

人癌及びマウス癌組織の組織培養に関する研究

第 3 編

人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌並びに正常マウス
肝組織の組織培養に於ける蛋白代謝に就いて

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

大 学 院
医学研究科 白 石 彰 徳

〔昭和 35 年 8 月 4 日受稿〕

内 容 目 次

第 1 章 緒 言	I. 各組織培養に於ける総蛋白量の変化
第 2 章 実験材料並びに実験方法	II. 各組織培養に於けるアルブミンの増減
第 I 節 実験材料	III. 各組織培養に於ける α -グロブリンの増減
I. 培養組織	IV. 各組織培養に於ける β -グロブリンの増減
II. 培養液	V. 各組織培養に於ける γ -グロブリンの増減
第 II 節 実験方法	第 4 章 総括並びに考按
I. 培養方法	第 5 章 結 論
II. 培養液の総蛋白量測定法	
III. 培養液の蛋白分割測定法	
第 3 章 実験成績	

第 1 章 緒 言

担癌生体に於ける血漿蛋白の異常は Tiselius⁷³⁾ により電気泳動装置が考案されて以来種々研究されている。人血漿蛋白分割については個体差が甚だしいため、腫瘍疾患々者のものととの区別がしばしば困難であることが Bernfeld et al.¹²⁾ により明らかにされている。又進行した腫瘍疾患々者では殆んどの場合に血漿蛋白分割の組成の変化が認められるが、アルブミンの減少の如く腫瘍による肝機能障害により、二次的に惹起されると考えられるものもある。従つて腫瘍疾患々者の血漿蛋白分割の組成の変化を追究することにより、腫瘍診断上特異的な血漿蛋白の変化を見出すことは比較的困難と考えられる。しかし Mider et al.⁵⁸⁾ によれば癌患者の血漿蛋白に於いてアルブミンの減少と α -グロブリンの増加を認めている。これは Longsworth et al.⁵¹⁾, Luetscher⁵⁵⁾, Seibert et al.⁶⁰⁾, Petermann and Hogness⁶³⁾, Petermann et al.⁶⁴⁾, Dillard et al.²²⁾, Schoenbach

et al.⁶⁸⁾ の観察結果とも一般に一致している。他方動物を用いて腫瘍発育の寄主の血漿蛋白分割に及ぼす影響を研究することは比較的容易であると考えられる。即ち Thompson⁷⁴⁾, Thompson et al.⁷⁵⁾ によれば動物の血漿蛋白分割の組成には個体差が少ないことが明らかにされているためである。しかしながら一般に担癌動物に於ても血漿蛋白成分の特異的变化に就いて諸家により一致する結果が得られていない。

斯様に癌患者及び担癌動物の血漿蛋白分割の特異的变化については種々研究されているが、寄主の二次的影響を避けるために腫瘍及び正常組織の組織培養を行い、その培養液の蛋白成分の変化を観察した。測定方法は従来の電気泳動法と Consden et al.¹⁸⁾ によるペーパークロマトグラフィーを組合せた濾紙電気泳動法によつたが、この方法は極めて少量の試料を用いて比較的簡単に血漿蛋白分割の分析を行うことが出来る。従つて少量の培養液中の血漿蛋白分割の変化を追求するのに極めて有効な方法であると

考えられる。

人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌並びに正常マウス肝組織の組織培養を行い、培養液中の血漿蛋白成分の分析を濾紙電気泳動法により行つた。又各組織培養に於ける培養液中の総蛋白量の変化を追求した。その結果新知見を得たので種々検討を加え報告する。

第2章 実験材料並び実験方法

第1節 実験材料

I) 培養組織 培養組織として人子宮頸癌、Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織を用いた。人子宮頸癌は子宮腔部より生検により得られた癌組織片を用いた。生検により得られた癌組織片は感染していることが多いので、組織培養に用いるためには癌組織片を充分滅菌することが必要であるが、組織の破壊を来たさないでしかも完全な滅菌方法を用いた。60%のエチルアルコール中に数秒間浸して後ペニシリン 10000 単位/dl、ストレプトマイシン 50 mg/dl を加えたリンゲル氏液で洗滌した。Bashford 氏マウス癌は白色雑系マウスに移植したものを使用した。壊死組織のない腫瘤を無菌的に切除して用いた。正常マウス肝組織は幼若な白色雑系マウスの肝組織を無菌的に切除して用いた。

II) 培養液 人乾燥血漿溶液、鶏胎圧搾液及び Hanks 氏塩類溶液より成る培養液を用いた。日本薬局方による人乾燥血漿を用いたが、人乾燥血漿溶液を30%の割合で混和した。鶏胎圧搾液は孵化後9日目の鶏胎を無菌的に圧搾し、24時間冷蔵庫中に放置後 3000 r. p. m. で30分間遠心沈澱したものを5%の割合で加え、更に Hanks 氏塩類溶液を65%の割合で混和した。ペニシリン 500 単位、ストレプトマイシン 5 mg を 1 cc の培養液に添加した。培養液は前記3つの成分を培養前に混和して調製し使用した。培養液の水素イオン濃度は Phenolred を指示薬として用い、重曹水を加えて pH 7.6 として使用した。

第2節 実験方法

I) 培養方法 長さ 150 mm、外径 15 mm の丸型試験管にダブルゴム栓を施したものを培養試験管として用いた。培養組織は約 1 mm³ の大きさのものを試験管壁に4つ附着させた。試験管壁に培養組織を附着させるための血漿膜を用いずに直接試験管壁に組織片を附着させた。数分後に組織片が試験管壁に固着するのを待ち培養液を静かに注入した。培

養液を各試験管に 2.5 cc 加えた後回転培養を行つた。即ち培養液を注入し移植を終つた試験管はゴム栓で密封し約 5 度に傾斜した 1 時間 12 回転の回転ドラムに挿入し 37°C に保つた。培養液の交換は 7 日目毎に行つた。又 3 日目毎にゴム栓を滅菌した後、注射器で試験管内の空気を吸引し陰圧としてから新鮮な空気を再び試験管内に注入した。これは好氣的な培養条件の下での培養組織の蛋白代謝を追求するためである。

II) 培養液の総蛋白量測定法 Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織では培養開始後 1, 3, 5, 7 日目に、又人子宮頸癌の場合は培養液交換後 7 日目毎に培養液中の総蛋白量を測定した。培養液を小試験管に移して 1500 r. p. m. で 15 分間遠心沈澱し、その上清を用いて総蛋白量の測定を行つた。

日立血清蛋白計を用いて培養液中の総蛋白量を測定した。先づプリズム面を軟い水を湿したガーゼで拭い、蒸溜水を 1~2 滴落して蓋を被せる。次いでプリズムの背後の小窓を明るい方へ向けて接眼レンズから見ながら接眼レンズを回転して焦点を合せ、目盛調節環を廻して視野の明暗の境界線を W に合わせる。次に蓋を開いて水分をガーゼで拭い去り、被検培養液を 1~2 滴プリズム面に落して蓋を被せ、接眼レンズを見て明暗の境界線の位置を目盛で読めば被検培養液の総蛋白量を示す。

