膜の形成遅延及び

不全形、分裂溝の形成遅延等であり、各臓器間において、著しき差異は認められなかった。又、筋層と粘膜層の抑制効果における差異も、認められなかった。各種内臓 cornin は、ウシ角膜、及びウサギ筋

Fig. 1. Preparation method of cornin.

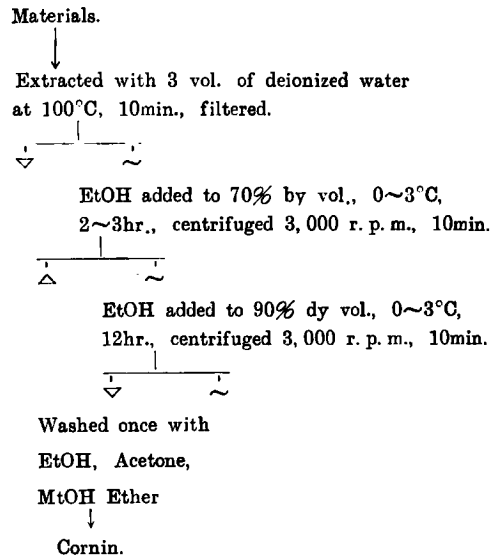
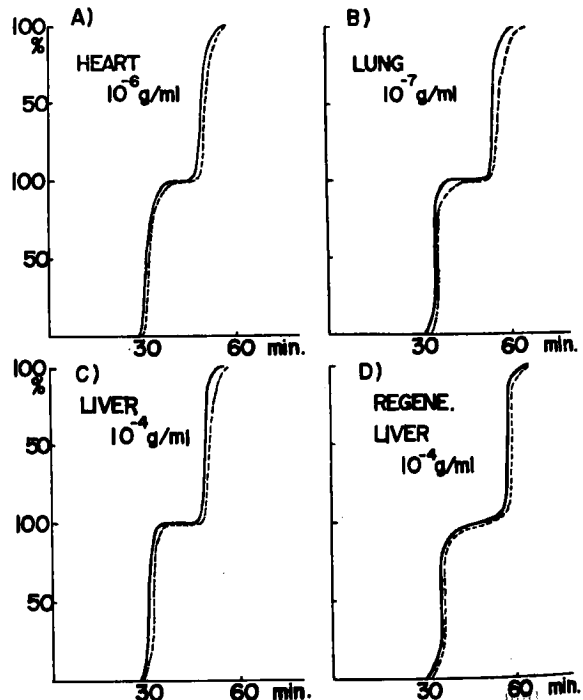
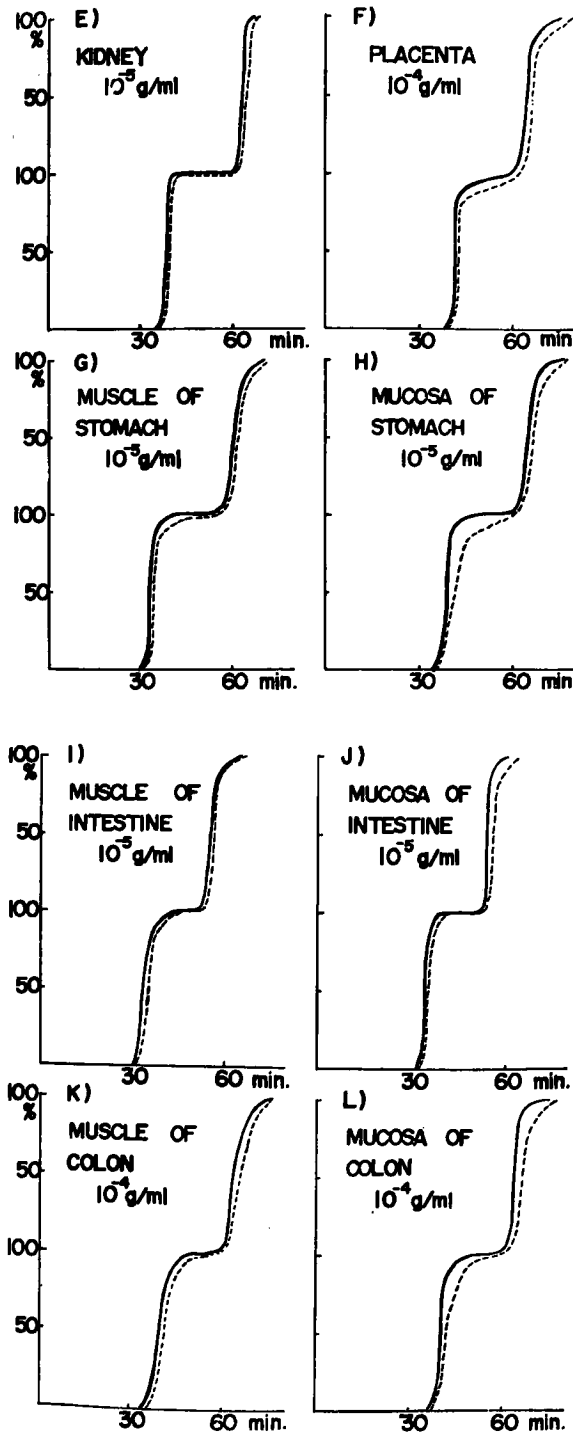


