

人胃の有する造血物質に就ての研究

第 2 編

胃組織中の乳酸菌増殖因子(葉酸)に就て

岡山大学医学部津田外科教室(主任 津田誠次教授)

助手 医学士 岡 本 嘉 之

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験方法

- a. 基礎培地の成分
- b. 菌株の培地
- c. 実験順序

第3章 基礎実験

- 第1項 実験材料の量的検討
- 第2項 家兎各組織中の乳酸菌増殖因子の測定

第4章 実験成績

- 第1項 胃及び十二指腸潰瘍患者の胃組織中の乳酸菌増殖因子の測定
- 第2項 胃癌患者の胃組織中の乳酸菌増殖因子の測定
- 第3項 少数例の人体被検物中の乳酸菌増殖因子の測定

第5章 総括並に結論 主要文献

第1章 緒 言

最近一種の造血物質で、抗貧血性ビタミン或は赤血球成熟因子として確認せられ、米國に於てはすでに合成され、種々の大血球性貧血に使用、著効を認められている葉酸が注目されて来た。

葉酸の存在は主として酵母エキス、肝臓エキス、新鮮濃緑葉野菜に証明されている。しかし胃組織中に於ける葉酸に就ての研究は見あたらす、もし胃組織中に存在するものとするれば、葉酸は大血球性高色素性貧血に効果あることから、第1編に於て実験した所謂 Castle の造血物質と同様に、癌性貧血の患者の胃組織中には減少して、貧血発生機轉の一因をなしているのではないかと云う事に着眼した。

私は Snell peterson 氏の方法によつて乳酸菌培養を行つて、その乳酸菌増殖率から、家兎の臓器中に於ては葉酸は肝臓、腎臓に次いで胃粘膜中に(単位体積中肝臓含有量の約 $\frac{1}{8}$)存在することを認めたので、主として胃、

十二指腸潰瘍及び胃癌患者の胃組織中の葉酸を測定し、胃癌患者の胃粘膜中には著明に減少して居り、葉酸の胃組織中の存在部位や量約關係が、所謂 Castle の造血物質のそれと似て居り、又葉酸の胃粘膜中の減少度と貧血とが略平行することを確認した。

(教室の弘中は肝臓エキスを以て実験し、癌患者肝臓中には葉酸は著明に減少していることを証明した。)

第2章 実験方法

現在葉酸の測定にはもつばら乳酸菌の増殖を目安にする方法が行われている。私は Snell-Peterson 氏の方法に従い、下記の必須なアミノ酸、糖及び既知のビタミン B₂ 群を加えた基礎培地に測定せんとする組織の10倍量生理的食塩水浸出液(24時間室温で浸出)と Lactobacillus casei を加え、48時間 37°C で培養した後、1/10N・苛性ソーダで発生した酸の量を定量し、乳酸菌の増殖程度を

測定した。そして同時にコントロールに組織を加えない培地の乳酸菌増殖程度を測定し、これとの比率を出して乳酸菌増殖率を求めた。

a) 基礎培地の成分

1. Acid hydrolyzed, purified casein	0.5%
2. Sodium acetate (anhydrous)	0.6%
3. Glucose (monohydrate)	1.0%
4. Tryptophan	0.01%
5. Cystine (hydrochloride)	0.01%
6. Nicotinic acid	0.02mgm%
7. Riboflavin	0.01mgm%
8. Pantothenic acid	0.05mgm%
9. Mineral salts	
K ₂ HPO ₄	0.05%
KH ₂ PO ₄	0.05%
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.02%
Nacl	1.0mgm%
FeSO ₄ ·7H ₂ O	1.0mgm%
MgSO ₄ ·4H ₂ O	1.0mgm%

MnSO₄·3H₂O 1.0mgm%

以上の成分の培地を作製し、pH6.8-7.0とし各試験管に 10c.c. づつ分注する。

b) 菌株の培地

(b₁) 保存菌根, Lactobacillus casei を 5c.c. の酵母エキス葡萄糖寒天培地 (1%葡萄糖, 1%酵母エキス, 1%沈降炭酸カルシウム, 1.5%寒天) に穿刺培養として保存する。毎月 1 回種つぎを行い 24 時間 37°C で培養し常時冷蔵庫に保存する。

(b₂) 定量用には上記同様な培地に移し, 24 時間 37°C で培養。

(b₃) 次に同様成分の 10c.c. の液体培地に 1 白金耳の菌を移し, 24 時間 37°C で培養後遠沈し, 沈澱した菌塊を 0.9%食塩水 100c.c. に浮遊させ, その 1 滴を目的とする基礎培地に加う。

c) 実験順序 (表 1)

表 1.

