

鶏白血病腫瘍の酵素的性状

第1篇 癌化細胞のグルコース分解について

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上栄教授)

河野昌雄

〔昭和39年4月15日受稿〕

I 緒言

悪性腫瘍細胞と正常細胞とを生化学的に識別しようとするところみは古くから多くの研究者により、種々の角度から行われており、枚挙にいとまがないが、そのうち糖代謝の面よりこれに組織立つた検討を加え、ほぼ結論的なものを提出したのは Warburg 一派であり、悪性腫瘍細胞の正常細胞と異なる特徴の一つは O_2 の存否に拘らず高い解糖作用を示すことであるとしたことは周知の通りである¹⁾⁻⁴⁾。

而してこの高解糖能という特性は自然発生癌や移植癌に於てのみならず、組織培養の癌細胞に於ても見られるとされ⁵⁾⁻⁷⁾、又動物の種類、発生部位等にも関係なく悪性な細胞であれば多かれ少なかれ具えた性状であると見做されている。

一方悪性腫瘍細胞の呼吸については Warburg 一派はこれを余り重要視せず、むしろ呼吸は悪性腫瘍では損傷されており⁵⁾⁻⁸⁾、これに代つて解糖がエネルギーの供給の主体をなしていると思っていたが、他の多くの研究者により悪性腫瘍にも TCA cycle⁹⁾⁻¹⁰⁾、pentose cycle¹¹⁾なども存在し、呼吸も亦その生存にとつて不可欠のものであることが明らかとなっている¹²⁾。

上述の如く悪性腫瘍細胞の生化学的検討、特に糖代謝に関しては古くより極めて多くの報告があるが、筆者が悪性細胞の研究材料として用いた鶏白血病については病理学的研究¹³⁾や発生臨床¹⁴⁾に関する研究等はかなり多いのに反し、生化学的検討は殆んど見られない。そこで本篇に於ては内臓型白血病罹患鶏の肝に発生した腫瘍細胞を、その母地である肝の正常細胞と比較しながら細胞の level に於てブドウ糖代謝を検討した。

II 実験材料及び実験方法

供試組織:

癌化組織; 剖検並びに病理組織学的に明らかに内臓型白血病と診断された白色レグホン系病鶏の肝臓に発生した結節腫瘍組織 6 例を実験に供し、それぞれ No. 1~No. 6 と呼ぶこととした。

これら病鶏の性別及び日令は次の通りである。

No. 1; ♀, 185日. No. 2; ♀, 198日. No. 3; ♀, 205日. No. 4; ♀, 216日. No. 5; ♀, 217日. No. 6; ♀, 232日.

No. 1 の癌化組織の肉眼的所見は写真 1 の通りであり、その腫瘍組織の病理組織標本は写真 2 の通りである。他の材料 No. 2~No. 6 に於ても写真掲載は省略したが全く同様の所見であつた。

腫瘍近接肝; 腫瘍組織(結節)に近接した周辺の肝組織のことを便宜上腫瘍近接肝とここでは呼ぶこととする。

上と同じ個体の腫瘍組織 (No. 1~No. 3) に近接した周辺の肝組織を写真 1 の黒線の円の如く約 2cm 巾に切り取つて実験に供し、それぞれ No. 1'~No. 3' とした。この 3 例のみを用いるに止めた。

材料 No. 1' の病理組織標本は写真 3 の通りであり、他の材料 No. 2', 3' に於ても全く同様の所見であつた。

正常肝; 上記癌化組織、及びその周辺の肝組織に対し、厳密な意味では対照とは言えないが、比較のため腫瘍の発生母地である肝 3 例を実験に供した。

それぞれを No. C1~No. C3 と呼ぶこととし、日令は下の通りであり、何れも健康鶏である。

No. C1; ♀, 203日. No. C2; ♀, 217日. No. C3; ♀, 223日.

