

幼牛血液抽出剤 Solcoseryl に関する実験的研究

第 5 編

人の胃組織におよぼす Solcoseryl の影響に関する組織化学的研究

—glucose を基質とする特殊組織化学反応について—

岡山大学医学部第1外科教室 (指導: 田中早苗教授)

吉 田 宏

〔昭和44年5月2日受稿〕

目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料ならびに実験方法

第1節 実験材料

第2節 実験方法

第3節 組織化学反応液

第3章 実験成績

第4章 総括ならびに拷按

第5章 結 語

第1章 緒 言

第4編¹⁾の人の胃の組織化学的検索において、Solcoseryl は glucose-6-phosphate dehydrogenase, α -glycerophosphate dehydrogenase および細胞内電子伝達系酵素活性に関与し、これを亢進するが、嫌気性解糖系および TCA cycle 系の脱水素酵素には関与しないことが明らかにされた。一方、第2編²⁾の Ehrlich 腹水癌細胞についての生化学的検索において、Solcoseryl は細胞の嫌気性解糖能には関与しないが、細胞の呼吸能を著明に亢進させることが明らかにされた。

この2つの検索結果を照合すれば、Solcoseryl は解糖系に関与しないことは、組織化学的および生化学的検索結果と一致するが、生化学的検索でえられた Solcoseryl の著明な細胞呼吸賦活作用を組織化学的検索結果で証明することは不可能である。

Solcoseryl は動物の細胞呼吸賦活作用を有することは、Staudinger³⁾、Pirwitz⁵⁾、わたくし²⁾らによつて明らかなることである。

これらの事実により、Solcoseryl の著明な細胞賦活作用には、TCA cycle は関与しないことが推論されるが、この作用を pentose cycle、脂質代謝系の一部および細胞内電子伝達系の亢進によつてのみ証明するには不十分であり、ほかに原因を求めざるをえない。

生体における細胞呼吸のエネルギー源として最も重大なものは、糖質とされている。事実、第2編²⁾の Ehrlich 腹水癌細胞の生化学的検索において、基質に glucose を用い、Solcoseryl を添加すると、著明な呼吸能の亢進が認められたことから、Solcoseryl は糖質代謝になんらかの強力な影響を与えることが推論される。

このような知見より、本編においては glucose を基質とする組織化学反応液を作成し、これに Solcoseryl を添加し、第4編¹⁾と同一の材料を用い、Solcoseryl の細胞呼吸賦活作用を組織化学的に解明しようとした。

第2章 実験方法

第1節 実験材料

胃組織：第4編¹⁾に同じ。

第2節 実験方法

胃組織切片：第4編¹⁾に同じ。

第3節 組織化学反応

組織化学反応液を次のごとく作成し、Solcoseryl を添加した。対照には 0.9% NaCl solution を等量添加した。

0.1 M	Glucose	2ml
0.1 M	Phosphate buffer pH7.0	12ml
5mg/3ml	nitro-BT	4ml
0.1 M	KCN	2ml

Solcoseryl (原液) 2ml
(0.9% NaCl solution 2ml)

nitro-BT は Sigma Chemical Co. のものを用いた。
この反応液中に標本を浸漬し、37°C の孵卵器中
にて60分反応させた。

反応終了後水洗し、10%ホルマリンで10分間固定
し、カナダバルサムで封入し、鏡検した。

活性陽性部位は diformazan の青色ないし紺色を
呈した。

第3章 実験成績

第1節 正常胃組織

胃底腺領域の被蓋上皮細胞は全般的に対照群では
染色されないが、Solcoseryl 添加群では軽度に染色
された。胃底腺管は対照群では軽度に染色される
が、Solcoseryl 添加群では中等度に染色された。粘
膜筋板は対照群ではほとんど染色されなかつたが、
Solcoseryl 添加群では軽度に染色された。粘膜固有
層は対照群および Solcoseryl 添加群ともに染色され
なかつた (図1, 2)。