B	被 検 物	a) 基 礎 (合 成) 培 地	b) 乳 酸 菌
1	手術, 剔出, 浸出 (24 時間)	培地作製, 試験管滅菌	
2		↓加 分注 遠沈 → 第 1 回滅菌 (90°C.30分)	
3		第 2 回滅菌 (90°C.30分)	(b ₁) 原培養から (b ₂) 寒天培地に植え換え, 37°C.24 時間培養。
4		第 3 回滅菌 (90°C.30分)	(b ₃) 液体培地に植え換え 37°C.24 時間培養。
5			↑ 加 遠沈, 食塩水に浮遊させた 1 滴
6		48 時間, 37°C に置いた後 1/10N. NaOH にて滴定	

第 3 章 基礎実験

第 1 項 実験材料の量的検討

被検物は組織の 10 倍量生理的食塩水にて室温で 24 時間浸出した浸出液を使用することとして, その適量の測定を行つた。

(表 2) の如く被検物添加量 0.25c.c. から

0.75c.c. の間に於ては, 添加量と酸生成量は平行関係にあり, その中間に位置する 0.5c.c. の添加量が比較検討するには細菌学的に最も適量であると考えられ, 以下実験はすべて 0.5c.c. (組織 50mg に相当) の添加を行つた。

表 2.

材 料	添 加 量 (c.c.)					酸 生 成 量				増 殖 率					
	0	0.25	0.5	0.75	1.0	1.4	3.1	4.3	6.3	1.	2.2	3.1	4.5		
①平松 (胃潰瘍). 胃体部粘膜	0	0.25	0.5	0.75	1.0	1.4	3.1	4.3	6.3	1.	2.2	3.1	4.5		
②全上 (全 上). 胃体部筋層	0	0.25	0.5	0.75	1.0	1.4	1.8	2.2	2.6	1.	1.3	1.6	1.9		
③渡辺 (全 上). 胃体部粘膜	0	0.25	0.5	0.75	1.0	1.1	1.77	3.22	5.86	6.76	1.	1.6	2.9	5.3	6.2

第2項 家兎各組織内の乳酸菌増殖因子の測定

乳酸菌増殖因子は最も多く肝臓に存在することは、その発見経過からしても明らかであるが、胃組織に存在するものであろうか。又

どの程度に存在するかを検査するため、健康家兎を屠殺后直ちに組織の浸出液を作製し、各組織主として消化器の乳酸菌増殖率を比較した。表3の如く各組織の乳酸菌増殖率は2.2乃至6.8であり、胃組織中には多く存在

表 3. 家兎臓器浸出液の乳酸菌増殖因子

健康家兎番号	臓 器	平 均 増殖率	(1) 2700 gr ♂		(2) 2500 gr ♂		(3) 2400 gr ♀	
			酸生成量	増殖率	酸生成量	増殖率	酸生成量	増殖率
	肝 臓	6.8	5.1	5.4	6.5	8.1	8.4	7.0
	脾 臓	3.3	2.9	3.1	2.3	2.9	4.4	3.8
	腎 臓	5.7	5.1	5.4	6.2	7.8	4.4	3.8
	横紋筋(四頭股筋)	2.4	2.1	2.2	2.4	3.0	2.5	2.1
	平滑筋(胃部筋層)	2.2	2.2	2.3	2.2	2.8	1.8	1.5
	食 道 粘 膜	2.6	2.0	2.1	2.4	3.0	3.3	2.8
	胃噴門部 " "	4.2	4.6	4.8	4.1	5.1	3.4	2.8
	胃 体 部 " "	4.4	4.8	5.1	3.9	4.9	3.8	3.2
	胃幽門竇部 " "	4.2	4.2	4.4	4.0	5.0	2.8	2.3
	胃体部粘膜+筋層	5.4	4.8	5.1	6.1	7.6	4.5	3.8
	十二指腸粘膜	3.8	4.0	4.2	4.1	5.1	2.4	2.0
	空 腸 " "	2.4	2.2	2.3	2.3	2.8	2.5	2.1
	廻 腸 " "	2.4			2.3	2.8	2.5	2.1
	横 行 結 腸 " "	3.0	3.5	3.7	2.5	3.1	2.8	2.3
	直 腸 " "	2.8	3.0	3.2	2.6	3.3	2.2	1.8
	コントロール1	1.0	0.96	1.0	0.8	1.0	1.2	1.0
	コントロール2	1.0	0.94	1.0	0.8	1.0	1.2	1.0

