

岡山医学会雑誌

第84巻5, 6合併号(930, 931号)

昭和47年6月30日発行

乳酸脱水素酵素アイソザイム(LDH isozyme) に関する実験的研究

第1編

加齢及び種々の処置を加えたラット胃粘膜についての検討

岡山大学医学部平木内科教室(主任 平木 潔 教授)

副手 宇都宮 俊裕

(昭和47年5月2日受稿)

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験動物

第2節 胃粘膜採取法

第3節 LDH isozyme測定法

第3章 実験成績

第1節 加齢による胃粘膜LDH isozymeの変動

第1項 生後1週目

第2項 生後2週目

第3項 生後1ヶ月目

第4項 adult群

第5項 old群

第1章 緒 言

現在の医学研究において癌の解明はもっとも重要なテーマの1つとされ、臨床的にもその診断及び治療に対して大きな努力が払われており、多くの成果を挙げつゝある。殊に胃癌は本邦においては最も頻度が高い悪性腫瘍であり、欧米に比較して患者数が多いに多いことから、胃癌こそ本邦の医学研究者

第2節 種々の処置による胃粘膜LDH isozymeの変動

第1項 atropine注射群

第2項 teabron注射群

第3項 Cortison注射群

第4項 Co⁶⁰照射群

第5項 実験的潰瘍群

第3節 実験成績の小括

第1項 加齢による胃粘膜LDH isozymeの変動

第2項 種々の処置による胃粘膜LDH isozymeの変動

第4章 総括並びに考按

第5章 結 語

にとり、早急に解明さるべき問題の一つと考えられている。

しかしながら、胃癌の本態に関しては未だ明らかでなく、他の悪性腫瘍と同様その原因に関しても刺戟説、胎生説、先天性迷芽説、細菌感染説、寄生虫説、ウイルス説、癌原性化学物質による発癌説等多くの学説が古くより云はれ、一定した見解が得られていないことは周知のところである。

一方、胃癌は殆んどすべての場合に粘膜に始まり、又発病年齢は高令者に多く、且つ粘膜の萎縮性病変を伴うことが多いことがよく知られている。従って胃癌発生の本態については、胃粘膜、殊に粘膜の加令による変化について検索することによりその解明の端緒をつかむことが可能と考えられる。

更に、近年における生化学の進歩、特に酵素化学の進歩はきわめて著しいものがあり、癌研究の分野においても酵素化学の果たす役割は益々増大している。すなわち、多くの酵素について癌の病態生化学的な立場から検討が加えられ、その中の幾つかの酵素については既に臨床にも応用され、癌の診断、あるいは治療効果、予後判定等にも用いられてきている。就中、乳酸脱水素酵素（以下LDHと略す）については、もっとも多くの研究がなされ、本酵素の検索の有用性が癌研究の基礎及び臨床の多方面上亘って認められている^{16), 17), 19)}

すなわち、1954年Hill及びLevi¹⁾により癌患者の血清中の酵素活性が上昇することが報告されて以来、多数の報告により血清LDH活性の診断的意義が認められている。又、1959年Markert及びMøller²⁾により“isozyme”の概念が提唱され、現在迄にLDH, aldolase, alkaline phosphatase, glutamic oxal-acetic transaminase, leucine aminopeptidase, isocitric dehydrogenase等についてisozymeの存在することが認められているが、中でもLDH isozymeがもっともよく研究されている。^{18), 20)} すなわち、LDH isozymeは電気泳動上5つの分画に分けられ、各臓器に特異的なisozyme patternを示し、又血清LDH isozymeについても各種の疾患に特徴的なPatternを呈することが報告されている。^{7), 14)}

癌組織のLDH isozymeについても、Starkweather³⁾は癌に特徴的はisozyme pattern がみられると報告しているが、教室の浅野らも胃癌のLDH isozymeについて報告している。浅野ら⁴⁾によると、胃癌組織では正常胃粘膜とは異ったisozyme patternを示すが、正常ヒト胃粘膜についても大彎側と小彎側の間で、isozyme patternが著しく異り、その差は異癌発生の部位による差とよく相関すると述べている。

ここにおいて、著者は胃粘膜のLDH isozyme patternの加令による変動を測定することが、胃癌発生の生化学的機序を解明する一手段たり得るものと考え、ラットを用いて加令による胃粘膜のLDH isozymeの変動を測定し、胃癌発生とLDH、ひいては胃粘膜

