

乳腺腫瘍の酵素組織化学的研究

第 2 編

脱水素酵素について*

岡山大学医学部第 I 外科教室 (指導: 陣内伝之助教授, 田中早苗教授)

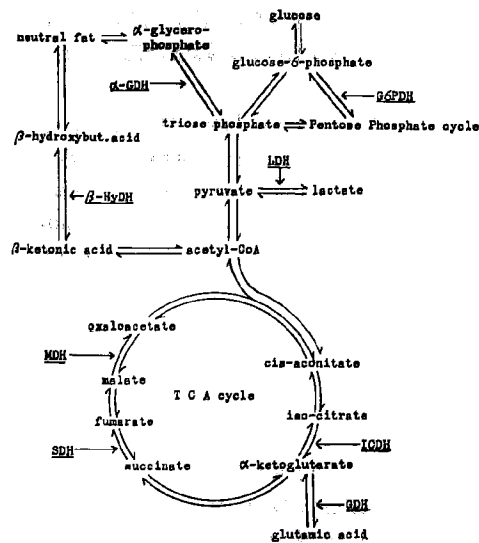
大学院学生 延 藤 栄 男

[昭和40年1月5日受稿]

第 I 章 緒 言

前編にひきつづき人の乳腺腫瘍について 8 種の脱水素酵素活性を検索した。第 I 図に示す如く嫌氣的解糖の Warburg-Dickens の回路に関しては Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) を, Embden-Meyerhof の回路に関しては Lactic dehydrogenase (LDH) を検索し, 好氣的解糖すなわち TCA cycle に関しては Isocitric dehydrogenase (ICDH), Succinic dehydrogenase (SDH) 及び Malic dehydrogenase (MDH) を, アミノ酸代謝に関しては α -Glycerophosphate dehydrogenase (α -GDH) 及び β -Hydroxybutyric dehydrogenase

第 1 図



(β -HyDH) を検索し, 病理組織学的所見を対比し, 乳腺腫瘍の病態生理について考察を行った。

第 II 章 実験方法

前編と同様に凍結連続切片を作成し, 室温にて 10 分間乾燥後, 以下に記載する各反応液中で 37°C , 30 分間反応させた後, 水洗し, ホルマリンで 1 時間固定後パラサム封入を行った。なおあわせて凍結連続切片及びパラフィン切片によるヘマトキシリン・エオジン染色も行い病理組織学的検索に供した。

以下各々の反応液について記載する。

1) Succinic dehydrogenase: M/5 sodium succinate 5cc, M/10 phosphate buffer pH7.6 5cc, Nitro BT 5mg/3cc 6cc, aq. dest. 10cc

2) Malic dehydrogenase: 1 M sodium malate 5cc, M/10 phosphate buffer pH7.4 10cc, Nitro BT 5mg/3cc 3cc, 100% DPN 2.5mg, M/10 KCN 2cc, M/2 HCl 5 trop

3) Isocitric dehydrogenase: M/10 sodium isocitrate 4cc, Veronal buffer pH 7.4 11cc, Nitro BT 5mg/3cc 3cc, 100% TPN 2.5mg, M/100 MgCl_2 , M/2 MnCl_2 2cc

4) Lactic dehydrogenase: M/2 sodium lactate 4cc, M/10 phosphate buffer pH7.4 10cc, Nitro BT 5mg/3cc 3cc, 100% DPN 2.5mg, M/10 KCN 2cc, M/2 HCl 2 trop

5) Glucose-6-phosphate dehydrogenase: M/200 glucose-6-phosphate 6cc, Veronal buffer pH7.4 17cc, Nitro BT 5mg/3cc 4.5cc, 100% TPN 7mg, M/100 MgCl_2 3cc, M/2 MnCl_2 3cc

* (本論文の要旨は, 第22回日本癌学会及び第64回日本外科学会に於て発表した。)

6) Glutamic dehydrogenase: 1M sodium glutamate 4cc, M/10 phosphate buffer pH7.6 11cc, Nitro BT 5mg/3cc 3cc, 100% DPN 2.5mg, M/10 KCN 2cc, M/2 HCN 5 trop.

7) α -Glycerophosphate dehydrogenase: 1M sodium α -glycerophosphate 4cc, M/10 phosphate buffer 11cc, Nitro BT 5mg/3cc 3cc, 100% DPN 2.5mg, M/10 KCN 2cc, M/2 HCl 5 trop

8) β -Hydroxybutyric dehydrogenase: 1M sodium β -hydroxybutyrate 4cc, M/10 phosphate buffer pH7.6 11cc, Nitro BT 5mg/3cc 3cc, 100% DPN 2.5mg, M/10 KCN 2cc, M/2 HCl 5 trop

各酵素とも活性陽性部位は difromazan の青色ないし紺色を呈する。

第三章 実験成績

1) *Succinic dehydrogenase* (SDH) について: 正常乳腺についてはその腺房上皮に中等度乃至軽度の活性を示し (Fig1), 筋上皮細胞, 基底膜ともほぼ同程度の活性を示した。細胞個々については, 強拡大で核に相当する部位に色素顆粒の減少がみられ, 細胞膜に近い部位に色素顆粒が分布し, 全体として石垣状の模様を示した (Fig2)。乳管上皮においては, 腺房よりもやや減弱した活性を示したが, 細胞個々の活性分布は同じ傾向を示した。間質はほとんど陰性であり, 一部線維細胞に軽度の活性を示す程度であつた。