し、胃粘膜中の乳酸菌増殖率は肝臓、腎臓に次いで多く、単位体積中肝臓の約 2/3 量含有している。他の消化器粘膜や筋組織中の含有量より遙かに多量である。胃筋層中には非常に少なく横紋筋中の含有量より僅かに少量である。

第4章 実験成績

第1項 胃及び十二指腸潰瘍患者の胃組織中の乳酸菌増殖因子の測定

手術に依つて切除された胃及び十二指腸潰瘍患者の新鮮な胃組織即ち体部粘膜、体部筋層、竇部粘膜、幽門部粘膜等の浸出液を作製し、第3章の実験方法によつて乳酸菌増殖率を求めた。

表4の如く、その増殖率は体部粘膜に最も高く2.2から9.1迄で平均3.9である。幽門部に於ては1.8から5.4迄で平均3.1であ

る。筋層には非常に少なく1.1乃至1.6平均1.3である。

その増殖率は無酸性胃液のもの或は高酸性胃酸を有するものであつても差異が見られず、胃液酸度の高底には無関係である。此れに反し患者の赤血球数に略平行する関係が見出される。又増殖率は潰瘍の存在部位に依る差異は見られず、幽門狭窄の有無等にも関係はない。いづれにしても潰瘍患者の胃粘膜中には相当量の乳酸菌増殖因子が存在している。

第2項 胃癌患者の胃組織中の乳酸菌増殖因子の測定

表5の如く胃癌患者の血液像は高色素性貧血に傾き、胃組織中の乳酸菌増殖率は各部粘膜共に潰瘍患者のそれより著明な減少を示し、体部粘膜に於ては1.1乃至2.9平均1.9であり、幽門部粘膜に於ては1.0乃至2.3平

表 4.

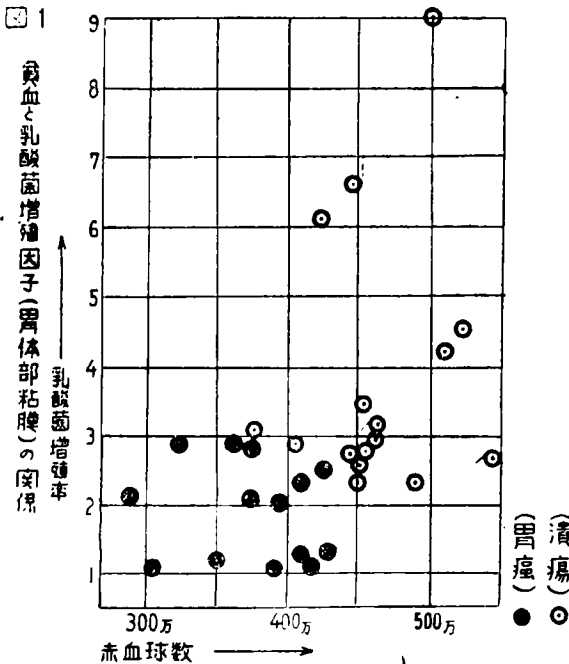
潰瘍患者						乳酸菌増殖率								
姓	性	年齢	血液			胃液				胃体部		竇部 粘膜	幽門部 粘膜	
			赤血球数 (万)	白血球数	血色素量 %	乳酸	ペプ シン	総酸度	遊離塩酸	粘膜	筋層			
小	○	♂	35	460	5200	98	-	-	(2)	0(0)	2.8			
山	○	♂	53	452	8000	72	-	+	67(55)	51(42)	3.4			
足	○	♂	39	445	8800	80	-	+	99(95)	82(81)	2.5	1.3	2.4	2.1
福	○	♀	49	425	6600	85	-	+	45(101)	29(90)				
藤	○	♂	47	380	3600	70	-	+	(26)	(22)				
大	○	♂	40	456	7500	72	-	+	(130)	(124)	2.8			
藤	○	♂	46	486	6800	74	-	+	57(88)	44(79)	2.2			
守	○	♂	29	376	7600	86	-	+	26(28)	10(19)	3.0	1.6		
渡	○	♀	56	402	7200	73	-	+	(38)	(24)	2.9			
野	○	♂	54	444	6500	87	-	+	3(40)	0(25)	2.7			
平	○	♂	55	457	5600	96	-	+	40(32)	25(21)	3.1	1.6	1.9	1.8
森	○	♂	37	523	6500	90	-	+	(46)	(27)	4.5	1.5		1.8
三	○	♂	63	510	6000	98	-	+	5(78)	0(66)	4.2	1.1		3.2
井	○	♂	23	442	7600	75	-	+	54(59)	39(50)	6.6	1.1		2.9
若	○	♂	39	500	6800	90	-	+	3.5(63)	0(52)	9.1			5.0
吉	○	♂	49	420	6500	75	-	+	38(63)	21(40)	6.2			4.2
水	○	♀	61				-	+	24(62)	6.5(47)	6.4			5.4
宇	○	♂	30	540	5800	95	-	+	58(65)	45(44)	2.5			2.2
吉	○	♂	50	446	7400	76	-	-	4(10)	0(0)	2.2	1.3		1.8

表 5.

