

幼牛血液抽出剤 Solcoseryl に関する実験的研究

第 2 編

Ehrlich 腹水癌細胞におよぼす Solcoseryl の影響に関する生化学的研究

岡山大学医学部第 1 外科教室 (指導: 田中早苗教授)

吉 田 宏

【昭和44年 5 月 2 日受稿】

目 次

第 1 章 緒 言	一トの呼吸能におよぼす影響
第 2 章 実験材料ならびに実験方法	第 2 節 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能におよぼす影響
第 1 節 実験材料	第 3 節 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の解糖能におよぼす影響
第 2 節 使用薬剤	第 4 章 総括ならびに考案
第 3 節 呼吸能および解糖能測定法	第 5 章 結 語
第 4 節 実験群	
第 3 章 実験成績	
第 1 節 Solcoseryl の C ₅₇ BL マウス肝ホモジネ	

第 1 章 緒 言

第 1 編¹⁾において、Solcoseryl は正常 NC マウスの網内系機能賦活作用を有することが明らかにされた。また林²⁾、遠藤³⁾、今西⁴⁾らの実験より、担癌生体においても同様に、Solcoseryl が網内系機能賦活作用を有することが明らかにされている。

host-tumor relationship なる概念に立脚し、Solcoseryl を用い、担癌宿主の網内系機能を非特異的に賦活し、host defence を高揚し、癌を征服しようとする場合、Solcoseryl が tumor 自体に対しいかなる能度を示すかは未だ明らかにされていない。

1926年、Warburg⁵⁾ は悪性腫瘍の特徴として、酸素の存在に関係しない解糖能の著明な亢進を提唱した。この主張に対し反論する者もないではないが、まだ Warburg のこの初期の知見にせまるほど悪性腫瘍に普遍的な特異性を主張できるものは見当らず、むしろ約40年経過した今日でも、多くの学者により支持されている。

そこで本編においては Warburg の製置を用い、Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能および解糖能におよぼす Solcoseryl の影響を生化学的に検索し、Solcoseryl が悪性腫瘍に対しいかなる影響を与えるかを生化学的に検索した。また果して Solcoseryl が Staudin-

ger⁶⁾⁷⁾ の報告しているように肝ホモジネートの呼吸能を著明に賦活するか否かについても検討した。

第 2 章 実験材料ならびに実験方法

第 1 節 実験材料

1) C₅₇BL マウス肝ホモジネート: 体重約 25g の雄の C₅₇BL マウスを断頭瀉血し、肝を摘出し、4 倍重量の Ca⁺⁺ を除いた Krebs-Ringer bicarbonate buffer (pH 7.4. 以下 KRB と略す) を加え、ガラスホモゲナイザーでホモジネートし、よく混合し、粗なる組織片を除いて使用した。

2) Ehrlich 腹水癌細胞: 岡山大学医学部癌源病理部より分与された Ehrlich 腹水癌細胞を dd マウスの腹腔内に継代移植し、移植後 7 日目の非血性のもので実験に供した。使用に際して Ehrlich 腹水癌細胞は KRB で数回洗浄し、KRB 1ml 中に Ehrlich 腹水癌細胞 1000×10⁴ 個含まれるように調製し、使用した。

第 2 節 使用薬剤

Solcoseryl: 第 1 編と同じ。原液のまま用いた。

第 3 節 呼吸能および解糖能測定法

柳本製作所製の Warburg 検圧計を用い、容器は主室、副室および側室各 1 個を有するものを使用し

た。

呼吸能は肝ホモヂネートあるいは癌細胞浮遊液を主室に入れ、副室には KOH 溶液を入れ、側室には薬剤を入れ測定した。解糖能は癌細胞浮遊液を主室に入れ、側室に薬剤を入れ、セット終了後室素ガスを容器1個につき毎分1.5 l 、3分間通して嫌気性とした。検圧計は 37.5°C に保ち、前振り10分後に側室液を主室に加え、90~150分観察した。振盪回数 は1分間100回である。

