

悪性腫瘍の異所性能に関する基礎的研究

第 1 編

悪性腫瘍ならびに腫瘍母組織の線維素溶解能に関する研究

岡山大学医学部第一外科 (指導: 田中早苗教授)

神 野 高 光

〔昭和43年10月5日受稿〕

第一章 結 言

悪性腫瘍の増殖という一面に関しては、最近の生化学的研究で長足の進歩を示しつつある。

しかし、悪性腫瘍のもう一つの性格、すなわち転移ということに関しては何故かあまり考慮されていない。

悪性腫瘍の転移を論ずる場合、考えなければならぬことは、まず第一に悪性腫瘍の増殖、発育の形式ということである。

緒方^{1)~3)}らは腫瘍の発育の形式を形態学的に大体2種類に区別し、その一つは膨張性の発育、他の一つは浸潤性の発育であり、前者は良性の腫瘍によくみられるもので後者は腫瘍組織、あるいは腫瘍細胞が周囲組織、間隙、リンパ隙、あるいは神経鞘、腺腔などの間に浸こむように発育するものである。

さらに、この腫瘍組織の拡がり方の形式はつぎの二通りの分類も考えられる。

その一つは膨張性の発育、浸潤性の発育にみられる連続的拡がり方、他の一つは腫瘍組織の一部、あるいは腫瘍細胞が原発巣より離れた場所に運ばれる不連続的拡がり方、すなわち転移である。

この不連続性の拡がり方、すなわち転移形成の機序として、リンパ路、または血行中に浸入した腫瘍細胞が腫瘍栓塞症を惹起し、ついで着床し、それが新しい発育をみるという三段階に分けて考えられるわけである。

ここで最も重要な問題は管内性転移が起るさいに、この腫瘍細胞の移動はリンパ路、血行を介して行われるものであり、このリンパ路、血行などの転移路への腫瘍細胞の浸入、腫瘍細胞の解離 (腫瘍細胞の異所性能) の機構にはまだ一貫した学説はない、

腫瘍の病理組織における形態像で *in situ* から *basement membrane* を破って *extra situ* に異所性を獲得し、あるいはリンパ路や静脈壁を通るさいの機構については古典病理学的では細胞の増殖による機械力がこのような異所性をつくり出すものと仮定しているに過ぎない。

悪性腫瘍はかならず増殖、転移をきたすのがその特性であるといっても脳腫瘍が脳脊髄以外の遠隔臓器に転移を招来しうるか否か、すなわち脳腫瘍の遠隔転移の有無、ひいては真実の意味における脳腫瘍の悪性度の価値からみて重要な問題であると所⁴⁾はのべており、結論的にこの意味における脳腫瘍の転移はほとんど存在しないとのべている。また、文献的考察においてこの種の転移を肯定する報告もないではないが、おおむね厳密な批判にたえないと述べ、固有の脳実質から生じた脳腫瘍、すなわち *gliom* 系のもは全く遠隔臓器に転移しないと論じている。

そのほか、唾液腺腫瘍、悪性甲状腺腫、または非転移性肉腫の *cystosarcoma phyllodes mammae* などの例外的腫瘍の異所性能については本説では十分な説明を加えることはできない。

また、これらの腫瘍細胞が解離を惹起して癌細胞が主病巣より移動するさいに、この解離をおこす因子として、古くから *Coman*^{5), 6)} は腫瘍細胞相互間の結合力の低下に原因を求め、*Enterline*⁷⁾、*広野*⁸⁾ は臨床的、実験的に腫瘍細胞のアメーバ状遊走論を論じ、また *Coman*^{9)~10)} も実験的に良性腫瘍は *acinus* を形成するが悪性腫瘍細胞はアメーバ状運動により解離し、新しい集落を形成すると述べている。

また、*Ambrose*¹²⁾ は悪性腫瘍細胞は細胞表面電位に異常を来すと述べ、*Young*¹³⁾ は腫瘍内圧の増加を説いているが、いずれにせよこれらの物理力だけでし

ては腫瘍細胞の異所性能力を十分に説明することはできない。

また、最近石川¹⁴⁾は腫瘍細胞の解離の生化学的解答として血液型の型物質に関連して癌の拡散因子 cancer cell spreading factor について論じている。

すなわち、Ehrlich 腹水癌細胞(EA 細胞)を用いての実験において EA 細胞は適当な量の γ -globulin の存在において凝集をおこし、この γ -globulin を凝集素とみなし、この凝集における凝集阻止因子なるものを考えている。

この凝集阻止因子としては以前より糖類、アミノ酸など種々なるものが考えられているが石川は Weiss¹⁵⁾, Taylor¹⁶⁾, Ambrose¹⁷⁾ などの論じている癌細胞は表面性質として細胞培養上ガラス板に膠着するものであり、細胞表面をリパーゼ、フォスホリラーゼなどで処理すると癌細胞では膠着性が選択的に失われるということ、また Ambrose¹⁷⁾ の論じている細胞膜は脂質、蛋白結合よりなる二重層であるが脂質か蛋白に異常があるとその部では双方の linkage が悪く、phosphatidyl choline が曝露し、そのときの燐基質が癌細胞膜の負電荷の原因となるということ、また Rapport¹⁸⁾ の Cystolipin, 神前¹⁹⁾ の malignolipin などのごとく、癌細胞の特異抗原性を定めるものは脂質に焦点づけられていることなどから神前¹⁹⁾ による抽出法にしたがい Kanalipin なる glyco-lipo-peptide を抽出し、この Kanalipin が特徴ある組成として癌細胞膜表面に位置し、癌細胞表面を特徴づけ、癌細胞凝集を司かさざると述べている。

これより石川は癌細胞凝集はこれを裏返して理解すれば癌細胞の free single cell 化を意味している。

すなわち、癌細胞表面は一般の細胞膜と同様にそれ自体代謝するのである。

かくして、その代謝の間に細胞表面の特異組成も代謝され細胞外に放出される。

このような細胞表面より離れた特異組成、またその代謝産物の単体は元来 γ -globulin 凝集素と結合する性質を有するため、cell bound の特異組成の入るべき席を奪うことになり、かかるとき癌細胞は凝集することができず、当然拡散せざるをえない。それが癌の転移性であると述べている。

この見解より Kanalipin は細胞表面に位置し、癌細胞を特徴づける癌型物質 cancer type substance となり、細胞表面より遊離しては癌細胞に転移性をあたえて癌細胞拡散因子 cancer cell spreading factor

となると論じている。

一方、転移の方式の一つとしての血行性の経路において腫瘍細胞が原発巣より離れた場所において栓塞を形成し、転移の形成をみるというが、この栓塞の形成と転移形成が密接な関連性を有することが種々の報告によりなされている。

たとえば、Engell²⁰⁾ は臨床的に159名の原発性の癌患者にたいして腫瘍摘出術を行い、そのさい61%に血中癌細胞を認めたと、5~9年後にそのうち44例が生存しており、また生存者の中の51%は最初に血中癌細胞を証明した患者であり、この結果より血中癌細胞浸入が直ちに転移を意味するものではないと論じている。

中村^{21)~22)} は栓塞形成要因として個々の腫瘍細胞のそれぞれの性格と宿主個体、また臓器組織との親和性如何が大きく関連するとのべている。

また、各臓器の血管構造の差により、その中に腫瘍細胞が抑留され易いか、速時的に通過するか大きな差のあることを実験的に証明している。

中村は結論として腫瘍転移形成率を左右する因子として上述の血行内浸入、血液と細胞の親和性、血管通過性などのほかに、腫瘍細胞の抑留率や管外進出が重要であり、実験的結果でも腫瘍細胞が新生肉芽にみられるごとき毛細血管の増殖などがある場合には高率に転移することを論じている。

Wood²³⁾ は実験的に腫瘍細胞の通過および停着の状況を観察し、まず腫瘍細胞が内皮細胞につくと毛細血管は拡張し、血流は停止し、20~30分後に血小板とフィブリンとよりなる血栓が形成され、12時間後にこれは消失し、あとに腫瘍細胞がフィブリンによつて固く内皮細胞に固着してのこされると述べ、血栓形成のないものは、これらの現象はみられないと論じており、佐藤^{24)~26)}、中村²²⁾、Wood²⁷⁾ も同様の現象を報告している。

これらに関連して実験的、臨床的に抗凝固剤による癌転移予防の報告が数多くなされている^{28)~32)}。

これらの転移性格、転移機構に関する種々の実験的、臨床的理論は多々あるが全く仮説の域を出ず、転移性格、とくに異所性能については現在何ら系統的説明は与えられていない。

上記転移成立要因のほかに、すでに緒方¹⁾は悪性腫瘍が浸潤性の発育、増殖をきたすときに腫瘍細胞より産出される何らかの酵素によつて周囲組織を融解するのではないかと指摘している。

また、Willis³³⁾ は明確ではないが腫瘍細胞が増殖

する場合、周囲組織に soluble product を産生するのではないかと論じている。

最近では、滝沢³⁴⁾によると癌細胞が周囲組織をとかず所見に着眼して mesenchymolyse, すなわち癌細胞に隣接する間葉系細胞が脂肪変性に陥り、蛋白脂肪分離が行われていると報告している。

すなわち、組織学的に非上皮系腫瘍においても上皮系腫瘍の場合と同様に肉腫の実質細胞にも、良性腫瘍ないし正常組織の場合と異なる著明な変性、崩壊 (mesenchymodystrophie, mesenchymolyse) が起るが、とくに毛細血管外膜層は肉腫細胞の侵入により疎間崩壊に傾き、毛細血管壁の基底膜や内皮細胞にも変性が著しく、このことは非上皮系悪性腫瘍に血行性転移が起り易い事実と密接な関係のある所見と考えられると論じている。これらの転移性格とは別のものとして、Sylvén³⁷⁾ らは成長のはげしい癌細胞では cathepsin の上昇が強いと論じている。

Weber^{35)~36)} は *Xenopus larvae* の尾の機能としての上皮の吸収能や尾部再生時の上皮の旺盛な形成時には cathepsin 活性が高まると論じている。

木村³⁸⁾ は酵素化学的に胃潰瘍、十二指腸潰瘍、ヒスタミン潰瘍、ヒスタミン潰瘍非発症例、および胃癌胃などについて胃、十二指腸壁の cathepsin 含有量を定量的に測定した結果、胃癌潰瘍胃が他のものと比較して胃壁 cathepsin 能が特異的に昂進していることを述べていることなどより、癌発生時の上皮細胞系の異常増殖時に cathepsin, もしくは類似の protease の機能が異常に高められていることを示唆するデータとみてよい。

そこで、わたしは悪性腫瘍組織やその発生母組織の細胞溶解能を検討することによつて先人の業績を基礎とし、新しい転移の法則が樹立されはしないかと考えた。

実験を行うにおいて、勿論悪性腫瘍だけをとり出すことはできないし、また増殖の極めて旺盛な部分を用いるために腫瘍周辺部から間葉組織をさけてブロックとして材料をとった。

抽出の方法も溶解を惹起する物質が何であるか不明の現在、できるだけ熱化学的変化を来たさない方法を選んで、低温、低速の条件下で組織抽出液をえた。

細胞溶解能は細胞膜荷電を強く変更するような物質であれば高張の無機塩類溶液、ないしは界面活性剤にでも存在するけれども、生体の組織内にこういつた状態の化学反応は決して生じないことから考え

