

## 液性抵抗因子と癌に関する実験的研究

## 第 3 編

血清 properdin 上昇作用および制癌性を有する  
薬剤の作用機序に関する実験的研究

(本論文の要旨は第20回日本癌学会総会において発表した.)

岡山大学医学部第1外科教室(指導:田中教授)

三 宅 一 忠

〔昭和40年9月24日受稿〕

## 目 次

第1章 緒 言	第3章 実験成績
第2章 実験方法	第1節 Pantothenic acid 投与時の肝カタラーゼおよび血清 properdin 値の変動
第1節 実験動物	第2節 各種薬剤が癌細胞の嫌気性解糖におよぼす影響
第2節 実験腫瘍	第3節 ACTH, Cortoisne の血清 properdin 値及び担癌動物に及ぼす影響
第3節 検体採取法	第4章 綜括ならびに考案
第4節 投与薬剤	第5章 結 論
第5節 血清 Properdin 値測定法	
第6節 肝カタラーゼ活性値の測定法	
第7節 嫌気性解糖測定法	
第8節 実験群	

## 第1章 緒 言

第2編において、血清 properdin 値上昇作用を有する薬剤を担癌マウスに投与した場合 pantothenic acid および GABA においては、延命作用があり、しかも properdin 値低下阻止作用も著明であつた反面、正常動物においては properdin 上昇作用を有していた Orotic acid や Vitamin K の投与では、担癌マウスに延命があまりみられず、properdin 値低下阻止作用も小さかつた。すなわち、これら薬剤の作用機転を血清 properdin にのみ帰納することは困難であることを知つた。本編では血清 properdin 上昇作用と抗腫瘍を併せもつ、pantothenic acid と GABA の癌に対する作用機転を解析するべく試みた。

これら薬剤の抗腫瘍性を何を用いて検索するかということ、重要な問題であるが、1つは担癌動物に薬剤を投与し、経目的に肝カタラーゼ活性値がいかに変るかをみる方法である。なんとなれば、Greenstein<sup>1)</sup>が指摘したように、担癌生体に共通にみ

られる最も著明な変化は、肝カタラーゼの減少であるが故である。その他貧血、副腎の肥大なども特長である。中原、福岡<sup>2)</sup>は癌組織や、癌患者の体液より、肝カタラーゼを顕著に減少せしめる蛋白様物質、Toxohormone を分離し、このものが悪液質の本態をなし、腫瘍死の直接原因であると述べている。他方、癌細胞自体の特長は、Warburg<sup>3)4)</sup>の発癌説の基礎にもなつているがごとく、嫌気性解糖能が著しく亢進していることである。したがつて in vitro で上記の薬剤が、腫瘍細胞の嫌気性解糖能にいかなる影響を与えるかを調べることも意味が大きいと思われる。さらに、これら薬剤に ACTH ような作用のあることが明らかにされているので<sup>5)6)</sup>、ACTH や副腎皮質ホルモンを担癌生体に投与して、そのさいの血清 properdin 値や腫瘍死時期におよぼす影響を観察することも必要かと考えられる。

上記の理由から、Ehrlich 担癌マウスおよび Ehrlich 癌細胞自体に pantothenic acid や GABA および ACTH、副腎皮質ホルモンを作用せしめ、in vivo お

よび *in vitro* の研究をおこなつた。

## 第2章 実験方法

### 第1節 実験動物

実験動物には市販雑系家兎および岡大医学部マウスコロニーにて育成された雌雄の C<sub>b</sub> 系マウスで、生後4~5週間のものを購入し、飼料はオリエンタル酵母製の実験用固型飼料 MF および新鮮野菜を用いた。家兎は体重 21g 以上の雄を用い、市販豆腐粕と人参などで飼育した。

### 第2節 実験腫瘍

実験に使用した悪性腫瘍は岡大癌研より分与された Ehrlich 腹水腫瘍である。C<sub>b</sub>系マウスの腹腔内に継代移植を行い、移植後7~10日以内の非血性のものを実験に用いた。使用時、生理食塩水で数回洗浄し、可及的癌細胞のみになるようにつとめた。

### 第3節 検体採取法

家兎にあつては、耳静脈より採血を行い、室温にて凝固させて血清を分離した。分離血清は -30°C に冷凍室に保存し、少くとも30日以内に実験に供した。マウスにあつても同様であるが、断頭ト殺して頸動脈より採血し、場合によつては充分脱血の後、早急に肝組織を採取した。

### 第4節 投与薬剤

血清 properdin 上昇作用を有する薬剤の中より pantothenic acid, GABA (*r*-aminobutyric acid), Orotic acid を選び、副腎皮質に関係するものとしては ACTH 及び Cortisone acetate を用い、制癌剤としては Thio-TEPA, Mitomycin C, 場合によつては Carzinophilin を併用した。