第4節 実験群

実験1 Solcoseryl の C₅₇BL マウス肝ホモヂネートの呼吸能におよぼす影響

表1のごとくセットし、Solcoseryl 添加が C₅₇BL マウス肝ホモヂネートの呼吸能に及ぼす影響を示

表1 C₅₇BL マウス肝ホモヂネートの呼吸能測定時の容器組成

	組 成	温度対照	臓器対照	Solcoseryl 添 加
主室	K R B	2.2 ml.	1.2 ml.	1.2 ml.
	0.1 M Glucose	(-)	0.5 ml.	0.5 ml.
	Liver Homogenate	(-)	0.5 ml.	0.5 ml.
副室	20% KOH	(水 0.3 ml.)	0.5 ml.	0.3 ml.
側室	Solcoseryl	(-)	(-)	0.5 ml.
	K R B	0.5 ml.	0.5 ml.	(-)

表2 Ehrlich 腹水腫瘍細胞の呼吸能測定時の容器組成

	組 成	温度対照	腫瘍対照	I	II	III
主 室	K. R. B.	2.2 ml.	1.2 ml.	1.2 ml.	1.2 ml.	1.2 ml.
	M/10 Glucose	(-)	0.5 ml.	0.5 ml.	0.5 ml.	0.5 ml.
	Ehrlich 癌細胞	(-)	500個万/0.5 ml.	500万個/0.5 ml.	500万個/0.5 ml.	500万個/0.5 ml.
副 室	20% KOH	(水 0.3 ml.)	0.3 ml.	0.3 ml.	0.3 ml.	0.3 ml.
側 室	Solcoseryl	(-)	(-)	0.3 ml.	0.4 ml.	0.5 ml.
	K. R. B.	0.5 ml.	0.5 ml.	0.2 ml.	0.1 ml.	(-)

表3 Ehrlich 腹水腫瘍細胞の解糖能測定時の容器組成

	組 成	温度対照	腫瘍対照	I	II	III
主 脚	K. R. B.	2.5 ml.	1.5 ml.	1.5 ml.	1.5 ml.	1.5 ml.
	M/10 Glucose	(-)	0.5 ml.	0.5 ml.	0.5 ml.	0.5 ml.
	Ehrlich 癌細胞	(-)	500万個/0.5 ml.	500万個/0.5 ml.	500万個/0.5 ml.	500万個/0.5 ml.
側 室	Solcoseryl	(-)	(-)	0.3 ml.	0.4 ml.	0.5 ml.
	K. R. B.	0.5 ml.	0.5 ml.	0.2 ml.	0.1 ml.	(-)

すかを観察した。

実験2 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能におよぼす影響

表2のごとくセットし、Solcoseryl 添加が Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能に及ぼす影響を示すかを観察した。

実験3 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の解糖能におよぼす影響

表3のごとくセットし、Solcoseryl 添加が Ehrlich 腹水癌細胞の解糖能に及ぼす影響を示すかを観察した。

第3章 実験成績

第1節 Solcoseryl の C₅₇BL マウス肝ホモヂネートの呼吸能におよぼす影響

その成績を図1に示した。

すなわち Solcoseryl の添加により、C₅₇BL マウス肝ホモヂネートの O₂ 消費量は著明に亢進し、90分後には対照に比し、約2倍に達した。

第2節 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能におよぼす影響

その成績を図2に示した。

すなわち Solcoseryl の添加により、Ehrlich 腹水癌細胞の O₂ 消費量は著明に亢進し、150分後には、対照に比し、Solcoseryl 0.5 ml 添加群では2.2倍、Solcoseryl 0.4 ml 添加群では1.9倍、Solcoseryl 0.3 ml

