STUDIES ON URINARY BIOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH
HEAD AND NECK CANCER.
— ESPECIALLY ON POLYAMINES, β -AMINOISOBUTYRIC ACID AND β -ALANINE —

TAKEO HOTATE, M. D.

Department of Otolaryngology, Sapporo Medical College, Sapporo
(Director: A. Kataura, M. D.)

Urinary polyamines (putrescine, spermidine and spermine), β -aminoisobutyric acid and β -alanine levels in 91 patients with head and neck cancer were determined by using a fully automatic amino acid analyzer (JLC-6AS). Urinary polyamine levels, particularly those of putrescine and spermidine, were useful in diagnosis of head and neck cancer. Sixty-three point seven percent of the patients showed high urinary levels of putrescine and/or spermidine. In laryngeal cancer patients, neither the stage of the disease nor the degree of differentiation of cancer cells correlated with the elevation of urinary polyamines. Increase of spermine was more specific for women suspected of having cancer. Ten out of 11 women patients showed high excretion of urinary spermine. Determination of urinary polyamine levels in patients with early stage laryngeal cancer revealed that patients with high urinary putrescine levels were resistant to radiotherapy, while patients with low levels were sensitive to radiotherapy. Using elevated urinary polyamines, β -aminoisobutyric acid and β -alanine, the diagnostic ratio in patients with head and neck cancer was 86%. It seems very likely that the combined use of these markers is useful in the diagnosis of cancer patients and in the follow-up study of them.

A84—0275—91341

尿中 biochemical markers による頭頸部悪性腫瘍の診断と
治療効果判定に関する研究

— 特に polyamines, β -aminoisobutyric acid および β -alanine に関して —

札幌医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：形浦 昭克教授）

保 立 武 雄

I 緒 言

今日、日常臨床において悪性腫瘍に対する生化学的および免疫学的診断の応用は目をみはるものがある。なかでも CEA (carcinoembryonic antigen) や α -fetoprotein など消化器領域の悪性腫瘍に関する研究の発展は著しいものがあるが、頭頸部領域での生化学的アプローチに関する研究はあまり見られないのが現状である。

消化器領域悪性腫瘍患者は尿中へ polyamines を高排泄し、これは腫瘍組織内での polyamines 増量の反映とみなされることから癌の診断および予後を判定する上で marker として尿中 polyamines 値が臨床的に応用できる可能性が指摘されてきた¹⁾²⁾³⁾。

頭頸部悪性腫瘍の多くは固型癌しかも扁平上皮癌が主体をなし、細胞増殖が比較的速いのが特徴である。本研

究では細胞の RNA や蛋白合成促進等に関与するといわれる polyamines の尿中排泄量、それに核酸の中間代謝産物である β -aminoisobutyric acid と β -alanine の尿中排泄量を併せて測定し、頭頸部悪性腫瘍の診断および治療効果判定の客観的指標として臨床応用への可能性を検討したので報告する。

II 研究対象および研究方法

対象は1977年から1980年までの約3年間に札幌医大耳鼻咽喉科外来を受診あるいは入院した未治療患者で病理組織学的診断により悪性腫瘍と確定したもの ($n=91$)、そして対照群としては理学的およびX線検査等により悪性腫瘍の存在所見を認めないもの ($n=36$) を測定対象とした。これら対象例はすべて検尿を同時に行ない蛋白尿等腎機能障害のあるものは除外した。

採尿は原則として入院患者では24時間尿を蓄尿し、外来患者では早朝尿を採取した。

A. Polyamines の試料作製法について

polyamines の試料作製は、Fujita ら²⁾ の方法を簡略化した。すなわち、24時間尿より 5ml を取り 12N 塩酸 1 ml と共に 100°C で3時間加水分解した。その後 6N 水酸化ナトリウムで中和、これを Column (Dowex 50W-X8, 200-400mesh, H⁺-form, 0.8x 40cm) にかけて 0.5N 塩酸 60ml で脱塩、脱アミノ酸後、6N 塩酸 20ml で polyamines を溶出した。溶出物を rotary evaporator を用い 60°C で減圧乾固した残渣を稀釈用緩衝液 (Table 1) で 4ml に溶解し、そして自動アミノ酸分析器 JLC-6AS で測定した。この時の加水分解からアミノ酸分析までの全過程での平均回収率 ($n=5$) は、putrescine 78.6 $\pm$ 2.1%, spermidine 83.3 $\pm$ 2.7%, spermine 87.2 $\pm$ 4.2%, (Mean $\pm$ S.D.) であった。分析条件は、カラム温度 60°C、反応槽温度 95°C で Table 2 に示す組成の緩衝液を使用した。1st buffer は0分より45分まで、2nd buffer は45分より150分までで自動アミノ酸分析器 JLC-6AS を用いて定量した。なおこの際、15cm short column に使用した樹脂は LCR-1 樹脂であった。polyamines の分析には約2時間を要した。