Fig. 2. Retarding effects of cornins extracted from organs of dog and rabbit on sea urchin, *Temnopleurus toreumaticus*, eggs.





cornin の最終有効濃度  $10^{-8}$ g/ml と比較して、いずれも高濃度であり、抑制効果は少なかった。

表 1 は、各 cornin の呈色反応を示したもので、蛋白呈色反応においては、ウシ角膜、ウサギ筋 cornin

と比較して、中間的存在であり、糖反応においては、筋 cornin と各内臓 cornin は、差が認められない。

$10^{-3}$ M. hexamine cobaltic chloride を supporting electrolyte として、polarogram を撮ると、図 3 の如く、各 cornin 共、典型的な蛋白の二重波を示す。但しマウス再生肝 cornin のみは、lysine rich histone に似て、その他のものとは異なった波型を示している。また、西田、等 (1965)<sup>6)</sup>により角膜、筋 cornin は、共に同様な二重波を示すことが報告されている。

各 cornin を蒸留水に溶解し、日立分光光度計 EPU-2A 型にて、紫外部の吸収曲線を描くと、図 4 の如く、ほぼ類似の  $260m\mu$  に極大を示す。これは既述の如く、角膜 cornin と同様であるが、筋 cornin とは異なる。実質臓器群と消化管群とを比較してみても、また、消化管筋層群と、粘膜層群とを比較してみても、わずかの差異が認められる。しかし、ヒト胎盤 cornin のみは、紫外部に特異的な吸収極大が無い (表 1 参照)。

東洋濾紙 No. 50 を使用し、tris buffer, pH 8.0, ionic strength 0.05 にて、105V, 1~2mA, 3時間、各 cornin の10%溶液を室温 ( $23^{\circ}\text{C}$ ) にて電気泳動し、B. P. B. にて染色させたものを、吸光度計にて測定し、曲線化したものが図 5 で、主に陽極の方向に移動し、実質臓器群と消化管群、及び、筋層と粘膜層とを比較して、わずかの差が認められるが、峰が単一でないことより、別の方法によっては、さらに分離可能と予想される。方法は異なるが、角膜 cornin は、日野(1962)<sup>6)</sup>が、veronal buffer, pH8.6, ionic strength 0.05, 255V, 2~4 mA, 3時間にて、濾紙電気泳動したが、大部分は陰極に移動し、かつ、全体で三峰を示し、また、西田、等(1964)<sup>6)</sup>は、日立製 Tiselius 装置 HTD-I 型で泳動して、

角膜 cornin は五つの峰を示し、金尾 (1965)<sup>7)</sup>は、同装置により、筋 cornin も同様五つの峰を示すことを報告している。

Table 1. Qualitative analyses of cornin for sugar, organic phosphate and protein. U-V. absorption peaks. Minimum effective doses of cornin.

	Heart	Lung	Liver	Reg. Liver	Kidney	Placenta	Stomach		Intestine		Colon, Rectum		Cornea	Muscle
							Muscle	Mucosa	Muscle	Mucosa	Muscle	Mucosa		
Benedict's test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schiff's reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Feulgen's reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P. A. S. reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fehling's test	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Selivanoff's reaction	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+	+	+	-	+
Phloroglucinol reaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diphenylamine reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
Organic P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Biuret reaction	+	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Xanthoprotein reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Sakaguchi's reaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Molish's reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Ninhydrin reaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Liebermann's reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Neubauer-Rhde reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bromphenol blue stain	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P. C. A. precipitate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Protein-SH wave	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U-V. max. absorption	258	258	258	261	259	258	261	263	259	262	258	263	260	249
U-V. min. absorption	239	239	238	241	239	243	243	243	239	243	241	243		
Minimum effective dose (g/ml)	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>