て、わたしは細胞溶解現象を、ここでは蛋白溶解という限られた範囲に焦点をおくことにした。

蛋白溶解は生体では常存の蛋白分解酵素がその役割を演じるが、消化管以外では従来の業績は炎症組織における崩壊蛋白の処理という面で cathepsin に関する研究、肉付けが行われてきたに過ぎない。

しかし、最近に至つて炎症修復酵素として、trypsin, α -chymotrypsin, ないしは類似の bromelain などの抗炎症酵素が花やかに登場し、事実臨床的にもかなり消炎効果が認められるようになってきている³⁹⁾。

悪性腫瘍組織中に働く蛋白分解酵素は現状では物質としてその報告は皆無であるが、仮りに人工的基質を選んで悪性腫瘍組織の抽出液を作用させたさいに、基質蛋白に系統的な融解現象が証明されれば悪性腫瘍組織内の存在は高度の的確性で信じられることになる。

わたしはこのような観点から蛋白基質に線維素 (fibrin), 合成基質 TAME, casein を選んでこれらに悪性腫瘍組織、および腫瘍母組織をいろいろの条件下で作用せしめることを企画し、その各条件下における種々な組織の活性値を求めた。

第二章 悪性腫瘍組織ならびに腫瘍母組織の線維素溶解能

第一節 実験目的

緒言で述べたように、悪性腫瘍細胞の異所性能は腫瘍組織の周辺部に存在し、または腫瘍細胞より産出される蛋白分解物質 (酵素) がなんらかの関連性を有しているという仮定のもとに、悪性腫瘍組織、ならびに腫瘍母組織の生理的食塩水抽出液を作成し、蛋白基質に線維素 (fibrin) を選び、これらをプラスミン測定法にならつて反応させ、基質 fibrin の溶解値を求めた^{40)~49)}。

第二節 実験材料ならびに実験方法

A) 組織抽出液の作成

岡山大学医学部附属病院において主として手術された摘出物の新鮮なもの、あるいは -19°C 冷凍庫中に保存されたものを肉眼的病理所見に留意しつつ切出し、200 mg を秤量し、0.9%生理的食塩水にてよく血液を洗いおとし、摘出諸組織 200 mg に対し 0.9%生理的食塩水 2 ml を加え、ガラス末を添加して氷水中にて約10~15分間、組織がよくホモジネートされるまでイボ付ホモジナイザーでよくホモジネートを施行する、

B) 組織抽出液の分画作成

上記ホモジネートされた組織抽出液を室温で30分間放置して、よく抽出させ、2500回転、約10分間遠沈、上清を検体とする。

この抽出液の上清1容に対して pH 7.8 veronal 緩衝液の1容を加えたものを全分画とし、Varidase (streptokinase 100,000 U, streptodornase 25,000 U), (武田薬品)を0.9%生理的食塩水 10 ml に溶解したものの1 ml を pH 7.8 veronal 緩衝液 9 ml に混じたものを1容と、これに抽出上清1容を加えたものを全分画+streptokinase 加分画とする。

ついで、冷醋酸法による euglobulin 分画を作成す

る。

これは1%醋酸 0.32 容と水 19 容の醋酸溶液 9 ml に抽出上清1容を加えて 0°C 冷蔵庫中にて、30分間冷却し、これを2,500回転、約10分間遠沈し、沈澱物を pH 7.8 veronal 緩衝液に再溶解し、このものの1容に pH 7.8 veronal 緩衝液1容を加えたものを euglobulin 分画とする。

ついで、この euglobulin 分画1容に上記 Varidase 溶液を1容加えたものを euglobulin 分画+streptokinase 加分画とする。

また、抽出液を 100°C、30分間加熱したものを加熱群として、以上の5種類の分画を作成する。

表1 胃癌および非癌部胃粘膜の標準平板溶解能 (症例:(上)非癌部 (下)癌部)

	病 理 診 断	細異型 胞度	配異型 列度	浸潤 度	伸 展 度				溶 解 能 (mm ²)							
					壁深達	漿膜	リンパ 管	静脈	全分画		全分画 +SK		Eug 分 画		Eug分画 +SK	
1	C solid. simp	Ⅲ	3	γ	P M	S(-)	L(-)	-	72 46	165 46	193 390	305 382	56 41	64 68	255 265	255 282
2	C solid. simp	Ⅲ	3	γ	S S	S(-)	L(+)	+	150 64	110 64	279 253	280 271	100 39	81 49	324 350	306 384
3	C solid. simp	Ⅲ	3	γ	S S	S(-)	L(-)	-	33 49	30 56	315 180	325 441	49 68	39 84	230 180	216 288
4	C solid. simp	Ⅱ	3	γ	S S	S(-)	L(+)	++	40 40	38 36	225 385	207 345	46 49	42 72	210 250	230 288
5	Adc tubulare	Ⅱ	3	γ	S S	S(-)	L(-)	-	208 30	170 30	355 295	273 295	176 42	208 30	305 208	224 165
6	Adc tubulare	Ⅱ	3	β	S S	S(-)	L(+)	++	72 72	95 68	407 340	365 345	67 40	56 24	210 290	299 272
7	Adc tubulare	Ⅲ	3	β	S S	S(-)	L(-)	-	132 255	110 202	265 326	364 190	162 260	152 254	300 342	320 360
8	Adc tubulare	Ⅲ	3	γ	S S	S(-)	L(-)	-	36 36	16 42	173 217	237 184	42 42	29 49	280 232	288 256
9	Adc tubulare	Ⅱ	2	γ	S S	S(-)	L(+)	++	120 138	102 63	307 322	271 280	100 39	156 42	200 221	250 203
10	Adc tubulare	Ⅲ	3	γ	S S	S(-)	L(-)	-	68 38	90 60	265 305	361 307	98 90	110 74	290 340	212 330
11	Adc tubulare	Ⅲ	3	γ	S S	S(-)	L(+)	+	90 38	110 25	175 345	130 365	60 60	70 70	180 260	210 310
12	Adc acinosum	Ⅲ	3	γ	S S	S(-)	L(-)	-	40 72	36 60	155 285	125 253	48 53	52 160	230 340	240 320
平均	非 癌 部 癌 部								88 73	85 63	260 304	270 305	84 69	88 81	251 273	254 288

SK ; Streptokinase Eug ; Euglobulin

C) fibrin 平板作成

市販牛 fibrinogen 末、(第一化学薬品)を各ロット均等混合し、力価一定なるものを一連の実験に先行して用意し、0°C 冷蔵庫中に保存し、用に臨んでこれを pH 7.8 veronal 緩衝液に溶解し、fibrinogen の 0.3%溶液を作成し、これを Torex シャーレに 3 ml 宛注入し、牛 thrombin 500 U、(持田製薬)に 50% glycerin および 0.9%生理的食塩水各々 2.5ml 宛加えて thrombin 溶液を作成する。

これを Mantoux 用皮内針を使用して 2 滴宛、約 0.06ml 宛を滴下して攪拌凝固せしめ、これを 37°C、30分間 incubate したものを standard plate とし、85°C、35分間加熱したものを heated plate とする。

D) 反応および判定

この standard plate, heated plate の両平板上に B) において作成した 5 種類の分画を Mantoux 用皮内針を使用し、各 1 滴宛、約 0.03 ml を一平板上に 2ヶ所に滴下した後、37°C、16 ~ 24 時間 incubate して反応を行わしめる。

反応の判定は fibrin 平板溶解の程度によりつぎの 5 種類に分類する。

すなわち、fibrin 平板溶解が水様透明にして直径が 10mm 以上のもの(卅)陽性、fibrin 平板溶解が水様透明でその直径が 7 mm 前後のもの(卍)陽性、fibrin 平板溶解が水様透明でその直径が 5 mm 前後のもの(+)陽性、fibrin 平板溶解が半透明でその直径が 3 mm 以下のもの(±)陽性、全く反応のないものを陰性とする。

なお、これに併せて、溶解部の長径、短径の積を以って溶解面積とする。

また、黒地紙の上に反応 Torex シャーレを並べ写真撮影を行い判定の補助とする。

第三節 実験結果

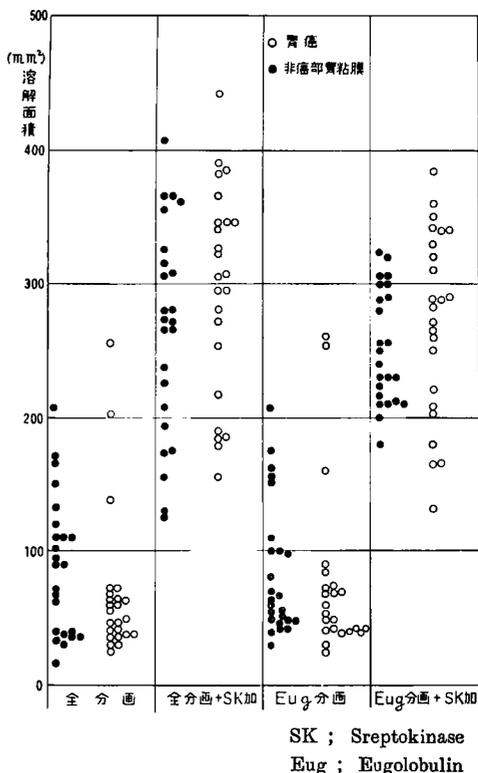
A) 胃癌組織および非癌部胃粘膜組織の standard plate 溶解能

実験にさいして問葉系との contamination を極力さけるため胃粘膜のみを剝して検体とした非癌部胃粘膜との比較実験を施行した。

standard plate を基質とする反応にあつては、表 1 のように癌部、非癌部を問わず全分画に高度の基質溶解能が認められた。また euglobulin 分画のいづれにも同様の結果がえられた。

その溶解面積は、表 2 に示すように全分画、および euglobulin 分画では 0~200mm² の間に分布し、両者への streptokinase の添加群では 100~400mm²

表 2 胃癌および非癌部胃粘膜組織の標準平板溶解能



の間に分布している。

全分画の平均では癌部では 63~73mm² で、非癌部では 85~88mm² である。

euglobulin 分画において癌部 69~81mm² で全分画の平均より幾分溶解面積は広大している。

非癌部は 84~88mm² であり、全分画の非癌部と大同小異であつた。

しかし、全分画も euglobulin 分画も癌部と非癌部の比較では前者が幾分溶解面積は狭小である結果をえた。溶解程度は写真判定では図 1、および表 3 のように、(卍)陽性~(卅)陽性を示している。

standard plate における胃癌および非癌部胃粘膜の全分画においての溶解能は平均においても、各症例をみても非癌部の溶解能が強度である場合がかなり多く認められるが癌部の溶解能が個々の症例の比較においては高度である場合が数症例認められる。

ついで、全分画に streptokinase を添加した場合、癌部、非癌部ともにきわめて高度の溶解能を示しているがほとんどの症例において非癌部の溶解能に比較して癌部のそれの方がより高度の溶解能を示した。

この平均値では非癌部 260 ~ 270mm² で癌部

表3 Fibrin を基質とする反応

Standard plate
○非癌部胃粘膜 ●胃癌

卅	○○ ●●	○○○○○ ●●●●●	○	○○○○○ ●●●●●		
廿	○○○○○ ●●●●●	○	○○○○○ ●●●●●	○○		
十			○ ●●●	○ ●		
±					○○ ●	○○
-					○○○○○ ●●●●●	○○○○○ ●●●●●
	全分画	同 SK 加	Eug 分画	同 SK 加	全抽出液を 100°C, 30' 加熱	同 SK 加