乳腺症については lobular hyperplasia, duct epith. hyperplasia 及び blunt duct adenosis で中等度乃至高度の活性を示した (Fig3), blunt duct adenosis で末梢乳管上皮が重層性の増殖を示す部位では高度の活性を示したが, 著しく嚢胞状の拡張を示し, 上皮の扁平化した部位では活性は低下し, 中等度乃至軽度の活性を示した。従つて病理組織学的に複雑な像を示した標本では, その活性度は部位により種々な活性がみられた。sclerosing adenosisの開花期では高度の活性を, 硬化期では中等度乃至軽度の活性を示した。duct papillomatosis では中等度乃至高度の活性を示したが (Fig4), 特に増殖が著しく配列の異常, 細胞の異型性を示し前癌状態と考えられる症例では, 活性の増強を示す傾向にあつた。cyst で未だ小さいものでは中等度の活性を示したが, 大きな cyst で上皮細胞の扁平萎縮化した部位では活性は軽度乃至微弱であつた。apocrine epith. では軽度の活性を示した。乳腺症における間

質性要素は, 正常乳腺におけるのと同じか或は軽度の増強を示す程度であつた。

線維腺腫では上皮に中等度乃至高度の, 間質に陰性乃至微弱な活性を示した。

女性乳房では上皮に高度乃至中等度の, 間質に微弱な活性を示した。

乳癌においては papill. tub. carcinoma (Fig7), comedocarcinoma 及び lobular carcinoma で中等度乃至軽度の活性を, scirrhus carcinoma (Fig5, 6) では中等度乃至高度の活性を示した。medullary carcinoma では活性は著明に減弱し微弱な活性を示した。個々の細胞活性度に種々の変化がみられた。一般に癌胞果の中心部で, 細胞核の変形, 萎縮, 濃縮等の壊死病変を示す部位では, 活性は減弱の傾向を示し, 癌胞果の周辺の正常組織と接する部位では活性は比較的良好に保たれており, 軽度の活性を示した。癌細胞個々については, 細胞質内に沈着した色素顆粒は正常細胞にみる色素顆粒と異り, 不整, 粗大, 不均一な分布を示した。乳癌の間質性要素は一般に軽度で, 正常組織と比較しとくに有意の所見を示さなかつた。

2) *Malic dehydrogenase* (MDH) について: 正常乳腺では腺房及び乳管上皮とも高度 (Fig8) 乃至中等度の活性を示し, 上皮細胞, 筋上皮細胞とも同程度の活性を示した。やや活性の減弱した部位では, 細胞個々について核の部位に相当し活性は減弱し, 細胞膜に近く色素顆粒沈着の増強を認め, 組織全体としては石垣状を呈した。間質性要素については毛細血管内皮, 線維細胞或は線維芽細胞に軽度の活性を示した。

乳腺症については lobular hyperplasia (Fig9) に中等度乃至高度の, sclerosing adenosisの開花期及び duct epith. hyperplasia 及び blunt duct adenosis (Fig10) では高度の活性を示した。duct papillomatosis では高度の活性を示し, 石垣状の模様が著明であり, 異型性を示す部位ではさらに増強した活性を示した。cyst では中等度の活性を示し, 上皮細胞が扁平萎縮化した症例では, 活性は減弱の傾向を示した。apocrine epith. では活性は軽度であつた。

線維腺腫では上皮に中等度乃至高度の, 間質に軽度乃至中等度の活性を示した。

女性乳房では上皮に高度の, 間質に軽度乃至中等度の活性を示した。

乳癌では papill. tub. carcinoma (Fig11) 及び scirrhus carcinoma で中等度乃至高度の活性を示

したが、duct papillomatosis より悪性化したと考えられる例では、その部に相当してとくに高度の活性を示した。lobular carcinoma に高度の、comedo carcinoma に中等度の、medullary carcinoma では中等度乃至軽度の活性を示した。乳癌の間質性要素では一般に線維細胞、線維芽細胞及び膠原線維に軽度の活性を示したが、scirrhous carcinoma では一部中等度の活性を示した。

3) *Isocitric dehydrogenase* (ICDH) について：正常乳腺の腺房上皮は中等度 Fig12) 乃至軽度の活性を示し、乳管上皮は軽度の活性を示した。本酵素についても腺房上皮、末梢乳管上皮に石垣状の模様を認めた。間質は陰性乃至微弱な活性を示したが、一部に毛細血管内皮に軽度の活性を示した。

乳腺症については lobular hyperplasia, duct epith. hyperplasia 及び sclerosing adenosis では中等度より軽度な活性まで種々の活性を示し、blunt duct adenosis で中等度乃至軽度の、duct papillomatosis では中等度の活性を示し、前癌性を示した 1 例では高度の活性を示した。apocrine epith., cyst では軽度の活性を示したが、大きい cyst で上皮の萎縮した例では活性はさらに減弱し微弱な活性を示した。間質性要素では殆んど陰性であり、一部線維細胞或は線維芽細胞に微弱な活性を示し、正常乳腺の間質に比して有意の差はなかつた。

線維腺腫では上皮に中等度の活性を示し、間質では陰性であつた。

女性乳房では上皮に微弱或は中等度の活性を示し、間質では微弱乃至陰性であつた。

乳癌では一般に活性はまちまちで一定の傾向は認め難く、papill. tub. carcinoma, scirrhous carcinoma で高度より微弱の、comedocarcinoma Fig13) で中等度の、medullary carcinoma で軽度の活性を示した。間質性要素ではほとんど微弱な活性を示したが、papill. tub. carcinoma 及び scirrhous carcinoma で線維細胞、線維芽細胞に軽度の活性を認めた。

