

癌患者の血清対熱非凝固物質中チロジン量について

岡山大学医学部津田外科教室（指導 津田誠次教授）

谷 野 順 造

〔昭和 29 年 11 月 12 日受稿〕

1. ま え が き

腫瘍性疾患では血清蛋白の濃度は正常以下に減少する。特にアルブミン分屑が減るが、これと同時に血清中に含まれる加熱により凝固しない酸溶性非蛋白物質の窒素成分をなしている血液プロテオーゼの増加することは、Reding, Davidson, Winzler, および Burk 等多数の先人により報告されている。教室の奥島はこの増加する傾向を利用して、対熱非凝固性プロテオーゼを簡単な比濁法をもつて定量し、癌診断法を作つた。他方このプロテオーゼより更に分子量の小さいセロファンで透析できる非蛋白性窒素量は腫瘍性疾患にても変化しないという。又尿中には蛋白の崩壊によると考えられるアミノ酸の排泄増加を見る。これは肝機能を示すものとされ、ミロン氏反応として臨床的にも応用されており、教室の弘中は癌患者症例について肝機能の一部に報告している。このミロン氏定量法は本質的に遊離チロジン量を示すものであることは周知の事実である。そこで私は血液プロテオーゼ中のチロジン量を定量して、癌疾患を中心とした外科患者についての蛋白の破壊状態を調べた。

2. 実 験 方 法

早朝空腹時に採血した血液の血清を分離して使用する。

表 1 の如く血清 1cc を長さ約 10cm, 直径約 1.5cm の試験管に入れ、100°C 温浴中で 5 分煮沸し、凝固血清をガラス棒にて粉碎し、4cc の蒸溜水を加え攪拌後、10 分間室温に放置する。次に 5 分間、3000 回転で遠心沈澱を行い、上清を分離し、その 1cc に更に蒸溜水

表 1

血清 1cc
↓ 100°C 5 分間
凝固血清粉碎
+ 蒸溜水 4cc
↓ 攪拌 10 分間放置
遠心沈澱
↓
上清 1cc
+ 蒸溜水 1.5cc
+ 5% 燐タングステン酸の塩酸溶液 0.5cc
↓
遠心沈澱
↓
沈澱物 (水 2.5cc と燐タングステン酸、塩酸溶液 0.5cc で更に 1 回洗うとよい)
+ 蒸溜水 2.5cc
+ 飽和炭酸ソーダ溶液 1.0cc
+ 混和 10 分間放置
フェノール試薬 0.5cc
↓
比色定量

1.5cc および燐タングステン酸を 2 規定塩酸に 5% の割に溶かした液 0.5cc を加え、再び遠心沈澱を行う。上清を捨て、更に蒸溜水 2.5cc および燐タングステン酸・塩酸溶液 0.5cc を加え、攪拌後、同様に遠心沈澱を行つて上清を捨てる。充分に上清を捨てた後、沈澱物に溜溜水 2.5cc, 飽和炭酸ソーダ溶液 1.0cc を加え、充分に混和し、沈澱物を溶かし、10 分間放置する。これに Folin 氏フェノール試薬 0.5cc を加え、20 分後 Klett-Summerson 光電比色計を用い、S54 にて比色定量した。

検量曲線の作り方

純粋チロジン結晶を用いて 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0mg % 水溶液の各チロジン標準

液を作り、この1ccに蒸留水1.5cc および飽和炭酸ソーダ溶液1.0ccを加え、更にフェノール試薬0.5ccを加え、比色定量し、検量曲線を求める。検量曲線は Lambert-Beer の法則に従う。なおチロジンは蒸留水に溶けにくい故、少量炭酸ソーダを加えるとよく溶ける。

Folin 氏フェノール試薬の作り方

1500cc 入フローレンス・フラスコにタングステン酸ソーダ ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 100g, モリブデン酸ソーダ ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 25g, 蒸留水 700cc, 85% 燐酸 50cc, および濃塩酸 100cc を入れ、10時間静かに冷却管をつけて加温する。硫酸リチウム 150g, 蒸留水 50cc およびブロームの 2~3 滴を加える。15分間濃縮することなく煮沸し、過剰のブロームを除く。次にこれを冷却し、1000ccに稀釈して濾過すると得られる。この試薬は黄金色であるが、不純物があると緑色を帯びる。