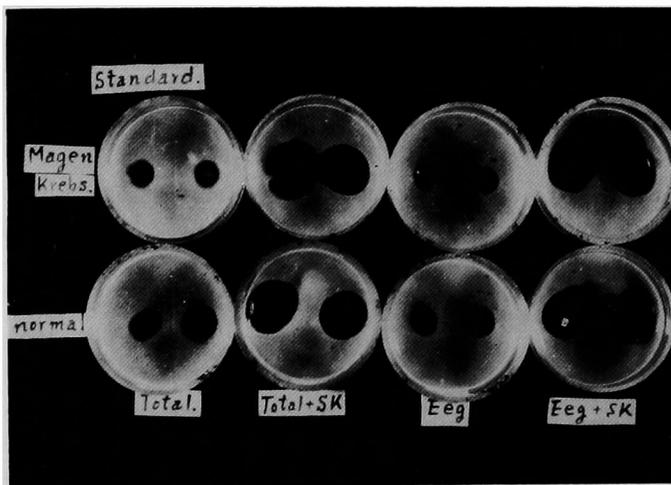
SK ; Streptokinase
Eug ; Euglobulin

では 304~305mm² を示した。

そして、表 2 に示すように全分画の溶解能を基本としてみる場合、streptokinase の添加による活性度は癌部の方が非癌部のそれより強力に認められた。

しかし、上述のように全分画とそれに streptokinase を添加したものの呈する standard plate の溶解能を溶解面積を主体としてみたとき、癌部のそれに強度の場合が多いが個々の症例をみると症例により逆の結果を示す場合も多く、その溶解による standard plate の透明度は図 1 に示すように両者間に有意

図 1 胃癌組織：非癌部胃粘膜組織の Standard plate 溶解能



Total ; 全分画 Eug ; Euglobulin 分画 SK ; Streptokinase

の差は認められない。

ついで、euglobulin 分画については全分画と比較すると一般に癌部も非癌部も euglobulin 分画の方がやや低値を示している場合が多いが、平均では非癌部の全分画は 85~88 mm² で euglobulin 分画では 84~88 mm² でほとんど差は認められない。

また、癌部の場合では全分画 63~73 mm² で euglobulin 分画では 69~81 mm² やや癌部のそれに高値を示した。

ついで、全分画と euglobulin 分画に streptokinase を添加した場合、癌部、非癌部を問わず両者の比較では全分画の方がより高度に streptokinase の修飾を受けている結果を示した。

また、この場合癌部、非癌部を比較した場合、全分画、euglobulin 分画を問わず癌部の方がより高度の streptokinase の修飾を受けている結果を示した。

この溶解能は癌の組織像における基本分類の CAT, SAT, INF との相関は特に見られなかった。

B) 胃癌組織および非癌部胃粘膜組織の heated plate 溶解能

heated plate を基質として使用した場合では standard plate を使用した場合と若干趣を異にする。

一般的に、非癌部は基質溶解能が低いか、ときとしてない場合が多いに反して、同時に施行した癌部の反応では表 4、図 2 のように非癌部のそれに比較して同程度かそれ以上の溶解能を示した。

ときとして、非癌部の溶解能がやや高度に現われる場合もあるが症例ごとの比較においてはその溶解能に差は認められない。

この溶解能は癌部、非癌部を問わず streptokinase でまれに活性を受ける場合があるがそのほとんどは活性を受けることなく、また活性を受ける場合はやや癌部の場合に多い。

溶解能は全分画と euglobulin 分画との間にはほとんど有意の差は認められず、両者とも streptokinase の活性の影響もほとんど認められない。

また、この溶解能は腺腔形成や粘膜形成のない単純癌の場合でも出現する。

なお、抽出液を 100°C, 30 分間

表 5 脳組織, 非上皮系, 上皮系組織の標準平板溶解能

	全 分 画		全分画+SK		Eug 分画		Eug 分画+SK	
Hirn parenchym	35	35	103	110	39	39	120	116
Hirn parenchym	32	36	106	121	36	34	120	126
Nabelschnur	33	39	118	116	33	33	156	121
Glattmuskel	60	56	220	225	76	60	244	260
Skelletmuskel	32	33	305	318	38	42	395	387
Lymphknoten	23	23	143	138	25	28	163	163
milz	24	20	200	272	33	33	280	252
milz	24	20	280	272	34	33	280	252
Leber	46	43	320	395	43	45	428	378
Leber	46	40	316	272	56	42	361	315
Leber	56	39	228	232	60	64	238	281
Leber	56	64	217	204	49	48	245	224
Oesophagus	46	46	162	170	43	46	172	180
Duodenum	144	144	325	360	154	132	357	372
Duodenum	68	63	326	315	66	62	361	374
Sigma	86	62	380	341	66	70	363	393
Gallenblase	86	86	418	391	90	81	374	368
Gallenblase	80	85	334	323	70	74	310	314
Milchdrüse	72	81	372	310	60	69	440	441
Milchdrüse	98	82	372	390	78	82	362	380
Milchdrüse	79	72	342	330	62	59	314	309
Schild drüse	56	60	248	238	53	60	248	248
Schild drüse	72	80	210	210	63	68	298	336
Niere (Rinde)	36	36	232	259	43	33	232	250
Niere (Medulla)	95	115	280	296	64	81	294	285
Placenta	30	36	280	296	36	33	295	243
Harnblase	66	63	258	280	66	63	280	260
Samenblase	67	72	269	269	88	75	370	315
Prostata	68	68	323	380	76	76	337	372
Pancreas	527	496	667	651	458	540	753	620

SK ; Streptokinase Eug ; Euglobulin

乳腺のように極めて強い活性をうけている場合もあるが正常組織と腫瘍組織を比較すると全分画, および euglobulin 分画の溶解能を基本として考える場合 streptokinase を添加すると腫瘍組織の方が一般に強度の活性を受けている傾向を示している。

悪性甲状腺腫では全分画で正常の溶解能より強度である。

D) 脳組織, 非上皮系組織, および上皮系組織の heated plate 溶解能

表 7, および表 8 に示すように脳正常組織は heated plate に対する基質溶解能を示さない。

この正常脳組織では全分画, euglobulin 分画にも

溶解能は全くなく, streptokinase を添加することによつても溶解能は出現しない。

また, 脳腫瘍組織では gliom, astrocytom, および ependymom にはほとんど溶解能は認められない。

しかし, これらの全分画, euglobulin 分画に streptokinase を添加することによりわずかに溶解能の出現をみた。

meningiom では分画のほとんど全てに僅少の溶解能を示し, meningiosarcom では全分画, および euglobulin 分画に陽性にあらわれたが streptokinase の添加で修飾を受けない。

非上皮系の腫瘍母組織は平滑筋, 骨格筋, および

表6 脳腫瘍組織, 非上皮系腫瘍組織, 上皮系腫瘍組織の標準平板溶解能

	全 分 画		全分画+SK		Eug 分画		Eug 分画+SK	
Gliom	24	25	91	109	36	36	176	105
Meningiom	81	81	240	210	89	83	264	267
Meningiom	63	49	144	150	42	49	156	164
Meningiom	149	180	274	270	110	156	280	275
Meningiom	46	42	306	315	35	33	349	399
Ependymom	45	54	221	180	36	20	360	380
Fibroneurinom	36	49	225	255	46	48	226	260
Mammakrebs	52	62	306	306	60	56	310	310
Fibroadenom	36	39	281	210	72	49	281	210
Mammakrebs	56	65	340	334	56	52	372	364
Mammakrebs Lymph meta	62	72	310	382	66	62	325	350
Mammakrebs	110	90	370	352	99	90	315	巨大
Mammakrebs	82	74	375	316	72	76	462	441
Mammakrebs Lymph meta	146	160	382	368	156	163	342	396
Mammakrebs	59	64	396	383	62	62	388	360
Mischgeschwulst	64	81	320	336	81	80	347	386
Oesophaguskrebs	20	20	180	143	20	20	203	264
Reticulosarcom	42	23	210	205	49	30	210	219
Hodgkin' Krht	60	16	243	255	49	91	216	239
Struma maligna	196	196	320	306	172	163	399	344
Struma maligna	114	99	310	320	139	123	388	351
Pankreaskopfkrebs	238	255	756	540	276	269	575	620
Sigmakrebs	70	68	360	308	110	64	386	398
Myoma uteri	49	35	292	261	46	49	275	250
Neuroblastom	36	48	313	348	50	59	346	351

SK ; Streptokinase Eug ; Euglobulin

結締織とも全分画, および euglobulin 分画のいずれにも溶解能は認められない。

これらに streptokinase を添加することによりやや溶解を示したものがある。

しかし, 脳組織と同様に非上皮系組織も streptokinase の添加により強度なる活性を受けていない。

ついで, リンパ節, 脾臓に軽度の溶解能が認められた。しかし, 非上皮系の腫瘍組織である子宮筋腫, ホヂキン氏病とも溶解能は認められない。

このリンパ節, 脾臓の溶解能は全分画と euglobulin 分画との比較でも著大な差は認められず, これらに streptokinase を添加することにより幾分活性を受けることもあるが溶解能の程度差は著しくない。

ついで, 癌発生母組織となる上皮系組織では肝臓を除き, おおむね全ての組織に多少とも溶解能は認められた。

前立腺, 絨毛, 消化管など好転移性格を有する母

組織は溶解能が強く, これに反して扁平上皮, 食道粘膜, 膀胱粘膜などは幾分弱度で前述のように肝組織も極めて弱度である。

ついで, 上皮系腫瘍組織でも食道癌を除いてはおおむね全てのものに溶解能は出現しているが溶解能はこれらの正常組織と比較して大同小異である。

これらのものは全分画, および euglobulin 分画との間にはほとんど溶解能に差は認められない。

また, streptokinase 添加により, とくとして活性を受けることもあり, 全く活性を受けないものもある。

第四節 小 括

A) 胃癌組織および非癌部胃粘膜組織の standard plate に対する作用について ;

この実験において胃癌および非癌部胃粘膜組織の 0.9 %生理的食塩水による抽出液の standard plate の溶解能は全分画においては癌部の溶解能より非癌

表7 正常諸組織の Heated Fibrin Plate 溶解能

	組 織	全 分 画	全分画+SK	Eug 分画	Eug 分画+SK	備 考
脳 組 織	Hirn Parenchym	—	—	—	—	少しく Gliom の浸潤ありや
	Hirn Parenchym	—	—	—	—	
	Hirn Parenchym	—	—	±	—	
非 上 皮 系 組 織	Nabelschnur	—	±	—	±	Sinus Katarrh 強度
	Glatte Muskel (Uterus)	—	—	—	—	
	Skelett Muskel (Bauch Muskel)	—	±	—	—	
	Lymphknoten	±	±	±	±	
	Milz	—	±	±	±	
上 皮 系 組 織	Leber	—	—	±	—	Magenkrebs の 浸潤あり 別紙 cf. 粘膜剝離困難, 全層使用 ホモチネート困 難 橋本氏病変含む か
	Leber	—	—	—	—	
	Leber	—	—	—	—	
	Leber	—	±	—	—	
	Oesophagus	—	±	—	±	
	Cardia	±	+	+	+	
	Magen	+	+	+	+	
	Duodenum	±	+	±	+	
	Sigma	±	+	±	±	
	Gallenblase	±	+	+	+	
	Gallenblase	+	+	±	±	
	Milchdrüse	+	+	+	±	
	Schilddrüse	±	±	±	±	
	Niere (Rinde)	—	±	—	±	
	Niere (Medulla)	+	±	±	±	
	Harnblase	±	±	±	±	
	Placenta	+	+	+	+	
Samenblase	+	+	+	+		
Prostata	+	+	+	+		
Pankreas	±	±	±	±		