### 第5節 血清 properdin 値測定法

第1編で述べたように、McNall<sup>7)</sup>, Hunter 及び Hill<sup>8)</sup> の変法になる教室の折田<sup>9)</sup> の方法を用いた。

### 第6節 肝カタラーゼ活性値の測定法

断頭、脱血後早急に得た肝組織の 0.1g に M/150 磷酸緩衝液 10ml を加えて homogenate し、Dounce<sup>10)</sup> の方法により肝カタラーゼ活性を測定した。(図1)

図1 肝カタラーゼ活性値測定法

材料	マウス	組織	0.1g
方法	↓	M/150 磷酸緩衝液	
	↓		
		homogenate (2分間)	
		1 ml 採取	
			0.01 規定過酸化水素水 50ml
			振盪

### 5ml 採取

10% 硫酸溶液 5ml

↓ 5% 沃度カリ溶液 1ml

飽和モリブデン酸溶液 0.5ml

3分以上放置

1% 澱粉溶液を指示薬として

1/200規定チオ硫酸ソーダで滴定

### 第7節 嫌気性解糖測定法

柳本製作所製の Warburg 検圧計を用い、容器は主室、側室、及び副室を各1個を有するものを使用した。

実験方法は、良く洗浄した癌細胞を、Ca<sup>++</sup>をぬいた Krebs-Ringer Bicarbonate 緩衝液 (PH7.4, K. R. B. と略) に浮遊せしめ主室に入れ、側室には薬剤を入れ、解糖能を測定した。嫌気性解糖測定には、セット完了後窒素ガスを容器1個につき、毎分1.5l, 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分後に側室を主室に加え 60~180分観察した。振盪回数は1分間100回である。

### 第8節 実験群

第1項 pantothenic acid 投与時の肝カタラーゼ及び血清 properdin 値の変動。

a) 正常健康 C<sub>b</sub>系マウス18匹を3匹づつ6群に分ち、1群を対照群(非処置群)とし、他の3群には、夫々、pantothenic acid (以下 pa. A) 5mg, Thio-TEPA 80%, Mitomycin C (MC と略) 10%, を単独皮下注射し、残りの2群には、それぞれ pa. A 5mg と Thio-TEPA 80%, 及び pa. A 5mg と MC 10% を併用皮下注射した。皮下注射は1回量 0.3ml とし、1日1回、7日間投与し7日目に断頭ト殺して肝組織を採取し、肝カタラーゼを測定した。

b) 正常 C<sub>b</sub>系マウス40匹を8匹づつ5群に分ち、1群を非処置対照群とし、残りの4群に Ehrlich 腹水癌細胞 4 × 10<sup>6</sup>個/マウス腹腔内に移植し、そのうち1群を非処置担癌マウス対照群とした。3群には、pa. A 5mg, MC 10% を単独に pa. A 5mg と MC 10% を併用してそれぞれ皮下に7回注射し、接種後4日目、8日目、11日目、及び14日目に各群より2匹づつ断頭し、血清及び肝組織を採取し検査に供した。

第2項 各種薬剤が癌細胞の嫌気性解糖に及ぼす影響。

a) 容器7個を用い、図2の如くセットして、pa. A, MC, Thio-TEPA あるいはこれらの併用附加が癌細胞の嫌気性解糖に及ぼす影響をしめすか観察した。

図 2

容器番号	主 室	側 室	副 室
I	M/10 glucose 0.5ml Tumor cells 400万 0.5ml. K. R. B. 1.0ml	Pantothenic acid 5mg. 0.5ml	
II	"	Mitomycin C 10r. 0.5ml	
III	"	Thio-TEPA 80r, 0.5ml	
IV	"	Pantothenic acid 5mg + Mitomycin C 10r, 0.5ml	
V	"	Pantothenic acid 5mg + Thio-TEPA 80r, 0.5ml	
対照 1	"	K. R. B. 0.5ml	
対照 2	K. R. B. 2.0ml	"	

b) 容器5個を用い、図3の如くセットして、pa. A と Carzinophilin 附加時の影響を観察した。

c) 容器7個を用い、図4の如くセットしてGABA,

Orotic acid の単独附加、あるいはこれらと Thio-TEPA を合併附加したさいの、嫌気性解糖を同様に測定した。

図 3

容器番号	主 室	側 室	副 室
I	M/10 glucose 0.5ml Tumor cells 400万, 0.5ml. K. R. B. 1.0ml	Pantothenic acid 5mg. 0.5ml	
II	"	Carzinophilin 2r, 0.5ml	
III	"	Carzinophilin 2r + pantothenic acid 5mg, 0.5ml	
対照 1	"	K. R. B. 0.5ml	
対照 2	K. R. B. 2.0ml	"	

