

Polarography による癌反応の検討

(指導：日下連院長)

国立岡山病院内科

松 本 萬 輔
長 田 高 寿
三 浦 国 寛
稲 葉 亮 一
研究検査科
才 川 秀 男

(昭和40年1月12日受稿)

I 緒 言

1937年 Bridicka¹⁾により polarography 癌反応として、蛋白波の診断的研究が行なわれて以来、癌診断の応用の途がひらかれた。その後 Mayer 等²⁾により、新しい方法も発見され、多数の研究者^{3) 4) 5)}が種々検討を加えて来た。しかしいずれも癌患者血清における蛋白波の波高を測定し、その変動を報告しているに過ぎない。これらの方法は実験結果の比較のための適当な規準のないことや、ちがっ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の結果の統一性がないことに欠陥がある。これらの欠陥を除くため Müller 等^{6) 7) 8)}は第1反応および第2反応の蛋白波の波高の比を求め、それに係数15を乗ずる Protein Index の表示方法、ならびに波高の測定にあたっては従来のように単なる mm で示さず blank test における拡張電流の上縁から蛋白第2波の変曲点迄の高さを mm で計測し更に滴下水銀電極の水銀滴の単位表面積当りの電流値即ち $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ に統一する法を提唱した。しかしてこの法によれば癌と正常人との区別が明瞭であると報告している。著者らは此の方法の追試の充分でないのにかんがみ、各種癌患者および正常人の血清について此の法を追試し、各種癌患者の Protein Index と正常人のそれとを比較し、また胃癌、胃十二指腸潰瘍、胃ポリープの手術前と後の Protein Index の経日変動を測定し、病状の変化と Protein Index との関係を観察した。

II 実験材料と装置

昭和36年12月以降国立岡山病院癌センターに登録

した各種癌患者及正常人97例ならびにその後1年間における病理組織学にあるいは手術、剖検等により診断の確定した178例について Polarography 癌反応を実施した。

試料：乾燥注射器を用い空腹時に約5cc採血し、清浄な試験管に入れ、型のように分離した血清を用いた。

試薬

- (1) 1N-KOH 6.6gの KOH を水にとかし100ml とする。
- (2) 20% Sulfosalicylic acid 20gの Sulfosalicylic acid を水にとかし100ml とする。
- (3) 8×10^{-3} Mol $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を水にとかし、1000ml とする。
- (4) 1×10^{-2} Mol Hexaminecobaltic chloride: 1.337g $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ を水にとかし500ml とする。
- (5) 1.0N- NH_4Cl : 53.5g NH_4Cl を水にとかし、1000ml とする。
- (6) 1.0N NH_4OH : 市販アムモニア水70.1mlに水を加え、1000ml とする。1N-HCl で滴定し、補正する(指示薬0.1%メチルレッド液。)

試験電解液

- (1) 第1反応電解液：試薬3の20ml に試薬5を10ml 加え、それに蒸溜水60ml 加え、次に試薬6を10ml 加える。加える試薬の順序を変えてはいけない。用に臨んで調製すべきであり保存は出来ない。
- (2) 第2反応電解液：試薬4の10ml に試薬5の10ml を加え、それに試薬6の80ml を加える。密栓すれば保存出来る。

装置 島津製 Polarograph SH 型

用いたキャピラーレの水銀滴下速度は毎滴4秒、第1反応時の水銀1滴の表面積3.12mm²第2反応時の水銀1滴の表面積3.25mm²水銀の高さ60cm、恒温槽温度25°C.

III 実験方法

Müller の Protein Index を用いた。即ち次のように第1反応および第2反応を施行し、それぞれの蛋白波の波高の比を求め、倍数15を乗じて表1のようにして Protein Index を求めた。然して Protein Index の値が6以上を異常とした。

表 1

Protein Index の求め方	
第1反応の波高: D(μA/mm ²)	
第2反応の波高: F(μA/mm ²)	
$F/D \times 15 = P.I.$	
P.I.Protein Index	
15Müller の係数	

第1反応 (Digest test)

- (1) 血清 0.2ml に水 0.2ml と 1N-KOH 0.1ml を加え、振盪後 37°C で 30分間振盪する。
- (2) その混和液 0.05ml にコバルト電解液 10ml を

加え、25°C で Current range 100μA (2mm=1μA) Damping 3 で飽和甘汞電極に対して -0.8V から Polarography をとる。