4) *Lactic dehydrogenase* (LDH) について：正常乳腺では腺房上皮に高度の活性を示し Fig.14), 原形質内に桿状、点状の色素顆粒として認められた。やや活性の低下する部位では SDH と同じく石垣状の模様を呈した。乳管上皮では腺房上皮に比してその活性はやや減弱し、中等度の活性を示した。間質性要素では線維芽細胞、線維細胞、膠原線維及び毛細血管内皮に軽度乃至中等度の活性を示した。小葉間結合織及び小葉内結合織に活性の差異はみられな

かつた。

乳腺症では lobular hyperplasia, duct epith. hyperplasia, blunt duct adenosis Fig.15), sclerosing adenosis の開花期 Fig.16) 等ではいずれも高度の活性を示した。duct papillomatosis では一般に活性は増強し、とくに異常増殖を示し細胞に異型性を認める部位で著明な高度の活性を示した。cyst では一般に減弱した活性を示し、小さい cyst でその上皮細胞が未だ円柱状乃至立方形を呈す例では高度の活性を示すこともあつたが、大きい cyst では上皮細胞の扁平萎縮化した例では中等度の活性を示した。apocrine epith. では軽度の活性を示した。乳腺症の間質性要素では線維細胞、線維芽細胞、膠原線維及び毛細血管内皮に軽度の活性を示し、正常乳腺間質とほとんど同様の活性分布を示した。

線維腺腫では上皮に高度の活性を示し、間質では線維に軽度乃至中等度の活性を示した。

女性乳房では上皮に高度の活性を示し、間質では線維に中等度の活性を示した。

乳癌では scirrhous carcinoma Fig.18), papill. tub. carcinoma Fig.17), lobular carcinoma 及び comedocarcinoma ではいずれも高度乃至中等度の活性を示し、medullary carcinoma では中等度の活性を示した。大きい癌巣の中心部で、退行性病変を示す部位では活性は低下し、癌巣辺縁部で、とくに硬性癌様の浸潤を示す部位では活性は比較的よく保たれていた。乳癌の間質性要素では、正常組織とほぼ同様に線維芽細胞、線維細胞、膠原線維及び毛細血管内皮に活性を認めた。

5) *Glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PDH) について：正常乳腺の腺房上皮 Fig. 19) 及び乳管上皮とも軽度乃至中等度の活性を示し、細胞膜に近く活性強く、石垣状の模様を呈した。間質は一般に微弱乃至陰性であつたが小葉間質の毛細血管内皮に中等度の活性を認めた。

乳腺症では上皮性要素について lobular hyperplasia に中等度乃至軽度の活性を認めた。sclerosing adenosis Fig. 20) ではその開花期で中等度乃至軽度の、硬化期で微弱乃至陰性の活性を示した。duct epith. hyperplasia では中等度の活性を認め、重層性の増殖を示す部位では石垣状模様がみられた。blunt duct adenosis Fig. 21), duct papillomatosis では中等度乃至軽度の活性を示し、石垣状模様が認められた。後者の異常増殖を示し前癌性と考えられる部位では活性はやや増強していた。cyst 及び

第 I 表 病 理 所 見 と

組織像		SDH										MDH														
		酵素活性				上皮性要素				間質性要素				酵素活性				上皮性要素				間質性要素				
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
正	norm. lobule			●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●
	norm. duct		●●●●	●●●●	●●●●	●●●●																				
乳腺症	lobul. hyperpl.		●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●																
	sclerosing adenos.	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●
	duct epith. hyperpl.		●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●															
	blunt duct. adenos.		●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●															
	duct. papillomat.		●	●●●●	○	○	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●															
	apocrine epith.	●●●●					●●●●	●●●●																		
	cyst	●●●●					●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●															
癌前	fibroadenoma		●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●																
	gynecomastia			●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●																
癌	papill. tub. carci.	●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●
	comedocarci.		●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●																
	scirr. carci.		●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●
	medullary carci.	●●					●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●															
	lobular carci.		●	●●●●			●●●●	●●●●	●●●●	●●●●	●●●●															

○前癌性病変を示した症例

第 II 表

組織像		GDH										α -GDH									
		酵素活性				上皮性要素				間質性要素				上皮性要素				間質性要素			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
正	norm. lobule	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	norm. duct	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
乳	lobul hyperpl.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	sclerosing adenos.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
腺	duct epith. hyperpl.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	blunt duct adenos.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
症	duct. papillomat.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	apocrine epith.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
乳	cyst	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	fibroadenoma	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
乳	gynecomastia	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	papill. tub. carci.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
癌	comedocarci.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	scirrh. carci.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
癌	medullary carci.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							
	lobular carci.	●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●				●●●●●●●●●●							

第四章 考案

1) *Succinic dehydrogenase* について：本酵素はコハク酸を酸化してフマル酸にする反応に関与する酵素で助酵素を必要としない。TCA cycle の代謝過程を知るのにその indicator として重要な意義を有する。SDH はミトコンドリアのクリスタにあり、その形態学的変化と関係を有し呼吸代謝の示標となる。また黄体ホルモン、エストロゲン及びプロゲステロン代謝と関係を有する。組織化学的染色には種々の tetrazolium 塩が利用され、これら tetrazolium 塩がコハク酸から脱出した水素で還元され、formazan の有色不溶性の色素となることを応用したものである。

本実験においては nitro-blue tetrazolium chloride (Nitro-BT) を利用したが、これは他の tetrazolium 塩に比し反応が極めて鋭敏で、しかも反応生成物たる diformazan は微細であり針状結晶を作り難く、更に脂質、脂溶性溶媒にも溶け難い。従つてアルコール脱水、キシロール透徹、バルサム封入も可能である。

コハク酸を基質とした場合における生体組織ないし細胞による tetrazolium 塩還元反応の終末電子伝達共軛 step に関して、小田等⁴¹⁾ は nitro-blue tetrazolium (Nitro BT) はほとんどすべて SDH の step に共軛し、Nitro BT が SDH 活性そのものの活性とみなし得るとしている。