代謝機構との関連性について種々の考察を行った。

第2章 実験材料及びに実験方法

第1節 実験動物

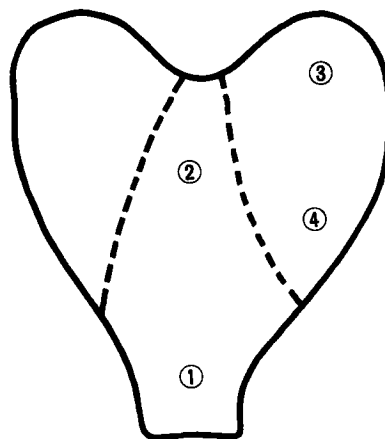
実験にはwistar系雄性ラットを使用した。まず加令による胃粘膜LDH isozymeの変動をみる為に、生後1週目群、2週目群、1ヶ月目群、adult群(生後3～6ヶ月)、old群(生後1年以上)の5群のラットについて、それぞれのグループ別に測定を行った。

つぎに種々の処置による胃粘膜LDH isozymeの変動をみるために、atropine(0.05%), 0.3cc/100gを6日間連続注射群、teabron (tetraethyl ammonium bromide) 2mg / 100gの10日間連続注射群、cortison 15mgの4日間連続注射後、3日間隔で更に3クール注射した群とclamping-cortison法による実験的潰瘍群について、それぞれLDH isozymeの測定を行った。又Co⁶⁰ 600r, 1回全身照射群についても検討した。

第2節 胃粘膜採取法

エーテル麻酔下にラットを開腹して胃を摘出後、直ちに生理的食塩水で胃内容を洗滌し、図1、に示

図1 胃粘膜採取部位



す如く、小彎側2ヶ所、大彎側2ヶ所計4ヶ所より粘膜を剝離した。得られた粘膜については秤量後速かに氷冷下でテフロンホモジナイザーを用い、5%ホモジネートを作製した。尚、生後1週目のラットは胃が小さく、4ヶ所より粘膜を剝離することが困難なため、小彎側及び大彎側のそれぞれ1ヶ所より粘膜を剝離して実験に供した。

第3節 LDH isozyme測定法

Wieme⁵⁾の寒天ゲル電気泳動法を用い、Helm⁶⁾、Yakulis⁷⁾のLDH isozyme 検出法を多少modifyして測定した。すなわち、載物がガラス上の厚さ2mmの寒天ゲルに長さ10mmのslitを作製し、約20μlの血清あるいは組織ホモジネートの上清を入れ、暗所で泳動槽を3~4℃に保ちつゝ、20volt/cmで40分間泳動し、その後Yakulisの方法に準じ、37℃の染色液中に60分間incubateして染色した。次いで常水中で約3時間水洗し、乾燥後波長570mμのfilterを使用してdensitometryを行い、isozyme各分画の百分率を算出した。

LDH isozyme は寒天ゲル電気泳動法によって、5つの分画に分離されるが、最も陰極側に泳動されるものより順にLD₁、LD₂、LD₃、LD₄、LD₅と命名した。

第3章 実験成績

第1節 加齢による胃粘膜LDH isozymeの変動

第1項 生後1週目

生後1週目の新生児ラット18例について、胃粘膜LDH isozyme の測定を行った。小彎側粘膜におけるisozyme patternは、LD₁89.5%とLD₁優位のpattern が認められた。大彎側粘膜でも小彎側と比較的近似した72.8%、20.0%、6.7%、0.8%、0%というpatternが得られた(表1)。

(表1.) 生後1週目

小 彎 側

	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
	89.6%	7.8%	2.4%	—%	—%
	84.1	15.9	—	—	—
	97.5	2.5	—	—	—
	88.9	9.3	1.8	—	—
	90.5	8.0	1.5	—	—
	74.5	23.3	2.2	—	—
	85.7	14.3	—	—	—
	100.0	—	—	—	—
	74.9	17.8	7.3	—	—
	90.7	9.3	—	—	—
	87.2	12.8	—	—	—
	100.0	—	—	—	—
	90.3	9.7	—	—	—
	83.6	16.4	—	—	—

	94.7	5.3	—	—	—
	97.3	2.7	—	—	—
	91.8	9.2	—	—	—
平均	89.5	9.7	0.9	0	0

大 彎 側

LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
72.5%	21.6%	5.4%	—%	—%
46.2	22.9	16.4	6.9	—
58.6	26.8	10.5	3.5	—
64.0	21.1	19.2	—	—
91.4	8.6	—	—	—
75.5	20.0	4.5	—	—
83.3	10.4	6.3	—	—
81.7	16.1	3.2	—	—
67.1	26.7	6.2	—	—
70.0	20.0	10.0	—	—
77.5	28.1	7.4	—	—
83.6	7.2	7.2	—	—
75.8	16.2	8.0	—	—
69.7	30.3	—	—	—
69.3	14.7	6.7	2.8	—
80.2	18.1	1.7	—	—
72.0	24.0	12.0	2.0	—
72.3	27.7	—	—	—
72.8	20.0	6.7	0.8	0

第2項 生後2週目

生後2週目のラット6例について測定したが、小彎側粘膜では幽門側、噴門側のisozyme patternは近似し、LD₁が圧倒的に優位のpatternを呈した。一方、大彎側粘膜では幽門側と噴門側でやゝ異り、それぞれ70.4%、21.9%、5.1%、0.8%、0%及び56.6%、28.5%、10.6%、2.7%、0%と噴門側でLD₁の減少、LD₂、LD₃の増加傾向が認められた。(表2)。