図 4

容器番号	主 室	側 室	副 室
I	M/10 glucose 0.5ml Tumor cells 400万, 0.5ml. K.R.B.10ml	GABA 5mg. 0.5ml	
II	"	Thio-TEPA 80r, 0.5ml	
III	"	GABA 5mg + Thio-TEPA 80r, 0.5ml	
IV	"	Orotic acid 4mg 0.5ml	
V	"	Orotic acid 4mg + Thio-TEPA 80r, 0.5ml	
対照 1	"	K. R. B. 0.5ml	
対照 2	K. R. B. 2.0ml	"	

第3項 ACTH, Cortisone の血清 properdin 値及び担癌動物に及ぼす影響。

a) 血清 properdin に対する影響をみるは、家兎を12羽用い、3羽づつ4群に分ち、ACTH 2.5 I. U. / kg, Cortisone acetate 2.5mg/kg を皮下注射により1日1回、7日間連続投与し、注射前、注射後2時間、

5時間、1日、3日、9日目にそれぞれ耳静脈より採血、血清を分離した。対照群としては、残りの2群に pa. A 10mg/kg, GABA 250mg/kg をそれぞれ投与し、同様に採血した。

b) 正常 C<sub>6</sub>系マウス70匹を用い、15匹づつ1群とした4つの実験群と、10匹からなる対照群に分けた。

各群に Ehrlich 腹水癌100万個/マウスを腹腔内に移植し、移植1時間後から各実験群を ACTH 0.75 I. U. /マウス Cortisone acetate 37.5mg/kg, GABA 5mg/マウス, pa. A 5mg/マウス, をそれぞれ1日1回, 7日間皮下注射し, 各群の生存日数を調べた.

### 第3章 実験成績

#### 第1節 pantothenic acid投与時の肝カタラーゼおよび血清 properdin 値の変動.

a) pa. A 単独投与群では非投与対照群に較べて肝カタラーゼのわずかな上昇がみられ, Thio-TEPA, MC の投与では対照群に比し70%前後低下している. しかしこれら制癌剤に pa. A を併用投与してやると, カタラーゼ値の低下をある程度阻止しえた (図5)

図5 Catalase 活性の比較 (I)

正常健康マウス群	23.6
Pantothenic acid 投与マウス群	24.3
Thio-TEPA 投与マウス群	15.0
Thio-TEPA, Pantothenic acid 併用投与マウス群	17.3
Mitomycin C 投与マウス群	16.5
Mitomycin C, Pantothenic acid 併用投与マウス群	19.7

b) 非処置対照群の担癌マウスにおいては, 肝カタラーゼは急速に低下して, 移植14日までに全例腫瘍死したため14日目の値は計測不能であった. Pa. A 単独投与群では, 14日目においても, かなりの高値に止まっている. MC 単独投与群, および pa. A 併用群においては, 移植8日目まではカタラーゼ値が低下してくるも, それ以後は改善し14日目においても, 正常対照群に比し63%, 75%とその低下率は少い (図6). このさいの血清 properdin 値を測定す

図6 Catalase 活性の比較 (II)

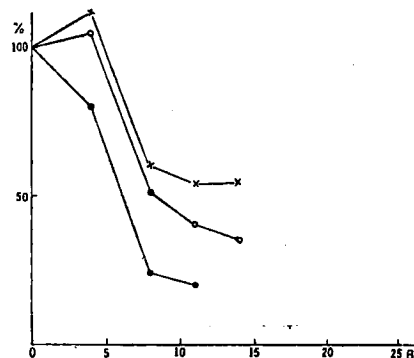
癌細胞接種後の経過日数	4日目	8日目	11日目	14日目
正常健康マウス群	38.5	38.8	38.2	38.9
未処置対照の担癌マウス群	22.7	11.2	7.1	
Pantothenic acid 投与マウス群	24.3	10.7	10.0	8.1
Mitomycin C 投与マウス群	21.9	19.3	25.3	24.0
Mitomycin C + Pantothenic acid 投与マウス群	25.5	16.4	28.6	28.9

ると図7の如く, 非処置担癌対照群では, 第II編の

場合と同様著明に低下し斃死するが, 肝カタラーゼを高値に保つた MC, 及び MC と pa. A 併用群においては, properdin 値も高く保もたれている.

図7 Catalase 測定時の Properdin 値の変動

●—● 対照  
○—○ Mitomycin C 10 $\gamma$ /匹  
×—× Mitomycin C 10 $\gamma$ /匹 + Pantothenic acid 5mg/匹