### III. 考 察

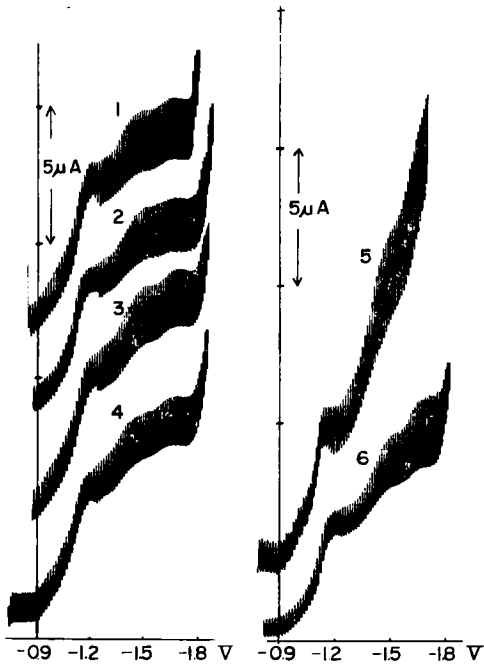
生体内には、腫瘍発生の多い組織と少ない組織、また、分裂像の多い、且つ再生能の強い組織とその逆の組織がある。組織細胞それ自体取出して、組織培養するならば、多くの組織の細胞は、その空間を満すまで増殖し、その後、急に増殖がとまる。また、生体自体においても、例えば表皮、肝、等も切除すると、欠損部を補うまで増殖を続ける。

最近注目されている、Szent-Györgyi 一派 (1963)<sup>10)</sup>、(1965)<sup>11)</sup>は、マウスの種々組織より、また、ヒトの尿、等より、細胞分裂促進物質 "promine" と抑制物質 "retine" とを別々に抽出することに成功し、その retine は、腫瘍細胞 (Krebs-2carcinoma) の増大を抑制すること。さらに、悪性腫瘍の発生が

無い、と云われている軟体動物のハマグリ (molluscs) に、promine の含有量が少ないこと。また、さらに、キノコ (clam) からの抽出物にも、promine 含有量が少なく、そして、細胞分裂抑制作用があることを見出した。こういう事実より、あらゆる生物には、細胞分裂調節物質 (主として抑制物質) が存在し、抑制物質と促進物質とは、化学的に密接な関係があり、その一部の変化のみで、抑制物質から促進物質へと変化し得るのではなからうか、と述べている。この分裂抑制物質 retine は、(cornin とは抽出方法が異なる。) methanol, chloroform 等で抽出し、沸点の低い低分子のもので、273m $\mu$  に紫外部吸収極大を持ち、ketone または aldehyde を含み、(cornin は aldehyde を示す schiff reaction が陰性で、異なっている。) また、貯蔵により効果を失う

Fig. 3. Polarographic protein waves of cornins.

- |             |                      |               |                      |
|-------------|----------------------|---------------|----------------------|
| 1. HEART    | $5 \times 10^5$ g/ml | 5. REG. LIVER | $10^4$ g/ml          |
| 2. LUNG     | $10^6$ g/ml          | 6. LIVER      | $6 \times 10^5$ g/ml |
| 3. KIDNEY   | $5 \times 10^5$ g/ml |               |                      |
| 4. PLACENTA | $8 \times 10^5$ g/ml |               |                      |



- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| 1. MUSCLE OF STOMACH   | $10^4$ g/ml          |
| 2. MUSCLE OF INTESTINE | $3 \times 10^5$ g/ml |
| 3. MUSCLE OF COLON     | $8 \times 10^5$ g/ml |
| 4. MUCOSA OF STOMACH   | $5 \times 10^5$ g/ml |
| 5. MUCOSA OF INTESTINE | $5 \times 10^5$ g/ml |
| 6. MUCOSA OF COLON     | $8 \times 10^5$ g/ml |

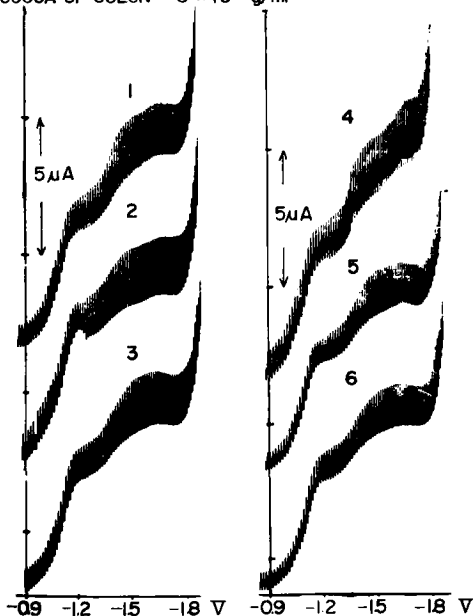


Fig. 4. Ultraviolet absorption spectra of cornins.

