

# ポーラログラフ癌反応の研究

## 第 1 編

### 癌患者血清の「ポ」癌反応

岡山大学医学部津田外科教室 (主任: 津田誠次教授)

副 手 平 松 照 雄

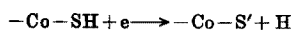
〔昭和 33 年 2 月 3 日受稿〕

#### まえがき

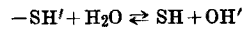
蛋白体が「ポーラログラフイー」によつて検出されることを始めて見つけたのは Henles 等<sup>1)</sup>である。彼等は血清のアルカリ液中からアルカリの析出電位の附近に小さい還元波を認めた。次いで Brdička<sup>2)</sup> はチスチン、チステインを含有する蛋白及びポリペプチドからポーラログラフ分析法に依り活性 SH 基を測定した。かくて後 1938, Brdička がコバルトの Ammonium buffer 中から出てくる「ポ」蛋白波を血液に応用した、いわゆるブランク癌反応が生れてより、いままで幾多の追試が行われ、検討されて来ている。以来「ポ」癌反応も、いわゆる癌反応というすべての反応のたどつた運命と同じ様に、これも早期診断法としては残念ながらその光を失つた。それは早期発現性と特異性という必要条件を満足しえなかつたからである。だが非特異的なものの内から特別な或るものをえらび出し、その鋭敏度をあげるといふ努力は現在も放棄されたわけではない。現在までのこれら幾多の発表成績並に SH 基或はムコプロテイン等の興味ある役目を考える時、なお研究すべき問題は多分にある。

#### 原 理

ポーラログラフによる蛋白波発生機構を簡単に述べると、これは Brdička の不安定水素 (SH) 説による<sup>3)</sup>。Brdička は蛋白波は (S) に基因する波であり、これがコバルトと配位化合物を形成し、更に電極の強い電場の影響を蒙るため、S に結合している水素がますます不安定になり、ついに離散するため発生する水素の還元波に外ならぬと考えた。即ち



となり、第 2 段階では水素を放出した  $-S'$  が再び水中より H を取り SH に復元する。



その結果生じた  $OH'$  は緩衝液で除去されるから SH は絶えず更新され、かくて  $-S'$  が Catalyzer の役割をなす。

血清蛋白を用いた「ポ」癌反応には、変性せしめた血清について直接蛋白波を作成する方法と、変性操作後ズルホサルチル酸にて除蛋白を行い、その濾液について蛋白波を求める 2 方法がある。第 1 の方法 (第 1 反応) に於ては、試験液に 2 価のコバルト塩である Cobaltous chloride を、第 2 の方法 (濾液反応) に於ては 3 価のコバルト塩である hexamino cobaltic chloride を用いることが多い。

第 1 反応については「一定量 (容量) の血清が呈する蛋白波の高さが、癌やその他の病的血清では健康者のそれにくらべて低く、特に変性 (熱、アルカリ、塩酸ペプシンによる) するとその差異がはつきりする。」というのが原理である。では血清蛋白波の波高比較の場合に問題にしなければならないのは、血清蛋白質の質の他、蛋白質の量の影響ということであり、Tropp<sup>4)</sup> は血清蛋白波の比較には血清中蛋白量によつて補正しなければならないことを述べたが、笹井、江川<sup>5)</sup> は正常な生血清蛋白質と、変性血清蛋白質について、蛋白質の濃度と波高との関係をしめず規準曲線を予め決定しておき、被検血清についてこれと比較判定している。これら質の問題は更に現在血清蛋白分割にまで発展している。

濾液反応については「血清のズルホサルチル酸濾液が呈する蛋白波 (Co III を用う) が癌では健康者よりも著明に高く、その鋭敏度は第 1 反応よりも良い」ので現在主として本反応が臨床に応用されている。多くの臨床例のほか実験的腫瘍にも試みられて