図1 Solcoseryl の C₅₇BL マウス肝ホモジネートの呼吸能におよぼす影響

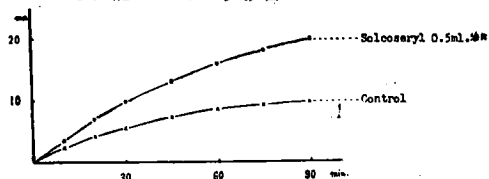


図2 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能におよぼす影響

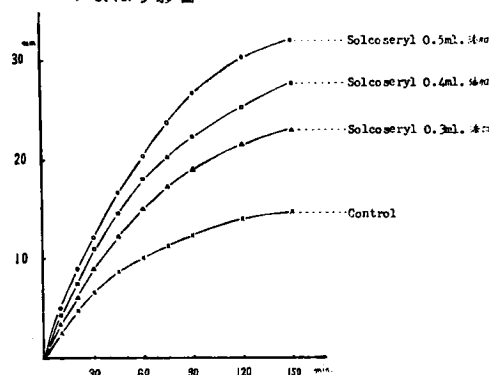
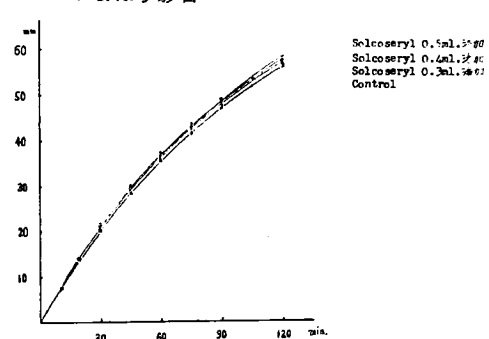


図3 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の解糖能におよぼす影響



添加群では1.7倍に達した。

第3節 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞の解糖能におよぼす影響

その成績を図3に示した。

すなわち Solcoseryl を添加し、120分間観察したが、CO₂ 発生量は対照群との間に有意の差を認めえなかつた。

第4章 総括ならびに考按

第1編¹⁾でのべたごとく、Solcoseryl は網内系機能亢進処置の施された幼牛の血液からの無蛋白抽出剤であり⁸⁾、肉芽形成促進作用を有することから⁹⁾、臨床上演瘍性疾患などに繁用されているが¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾

14)15)16)17)18)、その特徴は何といつても著明な細胞あるいは組織の呼吸能の賦活作用である。Warburgの装置を用いての Staudinger⁶⁾ の実験によれば、Solcoseryl はラットやモルモットの肝ホモジネート、ミトコンドリの酸素消費量を著明に増大し、その程度は ATP, DPN およびチトクローム C の混合物の2倍以上にも達するという。Pirwitz¹¹⁾ は人の赤血球においても、Solcoseryl の影響により酸素交換の増進がみられ、低酸素負荷による家兎心電図上の特異変化 asphyxia T を Solcoseryl の静注により速やかに消失させると報告し、Harrer⁷⁾ は Solcoseryl の前投与により、人の脳波所見で、窒素呼吸後の脳低酸素状態におけるゆるいデルタ波の発現を遅らせるか、弱めると報告し、Lanzetta¹⁰⁾ らは Solcoseryl の低濃度 (10⁻⁴~10⁻⁶) 投与でも、疲労した蛙の摘出心臓に対し、そのリズムと振幅を正常化すると報告している。臨床的にも Stenberg²⁰⁾²¹⁾ らは心筋梗塞に、Stratmann¹⁶⁾ らは硬化性血管病に Solcoseryl が有効と報告している。

このような知見は Solcoseryl が組織の低酸素状態を改善する作用のあることを示唆しており、癌組織に対しても、その酸素代謝障害改善に Solcoseryl は有効でないかと推察される。事実 Barth²²⁾ らは Sarcoma 180 癌マウスの放射線治療時に Solcoseryl を併用し、腫瘍周辺組織の酸素代謝を促進し、好成績をえたと報告している。Solcoseryl の網内系賦活作用に、このような組織酸素代謝障害改善作用が加味されるならば、Solcoseryl は担癌生体にきわめて有効な薬剤と考えられる。

一方、癌の生化学的研究は Warburg⁵⁾ らによつて始まり、1926年、“悪性腫瘍の物質代謝について”を表わし、癌組織は解糖活性が高いことをのべた。これはまさに癌の生化学的研究の先駆となつたものである。しかし、彼が1956年 Science に発表した“癌細胞の起源について”と題する論文は²³⁾、これをめぐつてただちに Weinhouse の批判²⁴⁾ をひき起し、Warburg²⁵⁾ もこれに反論するという、いわゆる Warburg-Weinhouse 論争を生じたことは周知のところである。