SK ; Streptokinase Eug ; Euglobulin

部のそれがより高度である。

しかし、ときとして癌部でも高度の溶解能を示す症例があるがそれは同一症例の癌部と非癌部の比較であるので proactivator の増量があるものと推定できる。土屋⁵⁰も胃癌および胃潰瘍とこれらの隣接胃組織の plasminogen activator, および trypsin inhibitor の測定において, plasminogen activator は胃癌部は隣接胃組織より増加の傾向があり, trypsin inhibitor は胃癌組織より隣接胃組織に増加の傾向があると述べている。

しかし、血液そのものの contamination を同一視出来ないことに難点がある、

全分画に streptokinase を添加した場合の結果は癌部に proactivator の増量があることを示唆する結果である。

両者の全分画と euglobulin 分画との比較では inhibitor を除外された euglobulin 分画がやや高値を示しているが、ときとして同程度か、低値を示していることに不安があるが冷醋酸法による euglobulin 分画の抽出で euglobulin 分画の再溶解時 pH の移動があるかもしれないという疑問があり、結論を出すことは危険を伴う。

euglobulin 分画における癌部と非癌部との比較では癌部の方が溶解能が同程度か、やや高度である結

表8 腫瘍諸組織の Heated Fibrin Plate 溶解能

	腫瘍組織	全分画	全分画+SK	Eug 分画	Eug 分画+SK	備考
脳腫瘍組織	Gliom	-	±	-	±	
	Astrocytom	-	±	-	±	
	Ependymom	-~±	-	-	-	
	Meningiom	±	±	±	±	
	Meningiosarcom	+	±	+	±	
	Neuroblastom	±	+	+	+	
非系組 上腫瘍 皮膚	Myoma uteri	-	-	±	-	
	Hodgikin' Krht	-	-	-	-	
上皮系腫瘍組織	Oesophaguskrebs	-	-	-	±	
	Harnblasenkrebs	±	±	±	±	
	Schilddrüsenkrebs	±	+	±	+	
	Mammakrebs	+	+	+	+	
	Magenkrebs	+	+	+	+	
	Sigmakrebs	+	+	+~±	+	
	Pankreaskrebs	+	+	+	+	
その他	Mastopathie	±	+	-~±	+	
	Hashimoto' Krht	-	-	-	-	
	Basedow' Krht	-	-	±	-	
	Mastopathie	-	+	-	±	

SK ; Streptokinase Eug ; Euglobulin

果は proactivator の増量とともに inhibitor の増量も併せ考えられる。

euglobulin 分画に streptokinase を添加した場合も全分画より高度に溶解されていることも上記と同様の結論がえられる。

ついで、癌部と非癌部の比較において、streptokinase の修飾が全分画、euglobulin 分画ともに癌部に増強する結果は癌部に proactivator の増量を伴うものと結論する。

B) 胃癌組織および非癌部胃粘膜組織の heated plate に対する作用について；

この実験の結果は癌部のそれに溶解能があり、非癌部には無いが、あるいは軽度であるということである。

すなわち、組織抽出液が heated plate を溶解するためには plasmin, あるいは protease 様の蛋白分解酵素が存在しなければならない。

この heated plate の溶解の有無には総括でのべたごとく諸説があるが streptokinase によつて少しく活性をうけるものもあることから、plasmin をも含む何らかの蛋白分解酵素が癌部では増量しているものと考えている。

中川⁵¹⁾も standard plate での同様の実験において胃潰瘍病変部では正常胃粘膜組織と比較して基質溶解能は低値であるが、胃癌病変部ではときとして極めて強度の溶解能を示す場合があると述べており本実験の結果と一致している。

C) 脳組織、非上皮系組織、および上皮系組織の standard plate に対する作用について；

この実験の結果は脳正常組織は standard plate 溶解能が低値であり、gliom も同様低値である。

しかし、meningiom, および ependymom などで高値を示すことは proactivator, activator の増量があるものと結論したいが meningiom などでは血液を豊富に有する難点がある。

また、meningiom では streptokinase の活性を受けている点から proactivator 増量があることは事実である。

非上皮系組織では一般に溶解能は低値であるが子宮筋、骨格筋では溶解能が高値を示すことは羽場⁵²⁾の報告と一致する。

上皮系組織では脳組織、非上皮系組織に比較して溶解能が高値である場合が多い。

とくに、腫瘍組織では胃癌組織におけると同様

streptokinase による活性が強度で proactivator ならば activator の増量があるものと結論する。

D) 脳組織, 非上皮系組織, および上皮系組織の heated plate に対する作用について;

この実験の結果では脳組織は heated plate を溶解する能力をもっていない。

非上皮系組織もまた同様である。

上皮系組織ではおおむね heated plate の溶解が認められ, 胃癌組織と同様, plasmin, または protease 様物質が増量しているものと考えている。

第三章 standard plate, heated plate に対する streptokinase 単独の反応

第一節 実験目的

standard plate は Astrup⁴⁷⁾ により紹介された方法で現在広く用いられている線維素溶解測定法の一つである。

しかし, このような standard plate の基質として用いられている fibrinogen も蛋白体であることにより, 基質そのものの中に plasminogen proactivator, activator が相当量含有されているので standard plate の溶解能は被検抽出液の実際の活性より高い値をうることになる。

ゆえに, 上記実験における standard plate 溶解現象では被検液中の plasminogen, および proactivator を全部, plasmin, または activator に転化して測定するので whole plasmin, whole activator と呼ばれている。

すなわち, streptokinase を添加することは, standard plate においては基質中に存在する plasminogen, および proactivator を plasmin, および activator とするために, 被検液とこれとの総和として表現されるわけである。

この結果より standard plate は activator の測定に用いられることが多く, plasmin そのものの測定にはこれらの基質中の plasminogen, および proactivator を除外出来る heated plate が使用されるわけである⁴⁸⁾。

なお, 現在 plasminogen の機構に関して目下非常に混乱しているのは streptokinase による活性化機構である。

本実験に使用した standard plate, および heated plate への streptokinase 単独の使用がいかなる反応を示すかを知ることは, 被検液の溶解能の結果の意味することをうかがうのに必要不可欠のことであ

る。

そこで, 本章では standard plate, および heated plate に対する streptokinase の単独の反応を検じた。

第二節 実験方法

第二章, 第二節の実験方法で述べた fibrin 平板作成法にならい, standard plate, および heated plate 両平板を作成する。

ついで, 組織抽出液分画の作成のところで述べたように Varidase (streptokinase 100,000 U, streptodornase 25,000 U) を 0.9% 生理的食塩水 10ml に溶解したものの 1ml を pH 7.8 veronal 緩衝液 9ml に混じたものを Mantoux 用皮内針を用いて上記 fibrin 両平板上の 2ヶ所に 1 滴宛 (約 0.03 ml) を滴下し, 37°C, 24 時間 incubate し, その反応を検じた。

第三節 実験結果

standard plate, heated plate 両平板も streptokinase 単独では全く無反応である。

第四節 小 括

上記実験結果では実験目的で述べたように, standard plate の基質のように無処置の fibrin 基質のなかに plasminogen, および proactivator が存在しても牛 fibrinogen では streptokinase によつて活性を受ける plasminogen, proactivator は存在しないことになる。

1933年, Tillet, Garner⁵³⁾ によつて streptococci の培養ろ液が plasminogen を活性化して plasmin にすることが発見された。

その培養ろ液に含まれる plasminogen の活性化因子が streptokinase と称されるようになったのは Christensen^{54)~55)} らの努力によるものであり, 現在 Varidase という名で市販されている。

streptokinase による plasminogen の活性化について, Christensen⁵⁴⁾ は streptokinase とヒト plasminogen とが直接反応して plasmin が生じると考えていた。

その後, 種々の動物からえた plasminogen を streptokinase で活性化してみると種によつて活性化されないことが知られてきた。

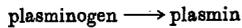
すなわち, Mullertz⁵⁶⁾ はウシ plasminogen は streptokinase によつて直接活性化されないがヒトの euglobulin 分画をごく少量加えると牛 plasminogen の活性が生じることを発見し, このことより Mullertz の有名な plasminogen の活性化機構の仮説の基礎と

なつたものである。

この結果より Mullertz はつぎのような推論を行った。すなわち、streptokinase は Christensen のように plasminogen と直接に作用するのではなく、ある前駆体(proactivator) と先ず反応して activator を生じ、これが plasminogen に作用して plasmin を生じるのである。



↓



このような模式に従うと streptokinase が直接ウシ plasminogen を活性化出来ずヒト euglobulin 分画を少量加えることにより初めて活性化されることが証明出来る。

すなわち、ウシには proactivator はわずかしか存在しないがヒトには多量存在する。

したがつて、ウシとヒトとでは活性化に差が生じると Mullertz は説明している。

このような説が提出されて以来、この説を証明しようとする報告がなされており、各人各様の見解が示され、まさに百家争鳴の感があるが納得出来るものは皆無であるということが現状のごとく述べられている⁵⁾。

しかし、本実験結果では牛 plasminogen は streptokinase 単独によつて活性を受けないことは確実である。

第四章 消化酵素剤および消炎酵素剤の線維素溶解能

第一節 実験目的

第二章の実験で施行した各種諸組織の抽出液の線

維素溶解能が plasmin を含むいかなる種類の線維素溶解物質(酵素)であるかを screening するため、また消化管粘膜は消化酵素を含有することが考えられ、血液の場合と同様組織中にある弱アルカリの領域で活動する plasmin 以外の蛋白分解物質の存在も考えられることにより、わたしはわれわれが日常使用せる消化剤、protease といわれるものの線維素溶解能を検じた。

第二節 実験方法

われわれが常時使用している消化剤である diastase, TAKA-diastase, pancreatin, 含糖 pepsin の4種類と protease といわれる α -chymotrypsin, trypsin, kallikrein, brommelain を使用した。

前者の4種の消化剤の各々0.4gを4mlの0.9%生理的食塩水に溶解し、その各々1ml宛にpH7.8 veronal 緩衝液1容宛加えたものと、第二章、第二節の実験方法でのべた varidase 溶液を1容宛加えたものを standard plate, および heated plate 両平板上に Mantoux 用皮内針を使用して1滴宛約0.03mlを2ヶ所に滴下した。

trypsin は0.4g, α -chymotrypsin は25chymopsin 単位, kallikrein は10生物学単位, brommelain は0.4gを0.9%生理的食塩水4mlに溶解し、各々1容にpH7.8 veronal 緩衝液1容、また varidase 溶液を1容加えて standard plate, および heated plate 両平板上に同様に滴下し、37°C, 20時間 incubate し、その反応を観察した。

また、これらの溶解液を100°C, 30分間加熱したのも同様の溶解能を検じた。

第三節 実験結果

表9に示すような結果をえた。

表9 消化剤および消炎酵素剤の Heated Plate 溶解能

	heated plate	溶解液を 100°C 30分間加熱したもの	
		standard plate	heated plate
Tumor	±~+	-~±	-~±
Diastase	-	-	-
TAKA-diastase	≡	-	-
Pepsin	-	-	-
Pancreatin	≡	-	-
Kallikrein	≡	-	-
α -chymotrypsin	≡	-	±
Trypsin	≡	±~+	±~+
Brommelain	≡	-	-