3. 実験成績

主に津田外科教室に入院手術した患者について測定した。症例は癌の他、各種炎症性疾患を採用し、これらの測定値を正常人の値と比較検討した。癌を発生部位別に分類すると、その測定値は表2の如く、肺癌、胃癌では著明に増加している。又結腸癌3例は何れも増加して6~8mg%を示したが、直腸癌は殆んど正常人に近い値を示すもの多く、平均4.9mg%で、結腸癌と稍趣きを異にしている。乳癌も稍増加の傾向を示すに過ぎない。これ

表 2

病名	分布領域 mg%	平均チロジン量 mg%	症例数
健康人	2~5	3.2	10
胃癌	3~13	8.4	42
乳癌	2~8	5.8	8
結腸癌	6~8	7.5	3
直腸癌	2~8	4.9	5
肺癌	8~17	11.2	3
脾癌	3~6	4.6	2
肉腫	8~16	11.8	5

に反し肉腫では殊に発育の速い症例では著明の増加を認める。

胃癌症例で増加していることは上述の通りであり、しかも他の部位の癌症例に比較してかなり著明に増加していることは、胃という部位が生体の蛋白代謝に大きな意義を有するかも知れないと考え、更に他の胃疾患、すなわち胃・十二指腸潰瘍および胃炎患者のそれと比較してみた。結果は表3に示す通りで、6mg%以上の値を示す症例数は胃癌42例中34例で83%に当る。しかし潰瘍・胃炎にても35例中10例は6mg%以上を示しており、なかんづく穿通性潰瘍5例は何れも増加著明である。従つて6mg%を境としてこれ以上のものを癌反応陽性、以下のものを陰性として、この測定値を癌反応に利用した時、的中率は82例に対し72%である。

表 3

病名	分布領域 mg%	平均チロジン量 mg%	6mg%以上の例数 (比率)	症例数
胃癌	3~13	8.4	34 (83%)	42
潰瘍胃炎	2~8	4.7	10 (29%)	35
穿通性潰瘍	8~11	9.3	5 (100%)	5

但し潰瘍、胃炎の項では穿通性潰瘍を除いた。

表 4

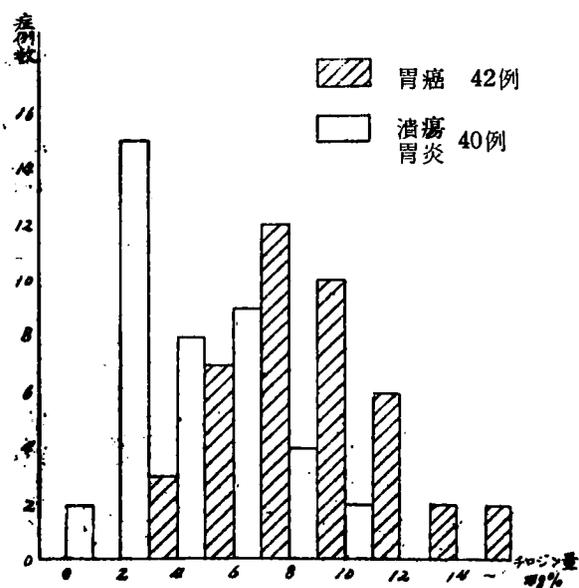


表4は胃癌42例および潰瘍・胃炎40例を測定値により分類し、これを図示した症例分

布表で、両者の分布のずれを明らかに見ることができ、すなわち胃癌では6~8mg%のものが多く、潰瘍又は胃炎では2~4mg%のものが最も多数である。次に興味あることは、胃癌末期の癌性腹膜炎を伴った、或は同時に腹水を証明する患者6例中4例は何れも2~6mg%であり増加を見ない。胃癌初期の症例すなわち臨床的諸検査で胃癌と思わせないで、胃切除後鳩卵大以下の癌腫を認めた胃癌初期群4例では、何れも2~4mg%の正常値を示している。これらの値を他の癌補助診断法の結果と比較すると、表5の通りである。