Warburg²³⁾ は癌組織では嫌気性解糖が盛んで、好気性条件下でもこれが正常組織ほど抑制されないと報告し、この理由としては、組織培養下の細胞を間歇的嫌気性にして悪性化させた Goldblatt ら²⁶⁾ の例や、uretan, 亜硫酸などの呼吸毒が発癌性を有することから、発癌の機序として非可逆的な呼吸阻害が

加わり、このためエネルギー供給の低下が細胞を嫌気性解糖によってエネルギーをえるようにしむけ、一定の淘汰過程ののち細胞が分化しなくなり、癌化すると主張した。この Warburg の発癌説には解糖が盛んであるというほかに、必然的に呼吸が低下していることを前提としている。

多くの研究者は解糖が盛んである点は一様に認めているが、この呼吸が低下している点、また発癌に呼吸障害が先行することには疑問をいっている。とくに呼吸が低下している主張に対しては、Weinhouse²⁴⁾ は癌細胞は Warburg のいうほど呼吸が低下していないと反論している。

さらにこれに反論して、Warburg²⁵⁾ はほぼ癌細胞のみを実験に供しえる腹水癌や、組織培養の悪性度の高いもの、低いもの、絨毛膜組織について比較し、悪性度の高いものほど嫌気性解糖が高く、呼吸が低いこと、また胚組織は無酸素状態ではかなり高い嫌気性解糖能を示すが、酸素の存在下ではまったく活性のない点が癌と異なり、Weinhouse のいうごとく呼吸、嫌気性解糖の絶対値を問題にするのは意味がないとのべている。

一方、Burk & Schade²⁷⁾ も Weinhouse のまとめた正常組織群中に CN や好気性条件で前処置した例を入れたり、動物の種、組織の差、測定時の medium の差、細胞の不純による差を無視して平均を出すことはまったく無意味で、これを修正して平均すると、休止正常組織群>成長組織群>腫瘍群と呼吸は低下しているという。また Weinhouse は isotope でラベルした glucose から CO₂ 発生が正常な組織も差がないことをもって Warburg らの主張の反論の論拠としているが、Burk らによると ¹⁴C でラベルした glucose、乳酸、醋酸、octanoate、palmitate、アセト醋酸からの CO₂ 発生は正常の方がずっと高い結果となるという。さらに Burk らも呼吸阻害は QO₂ (酸素消費) の低いことよりも、Warburg の考えているように解糖と呼吸の比の大きいことの方が意味があり、たとえば正常でも組織呼吸能は低いかもしれないが、その解糖能も低く、それぞれの相対的比率をもつて考えるべきだとのべている。

近年 Horecker²⁸⁾、Kit²⁹⁾ らは悪性腫瘍の糖代謝に関するすぐれた総説をかき、Chance ら³⁰⁾ は独自の分光学的な解析に基づく腹水癌細胞の呼吸要素に関する考察をおこない、いずれも Warburg の説を支持している。

かかる見地からすれば、Solcoseryl は Ehrlich 腹

水癌細胞の呼吸能を著明に亢進せしめるが、解糖能には影響を与えないという本検索結果より、Solcoseryl は癌細胞の代謝過程を正常組織の代謝過程に引きもどす作用があるといえよう。このことは第1編における Solcoseryl が生体の網内系機能賦活作用を有するという検索結果より合せ考えるに、Solcoseryl は担癌体にとって極めて好都合な薬剤といえよう。

しかし Warburg²³⁾ は生細胞の生産するエネルギー量はほぼ一定していて、あるものは呼吸による生産が高く、あるものは嫌気性解糖による生産が高いだけとのべているが、本検索結果では Solcoseryl の添加により Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能は著明に亢進されるが、解糖能には影響を与えなかつたことより、癌細胞が Solcoseryl の影響によつて高められた呼吸によるエネルギー量だけ余計に高エネルギーを獲得することは明らかである。