B. β -Aminoisobutyric acid および β -alanine の試料作製法について

β -aminoisobutyric acid (以後 β -AIBA と略す) および β -alanine (以後 β -ala と略す) の試料作製は既報⁹⁾のごとく Gerritsen ら⁹⁾ の方法に準じて行ない、分析条件は Benson ら⁹⁾ の方法に基づいた。すなわち、尿

Table 1 Dilution buffer

PH	2.2
Li-citrate	50.2g
Li-chloride	19.8g
Thiodiglycol	14.0ml
Conc-HCL	42.0ml
Total Volume	4.0l

Table 2 Buffers for polyamines analysis

	1st buffer	2nd buffer
PH	4.50	4.10
Na-citrate	0.175mole/l	0.45mole/l
Na-Chloride	1.0mole/l	1.6mole/l
Brij 35	2.0ml	2.0ml
n-Caprylic acid	1.0ml	1.0ml
Total Volume	4.0l	4.0l

Table 3 Buffers for β -aminoisobutyric acid and β -alanine analysis

	1st buffer	2nd buffer	3rd buffer
PH	2.80	3.15	3.96
Li-concentration	0.25N	0.30N	0.30N
Thiodiglycol	14ml	14ml	10ml
Conc-HCL	42ml	78ml	70ml
Brij 35	2.0ml	2.0ml	2.0ml
n-Caprylic acid	0.4ml	0.4ml	0.4ml
n-Propyl alcohol	140ml		
Total Volume	4.0l	4.0l	4.0l

4ml を 0°C で 18,000xg, 30分間遠心操作した後、その上清 2 ml を稀釈用緩衝液 (Table 1) 2 ml で2倍稀釈した。分析条件は、カラム温度が0分より50分まで 33°C、50分より300分まで 60°C であり、反応槽温度 95°C であった。Table 3 に示す組成の緩衝液を使用した。1st buffer は0分より10分まで、2nd buffer は10分より20分まで、そして 3rd buffer は20分より300分までであり、自動アミノ酸分析器 JLC-6AS を用いて定量した本装置における 50cm long column (LCR

-2 樹脂) による中酸性アミノ酸分析法では β -ala と β -AIBA の溶出に約 5 時間を要した。

なお、いずれの試料もただちに分析しない場合には -76°C に保存した。

polyamines (putrescine, spermidine および spermine) β -AIBA および β -ala の標準試料は半井化学薬品(株)製のものを用いた。polyamines 排泄量は $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine, β -AIBA および β -ala 排泄量は $\mu\text{moles}/\text{g}$ creatinine といずれも creatinine 当たりに換算したのは、外来患者では蓄尿が難しいことおよび一定のレファランス当たりの排泄量で表記した方が同一患者での日差変動も少ない¹⁷⁾とされていることによる。

この際、尿中 creatinine 値は試料と同一尿を検体として本学中央検査部に依頼し Jaffé 反応に基づき比色定量した¹⁸⁾。

Ⅲ 研究成績

A. 頭頸部悪性腫瘍患者尿中 polyamines 排泄量について

自動アミノ酸分析器による上顎癌患者尿中 polyamines (putrescine, spermidine, spermine) のクロマトグラムは Fig. 1 に示される。polyamines は putrescine, spermidine ついで spermine の順に溶出され、前記の分析条件における retention time はそれぞれ、52分、95分および 140分であり $\pm(1\sim 2)$ 分の誤差で一定の retention time に溶出された。

頭頸部悪性腫瘍患者尿中各 polyamines の排泄量は Fig. 2 に示すように、非悪性腫瘍群に比較して高い傾向が認められた。

Table 4 に見られるように、尿中 polyamines 排泄値のばらつきが大きいので、比較的排泄量が多いと思われる putrescine および spermidine レベルについて主に検討した。Dreyfuss ら¹⁹⁾ は尿中 polyamines 高排泄の基準値として、putrescine $\geq 5\text{mg}/24\text{hr}$, spermidine $\geq 2\text{mg}/24\text{hr}$ および spermine $\geq 0.5\text{mg}/24\text{hr}$ としているが、著者の測定対象例について悪性腫瘍群では陽性率が高いが、非悪性腫瘍群では比較的lowく、かつこの両群でその差が大きい点を仮に高排泄の基準値とすると、putrescine $\geq 3\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine, spermidine $\geq 1.5\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine および spermine $\geq 0.6\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine となった。これら基準値以上の高排泄者の割合をみると、喉頭癌 ($n=33$, すべて扁平上皮癌) では putrescine 33例中 18例, spermidine 33例中 12例であり、この両者あるい

Fig. 1 Typical chromatogram of putrescine, spermidine and spermine in maxillary cancer.