乳腺に関する本酵素の研究は比較的多く、泉雄¹⁰⁾ は本酵素について正常乳腺で弱いし中等度の、乳腺症で増殖傾向に比例して活性の増強を、萎縮で減弱した活性を認めている。Foraker et al⁷⁾ は乳腺の正常組織、良性腫瘍について検索し本酵素活性を認めているが、その程度は種々であり一定の傾向を得ていない。間質性要素では炎症性細胞、血管、腺維に弱い活性を認めている。

著者の検索結果では正常乳腺について腺房上皮、乳管上皮に中等度乃至軽度の活性を認めた。乳腺症では増殖性変化を示す lobular hyperplasia, duct epith. hyperplasia, sclerosing adenosis の開花期及び blunt duct adenosis に増強した活性を認め、萎縮性病変を示す cyst, apocrine epith. 等では活性の低下を認めた。duct papillomatosis のうち異常増殖を示す例では、活性は増強の傾向を示した。谷口⁴²⁾ は前癌性と思われる乳頭様増殖を示す上皮細胞に強い活性を認め、ミトコンドリアの大顆粒状、桿状

変化及びその数の増加と平行関係のあることを強調している。

乳癌については Foraker⁷⁾ は22例の乳腺について検索し、上皮にかなりの活性を認めたが、組織病変との間に一定の傾向を認めていない。Melnick & Bullok²⁴⁾ は分化型腺癌に高度の活性を認めたが、scirrhous carcinoma では減弱し、medullary carcinoma では全く活性を認めなかつたと報告している。安田⁴⁵⁾、馬場⁴⁶⁾、Pearson⁴⁷⁾ 等はいづれも腫瘍の種類、発生母地によつて異なるとしている。Wachstein et al., 谷口⁴⁸⁾、泉雄¹⁰⁾ 等はいづれも組織型と酵素活性との間に一定の傾向を得ていない。小田⁴⁹⁾ 等は分化癌例えば腺癌に高い活性を、未分化癌例えば単純癌に著しく低い活性を認めている。著者の検索結果では、papill. tub. carcinoma, scirrhous carcinoma では中等度の活性を示した。medullary carcinoma では活性は低下し個々の細胞活性度も種々であり、癌巣の中心部で退行性変性を示す部位では、活性は減弱の傾向を示し、周辺部の健康組織と接する部位では活性の増強を認めた。これは癌巣中心部の細胞の代謝機能の低下があり、癌巣周辺部では反対に亢進している事を立証するものである。

2) *Malic dehydrogenase* について：本酵素はTCA cycle において DPN 或は一部 TPN を助酵素とし、リンゴ酸よりオキザロ酢酸の生成に関与する酵素であり、心筋、平滑筋、腎、唾液腺に強い活性を示す。乳腺については、Monis et al³²⁾ の簡単な報告があり、LDH より減弱した軽度の活性を認めており、Mori⁴⁹⁾ もマウス乳癌について同様の所見を得ている。

著者の検索結果では、正常乳腺では腺房、乳管上皮とも高度乃至中等度の活性を示し、間質では血管内皮細胞、線維細胞等に軽度乃至中等度の活性を認めた。

乳腺症については SDH と同様の活性分布を示した。増殖性病変で高度の活性を認め、異型増殖を示す部位では活性は増強していた。萎縮性病変を示す cyst, apocrine epith. では活性は低下していた。

癌では一般に乳腺症に比し減弱した活性を示し、papill. tub. carcinoma, lobular carcinoma 等の分化型の癌、及び scirrhous carcinoma では比較的活性が保たれていた。

3) *Isocitric dehydrogenase* について：本酵素はTCA cycle に関係し、水素受容体として TPN を

特異的に必要とし、イソクエン酸より α -ケトグルタル酸の生成に関与する酵素である。本酵素は各組織に広く分布しており、生化学的にはとくに心筋或は肝に高濃度に認められ、血清中の本酵素は急性肝細胞障害に際して著明に上昇する。Zimmerman et al⁵⁰⁾⁵¹⁾ は、消化管及び乳腺腫瘍について検索し、悪性腫瘍について本酵素活性は上昇をみることは少ないが、肝転移を来した際は中等度の増加を認めるとしている。Kerppola et al⁵²⁾ は本酵素には estradiol-sensitive なものと unsensitive なものの2種類があることを指摘している。本酵素の組織化学的研究は少く、乳腺については Mori等²⁸⁾ の簡単な報告をみるのみであり、乳癌及び腺腫、線維腺腫に中等度の活性を認めている。

著者の検索結果では正常乳腺では中等度ないし軽度の、乳管上皮ではそれより軽度に減弱した活性を示した。乳腺症では、正常乳腺に比しほぼ同程度の活性を認め、1例ではあるが duct papillomatosis の異常増殖を示し細胞異型の認められる前癌性と考えられる部位では、活性は増強し高度の活性を示した。乳癌では、その上皮について活性は種々であり、一定の傾向は認め難いが、間質では線維細胞、線維芽細胞、膠原線維及び毛細血管内皮等に活性を認めた。

4) *Lactic dehydrogenase* について：本酵素は Embden-Meyerhof の回路に関係し DPN を助酵素とし、主にピルビン酸の還元に関与する。とくに癌組織では、生化学的に嫌氣的解糖が盛んで乳酸の蓄積が大であり、その嫌氣的解糖の終末過程を知る重要な酵素の一つである。本酵素は組織化学的に広く生体に分布するが、とくに平滑筋、胃壁細胞、ラットの腎ヘンレ氏係蹄下行脚に強い活性を示している。