#### c) 小括

担癌生体の肝カタラーゼが担癌マウスにおいて腫瘍の増大するにつれて活性度を低下するという事実が, Greenstein<sup>1)</sup>により明かにされてから, 癌毒素の研究が肝カタラーゼの低下という, 癌特有な表現様式を指標として, いろいろ試みられてきた. 1948年中原, 福原<sup>11)</sup>が癌組織の煮沸抽出液から肝カタラーゼ活性を低下させる物質をとりだし, Toxohormon と名命した. この Toxohormon が, 出来あがつたカタラーゼに作用せずその合成過程を attack することも中原により, ほぼ推論されており, Price 及び Greenfield<sup>12)</sup>によつても, 事実確認が行われている. ともあれこの肝カタラーゼ活性値低下の原因となる Toxohormon は腫瘍そのものの生成, 分泌産物であり, 腫瘍の切除により, 正常に復するとともに逆に腫瘍増大につれて増加することなどから考えて, 有効なる抗癌性の物質の投与により, Toxohormon によるカタラーゼ活性値の低下は, ある程度防止しうるものと思われる. ところで制癌作用有効物質の効力判定方法は, 多くの議論のあるところであるが, 吉田<sup>13)</sup>は実験動物のスクリーニングテストの結果で, ある物質が有効であると判定するための条件として, 少くとも, ある種の動物腫瘍について, 確実な特殊な細胞効果の観察を, 形態学的方法か, 生化学的方法で行うことを要求している. 健康組織と腫瘍組織の間に決定的な化学的相違が認められない今日では,

癌組織や癌細胞内の構成成分の化学的定量のみを眺めず、佐藤、抽木の癌毒素<sup>14)</sup>、あるいは中原のいう *toxoid hormone* の活性を考慮するなら、間接的ではあるが制癌効果の判定を担癌動物の肝カタラーゼ活性低下の恢復によつて推定することも可能である。本実験に於いて示された担癌動物の肝カタラーゼ活性低下の改善は、そのまま MC. や pa. A の制癌効果をうらぎっているといえよう。

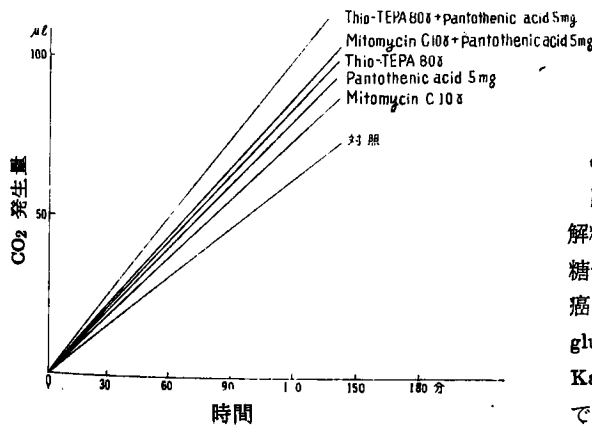
カタラーゼは鉄ポルフィリン系酵素に属するものであるが、カタラーゼの生成に対して Thio-TEPA, あるいは pa. A が直接影響をもたないとはいえない。中原は担癌動物における肝カタラーゼ減少の原因として、鉄利用の障害を主張した<sup>15)</sup>、佐藤<sup>16)</sup>も担癌体において、金属ポルフィリンの減少することを観察し、カタラーゼ減少の原因としてポルフィリン環への鉄転入の障害を予想している。Pa. A 投与が Toxohormon の attack を阻止すると共に、抗癌剤による腫瘍の増大抑制による Toxohormon の減少とあいまって、肝カタラーゼ低下をより一層抑制するものと考えられる。

本実験においても、事実そのとおりの結果が示されることとなり、また生体代謝過程の正常化は蛋白分層の一構成因子である *properdin* にも、低下抑制傾向をしめしてくるものと思われる。

## 第2節 各種薬剤が癌細胞の嫌気性解糖におよぼす影響。

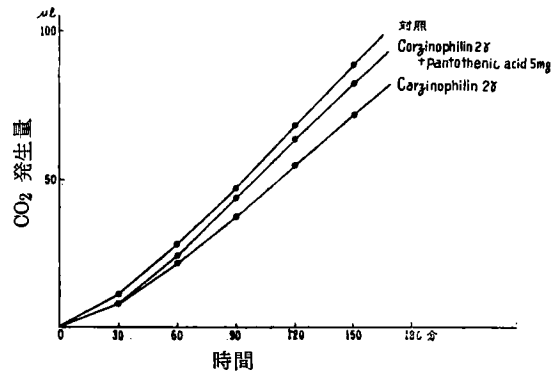
a) pa. A, 及び制癌剤たる MC, Thio-TEPA 附加の場合についてみると、いずれも対照に比し解糖能を亢進せしめ  $\text{CO}_2$  発生量が増大している。pa. A とこれら制癌剤を併用附加すると、単独附加時にくらべ、さらに解糖能を亢進せしめる。(図8)

図8 In Vitro における Ehrlich 腹水癌の嫌気性解糖に対する Mitomycin C, Thio-TEPA と Pantothenic acid 併用時の影響