はいずれかが陽性のものは 33例中 20例であった。鼻副鼻腔悪性腫瘍 ($n=14$, 扁平上皮癌 11例, 腺癌 2例, 悪性黒色腫 1例) では putrescine 14例中 10例, spermidine 14例中 10例, 両者あるいはいずれかが陽性のもの 14例中 11例であった。舌癌 ($n=10$, いずれも扁平上皮癌) では putrescine 10例中 2例, spermidine 10例中 5例, 両者あるいはいずれかが陽性のもの 10例中 5例であった。悪性リンパ腫 ($n=7$, すべて non-Hodgkin type) では putrescine 7例中 5例, spermidine 7例中 4例, 両者あるいはいずれかが陽性のもの 7例中 5例であった。下咽頭頸部食道癌 ($n=5$, すべて扁平上皮癌) では putrescine 5例中 1例, spermidine 5例中 3例, 両者あるいはいずれかが陽性のもの 5例中 3例であった。上咽頭癌 ($n=4$,

Fig. 2 Urinary polyamines levels in patients with head and neck cancer and without. ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)

Table 4 Urinary polyamines levels in patients with head and neck cancer. ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine) (mean $\pm$ S. D.)

	Putrescine	Spermidine	Spermine
Carcinoma of the Larynx (n=33)	3.75 $\pm$ 2.65	1.25 $\pm$ 1.14	0.36 $\pm$ 0.44
Carcinoma of the Nose and Paranasal Sinuses (n=14)	4.94 $\pm$ 3.29	2.64 $\pm$ 2.62	0.36 $\pm$ 0.72
Carcinoma of the Tongue (n=10)	4.08 $\pm$ 5.24	2.47 $\pm$ 2.76	0.63 $\pm$ 0.82
Malignant Lymphoma (n=7)	4.57 $\pm$ 2.31	2.65 $\pm$ 1.50	1.64 $\pm$ 2.10
Carcinoma of the Hypopharynx and Esophagus (n=5)	2.43 $\pm$ 1.00	1.81 $\pm$ 1.38	0.36 $\pm$ 0.42
Nasopharyngeal cancer (n=4)	3.99 $\pm$ 1.11	1.47 $\pm$ 0.28	0.25 $\pm$ 0.21
Miscellaneous (n=18)	3.40 $\pm$ 2.14	1.34 $\pm$ 0.78	0.59 $\pm$ 1.23
Total (n=91)	3.81 $\pm$ 2.92	1.86 $\pm$ 1.69	0.56 $\pm$ 0.96
Non malignant group (n=36)	2.12 $\pm$ 1.09	1.03 $\pm$ 0.59	0.31 $\pm$ 0.37

Table 5 Urinary Polyamine Levels in Staged Patients with Laryngeal Cancer ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)

	Putrescine	Spermidine	Spermine	Total polyamines
Stage I (n= 4)	5.80 $\pm$ 3.85	1.81 $\pm$ 0.92	0.44 $\pm$ 0.32	8.04 $\pm$ 4.70
Stage II (n=12)	3.60 $\pm$ 3.16	1.57 $\pm$ 0.78	0.31 $\pm$ 0.37	5.48 $\pm$ 3.45
Stage III (n=13)	2.66 $\pm$ 1.51	1.38 $\pm$ 1.60	0.48 $\pm$ 0.48	4.53 $\pm$ 2.99
Stage IV (n= 3)	3.78 $\pm$ 2.81	1.53 $\pm$ 0.76	0.69 $\pm$ 0.77	6.00 $\pm$ 3.34

(Mean $\pm$ S. D.)**Table 6** Urinary polyamine levels in patient with laryngeal cancer according to cellular differentiation ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)

	Putrescine	Spermidine	Spermine	Total polyamines
Poorly differentiated squamous cell carcinoma (n=5)	4.20 $\pm$ 3.79	1.57 $\pm$ 0.83	0.46 $\pm$ 0.42	6.37 $\pm$ 4.60
Moderately differentiated squamous cell carcinoma (n=21)	3.57 $\pm$ 2.82	1.50 $\pm$ 1.36	0.41 $\pm$ 0.41	5.48 $\pm$ 3.57
Well differentiated squamous cell carcinoma (n=2)	1.97 $\pm$ 1.50	1.25 $\pm$ 0.39	0.10 $\pm$ 0.14	3.29 $\pm$ 1.79

(Mean $\pm$ S. D.)**Table 7** Urinary polyamine levels in patients with laryngeal cancer receiving radiotherapy ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine) (Mean $\pm$ S. D.)

	Putrescine	Spermidine	Spermine	Total polyamines
Radio-sensitive group (n=8)	1.83 $\pm$ 0.48	1.28 $\pm$ 0.89	0.39 $\pm$ 0.31	3.50 $\pm$ 1.32
Radio-resistant group (n=5)	4.99 $\pm$ 3.09	1.60 $\pm$ 0.79	0.21 $\pm$ 0.20	6.80 $\pm$ 3.91

すべて扁平上皮癌)では putrescine 4例中 2例, spermidine 4例中 2例, 両者あるいはいずれか陽性のもの 4例中 4例であった。その他のもの (n=18)は、耳下腺腫瘍 4例、頸部腫瘍 4例、口腔癌 3例、甲状腺腫瘍 3例、Wegener 肉芽腫症 2例、扁桃癌、食道癌、鰓溝性癌腫各 1例であった。この群では putrescine 18例中 8例, spermidine 18例中 8例, 両者あるいはいずれか陽性のもの 18例中 10例であった。なお、非悪性腫瘍群での陽性率をみると、putrescine 36例中 7例, spermidine 36例中 4例, 両者あるいはいずれか陽性のもの 36例中 8例であった。