α -chymotrypsin, trypsin の溶解能と腫瘍組織抽出液の溶解能は類似している

第四節 小括

この実験結果より検討するに、各種諸組織の抽出液の基質溶解能は TAKA-diastrase, pancreatin, kallikrein, trypsin, brommelain などに類似している。

ここで最も不思議に思われた一症例がある。

通常臨床病理学的に好転移性といわれている Neuroblastom においては抽出液の 100°C, 30分間加熱したもので standard plate, heated plate 両平板を弱少なから溶解したことであり、採取物が少なく再検不能であったがこの結果は trypsin 系の物質に酷似するものである。

また、藤井⁵⁸⁾は多くの文献的考察からつぎのごとき類推をおこなっている。

すなわち、plasmin は fibrinogen, fibrin のほかに casein^{59)~63)}, gelatin⁵⁹⁾, β -lactoglobulin⁶⁴⁾, protaminheparin 複合体⁶⁴⁾, ACTH⁶⁵⁾ といった蛋白質を加水分解するが、一方リジンやアルギニンのエス

テル、 α -アシルリシン、 α -アシルアルギニンのエステル^{66)~69)}に特異的に作用するので合成基質として用いられるとしている⁶⁸⁾。

なお、White⁶⁹⁾らは ACTH に対する plasmin の作用部位から plasmin の作用特異性は trypsin に類似していることを指摘している。

これとは別に藤井⁵⁸⁾は pH 2.0, 100°C ヒトオグロブリンを 3 時間加熱したのち、streptokinase を加えてエステラーゼ活性をみた場合と streptokinase と一定量のウシプラスミノーゲンを加えた場合のエステラーゼ活性を実験的に検索し、加熱したヒトプラスミノーゲンでも大量ではエステラーゼ活性が認められ、ウシプラスミノーゲンの活性には少量でよいと述べており、このことから trypsin 様物質に類似していると考えている。

第五章 trypsin の線維素溶解能

第一節 実験目的

表10 Trypsin 各単位の Standard plate および Heated plate に対する溶解能

units	standard plate		heated plate	
	trypsin only	trypsin streptokinase	trypsin only	trypsin streptokinase
100	17.5×20.5	21.5×20.0	13.0×12.0	12.5×13.0
	20.0×17.0	18.5×20.0	13.0×13.0	13.0×13.0
50	16.5×14.5	17.0×16.0	11.0×11.0	11.5×12.0
	16.0×15.0	16.5×16.5	10.0×11.0	12.0×11.0
25	14.0×13.0	14.5×13.0	6.5×6.0	7.0×6.5
	14.0×13.0	14.5×13.0	6.0×6.5	7.0×6.5
12	12.0×11.5	12.0×12.5	5.5×6.0	5.0×5.0
	12.0×11.0	11.5×12.5	6.0×5.5	5.5×5.5
6	9.5×11.5	9.5×10.5	5.5×6.0	5.0×5.0
	10.0×9.5	10.0×11.5	4.5×5.5	5.5×5.5
3	8.5×8.0	8.5×8.5	4.0×4.5	4.5×5.5
	8.5×8.3	8.5×8.4	5.0×5.0	6.0×5.5
1.5	6.5×6.5	7.0×6.5	4.4×5.5	4.5×5.5
	6.2×6.5	6.5×6.5	4.5×5.5	5.0×5.5
0.8	5.0×5.5	5.0×5.5	4.0×3.5	3.5×3.5
	5.5×5.0	5.5×5.6	4.0×3.5	4.0×3.5
0.4	4.0×4.5	4.5×4.5	4.0×4.5	3.5×4.0
	4.5×4.0	4.5×4.0	3.5×4.0	4.0×3.5
0.2	3.5×3.5	4.0×4.2	3.7×4.0	3.5×4.0
	3.5×4.0	4.0×3.5	4.0×4.0	4.0×4.0

(長径×短径, 単位 mm²)

各種諸組織の fibrin 基質溶解能が trypsin 単位に換算して、どの程度の溶解能を示すかを知るため trypsin (ab 20,000 fluid gross units per G) made in Germany を倍数希釈法により希釈し、この各種濃度の standard plate, および heated plate 両平板の溶解能を検じた。

一方、最近蛋白分解酵素による plasminogen の活性化が非常に問題にされている。

蛋白分解酵素のうち、trypsin, urokinase による plasminogen 活性化が最もよく知られているが、最近パイナップルにある蛋白分解酵素 brommelain もまた plasminogen を活性化することが知られている。

そこで、本実験に使用した standard plate, および heated plate の基質に対する trypsin の溶解にさいして streptokinase の添加による影響を知るとは組織抽出液中に存在する trypsin, または trypsin 類似の物質による蛋白分解, また plasminogen 活性化という面から問題となることであり、牛 fibrinogen の trypsin, trypsin+streptokinase の反応を検じた。

第二節 実験結果

表10に示す結果をえた。

第三節 小 括

本実験結果より、諸種組織抽出液の線維素溶解能は trypsin 単位として 3U~1.5U 程度の溶解能と一致するものであり、standard plate, および heated plate においてもその溶解能力は一致している。

ついで、表10に示すように standard plate, heated plate を問わず trypsin に streptokinase を添加した場合の溶解能はやや streptokinase 添加群が強度のようであるが溶解面積にはほとんど有意の差は認められない。

この実験結果より、trypsin に streptokinase を添加しても牛 fibrinogen の活性化に強度の影響を与えないものと考えている。

第六章 癌拡散因子 cancer cell spreading factor なる glyco-lipo-peptide の線溶解能

第一節 実験目的

第一章緒言において詳説した石川¹⁴⁾のいう癌転移の生化学的解答としての spreading factor なるもの、すなわち Kanalipin (glyco-lipo-peptide) と本実験に示した線維素溶解物質(酵素)といかなる関連性を有するかを検討するため石川の施行した神前法の有機溶媒による抽出法に準ずる操作により Kanalipin

なる物質を同様の方法により抽出し、この物質の生化学的反応なる Ehrlich 腹水癌の凝集現象を追試し、併せてこれらの物質の standard plate, および heated plate の線溶解能を検じた。

第二節 実験方法

実験材料は岡山大学医学部附属病院で切除された手術摘出物、胃癌組織、非癌部胃粘膜組織、正常脳組織、および meningiom を摘出後ただちに、また -19°C 冷凍庫中に保存したものを用に臨んで細切し、なおミキサーにてホモダナイズした。

実験方法は峰田⁷⁰⁾の施行した神前の熱エタノール抽出法に準ずる操作、すなわち表11に示すように上記各摘出物 5g をホモダナイズし、その重量の3倍容のエタノールで各30分間ごと3回の還流煮沸を行い、抽出液を合して放置し、室温まで冷し濾過後 -4°C の冷室に一昼夜放置し、析出する白色沈澱物を濾過してのぞく。

濾過後、ロータリー・エバポレーターを用いて 35°C 以下の微温下で、減圧乾燥、さらにシリカゲルデシケーター中で減圧乾燥後、2.5ml の無水エタノールで還流煮沸抽出を行い、冷却後、2,500 r.p.m., 5分間遠沈してエタノール不溶物質を除去し、エタノール部分に2倍容のアセトンを加え、アセトン不溶成分を沈澱させる。

沈澱物をデシケーターで減圧乾燥後、アセトン 2.5ml で2回洗滌し、減圧乾燥す(分画I)。

分画Iを2.5ml エーテルで2回抽出し、エーテル部分を 1/2 容に濃縮し、その2倍容のアセトンを加えて、2~3時間、-10°C の冷凍庫中におき、生じた沈澱物を集めて減圧乾燥す(分画II)。

分画IIを2.5ml のクロロホルムに溶解すると、ほとんど全部が溶解されるが、ときに不溶性物を含有することがあるのでその場合は遠沈して不溶物をのぞく。

クロロホルムに2倍容のアセトンを加えて、-10°C におき、一昼夜後遠沈して沈澱物を集め減圧乾燥す(分画III)。

上記峰田の述べた方法に準じてわたしも分画IIIまで抽出し、この抽出物質を約7日目の Ehrlich 腹水癌を用いて、胃癌組織、非癌部胃粘膜組織、meningioma および正常脳組織のこれらの第III分画と対照として0.9%生理的食塩水の5種類を同容宛、沈降反応試験管で混合、 γ -globulin を添加、反応を常温下で観察した。

なお、この抽出第III分画の等量宛を pH 7.8 veronal

om を選んで、これらの第Ⅲ分画を抽出し、Ehrlich 腹水癌の凝集反応を追試し、石川¹⁴⁾のいう glyco-lipo peptide なるものを確認した。

なお、これら第Ⅲ分画の線溶能を検じ、これらの物質の standard plate、および heated plate の溶解能は認められず、線溶物質と Kanalipin (glyco-lipo-peptide) とは異質のものと結論した。

第七章 trypsin, α -chymotrypsin, kallikrein, および plasmin の線溶能に対する ϵ -amino caproic acid の阻止作用

第一節 実験目的

正常の生体内では plasmin はごく少量しか存在せず、多くは plasminogen という不活性な状態で存在していることは周知のごとくである。

これらのものが生体の反応 (Astrup の模式に記載した) によつて容易に活性化され、活性化された plasmin は蛋白分解酵素としての活性を有し、生体の組織、細胞などの破壊と同時に生体にとり有害なペプチド性物質、あるいはヒスタミン様物質を生じ、その結果、毛細血管の拡張、血管透過性の高進、平滑筋の収縮疼痛などいわゆるアナフィラキシーショックの原因になるなど、この方面に関する報告も多々ある。

これらの状態と関連して生体に有害に働くと考えられる plasmin を特異的に阻害する物質の探求がなされつつある。

ここで最も注目されているものが ϵ -amino-caproic acid (以下 ϵ -ACA と略す) である。

そこでわたしはこの ϵ -ACA を使用して、trypsin, α -chymotrypsin, plasmin などの standard plate, heated plate の線溶能にいかなる阻害効果を示すかをみるためにこの実験の施行に臨んだ。

第二節 実験方法

trypsin, α -chymotrypsin, kallikrein, および plasmin を pH 7.8 veronal 緩衝液に溶解し、倍数稀釈法にしたがい、各々各種単位の溶液を作成し、これに対照として 20 W/V %, イプシロン S 注 (第一製薬), pH 7.4 を 1 容と上記各酵素の pH 7.8 veronal 緩衝液 1 容を加えて、各酵素同単位の standard plate, heated plate の線溶能を検じた。

第三節 実験結果

図 3 に示すように、同単位の各種酵素の溶解能は ϵ -ACA を添加したものより、全ての酵素ともに standard plate、および heated plate とともにより高度の溶解能を示し、溶解能は各酵素とも ϵ -ACA により抑制される結果をえた。

また、各酵素とも低単位のものほど、 ϵ -ACA の抑制を強度にうけており、その抑制度は酵素の種類により程度差はなく、特別の因果関係はない。

第四節 小 括

この実験の結果は ϵ -ACA は standard plate、および heated plate とともに基質 fibrin に対するこれらの酵素の溶解能に抑制的に働いている。

plasmin の阻害剤としては有機リン化合物⁷¹⁾、あるいはダイズ中にあるダイズトリプシンインヒビター⁷²⁾や血漿中に含まれるペプチド、あるいは蛋白性の抗プラスミンが知られている。