III) 培養液の蛋白分劃測定法 人子宮頸癌では培養液交換後 7 日目、Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織では培養開始後 1, 3, 5, 7 日目に培養液の蛋白分劃を測定した。又組織を移植せず培養液のみを試験管に入れてゴム栓で密封し、回転ドラムに入れて 37°C に保つたものの血漿蛋白分劃を 1, 3, 5, 7 日目に測定し対照とした。

長さ 30 cm、巾 4 cm の東洋濾紙 No. 1 を使用し、濾紙の中央から 4.5 cm 及び 11.5 cm の所に印を附ける。泳動箱に緩衝液 (Sodium diethyl barbiturate 10.3 g, Diethyl barbituric acid 1.84 g, Aq. dest. 1000 cc, pH 8.6, イオン強度 0.05) を入れておき、濾紙をこれに浸して湿らせる。次に濾紙の 11.5 cm の印の所を枠の一端におき泳動箱の枠に張り途中をたるまない様に注意する。緩衝液で湿らせた濾紙をのせた枠を泳動箱に入れ、濾紙の水平部分から緩衝液の液面までの距離を約 2 cm に保つ。この時濾紙の両端は緩衝液の中に充分入る様にす。泳動箱の蓋を被り 10 分間放置した後電線をつなぎ 10 分間 2.6 mA/8 cm で通電する。被検培養液 0.01 cc を

4.5 cm の印の所に濾紙に直角に数回均一につける。試料をつけ終ると泳動箱の蓋を被い 2.6 mA/8 cm で通電する。室温 (25°C 以下) で5時間30分通電する。通電後泳動箱より枠を取り出し、濾紙をはづして乾燥枠にのせる。乾燥枠を乾燥器に入れて充分乾燥させる。バットに染色液 (Bromphenol blue 0.05 g, 昇汞 10 g, 氷醋酸 20 cc, Aq. dest. 1000cc) を入れ静かに濾紙を没し約60分放置する。濾紙を染色液から取り出し染色液を充分落してから洗滌液 (水道水 1000 cc, 氷醋酸 20 cc) に入れて洗う。洗滌液を3~5回取り換えて洗滌液に色がつかなくなるまで充分洗う。濾紙を充分洗つてから取り出して自然乾燥させる。濾紙が充分乾燥したら流動パラフィンに浸す。濾紙の表面に附着しているパラフィンを他の濾紙で吸い取り充分に落した後、プラスチックの透明な板の間に入れて固定する。プラスチックの板で固定した濾紙をデンストメーターにかけて値を読みグラフの上に点として記入して行く。デンス

トメーターの値が増減しなくなり大体平行した点線が得られる様になるまでデンストメーターの値を記入する。グラフの点を滑らかな点線で結び曲線を描き、起始と終末との水平な部分を直線で結び、点線を結んで出来た曲線の各谷から水平線に垂線を引き、各蛋白分割即ちアルブミン、 α -グロブリン、 β -グロブリン、 γ -グロブリンを区別する事が出来る。次にプランメーターを用いて面積を求め、アルブミン、 α -グロブリン、 β -グロブリン、 γ -グロブリンの百分率を算定する。

第3章 実験成績

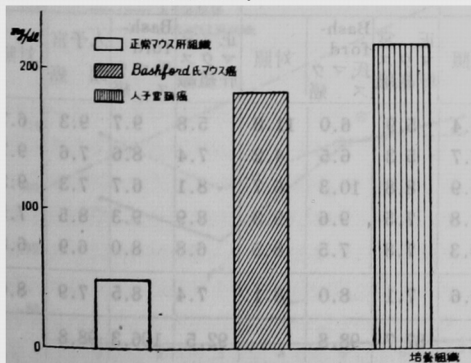
I) 各組織培養に於ける総蛋白質量の変化 人子宮頸癌は4ヶ月間5代継代組織培養が可能であつた。Bashford 氏マウス癌は1ヶ月間、正常マウス肝組織は2週間組織培養を行つたが継代組織培養は行わなかつた。

各組織培養に於ける培養液の総蛋白質量を測定し対

表 1 各組織培養に於ける総蛋白質量の変化

No.	組織	正常マウス肝組織	Bashford 氏マウス癌	人子宮頸癌
1		0.1 g/dl	0.1 g/dl	0.2 g/dl
2		0.1 "	0.2 "	0.2 "
3		0	0.2 "	0.3 "
4		0.1 g/dl	0.2 "	0.2 "
5		0	0.2 "	0.4 "
6		0	0.2 "	0
平均		0.05 g/dl	0.183 "	0.216 g/dl
細胞数		19.02×10^4	88.98×10^4	4.35×10^4
細胞当り平均		2.6×10^{-4} mg/dl	2.4×10^{-4} mg/dl	49.7×10^{-4} mg/dl

図 1 各組織培養に於ける蛋白消費量の比較 (試験管当り)



照と比較した。その結果培養前の培養液中の総蛋白質量より培養試験管当り人子宮頸癌では 0.216 g/dl, Bashford 氏マウス癌では 0.183 g/dl, 正常マウス肝組織では 0.05 g/dl の減少を認めた。癌組織に於ては正常マウス肝組織よりも著しい培養液中の蛋白消費を示すことが明らかとなつた。(表1, 図1)。

II) 各組織培養に於けるアルブミンの増減 人子宮頸癌に於ては培養液交換後1週間で培養液中のアルブミンは増加し対照と比較して109.0%の値を示した。Bashford 氏マウス癌の場合は対照と比較して培養開始後3日目まで増加を見、5日目には一時減少を示すが7日目には再び増加を認めた。正

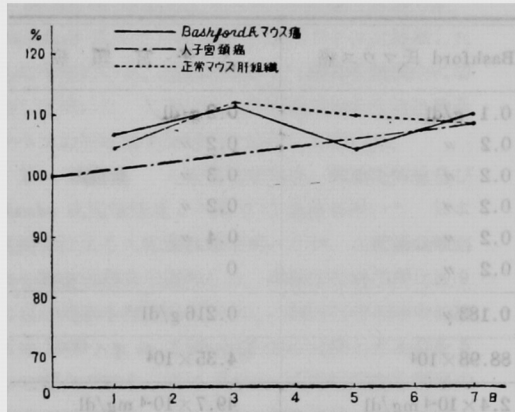
常マウス肝組織では培養開始後3日目まで対照に比して増加を認めるが、3日目からは稍々減少を示した。Bashford氏マウス癌及び正常マウス肝組織の培養開始後7日目の培養液中のアルブミンを対照と