喉頭癌 (n=33) を 1978 年 UICC (Union Internationale Contre le Cancer) の TNM 分類¹⁰⁾ によって病期別に分類し、各病期における尿中 polyamines 排泄量との関

係をみたのが Table 5 である。病期進行度と尿中 polyamines 排泄量との間に相関関係はみられず、同じ病期でも個体間の変動が大きかった。

次に喉頭癌 (n=28) を腫瘍細胞の分化度に従って poorly, moderately そして well differentiated squamous cell carcinoma の 3 群に分類、各群の尿中 polyamines 排泄量をみると、Table 6 のごとく putrescine, spermidine, spermine そして total polyamines のいずれにおいても、分化度が低いほど高排泄を示し、また分化度が高くなるほど排泄量が少なくなる傾向がみられた。

頭頸部癌は一般に他科領域悪性腫瘍に比べて放射線感受性が高く、放射線療法で根治できる割合が比較的多いことが言われているが、ことに喉頭癌の早期のものは放射線療法単独あるいは化学療法との併用で根治された例

Fig. 3 Urinary polyamine levels in patients with head and neck cancer before and after treatment. ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine) 1): carcinoma of the tonsil, 2): carcinoma of the tongue, 3) 10): carcinoma of the hypopharynx, 4) 5) 6) 7) 8): carcinoma of the larynx, 9) 11): malignant lymphoma.

が日常よく経験される。そこで喉頭癌の中でも早期例 (Stage I + II) で放射線療法により 6,000~7,000 rads の根治照射後、少なくとも 1 年以上の観察により再発を認めないと思われる群 (Radio-sensitive group) と、腫瘍が残存していることが証明された群 (Radio-resistant group) とに分類し、両群の尿中 polyamines 排泄量を比較検討した (Table 7)。放射線感受性群では放射線非感受性群に比較し、putrescine, spermidine そして total polyamines が低値を示した。高排泄者の割合を比較してみても明らかに放射線非感受性群において、特に putrescine 高排泄者が多かった。すなわち、放射線感受性群 ($n=8$) での putrescine 高排泄者は 8 例中 1 例、spermidine 高排泄者は 8 例中 3 例であった。放射線非感受性群 ($n=5$) では putrescine 高排泄者は 5 例中 5 例、spermidine 高排泄者は 5 例中 2 例であった。両群の陽性率を差の大きい putrescine について Fisher の直接確率計算法で計算してみると、0.47% ときわめて低い確率である結果が得られた。

悪性腫瘍治療前の尿中 polyamines 排泄量と治療後腫

瘍の残存がないか、あるいは著明な縮小を示した時期における尿中 polyamines 排泄量を比較すると (Fig. 3), 治療後には多くの例で治療前値に比較して低下の傾向がみられた。特に putrescine, spermidine の両方あるいはいずれかが治療前値に比較して低値を示した。spermine は治療前後であまり大きな変動を認めなかった。

Fig. 4 は右扁桃に発生した悪性リンパ腫 (non-Hodgkin type, Stage II A) のものであるが、VEMP (Vincristine, Endoxan, 6-Mercaptopurine, Predonisolone) 療法開始後 3 週間目に spermidine の著明な上昇がおこり、その後徐々に低下し 7 週間目には putrescine, spermidine および spermine のすべてが低値となった。この際、臨床的にも右扁桃腫瘍および頸部リンパ節腫脹は消退した。Fig. 5 は喉頭癌 Stage IV ($T_3N_2M_0$) の症例で、手術を前提として術前照射 4,000 rads 施行すると局所腫瘍は縮小傾向がみられた。しかし、患者の手術拒否により退院、照射中止後徐々に尿中 polyamines 排泄量は増加傾向を示し、肉眼的には腫瘍は安定状態であった。Fig. 6 は下咽頭癌 Stage IV ($T_3N_2M_0$) の症例であるが、コバルト

Fig. 4 S.N. 21y.o. male, Malignant Lymphoma of Tonsil (Stage II A)

Fig. 5 K.I. 47y.o. male, Laryngeal Cancer Stage IV ($T_3N_2M_0$)

Fig. 6 A.F. 44y.o. male, Hypopharyngeal Cancer Stage IV ($T_3N_2M_0$)

照射にもかかわらず腫瘍はあまり反応を示さなかった。尿中 polyamines は幾分変動を示すが低値とはならなかった。

B. 頭頸部悪性腫瘍患者尿中 β -AIBA および β -ala 排泄量について —特に polyamines との関係—

自動アミノ酸分析器による喉頭癌患者尿中 β -AIBA と β -ala のクロマトグラムが Fig. 7 である。同一検体について polyamines と共に β -AIBA および β -ala につ