いる。炎症とくに結核などでは癌以上に高い波が見られ、赤沈や発熱や白血球数等の変動と平行するから、この意義を一つの非特異的体蛋白崩壊産物に帰せしめていたが、笹井<sup>6)</sup>、熊原<sup>7)</sup>により肝硬変、急性肝炎等の実質的肝障害のある時には反対に正常以下に低い波が現れることが見出され、崩壊よりも逆に再生に関係する蛋白と考えしめた。又 Winzler 等により<sup>8)</sup> この物質の化学的研究が進められ、ムコブロテインであることが明らかになり、詳細な知見が出された。かくて現在濾液蛋白質の生理的意義は、ムコブロテインの作用或は諸種の役割にまで発展している。又血清の熱凝固に関する Kürten 癌反応や Waltmann 反応、Co, Cd 反応(井上)といった一連の反応の essential factor であることも確実になっている。以上ポーログラフ蛋白波並びにポーログラフ癌反応の概略を述べたが、私は「ポ」癌反応の診断的価値を再検討し、更に反応発生順序を究明せんとして測定を行った。

#### 測定方法及び成績

血清「ポ」癌反応には前述の如く2つの方法があり、又各々について変性方法が区々である。私は第1反応に於ては変性方法をペプシン消化を用い、濾液反応に於ては KOH 変性法を採用した。

患者は岡山大学医学部津田外科教室の入院患者にて、早朝空腹時に採血せしものより血清を分離し用いた。測定に使用した機械は柳本製作所製にて、検流計の電流感度は  $0.67 \times 10^{-9} A$  のものを使用した。

第1反応は Brdička の原法に従い、血清 0.2 cc をとり、これに N/20 HCl にとかした 0.1% Pepsin 5 cc を加え、37°C 15 分間消化させた後、その 0.2 cc を試験液 10 cc に入れ、ただちに電解瓶或は Open beaker 中で感度 1/200 でポーログラムを撮影した。試験液は  $8 \times 10^{-3} M \cdot CoCl_2 \cdot 20 + 1N \cdot NH_4OH$  10 +  $1N \cdot NH_4Cl$  10 +  $H_2O$  60 の組成であり、試験液は実験のつど新しくつくった。水銀滴下速度は 0V 水中毎 4 秒 1 滴、検査電圧域は 0.8 V より 1.8 V まで、実験温度は  $22^\circ \pm 1^\circ C$  とした。波高の測定は切点測定法を採用した。

濾液反応は Müller の操作法に従い、血清 0.5 cc に蒸溜水 1.0 cc 加え、更に 1N-KOH 0.1cc を加え、正確に 30 分間室温で作用させた後、20%ズルホサルチル酸 1.0 cc を加えてよく混和し、10 分後濾過した、濾液は透明で安定であり、この 0.5 cc を 5 cc の

試験液にいれ、ただちに第1反応と同じ要領で 0.8V からポーログラムをとった。検流計感度は 1/100 で行つた。試験液組成は 0.001 M-Luteo 塩 10 + 0.1 N-NH<sub>4</sub>Cl 10 + 0.6 N-NH<sub>4</sub>OH 80 である。血清蛋白量測定は refractometer を用いた。

健康成人男女計 6 人、手術及び組織切片により確実に癌と診断し得た胃癌患者 11 人、乳癌 3 人、膵、肝及び膀胱癌各々 1 人、肉腫 3 人、胃及び十二指腸潰瘍患者 7 人について測定を行つた。いづれも処置前の患者である。予め健康人 6 例について第1反応(D)及び濾液反応(F)について波高を測定しその成績を第1表に示した。

第 1 表

健康者	第 1 反応(D)	濾液反応(F)	Index
前川	94mm (-)	15mm (-)	1.2
浜田	92 (-)	27 (+)	2.2
奈爪	89 (+)	19 (-)	1.6
内田	97 (-)	19 (-)	1.4
島村	103 (-)	15 (-)	1.0
井上	91 (-)	21 (-)	1.7
平均	94.3	19.3	1.51
	$99.2 \geq m \geq 89.4$	$23.6 \geq m \geq 15.0$	(mは信頼度95%に於ける信頼限界)