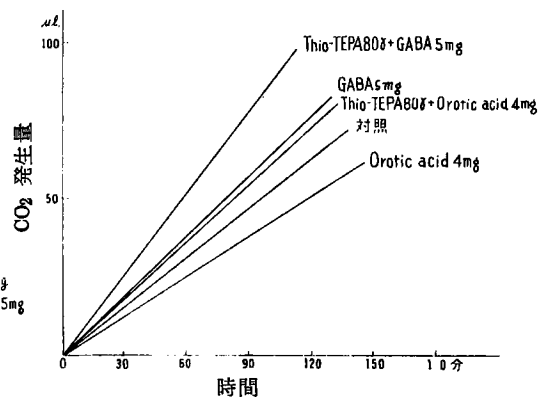
b) Carzinophilin 単独附加の場合は、対照に比し、明らかに解糖能を抑制するが、pa. A を合併附加すると、抑制が阻まれ、むしろ対照に近くなってくる。(図9)

図9 In Vitro における Ehrlich 腹水癌 (移植後7日目  $400 \times 10^4$ 個) の嫌気性解糖に対する Pantothenic acid の影響



c) GABA, Orotic acid 添加のさい、GABA は明らかに腫瘍細胞の嫌気性解糖能を上昇せしめるが、Orotic acid は、多少ともこれを抑制するかにみえるし Thio-TEPA と併用してやれば、いずれも大巾の上昇がある。

図10 In Vitro における Ehrlich 腹水癌の嫌気性解糖に対する Thio-TEPA と GABA, Orotic acid 併用時の影響



## c) 小括

腫瘍組織では生活や増殖のエネルギー源を呼吸と解糖に求めている。腫瘍細胞が *in vivo* で著しい解糖作用をおこなっていることは、古く Cori<sup>17)</sup> らが癌組織からの静脈血は正常組織からの静脈血より glucose が少く、乳酸が多い事実より明らかにし、Kahler & Robertson<sup>18)</sup> は glucose を注射した生体内で、肝臓の PH が低下することより、また最近担癌

動物に glucose 注入すると、循環血中の乳酸量が増加するが、正常動物ではみとめなかつたという、間接的な証明もある。in vitro における解糖作用の追求は、1926年 Warburg<sup>19)</sup> により高解糖、かつ嫌気性のものであることが、特色づけられ、呼吸は相対的にみて、低いことが明らかにされた。

ともあれ、このような腫瘍細胞の energy 代謝の機構に対し、先に第Ⅱ編で担癌生体に、投与せられた制癌剤や、pr. 値上昇物質が、いかなる影響を及ぼすであろうか。

山県<sup>20)</sup>は各種制癌剤をとりあげ吉田肉腫細胞の嫌気性解糖に及ぼす影響を観察し、解糖抑制効果は同一でなく、amine-N-oxide hydrochloride は少量で抑制効果をもとめたが、Thio-TEPA は転移には抑制するが、その抑制効果は期待できないとしている。またSohloff<sup>21)</sup>らはmitomycin CがCrocker rat carcinom の嫌気性解糖に影響を与えないといい、C.G. Schmidt は吉田腫瘍を材料にしてCarzinophilinの解糖作用に対する影響を観察し、10分後よりCO<sub>2</sub>発生量の抑制現象が表われることをみとめ、これに核酸代謝に関係の深い、ニコチン酸アミドを添加することで、解糖能が、再び上昇してくることをみとめている。

一般に抗癌剤のうちで alkyl 化剤は癌細胞に対して、その energy 生産酵素系に働いて、高濃度では、解糖も呼吸も抑制するが、10<sup>-5</sup>M 濃度以下では、解糖に対してほとんど大きな影響を与えないという<sup>22)</sup>。しかし energy 生産系にあまり阻害を与えないような低濃度でも、癌細胞の deoxyribonucleic acid 代謝や蛋白合成は alkyl 化剤によつて阻害される。このことはX線は解糖にあまり影響を及ぼさず、酸化的磷酸化、deoxyribonucleic acid 代謝、蛋白合成の阻害をしめすのとよく似ている。

また多くの癌細胞は、いわゆる TCA-Cycle を經由する energy 代謝を余り用いないで、細胞の可溶性部分で、いわゆる解糖過程を辿つて energy を得るのが普通である。可溶性部分の代謝は、いわば酵素群の混合溶液のなかでの代謝に近く、その拮抗阻害は、おおむね可逆的に代謝物質と量的にやりあいを行うものと考えられる。しかも化学療法剤として、いままでに解糖過程の拮抗阻害を行うものは見出されていない現状である。

本実験も第Ⅱ編で試みた動物実験で示されたところの延命効界が、投与薬剤の Ehrlich 腹水癌細胞の、エネルギー代謝系に対する何等かの影響のあらわれでないかと想像して、この実験を行つてみたが、