比較すると略等しい百分率を示している。又人子宮頸癌の組織培養に於ても培養液交換後7日目に対照と比較してアルブミンは前2者と略等しい値となっている。(表2、図2)。

表 2 各組織培養に於けるアルブミンの増減 (%)

No.	日	1			3			5			7			
		正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	人 子 宮 頸 癌	対 照
	1	47.9	49.5	51.3	46.1	54.6	47.1	57.2	51.5	47.2	52.1	52.7	44.8	49.3
	2	50.2	51.0	52.7	51.0	44.9	46.8	50.5	52.7	58.8	47.3	49.8	48.4	42.5
	3	49.1	50.8	40.6	56.4	49.8	43.8	48.3	49.5	45.4	46.7	47.6	50.8	41.6
	4	52.0	53.6	45.6	47.8	51.8	42.5	56.9	46.5	47.0	49.1	46.8	48.0	41.0
	5	51.0	50.5	49.0	49.5	49.7	44.0	51.5	52.3	42.4	47.0	48.9	50.5	48.0
	平 均	50.0	51.1	47.8	50.2	50.1	44.8	52.9	50.5	48.2	48.4	49.2	48.5	44.5
	対照に対する百分率	104.6	106.9		112.1	111.8		109.8	104.8		108.8	110.6	109.0	

図 2 各組織培養の経過中に於けるアルブミンの増減



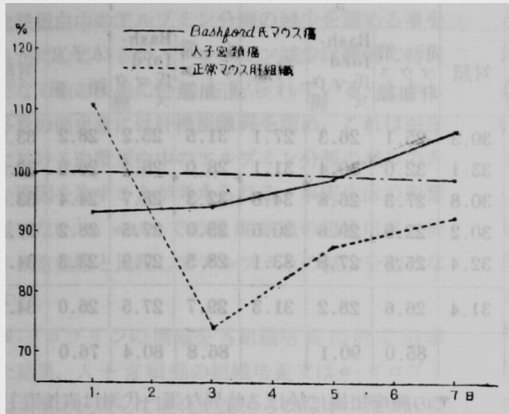
Ⅲ) 各組織培養に於けるα-グロブリンの増減

人子宮頸癌の組織培養に於てはα-グロブリンは培養液交換後7日目に対照と比較して殆んど増減を認めなかつた。Bashford氏マウス癌の組織培養に於ては培養開始後直ちにα-グロブリンの減少を対照と比較して認めるが、培養経過と共に増加を示し、培養開始後7日目には対照と比較して増加を認める。正常マウス肝組織の組織培養に於ては培養開始後1日目に対照に比して増加しているが、3日目には著減を認め、再び5日目から増加の傾向を示している。培養経過中正常マウス肝組織の組織培養に於けるα-グロブリンの対照に対する百分率はBashford氏マウス癌の組織培養に於けるよりも、培養開始後1日目を除き低い値を示している。培養

表 3 各組織培養に於けるα-グロブリンの増減 (%)

No.	日	1			3			5			7			
		正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	人 子 宮 頸 癌	対 照
	1	11.8	7.7	5.8	9.8	8.0	8.4	5.9	6.0	11.8	5.8	9.7	9.3	6.7
	2	8.1	6.5	8.0	5.8	10.2	8.7	5.3	6.5	4.2	7.4	8.6	7.6	9.7
	3	8.7	7.8	11.4	6.2	9.0	9.9	8.8	10.3	6.7	8.1	6.7	7.3	9.3
	4	8.1	9.0	8.4	6.0	8.7	11.8	7.5	9.6	9.3	8.9	9.3	8.5	7.5
	5	9.8	8.0	8.4	7.8	9.2	9.3	7.8	7.5	8.5	6.8	8.0	6.9	6.8
	平 均	9.3	7.8	8.4	7.1	9.0	9.6	7.1	8.0	8.1	7.4	8.5	7.9	8.0
	対照に対する百分率	110.7	92.9		74.0	93.8		87.7	98.8		92.5	106.3	98.8	

図3 各組織培養の経過中に於ける α -グロブリンの増減



液交換後7日目に於ける培養液中の α -グロブリンの対照に対する百分率は Bashford 氏マウス癌では増加を示し106.3%，次いで人子宮頸癌に於ては

98.8%で不変であり，正常マウス肝組織では減少を認め92.5%であつた。(表3. 図3)。

IV) 各組織培養に於ける β -グロブリンの増減

人子宮頸癌の組織培養に於ては β -グロブリンは対照と比較して著しく増加を示している。他方 Bashford 氏マウス癌の組織培養に於ては培養開始後1日目に対照と比較して殆んど不変で，3日目には減少を示しているが，培養経過と共に5日目より増加を示している。正常マウス肝組織の場合は培養開始後1日目に対照に比して増加を示し，3日目には対照と同じ値を示すが5日目より増加を認める。培養液交換後7日目の培養液中の β -グロブリンの対照に対する百分率は各組織培養に於て増加を示すが，人子宮頸癌の場合132.3%で最も多く，次いで Bashford 氏マウス癌が112.0%，正常マウス肝組織は109.0%で最も小さい値を示している。(表4. 図4)。

表4 各組織培養に於ける β -グロブリンの増減(%)

No.	組織	1			3			5			7			
		正常マウス肝組織	Bashford氏マウス癌	対照	正常マウス肝組織	Bashford氏マウス癌	対照	正常マウス肝組織	Bashford氏マウス癌	対照	正常マウス肝組織	Bashford氏マウス癌	人子宮頸癌	対照
1		18.4	13.5	9.2	15.6	10.4	14.2	11.8	16.2	13.9	10.6	12.4	17.7	10.8
2		14.5	10.3	11.7	12.3	15.3	11.4	12.2	10.4	5.9	17.3	13.5	18.0	15.2
3		14.2	16.1	17.9	11.6	13.1	15.5	15.6	13.4	13.1	12.9	17.0	17.5	15.5
4		14.4	13.9	14.1	11.5	11.5	15.5	12.7	14.3	13.1	14.0	16.4	15.3	14.0
5		12.0	12.6	14.7	14.8	14.5	14.3	14.9	12.4	16.0	17.7	15.2	19.3	10.9
平均		14.7	13.3	13.5	14.2	13.0	14.2	13.4	13.3	12.4	14.5	14.9	17.6	13.3
対照に対する百分率		108.9	98.5		100.0	91.5		108.0	107.3		109.0	112.0	132.3	