いても測定した57例に関して、それらの分析結果を比較検討したのが、Table 8 である。既報⁴⁾のごとく β -AIBA では 200 μ moles/g creatinine 以上を、 β -ala では 150 μ moles/g creatinine 以上を陽性とし、少なくともいずれかが陽性となるものを高排泄群 (high excretor group)、いずれも陰性のものを非高排泄群 (non-high excretor group) として分けた結果、両群の間で polyamines 高排泄者の割合には差が認められなかった。

Table 8 は 57例中の polyamines 高排泄者の割合と、 β -AIBA と β -ala の両方あるいはいずれか一方が高排泄となる割合を検討したものであるが、polyamines 高排泄者は 57例中 38例 (66.7%) であり、 β -AIBA と β -ala の両方あるいはいずれかが陽性となる割合は 57例中 27例 (47.4%) であった。これら 3種の markers の全部あるいはいずれかが高値を示す場合 (P and/or B) をみると、57例中 49例 (86.0%) であった。

尿中 β -AIBA および β -ala 排泄量と polyamines との関連性を臨床経過から検討した。Fig. 8 は舌癌 Stage III ($T_2N_1M_0$) の症例で、ラジウム針組織内照射により尿中 β -AIBA はやや低下を示したが、依然として高値であった。しかし、頸部リンパ節転移があったため頸部郭清術 (RND) を施行、術後には正常範囲内に低下した。

Fig. 9 は舌癌 Stage III ($T_2N_1M_0$) の症例であるが、ラジウム針組織内照射後も β -AIBA は高排泄であり頸部郭清術 radical neck dissection (RND) 後にも依然高値であった。しかし、その後上昇傾向がみられまもなく頸下部リンパ節転移が発見され再度手術を行なった。このように β -AIBA が高排泄を示す場合には嚴重な経過観察を要すると思われた。Fig. 10 は放射線照射に伴い腫瘍が消失した扁桃癌の症例であるが、 β -AIBA は高値を示さずかつ治療前から高排泄ではなかった。この症例ではむしろ polyamines が臨床経過とよく一致した。

Ⅳ 考 按

A. 頭頸部腫瘍患者の尿中 polyamines について

polyamines は生物界に普遍的に分布する生体アミンで3つ以上のアミノ基を有する非蛋白性窒素化合物であるが、広義にはその前駆物質であるジアミンのputrescineを含めた総称として用いられることが多い。なかでも spermine は1678年 Antoni van Levenhoeck がヒト精液中に crystalline spermine phosphate を発見した¹¹⁾ことに始まり、その後 Dudley ら¹²⁾によって化学構造が明らかにされたが、その生物学的意義に関しては長年の

Fig. 7 Typical chromatogram of β -alanine and β -aminoisobutyric acid in laryngeal cancer.

Table 8 Urinary polyamines, β -aminoisobutyric acid and β -alanine in patients with head and neck cancer.

Markers	No. elevated above normal
P: Polyamines	38/57 (66.7%)
B: β -AIBA and/or β -Ala	27/57 (47.4%)
P and/or B	49/57 (86.0%)

間不明のままであった。

1950年代後半に Tabor ら¹³⁾により細菌における polyamines 合成経路が確立されて以来、この方面における研究も盛んになってきた。polyamines は動物組織中に広く分布するが、特に骨髄、前立腺、胸腺および脾など核酸および蛋白合成の盛んな組織で高濃度に認められる¹⁴⁾

Fig. 8 M.T. 63y.o. male, Carcinoma of the Tongue Stage III ($T_2N_1M_0$) ○—○: putrescine ●—●: spermidine ×—×: spermine □—□: β -AIBA △—△: β -Ala RND (Radical Neck Dissection)

Fig. 9 T.W. 46y.o. male, Carcinoma of the Tongue Stage III ($T_2N_1M_0$) ○—○: putrescine ●—●: spermidine ×—×: spermine □—□: β -AIBA $\triangle$ — $\triangle$: β -Ala RND (Radical Neck Dissection)

Fig. 10: T.N. 58y.o. male, Carcinoma of the Tonsil Stage II ($T_2N_0M_0$)

また細胞分裂に伴って polyamines ことに putrescine が増加を示すという結果は、再生肝¹³⁾のみならず腎¹⁶⁾、唾液腺¹⁷⁾等の正常組織を増殖刺激した際にも示されている。

しかし、最近になって腫瘍組織でも polyamines 代謝が亢進しており¹⁸⁾、かつ Russell ら¹⁾¹⁹⁾が癌患者の血中および尿中で polyamines が高排泄を示すとの報告をして以来、臨床医学への応用が期待されクローズアップされてきた。

腫瘍組織では polyamines 合成能とその組織含量が正常組織に比較して高値を示すことが認められ、これは腫瘍の増殖速度を反映しているとみなされている。また代謝阻害作用のある抗癌剤を用いた実験において、DNA や RNA 合成の阻害と同時に癌組織内 polyamines 量の