乳腺についての本酵素の研究は Monis et al⁵²⁾ の簡単な報告があるに過ぎない。彼等は人の乳癌3例について検索し、高い活性を認めている。

著者の検索結果では、一般に他のどの脱水素酵素よりも活性が強く、正常腺房上皮及び乳管上皮とも高度の活性を示し、間質で線維細胞、線維芽細胞及び膠原線維、毛細血管内皮等に軽度乃至中等度の活性を認めた。乳腺症では、増殖性病変で高度であり、とくに異型増殖を示す部位ではその傾向が著しく、萎縮性病変では活性は低下を示した。乳癌では一般に活性の低下は著明でなく高い活性を示し、高度乃至中等度の活性を示した。間質性要素についても、乳腺症と同様、中等度の活性を認めた。

5) *Glucose-6-phosphate dehydrogenase* について：本酵素は Warburg-Dickens の回路の最初の脱水素反応を触媒する酵素で、解糖及び核蛋白生成に重要な意義を有する。本酵素活性は五単糖リン酸回路活性の強弱を反映するもので、他の解糖系諸酵素と異つた分布を示すことが知られている。生化学的研究によると、人体各組織では白血球、赤血球、脂肪組織及びリンパ腺等に多く、動物では副腎皮質、リンパ性組織(脾、胸腺、リンパ腺)に多く、乳腺では授乳期に妊娠時の60倍の活性増大がおこるとされている。

本酵素の組織化学的研究は少く、乳腺に関しては Mori et al⁵³⁾ の報告があるのみである。Mori et al は16例について検索し、種々の活性を認め、また腫瘍性組織と良性組織との間に有意の差を認めていない。

著者の検索結果では、正常乳腺上皮に軽度乃至中等度の活性を認め、間質では小葉内結合織の毛細血管内皮に中等度の活性を認めたまは微弱乃至陰性の活性を示した。乳腺症では、lobular hyperplasia, sclerosing adenosis の開花期、duct epith. hyperplasia 及び duct papillomatosis 等ではほぼ中等度の活性を保ち、cyst, fibrosing 等では、活性は減弱する傾向にあつた。間質は軽度乃至陰性の活性を示した。乳癌では、他の DPN-linked dehydrogenase¹⁾ 及び SDH に比し活性の低下は著明でなく、むしろ分化型の癌組織及び scirrhous carcinoma では正常乳腺、乳腺症よりも強い活性を示す例があり、乳癌組織においては Warburg-Dickens の回路が重要な役割を演じていると考えられる。

6) *Glutamic dehydrogenase* について：本酵素は、ケト酸及びアンモニウムよりグルタミン酸の生成に関与し、TCA cycle 中のコハク酸を供給する反応にあずかり、またオルニチン酸サイクルに関与して尿素の生成を行なうなど、アミノ酸代謝に重要な意義を有する。生化学的研究によると、本酵素は肝に最も強い活性を示し、腎、心筋にもみいだされており、肝、脳、筋、子宮内膜ではミトコンドリアにあることが証明されているが、乳腺のミトコンドリアには本酵素の活性が認められないとされている⁵⁴⁾。乳腺についても、本酵素の系統的な組織化学的研究は未だない。

著者の検索結果では、正常乳腺については上皮性要素に中等度乃至軽度の活性を示し、間質性要素は軽度乃至微弱的な活性を示す程度であつた。乳腺症で

は一般に中等度の活性を示し、*sclerosing adenosis* 及び *blunt duct adenosis* の開花期では増強し高度の活性を示した。乳癌では *papill. tub. carcinoma* 及び *scirrhous carcinoma* では中等度の活性を示したが、乳腺症に比し活性は減弱していた。

7) α -*Glycerophosphate dehydrogenase* について：本酵素はL- α -グリセリンリン酸よりジオキシアセトリン酸を生成する反応に関与し、DPN を助酵素とする。中性脂肪及び磷脂質の代謝に重要な役割を演じ、*glycerophosphate shuttle*⁶⁵⁾ を形成し、かつ *Embden-Meyerhof* の回路に関与する。筋肉中にある本酵素は DPN を必要とするが、大脳のミトコンドリアには助酵素を必要としない不溶性の α -グリセリンリン酸脱水素酵素がある。

乳腺についての本酵素の報告例は未だ少ない。*Sugimura et al.*⁴⁹⁾ は C_3H マウス乳癌について検索し癌組織に弱い活性を認め、その分布は *SDH*, *MDH*, *GDH* に類似していたと報告している。*Mori et al.*⁶⁶⁾ は人の乳腺について、*adenosis* 及び *fibroadenosis* の23例中11例に中等度の活性を、間質では線維に弱い活性を認め、また乳癌についてはいずれも弱い活性を認めたとしている。

著者の検索結果では、正常乳腺において腺房上皮に中等度乃至軽度の活性を示し、乳管上皮ではやや低下し軽度の活性を示した。乳腺症については *GDH* とほぼ同じ分布傾向を示し、乳癌では *papill. tub. carcinoma*, *lobular carcinoma* 及び *scirrhous carcinoma* では中等度の活性を示し、*medullary carcinoma* では活性はやや減弱し軽度であつた。

8) β -*Hydroxybutyric dehydrogenase* について：本酵素は β -オキシ酪酸よりアセト酢酸の生成に関与する酵素で、脂肪酸の酸化に重要な意義を有し、また *TCA cycle* に関係する、本酵素についての組織化学的研究は少く、乳腺については *Monis et al.*³²⁾ 及び *Sugimura et al.*⁴⁹⁾ の報告がある程度である。*Monis et al.* は3例の乳癌について弱い活性を認め、*Sugimura et al.* は C_3H マウス乳癌について検索し、癌組織に弱い活性を認め、その分布は *SDH*, *MDH*, *GDH* に類似していたと報告している。

