

子宮癌患者の核酸代謝

第1編 子宮癌患者尿中 Uracil 量の測定

岡山大学医学部生化学教室 (主任 清水教授)

専攻生 花岡恒夫

[昭和28年10月27日受稿]

第1章 緒言

癌組織の如き盛んに増殖しつつある組織に於ては核酸の所謂 turnover が増大していることがよく知られている。

従つてその代謝産物が癌患者の尿中に増加することは容易に考へられる。

然しながら尿中に Pyrimidine 体を証明しやうとする試みがなされたが尿中より之等を証明することは凡て失敗に終つている。

Deuel¹⁾ は150立の尿から Thymin を分離せんとして何物も得られなかつたと云ひ又 Boivin²⁾ も人及び動物の正常及び癌を含む種々の患者の尿中から Pyrimidine 体を添加するにあらざれば之を証明し得なかつたと云ふ。

Pyrimidine 体を Nucleoside or Nucleotide の形で与へると尿中の遊離 Pyrimidine 体は少いか又は証明されないが、遊離の Pyrimidine 体を与へると、一部はそのまゝの形で排泄され一部分解すると云ふ³⁻⁹⁾。

その分解経路は Isobarbitur 酸、Isodialur 酸、Oxalur 酸、を経て尿素と尿酸になると云ふ¹⁰⁻¹³⁾。

以上の人々が Uracil の検出に屢々用ひた所の Wheeler Johnson¹⁴⁾ の Test は Uracil の 100mg % 以下の溶液では証明することが出来ないものであつた。

所が最近 Soodak¹⁵⁾ は 1 mg % 程度の溶液でも Uracil 及び Cytosin を定量出来る方法を発表した。

そこで著者はこの方法を用ひて子宮癌患者の核酸代謝をうかふはんとし、先づ子宮癌患者の尿を約10立集め之を次に述べる清水の方

法¹⁶⁾ で処理し濃縮して Uracil を含むと考へられる溶液劃分を作り、之を Soodak の方法で Test した所明らかに陽性となるを見た。

然してこの際尿1立を処理して Uracil 劃分 5 cc を得れば Soodak の定量法で測定し得る見当がついたので本実験を行つた。

即ち健康婦人、妊婦、子宮癌患者の手術前、手術後及び放射線治療中の者について尿を各1立づつ集め、Uracil 劃分を 5 cc に濃縮しその 2 cc を Soodak の方法で定量すると、第11表に総括された様に手術前の患者は尿中 Uracil 量が最も多く、手術後は著明に減少し健康婦人以下になる。

然るに放射線治療中のものは著明に減少する者もあり、減少せず高値を示す者もあつた。然し術前の患者よりは一般に明らかに減少している。

妊婦は正常婦人より稍々多いが術前の癌患者程でない。

尚ほ著者が本実験にかゝる前に遭遇した注目すべき現象について附記したいのは、尿中 Uracil の有無の見当をつけるために10立の癌患者の尿を処理する途中、Ba(OH)₂ で燐タングステン酸ソーダを落す操作がある。

この時生ずる沈澱に Uracil の Wheeler Johnson 反応と同じ色を呈する部分があるのが目についた。

そこでこの患者の尿に直接 Ba(OH)₂ を加へて見ると、弱い赤紫の濁濁を生ずることが分つた。そこで著者は Br₂ 処理を経ずして、Ba(OH)₂ でこの色を呈する物質は恐らく Uracil の分解産物である Isobarbitur 酸であらうと考へた。

其後癌患者の尿に一々 Ba(OH)₂ を加へてみると赤紫色乃至赤色を呈するものがあるので、之等尿からこの呈色する物質を Xanthidrol を用ひて分離せんとし試みたが失敗に終つた。

この呈色尿を排泄するものの中には Laxatol を飲んだ患者が居て之等の尿のあるものは Laxatol によつて似た色を呈することが分つたが、病歴を調べて見ると Laxatol を服用しない患者にも確かに赤紫色を呈するものがあることが分つた。