(表2) 生後2週目

部位	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
①	79.2%	20.8%	—%	—%	—%
	90.7	9.3	—	—	—
	85.6	12.2	2.2	—	—
	82.5	15.5	2.0	—	—
	87.4	12.6	—	—	—
	84.4	15.6	—	—	—
平均	84.9	14.3	0.7	0	0
②	95.3	4.3	—	—	—
	86.9	13.1	—	—	—
	88.6	11.4	—	—	—
	90.2	9.8	—	—	—
	85.4	14.6	—	—	—
	93.2	6.8	—	—	—
平均	89.9	10.7	0	0	0
③	58.2	41.8	—	—	—
	58.8	22.3	11.5	7.4	—
	51.4	20.7	21.6	6.3	—
	53.8	30.5	15.7	—	—
	56.7	24.5	16.4	2.4	—
	60.5	31.2	8.3	—	—
平均	56.6	28.5	10.6	2.7	0
④	75.2	24.8	—	—	—
	79.8	20.2	—	—	—
	62.0	18.5	14.2	5.3	—
	71.5	22.2	6.3	—	—
	68.2	21.4	10.4	—	—
	75.4	24.6	—	—	—
平均	70.4	21.9	5.1	0.8	0

第3項 生後1ヶ月目

生後1ヶ月の幼若ラット6例について同様の実験を行った。小彎側のLDH isozyme pattern は生後1週目、2週目との間に有意の差異はみられないが、大彎側粘膜ではLD₁の減少は一層顕著となり、LD₂、LD₃、LD₄、LD₅の増加が認められ、幽門側及び噴門側でそれぞれ 39.3%、35.2%、18.6%、8.3%、1.2%及び35.7%、34.4%、22.5%、8.3%、0.5%のpatternが認められた(表3)。

(表3) 生後1ヵ月目

部位	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
①	95.0%	5.0%	—%	—%	—%
	91.3	5.2	2.2	—	—
	96.0	4.0	—	—	—
	82.5	11.4	6.0	—	—
	78.5	11.7	9.8	—	—
	85.7	9.2	5.1	—	—
平均	88.1	7.7	5.7	0	0
②	95.3	4.7	—	—	—
	74.5	19.2	6.2	—	—
	89.6	10.4	—	—	—
	90.3	6.4	3.2	—	—
	91.4	4.3	4.3	—	—
	89.5	7.8	2.7	—	—
平均	88.4	8.8	2.7	0	0
③	31.8	38.6	18.1	7.5	3.8
	38.8	36.7	17.5	6.4	—
	43.3	33.9	18.8	5.6	—
	49.0	35.0	19.3	6.5	0.2
	33.8	28.7	19.5	15.9	2.1
	39.3	35.2	18.6	8.3	1.2
平均	46.2	32.6	13.0	7.5	—
④	31.5	34.7	24.4	8.4	0.8
	30.2	39.5	25.0	4.1	1.0
	32.1	35.5	26.3	5.3	—
	28.5	29.8	24.1	16.2	1.4
	35.7	34.4	22.5	8.3	0.5
平均	35.7	34.4	22.5	8.3	0.5

第4項 adult 群

Adult ラット9例について測定したが、小彎側の isozyme pattern に加齢による変動がみられないのに対し、大彎側粘膜のpattern の変動は更に進行してLD₁のみでなく、LD₂も減少し、LD₃、LD₄、LD₅が増加した。幽門側及び噴門側における大彎側粘膜の isozyme pattern はそれぞれ30.7%、31.1%、25.2%、13.9%、2.7%及び27.3%、29.7%、25.6%、15.5%、3.3%であった(表4)。

(表4) adult

部位	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
①	78.0%	21.3%	0.7%	—%	—%
	84.9	15.1	—	—	—
	93.1	6.1	0.7	—	—
	72.7	13.0	9.9	2.5	1.6
	97.3	2.7	—	—	—
	87.3	11.2	1.5	—	—
	100.0	—	—	—	—
平均	87.6	9.9	1.8	0.3	0.2
②	62.0	24.8	11.2	2.0	—
	75.8	21.2	3.0	—	—
	89.6	7.8	2.6	—	—
	88.3	6.0	4.1	1.3	—
	76.0	9.5	8.5	3.5	2.4
	100.0	—	—	—	—
	95.3	4.7	—	—	—
平均	85.4	9.7	3.6	0.8	0.3
③	23.1	30.3	25.6	17.9	3.1
	25.2	29.4	24.7	17.2	3.5
	24.0	29.3	25.9	18.7	2.1
	38.0	30.4	19.5	10.4	1.7
	30.2	31.6	26.6	10.0	1.6
	15.6	27.7	34.3	17.4	4.0
	34.0	35.9	37.8	21.9	1.5
④	42.8	30.7	16.9	8.0	1.8
	43.4	35.1	16.2	4.0	1.3
	30.7	31.1	25.2	13.9	2.7
	15.3	31.2	29.0	20.0	4.5
	28.4	24.8	23.1	18.2	5.5
	24.1	31.1	27.3	14.6	2.9
	30.8	35.1	23.1	9.0	0.9
⑤	11.0	29.2	24.7	19.3	5.7
	37.6	32.5	22.5	7.5	0.9
	13.1	25.7	31.4	25.0	4.8
	46.4	28.5	24.0	10.0	1.1
	27.3	29.7	25.6	15.5	3.3
	27.3	29.7	25.6	15.5	3.3
	27.3	29.7	25.6	15.5	3.3