変動が観察され、これらの変動と延命効果との間で相関関係がみられると観察されている¹⁸⁾²⁰⁾。

今日までに消化器領域悪性腫瘍²¹⁾²²⁾や血液癌²³⁾における尿中あるいは血中 polyamines 分析の報告が数多くみられ、また脳腫瘍に際しての髄液中 polyamines の上昇についても報告され²⁴⁾、各領域での癌の診断および予後推定の補助的手段としての有用性が述べられている。それと同時に測定対象となる試料も、血液や尿ばかりでなく骨髓や髄液といったように広く応用されてきている²⁵⁾が、扁平上皮癌が主体をなす頭頸部悪性腫瘍に関しては未だ内外でまとまった報告はみられないので、今回頭頸部癌患者における尿中 polyamines 排泄量について検討した。

対照群とした非悪性腫瘍群 ($n=36$) では putrescine $2.12 \pm 1.09 \mu\text{g/mg creatinine}$, spermidine $1.03 \pm 0.59 \mu\text{g/mg creatinine}$ および spermine $0.31 \pm 0.37 \mu\text{g/mg creatinine}$ と spermine での S.D. が大きく、それに比べて putrescine および spermidine の S.D. は比較的小さい。Durie ら²⁶⁾の報告では、健康人 ($n=16$) で putrescine $2.1 \pm 0.62 \text{ mg/g creatinine}$, spermidine $1.2 \pm 0.18 \text{ mg/g creatinine}$ および spermine $0.04 \pm 0.007 \text{ mg/g creatinine}$ であり、putrescine と spermidine は平均値において著者が得た値とほぼ同じであるが、spermine では著者の値の方が高値でかつ S.D. が大きい。尿中 polyamines 排泄量を測定した他の報告者の正常範囲をみると²⁷⁾、単位が $\text{mg}/24\text{hr}$ と異なるが putrescine で $1.1 \sim 3.1 \text{ mg}/24\text{hr}$, spermidine $0.9 \sim 2.8 \text{ mg}/24\text{hr}$ そして spermine $0.2 \sim 0.6 \text{ mg}/24\text{hr}$ である。

creatinine の尿中排泄量は正常成人で $1 \sim 2 \text{ g}/24\text{hr}$ ²⁸⁾なので、これらの報告された値は著者の得た値と比較することが可能である。つまり、これらの値は spermine を含めていずれも著者の正常範囲とほぼ同じと考えられる。各種癌患者の尿中 polyamines 排泄量は、癌患者でも非癌患者と変わらないものが散在する。しかし、putrescine の場合には大きな差がみられるので、既述したように仮に putrescine を $3.0 \mu\text{g/mg creatinine}$ 以上排泄するものを putrescine 高排泄者とすれば、非腫瘍群では 36例中 7例が putrescine 高排泄者に属するのに対して、腫瘍群全体では 91例中 46例が属し、有意の差が認められた (χ^2 検定で $p < 0.005$)。内訳をみると、喉頭癌および鼻副鼻腔悪性腫瘍では有意の差が認められた (χ^2 検定で $p < 0.005$)。また、悪性リンパ腫でも有意差 ($p < 0.025$) があり、miscellaneous group でも有意差

($p < 0.10$) が得られた。しかし、舌癌、下咽頭頸部食道癌および上咽頭癌では有意の差は得られなかった。次に spermidine についても同様に $1.5 \mu\text{g}/\text{mg creatinine}$ 以上を spermidine 高排泄者とする、非腫瘍群での陽性率は 36 例中 4 例であるのに対し、腫瘍群全体では 91 例中 44 例が陽性を示し、有意の差が認められた ($p < 0.005$)。その内訳をみると、鼻副鼻腔悪性腫瘍では $p < 0.005$ 、悪性リンパ腫では $p < 0.05$ 、そして舌癌では $p < 0.10$ で有意差が得られた。putrescine と spermidine の両方あるいはいずれか一方が高排泄者である割合は、非腫瘍群では 36 例中 8 例 (22.2%) だが、腫瘍群では 91 例中 58 例 (63.7%) であった ($p < 0.001$)。各癌腫の部位別陽性率を比較すると、喉頭癌 および鼻副鼻腔悪性腫瘍では $p < 0.001$ 、悪性リンパ腫では $p < 0.025$ 、舌癌では $p < 0.10$ 、そして miscellaneous group においては $p < 0.01$ の有意差が得られた。spermine では担癌生体および非担癌生体とも測定値のばらつきが大きく、かつその値も trace に近い信頼度が低いと思われるので対象外とした。ただし、Dreyfuss ら⁹⁾によれば非悪性疾患の婦人では尿中に spermine が検出されることはなく、もしも癌が疑われる婦人の尿中に spermine を検出した際にはさらに強く癌が疑われると報告している。著者の対象例の中で女性患者をみると既述したように仮に spermine $0.6 \mu\text{g}/\text{mg creatinine}$ 以上の排泄者を spermine 高排泄者とする、非腫瘍群では 17 例中 1 例の陽性率であるのに対し、腫瘍群全体では 21 例中 10 例が陽性で明らかに有意差が認められた (χ^2 検定で $p < 0.005$)。Dreyfuss ら⁹⁾の指摘のごとき結果と一致するものであった。逆に考えれば、尿中 spermine 排泄量が高い場合には悪性疾患の内在する可能性が高いということになる。著者の対象例を検討してみると、女性患者 11 例の spermine 高排泄者中 10 例が悪性疾患をもっており、きわめて高い陽性率であった。Russell ら²⁵⁾は女性に比べて男性はより多くの spermine を排泄していると報告しているが、この結果は前立腺や精液で polyamines ことに spermine 含量が比較的高い事実²⁹⁾と関連があるのかもしれない。