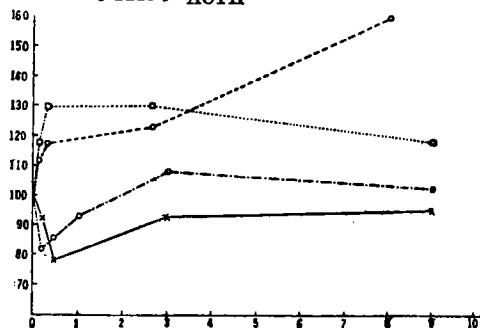
解糖抑制作用はみられず、むしろ促進する傾向さえうかがわれた。

### 第3節 ACTH, Cortisone の血清 properdin 値及び担癌動物に及ぼす影響。

a) ACTH 投与群では、2時間後には20%に近い properdin 値の一過性低下を来たしたが、5時間後には回復の傾向がみられ、9日後には投与開始前以上の値に達した。Cortisone 投与群では、2時間後には ACTH 同様10%前後減少をしめし、5時間後でも回復の微なくさらに20%以上の著明な低い傾向にあつた。これに対し GABA, pa. A は投与直後から properdin 値を上昇せしめる (図11)。

図11 GABA, Pantothenic acid, Cortisone, ACTH 投与時の家兎血清 Properdin 値

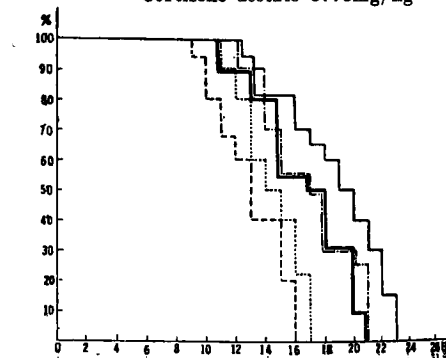
□.....□ GABA  
○.....○ Pantothenic acid  
×——× Cortisone  
○-----○ ACTH



b) ACTH 投与群では、癌移植後13日から21日の間に斃死し、SD<sub>50</sub>は18日であつた。Cortisone 投与群

図12 Ehrlich 腹水癌マウスに対する GABA, Pantothenic acid, ACTH, Cortisone 投与時の延命効果

..... 対照  
—— Pantothenic acid 5mg/匹  
—— GABA 10mg/匹  
- - - ACTH 0.75I. U. /匹  
- - - Cortisone acetate 37.5mg/kg



では、9日から16日の間に死亡し、SD<sub>50</sub>は13日で腫瘍非薬剤投与群のSD<sub>50</sub>14日に比べると、むしろ短命におわる。pa. A や GABA の場合は、SD<sub>50</sub> がそれぞれ18日、21日であり、ACTH 投与群に近似した延命効果がみられる (図12)。

#### o) 小括

一般に癌の生長の自律性は、正常組織がうける程には、ACTH や Cortisone などのホルモンの支配を受けていないように思われる。しかしながら Talalay<sup>23)</sup> らは下垂体除去をうけた動物で、Walker 癌の増殖が対照の64%に阻止せられることをみている。Sugiyama<sup>24)</sup> も Ehrlich 癌移植マウスを使用し、Cortisone 37.5mg/kgの皮下注射では、固形腫瘍に僅かに抑制的に働き、腹水型腫瘍には著効を呈することをみている。また Watson<sup>25)</sup> らも Cortisone が Ehrlich 癌の発育を抑制すると報告している。

いわゆる systemic stress によつて炎症性肉芽の増殖が抑制せられることは Selye<sup>26)</sup> の業績によつて明らかなることであり、ACTH、Cortisone は炎症抑制的に、STH、DOCA は炎症促進的に働くことはよく知られている。Schober<sup>27)</sup> は、間葉性組織反応が Cortisone により抑制され、これを腫瘍発育抑制の一因と考えており、さらに副腎の束状層に種々の変化がみられることから、全身性の反応が副腎を介しておることとしている。ACTH や Cortisone には、腫瘍細胞を破壊する作用はないが、リンパ性および上皮性組織にたいし、Cortisone が新しい有糸分裂数を減じ、軽度の染色体分裂毒であるという見方をする人もある。

反対に Klein は ACTH の腹腔内注射は Ehrlich 腹水癌の生長速度に影響を及ぼさないといつている。また移植腫瘍において、Cortisone は軽度促進作用をしめすと、いくつかの報告があり<sup>28)</sup>、さらに臨床的にも同様の事実が知られている<sup>29)</sup>。

以上の所見から、pa. A、GABA のなかに ACTH 様作用因子が含まれていることは明らかであるが、抗癌生体に投与された場合に果たす役割が、どの程度のものか判別することは、仲々むずかしい問題である。

本実験では、家兎血清 pr. 値に対する影響、Ehrlich 腹水癌マウスに対する延命作用をとりあげて、比較検討してみたが、血清 pr. の面からみれば GABA、Pa. A は家兎に投与直後から pr. を上昇せしめるが、ACTH、Cortisone にあつては、投与直後 pr. の低下がみられる点で、かなり作用機点に相違が感じられた。