幽門腺領域でも同様に Solcoseryl の添加により染
色性の増加が認められた。

第2節 胃潰瘍組織

胃潰瘍周辺部にみられる再生上皮部は対照群では
ほとんど染色されないが、Solcoseryl 添加群では軽
度ないし高度に染色された (図3, 4)。周辺粘膜に
みられる腸上皮化生部は対照群ではわずかながら染
色されるが、Solcoseryl 添加群では軽度ないし中等
度に染色された (図5, 6)。潰瘍底肉芽組織部は
対照群および Solcoseryl 添加群ともにほとんど染色
されず、両者間に差を認めなかつた。粘膜の萎縮性
病変部は対照群および Solcoseryl 添加群ともにわず
かながら染色されたが、両者間に差を認めなかつ
た。粘膜の肥厚性病変部は対照群ではほとんど染色
されないが、Solcoseryl 添加群では軽度に染色され
た。

第3節 胃癌組織

腺癌の実質細胞は対照群ではほとんど染色されな
いが、Solcoseryl 添加群では中等度まで染色される
症例が多い (図7, 8)。scirrhous の実質細胞でも
同様の傾向を認めた。しかしこれらの間質は対照群
および Solcoseryl 添加群ともにわずかながら染色さ
れ、両者間に差を認めない。

以上の成績を総括し表1に示した。

表1 Solcoseryl 添加による染色性の変化

	Control	Solcoseryl
Fundcorpus area {Superf. epith. Gland cells	- -	+ ++
Pyloric area {Superf. epith. Gland cells	- +	+ +~++
Lamina propria mucosa	-	-
Muscle elements	±	+
Intestinal metaplasia	+	+~++
Reparation epitherium of ulcer	-~±	+~+++
Granulation in ulcer base	-~±	-~±
Atrophy	+	+
Fibrous stroma of carcinoma	-~±	-~±
Cancer cells	+	+~++

- unstained ± faint + slight or weak
++ moderate +++ intense or strong

第4章 総括ならび考察

本実験の組織化学反応の電子受容体としては、第
4編¹⁾と同じ理由で nitro-BT を用いた。

本編において用いた glucose を基質とする組織化
学反応は今日まで検討された事はないようであり、
これが生体内のいかなる反応を証明するのかは明ら
かでないが、いずれにしても glucose の酸化反応の
一部を表示するであろうことが推察される。しかし、
Solcoseryl は幼牛血液無蛋白抽出剤であるので²⁾ 酵
素ではないが、Solcoseryl の添加により、生化学的
に酸素消費量が増し、また本実験で glucose を基質
とした組織化学反応で染色性が増加することより、
この反応は Solcoseryl が glucose を oxidize する未
知の酵素様物質ではないかという疑問が生じてくる。
この glucose oxidase はいまだ脊椎動物には証
明されていないが一応比較検討する必要がある。

Bentley³⁾ は glucose oxidase の総説において、
ある種のバクテリアでの検索結果をまとめている
が、これと本実験方法との相違点について検討しよ
う。

glucose oxidase の証明における水素受容体として
は 2-6-dichlorophenolindophenol が主として
用いられているが、本実験のごとく nitro-BT は用
いられていない。助酵素として flavin adenin dinu-
cleotide の存在を必要とするが、本実験ではこの助
酵素は添加しなかつた。反応液高適 pH は5.6であ
るが本実験では pH 7.0~8.0の間で検索し、pH 7.0
のときに染色性が最も強いようであつた。KCN
は inhibitor としての活性を有しないとのべている