以上より D の平均値は 94.3, F の平均値は 19.3 となり、D の測定値の 95% 信頼度に於ける信頼限界は  $99.2 \geq m \geq 89.4$ , F については  $23.6 \geq m \geq 15.0$  であつた。この限界を基準として D は 89.4 以下を陽性、F は 23.6 以上を陽性と定め、胃癌、胃十二指腸潰瘍、及び他の悪性腫瘍疾患について D, F, を測定し第 2 表の結果を得た。

第 2 表

(胃癌)	第 1 反応(D)	濾液反応(F)	Index
常清	66 (+)	28 (+)	3.1(+)
五味	57 (+)	25 (+)	3.2(+)
下元	89 (+)	23 (-)	1.9(-)
藤井	55 (+)	30 (+)	4.1(+)
相原	86 (+)	37 (+)	3.2(+)
人見	62 (+)	38 (+)	4.5(+)
一宮	74 (+)	21 (-)	2.1(+)
三上	81 (+)	24 (+)	2.2(+)
後藤	63 (+)	36 (+)	4.2(+)
水草	77 (+)	30 (+)	2.9(+)
阿部	94 (-)	50 (+)	4.0(+)

(他の癌)

三好乳癌	94	(-)	16	(-)	1.2(-)
釜本 "	101	(-)	33	(+)	2.4(+)
抽山 "	79	(+)	27	(+)	2.5(+)
古谷膀胱癌	68	(+)	48	(+)	5.7(+)
近常膀胱癌	71	(+)	45	(+)	4.7(+)
海野肝癌	70	(+)	29	(+)	3.1(+)
田辺肉腫	65	(+)	54	(+)	6.2(+)
妹尾 "	80	(+)	32	(+)	3.4(+)
藤井 "	83	(+)	23	(-)	2.0(-)

(胃十二指腸潰瘍)

森	98	(-)	25	(+)	1.9(-)
黒田	103	(-)	21	(-)	1.5(-)
平松	88	(+)	24	(+)	2.0(-)
横山	79	(+)	35	(+)	3.0(+)
綾野	75	(+)	20	(-)	2.0(-)
常長	89	(+)	27	(+)	2.3(+)
平棟	87	(+)	17	(-)	1.4(-)

D及びFはいつも、実験結果の比較のための適当な規程がないこと、ちがった研究者によつてなされた実験結果を比較するための表現の統一性がないことに欠陥がある。そこで Müller 等は両反応比を見る Protein index なる表示方法を案出した。D及びFは、一般に正常と癌患者との差異は、これらの両反応では逆であるから、これらの比をとれば両者の差異はさらに拡大されるわけである。私も Müller<sup>9)</sup>にならい、F/2D×15を Protein index とし、健康人6例より算出し、この平均値1.51及び97%信頼度に於ける信頼限界は 2.03 ≧ m ≧ 0.99 であつた。胃癌及び他の疾患についても Protein index を算出し、2.03以上を陽性とした。以上よりD、F及び Protein index の陽陰性率を算出し第3表にまとめた。

第3表 ポーラログラフ癌反応陽陰性率

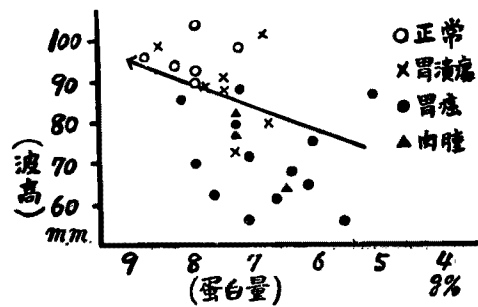
	第1反応	濾液反応	Protein index
胃	+10	+9	+10
癌	+90.9%	+81.8%	+90.9%
	-1	-2	-1
	(+82.3%)	(+82.3%)	(+88.2%)
他の	+4	+5	+5
癌	-2	-1	-1
胃潰瘍	+5	+4	+2
	(-28.5%)	(-42.8%)	(-71.4%)
	-2	-3	-5