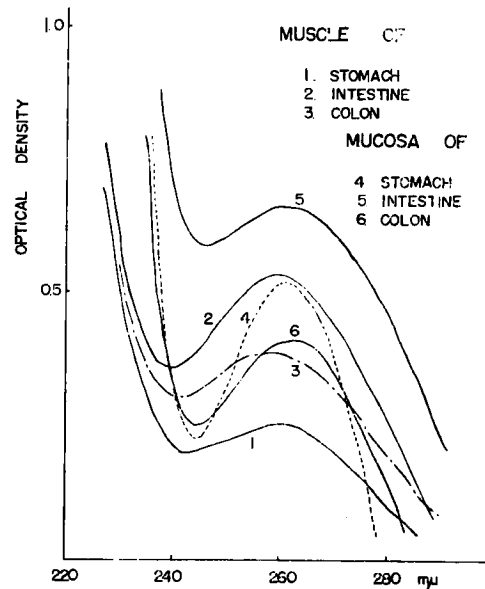
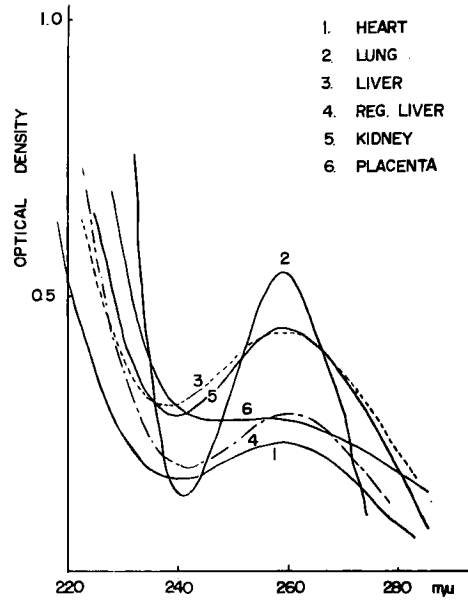
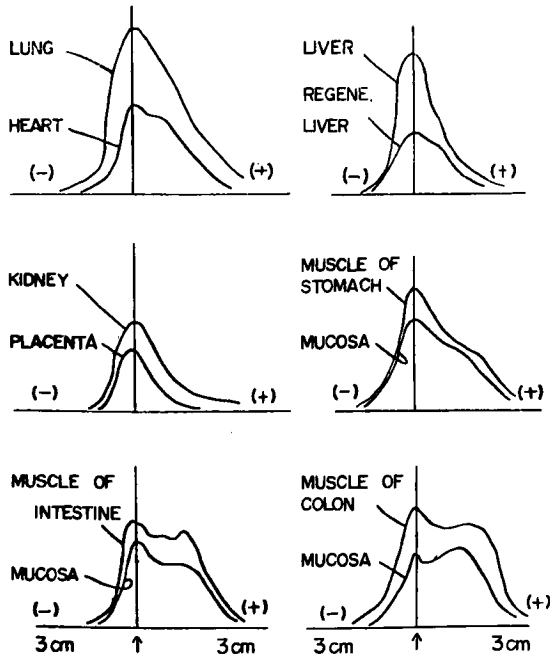


Fig. 5. Electrophoretic patterns of cornins.



ものであり、(cornin は silicagel 乾燥器中では、少くとも6か月間有効) 共通点として、共に筋肉抽出物が、細胞分裂抑制作用を示すことがあげられる。

Menkin (1956)<sup>12)</sup>も、ウニ卵巣より、細胞分裂促進物質と抑制物質とを抽出しているが、この物質は、水可溶性物質のうち、非透析部分に、(角膜 cornin は非透析性、筋 cornin は透析性であるが) 細胞分裂抑制作用があると報告しているが、その物質の化学的性質その他の研究が充分でなく、cornin と同一物質か否かは不明である。

Heilbrunn (1954)<sup>13)</sup> (1957)<sup>14)</sup>は、ヒトデの卵巣より、酸性海水にて、分裂抑制物質を抽出しているが、透析性、紫外部吸収極大  $260\text{m}\mu$ 、耐熱性、等々 cornin と似ているが、これは蛋白呈色反応が陰性であること、画分する alcohol 濃度が、40%~60% であること。等は cornin と異なり、別の物質であると考え。また、彼は、全ての卵巣は、tetrodotoxin の如く、細胞分裂抑制物質を持っているのではなからうかと、推定している。

Wolfson (1959)<sup>15)</sup> は、ウニの卵、卵巣、精巣、腸、等より、細胞分裂抑制物質を抽出しているが、その性質として、耐熱性、charcoal 吸着可能、透析可能、chloroform にて抽出不可能等であると述べ