が、本実験では KCN を加えることにより染色性が増強した。一般に脱水素酵素反応においては KCN を加えるるとしばしば活性が増強する傾向がある。

一方、非乾燥、非凍結、非固定あるいは無傷の細胞では、tetrazolium 塩の還元により内因性反応が検出されるが、この反応は pH 6.0~7.0 でしかし反応しないので⁸⁾、反応液は pH 7.0 以下にはせず組織片を -20°C のクリオスタット中で作成し、スライドガラス上に伸展し、室温で融解することによりこの反応を除去した。一方 NAD あるいは NADP を含む混合液中では、dehydrogenase の基質を除いても nitro-BT の還元反応がおこる。この反応は pH 8.0 以上でとくに強く、NAD あるいは NADP を除くと反応は陰性になり、これは組織内の -SH 基群が NAD および NADP をそれぞれ NADH および NADPH に還元する能力に基づくとされているが⁹⁾、本実験では NAD あるいは NADP を加えず、また pH を 8.0 以上にしなかつた。したがって、内因性反応および -SH 基による反応は除去されよう。事実、対照実験として本編における組織化学反応液の基質の glucose のかわりに、これを全く除去し、0.9% NaCl solution あるいは Solcoseryl のみを用いて反応させたが、反応は全く陰性であり、このことは -SH 基は関与せず、Solcoseryl 自体にも基質として作用を有していないことが明らかになった。

以上のごとく、Solcoseryl はなんらかの形で glucose の分解過程に関与することは明らかであるが、第 2 編²⁾の生化学的研究および第 4 編¹⁾での組織化学的研究とをあわせ考察すれば、glucose 分解過程の嫌気性解糖系にも関与せず、また好気性解糖系、すなわち TCA cycle にも関与しないということからして、Solcoseryl は未知の glucose の好気性分解過程に関与し、これを促進させる作用を有することが推察される。しかし今のところ Solcoseryl の製法、成分も明らかにされていないので、検索の結果に予期せざる因子が加味されることは充分予測され、あくまでも推論の域をでない。

Solcoseryl は高張溶液であるので、滲透圧も問題となろう。そこで組織化学反応液の対照の生理食塩液の濃度を 1.8% および 2.7% として、染色性の変異を比較したが、染色性の変化はみられなかつた。このことより、かかる組織化学反応液では Solcoseryl の滲透圧は問題とならず、また Mg^{++} 、 Mn^{++} および fluoride も反応に影響を与えなかつた。

えられた結果は表 1 に示したごとく、Solcoseryl

の添加により胃粘膜では一般的にわずかながら染色性が増強する。これは第 4 編でのべたごとく、 α -GDH、NAD. dia. と同様の傾向である。胃潰瘍では粘膜は全般に染色性が高まり、とくに再生上皮、および腸上皮化成の部では著明であるが、潰瘍底肉芽組織では対照ともに陰性であつた。これは第 4 編¹⁾でのべた α -CDH と同様の傾向であり、Solcoseryl による潰瘍修復はやはり上皮よりなされるものであることを推察させよう。胃癌では間質は対照群および Solcoseryl 添加群ともに陰性で、腫瘍細胞のとくに先進部で染色性の増強がみられる症例が多く、第 4 編¹⁾でのべた α -GDH、G-6-PDH と同様の傾向を示し、Solcoseryl はある種の癌細胞を activate することが推察される。

第 5 章 結 語

glucose を基質とし、pH 7.0 の phosphate buffer、水素受容体に nitro-BT を用いた組織化学反応液を作成し、これに Solcoseryl を添加し、正常胃、胃潰瘍および胃癌組織の染色性におよぼす影響を組織化学的に検索し、次の結果をえた。

1) 正常胃粘膜では対照は染色されないが、Solcoseryl を添加すると全般的に軽度に染色される。

2) 胃潰瘍では再生上皮および腸上皮化生の部で対照は染色されていないが、Solcoseryl の添加により中等度に染色される。しかし潰瘍底肉芽組織、萎縮性病変部らではともに染色されない。

3) 胃癌では対照は染色されないが、腫瘍細胞は Solcoseryl を添加すると軽度に染色されることが多い。とくに先進部が著明である。しかし間質はともにほとんど染色されない。

以上の実験結果および第 2 編²⁾、第 4 編¹⁾の実験結果と照合し、

4) Solcoseryl は glucose の未知の酸化過程に関与するものと推察される。

5) また Solcoseryl による胃潰瘍の創修復は上皮、とくに再生上皮によつてなされると推察される。

6) Solcoseryl は一部の腫瘍細胞に対し active に作用する可能性が推察される。

稿を終るにのぞみ御指導、御校閲をたまわつた恩師田中早苗教授、陣内伝之助教授、緒方卓郎講師ならびに河島隆男講師に深謝いたします。

(本論文の要旨は第 8 回日本消化器病学会中国四国地方会において発表した)