細胞浮游液の調製: 供試組織をハサミで細かく切断し、緩衝液を加えて攪拌しながら更によく切断

写真 1



写真 2

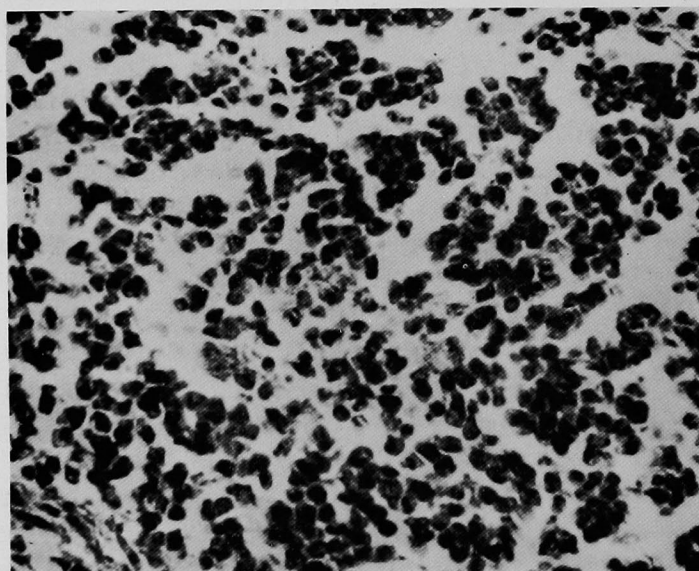
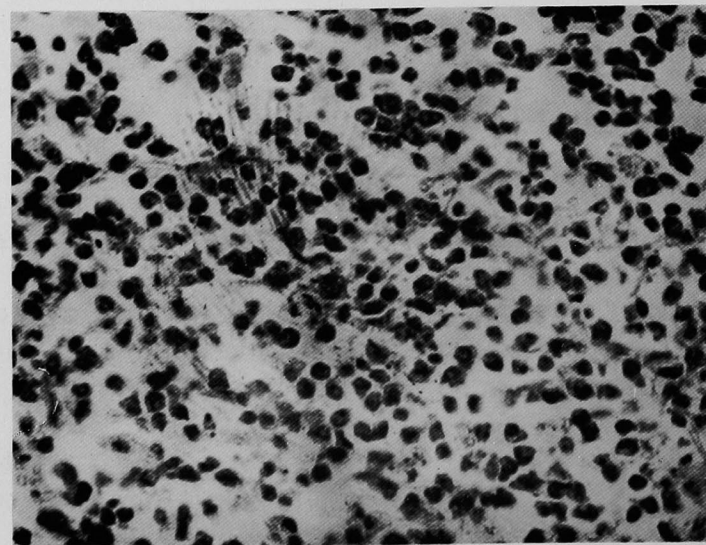


写真 3



した後、荒目のガーゼで濾して粗大な組織残片その他を除いてから 1,000 r. p. m., 5 分間遠沈して細胞を集め、これを緩衝液に浮遊せしめた。

浮遊液濃度は細胞湿重量 0.2g/cc となるようにし、実験に際しこの浮遊液を容器に分取するに当つては厳密な意味では均一になり難いが、よく攪拌し出来る限り均一となるよう注意した。

緩衝液としては本実験ではすべて 0.85% NaCl 添加 M/50 磷酸緩衝液 (pH7.2) を用いた。

O₂消費量測定：ワールブルグ検圧計を用い常法¹⁵⁾に従つた。

基質はすべて市販品を蒸留水に溶解し、HCl 又は NaOH を以て pH を修正して使用した。

ブドウ糖の定量：3,5-ジニトロサルチル酸を用いる比色法¹⁶⁾によつた。

乳酸の定量：p-ヒドロキシフェニルを用いる比色法¹⁷⁾によつた。

III 実験成績

1. 各供試細胞の O₂消費量

実験に供した正常肝 No. C1~No. C3, 腫瘍近接肝 No. 1'~No. 3', 及び癌化組織 No. 1~No. 5 のそれぞれを実験方法の項に記した如く処理して単離細胞浮遊液を作りワールブルグ検圧計を用いて1時間の O₂消費量を測定して比較した。基質としてはブドウ糖、焦性ブドウ酸、乳酸、コハク酸を選び何れも 10⁻²M となるようにし、又同時に対照として基質無添加の O₂消費量 (endogenous respiration) をも測定した。