然してかゝる呈色尿を排泄する癌患者の殆んどが臨床的に予後不良と診断された者に見られると云ふ事が興味ある事であつた。

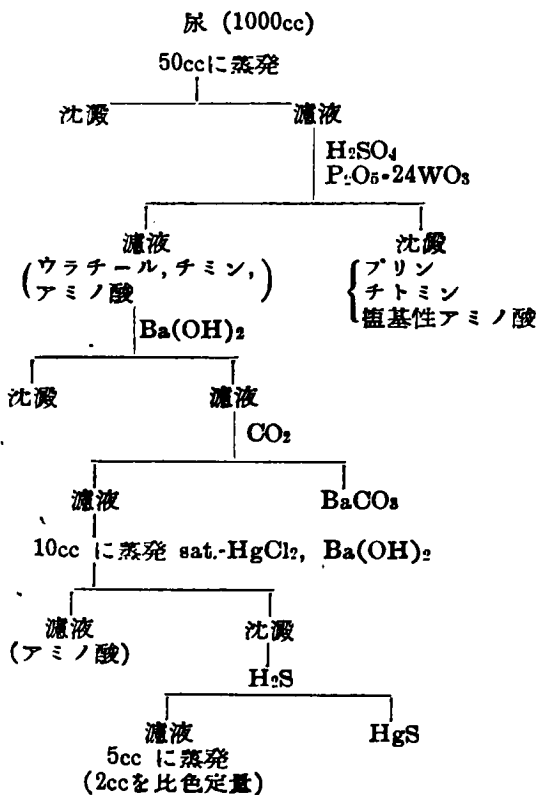
従つて著者は今後努力の上 Pyrimidine 分解産物を尿より取り出したい。

第2章 実験方法

第1項 尿の処理¹⁶⁾

尿1立を蒸発皿に入れて重湯煎上で約50ccに濃縮し、生じた尿素を充分吸引濾過し、濾液に硫酸を5%になる如く加へ20% 燐タンゲ

第1表 尿中ウラチール劃分の分離



ステン酸ソーダを加へて沈澱するプリン体、塩基性アミノ酸、及びチトシン劃分を吸引濾過し5% H₂SO₄ で洗ふ。濾液に Ba(OH)₂ を加へて過剰の燐タンゲステン酸ソーダを除き、吸引濾過し、濾液に CO₂ を通じて過剰の Ba(OH)₂ を除く。

之の濾液にはアミノ酸, Uracil, Thymin, が含まれる筈である。之を水浴上で10~20ccに濃縮し HgCl₂ 及び Ba(OH)₂ で, Pyrimidinbasen を沈澱せしめ、この沈澱を少量の水に Suspend して H₂S を通じ Hg を除き、濾過し、濾液を濃縮して最終量を5ccにする。この内2ccを用ひて次の比色定量法を行ふ。

第2項 Uracil の比色定量法¹⁵⁾

この Soodak の方法は既に邦書¹⁹⁾にも紹介されているが%の間違や試薬作成上の注意に欠けているので念のため著者の体験を加へて下に記す。

A 試薬

I Newton の尿酸試薬

10gr. の Na₂WO₄ を 50cc の水に溶し, As₂O₅ を 14gr. 加へ冷却器をかけて1時間加熱後、冷却器を除き全量を約 20cc に濃縮する。之を 10gr. の LiCl 上に除々に注ぐ、この時通常一度全体が溶解するのであるが、時には直ちに新しい沈澱を生じて、いくら攪拌しても溶けないことがある。

この場合は其のまま2時間冷所に放置して、吸収濾過し充分水分を除き、Desicater で乾燥して目方を計る。

通常 13gr. 位生ずるが、之より少い事もある。

13gr. の時は之を水に溶して 50cc となし、之を Stock Solution として冷暗所に貯へる。実際に定量に用ふるには之を更に 1 : 5 倍に薄めて用ひないと, Urea Cyanide Solution 存在に於て白色の沈澱を生ずるから注意を要する。