第5項 old群

Oldラット6例についても、小彎側のisozyme pattern に加齢による変動はみられない。大彎側粘

膜では、adult 群との間に有意の差はみられないが、加齢による変動は一層促進されたものと考えられる。すなわち、幽門側では28.5%、26.3%、23.7%、18.3%、3.6%、噴門側では27.7%、25.9%、23.9%、18.2%、4.2%のpatternが得られた(表5)。

(表5) old

部位	LD 1	LD 2	LB 2	LD 4	LD 5
①	86.0%	14.0%	—%	—%	—%
	74.9	21.3	3.8	—	—
	92.8	7.2	—	—	—
	100.0	—	—	—	—
	81.2	16.5	2.3	—	—
	82.6	17.4	—	—	—
平均	86.3	12.7	1.0	0	0
②	95.0	5.0	—	—	—
	64.7	24.2	—	—	—
	90.1	9.9	—	—	—
	100.0	—	—	—	—
	96.8	2.8	0.4	—	—
	87.1	12.9	—	—	—
平均	88.9	9.1	1.9	0	0
③	25.5	27.6	24.5	17.5	4.9
	32.1	24.2	25.5	17.4	0.8
	29.7	16.2	22.9	24.5	6.7
	30.6	30.4	21.9	14.3	3.0
	32.2	30.7	24.0	12.7	0.4
	21.0	29.0	23.6	23.6	2.8
平均	28.5	26.3	23.7	18.3	3.6
④	21.7	22.9	22.4	24.2	8.8
	19.6	24.2	37.4	17.1	1.7
	36.0	20.1	14.2	21.9	7.5
	35.8	31.5	23.9	8.4	0.4
	21.9	28.1	29.3	17.7	3.0
	31.0	29.0	16.3	20.1	3.6
平均	27.7	25.9	23.9	18.2	4.2

第2節 種々の処置による胃粘膜LDH isozymeの変動

第1項 atropine注射群

10例について測定を行ったが、小彎側粘膜では対照の正常adult ラットとの間に有意の差がみられず、88.3%、9.9%、1.8%、0%、0%のisozyme

pattern が認められた。一方、大彎側粘膜では21.4%、26.0%、25.3%、21.7%、5.7%と対照群に比較してLD₁、LD₂の減少とLD₄、LD₅の増加が認められた(表6)。

(表6) atropine

	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
小彎側	85.4%	13.4%	1.4%	—%	—%
	88.0	12.0	—	—	—
	88.1	10.2	1.6	—	—
	86.4	10.0	3.6	—	—
	75.4	19.6	4.9	—	—
	95.0	3.7	1.3	—	—
	91.9	6.3	1.8	—	—
	96.1	3.9	—	—	—
	87.3	11.1	1.6	—	—
	89.6	8.4	1.9	—	—
平均	88.3	9.9	1.8	0	0
大彎側	17.8	16.5	24.2	31.6	9.4
	29.0	22.0	24.7	18.6	5.0
	16.4	39.5	31.6	11.4	2.9
	15.2	28.1	26.2	23.8	6.7
	25.4	24.2	23.2	22.1	5.1
	26.3	26.8	23.3	18.8	4.7
	23.6	29.3	24.4	17.4	5.5
	19.6	26.8	26.3	24.7	2.6
	20.9	22.7	26.0	22.2	7.2
	19.6	23.0	23.0	26.5	7.9
平均	21.4	26.0	25.3	21.7	5.7

第2項 teabron注射群

自律神経遮断剤 teabron を5例について連日注射し isozyme pattern の変動について測定したが、対照群との間に有意の差がみられなかった(表7)。

(表7) teabron

	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
小彎側	95.1%	4.9%	—%	—%	—%
	91.7	7.6	0.7	—	—
	91.4	8.1	—	—	—
	93.0	6.0	1.0	—	—
	89.2	9.4	1.4	—	—
平均	92.0	7.2	0.6	0	0
大彎側	35.2	26.5	20.6	14.4	3.3
	32.8	25.5	22.4	16.9	2.3