「ポ」癌反応陽陰性率は、癌患者ではD及びFと

もに17例中14例陽性にて82.3%の陽性率であるが、Protein index は17例中15例が陽性となり88.2%の陽性率を示した。胃潰瘍7例については、Dは2例陰性にて28.5%の陰性率を、Fは3例陰性にて42.8%の陰性率であつたが、Protein index は5例陰性となり71.4%に陰性率が高くなつた。

次に Tropp<sup>4)</sup>の提案した蛋白補正判定法にならい、即ち縦軸に蛋白波々高、横軸に蛋白量を取りその分布状態を見た。稀釈血清波高線と平行せる基準線(第1図の↘線)をもとめ比較し第1図とした。これによると悪性腫瘍16例中14例陽性、陽性率は87.1%であつた。

第1図 ポーラログラフ第一反応蛋白補正判定表



又第1反応を Brdička の原法に従い、同一患者血清につき同時に、塩酸ペプシン変性を行つたものと、行わないで直ちに蛋白波のみを測定したものと波高差を各種疾患別に分け第2図としたが、有意の差は認められなかつた。しかし胃癌、胃潰瘍、炎症等に2、3差の著しく少いものがあつた。

考 按

癌患者血清による癌診断法として Fucks, Lehmann-Facijs, 今村氏濁濁反応等は癌特異反応として工夫されたものではあるが、いずれも操作相当面倒であり、しかも実際の適中率は必ずしも満足すべきものではない。そこで最近では癌特異物質の探究というよりは、癌の存在により生じた血清の物理化学的变化を知り、これを診断に利用せんとする傾向が強くなつてきておる。

私は血清蛋白の作用族をとりあげ考察するに、パインヤメチルグリオキサラーゼのような酵素はSH基によつて賦活されることが一般に認められているが、Waldschmidt-Leitz<sup>10)</sup>等により血清中の賦活族は、癌では正常人の1/2ほども効果がないことがたしかめられている。又癌患者血清ではSH基が

欠乏していることもポーラログラフィーによる分析から Brdička が証明した。Kahn は癌患者血清は低アルブミンであるとし、アルブミン中に含まれ SH 基に血清熱凝固が関係することより、Kürten, 七条反応は生れたものと考えられる。更に Huggins は血清の熱凝固に要した最少蛋白濃度を計算して総蛋白量の補正をなし、癌患者血清の熱凝固性低下を検した。癌血清の還元力低下という方面より、Stadie は血清蛋白中 S<sup>2-</sup> が還元作用をいとなむことを証明し、Black はメチレン青還元時間による簡易癌反応をあみ出した。Jensen はこれを蛋白量で補正し一定の式を作つて、定蛋白濃度に於けるメチレン青還元時間を算出した。これらの各反応の陽性率を第 4 表に示した。

第 4 表 血清 SH 基 (作用簇) による癌診断法

		陽性率	陰性率
熱に凝固よ 固性	Kürten	80%	
	七 条	82%	79%
	Huggins (蛋白量補正)	92%	
還元力よ る	Black	80%	92%
	Jensen (蛋白量補正)	85%	

チスチンのように SH 基をもつものが熱凝固性をうながすために、SH 基活性度を測定する「ポ」第 1 反応は、Kürten, 七条反応に匹敵するものであり、「ポ」的に Tropp の行つた結果は Huggins のものと対比するものである。又チスチン減量が硫黄触媒作用の低下としてみとめられるために、癌血清還元力低下を測つた Black の結果は、「ポ」第 1 反応に似ており、蛋白量を補正した Jensen の結果は又 Tropp の結果と同様のものとみなされる。蛋白量補正より更に歩を進め、蛋白分割により熊原<sup>11)</sup>