第2反応 (Filtrate test)

- (1) 血清 0.5ml に水 1ml と 1N-KOH 0.1ml を加え、30分間 37°C に保つ。
- (2) 次に 20% の Sulfosalicylic acid の 1ml を加え、よく混和し、10分後遠心し、上澄液を Watman NO.5B の濾紙で濾過する。
- (3) その濾液 0.5ml にコバルト電解液 5ml を混和し、25°C で Current range 50μA (4mm=1μA) Damping 3 で飽和甘汞電極に対して -0.8V から Polarography をとる。

判定方法

波高の測定は blank test における拡張電流の Plateau の上縁から蛋白二重波の第2波の極大の頂点までを計測し、それを μA/mm² とし、更にこれを滴下水銀の単位表面積当りの電流値即ち μA/mm² に換算統一して表現した。

IV 実験成績

A. 正常群

表2のように Protein Index の最高値 5.4, 最低値 1.5, 平均値 3.5 であった。

表 2

例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index
1	M	61	4.8	16	M	37	3.9	31	M	63	4.3
2	M	59	5.0	17	F	51	3.0	32	M	49	4.8
3	F	63	4.1	18	F	44	2.7	33	F	55	4.6
4	F	55	2.6	19	F	48	2.7	34	F	48	2.1
5	M	52	4.8	20	F	53	2.4	35	F	38	2.6
6	M	47	2.9	21	F	58	5.3	36	M	65	3.7
7	F	48	4.2	22	F	41	4.4	37	F	51	3.5
8	F	45	2.1	23	F	58	2.4	38	M	58	3.2
9	F	46	1.5	24	M	60	2.4	39	M	51	2.7
10	F	52	3.5	25	M	60	3.6	40	M	58	2.7
11	F	57	3.2	26	M	59	5.0	41	M	43	4.0
12	F	55	2.3	27	F	47	2.1	42	M	50	4.5
13	F	49	2.6	28	F	46	2.4	43	M	51	2.2
14	F	51	3.2	29	F	51	5.3	44	F	55	4.5
15	F	50	2.9	30	F	50	5.4	45	M	62	2.9

B. 胃癌群

表3のように Protein Index 最高値 15.1, 最低

値 3.1, 平均値 7.4, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの 80%

表 3

例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index
1	M	55	7.2	22	M	54	8.0	43	M	63	3.5	64	M	50	4.6
2	F	58	6.2	23	M	62	8.9	44	F	52	6.3	65	M	37	7.2
3	M	60	9.8	24	M	60	7.2	45	F	44	4.5	66	F	35	6.0
4	F	61	9.3	25	M	40	6.8	46	M	61	11.7	67	M	42	4.9
5	F	59	12.6	26	M	42	3.1	47	F	41	4.9	68	M	65	7.6
6	M	44	4.8	27	M	55	5.1	48	M	39	5.9	69	F	50	13.1
7	F	46	6.3	28	F	47	8.0	49	M	64	5.6	70	F	51	8.1
8	M	53	7.5	29	M	39	4.5	50	M	59	5.4	71	M	49	6.1
9	M	56	10.2	30	M	65	15.1	51	F	50	8.6	72	F	44	8.1
10	M	38	7.7	31	M	38	6.0	52	M	54	12.6	73	M	41	4.4
11	M	64	5.1	32	F	41	11.7	53	F	49	10.1	74	F	38	6.0
12	M	66	11.1	33	F	43	8.1	54	M	46	6.7	75	M	36	7.6
13	F	51	15.0	34	M	52	3.2	55	M	51	5.6	76	M	64	8.1
14	M	34	5.1	35	M	51	10.1	56	F	62	7.3	77	M	43	6.9
15	M	40	6.6	36	M	53	5.3	57	M	31	3.7	78	M	53	5.6
16	M	45	6.3	37	M	48	3.3	58	M	55	8.6	79	F	52	9.2
17	M	47	6.2	38	F	49	8.4	59	M	58	10.4	80	M	57	14.7
18	M	54	7.1	39	M	60	4.6	60	M	65	3.3	81	M	50	9.9
19	F	39	10.8	40	M	59	7.2	61	F	49	6.0	82	M	61	6.1
20	F	51	9.9	41	M	53	10.6	62	M	67	8.7				
21	M	57	8.7	42	M	51	3.2	63	F	38	4.6				