胃潰瘍患者						乳酸菌増殖率								
姓	性	年齢	血液			胃液				胃体部		竇部 粘膜	幽門部 粘膜	
			赤血球数 (万)	白血球数	血色素量 %	乳酸	ペプ シン	総酸度	遊離塩酸	粘膜	筋層			
平	○	♂	48	390	5100	78	-	-	1(6)	0(0)	2.0			
鈴	○	♀	45	371	6600	68	-	-	1(4)	0(0)	2.8			
加	○	♀	57	332	7200	63	+	-	(17)	(0)				
山	○	♂	58	429	9100	94	+	-	18(12)	0(0)	2.4	1.2	2.2	1.6
鈴	○	♂	61	350	10000	78	-	-	8	0	1.2	1.0		
百	○	♀	38	416	4400	78	-	-	4(3.5)	0(0)				
正	○	♂	58	377	9400	78	+	-	2(6)	0(0)	2.1		2.0	
三	○	♀	51	315	7600	65	+	-	2(7)	0(0)	1.1		1.0	
三	○	♂	56	399	13300	89	+	-	(28)	(0)	1.1			
大	○	♂	52	336	5100	71	-	-	(14)	(0)	2.9	1.5		2.3
見	○	♀	53	262	5600	62	-	-	(20)	(0)	2.9	1.7		1.2
海	○	♀	40	410	8600	80	+	-	22(27)	0(0)	2.3	1.7		2.2
白	○	♂	47	420	9600	85	-	-	12(13)	0(0)	1.1	1.0	1.0	1.0
山	○	♀	49	418	7600	84	-	-	2(2)	0(0)	1.2	1.1		
間	○	♀	58	286	7000	57	-	-	55(50)	6(18)	2.2	1.2		1.8
大	○	♂	54	430	6800	88	-	-	2(3)	0(0)	1.3	1.0		1.1

均1.6で、潰瘍患者のその1/3である。筋層中には乳酸菌増殖因子は少量で1.0乃至1.7平均1.3であつて潰瘍患者の場合と同じで少しの差異もない。即ち多量に乳酸菌増殖因子を含有している粘膜に於て胃癌患者の場合には著明に減少しているのである。

図1は貧血と乳酸菌増殖因子の減少とが、略平行することを示している。



第3項 少数例の人体被検物中の乳酸菌増殖因子の測定

3-3例づつであるが組織、血液、分泌物中の乳酸菌増殖因子の測定を行つた。増殖率を以て示すと

略健康に近いと思われる人体の

十二指腸粘膜	1.8
大腸粘膜	1.5
横紋筋	1.5

であつて著明に減少している胃癌患者の胃粘膜の乳酸菌増殖率より尙少い。

癌組織(胃癌)の乳酸菌増殖率は平均1.4でその患者の著明に減少している胃粘膜中の含有量より少量である。

健康人の血液については

全血	1.5
血漿	1.4
血液有形成分	1.1

であり、人体筋肉中の乳酸菌増殖因子含有量と同じ程度に血液中であつて、主として血漿中に含まれている。

唾液中には(増殖率1.0)全く含有されていない。尿中には極めて微量に(増殖率1.1)排泄される。胃酸には微量乍ら尿に排泄されるより僅かに多く含んでいる(増殖率1.2)。

第5章 總括並に結論

Pteroyl-glutamic acid の発見は多方面から研究が行われ、為めに現在でも種々な名称が付けられているが、主として葉酸、乳酸菌増殖因子、ビタミンM等と呼ばれ、すでに合成されて、米国に於ては主として種々な大赤血球性貧血に使用して効果が認められている。即ち悪性貧血(Youman等, 1946年)を始めとして、スプリュ(Darby等, 1946年)、小児の大血球性貧血(Zuelzer等)等に著効を認め、其他 Sacks等(1950年)は白血病にも使用している。Kerosztesy等(1946年)は鼠の移植癌に有効性を認め、Farber(1949年)は癌患者に使用している。

Pteroyl-glutamic acid の測定には主として乳酸菌の増殖を目安とする方法が使用され、為めに私も Snell-Peterson 氏法を使用し測定を行い、乳酸菌増殖因子の名称を使用した。