表 5

分類	症例	キュルテン	七 条	チロシン量 mg%	胃 液 游離塩酸
胃癌 初期群	1	—	—	2.8	+
	2	—	—	3.2	+
	3	—	—	2.6	+
	4	—	±	3.5	+
胃癌 末期群	5	+	+	3.4	—
	6	+	+	2.5	—
	7	+	+	6.2	—
	8	+	+	8.9	—
	9	—	+	4.8	—
	10	+	+	2.2	—

なお他の慢性炎症、消耗疾患についてみるに、膿瘍を作っている症例では増加は著明であり、又腸、腎等の臓器結核にても見られることは表6の通りである。

表 6 非癌症例数

No.	病 名	チロシ ン 量 mg%	No.	病 名	チロシ ン 量 mg%
1	肋膜周囲膿瘍	8.2	8	肺 壊 疽	16.5
2	肋膜周囲膿瘍	5.6	9	腎 結 核	7.7
3	肋膜周囲膿瘍	4.8	10	甲 狀 腺 結 核	3.9
4	肋膜周囲膿瘍	8.9	11	結 節 性 甲 狀 腺 腫	5.8
5	肝 膿 瘍	9.8	12	腸 結 核	19.8
6	肝 膿 瘍	13.0	13	腸 結 核	12.6
7	肝 膿 瘍	10.8	14	腸 結 核	8.6

以上の症例でも分かるように、対熱非凝固物質中チロシン量の増加は癌に特有ではなく、

生体組織蛋白代謝の異常状態を示すものである。

腫瘍性疾患で上述の症例の他、舌および口腔癌、悪性甲状腺腫等についても測定したが、これらと同一臓器炎症性又は良性腫瘍の場合と殆んど変わらず正常値に近い値を示した故結果は省略する。

4. 総括および考按

Bywater (1909) の Serum mucoid 以来血清対熱非凝固物質について幾多の報告があるが、生体の蛋白崩壊によつて生ずると考えられるこの物質が悪性腫瘍患者に増加することは、先に教室の奥島の報告にもあり、これが癌の一定時期にみられることは多数の先人により承認されているところである。私はこの血清対熱非凝固物質に含まれるチロシンを定量することにより、間接的に対熱非凝固物質の消長を見ようとしたのであるが、対熱非凝固物質の分子量は一定でなく、比較的分子量の大なるものと小なるものが存する筈であり、これらのものが一様に同一比率にチロシンを含有するとは限らない。従つて各症例において奥島の対熱非凝固物質の血清含有量と私の場合のチロシン量が必ずしも平行するとは断定出来ない。しかしながら癌患者肝機能検査の一つとして日常使用されているミロン氏反応は、蛋白破壊によつて生じたアミノ酸の尿中排泄増加をアミノ酸の一種であるチロシンを指標として測定したものであり、これによりアミノ酸排泄の増加、すなわち肝機能の状態を知るものである。これと同様に対熱非凝固物質中のチロシン量の増加は対熱非凝固物質の増加と密接な関係のあるものと考えられる。

Winzler と Burk (1944) はポラログラフによる移植肝癌の実験で血液プロテオーゼは腫瘍の増殖につれて増し、腫瘍がなくなると正常値にかえると述べている。又血液プロテオーゼの増加とは癌以外の病的状態特に化膿性感染の時著しいことは、Wizler, Albers (1940), Waldschmidt-Leitz および Mayer

(1939) 等も報告しており、すべて私の測定した対熱非凝固物質中のチロシン量の増加と同様である。

この化膿性疾患、慢性消耗性疾患における増加と癌初期群、末期群において著明な増加をみないという上述の実験成績からして、この方法を悪性腫瘍の診断と予後判定に用いることは非常に限局されたものになることは明らかである。

私は対熱非凝固物質中のチロシン量を測定したのであるが、これらの源泉が腫瘍自身の生成によるものか、他の体蛋白例えば血清アルブミンに基づくものかは対熱非凝固物質に含まれる各種アミノ酸の組成が腫瘍組織、或は他の体蛋白のアミノ酸組成と同一か否か定量分析してみなければならぬ。又癌患者の対熱非凝固物質と健康人のそれとアミノ酸組成が同じであるか否かも同様にして確かめなければいえない。更に対熱非凝固物質が糖類を含んでいるから、これと各アミノ酸の組成比率についても調べなければこれらの結論は出ないと考えられる。