結果は正常肝細胞については第1表の通りであり、No. C1 では endogenous respiration は 227 μl であるのに対し基質ブドウ糖では 275 μl でかなりの O₂消費促進が見られ、コハク酸、乳酸、焦性ブドウ酸でもそれぞれ O₂消費促進を示した。他の例 No. C2, No. C3 でも同様であり、正常肝細胞では一般に活潑な O₂消費を認めた。

腫瘍近接肝細胞では第2表の通りであり、No. 1' では endogenous respiration は 138 μl であつて正常肝細胞のそれに比し小であり、ブドウ糖添加では 157 μl で O₂消費はやや促進はされるが正常肝細胞に於けるより小であり、その他の基質でも何れも促進は認められるがやはり小であつた。

他の例 No. 2', No. 3' に於てもほぼ同様であつてこの群の細胞は一般に O₂消費が不活潑であると言える。

第1表 供試組織細胞の O₂消費 (1)

正常肝細胞

	—	ブドウ糖	焦性ブ	乳酸	コハク酸
No. C1	227	275	246	264	285
No. C2	192	247	204	240	257
No. C3	250	298	280	307	330

第2表 供試組織細胞の O₂消費 (2)

腫瘍近接肝細胞

	—	ブドウ糖	焦性ブ	乳酸	コハク酸
No. 1'	138	167	159	180	204
No. 2'	170	205	206	218	246
No. 3'	128	142	155	160	187

第3表 供試組織細胞の O₂消費 (3)

癌化細胞

	—	ブドウ糖	焦性ブ	乳酸	コハク酸
No. 1	235	186	250	297	302
No. 2	186	160	205	224	277
No. 3	214	184	254	265	280
No. 4	257	222	282	270	349
No. 5	230	205	266	285	305

又癌化細胞では第3表の如くであつて、No. 1~No. 5 につき endogenous respiration はそれぞれ 235, 186, 214, 257, 230 μl でかなり大であり、ブドウ糖添加ではそれぞれ 186, 160, 184, 222, 205 μl で何れも endogenous respiration よりも小であつた。他の基質では何れも endogenous respiration に比し O₂消費は促進され、特にコハク酸では著明な促進が見られ、正常肝細胞と同程度乃至はむしろ大きい O₂消費を示した。

次に O₂消費量とブドウ糖濃度の関係を見るためブドウ糖濃度を 10⁻³M, 10⁻²M, 10⁻¹M の3段階として1時間の O₂消費量を測定して比較した。

結果は第4表の通りであり、正常肝細胞 (同表 A) では例えば No. C1 を例にとれば endogenous respiration 192 μl に対しブドウ糖添加では 10⁻³M, 10⁻²M, 10⁻¹M でそれぞれ 236, 282, 290 μl となつてブドウ糖濃度と共に漸次 O₂消費が増大する傾向が見られた。

腫瘍近接肝細胞 (同表 B) では前にも記した通り一般に O₂消費能は小であるが、ブドウ糖添加では O₂消費は促進され、又それはブドウ糖濃度と共に

第4表 供試細胞の O₂ 消費とブドー糖濃度の関係

A 正常肝細胞

組織	基質			
	—	ブドー糖 10 ⁻³ M	ブドー糖 10 ⁻² M	ブドー糖 10 ⁻¹ M
No. C1	192	236	282	290
No. C2	216	240	280	285
No. C3	174	186	217	220

B 腫瘍近接肝細胞

組織	基質			
	—	ブドー糖 10 ⁻³ M	ブドー糖 10 ⁻² M	ブドー糖 10 ⁻¹ M
No. 1'	78	82	82	89
No. 2'	89	94	97	105
No. 3'	92	98	106	108

C 癌化細胞

組織	基質			
	—	ブドー糖 10 ⁻³ M	ブドー糖 10 ⁻² M	ブドー糖 10 ⁻¹ M
No. 1	216	203	186	180
No. 2	182	175	167	162
No. 3	196	186	175	168
No. 4	160	154	147	146
No. 5	217	206	187	184

大となる傾向がうかがわれた。

これに対し癌化細胞（同表C）では No. 1 を例にとると endogenous respiration 216 μ l に対し、ブドー糖添加では 10⁻³M, 10⁻²M, 10⁻¹M に於てそれぞれ 203, 186, 180 μ l となつて endogenous respiration に比し O₂ 消費は抑制されており、この抑制はブドー糖濃度と共に大となる傾向にあり、このことは他の例 No. 2~No. 5 に於ても常に認められた。