延命効果の点では Cortisone は対照にくらべて、Ehrlich 腹水癌抑制作用は少く、ACTH には pa. A、GABA とともに多少とも抑制効果がみられたが、pa. A、GABA の Ehrlich 腹水癌抑制作用を ACTH 様作用だけで説明することは困難と思われる。pr. 上昇を含めた全身抵抗性の増強がかなり有力な因子として働いていると考えられる。

#### 第4章 総括ならびに考案

血清 pr. 上昇作用を有し、しかも単独投与により抗腫瘍性をもつ pa. A、GABA につき、その作用機転を解明すべく、in vivo、in vitro の面から研索したわけであるが、これら薬剤には ACTH 様作用をもつということをはっきりとした。pa. A や GABA の癌細胞に対する in vitro での嫌気性解糖に対する影響では、いずれも解糖能を亢めこそすれ、少くとも抑制することはない。in vivo においては担癌マウスの肝カタラーゼの下降を、かなり強く抑制する。しかも in vivo で担癌マウスにこれら薬剤を投与すると、多少延命的作用を来す。更に ACTH 様作用に注目して、担癌マウスを用いての研究では、血清 pr. 値を上昇せしめる。GABA 投与が、最も強い延命効果をもたらし、pr. 値を低下せしめる Cortisone が adverse effect を呈し、癌を増悪せしめ、ACTH、pa. A が中間にあつて、やや延命効果をきたした。Cortisone に関しては、この投与は、網内系の機能を低下せしめ<sup>30)</sup>、且つ血清 pr. を低下せしめることが知られている<sup>31)</sup>。このさい Cortisone は細胞性抵抗を強く障害するため、Cortisone の adverse effect を網内系、ことに pr. にのみ帰納することはできない。ともかく pa. A、GABA は担癌動物の抵抗力を中介として、癌細胞に作用することは明らかである。このことは、組織培養せる癌細胞増殖を抑制しえないという事実<sup>32)</sup><sup>33)</sup>からも裏づけられる。GABA、pa. A が ACTH と異なる点は、投与直後の一過性の低下がなくして、投与直後から pr. を上昇せしめる点にある。Hoff<sup>34)</sup> は中枢神経の刺激により血清 pr. が2倍以上も上昇することをみている。また折田<sup>35)</sup>も、脳腫瘍の術後は腹部疾病と異り、術直後より pr. が著明に上昇するとのべている。GABA、pa. A は少くとも、一分は脳下垂体を介して ACTH 様作用すると共に、より上位の間脳、あるいは直接網内系に作用して、血清 pr. を含めた生体の抵抗力を亢めるものと思われる。

制癌剤を担癌生体に投与すると、それが無効なる

ときは、癌増生のためにすでに下降している血清 pr.、肝カタラーゼを更に低下せしめ、癌を増悪せしめて癌毒素 (Toxohormon など) を更に増量し、血中に放出された癌壊死物質とあいまつて、網内系や鉄代謝を更に阻害し、肝カタラーゼや pr. を低下せしめるという悪循環がおこり、悪液質が出現するものと思われる。かかるころえ、pa. A, GABA 如き薬剤を併用すると、この悪循環が離断され、担癌生体の抵抗力を増強するものと考えられる。生体に殆んど副作用のない、かかる薬剤の併用投与は臨床にも極めて有用なることと思われる。

### 第5章 結 論

血清 pr. 値上昇作用を有し、かつ担癌生体投与により制癌性を発揮する pa. A 及び GABA の作用機軸を解析すべく、in vitro, in vivo の実験を行い次の結果をえた。

1) pa. A は正常マウスにおいて肝カタラーゼ活性を増強し、担癌マウスに単独、あるいわ制癌剤と併用すると、その増強はより著明となる。

### 文

- 1) Greenstein, J. P.: *Biochemistry of Cancer*, New York, 2nd Ed., 1954.
- 2) 福岡文子: 癌研究の進歩, 345~364, 医学書院, 1956.
- 3) Warburg, O.: *Science*, 123, 109~114, 1956.
- 4) Warburg, O.: *Science*, 124, 269~270, 1956.
- 5) 高坂睦年, 森昭胤: 最新医学, 16, 968~911, 1961,
- 6) 熊谷朗 他: 日本臨床, 18, 2076~2083, 1960.
- 7) McNall, E. G.: *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.*, 94, 399~404, 1957.
- 8) Hunter, D. W. and Hill, J. M.: *Amer. J. Clin. Path.*, 29, 128~134, 1958.
- 9) Orita, K.: *Acta Med. Okayama*, 15, 22~38, 1961.
- 10) Summer, T. B. and Dounce, A. L.: The technique and method of estimation of Catalase activity. *The method of Enzymology*, 1955.
- 11) 中原和郎, 福岡文子: *Gann*, 40, 45~71, 1949.
- 12) Price & Greenfield.: *J. Biol. Chem.*, 209, 363~376, 1954.
- 13) 吉田富三: 医事新報, 1690, 3~18, 1956.