そのほか、従来よりリジン、アルギニンエステルが plasmin に対して競走阻害を示すといわれ⁷³⁾、また、実際に治療に使われる ϵ -ACA^{74)~76)}、4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸⁷⁸⁾などの阻害剤として種々報告がなされている⁵⁸⁾。

藤井⁵⁸⁾は一般に酵素は、その酵素が作用する基質に類似した化合物によつて阻害されることから、plasmin が塩基性アミノ酸に特異性を示すことより、リジンの誘導体を合成し、その構造と阻害効果との関連、plasmin への阻害効果を検討し^{78)~79)}、 ϵ -ACA は fibrin

図 3 Trypsin の線溶能は ϵ -ACA = Ipsilon の添加により抑制される



または fibrinogen を基質とした場合のみ阻害効果があり, casein あるいはエステルを基質とした場合は阻害作用はみられないと述べている。

また, ϵ -ACA が plasmin そのものに作用するならば基質いかにかわらず阻害効果があるはずであり, ϵ -ACA が fibrin や fibrinogen といった特殊蛋白となんらかの相互作用を生じ, そのために plasmin の活性が低下したものと論じている。

そこで, 本実験の結果は4種類の酵素ともに ϵ -ACA の抑制を受けていることにより, 藤井のこの説明にうなづけるものである。

しかしながら, ϵ -ACA の作用効果は線溶酵素 plasmin の働きを抑制するものでなく, その前駆物質である plasminogen が activator によつて活性化される機序を阻止し, 同じく蛋白分解酵素である trypsin には全然抑制効果がないと報告しているものもある⁷⁹⁾。

しかし, 本実験の結果はその溶解能は明らかに抑制しているが, ϵ -ACA の添加の量的問題, pH の問題もあり, 明確な結論を出すにはやや難点はある。

第八章 総括ならびに考按

癌の転移は臨床病理学にかなり特徴ある転移形成を示すことは従来より指摘されてきたところである。

いまここで, その概略をまとめるとつぎの表12のように分類される。

この表によると, 前述のごとく例外は含まれるが大体の系統性について認識できよう。

いま, ここで上記の腫瘍細胞転移性格の分類の結果から考えると本章冒説で記載したような蛋白分解能と転移性格と原発細胞種属との間に一定の緊密な関係が存在することが示唆される。

そこで, この関連性を各章実験成績とともにひもといてみた。

まずはじめに, 線維素溶解現象(以下線溶現象に略す)に関して最近の動向を観察してみる。

線溶現象は今からおよそ200年前, Morgagni が急屍体では血液が凝固しないで流動性を保つことを報告して以来, 種々の人々により実験的, 臨床的にその機構の解明がなされてきたが, 現在の線溶現象の機構は Astrup によつてほぼその確立をみたものでその機構は表13のようである。

この線溶現象とは fibrin を酵素的に小さな断片にまで分解して, もはや強固なフィブリン網を形成することが出来ない状態にすることと定義できる。

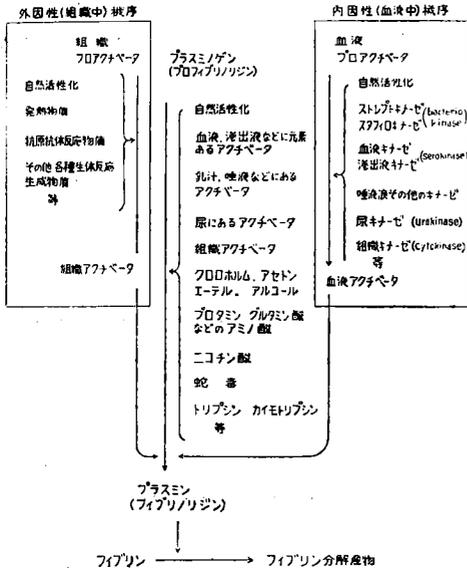
この fibrin の酵素的分解は種々の酵素によつて可能であり, たとえば凝固過程に生ずる thrombin, その他の種々の蛋白分解酵素, 血清中または組織中の trypsin などで惹起されるものであり, 従来考えられている線溶現象の一部はこれと充分関連性を保つことも考えられる。

しかしながら, やはり線溶現象において最も重要な働きをなしているものは plasminogen-plasmin

表12 悪性腫瘍の転移性格

形態学的に良性像を呈するの思いがけず転移の出現するもの	転移性甲状腺腫, 唾液腺混合腫瘍, 胆道乳嘴腫, 直腸嘴腫。
悪性腫瘍のように増殖がひどいのに転移を全くしないか, または転移性格の弱いもの	脳膠芽腫, 脳膜肉腫, 乳腺囊脱線維肉腫, 軟骨肉腫, 肋(腹)膜中皮腫, 唾液腺混合腫瘍, 膀胱乳頭腫瘍, 横紋筋肉腫, 悪性黒色腫, 線維肉芽腫, 脂肪肉(芽)腫, 基底細胞癌(ボーエン氏病), カルチノイド。
原発巣が小さいのに転移が著明でおどろくことのあるもの	胃癌, 転移性悪性黒色腫, 交感神経芽(母)細胞腫, 精上皮腫, デイスグルミノーム, 悪性絨毛上皮腫, 前立腺癌, 子宮内膜肉腫, 骨肉腫, 滑液膜肉腫, ユーイング腫瘍, 甲状腺癌, 副腎皮質腺癌。
一般に転移性格の強いもの	胃癌, 乳癌, 肺気管支癌, 副腎皮質腺癌, 交感神経芽(母)細胞腫, 転移性悪性黒色腫, 甲状腺癌, 腎癌, 精上皮腫, デイスグルミノーム, 膀胱癌, 前立腺癌, 悪性絨毛上皮腫, 骨肉腫, 滑液膜肉腫, 子宮内膜肉腫。
好んで骨転移を行なうもの	前立腺癌, 乳癌, 甲状腺癌, 膀胱癌, 直腸癌, 胃癌, 大腸癌, 卵巣癌。

表13 線溶系反応模式



(安部の論文より引用)

系であり、したがって線溶現象の生化学はとりもたず、plasminogen-plasmin 系およびその基質である fibrin 生化学であろうと論じられている⁸⁰⁾。

いま、ここで線溶現象の概略を説明すると線維素分解酵素 fibrinolysin, あるいは血液中で plasmin と呼ばれるものは流血中の euglobulin 分層中に存在する蛋白分解酵素であり、正常血漿中では血漿 albumin 分層中に存在する抗プラスミン (antiplasmin, antifibrinolysin) と一つの complex を作って存在しているが、この線維素分解酵素が増強し、血中に存在する種々の蛋白質、あるいは組織、細胞を破壊するといわれている。

しかし、正常体内においては一部の活性化された plasmin は antiplasmin により直ちに非活性化されて線溶現象は起らないと説明される。

この生体内における plasminogen の活性化は種々の kinase (fibrinokinase) の作用により行われるが、この kinase の作用は直接 plasminogen に作用するのではなく、この kinase は血液に含まれる plasminogen-proactivator を活性化して plasminogen-activator となし、この activator が plasminogen に作用して plasmin に転化させるといわれるが^{81), 82)}, proactivator の存否に関しては諸説があり、いまだ一貫した説明はなされていない^{83)~90)}。

しかし、この plasminogen の形として血液中に存在する zymogen の plasmin への変換はつぎのよう

な物質によつて行われることが知られている⁵⁸⁾。

1) Bacteriokinase (streptococcus や staphylococcus などの培養液からえられる streptokinase, staphylokinase)

2) trypsin や尿中に存在する Urokinase などの蛋白分解酵素

3) glycerin, chloroform の化学試薬

4) Serokinase, 唾液, 涙, その他の分泌物

5) 組織中に存在する活性化因子 (tissue activator)

以上のように plasminogen の活性化に重要な役割を演ずるものは沢山挙げられているが、生体内における plasminogen の活性化に最も関連性をもつ kinase は種々の組織中に含有される cystokinase と呼ばれるものであり、この Astrup の模式に示すがごとく組織そのものにこの反応系の物質が存在することを証明し、これが生体の示す微妙な反応に重要な役割を演じていることを示唆したのは Albert, Fischer⁹¹⁾ らである。

しかし、これらの物質による活性化がいかなる機構に基くものであるか、あるいは plasminogen のいかなる分子的变化によつて起つているかについてはどれ一つとして満足出来るような解明はなされておらず、混沌としているのが現状である。

以上が plasmin, とくに血液中の plasminogen の活性化の動向と信じられているものであろう。

ここで最も重要な問題は上述のように血液中の plasminogen の活性化は Astrup, Permin⁹²⁾により見いだされた tissue activator が重要な役割を演じていることは容易に理解できるが、現在のところ組織 activator に関してはその純度の高い標本を得られておらず、Bachmann⁹³⁾ らは従来のものより比較して割合比活性の高い標本を得、それにより組織 activator は酵素的に一次反応で plasminogen を活性化することをみている。

しかし、ここで特に問題となるのは組織に存在する cathepsin のような蛋白分解酵素との異同の問題、ひいては組織抽出液中に組織 plasmin なるもの存否である。

上述の Astrup の模式図より考えて、もしも組織 plasmin, cathepsin のようなものが存在するならば trypsinogen が trypsin により酵素学的に活性をうけるがごとく、これらの組織中の蛋白分解酵素の単独での反応のみならず、これらの物質が plasminogen の活性化に一役をになつていることも考えられるわけである。

しかし、組織抽出液中の線溶現象、とくに cathepsin, plasmin の存否には諸説があり明確な結論は出されていない。

いまここで、諸家の報告をみるに黒田⁹⁵⁾は前立腺腫瘍組織の線溶能について heated plate を溶解したものはないと述べ、すなわち組織 plasmin 単独の作用は認めておらず、これらの抽出液は plasminogen の存在においてはじめて線溶能を惹起することを述べ、これらの線溶能は plasminogen を plasmin に活性化する plasminogen activator によるものであると結論している。

岡本⁹⁴⁾は Mitomycin による組織 activator 系の動物実験において組織抽出液が heated plate を溶解しないことを述べ、動物組織の示す線溶能は plasmin そのものの作用ではなく組織 activator の作用であると論じている。

安部⁹⁶⁾は前立腺癌組織には plasminogen activator が多量に存在する。一方前立腺肥大症の組織抽出液中には plasminogen activator, proactivator の存在は認めるが plasmin, plasminogen の作用を示しているものはないと報告している。

Cliffon⁹⁷⁾は Astrup の Fibrin Plate 法、および Lassen の Heated Fibrin Plate 法を用いて 200 人以上の癌、肉腫患者の fibrinolytic activity を測定し、臓器および組織による特殊性について研究し、肺癌組織の実験においては抽出液単独では heated plate の溶解能はなく、plasminogen の存在においてはじめて線溶を示すことを述べている。

また、乳癌組織では大部分の例に plasmin 系はなく、plasminogen activator を有し、扁平上皮癌では明瞭な lytic, あるいは activator 系のいずれも証明出来ず、逆に胃腸系の腺癌では plasmin 系のみ、あるいは activator 系のみを有するなど複雑であった。

ことに、結腸癌、直腸癌では activator 系が強く示された例が極めて多いと述べ、同時に癌化されたものの抽出液では plasminogen activator が増量していると言及している。