はアルブミンだけを塩析的に分離し、その一定量が示す蛋白波々高を臨床的に検査し、癌では低く且つ変性による上昇度も小さいことを見出し、また Amperometry による SH 滴定法でも同じ結果がみられているから、疾病の悪条件下では、おそらく SH の少い粗製のアルブミンが現れるのであろうと考えられるに至つた。

次に「ポ」第 1 反応と、ムコプロテインによるといわれる「ポ」濾液反応とは、癌のみならず急性発熱性炎症性疾患に於ても同様の結果を示すものであるといわれるが、第 1 反応、濾液反応のいづれにせよ、実験結果の比較のための適当な規準がないこと、又もがたつた研究者によつてなされた実験結果の比較を容易にするため、結果の表現の統一性がないことに缺陷がある。この缺陷をのぞくために Müller は両反応成績の比をとり、之に一定の常数を剰じて Protein index と称する表示方法を案出した。その意義は病的度を現わすに便であるのと、実験条件に左右されぬ指数という点にある。私もこれにない両反応比をみたが、陽性率は第 1 反応、濾液反応の単一なものよりも増加した。

## 結 論

1) 胃癌、胃潰瘍及び悪性腫瘍患者血清の SH 基及び濾液蛋白をポーラログラフにより測定し、蛋白波による癌診断法を検討した。

2) 癌診断法としては、第 1 反応及び濾液反応の単一なものよりも、蛋白量補正或は両者相互関係を見た Protein index の方が陽性率が高く、価値あるものとみとめられる。

3) 癌血清に於ける他の 2, 3 の癌反応と、SH 基活性度の変動の原因的考察を試みた。

稿を終るにあたり終始御懇切に御指導、御校閲を賜つた恩師津田教授に深謝する。

## 献

- Henles, F. and Vancura, A.: Bull. intern Acad. Boheme (1932) #42
- Brdička, R.: Collection Czech. Chem. Comm. 5. 112, 148 (1933)
- Brdička, R.: Biochem. Z. 272. 104 (1934)
- Tropp, C.: Klin. Wschr, 17, 1141 (1938)
- 笹井, 江川・京大化研報告 No. 21, 26 No. 22, 62 (1950), No. 24, 48 No. 26, 54 (1951), No. 29, 15 No. 31, 1 (1952)
- 笹井, 坂本等・消化器病学会口演, 昭26, 28, 29.
- 熊原, 吉田等: 消化器病学会口演, 昭28, 29.
- R. J. Winzler et al.: J. B. C. 187, 153 (1950), J. B. C. 185, 561 (1950), J. Cl. Invest. 27, 609 (1948)
- Müller, O. H. and Davis, J. S. Jr.: J. B. C. 159, 667 (1945)
- Waldschmidt Leitz, E.: Angew. Chem. 51,

324 (1938), W-L, E., Mayer, K.: Z. Physiol. Chem. 261, 1 (1939) 11) 熊原, 吉田: 癌, 43, 75 (1952)

---

## Study on the Polarographic Cancer Reaction

### Part I.

#### Polarographic Cancer Reaction by Serum of the Cancer Patient

By

Teruo HIRAMATSU, M. D.

2nd. Department of Surgery, Okayama University Medical School  
(Director: Prof. Seiji TSUDA, M. D.)

The author has performed polarographic cancer tests, first reaction (abb. F.) by the Brdička's original method, filtrate reaction (abb. D.) by the Müller's method. The positive percentages were; F. 90.9% and D. 81.8% in the gastric carcinoma, both 82.3% in the whole carcinomas. Although each reaction was not specific for cancer, it was aimed to improve the sensitivity, after choosing the distinguished one out of the non-specific: The positive percentages were 90.9% in the gastric cancer and 88.2% in the whole carcinomas, when they were calculated from the formula  $F./2D. \times 15$ . And the positive percentage revised in accordance with the protein contents was 87.1%.

F. in polarographic cancer test, comparing to the others, corresponds to Kürten, Hichijo Black's tests, which determine SH-activate grade. Huggins' and Jensen's reactions revised with the protein contents show similar rate to the Tropp's.

---