即ち 13gr の Litium arsenotungstate から 250cc の試薬を得るわけである。

I Urea Cyanide Solution

2.5% の NaCN 溶液に 25% の割に尿素を溶かしたもので、邦書には 25% NaCN と書い

であるが、原書には2.5%となつている。

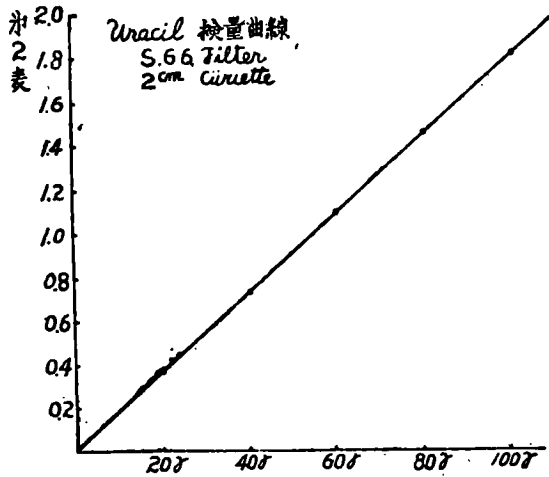
III Br₂ 水

Br₂ の水飽和溶液

IV Uracil Standard Solution

Pure Uracil の 100mg % Solution を Stock Solution とする。

B 検量曲線



2 cc 中 20γ, 40γ, 60γ, 80γ, を含む Uracil 水溶液について之を下記の如く処理して呈色させて、Stufen Photometer で Filter S.66 Cuvette 2cm を用ひて検量曲線を求めると上図の如き直線となる。之は作った Litium Arsenotangstate によつて異なる故 Newton 試薬を作りかへる毎に検量曲線を作る必要がある。

C 実施法

尿を処理して得た 5 cc の Uracil 劃分溶液 (若し Thymin の沈澱あれば濾過し) 内 2 cc を 25cc の且盛のある Test tube にとり、Br₂ 水を 7 滴加へ 5 分間放置後過剰の Br₂ を通気して除き、之に Urea Cyanide 溶液を 5cc 加へて混じ、Newton 試薬を 15cc 加へ、水を加へて全量を 25cc となし、よく混じ室温に 1 時間放置後生じた青色を Stufen Photometer を用ひて、吸光係数を求め、検量曲線より、Uracil の量を知る。之に 5/6 を乗ずればもとの尿 1 立中の Uracil 量を得る。

第3章 実験成績

第1項 健康人の尿中 Uracil 量

第3表に見る如く一般に 40r % 以下であるが一例 80r % の婦人があつた。この婦人はエネルギーシユな活潑な看護婦であつた。

第 3 表

氏名	年令	診断	尿中1立中ウラチール量
竹○蓉○	23才	正常	270 γ
光○敦○	25才	〃	53.75 γ
西○晴○	20才	〃	381.25 γ
石○喜○子	25才	〃	80 γ
柚○和○	20才	〃	350 γ
山○敏○	25才	〃	807.5 γ

これ等の婦人は凡て 20 ~ 25 才迄の人々で対照として癌年令の人を取れば更に低い値を得たであらうと考へられる。

第2項 妊婦の尿中 Uracil 量

例数が少いが第4表の如く大体 100r % 前後で、正常女子のそれよりも多い様である。

第 4 表

氏名	年令	診断	尿中1立中ウラチール量
越○千○	23才	妊娠10ヶ月	1.245 mg
玉○初○	31才	妊娠6ヶ月	810 γ

第3項 手術前の子宮癌患者の尿中 Uracil 量

第5表の如く、非常に Variation が広く、多いものでは 210r %、低いものは 25r % であるが、一般的に言へば正常人及び妊婦よりも多くなつている。

第 5 表

氏名	年令	診断	尿中1立中ウラチール量
津○ヨ○ノ	57才	子宮腔部癌第Ⅱ期	2.145 mg
門○マ○エ	40才	〃 第Ⅱ期の初め	1906.25 γ
宗○幹○	44才	〃 第Ⅰ期	1085 γ
藤○喜○子	38才	〃 第Ⅱ期	328.75 γ
小○芳○	44才	〃 第Ⅰ期	252.5 γ
高○了○	37才	〃 第Ⅲ期	530 γ

第4項 手術後の子宮癌患者尿中 Uracil 量

第6表に見る如く、凡て Uracil 排泄量が著しく減少し正常のものよりも低い値を示す。この事は正常よりも年令的に老いているためか又は癌患者では癌組織以外の組織臓器の代