一方、前立腺組織について Huggins, Vail & Davis^{98), 99)}が前立腺肥大症組織の生理的食塩水抽出液中に protease の存在を証明して以来、精液中における活性蛋白分解酵素の証明が von Kaulla and Shettles¹⁰⁰⁾によつてなされ、また、Tagnon¹⁰¹⁾らにより前立腺癌組織、前立腺肥大症組織の線溶能は plasminogen activator によるものでなく蛋白分

解酵素によるものであることが証明された。

その後、土屋¹⁰²⁾は前立腺癌組織は前立腺肥大症組織と比較して activator 系が多く plasmin をも含有すると報告している。

Lombardo¹⁰³⁾も前立腺肥大症および前立腺癌組織が heated plate を溶解したことを報告している。

以上のように組織抽出液単独での heated plate の溶解、すなわち組織 plasmin の存在に関しては諸説があり意見の一致をみない。

また、たとえ heated plate を溶解するにしてもこの蛋白分解酵素が plasmin 単独のものであるか、cathepsin のような plasmin 以外の蛋白分解酵素であるかにも問題があり決定をみない。

矢村¹⁰⁴⁾は fibrin を溶解する蛋白分解酵素が線維素溶解酵素、すなわち plasmin のみでなく、trypsin, α -chymotrypsin, brommelain などがいずれも線維素を溶解するという事実をあげている。そして血漿中には数種の蛋白分解酵素が混在することが想像され、弱アルカリの領域で作用する他の数種の蛋白分解酵素を無視することは出来ないと述べている。

これと同様に組織抽出液中にも組織 plasmin の存在とともに他の蛋白分解酵素も存在することは充分考慮されるべきである。

美原¹⁰⁵⁾は最近 Ehrlich 腹水癌の線溶現象の実験において activator 系の増量のほかに protease そのものの存在する証をえたと報告している。

わたしも実験の結果より諸種組織抽出液は多少とも heated plate 溶解を示している観点から考えて組織中には組織 plasmin, または catheptin 様物質が存在することを暗示しているものであると信じ、これらの物質は protease および消化酵素の線溶現象で知るように trypsin 類似の物質であると推定し、また plasmin そのものも蛋白基質の作用特性より trypsin 類似のものであると考えている。

本実験においては standard plate における反応は極めて鋭敏であり、種々の原因により溶解能は左右されている。

たとえば、中川⁶¹⁾のいうように様々な患者側の要因、すなわち胃の術前の洗滌程度、術後 sample 採取までの時間、実験時の外界の状況など種々の因子に左右され、したがってこれらの条件を厳密に一致させないかぎり多数例を集めて結論を出すことは極めて危険を伴うことである。

しかし、これらのことを考え併せながらも本実験の結果からつぎのようなことを推定しうる。

standard plate の線溶解能は癌部と非癌部の比較においては非癌部の溶解能が一般に高度であるにもかかわらず、かなりの多数例に癌部のそれに極めて強度の溶解能を示すものがあるという事実である。

中川⁵¹⁾も胃粘膜組織と胃潰瘍病変部の組織の線溶解能においてはおおむね潰瘍病変部に線溶解能の低下をみ、胃癌組織の線溶解能との比較ではかなり癌部において正常胃粘膜組織より強度の溶解を示す場合が多いことを報告している。

土屋⁵⁰⁾も同様に癌病変部では standard plate 溶解能が病変周辺部より強度であることを述べている。

この結果より plasminogen を活性化する proactivator, および activator が増量しているという結論に意見の一致をみる。

美原¹⁰³⁾も activator の増量を認めた結果を報告している。

また、中川⁵¹⁾は standard plate における同様の実験において胃粘膜組織、胃癌組織の線溶解能は細胞浸潤度と並行し、正の相関々係を有すると述べているがわたしの実験結果ではその結論は決め難い。

しかし、リンパ節、静脈などの浸潤程度と線溶解能とはやや並行するものかと思われるが例外もあり結論に及ばない。

ついで、streptokinase の添加による活性度は癌部が非癌部よりやや強度であることは plasminogen 活性化の生化学的理論より判断して plasminogen proactivator, plasminogen activator の増量を指摘している諸家の意見に一致する。

また、standard plate の実験においては実験結果で先述のように基質のものにも proactivator や plasminogen を含有するものであり、また抽出液中に線維素分解酵素 plasmin が含まれることも考えられることから plasmin 異質の蛋白分解酵素を云々することは出来ない。

heated plate における実験結果は癌部と非癌部の比較では癌部のそれに線溶解能が強度である。

この線溶解能は全分画および euglobulin 分画との間に差は認められず、また streptokinase の影響も受けていない。

この結果は組織 plasmin の存在を暗示するものようであるが、わたしは組織 plasmin とともに cathepsin 様物質があるものと解釈している。また実験結果のうち streptokinase で活性をうけているものもあることは、同時に組織 plasmin の増量していることも強いて否定はしえない。

美原¹⁰³⁾も activator の増量は無論のこと protease の増量もある証をえたと述べているようにわたしの見解と一致をみた。

また、heated plate の線溶解能は胃癌組織の種類を問わず出現していることに興味がある。

standard plate における脳実質の溶解能は実験結果のように一般に低値を示す場合が多いが脳正常組織と脳腫瘍組織を比較する場合、ほとんど両者の間に差を認めない。

しかし、meningioma のものでは非常に強度の線溶解能を示した例があり、また正常脳組織では streptokinase の添加により常に一定の活性をうけている。meningioma, ependymoma などはときとして非常に強度に活性をうけている例があり、これらのものは proactivator の増量があると考えるのが妥当である。

euglobulin 分画についてもほぼ同様のことが言える。

非上皮系組織の場合は実験結果のように、一般に溶解能は低値であるが子宮筋、骨格筋など筋肉組織に streptokinase に強度に活性を受けたものがあり proactivator の増量していることがうかがわれる。

上皮系組織では脳組織、非上皮系組織と比較して standard plate 溶解能は一般に強度の場合が多い。

とくに、消化管には溶解能が強くみられた。また、精嚢腺、前立腺、膵臓も線溶解能は強度である。

standard plate における腫瘍組織の溶解能も高度であり、streptokinase の添加による活性度も著しい。

しかしながら、これらの結果は癌化されたものの中には諸家も指摘しているように plasmin 系のもの、とくに proactivator, activator の増量していることを裏付けるものである。

つぎに、heated plate にたいしては脳実質組織では全く溶解能を認めない。もちろん streptokinase による活性も認められない。

この結果はこれらの組織に組織 plasmin, 他の cathepsin 様物質もほとんど存在しないものと考えられる。

非上皮系組織でも線溶解能はほとんど認められず、なかに streptokinase でやや活性を受けたものがあり、proactivator, activator の存在を暗示している。

上皮系組織ではほとんどの場合 heated plate を溶解し、ときに streptokinase の影響を受けているものもあるがその大部分は影響を受けていない。

以上の各組織の線溶解現象の結果は好転移性格を有

する癌発生母組織は比較的溶解能が大であり、冒頭にかかげた蛋白分解能と転移性格と原発細胞種属との三者の間に一定の関係が存在するものと結論し、かつ、これらの溶解能を惹起する物質は heated plate の溶解、streptokinase の添加によらず出現することなどより、組織 plasmin も含め、他の蛋白分解酵素系、たとえば trypsin や trypsin 様物質も同時に増量しているものと考えている。

第九章 結 語

悪性腫瘍の異所性能と発生母組織の蛋白分解能との間に一連の関係を有するのではないかという前提のもとに各種の正常および腫瘍組織の生理的食塩水の抽出液を抽出し、基質蛋白に線維素 fibrin を選んでその線溶現象を検討し、つぎの結論をえた。

1) standard plate を使用した場合、胃正常粘膜組織、胃癌組織も線溶能は高度である。

2) 胃癌組織のみならず一般に癌化されたものでは、ときとして非常に高度の溶解能を示す場合が多々あり、また streptokinase を添加することによって強度の活性を受ける。

3) 以上のことから考えて、癌化された組織では proactivator, または activator の増量があるものと結論される。

4) standard plate における脳組織、非上皮系組織および上皮系組織の反応では上皮系組織の線溶能が高度である。

5) heated plate を使用した場合、胃正常粘膜組織と胃癌組織の比較では癌の種類を問わず癌化されたものに線溶能は強度である。

6) すなわち、standard plate では癌化によつてときに高度の溶解能を示すことがあるが、heated plate では、つねに正常胃粘膜との間に有意の差を示すことから癌化されたものでは plasmin か、protease 様物質の増量の存在がうかがえるものである。

7) heated plate を使用した場合、脳組織、非上皮系組織より上皮系組織に線溶能が高度であるが、これは癌化されたもの、あるいは上皮系組織中には

plasmin, あるいは trypsin, または protease 様物質などの異質の蛋白分解酵素が増量しているものと結論した。

8) standard plate における消化剤、あるいは trypsin, α -chymotrypsin, および brommelain などの反応では全例に強度の基質溶解能が認められた。しかし、heated plate を使用した場合は trypsin, α -chymotrypsin, brommelain, などの消炎酵素剤に軽度の基質溶解を示す結果をえた。

9) この実験結果より組織抽出液の基質蛋白溶解は trypsin 様物質に類似の物質により惹起されるものと考えている。

10) 組織抽出液の線溶能とは別に、plasminogen 活性化の阻害物質とされている ϵ -ACA は、実験結果より plasminogen \rightarrow plasmin への移行を直接酵素学的に阻害するものでなく、基質 fibrin に働く基質特異性のものと考えられる。

11) 癌の転移の生化学的解答として論じられている石川のいう cancer cell spreading factor なる Glyco-lipo-peptide と組織抽出液の蛋白分解酵素とは実験結果より異質のもの判断する。

12) 組織抽出液の基質蛋白分解物質(酵素)は trypsin の線溶能と性質的に類似し、また組織抽出液の heated plate 溶解能が、streptokinase で強度の影響を受けないことなどより、plasmin をも含め、trypsin 類似の物質と考えている。

13) 以上の組織抽出液の線溶能の結果より、腫瘍組織の異所性能に関して、線溶能と転移性格と原発種属との間に一定の関係があるものと推論している。

稿を終るにあたり、御指導ならびに御校閲を下さいました恩師田中早苗教授、岡島邦雄助教授、羽場喬一助教授、内海耕健助教授、中川定明博士、小林淳一博士に対し深甚の謝意をささげます。

本論文の要旨は第23回日本癌学会、第4回、第5回岡山大学学内プラスミン研究会において発表。

文

- 1) 緒方知三郎, 三田村篤志郎; 病理学総論, 南山堂, 1943.
- 2) 緒方知三郎; 病理学入門, 南山堂, 1962.
- 3) 森 茂樹; 病理学総論, 金原出版, 1957.
- 4) 所 安夫; 脳腫瘍, 医学書院, 1959.
- 5) Coman, D. R.: Decreased mutual adhesiveness,

献

- a property of cells from squamous cell carcinomas. *Cancer Research* 4: 625—629, 1944.
- 6) Coman, D. R.: *Cancer Res.*, 21: 1436—1438, 1961.
- 7) Enterline, H. T. et al.: *Cancer*, 2: 1033—1038, 1950.