癌化細胞に於てはこのようにブドー糖添加により O₂ 消費が抑制されるが、この現象に対し細胞を緩衝液で洗滌することが如何に影響するか、又細胞を単離した場合と組織切片とでは如何に異なるかについて検討した。即ち供試癌化組織 No. 6 を用い、①ハサミで細く切つただけのもの（組織切片とよぶこととする）、②更に細く切断し緩衝液を加えて攪拌してからガーゼで濾して組織片を除去した後、遠沈により単離細胞を集めて緩衝液に浮遊したもの、③この単離細胞を緩衝液を以て1回遠沈洗滌したものの3通りの材料につき endogenous respiration, 及びブドー糖（10⁻²M）添加に於ける O₂ 消費量を測定し

て比較した。

結果は第5表の通りであり、組織切片に於ては endogenous respiration 316 μ l に対しブドー糖添加では 274 μ l であつて O₂ 消費抑制率を算出すると 13.3% となり、単離細胞に於てはブドー糖による O₂ 消費抑制率は 10.3% であるのに対し、細胞を1回洗

第5表 ブドー糖の O₂ 消費抑制と細胞洗滌の関係（癌化組織 No. 6）

細胞	基質		
	—	ブドー糖	ブドー糖の O ₂ 消費抑制率%
組織切片	316	274	13.3
無洗滌単離細胞	184	165	10.3
1回洗滌単離細胞	150	145	3.3

滌するとこれが 3.3% に低下した。この抑制率の値は勿論実験の都度かなりの変動はあるが、このように組織切片に於けるよりは単離細胞に於て、又更にその細胞を洗滌することにより漸次ブドー糖による抑制率が低下するという現象は明らかに認められた。

しかし洗滌細胞に於ても正常肝細胞に見られたようなブドー糖による O₂ 消費促進は認められなかつた。

上述の如く癌化細胞の O₂ 消費はブドー糖添加により抑制されたが、この抑制はメチレンブルー（Mb と略）の添加により回復されるか否か、又ブドー糖の分解産物としての乳酸の蓄積に対する影響はどうかについて検討した。即ち癌化細胞 No. 6 を供試材料としその単離細胞浮遊液にブドー糖を添加し、更に Mb を 0.1mg/cc となるように添加した場合、及び無添加の場合について1時間の O₂ 消費を測定した後、遠沈上清中の乳酸生成量を定量した。対照としてブドー糖無添加の場合についても全く同様に操作した。

結果は第6表の通りであり、ブドー糖無添加では

第6表 ブドー糖酸化に於ける Mb の影響
癌化組織 No. 6

添加物	O ₂ 消費	乳酸生成
—	11.5	4.0
” + Mb	12.5	4.5
ブドー糖	9.0	16.0
” + Mb	11.0	16.0

ブドー糖：10⁻²M, Mb：0.1mg/cc, 定置値： μ M
37°C, 1hr.

Mb 添加により O₂ 消費はわづかに増大され、乳酸生成に対しては殆んど有意の差を及ぼさず、又ブドウ糖添加によつては Mb の存在しない時は 11.5 μM が 9.0 μM と抑制され、これが Mb を添加することにより 11.0 μM となつて殆んど endogenous respiration (添加物なし) に迄回復されることが認められた。しかしこの際も乳酸生成量は全く影響されなかつた。

2. ブドウ糖の酸化分解に於ける量的関係

以上の如く正常肝細胞と癌化細胞の酵素活性に於ける著差はブドウ糖酸化にあることが判明したので、次に各供試細胞にブドウ糖を与えた場合のブドウ糖分解に於ける量的関係を比較した。即ちワールブルグ検圧計を用い、細胞浮游液にブドウ糖を加えて 37°C で 1 時間振盪して O₂ 消費量を測定した後、反応液の遠沈上清についてブドウ糖消費量、乳酸生成量をそれぞれ定量した。対照としてブドウ糖無添加の場合についても同様におこなつた。