著者の検索結果では、正常腺房上皮に軽度乃至中等度の活性を認め、増殖病変を示す *lobular hyperplasia*, *duct epith. hyperplasia*. 及び *sclerosing adenosis* の開花期では活性はやや増強し中等度の活性を認め、萎縮性病変では軽度乃至微弱な活性を認めた。色素顆粒は細胞質に散在し、とくに細胞膜

近くにより多くの顆粒を認め、上皮は全体として石垣状の模様を呈した。間質は *sclerosing adenosis*, *blunt duct adenosis* 及び *duct papillomatosis* 等の、上皮に増強した活性を認める部位に相当して、線維に微弱な活性を認めた。線維腺腫では中等度の、女性乳房では軽度の活性を認め、間質では微弱な活性を認めた。乳癌では、ほぼ *Monis* 及び *Sugimura* と同様に、乳腺症に比し一般に減弱し不規則な活性を示す傾向にあつた。間質では乳腺症とほぼ同様であつた。

上記の各酵素活性の変化を簡単に示すと第II図の如くなる。

以上の成績を綜括するに、酵素活性は萎縮性病変では減弱し、増殖性病変では増強した活性を示し、各々その細胞の代謝機能の程度を反映するものと考えられる。前癌性病変を示す部位では、さらに増強した活性を示したが癌組織では活性はかなり著明に低下し、多くの脱水素酵素は正常乳腺のそれよりも低い活性を示した。また近年、ミトコンドリアのクリスタには呼吸酵素のほとんどが存在すると考えられているが、そのミトコンドリアに相当する部位に沈着する *formazan* の色素顆粒が、癌細胞では正常細胞に比し粗大、不整となる事実は興味あることである。妹尾⁶⁷⁾等は *DAB* 肝癌におけるミトコンドリアの機能と形態を検索し、同様の所見を認め、これらの事実は癌細胞のミトコンドリアが、かなり突発的に正常細胞のそれとは著しく低下或は変化した機能を果すようになったことを立証するものであり、またこれは *O. Warburg* のいう癌細胞が、主として嫌氣的解糖によつてエネルギーを得ている事の、形態学的なあらわれであるとみることが出来ると思つてゐる。

従来、癌細胞の生化学的特徴は呼吸が低下し、嫌氣的解糖が亢進していると考えられている。今回の著者の検索結果について正常乳腺、前癌及び癌の各酵素活性の変化をみると、*TCA cycle* に関する酵素、すなわち *SDH*, *MDH* 及び *ICDH* はいずれも癌組織でその活性は低下し、癌組織の呼吸が低下していることをうらづけているが、また一方、嫌氣的解糖の *Embden-Meyerhof* の回路に関与する *LDH* の活性も、癌組織に於ては他の酵素活性程、著明ではないが低下しており、従来の嫌氣的解糖は亢進しているという説と矛盾する結果を得た。*Zimmerman et al.*⁶⁸⁾ は生化学的に *Aldrase*, *LDH*, *ICDH*, *MDH* 等について検索し、同様の疑問を得ており、この点

に関しては今後の研究に期待するところである。嫌氣的解糖の Warburg-Dickens の回路に關与する G-6-PDH は、癌組織での活性の低下は他の酵素に比し著明でない。乳腺においては MacLean⁵⁸⁾ の指摘する如く、その嫌氣的解糖は主として Warburg-Dickens の回路を経て代謝され、本酵素活性の変化が直ちに癌代謝の変化を反映するといえないかも知れないが、乳癌組織の嫌氣的解糖にとつて、この Warburg-Dickens の回路が重要な意義を有するものと考えられる。癌細胞は、異常な細胞増殖に旺盛な蛋白代謝、アミノ酸代謝を行なっていると考えられ、GDH の検索は興味あることである。しかし未だ生化学的、組織化学的研究に乏しく、わずかに Monis が乳腺腫瘍 3 例について組織化学的に検索し、軽微な活性を認めたのみであつたと報告しているにすぎない。著者の検索結果においても、癌組織では正常乳腺、乳腺症の増殖性病変及び前癌性病変に比し、活性は低下しており活性の増強はみられなかつた。脂質代謝に關与する α -GDH 及び β -HyDH は正常乳腺、乳腺症とも活性は中等度乃至軽度であり、癌では低下を示し、脂肪及び脂肪酸代謝が亢進していると考えられる所見は得られなかつた。

第V章 結 論

1) 正常乳腺の上皮については、Lactic dehydrogenase に高度の、Malic dehydrogenase, Glucose-6-phosphate dehydrogenase に中等度の、Succinic dehydrogenase, Glutamic dehydrogenase, α -Glycero-phosphate dehydrogenase, β -Hydroxybutyric de-

hydrogenase 及び Isocitric dehydrogenase に中等度乃至軽度の活性を認め、間質については線維細胞、線維芽細胞、膠原線維及び毛細血管内皮等に、上皮の活性に比例して中等度より陰性までの活性を認めた。

2) 乳腺症では、増殖性病変を示す duct epith. hyperplasia, duct papillomatosis, sclerosing adenosis 及び blunt duct adenosis の開花期では活性は増強し、萎縮病変を示す cyst, fibrosing 及び硝子化などでは減弱した活性を示した。

3) 乳腺症の前癌性病変を示す部位では、活性は増強する傾向を示した。

4) 乳癌では、乳腺症に比し種々の活性分布を示し、全般に低下した活性を示した。papill. tub. carcinoma, scirrhus carcinoma. 及び comedo carcinoma では、比較的活性は保たれていたが、medullary carcinoma ではほとんど陰性を示した。乳癌では原形質内の formazan 色素顆粒は、正常乳腺に比し粗大、不整であつた。