第 6 表

氏 名	年令	診 断	尿 1 立 中 の ウ ラ チ ール 量
藤○喜○子	38才	子宮腔部癌第Ⅰ期	20 γ
釜○ハ○	45才	〃 第Ⅰ期終り	87.5 γ
久○田○ブ	48才	〃 初 期	51.25 γ
広○フ○ミ	39才	〃 第Ⅰ期	101.25 γ
金○松○	33才	〃 第Ⅰ期の初め	126.25 γ

謝が低くなっているかの何れかがある。

特に一例は同一人に就て術前、術後、の尿中 Uracil を測定する機会に恵まれたが、術前 33γ であつたが術後 2γ に下つた。

第5項 放射線治療を受けた子宮癌患者の尿中 Uracil 量

第7表に見る如く一般に 100γ% から 0 の間にあり、手術後程の低下はないが、即ち手術切除程の効果はないが代謝が抑制されることは事実である。

1例 290γ% の多量を推泄した患者があるが、これは放射線療法を初めて僅に X線 15 回の治療を終了したに過ぎず、且この患者は癌浸潤高度にして、腔壁に癌浸潤が及んでいと云ふ事実により、末だ放射線によつて代謝が抑制されていなかったのではなからうか。

第 7 表

氏 名	年令	診 断	治 療	尿 1 立 中 の ウ ラ チ ール 量
大 ○ ス ○	68才	子宮腔部癌第Ⅲ期腔壁浸潤	1 クール X線15回	2920 γ
花 ○ ま ○ の	52才	〃 第Ⅰ期	1 クール X線12回ラ線	5731mg 1005 γ
井 ○ 房 ○	60才	〃 第Ⅲ期	1 クール X線12回ラ線	8096mg 975 γ
中 ○ マ ○	58才	〃 第Ⅰ期	1 クール X線12回ラ線	1974mg 757.5 γ
谷 ○ き ○	62才	〃 第Ⅲ期	1 クール X線15回ラ線	12000mg 690 γ
山 ○ 君 ○	50才	〃 第Ⅲ期	1 クール X線12回ラ線	2214mg 255 γ
○ ツ ○	37才	子宮体癌(術後)断端爾発	1 クール X線15回ラ線	774mg 210 γ
岡 ○ 隆 ○	62才	子宮腔部癌第Ⅰ期	1 クール X線10回	167.5 γ
○ 文 ○	33才	〃 第Ⅳ期	1 クール X線15回ラ線	3462.4mg 135 γ
寸 ○ イ ○ ヨ	49才	〃 第Ⅲ期	1 クール X線12回ラ線	10019mg 67.5 γ
朝 ○ か ○ 代	32才	〃 第Ⅲ期	1 クール X線15回ラ線	12406mg 38.75 γ
陶 ○ フ ○	57才	子宮腔部癌第Ⅲ期腔壁浸潤	2 クール X線15回ラ線	1403mg 3.75 γ
浦 ○ 朝 ○	50才	子宮腔部癌第Ⅲ期	2 クール X線10回	1.875 γ
山 ○ き ○	45才	〃 第Ⅲ期	2 クール X線 5 回	870 γ