一方、生体正常細胞も Solcoseryl の影響により呼吸能を高め、高エネルギーを獲得することは Staudinger⁶⁾ の報告に明らかなることである。本編においても C57BE マウス肝ホモチネートについて同様の検索をおこなつたが、Staudinger が報告したほどでないにしても Solcoseryl はやはり肝ホモチネートの呼吸能を亢進させる作用があることが確認された。

したがつて担癌体に Solcoseryl を投与した場合、その利用環境の差によつては host よりも tumor がより大なるエネルギーを獲得し、癌発育が促進される危険性を否定することはできない。

in vitro において薬剤の悪性腫瘍に対する直接作用を知るには、Warburg の装置を用いて生化学的に悪性腫瘍の呼吸能および解糖能について検索することは、適当な方法ではある。しかしこの方法でえられた in vitro の成績が、in vivo においても同様な結果がえられるとは限らない。

三宅³¹⁾ は担癌マウスにパントテン酸および GABA を投与して延命効果をえたが、これらの薬物は生化学的に腫瘍細胞の解糖能を亢進させる作用があり、生化学的に腫瘍細胞の解糖能を抑制するオロチン酸は、担癌マウスに延命効果をもたらさなかつたと報告している。荒木ら³²⁾ も Ehrlich 腹水癌マウスに移植後 1~6 日目まで連日オロチン酸を腹腔内に投与し、いずれも腫瘍増殖が盛んで、腹水中の腫瘍細胞数が増加したと報告している。

ともあれ、本検索結果からすれば、Solcoseryl の

ような非特異的細胞代謝亢進剤を担癌生体に投与する際には、生体賦活剤が変じて増癌剤になりえる可能性を秘めていることを、常に念頭におく必要がある。

第5章 結 語

Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能および解糖能におよぼす Solcoseryl の影響を Warburg の装置を用い生化学的に検索し、次の結論をえた。

1) Solcoseryl は Ehrlich 腹水癌細胞の呼吸能を著明に亢進させる。

2) Solcoseryl は Ehrlich 腹水癌細胞の解糖能にはほとんど影響を与えない。

3) Solcoseryl は Ehrlich 腹水癌細胞に対し特異性を有してはいないが、高エネルギーをもたらすであろうことが推定される。

稿を終るにのぞみ御指導、御校閲をたまわつた恩師、田中早苗教授、陣内伝之助教授ならびに折田薫三講師に深謝いたします。

(本論文の要旨な第22回日本癌学会総会において発表した)