図4 各組織培養の経過中に於ける β -グロブリンの増減

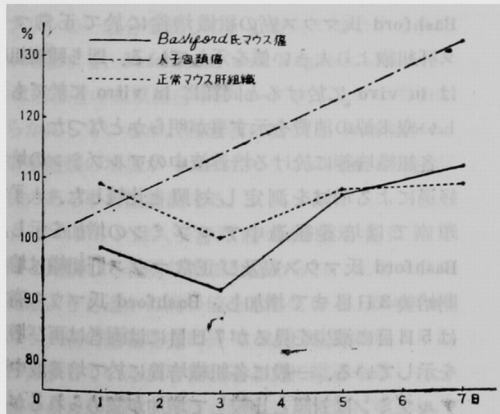


図5 各組織培養の経過中に於ける γ -グロブリンの増減

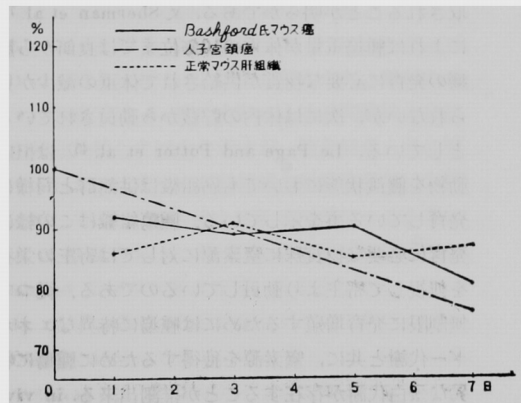


表 5 各組織培養に於ける γ -グロブリンの増減 (%)

No.	1			3			5			7			
	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	対 照	正 常 マ ウ ス 肝 組 織	Bash- ford 氏 マ ウ ス 癌	人 子 宮 頸 癌	対 照
1	21.9	29.3	33.7	28.5	27.0	30.3	25.1	26.3	27.1	31.5	25.2	28.2	33.2
2	27.2	32.2	27.6	30.9	29.6	33.1	32.0	30.4	31.1	28.0	28.1	26.0	32.6
3	28.0	25.3	30.1	25.8	28.1	30.8	27.3	26.8	34.8	32.3	28.7	24.4	33.6
4	25.5	23.5	31.9	29.7	28.0	30.2	22.9	29.6	30.6	28.0	27.5	28.2	37.5
5	27.2	28.9	27.9	27.4	26.6	32.4	25.8	27.8	33.1	28.5	27.9	23.3	34.3
平 均	26.0	27.8	30.3	28.5	27.9	31.4	26.6	28.2	31.3	29.7	27.5	26.0	34.2
対照に対する 百分率	85.8	91.8		90.8	88.9		85.0	90.1		86.8	80.4	76.0	

V) 各組織培養に於ける γ -グロブリンの増減

人子宮頸癌の組織培養に於ては対照と比較して γ -グロブリンは著しい減少を示し、培養液交換後 7 日目には 76% であつた。Bashford 氏マウス癌の場合にも γ -グロブリンは対照に比して培養経過中減少を示す。即ち培養開始後 5 日目まで対照と比較して略 90% の値を示すが、7 日目には更に減少し 80.4% となつた。正常マウス肝組織の組織培養に於ても γ -グロブリンは対照と比較して培養経過中減少を示し、培養開始後 7 日目には 86.8% であつた。(表 5. 図 5)。

第 4 章 総括並びに考按

人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌並びに正常マウス肝組織の組織培養の経過中、第 1 編で既述の如く細胞数の増加が認められたが、*in vitro* での腫瘍細胞の発育増殖に際しては正常組織の細胞と比較して特異な蛋白代謝が存在することが考えられる。White⁶⁰⁾ によれば食餌から窒素源を殆んど除いても担癌生体の貯蔵から癌組織の成長に必要な窒素が奪取されることが明らかである。又 Sherman et al. 71) によれば腫瘍重量が体重の 10% 位までは食餌から腫瘍の発育に必要な物質が供給されて体重の減少が見られないが、次には体内の貯蔵から動員されているとしている。Le Page and Potter et al. 45) は担癌動物を餓餓状態においても癌組織は供餌群と同様に発育している事を示している。腫瘍組織はこの様に発育に必要な物質殊に窒素源に対しては寄主の栄養を無視して寄主より動員しているのである。従つて無制限に発育増殖するためには腫瘍に特異なエネルギー代謝と共に、窒素源を獲得するために腫瘍に特異な蛋白代謝が存在することが推測出来る。*in vivo*

での腫瘍組織に於ける特異な蛋白代謝は直接寄主の血漿蛋白分割に影響を与えているが、又寄主からの種々の 2 次的影響を血漿蛋白成分が受けているのは当然である。そこで寄主の影響を受けない試験管内で腫瘍及び正常組織の組織培養を行ない正常組織と腫瘍組織との間に於ける蛋白代謝の比較を行った。

培養液中の総蛋白量の変化を各組織培養に於て測定した。その結果各組織培養に於て総蛋白量の減少を認めた。培養試験管当りでは Bashford 氏マウス癌が正常マウス肝組織よりも高い蛋白消費量を示した。Bashford 氏マウス癌と正常マウス肝組織の培養経過は略等しいため蛋白消費の比較の場合は培養試験管当りの比較を行った。しかし人子宮頸癌は比較的長期間継代組織培養を行つたものであるため、Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織の組織培養と比較する場合には細胞当りの培養液中の総蛋白量の変化を比較した。その結果細胞当りの各組織培養に於ける総蛋白量の減少は人子宮頸癌が正常マウス肝組織よりも遙かに高い値を示した。従つて蛋白消費量は腫瘍組織である人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌の組織培養に於て正常マウス肝組織より大きい値を示している。即ち腫瘍組織は *in vivo* に於けると同様に *in vitro* に於ても著しい窒素源の消費を示す事が明らかとなつた。

各組織培養に於ける培養液中のアルブミンの培養経過による増減を測定し対照と比較した。人子宮頸癌では培養経過中アルブミンの増加を示し、Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織は培養開始後 3 日目まで増加し、Bashford 氏マウス癌では 5 日目に減少を見るが 7 日目には両者は再び増加を示している。一般に各組織培養に於て培養液中のアルブミンは対照と比較して増加が認められるが、

培養経過と共に見られる変化には一定の傾向が見られなかつた。Abels et al.¹⁰⁾等は担癌生体に於ては血漿蛋白中のアルブミン分画の減少を認める事を明らかにしているが、アルブミン減少は腫瘍に特異的でなく他の疾患に於ても見られている。しかし大多数の癌患者には肝機能障害を認め、これは癌患者に於ける血漿蛋白中のアルブミン分画の減少の大きい原因を為すことが考えられる。事実生体の影響を受けない *in vitro* での腫瘍組織の組織培養に於て、正常組織と比較してアルブミンの減少を認めなかつた。