正常肝細胞に於ては第 7 表の通りの結果であり、

第 7 表 好氣的条件下のブドウ糖酸化に於ける量的関係 (1)

正常肝細胞				
組織	基質	定量値 μM		
		O ₂ 消費	ブドウ糖消費	乳酸生成
No. C1	—	9.5	—	2.0
	ブドウ糖	14.0	13.0	5.0
No. C2	—	8.5	—	1.5
	ブドウ糖	10.5	10.0	4.0
No. C3	—	11.5	—	3.0
	ブドウ糖	13.0	10.5	5.5

No. C1 の例では基質無添加では O₂ 消費 9.5 μM、乳酸生成 2.0 μM であり、ブドウ糖添加では O₂ 消費 14.0 μM、ブドウ糖消費 13.0 μM に対し乳酸生成 5.0 μM であつて、これら正常肝細胞では常に後記癌化細胞と異りブドウ糖存在下に於ても乳酸生成が比較的小である傾向が認められた。

腫瘍近接肝細胞では第 8 表の如く、前にも記したが O₂ 消費は一般に小であり、No. 1' を例にとると、基質無添加では O₂ 消費 7.0 μM、乳酸生成 2.5 μM であり、ブドウ糖添加では O₂ 消費 9.0 μM、ブドウ糖消費 8.0 μM、乳酸生成 3.0 μM であつて、この群の細胞は一般に正常肝細胞と同様乳酸生成が小であつた。

第 8 表 好氣的条件下のブドウ糖酸化に於ける量的関係 (2)

腫瘍近接肝細胞

組織	基質	定量値 μM		
		O ₂ 消費	ブドウ糖消費	乳酸生成
No. 1'	—	7.0	—	2.5
	ブドウ糖	9.0	8.0	4.5
No. 2'	—	8.0	—	2.5
	ブドウ糖	9.5	8.5	3.5
No. 3'	—	6.5	—	1.0
	ブドウ糖	7.5	6.5	3.5

第 9 表 好氣的条件下のブドウ糖酸化に於ける量的関係 (3)

癌化細胞

組織	基質	定量値 μM		
		O ₂ 消費	ブドウ糖消費	乳酸生成
No. 1	—	11.5	—	4.0
	ブドウ糖	9.5	15.0	16.0
No. 2	—	8.0	—	3.5
	ブドウ糖	7.0	11.5	12.5
No. 3	—	10.5	—	4.5
	ブドウ糖	9.0	12.0	13.0
No. 4	—	12.0	—	4.0
	ブドウ糖	10.0	15.0	14.0
No. 5	—	11.5	—	4.5
	ブドウ糖	10.0	13.5	16.0

ブドウ糖濃度 10-2M

又癌化細胞では第 9 表の通りであり、例えば No. 1 では基質無添加では O₂ 消費 11.5 μM、乳酸生成 4.0 μM で乳酸生成は余り大ではないが、ブドウ糖添加では O₂ 消費 9.5 μM、ブドウ糖消費 15.0 μM に対し乳酸生成 16.0 μM で乳酸生成の割合が著しく大であつた。他の例 No. 2~No. 5 に於ても同様でこれがこの群の細胞の特徴と見られる。

以上第 6~第 8 表に示した各群の細胞のブドウ糖酸化に於ける量的関係を更に詳細に検討するため先づ O₂ 消費量/ブドウ糖消費量の比を算出して比較すると第 10 表の如くである。

正常肝細胞ではこの比は 1.08~1.24 で平均 1.13 であり、腫瘍近接肝細胞では 1.12~1.15 で平均

第10表 好气的条件に於けるブドー糖消費に
対する O₂ 消費の割合

組織細胞	O ₂ 消費量	
	ブドー糖消費量	
正常 肝細胞	No. C1	1.08
	No. C2	1.05
	No. C3	1.24
	平均	1.12
腫瘍近接 肝細胞	No. 1'	1.13
	No. 2'	1.12
	No. 3'	1.15
	平均	1.13
癌化細胞	No. 1	0.63
	No. 2	0.61
	No. 3	0.75
	No. 4	0.67
	No. 5	0.74
	平均	0.68

1.13となつて正常肝細胞と同値であつた。又癌化細胞では 0.61~0.75 の間にあつて平均 0.68 であり、他の細胞群に比しこの値が小であつてブドー糖の酸化は不完全であることがうかがわれる。