ているが、cornin との差異は、明細な研究発表を得たねば、比較できない。

また、生体より抽出された細胞分裂抑制作用を持つ物質として、既によく研究されている、Histone がある。

Busch Harris (1965)<sup>16)</sup>、(1962)<sup>17)</sup>の総説によると、組織の腫瘍化の原因は、細胞分裂抑制作用のある histone の生合成の率が異なっていることにもとづくのではないかといひ、Roger (1963)<sup>18)</sup>は、Shope papilloma の原因が、histone のうちでも、最も抑制作用の強い arginine rich histone の減少を来すこと、原ち、Shope virus の感染した細胞に、arginase の増加が認められることによるのではないかと述べている。Allfrey (1962)<sup>19)</sup>は、histone の RNA 生合成の抑制を報告したが、cornin と比較して、この物質の、ウニ卵初期分裂抑制効果が、 $10^{-5}\text{g/ml}$  (角膜、筋 cornin は、 $10^{-8}\text{g/ml}$ 、表1参照) であること、両者共に、DNA 産

生を抑制し、gene modifier でもあり、A. T. P. 合成の阻害がみられる、しかし、histone は、非透析性、紫外部吸収極大が  $280\text{m}\mu$ 、そして alcohol に対して25規定の HCl を  $1/4$  の割合で加えた混合液にて抽出され、DEAE-cellulose column で四分画に分けられ、(この四分画の始んどは、cornin の fraction-III とほぼ同一の分離帯に相当する部分内で分れる。) 分子量  $8,000\sim 13,000$  (cornin は、 $5,000\sim 10,000$ )、polarogram でも、cornin とは異なった曲線を示す。また、cornin は、酸性蛋白で、少くとも、DEAE-cellulose column で画分した分画の一つに、核蛋白部分があるが、histone は、塩基性蛋白で、核酸部分が無い。等々より、全く別の物質であることが考えられる。

Stich (1960)<sup>20)</sup>、及び Goutier (1962)<sup>21)</sup> (1963)<sup>22)</sup> は、マウス正常肝の homogenate を腹腔内に注射すると、再生肝の細胞分裂数が減少し、また、Moya (1963)<sup>23)</sup>は、マウス肝切除後の動脈血清を、他のマウスの腹腔内に注入すると、その再生肝増殖が抑制されるが、しかし、門脈及び、肝静脈血清では、前者より、分裂抑制作用が少なかったと述べている。これらは、細胞分裂抑制物質が、何らかの操作により、増加、または、活性化される、ということの意味しているのではなからうか。

Bullough. 等 (1964)<sup>24)</sup>は、成熟マウス、ラット、モルモット及びウサギの、上皮の水抽出物が、成熟マウスの上皮の分裂を、抑制する物質を含んでいること、そして、角膜、涙腺、食道上皮の細胞分裂も抑制すること、そして、その作用を現わすには、adrenalin の共存が必要であること、を報告しているが、傷ついた上皮の増殖は、この charone adrenalin complex の減少に基ずくものであり、特にこれは、組織特異性を持つことを予想させて、興味がある。但し、cornin の上皮よりの抽出を試みたが、我々の方法では不可能であった。

Hegyeli (1964)<sup>25)</sup>は、ハマグリ<sup>26)</sup>の体外液の蒸留水抽出物が、透析可能であり、また、antitumor 作用を有するが、温度の影響を強く受け、夏期の温度上昇時に、冬に比して、抑制作用がより強いと報告している。

その他、分裂抑制物質に関しては、Chèvremont (1955)<sup>26)</sup>、Ledoux (1955)<sup>27)</sup>、Brachet (1958)<sup>28)</sup>、等の RN-ase があるが、これは、紫外部吸収の極大が、280 $\mu$  にあり、その他の点からも、cornin とは別のものである。

活性の中心が、核酸の base に求められる場合、nucleoside、及び、その誘導体には、細胞分裂抑制効果を持ったものが多い。

Lehnert (1964)<sup>29)</sup>は、核蛋白 complex のうち、酸不溶性蛋白は、<sup>3</sup>H-thymidine の DNA への取込みを抑制する。即ち、核蛋白が、DNA 合成を調節するのではないか、と述べている。cornin は、酸不溶性核蛋白であり、これに類似している。

金尾(1965)<sup>7)</sup>は、核酸前駆物質のうち、ウニ卵初期細胞分裂抑制作用のある物質は、adenosine triphosphate, adenosine mono-phosphate, adenosine, adenine, guanosine monophosphate, guanosine 等であるという。西田, 等 (1966)<sup>8)</sup>は、筋 cornin II 分画は、inosinic acid を主成分として、他に、adenilic acid, guanilic acid を含み、pyrimidine 基を持っていないこと。また、角膜 cornin は、adenilic acid, guanilic acid, citidilic acid, uridilic acid を含む特殊の蛋白であること、等を述べている。

amino acid の細胞分裂に対する影響についても、多くの報告があるが、金尾は<sup>7)</sup>、数種ではあるが、ウニ卵細胞分裂抑制作用のあることを報告している。