第6項 子宮筋腫患者の尿中 Uracil 量

第8表の如く2例しか得られなかつたが少々代謝が高まる様である。

第 8 表

氏 名	年令	診 断	尿 1 立 中 の ウ ラ チ ール 量
平 ○ 信 ○	38才	子宮筋腫	1177.5 γ
藤 ○ 千 ○	41才	〃	171.25 γ

第7項 子宮肉腫患者の尿中 Uracil 量

稀な疾患で1例しか行ひ得なかつたが既にX線療法中で低い値を示した。

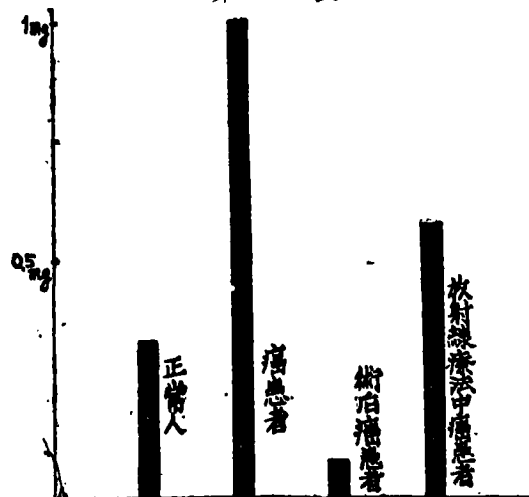
第 9 表

氏 名	年令	診 断	尿 1 立 中 の ウ ラ チ ール 量
小 ○ と ○ 代	57才	子宮肉腫	100 γ

従つて結論は得られない。

第10表は正常人、手術前、手術後、及び放射線治療中の癌患者の平均値を示した。

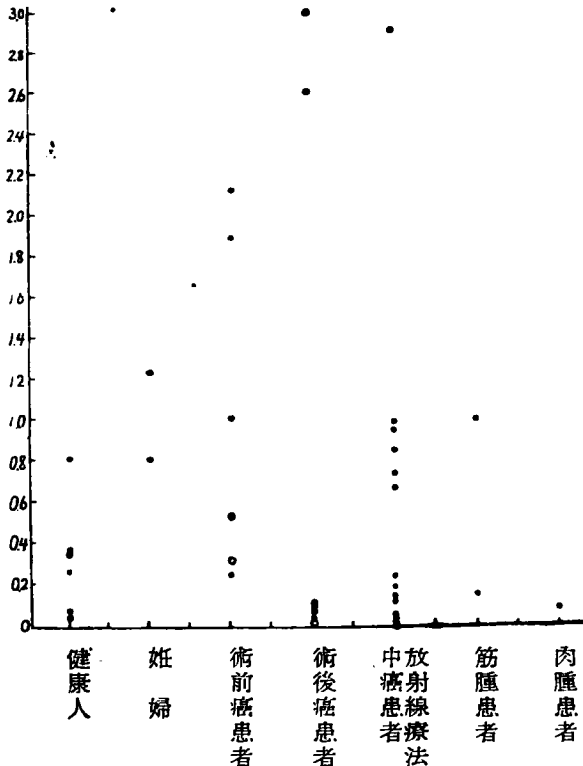
第 10 表



第11表は取扱つた凡ての患者の尿中 Uracil 量をグラフに示したものである。

表中・印で示したものは同一人で、手術前後の尿中 Uracil 量を示す。

第 11 表
尿 1 立中 Uracil 量 (mg.)



第 4 章 考 按

著者の得た成績から癌患者の尿中 Uracil 量は正常人のそれよりも多く、手術するか或は放射線療法を行ふと減少すると云ふ成績を得たことから、癌患者の尿中 Uracil の増加は大部分癌組織をもっているために増加した事は明らかである。

然も手術的に癌を切除すると、著者の場合例外なく正常よりも低い値を示すことから考へて癌患者の尿中 Uracil は癌組織そのものに由来する事が考へられる。

然し手術後何故正常の人よりも癌患者の方が Uracil 排泄量が少なくなるか、之には二つの解釈が成立つ。

一つは control として取られた正常の婦人が凡て 20 ~ 25 才迄の若い婦人であり癌患者は凡て 33 才以上の婦人であつたと云ふ事、他

の一つの考へ方は、癌患者では癌以外の組織の核酸代謝が低下すると云ふ考へ方である。後者に就いては今日迄の所、何等かの決論を下し得る data が見つからない様である。

次に癌組織から出て来た Uracil が尿中に出るとすれば、癌組織で Uracil は如何にして作られるであろうか。

癌組織は増殖の盛んな組織である。従つて核酸の合成が盛んであることが考へられる。

核酸の合成と分解は同じ経路を逆の方向に進むものでない事は今日一般に認められている。

又遊離の Pyrimidine は核酸の合成に用ひられないが Pyrimidine の Nucleotide や Nucleoside はその合成に用ひられる事、又 Pyrimidine の前駆物質が五炭糖と結合した後 Pyrimidine が完成され、核酸合成の中心となると云ふことが知られている。

一方核酸の分解に当つては、Purine 及び Pyrimidine-base が、Nucleotide, Nucleoside, を経て生ずると云はれているが、Pyrimidine 核は Nucleotide 及び Nucleoside のときは遊離の Pyrimidine より分解され易いことも知られている。