2) pa. A, GABA, Orotic acid 及び Thio-TEPA Mitomycin C は in vitro で Ehrlich 癌細胞の嫌気性解糖能をむしろ促進し, Carznoiphilin は, これを低下せしめる。

3) pa. A, GABA の血清 pr. 値に及ぼす影響は, ACTH 投与時のそれに近似し, Cortisone のそれとは異り, 投与終了後も pr. 値を高値に保もつ。

4) GABA, ACTH, pa. A 担癌マウスに延命効果をもたらすが, Cortisone は, むしろ癌を増悪せしめる。

5) 以上の事実から, pa. A 及び GABA は, 腫瘍細胞に直接作用するのではなく, 高位の脳中枢を介して脳下垂体に作用し, 他方宿主の細胞ことに網内系や肝に作用して, 血清 pr. を含めた抗腫瘍性因子を亢めるものと結論した。

稿を終るにのぞみ御指導, 御校閲を賜わつた陣内教授, および田中教授に深甚の謝意を表するとともに, 本実験について種々御指導御援助を賜わつた折田博士に感謝する。

### 献

- 14) 佐藤八郎, 柚木一雄: *Gann*, 44, 69~71, 1953.
- 15) 福岡文子, 中原和郎: *Gann*, 44, 1~12, 1953.
- 16) 佐藤八郎: 日本内科学会誌, 45, 563~600, 1956.
- 17) Cori, G. F. and Cori, G. T.: *J. Biol. Chem.*, 64, 11~12, 1925.
- 18) Kahler, H. and Robertson, W. V.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 3, 495~501, 1943.
- 19) Warburg, O.: *Über den Stoffwechsel den Tumoren*, Berlin, 1926.
- 20) 山県英士: 日本内科学会誌, 49, 271~288, 1960.
- 21) Scholoff, B. et al.: Reprinted from *Growth*; XXXIII, 109, 1959.
- 22) 塚越茂 他: 生化学, 31, 323~328, 1959.
- 23) Talalay, D. et al.: *Cancer Res.*, 12, 838~843, 1952.
- 24) Sugiura, K.: *Cancer Res.*, 13, 431~441, 1953.
- 25) Watson, B. E. M.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 20, 219~225, 1958.
- 26) Selye, H.: *Z. Krebsforsch*, 60, 316~333, 1955.
- 27) Schober, R.: *Z. Krebsforsch*, 59, 28~43, 1954.
- 28) Agosin, M. et al.: *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, 80, 128~131, 1952.



- 29) Taylor, S. G. et al.: J. A. M. A., 144, 1058~1064, 1950.
- 30) Reticuloendothelial structure and function: The Proceedings of the third international Symposium on the reticuloendothelial System, Ronald Press Co. New York, 1960.
- 31) Ross O. A.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 66, 274~278, 1956.
- 32) Southam, C. M. et al.: Proc. Soc. exp. Biol. & Med., 102, 63~67, 1959.
- 33) Bolande, R. P. and Todd, E. W.; A. M. A. Arch. Path., 66, 720~732, 1958.
- 34) Hoff, F.: Medicine. of Japan in 1659, 2, 116~124, 1959.
- 35) Orita, K.: Acta Med. Okayama, 15, 39~58, 1961.

---

## Experimental Studies on Humoral Resistant Factors and Cancer

### 3. Action mechanism of the drugs that possess ability to raise the serum properdin level and their anticancer effects

By

Kazutada Miyake

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

#### Author's Abstract

For the purpose to elucidate action mechanism of pantothenic acid (PaA) and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) that possess the ability to raise the serum properdin level and show anticancer effect when administered to cancer-bearing animals, a series of *in vivo* and *in vitro* experiments was carried out and the following results were obtained.

1. PaA, when give to normal mice, accelerates the liver catalase activity, and when it is administered alone or concurrently with anticancer agent to cancer-bearing mice, the catalase activity is enhanced to a still greater extent.

2. PaA, GABA, Orotic acid, Thio-TEPA, and mitomycin C have been found to accelerate the anaerobic glycolysis of Ehrlich carcinoma cells but carzinophilin rather suppresses it.

3. The effect of PaA and GABA on the serum properdin level resembles closely to that of ACTH, but differs from the effect of cortisone in that the high level of the serum properdin is sustained even after the completion of drug administration.

4. GABA, ACTH, and PaA have the ability to prolong the survival time of cancer-bearing mice, but cortisone rather aggravates cancer.

5. From these findings it is concluded that PaA and GABA do not act directly on tumor cells but act on the pituitary body by way of the higher nervous center while on the other hand, these drugs act on the cells of host, especially those of the reticuloendothelial system and liver, thus potentiating anticancer factors including the serum properdin level.

---