また、杉原 (1966)<sup>30)</sup>は、ヒト平滑筋肉腫より、我々のアルコール画分と良く類似した方法にて (冷

食塩水にて抽出し、70% by vol. alcohol 可溶成分)、エーリッヒ腹水癌の増大を抑制、または消失させる物質を抽出したことを報告しているが、cornin と同一物質であるか否かは、今後の明細な研究を待たねば判明しない。

以上とは別に、細胞分裂促進物質として、Kuru (1962)<sup>31)</sup> の nucleoprotein, Butros (1959)<sup>32)</sup> 奥村 (1960)<sup>33)</sup> 等の auto-cleave した DNA 分画 “kinetin” があるが、kinetin は、細胞分裂促進作用を有する物質では、唯一の、分子構造の決定された adenosine の誘導体であるという。これは、細胞分裂調節物質が、核酸関連物質であることを予想させ、興味をもてる。

生体から抽出される細胞分裂調節物質は、種々雑多であり、今後の研究においても、ますます加速度的に発見されることと思われる。

細胞分裂抑制物質は、星状体形成阻害剤と核酸合成阻害剤の二つに大別されるが、金尾<sup>7)</sup>は、cornin の細胞分裂調節作用として、<sup>32</sup>P の核酸分画への取込み、特に、DNA、r-RNA の合成を抑制するものであり、核酸合成調節がその本態と思われる、と報告している。また、一方、西田, 等 (1965)<sup>34)</sup>は、分裂に伴う SH 基の量の変動に時間的ずれを起こさせること、及び polarogram によると、筋 cornin 溶液に、O<sub>2</sub> を通じることによって、遊離 SH 基を持つ蛋白の波形が消失の傾向を示し、且つ、分裂抑制効果も弱くなる等の事実は、cornin の作用活性中心部が、SH 基に関連するということも考え得ると報告している。

今回抽出した各種内臓 cornin は、いずれも、筋、角膜 cornin と、呈色反応、紫外部吸収極大、等において、わずかの差異を認めるのみで、本質的差異はない。それにもかかわらず、分裂抑制効果の点において劣るということは、我々の実験する生物学的活性以外の点で差異を持ち、その差異が、分裂抑制作用の本態であることも考えられる。また一方では、抑制物質の含量が同じで、その作用力が同じであっても、促進物質の含有比が、より多いということもあり得る。この考え方を裏づける参考として、脳組織より cornin を抽出し、脳細胞は分裂像が非常に少ないことから、分裂抑制作用が強いものと予想して、実験を行つたが、ウニ卵初期細胞分裂抑制作用の最終有効濃度は、10-3g/ml で、どの内臓 cornin よりも効果が弱かった。(分裂に対する効果のみ実験済み)これは、脳 cornin 抽出物中に、既述の如く、細胞分裂促進物質である substance P が多量に混

入し、分離不可能の為に、両者の混合物を使用したことに基ずくと考えるか、または、増殖の盛んな神経膠細胞の存在が、何らかの関連を持つこと、等も原因の一つとして考えられよう。

cornin の、ウサギ小腸における筋層と粘膜炎の抽出率の差は、1.68mg/g 対 0.62mg/g と、明らかに差があるが、多量の水分を含んだ分離組織の重量にて、比較したものであるから、これにて含有率の差を論ずるのは危険であろう。

その他の理由として、cornin の分裂抑制作用が、組織内において、不活性化された状態で存在する。即ち、抽出の途中操作において、活性化されるという様なこと、また、cornin 作用の受容構造において、細胞または、組織自体に差異がある。即ち、前述の如く、正常細胞に対する抑制効果が弱く、腫瘍細胞に対して、より効果がある、という事実等は、異常細胞分裂を起す細胞分裂機構自体の探求が、解決の糸口であることを予想させる。

また、大屋(投稿中)の、Ehrlich の腹水癌に対する cornin の治療効果に関する実験によれば、イヌの小腸 cornin の方が、筋肉 cornin よりもむしろ有効である。正常細胞と考えられるウニ卵の分裂に対しては、筋肉 cornin よりはるかに抑制作用の弱い小腸 cornin が、腫瘍細胞に対しては、かえって強い抑制作用を有しているという事実から、現在我々が cornin と称している物質の中には、正常細胞の分裂を抑制する成分の外に、正常細胞に対しては殆んど影響がなくて、腫瘍細胞を主として抑制する成分が含まれているのではないかと考えられる。そして両者の混合比が各組織によって異なる。例えば、小腸 cornin では、正常細胞の分裂抑制因子が少なく、腫瘍細胞の抑制因子が比較的に多量に含まれていると考えると、著者の実験成績と大屋の実験成績とは、一元的に説明できる。しかしこの考えは、あくまでも仮定の上立つものではあるが、cornin に関する多くの実験成績は、このことを暗示する多くの事実を示している。