5) 線維腺腫及び女性乳房ではほぼ類似の酵素活性を示し、上皮、間質とも正常乳腺におけるよりも軽度に増強した活性を示した。

稿を終るにのぞみ御指導、御校閲下さいました恩師陣内教授、田中教授及び緒方講師に対し、また技術上大の御援助をいただいた大阪大学歯学部川勝教授及び森助教授に対し、深甚の謝意をささげます。尚終始御懇篤なる御指導、御助力をいただいた当教室河島博士及び教室員諸兄に心から感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Stewart, F. W. : Tumor of the breast, Atlas Tumor Path. A. F. I. P. 1950.
- 2) 久留 勝 : 乳腺腫瘍図譜, 202. 1962. 中山書店
- 3) Kabat, K. & Fruth, J. : Amer. J. Path., 17, 303, 1941.
- 4) Manheimer, L. H. & Seligman, A. M. : J. Nat. Cancer Inst. 9, 181, 1948.
- 5) Drennan, J. M. : Brit. J. Surg., 39, 458, 1952.
- 6) Huseby, R. A. & Thomas, L. B. : Cancer, 7, 47, 1954.
- 7) Foraker, A. G. : Surg. Gyne. Obst., 102, 1, 1956.
- 8) 南 泰之 : 日外会誌, 57, 809, 1956.
- 9) 井 磧 進 : 日外会誌, 58, 294, 1956.
- 10) 泉 雄勝 : 御茶の水医誌, 6, 562, 1958.
- 11) 伊藤宏一 : 東北医誌, 62, 127, 1960.
- 12) 森 昌彦 : 阪大歯誌, 4, 145, 1952.
- 13) Dempsey, E. W., Bunting, H. & Wislock, G. B. : Amer. J. Anat., 81, 309, 1947.
- 14) Monis, B. & Rutenberg, A. M. : Cancer, 13, 538, 1958.
- 15) Grogg, E. & Pearse, A. G. E. : J. Path. Bact., 64, 627, 1952.

- 16) Burton, J. F. : J. Histochem. Cytochem., 2, 88, 1954.
- 17) 森 昌彦 : 医学のあゆみ, 36, 485, 1961.
- 18) Wolf, A., Kabat, E. A. & Newman, W. : Amer. J. Path., 19, 423, 1943.
- 19) Reiner, L., Rutenberg, A. M. & Seligman, A. M. : Cancer, 10, 563, 1957.
- 20) Fanger, H. & Barker, B. : A. M. A. Arch. Path., 69, 67, 1960.
- 21) 井 磯 進 : 日外会誌, 58, 188, 1956.
- 22) Pearson, B. & Defendi, V. : J. Histochem. Cytochem., 5, 72, 1957.
- 23) Wachstein, M. : Histochemistry of Enzymes in Tumors.
- 24) Melnick, P. J. & Bullock, K. : Amer. J. Path. 35, 706, 1959.
- 25) Pearson, B. & Defendi, V. : Tex. Rep. Biol. Med., 13, 667, 1955.
- 26) Murata, J., Hayashi, Y., Miyaji, T. & Mori, M. : Cancer Reserch, 23, 1665, 1963.
- 27) Burstone, M. S. : Enzyme Histochemistry, AC AD EM, Press, 1962.
- 28) Mori, M., Matumura, T. & Kawashima, H. : Gann, 54, 433, 1963.
- 29) Burstone, M. S. : J. Nat. Cancer Inst., 16, 1149, 1256.
- 30) Monis, B., Nachlas, M. M. & Seligman, A. M. : J. Histochem. Cytochem., 6, 395, 1958.
- 31) Nachlas, M. M., Crawford, D. T., & Seligman, A. M. : J. Histochem. Cytochem., 173, 553, 1644.
- 32) Monis, B., Nachlas, M. M. & Seligman, A. M. : Cancer, 12, 601, 1958.
- 33) Fishman, W. H. & Baker, J. : J. Histochem., 4, 570, 1956.
- 34) Seligman, A. M., Tusou, K. C., Ruteberg, S. H. & Cohn, R. B. : J. Histochem. & Cytochem., 2, 209, 1954.
- 35) 河 瀬 収 : 癌, 46, 309, 1955.
- 36) Cogen, S. L. K Bittner, J. J. : Cancer Res., 11, 723, 1951.
- 37) Monis, B., Banks, B. M. & Rutenberg, A. M. : Cancer, 13, 386, 1960.
- 38) Fishman, W. H. & Baker, J. R. : J. Histochem., Cytochem., 4, 570, 1956.
- 39) Kawase, O., Hayashi, M., Sinoda, K. & Ogata, K. : Gann, 46, 309, 1955.
- 40) C. deDuve, B. C. Pressman, R. Gianetto, R. Wattiaux, & F. Appelmans. : Biochem. J., 60, 604, 1955.
- 41) Oda T. et al. : ActaMed. Okayama, 12, 193, 205, 1958; 13, 31, 1959.
- 42) 森 昌彦 : 日口腔外, 9, 248.
- 43) 谷 口 積 : 日本臨床, 14, 45, 1957.
- 44) 赤堀四郎 : 酵素研究法, I. II. III. IV. 朝倉書店, 1961.
- 45) 安田 竜 : 癌, 43, 11, 1952.
- 46) 馬場 恒 : 癌, 46, 85, 1955.
- 47) Pearson, B. & Defendi, V. : Cance z Res., 10, 557, 1950.
- 48) 小田琢三, 赤木制二, 岡崎博明, 林 弘, 真田博史, 難波幸一 : 岡山医誌, 70, 101, 1958.
- 49) Sugimura, M., Matumura, T., Hayashi, Y., Muraoka, Y. & Mori, M. : Gann, 55, 125, 1964.
- 50) Rose, A. : West, M., Zimmerman, H. J. : Cancer, 14, 726, 1961.
- 51) Shwartz, M. A., West, M., Walsh, W. S. & Zimmerman, H. J. : Cancer, 15, 346, 1962.
- 52) Kerppola, W., Nikkila, E. A. & Petkanen. : Acta Med. Scand., 164, 357, 1919.
- 53) Mori, M., Sugimura, M., Matumura, T. & Kawashima M. : Gann, 54, 433, 1963.
- 54) Tones, E. A. & Gutfeund, H. : Biochem. J., 79, 608, 1961.
- 55) Boxer, G. E. & Devilin, T. M. : Science, 134, 1495, 1961.
- 56) Mori, M., Miyaji, T., Murata, I. & Murakami, M. : Cancer Res., 23, 1685, 1963.
- 57) 妹尾左知丸, 小田琢三, 小林淳一, 赤木制二, 粟井通泰, 戸倉又晴, 難波幸一, 岡崎博明, 川崎正美, 内海耕髓 : 岡山医誌, 70, 116, 1958.
- 58) McLean, P. : Biochem., Biophys. Acta, 30, 303, 1959.
- 59) Pearce, A. G. E. : Histochemistry. Theoretical and Aplied. Iand A. Chuchhill, London, 1960.
- 60) 赤堀四郎 : 臨床酵素学, 朝倉書店, 1964.