従つて若し核酸が Nucleotide 又は Nucleoside を経て分解するならば尿中の Pyrimidine は少い筈である。

核酸が之を経ずして Pyrimidine を生ずるならば尿中 Pyrimidine が増すことになる。

然し又 Nucleotide, Nucleoside が一度に多量分解されて、之等処理する酵素の不足を来し、その間之等から Pyrimidine を生ずることも考へられる。

然し之等の真の分解機序に関しては不幸にして著者は知らない。

何れにしても、癌の研究者は解釈に苦しむまぢまぢの data に遭遇する事が屢々であるが、著者の得た成績は正常人と癌患者の差異を比較的明瞭に説明していると思はれる。

癌を宿す個体の Pyrimidine 代謝に関する data の殆んど皆無なる今日に於て、著者の成績は癌患者の Pyrimidine 代謝の一端をうか

よふに先鞭をつけたものとして重要な意義を有すると考へられる。

第5章 結 論

I 婦人科領域の患者の尿1立を処理して Uracil, Thymin 劃分を濃縮し 5 cc とし、之を Soodak 等の比色法で Uracil を定量した。

II 20才より25才迄の健康な婦人の尿中 Uracil 含有量を6例について測定した所、尿1立中最低 50r 最高 800r であつた。

III 23才と31才の妊婦に就いて尿中 Uracil 含有は前者が 1240r、後者が 810r であつた。

即ち正常婦人より稍々多い様である。

IV 子宮癌患者で治療前の婦人(37才~57才)6例に就いて尿中 Uracil 量を測定すると、最高 2140r、最低 255r、であつた。

即ち一般に健康婦人及び妊婦よりも遙に高い。

V 手術後の子宮癌患者5例(33~48才)

に就いて測定すると最高 125r、最低 20r、で正常婦人よりもその排泄が低い。

VI 子宮癌患者で手術不能のため放射線療法を行つたもの14例(33~68才)に就いて測定すると、内13例は最高 1000r 最低 1r の間にあるが、1例だけ 2920r の多量排泄を見た。

この患者だけは Thymin も多量に折出した。一般に治療前の患者より低い、手術後の患者程には低くならない。

VII 子宮筋腫2例は 1180r、と 170r であつた。

VIII X線治療中の子宮肉腫患者1例は 100r であつた。

IX 尿中 Uracil の起源其他に就いては考按の部に述べた。

(本論文の要旨は第24回日本生化学会総会に発表した。)

文 献

- 1) Deuel, H. J. and Mendel, L. B., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **20**, 237 (1923)
- 2) Boivin, A., Compt. rend. Soc. Biol., **104**, 99 (1930)
- 3) Wilson, P. W., J. Biol. Chem., **56**, 215 (1923)
- 4) Mendel, L. B. and Myers, V. C., Am. J. Physiol., **26**, 77 (1910)
- 5) Deuel, H. J., J. Biol. Chem., **60**, 749 (1924)
- 6) Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem., **75**, 661 (1927)
- 7) Emerson, O. H. and Cerecedo, L. R., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **27**, 203 (1929)
- 8) Cerecedo, L. R., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **27**, 109 (1929)
- 9) Emerson, O. H. and Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem. **87**, 453 (1930)
- 10) Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem., **88**, 695 (1930)
- 11) Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem., **93**, 269 (1931)
- 12) Stehol, J. A. and Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem., **93**, 275 (1931)
- 13) Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem., **93**, 283 (1931)
- 14) Wheeler, H. L. and Johnson, J. B., J. Biol. Chem., **3**, 183 (1907)
- 15) Soodak, M., Pircio, A. and Cerecedo, L. R., J. Biol. Chem., **181**, 713 (1949)
- 16) Shimizu, T., Biochem. Z., **117**, 252 (1921)
- 17) Bandisch, O. and Johnson, J. B., Ber., d. dtseh. chem. Gesellsch. **55**, 18 (1922)
- 18) Bandisch, O. and Johnson, J. B., J. Am. Chem. Soc., **43**, 2670 (1921)
- 19) 江上不二夫篇, 核酸及び核蛋白上巻 150(1951)