生体には、正常細胞の分裂を調節(主として抑制)する物質が有るであろうことは、古くより多くの研究者により推定されて来たことであるが、cornin 中に含まれているウニ卵に対する分裂抑制因子が、それではないかと考えられる。

いずれにしても現在の抽出方法による cornin は、粗製のものであり、更に細分画を行ない、正常細胞と腫瘍細胞とを別々に、より抑制効果の強い物質として、純度を上げてゆくことが可能であろうと考えられる。

著者の調べた細胞分裂抑制作用が、ウニ卵に有効であっても、人体発生腫瘍に有効か否か、今後、培養細胞、脊椎動物への実験等によって、臨床的效果判定へと発展させたい。

#### IV. 結 論

主にウサギ及びイヌの各種内臓より、cornin 画分を、alcoholic fractionation によつて抽出し、その生物学的活性の差異を調べた。

1) 各種内臓 cornin は、筋 cornin 角膜 cornin と比較して、ウニ卵初期分裂に対して、抑制作用がより弱く、そして、各内臓 cornin 間においては、著明な差異は認められなかった。

2) 蛋白呈色反応、糖呈色反応において、各種臓器の間では、ほぼ同一であり、筋 cornin 角膜 cornin と比較すると、蛋白呈色反応においては、それぞれ一部分異なっており、糖呈色反応においては、角膜 cornin とは一部異なっているが、筋 cornin とは全く同一であった。

3) Polarogram において、マウス再生肝 cornin を例外として、それぞれ典型的な蛋白波を呈した。

4) 紫外部吸収曲線では、ヒト胎盤 cornin を例外として、260m $\mu$  のあたりに吸収の極大がある。これは角膜 cornin とほぼ同じである。

5) 濾紙電気泳動を行った結果、各臓器 cornin 間において、差異は認められなかった。

6) その他、今までに報告されている細胞分裂調節物質について考察し、cornin 画分と比較検討した。

稿を終るにあたり、終始、ご懇篤なるご指導と、ご校閲を賜わつた恩師、西田勇教授ならびに、村上哲英講師に、深甚なる感謝の意を表します。また実験材料の採集ならびに、ご指導下さつた、岡山大学理学部附属臨海実験所の職員の方々に、厚くお礼申しあげます。



## 文 献

- 1) 西田勇, 等, 動眼神経切断後にみられる奇異なる縮瞳現象について. 米子医学雑誌, 9, 545-550, 1958.
- 2) 福井正男, 角膜から抽出される縮瞳物質 CORNIN について. 米子医学雑誌, 9, 673~681, 1958.
- 3) 門長生, 角膜より抽出される縮瞳物質 Cornin に関する研究. 米子医学雑誌, 12, 71~84, 1961.
- 4) 得本博允, 縮瞳物質 Cornin 体内分布について. 岡山医学会雑誌, 74, 679~683, 1962.
- 5) 日野道夫, CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響. 岡山医学会雑誌, 74, 729~740, 1962.
- 6) 西田勇, 等, 生物学的活性 Polypeptide “CORNIN” の細胞分細に及ぼす影響. 細胞化学シンポジウム, 14, 57~70, 1964.
- 7) 金尾浩志, 筋肉から抽出した “CORNIN” の細胞分裂抑制作用に関する研究. 岡山医学会雑誌, 77, 631~664, 1965.
- 8) Nisida, I., et al., Antimitotic action of the cornin as a biologically active polypeptide (III). Symposia Cell Chem., 17, 207-216, 1966.
- 9) Nisida, I., and T. H. Murakami, Antimitotic action of cornin as a biologically active polypeptide. I. Biochemical properties of cornin. Acta Med. Okayama, 19, 1-9, 1965.
- 10) Szent-Györgyi, A., et al., Cancer Therapy. A Possible New Approach. Science, 140, 1391-1392, 1963.
- 11) Szent-Györgyi, A., Cell Division and Cancer. Science, 149, 34-37, 1965.
- 12) Menkin, V., Presence of accelerator and retarding cleavage factors in an extract of ovary in sea urchins. Exptl. Cell Res., 11, 270-282, 1956.
- 13) Heilbrunn, L. V., et al., Antimitotic substances from ovaries. Biol. Bull., 106, 158-168, 1954.
- 14) Heilbrunn, L. V., et al., The antimitotic and carcinostatic action of ovarian extracts. Biol. Bull., 113, 129-134, 1957.
- 15) Wolfson, N., Retardation of cleavage in sea urchin eggs by cell extracts. Exptl. Cell Res., 18, 504-511, 1959.
- 16) Busch, H., Histones and other nuclear proteins. Academic Press, New York, London, 1965. より引用
- 17) Busch, H., An introduction to the biochemistry of the cancer cell. Academic Press, New York, 1962. より引用
- 18) Roger, S., and Moore, M., Studies on the mechanism of action of the Shope rabbit papilloma virus. I. Concerning the nature of the induction of arginase in the infected cell. J. Exptl. Med., 117, 521-542, 1963.
- 19) Allfrey, V. G., In the molecular basis of neoplasia. (Austin: Univ. of Texas, 1962) p58. より引用
- 20) Stich, H. F., Regulation of mitotic rate in mammalian organismus. Ann. N. Y. Acad. Sci., 90, 603-609, 1960.
- 21) Goutier, R., and I. Bologna, Présence d'un inhibiteur des enzymes de synthèse de l'acide désoxyribonucléique au niveau des microsomes du foie de rat. Arch. Internat. Physiol. Biochim. 70, 570-572, 1962.
- 22) Goutier, R., and I. Bologna, Localisation intracellulaire, dans le foie rat, d'un facteur inhibiteur de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique *in vitro*. Biochem. Biophys. Acta, 72, 40-47, 1963.
- 23) Moya, F. J., Inhibition of growth by post-hepatectomy blood serum. (Effect on regenerating liver and on tissue culture.) Exptl. Cell Res., 31, 457-469, 1963.
- 24) Bullough, W. S., and Laurence, E. B., Mitotic control by internal secretion. (The role of the chalone-adrenalin complex.) Exptl. Cell Res., 33, 176-194, 1964.
- 25) Hegyeli, A., Temperature Dependence of the Activity of the Antitumor Factor in the Common Clam. Science, 146, 77-78, 1964.
- 26) Chèvremont, M., et S. Chèvremont-Comhaire, Action de la ribonucléase sur des cellules vivantes cultivées *in vitro*. Compt. rend. soc. belge biol., 149, 1525-1527, 1955.