次に同様にして乳酸生成量/ブドー糖消費量の比

第11表 好气的条件に於けるブドー糖よりの
乳酸生成比

組織細胞	乳酸生成量	
	ブドー糖消費量	
正常 肝細胞	No. C1	0.39
	No. C2	0.40
	No. C3	0.52
	平均	0.44
腫瘍近接 肝細胞	No. 1'	0.56
	No. 2'	0.41
	No. 3'	0.54
	平均	0.50
癌化細胞	No. 1	1.07
	No. 2	1.09
	No. 3	1.08
	No. 4	0.93
	No. 5	1.18
	平均	1.07

を算出したところ第11表の通りとなり、正常肝細胞では 0.39~0.52 で平均 0.44 であるのに対し、腫瘍近接肝細胞では 0.41~0.56 で平均 0.50 であつて著差があるとは言いがたいが、癌化細胞では 0.93~1.18 の間にあつて平均 1.07 となり、他の細胞群に比し乳酸生成の割合は明らかに大であつた。

このことから腫瘍に近接した肝細胞は正常細胞と質的には余り異つていないが、癌化細胞はそのブドー糖酸化に於て他の二者とは明らかに異りブドー糖酸化は不完全となり主として乳酸として蓄積することがうかがわれた。

次に各供試細胞について嫌气的なブドー糖分解(解糖)に於ける量的関係を比較した。即ち前実験と全く同様ワールブルグ検圧計を用い、気層を窒素ガスで置換えて振盪し、1時間後に反応液の遠沈上清についてブドー糖消費量及び乳酸生成量を定量した。

正常肝細胞に於ては第12表の如くであり、ブドー

第12表 解糖に於ける量的関係(1)
正常肝細胞

組織	基質	定量値 μM	
		ブドー糖消費	乳酸生成
No. C1	—	—	1.0
	ブドー糖	6.0	7.5
No. C2	—	—	1.5
	ブドー糖	5.5	8.0
No. C3	—	—	1.5
	ブドー糖	6.0	7.0

糖無添加の対照では各例共乳酸生成は極めて小であるが、ブドー糖添加では No. C1~No. C3 でブドー糖消費はそれぞれ 6.0, 5.5, 6.0 μM であつて好气的条件下のものに比し、何れも比較的小であるが乳酸生成はそれぞれ 7.5, 8.0, 7.0 μM でかなり大であつた。

腫瘍近接肝細胞では第13表の如く、基質添加ではやはり乳酸生成は小であり、ブドー糖添加では上と同様好气的条件下に於けるものに比しブドー糖消費は小であるが乳酸生成はむしろ大である傾向が認められた。

又癌化細胞では第14表の如くであり、No. 1 ではブドー糖無添加では乳酸生成 1.5 μM であるが、ブドー糖添加に於てはその消費量 9.5 μM に対し、乳

第13表 解糖に於ける量的関係 (2)
腫瘍近接肝細胞

組織	基質	定量値 μM	
		ブドウ糖消費	乳酸生成
No. 1'	—	—	1.0
	ブドウ糖	4.5	6.0
No. 2'	—	—	1.0
	ブドウ糖	5.0	6.5
No. 3'	—	—	0.5
	ブドウ糖	5.0	7.0

ブドウ糖初濃度 $20\mu\text{M}/\text{cc}$, 気層: 窒素,
 37°C , 1 hr.

第14表 解糖に於ける量的関係 (3)
癌化細胞

組織	基質	定量値 $\mu\text{M}/\text{cc}$	
		ブドウ糖消費	乳酸生成
No. 1	—	—	1.5
	ブドウ糖	9.5	16.0
No. 2	—	—	2.0
	ブドウ糖	9.0	14.5
No. 3	—	—	2.0
	ブドウ糖	9.0	14.0
No. 4	—	—	1.5
	ブドウ糖	8.0	12.0
No. 5	—	—	2.5
	ブドウ糖	9.5	14.0