α -グロブリンの増減を各組織培養に於て追求した結果、人子宮頸癌の組織培養では α -グロブリンは対照と比較して変化が認められなかつたが正常マウス肝組織より高い値を示した。Bashford マウス癌の組織培養に於ては、 α -グロブリンは培養開始後1日目には正常マウス肝組織よりも低い値が培養経過と共に増加し、正常マウス肝組織よりも大きい値を示した。正常マウス肝組織では α -グロブリンは培養開始後1日目には対照より増加するが、3日目には著減を示し培養経過と共に再び増加した。一般に腫瘍組織の組織培養に於ては、 α -グロブリンは正常マウス肝組織よりも高い値を示し、正常マウス肝組織に於ける如き著減を示さなかつた。 α -グロブリンの増加は癌のみでなく、急性熱性疾患や感染症にも認められることを Longworth et al. Shedlovsky⁷⁾ が明らかにしている。従つて α -グロブリンの増加は組織破壊や再生に原因すると考えられる。しかし α -グロブリンの一部分を為す mucoprotein は癌患者に於て増加する事が Winzler and Smyth⁸⁾, Winzler et al.⁸¹⁾, Weimer et al.⁷⁹⁾, Smith et al.⁷²⁾ により明らかにされている。Seibert et al. によれば、その他に癌患者に於ては α_2 -グロブリンの成分を成している蛋白に結合する多糖類が増加する。Petermann and Hogness, Mider et al. は癌患者の血漿蛋白中の α -グロブリンの増加を明らかにしているが、癌患者に於ける mucoprotein 及び多糖類の増加が α -グロブリンの増加と密接な関係のある事が推測出来る。

β -グロブリンは人子宮頸癌の組織培養に於て対照と比較して著明な増加が認められ、正常マウス肝組織よりも遙かに高い値を示している。Bashford 氏マウス癌の組織培養に於ては培養開始後3日目には減少しているが培養経過と共に増加を示した。正常マウス肝組織では培養開始後1日目に増加し、

3日目には減少し対照と同値を示すが、再び培養経過と共に増加している。 β -グロブリンは血漿脂質と結合し、 β -グロブリン量の変化はしばしば血中に於ける脂質及び lipoprotein の増加と関係がある事が Kunkel and Ahrens⁴⁴⁾ により明らかにされている。しかし腫瘍疾患に於てしばしば起る血清の β -グロブリンの増加の原因は不明である。

γ -グロブリンは各組織培養に於て対照と比較して減少が認められる。人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌の組織培養に於ては、培養液交換後7日目には正常マウス肝組織よりも低い値を示した。Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織の組織培養に於ては、培養経過と共に γ -グロブリンは変化するが一定の傾向が見られなかつた。Mider et al. によれば癌疾患に於ては γ -グロブリンの著しい変化は認められなかつた。しかし末期の癌患者ではしばしば γ -グロブリンの減少が見られるが、Parfentjev and Duran-Reynals⁶²⁾, Parfentjev et al.⁶¹⁾ により担癌生体に於ける γ -グロブリンの減少が明らかにされている。

第5章 結 論

1) 人子宮頸癌、Bashford 氏マウス癌及び正常マウス肝組織の組織培養を行い培養液中の蛋白代謝を検討した。

人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌並びに正常マウス肝組織の組織培養に於て、培養液中の総蛋白量を測定した。培養経過に従つて人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌は正常マウス肝組織よりも高い蛋白消費量を示した。

2) 各組織培養に於てアルブミンは対照と比較して増加しているが、培養経過により見られるアルブミンの増減には一定の傾向が認められず、又腫瘍組織と正常組織との間に大差がなかつた。

3) 人子宮頸癌の組織培養に於ては α -グロブリンは対照と比較して変化しなかつた。Bashford 氏マウス癌では α -グロブリンは培養開始後1日目に対照と比較して減少を示すが、培養経過と共に増加を示した。正常マウス肝組織の組織培養では対照と比較して培養開始後1日目には増加するが3日目には著減を示し、培養経過中人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌より低い値を示した。

4) 人子宮頸癌の組織培養に於ては β -グロブリンが対照と比較して著しい増加を示した。Bashford 氏マウス癌では β -グロブリンは対照と比較して培

養開始後3日目まで減少を示した。正常マウス肝組織では β -グロブリンは対照と比較して培養開始後1日目に増加を示すが、3日目には対照と略同値を示した。培養開始後5日目には両者は増加し略同値を示し、培養経過と共に増加の傾向を示した。

5) γ -グロブリンは各組織培養に於て対照と

比較して減少が認められた。 γ -グロブリンは人子宮頸癌の組織培養に於て最も低い値を示した。Bashford氏マウス癌及び正常マウス肝組織の組織培養では、培養経過と共に γ -グロブリンが変化するが両者の間に大差は見られなかった。

(附) 全編の総括

第1編に於て人子宮頸癌、人淋巴腺転移癌、人上顎洞癌及びBashford氏マウス癌並びに正常マウス肝組織の組織培養をroller tube法により試みた。培養液として人乾血漿溶液、鶏胎圧搾液及びHanks氏塩類溶液をそれぞれ30%、5%、65%の割合で混和したものを使用した。人子宮頸癌は4ヶ月間組織培養が可能で5代継代移植を行った。人上顎洞癌及び人淋巴腺転移癌は2週間及び2ヶ月間それぞれ組織培養が可能であつた。Bashford氏マウス癌及び正常マウス肝組織はそれぞれ1ヶ月間及び2週間組織培養を行った。そして人子宮頸癌及びBashford氏マウス癌並びに正常マウス肝組織の組織培養に於ては培養組織細胞数の算定を行った。人子宮頸癌では1ヶ月で約2倍に増加し、又Bashford氏マウス癌では1週間に27%の細胞増加率を、又正常マウス肝組織の場合は44%の細胞増加率であつた。しかしBashford氏マウス癌は正常マウス肝組織よりも同一培養細胞数は多く約4倍であつた。又培養液中の水素イオン濃度の変化を人子宮頸癌、Bashford氏マウス癌及び正常マウス肝組織の組織培養に於て測定した。組織培養液中の水素イオン濃度は培養組織の細胞数増加が著明である程著しく増加することが明らかとなつた。そして培養液中の水素イオン濃度の増加はRousの指摘した如く培養組織による酸性物質の生成によるものと考えられた。又これは培養細胞の物質代謝の過程と密接な関係にあることが推定出来た。

第2編及び第3編に於ては第1編に於て組織培養が可能であつた人子宮頸癌及びBashford氏マウス癌並びに正常マウス肝組織の組織培養に於ける糖代謝並びに蛋白代謝に就いて追究した。

培養経過と共に培養液中の水素イオン濃度が増加することは第1編に於て明らかとなつたが、それが培養組織の糖代謝と密接な関係があることが考えられる。即ち生細胞により葡萄糖は分解されて、エネルギー源として利用されるが、その代謝過程に於

て種々の中間代謝産物の生成が明らかにされている。中間代謝産物として乳酸、焦性葡萄糖酸及び α -Ketoglutar酸の生成量を各組織培養液に於て測定した。又培養液中に於ける葡萄糖の消費量を測定した。