大彎側	27.1	22.6	22.1	19.5	6.8
	26.8	30.0	26.4	14.8	2.0
	25.2	26.4	25.5	17.0	5.9
平均	29.4	26.2	23.4	16.5	4.2

第3項 cortison注射群

cortison 注射群5例では小彎側粘膜の isozyme pattern に変動を来とし、76.0%、14.9%、7.8%、1.3%、0%とLD₁の減少、LD₂、LD₃の増加傾向が認められた。一方、大彎側粘膜では対照群との間に有意の変動はみられなかった(表8)。

(表8) cortison

	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
小彎側	66.4%	18.2%	10.9%	4.5%	—%
	79.1	14.0	7.0	—	—
	66.7	19.0	14.3	—	—
	78.5	12.8	6.8	1.9	—
	89.5	10.4	—	—	—
平均	76.0	14.9	7.8	1.3	0
大彎側	31.0	30.5	21.0	11.6	5.5
	26.4	24.4	25.9	19.2	4.1
	33.3	28.4	23.5	12.7	2.0
	28.9	27.7	27.1	13.9	2.4
	33.3	23.2	23.2	17.9	2.0
平均	30.1	26.8	24.1	15.1	3.2

第4項 Co⁶⁰照射群

Co⁶⁰照射群では小彎側、大彎側ともに対照群との間に有意の差が認められない(表9)。

(表9) Co⁶⁰

	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
小彎側	94.3%	5.7%	—%	—%	—%
	83.1	12.7	4.2	—	—
	84.9	9.4	5.7	—	—
	81.4	14.9	3.6	—	—
	84.6	15.4	—	—	—
	86.6	13.3	—	—	—
	91.3	8.8	—	—	—
	89.2	10.1	—	—	—
	90.0	10.0	—	—	—
平均	84.4	13.0	2.6	—	—
	87.0	11.3	1.6	0	0
大彎側	23.8	21.9	22.6	25.8	6.0

	25.7%	23.1%	26.5%	20.5%	4.3%
	30.0	25.4	24.5	17.6	3.3
大	23.6	31.3	25.3	16.7	3.0
	42.6	26.2	18.4	11.3	1.4
彎	32.5	39.6	21.9	5.9	—
	28.4	30.9	30.0	16.7	3.1
側	28.8	28.9	25.0	16.3	1.0
	30.4	28.5	23.4	16.7	0.9
	23.3	31.7	26.7	16.7	1.7
平均	28.9	28.8	24.4	16.4	2.5

第5項 実験的潰瘍群

claming-cortison 法によって2例の胃体部に実験的潰瘍を作製することに成功し、潰瘍辺縁部（大彎側寄り）のLDH isozymeを測定した。潰瘍が体部大彎側寄りに存在するにも拘らず、isozyme pattern にはLD₁の優位が認められた（表10）。

（表10）潰瘍辺部LDHアイソザイム（2例）

	LD 1	LD 2	LD 3	LD 4	LD 5
1	100 %	0 %	0 %	0 %	0 %
2	86.7	8.3	5.3	0	0
平均	93.4	4.2	2.6	0	0

第3節 実験成績の小括

第1項 加齢による胃粘膜LDH isozymeの変動

まず加齢による胃粘膜LDH isozyme の変動を測定した45例の成績を少括して年令別に比較検討するに、前述の如く小彎側粘膜では加齢によるisozyme patternの変動がみられないが、噴門側の大彎側粘膜では加齢による変動が明らかであるという成績が得られた（図2、3）。

図2 加齢による小彎側胃粘膜LDH isozyme patternの変動

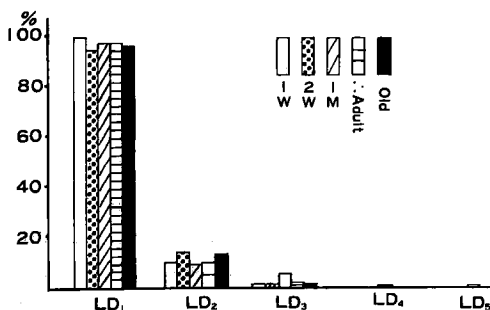
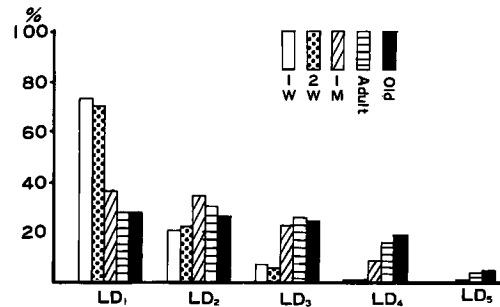


図3 加齢による大彎側胃粘膜LDH isozyme patternの変動



第2項 種々の処置による胃粘膜LDH isozymeの変動

つぎにAclult ラットに種々の処置を行った場合の胃粘膜LDH isozyme の変動を、各処置群で比較検討する上、atropine注射群、Cortison 注射群及び実験的潰瘍群でisozyme patternの変動が認められた（図4、5）。