酸生成量 $16.0\mu\text{M}$ であつて各例ともにブドウ糖消費量も他の細胞群に比し大であり、乳酸生成量も好気性に於けると同様大であつた。

第12~14表にもとづいて各例に於ける乳酸生成量/ブドウ糖消費量の比を算出して見ると第15表の通りである。即ち正常肝細胞ではこの比は平均1.29となつて前述の好气的条件でのこの比0.44に比して著しく大となつており、又腫瘍近接肝細胞でも同様で平均1.34となつて好气的条件での値0.50とは著しく大である。

これに対し癌化細胞では乳酸生成比は1.56で、これは好气的条件でのこの比1.07とは大であるが他の細胞群に於ける程大きな差ではない。

従つて以上のことから癌化細胞では他の細胞群に

第15表 嫌气的条件に於けるブドウ糖よりの乳酸生成比

組織細胞	乳酸生成量 ブドウ糖消費量	
	正常肝細胞	No. C1 No. C2 No. C3 平均
腫瘍近接肝細胞	No. 1' No. 2' No. 3' 平均	1.33 1.30 1.40 1.34
癌化細胞	No. 1 No. 2 No. 3 No. 4 No. 5 平均	1.68 1.61 1.56 1.50 1.47 1.56

比し好气的条件下でも嫌气的条件により近いブドウ糖分解を行つてゐると考えられる。

総括及び考案

鶏の内臓型白血病の肝に発生した腫瘍組織、及び腫瘍に近接した周辺の肝、並びに厳密には対照とは言い得ないが腫瘍の発生母地が肝であるから比較のため正常肝を各数例づつとつて実験に供した。

各組織ははさみで細断し、緩衝液を少量加えてよく攪拌し、荒目のガーゼで濾して粗大な組織片を除いてから遠沈して細胞を集め、緩衝液に浮遊して供試した。細胞は緩衝液で洗滌すると細胞内のある成分が浸出除去される恐れがあるので洗滌は行なわなかつた。

又各組織群の間には細胞が単離し易いか否かの差その他性状の差異があり、組織は出来る限り細断し細胞を単離さすようにして浮遊液を調製したのであるが、しかも尚その中にはやや粗大な組織片を含み、間質、血球その他の混入もまぬがれず、更に又細胞浮遊液の容器への分注に際しては出来る限り均一となるよう注意したが、なお不均一をまぬがれないなどの理由から、本実験の成績に考案を加えるにあつては、その測定値の絶対値には余り重点を置くことは出来ず、むしろ基質無添加の対照値との比較、あるいは組織群間に見られる著しい傾向の差異

等に注目するようにした。

先づ各供試細胞の O_2 消費能を比較すると、これら各細胞は一般に基質無添加の O_2 消費 (endogenous respiration) はかなり大であり、又何れの細胞に於てもコハク酸の添加により O_2 消費はよく促進され、又乳酸、焦性ブドウ酸添加によつてもかなりの促進が認められる。

しかして癌化細胞でも正常肝細胞に匹敵する O_2 消費能を有することは興味あることであり、従来癌細胞では呼吸が退化していると考えられ勝ちであるが、実際には癌化細胞に於いても呼吸は重要な要素であることが本実験からもうかがわれる。

また腫瘍に近接した周辺の肝細胞では癌化細胞、及び正常肝細胞に比し O_2 消費能は小であり、これは恐らく癌化細胞に接近していることにより、おかされ、変性に近づきつつある段階ではないかと想像される。

次にブドウ糖を基質とした O_2 消費について見ると、癌化細胞と正常細胞との間に著しい差異が認められ、正常細胞ではブドウ糖添加により O_2 消費は促進されるのに対し、癌化細胞ではむしろ抑制されるという特徴が見られる。

これは一般に癌細胞でいわゆる Crabtree 効果¹⁸⁾¹⁹⁾として知られている現象に一致するものと考えられる。

Crabtree 効果の起因に関しては従来種々の説明が行われているが¹⁹⁾²¹⁾、要するに癌細胞に於ける解糖作用の余りに大なことにより、解糖にたずさわる酵素系と呼吸にたずさわる酵素系の均衡が失われることにより O_2 消費が抑制されると考えられている。

しかしてこの O_2 消費抑制はメチレンブルー (Mb) の添加により回復され¹⁹⁾²⁰⁾²⁹⁾、この理由としては Mb が T. C. A. Cycle は阻害するが、pentose cycle は強く促進するということが挙げられている。