Warburgによれば腫瘍組織は常に高い解糖能を示すことを明らかにしている。又、Krontowski and Bronsteinも組織培養に於て腫瘍組織が正常組織と比較して著明な糖の消費を示すことを明らかにしている。人子宮頸癌、Bashford氏マウス癌及び正常マウス肝組織の組織培養に於ける解糖能を比較検討した結果、人子宮頸癌及びBashford氏マウス癌の組織培養に於ては正常マウス肝組織よりも高い葡萄糖消費及び乳酸生成が認められた。即ちこれらの腫瘍組織は組織培養に於て正常組織よりも高い解糖能を示すことが明らかとなつた。又各組織培養に於ける細胞当たり1日平均乳酸生成量、焦性葡萄糖酸生成量、 α -Ketoglutar酸生成量の細胞当たり1日平均葡萄糖消費量に対する割合を比較検討した。人子宮頸癌及びBashford氏マウス癌では α -Ketoglutar酸生成量が少なくそれぞれ正常マウス肝組織の約1/3、及び1/10であつた。又、Bashford氏マウス癌では焦性葡萄糖酸生成量が少なく、正常マウス肝組織の約1/3であつた。斯様にTricarboxylic Acid Cycleの一端を構成する焦性葡萄糖酸及び α -Ketoglutar酸生成量が人子宮頸癌及びBashford氏マウス癌に於て正常マウス肝組織より少ない割合であるにも拘らず、葡萄糖消費量及び乳酸生成量の割合は正常マウス肝組織と同じであつた。従つて人子宮頸癌及びBashford氏マウス癌では正常マウス肝組織よりもTricarboxylic Acid Cycleの機能が異なり、正常マウス肝組織に於けるよりも良い効率で機能を果していると考えられた。即ちこれらの腫瘍組織は組織培養に於て正常組織よりもTricarboxylic Acid Cycleによる乳酸の酸化が著しいと考えられた。

培養液中の水素イオン濃度の変化と培養組織の糖

代謝中間代謝産物との関係を追究した。その結果各組織培養の経過と共に培養液中の水素イオン濃度は増加するが、これは培養組織による乳酸生成の他に焦性葡萄糖及び α -Ketoglutar 酸生成とも密接な相関関係のあることを明らかにすることが出来た。

各組織培養に於ける蛋白代謝を検討した結果、人子宮頸癌及び Bashford 氏マウス癌では正常マウス肝組織よりも高い蛋白消費量を示したが、培養液の各蛋白分劃についてはこれら腫瘍組織に共通の変化は認められなかつた。即ち各組織培養に於てアルブミンは増加し、又 γ -グロブリンは減少を示したが腫瘍組織と正常組織との間に大差を認めなかつた。 α -グロブリンは人子宮頸癌の組織培養に於ては対照と比較して変化せず、又 Bashford 氏マウス癌では培養経過と共に増加を示したが、正常マウス肝

組織では培養経過中著減を示した。 β -グロブリンは人子宮頸癌の組織培養に於ては対照と比較して著しい増加を示したが、Bashford 氏マウス癌では培養経過中減少し、次いで増加を示した。正常マウス肝組織では β -グロブリンは培養経過中対照と比較して増加し、次いで一時対照と略同じ値となり再び増加を示した。

撰筆するに当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた平木教授並びに角南講師に深謝いたします。

(本論文の要旨は第17回日本癌学会総会に於て発表した)

参 考 文 献

- 1) 上野張武：人間癌腫特に子宮頸部及び膈部癌を以てせる組織培養に対する一知見。日本病理学会会誌, 23, 710, 昭8.
- 2) 太田喜直：組織の發育と乳酸の生成並びに糖消費(1)家鶏胎児心並びに脾臓組織の体外培養に於ける実験。日微病誌, 24, 2, 昭5.
- 3) 京極佐市：人癌腫組織の培養。日本婦人科学会雑誌, 29, 643, 昭9.
- 4) 清水泰二：血液及び尿中 α -Keto 酸 1. 焦性ブドウ酸及び α -Ketoglutar-酸定量法。医学と生物学, 17, 102, 昭25.
- 5) 角南 宏・他四名：肝臓組織培養に関する研究。総合医学, 15, 787, 昭33.
- 6) 水津 昭：組織培養による Bashford's Carcinoma の研究。岡山医学会雑誌, 71, 5741, 昭34.
- 7) 成田幾治：子宮癌の体外培養。日微病誌, 29: 1207, 昭10.
- 8) 福光廉平：体外培養に於ける組織の發育と培養基の水素イオン濃度並びに培養温度との関係について。前編。鶏胎心臓、脾臓組織の發育と培養基の水素イオン濃度並びに培養温度との関係。日微病誌, 23, 1945, 昭4.
- 9) 福光廉平：後編。フィブロプラステンの發育と培養基の水素イオン濃度並びに培養温度との関係。日微病誌, 24, 427, 昭5.
- 10) Abels, J. C.; Ariel, I.; Bekers, P. E.; Pack, G. T., and Rhoads, C. P.: Metabolic abnormalities in patients with cancer of gastrointestinal tract; review of recent studies. Arch. Surg., 46, 844, 1943.
- 11) Barker, S. B. and Summerson, W. H.: The colorimetric determination of lactic acid in biological material. Biological Chemistry, 138, 535, 1941.
- 12) Bernfeld, P.; Donahue, V. M., and Homburger, F.: Characteristic individual electrophoretic patterns in humans. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 83, 429, 1953.
- 13) Carrel, A.: On the permanent life of tissues outside of the organism. J. Exper. Med., 15, 516, 1912.
- 14) Carrel, A.: A method for the physiological study of tissues in vitro. J. Exper. Med., 38, 407, 1923.
- 15) Carrel, A. and Burrows, M. T.: Cultivation of the sarcoma outside of the body. J. Amer. med. Assoc., 54, 1554, 1910.
- 16) Carrel, A. and Burrows, M. T.: Human sarcoma cultivated outside of the body. J. Amer. Med. Assoc., 55, 1732, 1910.
- 17) Coman, D. R.: Human neoplasms in tissue culture. Cancer Research, 2, 618, 1942.
- 18) Consden, R.; Gordon, A. H., and Martin, A. J. P.: Qualitative analysis of proteins: A partition chromatographic method using paper.

