

## (4)

氏名(生年月日) 上 延 富久治  
ウエ ノベ アツシ

本 籍  
 学位の種類 医学博士  
 学位授与番号 乙第13号  
 学位授与の日付 昭和40年2月19日  
 学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)  
 学位論文題目 **Studies on the respiratory enhancing ability of Ehrlich carcinoma cells (I.II.) (エールリッヒ腹水癌細胞の呼吸亢進能に関する研究)**

論文審査委員 (主査) 教授 箕 島 高  
 (副査) 教授 松 村 義 寛, 教授 梶 田 昭

## 論 文 内 容 の 要 旨

腫瘍細胞の旺盛な増殖機構の解明は腫瘍の本質を見極めるために重要な手掛りであり、ひいては腫瘍の発生と治療の両面の開拓の最も基礎的な鍵であろう。然るに今日なお腫瘍細胞の分裂に必要な呼吸や解糖経路は正常細胞との間に本質的な相違は明らかにされていない。そこで著者は感染発症の常識から腫瘍細胞の移植はその動物の恒常性に変化を起し、しかもその変化の中に腫瘍特異相の発現を想像した。そこでマウスにエールリッヒ腹水癌浮游細胞(以下 EAC 細胞と略称)を感染せしめ Host-parasite の立場から基礎的な研究を行なった。その結果について腹水中に腫瘍細胞の自家呼吸およびコハク酸等 TCA cycle 系物質の呼吸代謝に著しい促進効果を発揮する主要因子を Na<sup>+</sup> と同定した。加うるに Na<sup>+</sup> の正常肝および EAC 細胞の呼吸に対する作用態度の相違を明らかにし、腫瘍細胞の増殖特異相の基本的現象を明らかにした。

## 実験材料および実験方法

第一報では接種後 6~7 日目の殆ど赤血球の混在しない EAC 細胞を腹腔から取り出し、遠心後沈澱部すなわち EAC 細胞を 0.25 M Sucrose に懸濁し、さらに 2~3 回遠沈、洗滌をくり返し 0.25 M Sucrose で 1 ml 当りほぼ  $8 \times 10^7$  の EAC 細胞を含む浮游液として用いた。また腹水上清は上記最初の遠心分離上清液を原液として用いた。呼吸測定法はワールブルグ検圧計で空気層下に行なった。使用マウスは 20 g 前後の NA-2 型均一系の雄性、またマウス肝臓は 0.25 M Sucrose で

10% の Homogenate となし、遠心分離後その上清を用いた。その他 EAC 上清液中の呼吸亢進因子の追求の過程において耐熱性の有無、エタノールおよびエーテル抽出、紫外部吸光度測定透析、ペーパークロマトグラフによる金属イオンの検出等の操作を行なった。

第二報の酵素活性の測定は NT (Neotetrazolium chloride) を電子受容体として EAC 細胞、肝細胞のそれぞれの Succinate-NADH-NT reductase の活性を測定して Na<sup>+</sup> の特性探究を行なった。すなわち NT の還元生成物である Formazan の色調の濃さを Beckman Spectrophotometer で  $\lambda_{max} = 500 m\mu$  における吸光度から酵素活性を比較した。

Na<sup>+</sup> の定量は担癌マウス各 5 匹宛を一群とし血清および腹水中の Na<sup>+</sup> 量の経日変化を Flame photometer で測定した。

## 実験成績および考察

先ず EAC bearing マウス肝のコハク酸々化能を経日的に正常マウス肝と比較すると、担癌マウスは EAC の接種後第 8 日目と 12~13 日目をそれぞれピークとし正常肝よりも著しく高いが、7~9 日目はでかえつて逆に著しく低下した。いわゆる二峰性呼吸亢進型がみられた。ところがこれらの反応系に腹水の Cell free suspension を添加すると、両者の酸素消費は共にほぼ半減した。一方、EAC 細胞に同様 Cell free suspension を添加した場合には酸素消費量は著しく増大した。この現象から腹水は腫瘍細胞の分裂増殖を促進し、正常細胞には阻

止的に働く因子を含むことが窺える。そこで因子解析実験の結果、有効因子は耐熱性で、透析性の物質であることがわかり、またその灰化物でもなお有効性は消失しなかった。そこで灰化物を分析して遂に  $\text{Na}^+$  が特に有効であることを確認した。その至適量は  $\text{NaCl}$  として終末濃度で自家呼吸において  $1.6 \times 10^{-4} \text{M}$  であり、コハク酸を基質にした場合は  $8 \times 10^{-2} \text{M}$  であつた。

EDTA のようなキレート剤の添加は  $\text{NaCl}$  効果を低下させた。また  $\text{NaCl}$  の至適量を基準反応液に添加して EAC 細胞の形態を位相差顕微鏡でみると、培養60分においても殆んど形態変化はなかつたが、それに反して非添加群では Blister 形成、続いて細胞質の膨化が判然として来た。