図4 種々の処置による小彎側胃粘膜LDH isozyme patternの変動

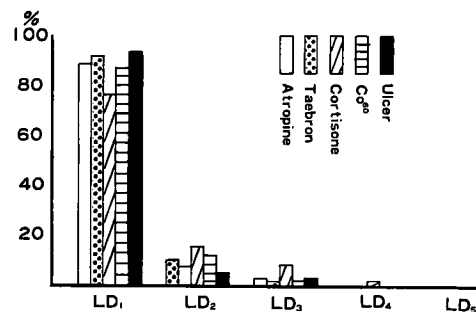
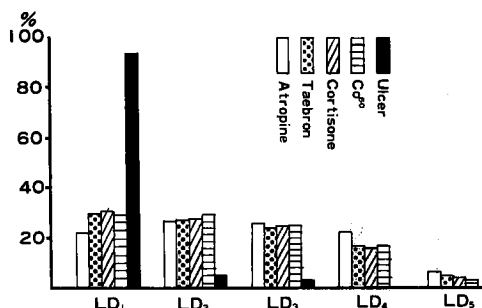


図5 種々の処置による大彎側胃粘膜LDH isozyme patternの変動



第4章 総括並びに考按

胃疾患の発生頻度は加齢によって異り、特に萎縮性胃炎が急速に増加して行く成年期以降において、胃癌の発生も増加することはよく知られている。又浅野ら⁴⁾は胃粘膜のLDH isozymeを測定し、胃粘膜は部位によってLDH活性が異なるのみでなく、LDH isozyme patternにも部位による差異の存在することを報告し、胃癌の発生とLDH isozymeとの間に相関関係を認めている。ここにおいて、著者は胃粘膜LDH isozymeの加齢による変動を測定することによって、胃癌と胃粘膜LDHの関係について更に詳細な検索を行った。すなわち、小彎側の胃粘膜LDH isozymeでは新生児期より老年期に到るまでisozyme patternの変動がみられないのに対し、大彎側粘膜では加齢によるpatternの著しい変動が認められ、加齢と胃疾患発生間に密接な関係が示唆された。又抗コリン剤注射、cortison注射、Co⁶⁰照射、実験的潰瘍等の種々の処置を加えた胃粘膜についても、LDH isozymeを測定し、atropine注射群、Cortison注射群及び実験的潰瘍群でisozyme patternの変動が認められた。

悪性腫瘍とLDHの関係については、1954年Hill¹⁾の報告以来、血清LDH活性の上昇することが知られ、本邦においても多数の研究者により血清LDH活性の測定が臨床診断或いは治療効果、予後の判定等に有用であることが認められている。一方、LDH isozymeについても、既に1957年Vesselら⁸⁾が心筋硬塞、白血病等について血清LDH isozymeに特有なpatternを認めることを報告している。更に1959年Markert及びMøller²⁾によりisozymeの概念が

確立されて以来、研究は急速に発展し、臨床面においては、Wroblewski⁹⁾は急性肝炎、心筋硬塞でそれぞれ特有なパターンがみられるとともに、胃癌、肝癌、甲状腺癌などで原発臓器に比較的に類似したp-patternの認められることを報告しているが、服部ら¹⁰⁾は原発性肝癌において比較的特徴的なpatternが出現することを報告し、浅野ら⁴⁾、¹¹⁾も白血病でLD₃が増加し、又急性肝炎では肝組織のpatternを反映することを報告している。胃癌については浅野ら⁴⁾、吉田ら¹²⁾はLD₃の増加することを報告している。この悪性腫瘍患者の血清LDH isozymeにおけるLD₃の増加の機序についてStarkweather³⁾は、癌組織では腫瘍細胞が原発臓器のisozyme patternを失って、腫瘍細胞に共通したpatternを呈する様になり、又血清は腫瘍組織から酵素逸脱によって悪性腫瘍に比較的に特異なisozyme patternを示すようになると考えられ、中原の提唱するGreensteinの第1法則即ち、癌細胞の酵素化学的变化に一定の方向性があるということが、isozyme levelでも適用されることを示唆している。

一方、胃粘膜については従来組織化学的研究は可成り行はれているものの、組織の特異性から生化学的研究は極めて少ない。特に胃粘膜の酵素化学について、isozyme levelで検索したものはBaume¹³⁾、浅野ら⁴⁾、¹⁵⁾の報告をみるにすぎない。浅野らによれば、外科的に切除したヒトの胃粘膜のLDH isozymeは、胃の部位によってpatternが異なるとし、すなわち、小彎側の粘膜は大彎側に比較してLD₁が多くてLD₅が少なく、大彎側では幽門部より噴門部に近付く程LD₅が増加し、癌胃では非癌部大彎側粘膜は小彎側に近いisozyme patternを呈し、癌組織のpatternも小彎側のそれに似ている。このことは、癌は担癌動物組織の生化学的性状を漸次癌組織自身のそれに似た方向に変化させるとすると、Greensteinの第2法則もisozyme levelで適用されることを示すものといつてよからう。