C. 胃, 十二指腸潰瘍群

1.7, 平均値4.7, 正常群より Protein Index の上昇

表4のように Protein Index の最高値9.1, 最低値

を認めたもの32%

表 4

例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index
1	M	54	4.2	18	M	48	7.8	35	M	35	3.5
2	M	27	1.7	19	M	51	4.2	36	M	35	8.1
3	M	50	1.8	20	M	62	5.1	37	M	40	3.1
4	M	43	2.1	21	F	44	6.8	38	M	44	4.0
5	M	44	4.8	22	M	39	4.8	39	F	54	6.4
6	M	40	2.0	23	M	31	2.1	40	M	58	4.1
7	M	56	3.6	24	M	45	5.0	41	F	60	5.9
8	F	63	4.0	25	M	55	9.1	42	M	40	2.1
9	F	65	4.1	26	F	56	6.4	43	F	52	4.8
10	M	35	4.2	27	F	51	5.1	44	M	56	3.2
11	M	55	3.0	28	M	66	4.1	45	M	56	7.2
12	M	48	4.2	29	M	38	7.1	46	M	33	5.0
13	M	41	3.5	30	F	48	5.0	47	F	46	6.0
14	M	52	3.2	31	M	54	3.9	48	M	61	4.0
15	M	49	5.1	32	M	53	7.5	49	M	64	7.0
16	M	61	4.9	33	M	47	4.0	50	M	43	3.6
17	M	53	6.9	34	M	38	3.2				

D. 肺癌

表5のように Protein Index の最高値18.8, 最低値2.6, 平均値10.7, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの91%

表 5

例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index
1	F	55	10.8	13	M	38	3.1
2	F	59	10.4	14	M	61	7.0
3	M	51	2.6	15	M	52	13.5
4	M	53	11.6	16	F	46	10.1
5	F	50	6.5	17	F	39	13.0
6	M	48	18.8	18	M	61	8.0
7	M	46	10.4	19	F	58	11.0
8	F	50	15.9	20	M	54	13.4
9	M	41	13.2	21	M	57	5.8
10	M	43	10.8	22	F	58	10.4
11	M	60	10.7	23	M	44	13.5
12	F	53	16.0				

E. 肝臓癌

表6のように Protein Index の最高値11.7, 最低値3.0, 平均値7.4, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの79%

表 6

例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index
1	M	47	4.8	11	M	50	8.3
2	M	59	6.2	12	M	52	7.8
3	M	62	7.4	13	F	53	5.4
4	F	40	3.0	14	M	52	11.7
5	M	66	7.0	15	M	49	7.4
6	F	46	3.1	16	F	60	8.3
7	M	55	10.9	17	M	63	9.8
8	M	38	8.2	18	M	51	5.9
9	F	51	7.8	19	M	54	7.8
10	M	44	9.7				

F. 直腸癌

表7のように Protein Index の最高値13.8, 最低値3.1, 平均値8.1, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの74%

G. 前立腺癌

表8のように Protein Index の最高値11.7, 最低値3.1, 平均値7.3, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの67%

表 7

例	性	年齢	Protein-Index	例	性	年齢	Protein-Index
1	M	51	5.3	11	M	52	3.9
2	F	54	8.7	12	F	53	13.8
3	M	67	11.0	13	F	59	7.2
4	F	50	3.8	14	F	42	10.3
5	F	53	13.4	15	M	42	7.1
6	F	60	7.1	16	M	40	3.1
7	M	41	4.7	17	F	55	11.8
8	F	39	11.9	18	F	56	4.3
9	M	44	8.3	19	M	63	9.3
10	F	55	9.2				

表 8

例	性	年齢	Protein-Index
1	M	56	11.7
2	M	56	7.7
3	M	61	9.0
4	M	66	3.1
5	M	60	3.2
6	M	62	8.9

H. 乳癌

表9のように Protein Index の最高値8.0, 最低値3.1, 平均値5.8, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの67%

表 9

例	性	年齢	Protein-Index
1	F	38	7.7
2	F	41	6.2
3	F	54	3.1
4	F	46	3.6
5	F	45	6.2
6	F	51	3.1
7	F	36	6.4
8	F	48	7.6
M 9	F	49	8.0