そこで  $\text{Na}^+$  の意義を腫瘍細胞の呼吸代謝過程における ATP や NAD の作用との相関において探究した。EAC 細胞の Succinate-および NADH-NT reductase 活性は前者は後者に比較して著しく弱いが、その反応系に  $\text{NaCl}$  の至適量を加えると前者は約2倍に活性化され、後者は  $\text{NaCl}$  の濃度の増加と共にかえつて低下の一途をたどつた。一方正常および担癌マウス肝で

は両酵素活性は、比較的近似値を示したが、 $\text{NaCl}$  の添加による酵素活性は EAC 細胞の場合と殆ど逆の傾向を示した。元来 ATP は Succinic dehydrogenase の Co-enzyme であり、 $\text{Mg}^{2+}$  は Co-factor であるが、本実験の範囲では  $\text{Na}^+$  は  $\text{Mg}^{2+}$  に代つて EAC 細胞の Succinic dehydrogenase、マウスの肝の NADH diaphorase 活性の亢進を發揮せしめ、ことに ATP の存在なしにも充分な有効性を示した。

ところで担癌マウス血清およびその腹水中の各  $\text{Na}^+$  量は EAC 細胞移植後共に経日的に漸増し、7~8日目頃に最高値を示した。

この現象は先に述べた二峰性呼吸亢進型の谷に該当する。

従来一部研究者により  $\text{Na}^+$  は腫瘍細胞の膜透過性の亢進によつて呼吸を促進すると考えられているが、以上の結果から  $\text{Na}^+$  は腫瘍細胞の呼吸亢進因子となり、しかも腹水中において腫瘍細胞の NAD diaphorase と Dehydrogenase 活性を調節するための腫瘍特異相を生体に誘発した。

## 論文審査の要旨

腫瘍細胞に対する病理学的、生化学的および薬化学的研究は近来盛んに行なわれて来たが、それらは多くは制癌に関するもので、その旺盛な増殖機構に関する研究は充分とはいえない。

著者はマウスにエールリッヒ腹水癌浮遊細胞を接種し、腹水より分離した癌細胞の呼吸作用と還元酵素活性を研究して次の主な諸点を明らかにした。

1. 腹水上清中には癌細胞の呼吸作用を亢進し、増殖を盛んにする因子が存在する。このものは一定濃度の  $\text{NaCl}$  ( $\text{Na}^+$  ion) である。この  $\text{Na}^+$  の作用はコハク酸—neotetrazolium—還元酵素の活性の増強に由来する。

2. 上記の  $\text{NaCl}$  ( $\text{Na}^+$ ) の一定の濃度ではマウスの正常細胞の呼吸作用と還元活性はかえつて抑制される。

3.  $\text{Na}^+$  はその至適濃度で特異的に癌細胞の活性を増強する重要な因子である。

以上著者の第1および2報に所載の研究は、癌細胞の増強の一因子が  $\text{Na}^+$  ion の至適濃度であることを推論したもので、腫瘍の生化学上有益な論文と認める。

### 主論文公表誌

Studies on the Respiratory Enhancing Ability of Ehrlich Carcinoma Cells.

(I) On a Respiratory Enhancing Factor in Ascitic Fluid.

(II) Effects of Sodium Ion (Sodium Chloride) on Succinate-and NADH-Neotetrazolium Reductase.

エールリッヒ腹水癌細胞の呼吸亢進能に関する研究。

(I) 腹水中の呼吸亢進因子について

大阪学芸大学紀要(13)第12巻 199 (1963年12月)

(II) コハク酸及び NADH-ネオテトラゾリウム、リダクターゼにおける  $\text{Na}^+$  イオン ( $\text{NaCl}$ ) の影響。

仁泉医学 第11巻 1号 23頁(1964年7月)

## 参考論文公表誌

- 1) 悪性腫瘍の実験的化学療法の研究.  
 (1) Cobaltous bis-histidine chelate compound carrying 8-azaguanim のユールリッヒ腹水癌に及ぼす影響. 日本細菌学雑誌 第12巻 11号 905~913 (1957年11月)  
 (2) システインとシスチンのアルカリ性フォスファターゼの賦活効果について  
 仁泉医学 8 (2) 271~274 (1958年6月)  
 3) クロモマイシン A<sub>3</sub> の抗腫瘍性に関する実験的研究 (1) Toyomycin 集.  
 武田薬品工業 k.k. 65~72 (1961年8月)  
 4) 抗体動員物質の本体に関する研究 (5) 有効物質の同定 (1).  
 日本細菌学雑誌 17 (6) 428~433 (1962年6月)  
 5) 抗体動員物質の本体に関する研究 (5) 有効物質の同定 (2).  
 日本細菌学雑誌 19 (2) 61~67 (1964年2月)  
 6) 抗生物質 Pyoluteorin の抗腫瘍性に関する実験一ことに選択競合論の立場から一.  
 総合臨床 12 (2) 272~384 (1963年2月)  
 7) 2-( $\alpha$ -phenyl-2-carbo-ethoxy-methyl)-thiazolidine-4-carbonic acid の白血球増加作用に関する 2, 3 の知見  
 総合臨床 13 (4) 701~709 (1964年4月)