Kaplan¹⁴⁾により、LDHは嫌気的条件下に適応したM型と、好気的条件下に適応したH型の2つのsubunitのtetramerであり、LD₁はMMMM、LD₂はMMMH、LD₃はMMHH、LD₄はMHHH、LD₅はHHHHという構造を有することが認められている。従って癌組織はM型LDHが多くて嫌気的条件下に適応することが出来、癌の糖代謝に関するWarburgの学説とよく一致する。又胃粘膜の糖代謝をLDH isozymeによって部位別に比較すると、小彎側はM型

LDHに富んで嫌気的条件下に適應して、癌組織のそれに似ているのに対し、大彎側は好気的条件下に適應し、癌の発生に対し生化学的には不利であると云えよう。

今回行った実験において、ラット胃の小彎側粘膜のLDH isozyme は、新生児期より老年期に至るまでM型LDHが大部分を占めて、終始嫌気的条件下に適應していることが認められた。一方、大彎側粘膜は新生児期においては小彎側粘膜のそれに極めて類似するが、加齢に従って好気的条件下に適應するpatternに変動した。これは、胎児組織はすべて癌組織の代謝patternに似るというGreensteinの考えとよく一致するとともに、大彎側粘膜の代謝patternは癌のそれと著しく異り、臨床的に胃癌は小彎側に好発して大彎側に極めて少いということ、よく一致する成績のように思われる。すなわち、これらの成績から、胃に何らかの癌発生の因子が加はる際、大彎側に比較して小彎側は癌を発生し易いものであると推論することも必ずしも無理ではなからう。

さて、ラット大彎側の胃粘膜LDHは加齢によって著しい変動を示したが、ヒトの胃で萎縮性胃炎が加齢とともに増加することがよく知られている。今回のラットの実験において、atropine注射、cortison注射でそれぞれ大彎側及び小彎側の粘膜LDH isozyme patternに変動がみられたが、胃疾患と粘膜LDH isozymeの間に何らかの関係が存在することを示唆したものとも考えられる。又潰瘍辺縁部の粘膜LDH isozymeが嫌気的パターンを呈していたが、これは潰瘍修復機転に伴う極めて旺盛な代謝活性を反映したものであり、新生児期における大彎側粘膜のisozyme patternと同じ意味を有するものと

考えられた。

胃粘膜の酵素化学的研究の今後の一層の発展によって、種々の胃疾患の病態生化学的検索のみでなく、病因の解明さえも期待されるのではなからうか。

第5章 結 語

ラットを用いて、加齢に伴う胃粘膜LDH isozymeの変動を測定し、更に癌を中心とした胃疾患との関係を解明する目的で、各種の処置を加えたラットの胃粘膜LDH isozymeを測定し次の如き結果を得た。

ラット胃において、小彎側粘膜はLD₁が優位のisozyme patternを呈して、糖代謝上は嫌気的条件下に適應するが、加齢による変動はみられない。一方、大彎側粘膜は新生児期には小彎側粘膜のisozyme patternに似るが、加齢と共にM型LDHが減少してH型LDHが増加し、糖代謝上好気的条件下に適應して行く変動を示した。この成績は、臨床的な胃癌発生の部位別頻度の差と極めてよく一致する。

実験的潰瘍の潰瘍辺縁部粘膜では、新生児期の胃粘膜と同様のisozyme patternを示すことが認められた。又atropine注射、cortison注射による胃粘膜LDH isozymeの変動により、胃疾患とLDH isozymeの間に何からの関係が存在することが示唆された。

稿を終えるに当り御懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師平木潔教授ならびに、日夜御指導を頂いた浅野健夫博士に深甚の謝意を捧げます。

尚、本論人の要旨は第7回日本老年医学会総会及びThe 3rd world Congress of Gastroenterology Tokyo, 1966. において発表した。

文

- 1) Hill, B.R., Levi, C. : Elevation of serum component in neoplastic disease. *Cancer Res.* 14 : 513, 1954.
- 2) Markert, C.L., Møller, F. : Multiple form of enzymes, tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Nat. Acad., U. S.* 45 : 753, 1959.
- 3) Starkweather, W.H., Shoch, H.K. : Some observations on the lactate dehydrogenase of human neoplastic tissue. *Bioch. Biophys. Acta.* 62 : 440, 1962.