尿中 polyamines 値を癌診断に応用しようとする試みは、現在までに数多くの報告³⁰⁾³¹⁾がみられるが、本研究の結果から頭頸部癌患者でも従来の他科領域における報告と同様に尿中 polyamines 特に putrescine および spermidine 排泄量の変動が重要であること、spermine は尿中排泄量が少なくかつ変動が大きいことから一般的

には大きな意味をもたないが、婦人の尿中に spermine が高排泄を示す場合だけは悪性腫瘍の内在する可能性が高いので更に詳細な検索を要するという結論に達した。したがって、最近 Polyamine-Test Wako を用いて polyamines 排泄量を測定した報告³²⁾も散見するが、この方法では amine oxidase を用いて spermidine と spermine の和として算出することになるので、やはり putrescine をも含めてその各々の排泄量を検討した方が良いのではないと思われる。

前述した著者の高排泄基準では、腫瘍群における陽性率は 63.7%、非腫瘍群での陽性率は 22.2% であるが、false positive も比較的にみられ、かつ測定値のばらつきも大きいので尿中 polyamines 排泄量が少ないからといって勿論悪性疾患の存在を全く否定はできない。しかし、現時点において消化器癌以外に頭頸部癌診断にも検討されている CEA と比較すれば、少なくとも頭頸部領域悪性腫瘍に関しては診断面において尿中 polyamines 排泄量の方が優れているものと考えられる。因みに、一部の患者で尿中 polyamines 値と同時に血中 CEA-S を測定した。その結果、頭頸部癌患者 24 例中 CEA-S 値が正常範囲 ($2.5 \text{ ng}/\text{ml}$) 以上であるものは、わずか 3 例であった。

頭頸部悪性腫瘍の部位別排泄量を比較すると、鼻副鼻腔悪性腫瘍や上咽頭癌で高く、舌癌でやや低い傾向がみられた。これは鼻副鼻腔および上咽頭とも解剖学的に明視しにくく早期診断が難しいことから、受診時すでに T 分類の T_3 以上になった進行例が多く tumor mass としても充分大きくなったものが多い。これに対して、舌癌や喉頭癌では明視しやすいことから比較的早期診断が可能で、tumor mass がある程度までの大きさの際に受診する例が多く、 T_1 や T_2 の症例の占める割合が増加していることが影響しているものと思われる。

喉頭癌はすべて扁平上皮癌の病理診断であったが、その中で病期の明らかなもの 32 例につき 1978 年の UICC の TNM 分類に基づいて病期別に分類すると、 N_0M_0 が大部分 ($n=27$) で $T_2N_1M_0$ 1 例、 $T_3N_1M_0$ 1 例、 $T_3N_2M_0$ 2 例そして $T_4N_1M_0$ 1 例であり、32 例中 29 例は T 分類と病期進行度が同等になっている。Sttage I + II と Stage III + IV について比較すると、病期による陽性率の差は χ^2 検定で有意とはならず差は認められなかった。これは TNM 分類そのものが、病期すなわち tumor mass の大きさを示すものではなく、病期が進むにつれて tumor mass が大きくなる傾向は認めるものの、むしろ病期の

進行につれて予後不良となるような目的で分類しているので、病期と尿中 polyamines 排泄量が相関しないのは当然のことかもしれない。ただ、喉頭癌そのものは喉頭という解剖学的に比較的小さな内腔にできる癌であるから、ある程度の tumor mass があれば発声および呼吸障害が出現してくるので、他の部位の癌腫に比較して病期が進んでも tumor mass の大きさとしてはさほど大きな差は認められず、せいぜい小指頭大のことが多いことも関係しているのかもしれない。しかし、他科領域では病期進行度と tumor mass の大きくなる度合いが相関しているためかとも思われるが、Nishioka ら³⁷⁾の報告のように結腸直腸癌では病期が進むに従って polyamines 値も高値となる割合が増加している。Townsend ら³⁴⁾も Stage III の悪性黒色腫では Stage I のものに比べ polyamines 値は有意に上昇すると報告している。

喉頭癌をその分化度に従って poorly, moderately そして well differentiated squamous cell carcinoma の3群に分類すると、putrescine では分化度が低いほど尿中排泄量が多い傾向がみられ、spermidine や spermine でも同様の傾向がみられた。これは著者の基準による putrescine 高排泄者 (3.0 µg/mg creatinine 以上) の各分化度における割合でみると、poorly で5例中4例、moderately で21例中10例、そしてwellでは2例中1例であった。このように分化度が低いほど、すなわち扁平上皮組織としての特性が少なくなるほど、putrescine 値が高い傾向がみられた。Russell ら³⁵⁾は putrescine は腫瘍の増殖や成長を反映して現われるのに対し、spermidine では腫瘍細胞崩壊の marker として寄与するとしている。本研究で putrescine が比較的増殖の著明な poorly で高く、比較的増殖のおだやかな moderately や well differentiated squamous cell carcinoma で低い傾向がみられた結果は、Russell ら³⁵⁾の考えを一部支持するものかもしれない。