文 献

- 1) 吉田宏：幼牛血液抽出剤 Solcoseryl に関する実験的研究，第4編 Solcoseryl の人の胃組織におよぼす影響に関する組織化学的研究—主として脱水素酵素系について—。岡山医誌，印刷中。
- 2) 吉田宏：同上，第2編 Solcoseryl の Ehrlich 腹水癌細胞におよぼす影響に関する生化学的研究。岡山医誌，印刷中。
- 3) Staudinger, Hj. : 4) より引用。
- 4) Harrer, G. : Die funktionellen Durchblutungsstörungen des Gehirns. Wien klin. Wschr., 72, 23—27, 1960.
- 5) Pirwitz, J. : Clinical Experiences with Solcoseryl. J. Indian Med., 5, 2390—2391, 1958.
- 6) Bentley, R. : Glucose Oxidase, The Enzymes. Vol. 7, 567—586, Acad. Press., New York & London, 1963.
- 7) Jager, K. L. u. Mittenzwei, H. : Die Erzeugung einer Splenomegalie bei Kälbern, Klin. Wschr., 36, 441—442, 1958.
- 8) L. リゾン著，今泉正訳：細胞化学および組織化学 理論と方法。p. 560, 白水社，東京，1962.
- 9) L. リゾン著，今泉正訳：同上，p. 559.

附 図 説 明

- 図 1) 人正常胃底腺粘膜 (Control) : 胃底腺管のみ軽度に染色されている。×40
- 図 2) 同上 (Solcoseryl 添加) : 被蓋上皮も軽度に染色され，胃底腺管の染色性の増強がみられる。×40
- 図 3) 人胃粘膜再生上皮 (Control) : ほとんど染色されていない。×100
- 図 4) 同上 (Solcoseryl 添加) : 高度に染色されている。×100
- 図 5) 人胃潰瘍腸上皮化成分部 (Control) : わずかながら染色されている。×40
- 図 6) 同上 (Solcoseryl 添加) : 染色性の増強がみられる。×40
- 図 7) 人胃腺癌 (Control) : ほとんど染色されていない。×100
- 図 8) 同上 (Solcoseryl 添加) : 癌細胞は中等度に染色されている。×100

奇数番号の図は glucose を基質とし，0.9% NaCl solution を添加した反応であり，偶数番号の図は glucose を基質とし，Solcoseryl を添加した反応である。

Experimental Studies of a Protein-Free Extract from Calf Blood
with a High RES Activity (Solcoseryl)

Part V

Histochemical Studies of the Effect of Solcoseryl on the Human Stomach
— On a Histochemical Oxidative Reaction employing Glucose as a Substrate —

By

Hiroshi YOSHIDA

The First Department of Surgery, Okayama University Medical School, Japan
(Director: Prof. Sanae Tanaka)

In order to clarify the regenerating mechanism of the human stomach ulcer with Solcoseryl, the following histochemical experiment was performed.

Frozen sections of some blocks of normal gastric mucous membrane, ulcer and carcinoma were incubated in a medium, which includes glucose as a substrate, nitro-BT, KCN, phosphate buffer at pH 7.0 and Solcoseryl, and the results were compared with control excluding Solcoseryl.

The mains were as follows;

1) In normal gastric mucous membrane, the reaction was weakly noticed in spite of negative in controls. In repairing epithelium of ulcer and in intestinal metaplastic area, the staining was moderate, but in those controls it was negative. While, atrophic area of mucous membrane and granulation in ulcer base, did not show any reaction.

Therefore, Solcoseryl might promote regeneration of the gastric mucous membrane, and its reacting point is perhaps newly forming part of epithelium such as the repairing epithelium.

2) Most cases of gastric cancer, especially in proliferating part, showed a positive reaction, and this result suggested that Solcoseryl might promote the proliferation of cancer cells.

3) It is observed that Solcoseryl activates certain oxidative pathway of glucose in the epithelial cells.

吉 田 論 文 附 図