献

- 4) 浅野健夫, 他 : 癌を中心とした内科的疾患における血清及び胃粘膜の乳酸脱水素酵素アイソザイムについて、*日内誌* 54 : 72, 1965.
- 5) Wieme, R.T. : An improved technique of agar-gel electrophoresis on microscope slide. *Clin. Chim. Acta.* 4 : 317, 1959.
- 6) Van der Helm, H.J. : A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isozymes in serum. *Clin. Chim. Acta.* 7 : 124, 1962.
- 7) Yakulis, V.J. et al. : Agar gel electrophoresis for the determination of isozymes of

- lactic and malic dehydrogenase. *Am. J. Clin. Path.* 38 : 378, 1962.
- 8) Vessel, E. S., Bearn, A. G. : Localization of lactic acid dehydrogenase activity in serum fractions. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 94 : 96, 1962.
 - 9) Wroblewski, F., LaDue, J. S. : Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 90 : 210, 1955.
 - 10) 服部信, 松尾裕 : 第59回日本内科学会講演会シンポジウム, 癌の診断, 4) 癌患者血清の酵素学的検討, 日誌, 51 : 536, 1962.
 - 11) 浅野健夫, 他 : 血液疾患における血清乳酸脱水素酵素とそのアイソザイムの臨床的意義について, 臨床血液, 5 : 326, 1964.
 - 12) 吉田順 : 悪性腫瘍における血清乳酸脱水素酵素とそのIsozymeの臨床的研究—殊に胃癌について— 日消誌, 63 : 1217, 1966.
 - 13) Baume, P. E., et al. : Isoenzyme of lactate dehydrogenase in human gastric mucosa and gastric carcinoma tissue. *Gastroenterology*, 50 : 781, 1966.
 - 14) Kaplan, N. O. et al. : Nature and development of lactic dehydrogenases. The two major types of this enzyme from molecular hybrids which change in make up during development. *Science*, 136 : 962, 1962.
 - 15) 浅野健夫, 高橋利雄, 宇都宮俊裕 : 胃粘膜Lactic Dehydrogenaseアイソザイムの胃疾患および加齢による変動について, 日老医誌, 3 : 1, 1966.
 - 16) Zimmerman, H. J., Weinstein, B. S. : Lactic dehydrogenase activity in human serum. *J. Lab. & Clin. Med.*, 48 : 607, 1956.
 - 17) Bierman, H. R., Hill, B. R. : Correlation of serum lactic dehydrogenase activity with the clinical status of patients with cancer, lymphomas, and the leukemias. *Cancer Res.* 17 : 660, 1956.
 - 18) Wroblewski, F., Gregory, K. F. : Lactic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissues and plasma and in disease states. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 94 : 912, 1961.
 - 19) Hill, B. R. : Some properties of serum lactic dehydrogenase. *Cancer Res.*, 16 : 460, 1956.
 - 20) 浅野健夫, 他 : 乳酸脱水素酵素のisozymeに関する研究 日消誌, 61 : 910, 1964.

Abstract

Experimental Studies on Lactic Dehydrogenase Isozyme

Part 1.

The Changes of Lactic Dehydrogenase Isozyme of Gastric Mucosa during Aging Process and by Some Treatment

by

Toshihiro Utsunomiya

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Kiyoshi Hiraki)

The incidence of gastric cancer differs greatly by the site of the stomach, and cancer has predilection for the area covering the lesser curvature. Some gastric diseases (e.g., cancer and atrophic gastritis) increase in the old age. Therefore, I have conducted a series of studies of LDH isozyme of gastric mucosa in Wistar rats.

The pattern of LDH isozyme of gastric mucosa separated by means of agar gel electrophoresis in the adult rat differs among topographically divided sections of mucosa. The heterogeneity of LDH is explained by the synthesis of two types of monomers, namely, H and M types. I found more of M type LDH in the lesser curvature, while more of H type LDH in the greater curvature.

The changes of the isozyme pattern were observed through the aging process. It was found that the most important fraction of pyloric mucosa on the lesser curvature was the slowest fraction, LD-1, and the pattern did not change by aging. Nor was there any difference in the pattern of the lesser curvature on the cardia side. On the other hand, in the mucosa of the greater curvature of newborn rats LD-1 occupied 73%, resembling the pattern of the lesser curvature, but LD-1 tended to decrease and the fast moving isozyme increased gradually through the aging process. These results indicate that M type LDH is found abundantly in the mucosa of the lesser curvature, while in the mucosa of the greater curvature the predominant pattern is converted gradually from M type LDH to H type LDH.

The effect of various agents on LDH isozyme of gastric mucosa was also studied. The changes of isozyme pattern were also observed by the continuous administration of atropine and cortison. The isozyme of neighboring mucosa of experimental ulcer showed an increase of LD-1 fraction.

From these findings, it is assumed that the metabolic patterns in the lesser curvature are adapted to anaerobic conditions, and these patterns resemble those of cancerous tissue. In addition, the greater curvature gradually becomes adaptable to aerobic condition during the aging process. Therefore, the differences in LDH isozyme pattern observed between the mucosa of the lesser and greater curvatures would reflect not only the morphological difference but also the difference in the specificity of metabolism accounts for more frequent development of gastric cancer on the lesser curvature.