- Biochem. J., 38, 224, 1944.
- 19) Cori, C. F. and Cori, G. T.: The carbohydrate metabolism of tumors. I. The free sugar, lactic acid, and glycogen content of malignant tumors. *J. Biol. Chem.*, 64, 11, 1925.
- 20) Cori, C. F. and Cori, G. T.: The carbohydrate metabolism of tumors. II. Changes in the sugar, lactic acid, and CO_2 -combining power of blood passing through tumors. *J. Biol. Chem.*, 65, 397, 1925.
- 21) Demuth, F. und Meier, R.: Milchsäurebildung in Gewebekulturen. *Biochem. Zeitschr.*, 212, 399, 1929.
- 22) Dillard, G. H. L.; Pearsall, H. R., and Chanutin, A.: Electrophoretic, nitrogen, lipide and enzyme studies of plasma and plasma fractions in cancer. *Cancer Research*, 9, 661, 1949.
- 23) Earle, W. R.: Production of malignancy in vitro. IV. The mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, 4, 165, 1943~1944.
- 24) Earle, W. R. and Nettleship, A.: Production of malignancy in vitro. V. Results of injections of cultures into mice. *J. Nat. Cancer Inst.* 4, 213, 1943~1944.
- 25) Evans, V. J.; Earle, W. R.; Wilson, E. P.; Waltz, H. K., and Mackey, C. J.: The growth in vitro of massive cultures of liver cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, 12, 1245, 1952.
- 26) Fischer, A.: Growth of fibroblasts and hydrogen ion concentration of the medium. *J. Exper. Med.*, 34, 447, 1921.
- 27) Fjelde, A.: Human tumor cells in tissue culture. *Cancer*, 8, 845, 1955.
- 28) Eriedemann, T. and Haugen, G. E.: Pyruvic acid. II. The determination of keto acids in blood and urine. *Biological Chemistry*, 147, 415, 1943.
- 29) Fujinami, T.; Moriwaki, S., and Hashimoto, H.: On the cultivation of human skin cancer in vitro. *Acta Schol. Med. Univ. Kyoto*, 31, 39, 1953.
- 30) Gey, G. O.: An improved technic for massive tissue culture. *Am. J. Cancer*, 17, 752, 1933.
- 31) Gey, G. O.; Coffman, W. D., and Kubicek, M. T.: Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Research*, 12, 264, 1952.
- 32) Gey, G. O.; Gey, M. K.; Firor, W. M., and Self, W. O.: Cultural and Cytologic studies on autologous normal and malignant cells of specific in vitro origin. Conversion of normal into malignant cells. *Internat. Union Cancer, Paris. Acta*, 6, 706, 1949.
- 33) Glinos, A. D.: The effect of regeneration on the growth capacity of rat liver in vitro. *Cancer Research*, 9, 593, 1949.
- 34) Goldblatt, H. and Cameron, G.: Induced malignancy in cells from rat myocardium subjected to intermittent anaerobiosis during long propagation in vitro. *J. Exper. Med.*, 97, 525, 1953.
- 35) Hagedorn, H. C. und Jensen, B. N.: Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. *Biochem. Zeitschr.*, 135, 46, 1923.
- 36) Hagedorn, H. C. und Jensen, B. N.: Die Ferricyanidmethode zur Blutzuckerbestimmung. II. *Biochem. Zeitschr.*, 137, 92, 1923.
- 37) Hanks, J. H.: The longevity of chick tissue cultures without renewal of medium. *J. Cell Comp. Physiol.*, 31, 235, 1948.
- 38) Harrison, R. G.: Observation on the living developing nerve fiber. *Anat. Rec.*, 1, 116, 1906~1908.
- 39) Hetherington, D. C.: Froze-dried serum as a medium constituent for tissue cultures. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 57, 196, 1944.
- 40) Kahler, H. and Robertson, W. V.: Hydrogen ion concentration of normal liver and hepatic tumors. *J. Nat. Cancer Inst.*, 3, 495, 1943.
- 41) Kikuchi, S.: Cultivation of human tumors in vitro. *Gann*, 23, 37, 1929.
- 42) Krontowski, A. A.: Pathologisch-physiologische Beobachtungen über Herzexplantate. *Arch. exper. Zellforschg.*, 1, 58, 1925.
- 43) Krontowski, A. A. und Bronstein, I. A.: Stoffwechselstudien an Gewebekulturen. I.

- Mikrochemische Untersuchungen des Zucker-
verbrauchs durch Explantate aus normalen
Gewebe und durch Krebsimplantate. Arch.
exper. Zellforschg., 3, 32, 1927.
- 44) Kunkel, H. G. and Ahrens, E. H.: The rela-
tion between serum lipides and the electro-
phoretic pattern, with particular reference to
patients with primary biliary cirrhosis. J.
Clin. Invest., 28, 1575, 1949.
- 45) Le Paeg, G. A.; Potter, V. R.; Bush, H.;
Heiderberger, C., and Hurlbert, R. B.: Growth
of corcinoma implants in fed and fasted rats.
Cancer Research, 12, 153, 1952.
- 46) Lewis, M. R.: Sea water as a medium for
tissue cultures. Anat. Rec., 10, 287, 1915~
1916.
- 47) Lewis, M. R., and Felton, L. D.: The hydro-
gen ion concentration of cultures of connective
tissue from chick embryos. Science n. s., 54,
636, 1921.
- 48) Lewis, M. R. and Felton, L. D.: The hydro-
gen ion concentration of tissue growth in
vitro. Bull. Johns Hopkins Hosp., 33, 112,
1922.
- 49) Lewis, M. R. and Lewis, W. H.: The cultiva-
tion of tissues from chick embryos in solu-
tions of NaCl, CaCl₂, KCl and NaHCO₃. Anat.
Rec., 5, 277, 1911.
- 50) Lipmann, F.: Stoffwechselfersuche an Gewe-
bekulturen, insbesondere über die Rolle der
Glykolyse im Stoffwechsel embryonaler Zellen.
Biochem. Zeitschr., 261, 157, 1933.
- 51) Longworth, L. G.; Shedlovsky, T. and Mac
Innes, D. A.: Electrophoretic patterns of
normal and pathological human blood serum
and plasma. J. Exper. Med., 70, 399, 1939.
- 52) Losee, J. R. and Ebeling, A. H.: The cultiva-
tion of human sarcomatous tissue in vitro.
J. Exper. Med., 20, 140, 1914.
- 53) Ludford, R. J.: Differences in growth of
transplantable tumors in plasma and serum
culture media. Proc. Roy. Soc., London,
s. B, 112, 250, 1933.
- 54) Ludford, R. J.: Factors influencing growth
of normal and malignant cells in fluid culture
media. Proc. Roy. Soc. London, s. B, 115,
278, 1934.
- 55) Luetscher, J. A.: Electrophoretic analysis of
proteins of plasma and serous effusions. J.
Clin. Invest., 20, 99, 1941.
- 56) Lumsden, T.: The growth of mammalian
tissues in pure serum. Lancet, 207, 65, 1924.
- 57) Lynch, R. S.: The cultivation in vitro of
liver cells from the chick embryo. Am. J.
Anat., 29, 281, 1921.
- 58) Mider, G. B.; Alling, E. L., and Morton,
J. J.: Effect of neoplastic and allied diseases
on concentrations of plasma proteins. Cancer,
3, 56, 1950.
- 59) Moore, A. E.; Sabachewsky, L., and Toolan,
H. W.: Culture characteristics of four perma-
nent lines of human cancer cells. Cancer
Research, 15, 598, 1955.
- 60) Olson, R. E.: Symposium: intermediary car-
bohydrate metabolism in tumor tissue; oxida-
tion of C¹⁴-labeled carbohydrate intermediates
in tumor and normal tissue. Cancer Research,
11, 571, 1951.
- 61) Parfentjev, I. A.; Clifton, E. E., and Duran-
Reynals, F.: Alteration of immunological
response in malignancy: decline of Proteus
agglutinin. Science, 113, 523, 1951.
- 62) Parfentjev, I. A. and Duran-Reynals, F.:
Immunochemical changes in chicken serum
during development of Rous sarcoma. Science,
113, 690, 1951.
- 63) Petermann, M. L. and Hogness, K. R.: Elec-
trophoretic studies on plasma proteins of
patients with neoplastic disease; gastric can-
cer. Cancer, 1, 100, 1948.
- 64) Petermann, M. L.; Karnofsky, D. A., and
Hogness, K. R.: Electrophoretic studies on
plasma proteins of patients with neoplastic
disease; lymphomas and leukaemia. Cancer,
1, 109, 1948.
- 65) Pybus, F. C. and Fawns, H. T.: The effect
of variations in the media on the growth of
normal and malignant tissues in vitro. J.
Path. Bact., 34, 39, 1931.
- 66) Rous, P.: The growth of tissue in acid media.