これは酵母エキス、肝臓エキス、新鮮濃緑葉野菜に証明されているが人体中特に胃組織に就ての報告を発見し得ない。Castle の理論以来造血作用について胃組織が注目されているが、私は健康家兎組織の内で、肝臓、腎臓に次いで胃粘膜中に多量に乳酸菌増殖因子が含有されていることを認めたので、主として胃癌、胃及び十二指腸潰瘍患者胃組織中の乳酸菌増殖因子の測定を行い、次の結論を得た。

- 1) 潰瘍患者の胃粘膜中には相当量の乳酸菌増殖因子が存在する。
- 2) 胃癌患者の胃粘膜中には乳酸菌増殖因子は著明に減少して居り、潰瘍患者の胃粘膜中の乳酸菌増殖因子の1/3である。
- 3) 胃筋層中には乳酸菌増殖因子は微量で

あり、胃癌患者と潰瘍患者との差異はない。

4) 乳酸菌増殖因子は幽門部竇部に比し体部粘膜中に多量に存在する。

5) 癌組織中には乳酸菌増殖因子は非常に少量で、癌患者の胃粘膜中の含有量より尙少い。

6) 血液中の乳酸菌増殖因子は筋肉中のそれと同程度に少量存在し、主として血漿中に含有されている。

7) 乳酸菌増殖因子の減少度は略貧血と平行関係にある。

8) 癌性貧血発生機転の一因として胃に於

ける乳酸菌増殖因子の減少が考えられる。

(本論文の要旨は昭和25年4月5日第50回日本外科学会総会並に昭和25年6月25日第60回岡山医学会総会に於て発表した)

摺筆するに当り終始御指導御鞭撻を忝うし御校閲の勞を賜つた恩師津田教授砂田助教授に深甚なる謝意を表し、貴重なる菌株を分与下され、実験について御教示を賜つた病理学教室浜崎教授並に合成培地用の薬品の一部を分与下さつた生化学教室清水教授に深謝し、終始実験を共にに行い御指導を願つた弘中専門部教授に感謝の意を表す。

(本論文は文部省科学研究費の補助を受けた)

主 要 文 献

1) E. E. Snell & W. H. Peterson : J. Bact. 39, p. 273, (1940). 2) P. L. Day, W. C. Langston & C. F. Shukers : J. Nutrition. 9, p. 637, (1935). 3) A. G. Hogan & L. O'Dell : J. Biol. Chem. 199, p. 323 (1943). 4) E. Rominger & Ch. Bomskov : Z. exp. Physiol. Chem. 224, p. I, (1936). 5) W. Kaschra : Z. f. Physiol. Chem. 240, p. 127, (1936). 6) J. B. Youmann : New Eng. J. Med. 234, p. 773 (1946). 7) W. W. Zuelzer & F. N. Ogden : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 61, p. 65 (1945). 8) W. J. Darby, E. Jones & H. C. Johnson : Science 103, p. 108 (1946). 9) H. K. Mitchell, E. E. Snell & R. J. Williams : J. amer. Chem. Soc. 63, p. 2284 (1941). 10) A. Z. Hodson : J. Nutrition. 38, p. 26, (1949). 11) Farber & Sidney : Blood 4, p. 160 (1949). 12) M. S. Sacks, G. J. Bradford, E. S. Schoenbaeh : annals of int. med. 32, p.

80 (1950). 13) E. J. Weber, F. E. Karpinski & R. W. Heinle : J. Pediatrics 36, p. 69 (1950). 14) V. G. Allfrey, C. G. King : J. Biol. Chem. 182, p. 367 (1950). 15) B. Kelley, P. L. Day & J. R. Totter : J. Biol. Chem. 182, p. 591 (1950). 16) E. A. Harvey, I. Howard & W. P. Nmrphy : New Eng. J. med. 242, p. 446 (1950). 17) R. B. Angier & E. L. R. Stockstad : Science 102, p. 228 (1935). 18) 中馬英二 : 化学の領域, 3巻, 218頁, (昭. 24). 19) 三好和夫, 加藤周一 : 日本臨牀, 7巻, 120頁, (昭. 24). 20) 藤田秋治 : ビタミンの化学的定量法, (昭. 23). 21) 白石正英 : 薬学, 2巻, 380頁, (昭. 23). 22) 木下良順, 中馬英二, 螺良義彦 : 医学の進歩, 4集, 387頁, (昭. 23). 23) 柴田承二, 三浦義彰 : 医学のあゆみ, 3巻, 89頁, (昭. 22). 24) 医学のあゆみ, 6巻, 85頁, (昭. 23). 25) 加藤勝治 : 診断と治療, 37巻, 314頁, (昭. 24).