Histochemical Studies of Human Breast Tumors Part II. On Dehydrogenases.

by

Hideo Nobuto

The First Department of Surgery, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Dennesuke JINNAI and Prof. Sanae TANAKA)

Histochemical observation of human breast tumors were carried out on lactic dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, isocitric dehydrogenase, succinic dehydrogenase, malic dehydrogenase, glutamic dehydrogenase, α -glycerophosphate dehydrogenase and β -hydroxybutyric dehydrogenase. The surgically removed breast tumors were examined; mastopathia:, fibroadenoma:, gynecomastia:, and cancer:. The tumors were cut at 20μ in -20°C cryostat, then the sections were stained by the methods described by Pearce⁶⁰⁾ with Nitro-BT as the electron acceptor. The following results were obtained. Lactic dehydrogenase activity was the strongest of all dehydrogenases studied in this report. It increased in proliferation and slightly decreased in cancer. The stromal reaction was moderate. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity did not decreased in cancer tissues so much as that of other dehydrogenases. These results showed that anaerobic glycolysis and hexose monophosphate shunt played an important role in breast cancer metabolism. For investigation of tricarboxylic acid cycle, succinic dehydrogenase, isocitric dehydrogenase and malic dehydrogenase were studied. These three enzymes showed similar distribution to each other. Their activity were increased in proliferation, but decreased in cancer. Their activities were especially decreased in poorly differentiated cancer cells except for scirrhou carcinoma. Glutamic dehydrogenase activity revealed a similar pattern to that of TCA cycle enzymes. As enzymes of fatty acid metabolism, α -glycerophosphate dehydrogenase and β -hydroxybutyric dehydrogenase were examined. The activity was relatively weak in benign tumors and very weak in cancer.

延 藤 附 図 説 明

- Fig. 1) SDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 2) SDH : 乳管上皮の重層性増殖, 原形質膜に活性強く, 全体として石垣状の模様を示す. 10×10
- Fig. 3) SDH : blunt duct adenosis, 中等度乃至高度の活性を示す. 10×10
- Fig. 4) SDH : duct papillomatosis, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 5) SDH : microfibroadenoma に併発したと考えられる scirrhous carcinoma, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 6) SDH : adenocarcinoma scirrhosum, 中等度乃至高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 7) SDH : papill. tub. carcinoma, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 8) MDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 9) MDH : lobular hyperplasia, 上皮に高度の, 間質に軽度の活性を示す. 10×4
- Fig. 10) MDH : blunt duct adenosis 及び cyst, 上皮の増殖を示す部位では高度の活性を示すが, 上皮が扁平萎縮化した部位では低下した活性を示す. 10×4
- Fig. 11) MDH : papill. tub. carcinoma, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 12) ICDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 13) ICDH : comedocarcinoma, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 14) LDH : 正常乳腺腺葉, 上皮に高度の活性を示し, 間質に軽度の活性を示す. 10×4
- Fig. 15) LDH : blunt duct adenosis, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 16) LDH : sclerosing adenosis (florid type), 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 17) LDH : papill. tub. carcinoma, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 18) LDH : scirrhous carcinoma, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 19) G-6-PDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 20) G-6-PDH : sclerosing adenosis (florid type), 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 21) G-6-PDH : blunt duct adenosis, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 22) G-6-PDH : comedocarcinoma, 高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 23) G-6-PDH : scirrhous carcinoma, 著しく高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 24) GDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 25) GDH : blunt duct adenosis 及び cyst, 重層性増殖を示す上皮では高度の活性が認められる. 10×4
- Fig. 26) GDH : papill. tub. carcinoma, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 27) α -GDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 28) α -GDH : gynecomastia, 上皮に中等度の, 間質に軽度の活性を示す. 10×4
- Fig. 29) α -GDH : inf. lobular carcinoma, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 30) β -HyDH : 正常乳腺腺葉, 中等度の活性を示す. 10×4
- Fig. 31) β -HyDH : blunt duct adenosis, 中等度乃至高度の活性を示す. 10×4
- Fig. 32) β -HyDH : papill. tub. carcinoma, 中等度乃至軽度の活性を示す. 10×4