筆者の実験に於てもやはり癌化細胞では、ブドウ糖添加により抑制された O_2 消費は Mb 添加によりほぼ endogenous respiration の大きさ迄回復されるのが認められた。

さて上述の Crabtree 効果は細胞が細胞としての完全な機能を有する場合に最も著しく現われ、無構造になるにつれてその出現は不明瞭となることが知られているが、本実験に於てもその事実が認められ、供試癌化組織を粗に切断したものではブドウ糖 \ominus O_2 消費抑制は最も著明に現われ、単離細胞では

やや不明瞭となり、更に単離細胞を緩衝液で洗滌すると殆んどこれが認められなくなる。

次に各組織細胞のブドウ糖酸化に於ける量的関係を比較する。先づブドウ糖を $M/100$ となるよう細胞浮游液に加え、1時間振盪した時のブドウ糖消費量 (μM) に対する O_2 消費量 (μM) の割合を算出して見ると、正常肝細胞では3例の平均 1.12 であるのに対し、癌化細胞では 0.64 であつて前者に比しその比が小であり、ブドウ糖の酸化は癌化細胞では正常細胞に於けるより焦性ブドウ酸以下の完全酸化が不円滑であることが予想される。

更に又ブドウ糖消費量 (μM) に対する乳酸生成量 (μM) の比を算出すると、正常肝細胞では平均 0.44 であるのに対し、癌化細胞では 1.11 であつて、癌化細胞ではブドウ糖の酸化に於ける乳酸生成の割合が正常細胞に比し大であり、ブドウ糖は主として乳酸に至るものと考えられる。

次に嫌氣的条件下のブドウ糖の分解、即ち解糖に於けるブドウ糖消費量 (μM) に対する乳酸生成量 (μM) の比を算出して見ると、正常肝細胞では平均 1.36 となり、好氣的条件に於けるこの比 (0.44) に比し著しく大であり、当然のことながら嫌氣的条件では乳酸の生成が大となる。これに対し癌化細胞では嫌氣的条件に於ける乳酸生成比は 1.56 であり、好氣的条件に於けるそれ (1.11) との差は正常肝細胞に於けるより小であつて、癌細胞の一般的特性である嫌氣的条件では勿論、好氣的条件に於ても解糖が大であるという事実と一致するものと考えられる。

しかして腫瘍に近接した肝細胞では解糖に於ける量的関係は癌化細胞とは異り、むしろ正常肝細胞に類似している。

V 結 論

鶏の内臓型白血病の肝に発生した腫瘍細胞 (結節)、及びその周辺の肝細胞、並びに対照として正常肝細胞を供試材料とし、細胞の level に於て酵素的性状、特にグルコース代謝について検討して次の結果を得た。

1. 癌化細胞はコハク酸その他を基質として正常細胞と同等の O_2 消費を示し、癌細胞にとつても呼吸は正常細胞に於けると同様重要な要素であることがうかがわれる。

2. 癌化細胞では好氣的解糖が大であり、又いわゆる Crabtree 効果を示し、癌細胞の一般的性状を

そなえている。

に類似した性状は認められない。

3. 癌化組織（結節）周辺の肝細胞では癌化細胞

（参考文献は第2篇の末尾に掲載）

Enzymic Properties of Chicken Leukemic Tumor

1. Glycolysis of cancer cells

Masao Kawano

Department of Microbiology, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Sakae Murakami)

Author's Abstract

Using tumor cells from the node developing in the liver of a chicken with leukemia of visceral type as well as liver cells around the node as subjects of experiment and normal liver cells as control, enzymic properties at cellular level were studied with special reference to glucose metabolism. The results are presented in the following.

1. Cancer cells show oxygen consumption in a similar degree as that of normal cells in the substrate such as succinate and others. It indicates that respiration in tumor cells is just as important as in normal cells.
 2. In cancer cells anaerobic glycolysis is high and also they show so-called Crabtree effect, revealing a general characteristics of cancer cells.
 3. In those liver cells around the cancer tissue (node) there can be recognized no characteristics similar to those of cancer cells.
-