- 27) Ledoux, L. and S. H. Revell, Action of ribonuclease on neoplastic growth. I. Chemical aspects of normal tumour growth; The Landshütz ascites tumour. *Biochem. Biophys. Acta*, **18**, 416-426, 1955.
- 28) Brachet, J., Cell division and nucleic acid synthesis. *Symposia Soc. Cell. Chem.*, **7**, 181-187, 1958.
- 29) Lehnert, S. M., The inhibition of DNA synthesis by nuclear proteins. *Biochem. Biophys. Acta.*, **80**, 338-339, 1964.
- 30) Sugihara, Y., and F. Araki, Growth-Inhibiting substance prepared from human leiomyosarcoma. *GANN*, **57**, 287-289, 1966.
- 31) Kuru, M., et al., Isolation of growth-promoting substances from chick embryo extracts. *GANN*, **54**, 119-130, 1962.
- 32) Butros, J. M., Stimulation of cleavage in *Arbacia* eggs with desoxyribonucleic acid fractions. *Exptl. Cell Res.*, **18**, 318-332, 1959.
- 33) Okumura, S., Biological studies on kinetin and its analogos. *Symposia Soc. Cell. Chem.*, **10**, 149-158, 1960.
- 34) Nisida, I., and T. H. Murakami, Antimitotic action of cornin as a biologically active polypeptide, II. Physiological effects of cornin on dividing cell. *Acta Med. Okayama*, **19**, 11-18, 1965.
- 35) 西田勇, 等, 生物学的活性 Polypeptide "COR-NIN" の細胞分裂に及ぼす影響, (II). 細胞化学シンポジウム, **15**, 225-231, 1965.

---

## Antimitotic Action of "CORNIN" Extracted from Rabbit and Dog Organ.

By

Toshiaki TERASAKA

(The First Department of Physiology, Okayama University Medical School)

It is generally observed that there are various organ-specific mitotic rates in regeneration and compensatory growth. Nevertheless, each tissue can proliferate well in a suitable culture medium.

These facts suggest that there are regulating substances for cell division.

The author extracted an antimitotic substance "CORNIN" from rabbit and dog organs by the alcoholic fractionation, mainly from muscle layer and mucous layer of digestive organs.

Each cornin of internal organs has less antimitotic effect on sea urchin eggs than that of muscle or cornea. Furthermore, there are no difference between muscle layer and mucous layer as regards the antimitotic effect. There is no difference in the qualitative analysis of cornins for protein and sugar. Typical protein waves are shown by polarogram excepting cornin of regenerating rat liver. The ultra-violet absorption curves show the same maximum absorption peak at 260  $m\mu$ , which is the same as that of corneal cornin, but is different from muscle cornin that shows the peak at 249  $m\mu$ . The paper electrophoresis does not show any remarkable differences among these cornins.

With respect to the cornin activity, there can be seen no remarkable difference between muscle layer and mucous layer.

---