I. 膵臓癌

表10のように Protein Index の最高値14.0, 最低値9.2, 平均値11.4, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの100%

表 10

例	性	年齢	Protein-Index
1	M	53	11.0
2	F	50	9.2
3	M	55	14.0

J. 膀胱癌

表11のように Protein Index の最高値16.0, 最低値 8.6, 平均値 12.7, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの100%

表 11

例	性	年齢	Protein-Index
1	M	52	16.0
2	F	48	13.0
3	M	56	8.6

K. 炎症性疾患群

表12のように Protein Index の最高値12.6, 最低値 5.1, 平均値 10.5, 正常群より Protein Index の上昇を認めたもの78%

表 12

病名	例	性	年齢	Protein-Index
細菌性肺炎	1	M	35	12.6
	2	M	27	5.1
	3	M	51	12.2
	4	F	29	7.7
	5	M	56	9.5
湿性肋膜炎	1	F	25	6.2
	2	M	36	11.0
	3	M	41	5.1
	4	M	45	7.8

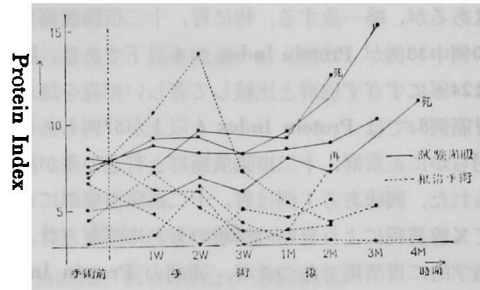
L. 胃癌群の手術前後における Protein Index の変動

図1に示すように胃癌群82例中より比較的長期の経過を観察したものの8例の術前, 術後の Protein Index の変動をみた。

試験開腹あるいは吻合に終わった4例では術前, 術後の Protein Index の変動に大差なく, 3~4週頃から上昇傾向を示す。

根治手術を行ったものでは術後2~3週頃より減少を来し, 正常値に復す。但し再発例では再び急激に増加し死に至った。

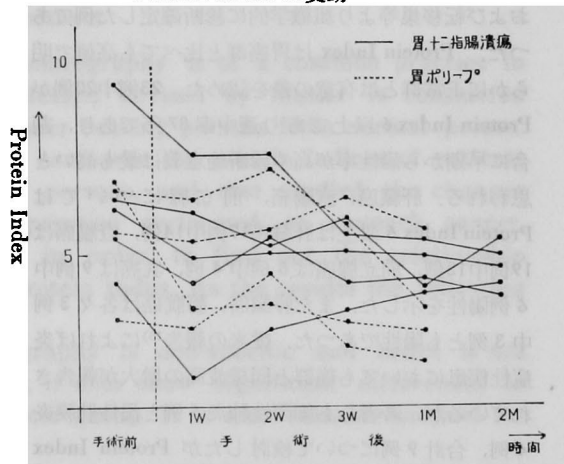
図1 胃癌における手術前後の Protein Index の変動



M. 胃, 十二指腸潰瘍, 胃ポリープの手術前後における Protein Index の変動

図2に示すように胃, 十二指腸潰瘍, 胃ポリープ9例において術前, 術後の Protein Index の変動を観察したところ, 2ヶ月後には Protein Index 5以下の正常範囲内に集中する傾向を認めた。

図2 胃, 十二指腸胃ポリープの手術前後の Protein Index の変動



総括並びに考按

Müller は1945年に正常と認められる109例について Protein Index 値を求め正常人の Protein Index は1~5の範囲にあり, 年齢, 性別に関係がないと結論した。著者らは45例について追試したが, 最低値1.5, 最高値5.4, であり, ほぼこの値と一致する。次に各種癌群について検討してみるに, 50例の癌群中 Protein Index 6以上を示したものを陽性とする, 164例中120例(73%)認めた。これを従来の研究者の第2反応のみによる陽性の報告と比較すると Waldschmidt-L⁹⁾ Brdicka¹⁾ (97%), Felkel¹⁰⁾ (90%), 笹井⁸⁾ (80%), 柴田¹¹⁾ (93%),