- J. Exper. Med., 18, 183, 1913.
- 67) Sanford, K. K.; Earle, W. R., and Likely, G. D.: The growth in vitro of single isolated tissue cells. J. Nat. Cancer Inst., 9, 229, 1948~1949.
- 68) Schoenbach, E. B.; Weissman, N., and Armistead, E. B.: Determination of sulfhydryl groups in serum; protein alterations associated with disease. J. Clin. Invest., 30, 762, 1951.
- 69) Seibert, F. B.; Seibert, M. V.; Atno, A. J., and Campbell, H. W.: Variation in protein and polysaccharide content of sera in chronic diseases, tuberculosis, sarcoidosis, and carcinoma. J. Clin. Invest., 26, 90, 1947.
- 70) Shedlovsky, T. and Scudder, J.: A comparison of erythrocyte sedimentation rates and electrophoretic patterns of normal and pathological human blood. J. Exper. Med., 75, 119, 1942.
- 71) Sherman, C. D.; Morton, J. J., and Mider, G. B.: Potential sources of tumor nitrogen. Cancer Research, 10, 374, 1950.
- 72) Smith, E. L.; Brown, D. M.; Weimer, H. E., and Winzler, R. J.: Sedimentation, diffusion, and molecular weight of a mucoprotein from human plasma. J. Biol. Chem., 185, 569, 1950.
- 73) Tiselius, A.: A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. Trans. Faraday Soc., 33, 524, 1937.
- 74) Thompson, S.: Serum proteins, leukocytes, and mortality of seven inbred mouse strains during cortisone administration and infection with salmonella typhimurium. Dissertation, Iowa State College, 1952.
- 75) Thompson, S.; Foster, J. E.; Gowen, J. W., and Tauber, O. E.: Hereditary differences in serum proteins of normal mice. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 87, 315, 1954.
- 76) Thomson, D. and Thomson, J. G.: The cultivation of human tumor tissue in vitro. Proc. Roy. Soc. Med. 7, 7, 1913~1914.
- 77) Walton, A. J.: The effect of various tissue extracts upon the growth of adult mammalian cells in vitro. J. Exper. Med., 20, 554, 1914.
- 78) Warburg, O.: The metabolism of tumors. Canstable and Co., London, 1930.
- 79) Weimer, H. E.; Mehl, J. W., and Winzler, R. J.: Studies on mucoproteins of human plasma; isolation and characterization of homogenous mucoprotein, J. Biol. Chem., 185, 561, 1950.
- 80) White, F. R.: Source of tumor proteins; nitrogen-balance studies of tumor bearing mice fed low nitrogen diet. J. Nat. Cancer Inst. 5, 265, 1945.
- 81) Winzler, R. J.; Devor, A. W.; Mehl, J. W., and Smyth, I. M.: Studies on mucoproteins of human plasma; determination and isolation. J. Clin. Invest., 27, 609, 1948.
- 82) Winzler, R. J. and Smyth, I. M.: Studies on mucoproteins of human plasma; plasma mucoprotein levels in cancer patients. J. Clin. Invest., 27, 617, 1948.

STUDIES ON TISSUE CULTURES OF HUMAN AND MOUSE TUMORS

Part 3. Protein Metabolism of Human Cervical Carcinoma Bashford's Mouse Carcinoma, and Normal Mouse Liver Tissue in Tissue Culture

By

Akinori SHIRAISHI

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director : Prof. Kiyoshi Hiraki)

The protein metabolism of human cervical carcinoma, Bashford's mouse carcinoma, and normal mouse liver tissue have been studied with special reference to the culture media, and the following results were obtained.

1. The whole protein in the culture media of human cervical carcinoma, Bashford's mouse carcinoma, and normal mouse liver tissue was estimated. And as the results it was found that with lapse of time of the culture, human cervical carcinoma and Bashford's mouse carcinoma showed a higher protein consumption than that by normal mouse liver tissue.

2. In every tissue culture albumin was increased as compared with that in the control, but there was no difference between tumor tissues and normal tissue.

3. α -globulin in the media of human cervical carcinoma had no deviation from the control. α -globulin in the media of Bashford's mouse carcinoma showed a decrease when compared with that of the control on one day after tissue culture, but with lapse of time in tissue culture it was increased. In the culture media of normal mouse liver tissue, α -globulin showed an increase as compared with the control on one day after tissue culture, but a remarkable decrease was found on 3 days afterward. As for normal mouse liver tissue, α -globulin showed the lower value than human cervical carcinoma and Bashford's mouse carcinoma during the course of tissue cultures.

4. The remarkable increase of β -globulin in the culture media of human cervical carcinoma could be seen. In the media of Bashford's mouse carcinoma, β -globulin showed a decrease on 3 days after tissue culture. β -globulin in the culture media of normal mouse liver tissue revealed an increase on one day after tissue culture, but on third day Bashford's mouse carcinoma and normal mouse liver tissue presented almost the same value. And both tissues showed an increase on five days after the tissue culture.

5. γ -globulin in every tissue culture was found to show a decrease as compared with the control along with the lapse of culture time. And in this respect no difference was found between tumor tissues and normal tissue.