文 献

- 1) 吉田宏：幼牛血液抽出剤 Solcoseryl に関する実験的研究，第1編，網内系機能におよぼす Solcoseryl の影響。岡山医誌，印刷中。
- 2) 林周一ほか：担癌宿主の抵抗性に関する研究。日癌会記事，23，297—298，1965。
- 3) 遠藤辰一郎：担癌宿主網内系機能と癌腫。第6回日網学会発表，1966。
- 4) 今西嘉男：各種制癌剤と Solcoseryl 併用の制癌効果に関する実験的研究。日癌会記事，22，115—116，1964。
- 5) Warburg, O.: Über den Stoffwechsel den Tumoren. Berlin, 1926.
- 6) Staudinger, H.: 7) より引用
- 7) Harrer, G.: Die funktionellen Druchblutungsstörungen des Gehirns. Wien klin. Wsch., 72, 23—27, 1960.
- 8) Jäger, K. H. u. Mittenzwei, H.: Die Erzeugung einer Splenomegalie bei Kälbern. Klin. Wschr., 36, 441—442, 1958.
- 9) Wickingen, H.: Über die Wirkung eines Blutextraktes auf die Wundheilung. Wien med. Wsch., 110, 90—92, 1960.
- 10) Griess, F. u. Stemberg, Th.: Zur Behandlung des Magen-Zwölffingerdarmgeschwürs. Wien med. Wsch., 107, 451—452, 1957.
- 11) Pirwitz, J.: Clinical Experiences with Solcoseryl. J. Indian Med., 5, 2390—2391, 1958.
- 12) Erba, G. et Casati, C.: Sull' impiego di un nuovo farmaco nella terapia delle ulcere gastroduodenali e varicosa. Res Medicae, 5, 1—27, 1958.
- 13) Tosetti K.: Beitrag zur Therapie des Magen- und Zwölffingerdarmgeschwürs. 56, 356—358, 1961.
- 14) 大島良雄ほか：幼牛溶血抽出剤 Solcoseryl による胃・十二指腸潰瘍並びに Behçet 氏病口内潰瘍の治療成績。臨床消化器病学，9，737—744，1961。
- 15) 並木正義ほか：消化性潰瘍にソルコセルルを使用してみた。治療，18，1125—1133，1965。
- 16) Stratmann, F. W. & Paul, O.: The treatment of diabetic gangrene, X ray ulcer and traumatic dystrophy. Reprinted from Ärztl. Paraxis im Bild, H. 5S., 141—143, 1960.
- 17) Fritzsche, W.: Förderung der Tumor- Ulkushheilung durch eiweißfreien Kälberblutextrakt. Z. Haut-Geschl.-Kr., 30 (8), 235—238, 1961.
- 18) Gäbel, E. u. Paul, O.: Über die Therapie der Röntgenulzera mit Actihämyl. Münch. med. Wsch., 103, 1377—1379, 1961.
- 19) Lanzetta, A. et Mezzasalma, G.: Atti del 3° Congr. Internaz. Angiol., San Remo, 1958.
- 20) Stemberg, Th. u. Griess, F.: Myokardinfarkt. Wien med. Wsch., 108, 508—512, 1958.
- 21) Griess, F. u. Stemberg, Th.: Myokardinfarkt. Wien med. Wsch., 110, 313—316, 1960.
- 22) Barth, G. et al.: Über die Wirkung eines die Zellatmung steigernden Organextrakt auf das Mäusensarkom S 180 unter Strahlenbehandlung bei paratumoraler und intramuskulärer Injektion. Strahlentherapie, 113, 584—594, 1960.
- 23) Warburg, O.: On the Origin of Cancer Cells. Science, 123, 309—314, 1956.
- 24) Weinhouse, S.: On Respiratory Impairment in

- Cancer Cells. Science, 124, 267—269, 1956.
- 25) Warburg, O. : On Respiratory Impairment in Cancer Cells. Science, 124, 269—270, 1956.
- 26) Goldblatt, H. & Cameron, G. : Induced malignancy in cells from rat myocardium subjected to intermittent anaerobiosis during long propagation in vitro. J. Exp. Med., 27, 525—563, 1953.
- 27) Burk, D. & Schade, A. L. : On Respiratory Impairment in Cancer Cells. Science, 124, 270—272, 1956.
- 28) Horecker, B. L. & Hiatt, H. H. : Pathways of carbohydrate metabolism in normal and neoplastic cells. New Engl. J. Med. 258, 177-184, 1958.
- 29) Kit, S. & Griffin, A. C. : Cellular Metabolism and Cancer, A Review. Cancer Res., 18, 621—656, 1958.
- 30) Chance, B. & Hess, B. : Spectroscopic evidence of metabolic control, Rapid measurements of intracellular events afford new evidence on mechanisms for metabolic control. Science, 129, 700—708, 1959.
- 31) 三宅一忠 : 液性抵抗因子と癌に関する実験的研究. 岡山医誌, 77, 1201—1231, 1960.
- 32) 荒木正哉ほか : Ehrlich 腹水癌におよぼすオロツト酸の影響, ビタミン, 19, 567—567, 1960.

Experimental Studies of a Protein-Free Extract from Calf Blood with High RES Activity (Solcoseryl)

Part II

Effects of Solcoseryl on Erobic and Anerobic Glycolysis of Ehrlich Ascites Tumor Cells

By

Hiroshi YOSHIDA

The First Department of Surgery, Okayama University Medical School, Japan
(Director: Prof. Sanae Tanaka)

The effects of Solcoseryl on erobic and anerobic glycolysis of Ehrlich ascites tumor cells was studied by using the Warburg's manometer.

The results were as follows;

Solcoseryl had a stimulating action on erobic glycolysis, but had no effect on anerobic glycolysis of Ehrlich ascites tumor cells.