Meyer-Heck¹²⁾ (83%), Griesmann¹³⁾ (85%), Abel¹⁴⁾ (61%), であり著者らの成績は幾分低めではあるが、略一致する。特に胃、十二指腸潰瘍群は50例中38例が Protein Index が6以下であり、陽性は24%にすぎず癌群と比較して著しい相違を認めた。胃癌例82では Protein Index 6以上が57例もあり、明らかに正常群、十二指腸潰瘍群と有意の差が認められた。興味ある1例は胃、十二指腸潰瘍群においてX線透視により胃癌の診断のもとに開腹され、組織学的に胃潰瘍であったが、術前の Protein Index は4.0で明らかに正常範囲1~5以内に認められていた。また胃癌群の1例で術前の Protein Index は7.2で明らかに陽性と判断されるものが、長期にわたり胃潰瘍の加療を受けており、X線透視、胃カメラ等にて潰瘍の癌変性が疑われ、手術後組織学的に Adenocarcinoma が認められた例がある。著者らの例では胃癌陽性率は70%でかなり高い値であり、臨床鑑別困難の時も高い適中率を示す故臨床応用も大と思われる。次に肺癌の23例中20例は手術剖検および転移巣等より組織学的に診断確定した例であった。Protein Index は胃癌群と比べても高値で明らかに正常群とは有意の差を認めた。23例中20例が Protein Index 6以上であり適中率87%であり、割合に早期から陽性率が高く診断的意義は最も高いと思われる。肝臓癌、直腸癌、前立腺については Protein Index 6以上は肝臓癌19例中14例、直腸癌は19例中13例、前立腺癌は6例中4例、乳癌は9例中6例陽性を示した。また脾臓癌、膀胱癌は各々3例中3例とも陽性であった。従来の報告¹⁵⁾によれば炎症性疾患においても癌群と同様波高の増大が報告されているが、著者らも細菌性肺炎5例と湿性肋膜炎4例、合計9例について検討したが Protein Index 6以上は9例中7例の高値であった。炎症性疾患との鑑別は従来から問題となるところであるが、柴田等¹¹⁾も述べているように他の臨床所見から癌を否定

し得る場合が多く、さして至難ではないと思われるが、本質的な鑑別は Waldschmidt-L らの追求もあるが、尚今後の研究にまたねばならない点である。

以上を考察してみるに Polarography 血清反応の臨床的意義は血清蛋白質の化学的不安定にもとづく非特異反応であり、癌診断に全面的に利用するには不十分である。しかしながら胃、十二指腸潰瘍群、胃癌群においては明らかに有意の差を認め、潰瘍の癌変性等を早期に診断する1つの指標となる臨床的価値は少くないと思われ、また肺癌の臨床診断的価値も大と思われる。

更に胃癌における根治手術例と姑息的手術例の間には術後の Protein Inoex の変動にかなり明確な差異を認めた。従つてこれらを参考にすることにより、再発の有無を知る一手段となりうるのではないかと考えられるが、これらの点については尚一層の検討が望まれる。

結 論

(1) 従来使用されている濾液反応だけを用いて癌の陽性率を求める方法をやめ、Müller の提唱する Protein Index を用いる方法を用いた。

(2) 各癌群中最も陽性率の大なるものは脾臓癌、膀胱癌であり、肺癌、胃癌、肝臓癌も高値であった。炎症性疾患も同じく高値を示した。

(3) 根治手術、姑息的手術を行ない、経過を追つて Protein Index の変動を観察したが、根治手術では Protein Index は正常値に復するが、姑息的手術では4週間後より上昇した。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜つた国立岡山病院日下連院長並びに種々協力して載いた国立岡山病院研究検査科富山繁技宮に対し心から感謝の意を捧げる。

引 用 文 献

- 1) Brdicka, R. : Natur, 139, 330, 1020(1937)
- 2) Waldschmidt-Leitz, E., & Mayer, K. : Z. Physiol. Chem. 261(1939)
- 3) Klumper, J. : Ibid. 13(1948)11
- 4) Wedemyer : Z. Krebsforsch., : 49, 10(1939)
- 5) 笹井 : 最近のポーラログラフィ(1950)
- 6) Müller & Davis : J. Biol. Chem. 159, 667 (1945)
- 7) Müller & Davis : Arch. Biochem. 15, 39 (1947)
- 8) Müller & Davis : Am. J. Med. Sci. 220, 298(1950)
- 9) Wadschmidt-L : Angew. Chem. 51, 324(1938)
- 10) Felkel : Zentralbl, Gynäk, 63, 647(1939)