参 考 文 献

- 1) 奥島：岡山医雑. 64巻, 4号, 654~665.
- 2) Reding Compt. Rend. soc. Biol. 123, 1238 (1936)
- 3) Davidson Brit. J. Exptl. Path. 25, 164 (1944)
- 4) Winzler : J. Natl. Cancer. Inst. 4, 417

5. 結 論

1) 血清対熱非凝固物質の消長を含まれるチロシン量をもつて示したところ、悪性腫瘍殊に肉腫、肺癌、胃癌等において著明に増加している。しかし悪性腫瘍に特有ではなく、慢性炎症性、消耗性疾患にても見られる。

2) 血清対熱非凝固物質中のチロシン量は悪性腫瘍の或時期に増加するものであり、胃癌の初期および末期群にては正常値を示すものが多い。

3) 胃癌と潰瘍と比較すると胃癌の方が増加しているが、潰瘍でも穿通性潰瘍の如き強い変化を伴つた生体の栄養状態の悪い症例にては非常に増加しており、必ずしも癌診断に適したものとはいえない。

(本内容の要旨は第13回日本癌学会総会において発表した。)

本論文は文部省科学研究費の補助を受けた。記して謝意を表す。

稿を終るにあたり終始御懇切に御指導並びに御校閲を賜つた恩師津田教授に深く感謝する。

(1944)

- 5) Waldschmidt-Leitz · Z. Physiol. chem. 261, 1 (1939)
- 6) Albers Biochem. Z. 306, 236 (1940)
- 7) Greenstein · Biochem. of Cancer. 326 (1947)

Department of Surgery, Okayama University, School of Medicine.
(Director: Prof. Dr. Seiji Tsuda)

STUDIES ON THE TYROSINE LEVELS OF NON-HEAT
PRECIPITATED, PROTEIN-LIKE MATERIALS
OF HUMAN SERUM AND GASTRIC JUICE
IN CANCER PATIENTS.

Chapter I Studies on the Tyrosine Levels of Non-heat Precipi-
tated, Protein-like Materials of Human Serum

By

Jyunzo Tanino

Human serum contains resolved materials of protein and these resolution shows one section of protein metabolism. It is observed that the consumption of protein is clear in patients with cancer, and the quantity of non-heat precipitated protein-like materials increases in certain periods during the course of this disease. The examination of the resolving condition of protein was performed by means of the quantitative analysis of the tyrosine content in non-heat precipitated protein-like materials using the phenol reagent. In comparison with 3.2mg% (2—5mg%) which was the average tyrosine level of healthy human serum (10 cases), that of cancer of the lung (3 cases) was 11.2 mg% (8—17 mg%) ; of the stomach (42 cases) was 8.4 mg% (3—13 mg%) ; of the breast (8 cases) was 5.8 mg% (2—8 mg) ; of the rectum (5 cases) was 4.9 mg% (2—8 mg%) ; and of the sarcoma (5 cases) was 11.8 mg% (8—16 mg%). The tyrosine level of ulcer of the stomach and duodenum (35 cases) was 4.7 mg% (2—8 mg%), and this is lower than the level of cancer of the stomach. The tyrosine level of penetrating ulcer (5 cases), however, was 9.3 mg% (8—12 mg%) and it is higher than that of cancer of the stomach. In such diseases the resolution of protein is supposed to be evident, and this fact suggests hypoproteinemia and shows the necessity of supplying protein prior to operation in order to be favourable prognosis. Furthermore, the fact that the tyrosine level in the terminal stadium of cancer of the stomach with cancerous peritonitis becomes the same with that in healthy condition suggests us to be cautious in making diagnosis in the case of hypoproteinemia and cancer. Moreover, in the case of inflammatory and wasting disease except cancer . for instance, abscess of the lung, tuberculosis of the intestine, that of the kidney, and peripleural abscess, the tyrosine level becomes higher than 7—10 mg%.