- 8) Hirono, I.: *Cancer Res.*, 1, 18: 1345—1349, 1958.
- 9) Coman, D. R.: The invasive character of cancer growth. *Am. J. M. Sc.* 211: 257—260, 1946.
- 10) Coman, D. R.: Mechanism of the invasiveness of cancer. *Science* 105: 347—348, 1947.
- 11) Coman, D. R.: Human neoplasms in tissue culture. *Cancer Research* 2: 618—625, 1942.
- 12) Ambrose, J. E.: *Nature*, 177: 576—577, 1956.
- 13) Young, J. S.: *J. Path. Bact.*, 77: 321—339, 1959.
- 14) 石川: *Copp-the carcinostatica*, 医学書房, 1-4, 1964.
- 15) Weiss, P.: 文献17のシンボ記録: 3, 1962.
- 16) Taylor, A. C.: 文献17のシンボ記録: 169, 1962.
- 17) Ambrose, E. J.: *Biological Interactions in Neoplasm and Neoplastic Growth*: 149, Little, Brown and Company, 1962.
- 18) Rapport, M. L., et al.: *Cancer* 12, 438, 1959. Rapport, M. L.: *J. Lipid, Res.* 2, 25, 1961.
- 19) Kozaki, T. et al.: *Science* 127, 1176, 1958.
- 20) Engell, H. C.: *Ann. Surg.* 149: 457, 1959.
- 21) 中村久也, 飯野真理子, 鈴木清夫, 朝比奈章悟: *医学のあゆみ*, 56, 481—482, 1966.
- 22) 中村久也, 鈴木清夫, 朝比奈章悟, 飯野真理子: *最新医学*, 20(4): 1012—1014, 1965.
- 23) Wood, S. Jr.: *Arch. Path.* 66: 550, 1958.
- 24) 佐藤春郎, 鈴木磨郎, 黒川雄二: *日本臨床*, 67, 1966.
- 25) 鈴木磨郎, 佐藤春郎: *医学のあゆみ*, 227: 56, 1966.
- 26) Sato, H.: *Cancer metastasis and ascites tumors*. NGL Monograph, 16: 241, 1964.
- 27) Wood, S., Holyoke, E. D., and Yardley, J. H.: Mechanisms of metastasis production by blood-borne cancer cells. *Proc. Canad. Cancer Conf.*, 4: 167, 1961.
- 28) Bjerkelund, C. J.: *Acta Med Scand.* 158 (suppl.): 330, 1957.
- 29) Clifton, E. E. & Agostino, D.: *Cancer*. 15: 276, 1962.
- 30) Lacour, F. et al.: *Bull. Ass. Franc. Cancer.* 44: 88, 1957.
- 31) Michaels, L.: *Lancet*. 11: 832, 1964.
- 32) O'Meara, R. A. et al.: *Lancet*. 11: 613, 1963.
- 33) R. A. Willis: *Pathology of tumors* 1960.
- 34) 滝沢: *日本癌学会記事*, 22回: 1, 1964.
- 35) P. K. Jensen, F. E. Lehman, and R. Weber: *Helv. Physiol et Pharmacol. Acta*, 14, 183, 1956.
- 36) R. Weber: *Experientia*, 13, 153, 1957.
- 37) B. Sylven and H. Malmgren: *Acta Radiol. Suppl.*, 154, 1957.
- 38) 木村: 胃潰瘍の成因に関する酵素化学的研究, 胃, 十二指腸潰瘍, 胃のカテプシン活性, 第11回中四消化器病学会, 1966.
- 39) 酵素療法への招待, 持田製薬内, 日本酵素同好会, 1965.
- 40) 安部 英: 線維素溶解測定法, プラスミン測定法文献集, 第1製薬, 1963.
- 41) 真木正博: 線維素溶解酵素系の測定法, プラスミン測定法文献集, 第1製薬, 1963.
- 42) 岡本歌子: ヒト血清の whole plasmin 値の測定法と測定値の動揺範囲, プラスミン測定法文献集, 1963.
- 43) 福武勝博: 線維素溶解酵素の新しい臨床測定法, プラスミン測定法文献集, 1963.
- 44) 安部 英: フィブリン平板を用いる線維素溶解測定法, 新薬と治療, 43: 12, 1959.
- 45) 安部 英他: 線維素溶解阻止物質とその臨床, *臨床血液*, 1: 433, 1960.
- 46) 安部 英: *日本医師会雑誌*, 46: 435, 1961.
- 47) Astrup, T. & Muellertz, S.: *Arch. Biochem.*, 40: 346—351, 1952.
- 48) Lassen, M.: *Acta Physiol. Scandlinav.* 27, 371—376, 1952.
- 49) 線維素溶解現象測定法: 関西地区プラスミン測定研究会発刊, 1962.
- 50) 土屋俊文ほか: *日本血液学会雑誌* 25, 624, 1962.
- 51) 中川定明: 第5回岡山大学プラスミン研究会, 1965.
- 52) 羽場喬一: *日本血液学会雑誌* 27, 397, 1964.
- 53) W. S. Tillet, R. L. Garner: *J. Exptl. Med.*, 58, 485, 1933.
- 54) L. R. Christensen: *J. Gen. Physiol.*, 28, 363, 1945.
- 55) L. R. Christensen, C. M. MacLeod: *J. Gen. Physiol.*, 28, 559, 1945.
- 56) S. Mullertz, M. Lassen: *Proc. Soc. Exptl. Biol.*

- Med., 82, 264, 1953.
- 57) 藤井節郎, 村松 睦; 最新医学, 21, 238, 1966.
- 58) 藤井節郎, 松村 睦; プラスミンの生化学, 蛋白質核酸酵素, 12, 226, 1968.
- 59) L. R. Christensen: J. Gen. Physiol., 30, 149, 1946.
- 60) F. B. Ablondi, J. J. Hagan: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 99, 769, 1958.
- 61) P. S. Norman: J. Exptl. Med., 106, 423, 1957.
- 62) L. F. Remmert, P. P. Cohen: J. Biol. Chem., 181, 431, 1949.
- 63) L. R. Christensen: Arch. Biochem. Biophys., 52, 128, 1954.
- 64) L. R. Christensen: in "Streptococcal Infections", Columbia Univ. Press New York 1954.
- 65) N. O. Kjeldgard, J. Ploug: Biochem. Biophys. Acta, 24, 283, 1957.
- 66) 藤井節郎: 医化学シンポジウム, 4, 146, 1964.
- 67) 藤井節郎: 第18回酵素化学シンポジウム予稿集, 119, 1966.
- 68) S. Sherry, N. Alkjaersig, A. P. Fletcher: Am J. Physiol, 209, 577, 1965.
- 69) W. F. White, A. M. Gross; J. Am. Chem. Soc. 79, 1141, 1957.
- 70) 峰田亮介: 十全医会誌, 69, 1, 1963.
- 71) L. M. Mounter, B. A. Shipley; J. Biol. Chem., 231, 855, 1958.
- 72) D. L. Kline, J. B. Fishman; J. Biol. Chem., 236, 2807, 1961.
- 73) W. Troll, S. Sherry; J. Biol. Chem., 208, 85, 1954.
- 74) British Patent Specification, Her Majesty's press (England) 770, 693.
- 75) Y. Yokoi: J. Physiol. Soc. Japan, 22, 1098, 1960.
- 76) Y. Yokoi: J. Physiol. Soc. Japan, 22, 1103, 1960.
- 77) H. Mihara: Kobe J. Med. Sci., 9, 169, 1963.
- 78) M. Muramatu, T. Onishi, S. Makino, S. Fujii, Y. Yamamura; J. Biochem 57, 450, 1965.
- 79) Y. Muramatu, T. Onishi, S. Makino, S. Fujii, Y. Yamamura; J. Biochem 57, 402, 1965.
- 80) 浅田敏雄他: 線維素溶解現象の生化学. 最新医学, 21, 234, 1966.
- 81) Müllertz, S, and Lassen, M., proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 82, 264, 1953.
- 82) 林威三雄: Acta Urologica 8, 1962.
- 83) Greig, B. W. and E. M. Cornelius; Biochim. Biophys. Acta, 57, 617, 1962.
- 84) W. Auerswald, W. Doleschel, A. von Lützw. H. Schubert; Mecl. Exp, 10, 402, 1964.
- 85) F. B. Ablondi, J. J. Hagan; Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 95, 195, 1957.
- 86) D. L. Kline; J. Biol Chemi., 204, 943, 1953.
- 87) J. J. Hagan, F. B. Ablondi, E. C. DeRenzo; J. Biol Chew., 235, 1005, 1960.
- 88) W. Troll, S. Sherry, J. Wachmann; J. Biol. Chem., 208, 85, 1954.
- 89) W. Troll, S. Sherrg; J. Biol., 213, 881, 1955.
- 90) A. TAKADA, Y. TAKADA, and U. OKAMOTO.; Keio J. Med., 13, 187, 1964.
- 91) 安部 英: 日医会誌, 8, 46, 1961.
- 92) T. Astrup, P. M. Permin; Nature, 159, 681, 1947.
- 93) F. Bachmann, A. P. Fletcher, N. Aljaersig, S. Scherry; Biochem, 3, 1578, 1968.
- 94) 岡本歌子他: マイトマイシンC投与による血液および組織プラスミン系の活性化防止について The Chemotherapy 11, 24, 1963.
- 95) 黒田恭一他: 前立腺腫瘍組織の線維素溶解酵素系について, 日本泌尿器科学雑誌, 53, 736, 1962.
- 96) 安部 英: 第255回日夫泌学会, 東京地方会, 1961.
- 97) Clifton, E. E. and C. E. Grossi. Fibrinolytic activity of human tumor as measured by the Fibrin-Plate methods; Cancer 8, 1146, 1955.
- 98) Huggins, C. and Neal, W; J. Exper. Med., 76, 527, 1942.
- 99) Huggins, C. & Vail, V. C; Am. J. physiol., 139, 129, 1943.
- 100) Von Kaulla, K. N. and Shettles L. B.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 83, 692, 1953.
- 101) Schulman, N. R. & Tagnon, H. J.: T. Bio chem., 186, 69, 1950.
- 102) 土屋文雄: 日泌尿会誌, 51, 721, 1960.
- 103) Lombardo, L. J. Jr.: J. A. M. A., 160, 1718, 1959.
- 104) 矢村卓三他: 第37年度春季血液凝固研究会記録,

日本臨床, 21, 166, 1963.

105) 美原 恒: 日本血液学会雑誌, 25, 624, 1962.

Basic Studies on Metastatic Activity of Malignant Tumors

**Part I. A Study on Fibrinolytic Activity in the
Malignant Tumors and the Host Tissues**

By

Takamitsu JINNO

Department of Surgery Okayama University Medical School Okayama Japan
(Director : Prof. Sanae Tanaka)

Abstract

In standard plate, supernatants of the crushed tissues of both stomach carcinomas and gastric mucous membrane without any carcinoma yielded a strong fibrinolysis.

In general carcinoma tissues were remarkably activated by adding streptokinase in the supernatants. It is presumed that those phenomena indicate a increasing tendency of proactivator and activator in both tissues. Fibrinolytic activity is in high degree in epithelial tissue comparing with none epithelial tissue and brain tissue.

In heated plate, fibrinolysis caused by any kind of crashed gastric carcinoma tissue is strong and not affected by streptokinase. Therefore, increased quantity of plasmin or protease-like substance might be assumed in the carcinoma tissue. Fibrinolysis of epithelial element is stronger in heated plate than that of none-epithelial tissue and brain tissue. Those result indicated that there is a certain relationship among the lytic activity of protein substrate, metastatic ability and primary tissue of the tumors.