喉頭癌は内視鏡的に明視しやすいことから早期発見の可能な癌の1つである上に、その進行度により治療方針が大きく変わってくることが多い。すなわち、Stage I, II の比較的早期例に属するものでは放射線治療を主体とした喉頭を保存する方法で治療できることが多いのに対し、Stage III, IV といった進行例に属するものでは保存的方法での根治は困難で喉頭全摘出術を中心とする手術的療法を併用しなければならないのが現状である。喉頭は発声という社会生活上重要な機能を持ち、しかも単一臓器であるから喉頭全摘出術を行なうかどうかに関して

は社会復帰後の生活を考える上で大きな問題となる。しかし、癌という生命をおびやかす疾患を相手にする以上は止むを得ず手術を併用せざるを得ない場合も少なくないので、それをいかに早い時期に予想して今後の心理学的面をも含めた社会復帰後の生活を考慮するかが重要になってくるのである。そこで放射線療法を主体にして治療（照射時に 5-fluorouracil 等の放射線増感作用のある抗癌剤を併用していることが多い）、照射後少なくとも1年以上観察して肉眼上および病理組織学的にも再発を認めない症例と、照射したが病理組織学的に癌が依然として残存するために手術療法を併用せざるを得なかった症例等につき retrospective に治療前の尿中 polyamines 排泄量を検討した。その結果、放射線感受性群では尿中 putrescine 排泄量が少なく、逆に放射線非感受性群では多いことがわかった。この結果は putrescine および spermidine の両方あるいはいずれか一方が高排泄者である場合よりも、putrescine 排泄量はその癌患者の放射線感受性を推定する marker として極めて重要であることを示すと思われる。しかし、放射線治療は扁平上皮癌の中でも未分化なものほど放射線感受性が高く、分化度が高くなるに従って感受性が低下すると一般に考えられている³⁸⁾。ここで、それぞれの群を構成する症例を検討すると、放射線感受性群では moderately が多く、放射線非感受性群では poorly が多い傾向がみられたが、例数が少ないので今後さらに検討されねばならない。しかし、分化度が低いからといって必ずしも放射線感受性が高く根治できるとは限らない。むしろ、治療前に尿中 polyamines 排泄量を測定し、putrescine 排泄量が低い場合には放射線療法で根治できる可能性が高く、逆に putrescine 高排泄者の場合には放射線療法で根治しにくい可能性が高い症例と考えた方が良いのではないかと思われた。放射線がどのようにして細胞死をもたらすかそのメカニズムはわかっていないが、放射線が細胞の遺伝物質や DNA に修復不能なある損傷を与える結果であろうと考えられている³⁷⁾。Brown³⁹⁾は diamine が X 線照射から DNA を保護すると報告しており、またその保護作用の強さは連鎖の長さに依存し、照射された DNA の熱変性に対する最大保護作用は 1, 9-diaminononane でみられる³⁹⁾といわれている。これらの事実および尿中 polyamines 排泄量が高い場合には腫瘍組織中 polyamines 濃度も高い⁴⁰⁾ことを考えると、polyamines の中でも特に putrescine が放射線による細胞障害を少なくしたり、あるいは損傷からの回復を助けたりする可

能性が推定できる。したがって尿中 putrescine 排泄量が高い場合には、放射線療法による根治が難しいと考えられる。

頭頸部腫瘍患者の尿中 polyamines 排泄量を治療前の担癌状態と治療後とで比較すると、治療法は癌の種類および進行度等症例により異なるが、治療に対して癌細胞が有効に反応している場合には尿中 polyamines 排泄量が低下している。化学療法や外科的摘出術等の治療経過に沿って尿中 polyamines 排泄量を経時的に測定すると、治療が功を奏している場合特に化学療法の開始後24～48時間以内に尿中 spermidine 排泄量が著明に上昇する。これは癌細胞崩壊に基づくことが Russell ら⁴¹⁾⁴²⁾の動物実験で示されている。臨床的にも血液癌¹⁾²⁾、悪性黒色腫³⁴⁾、脳腫瘍²⁴⁾そして固型癌²⁾等に関する報告では、治療が有効である場合には動物実験と同様に治療後尿中 polyamines 排泄量が低下する。とくに化学療法では治療開始後間もない時期に spermidine が一過性に上昇し、その後低下して正常値に近づいてくる。この一過性 spermidine 排泄量の上昇は、抗癌剤が腫瘍細胞に作用して細胞崩壊を惹起するために spermidine が血中へ遊離し、さらに尿中へ排泄されたものと考えられている。尿中 polyamines 値は血中に比べて著明に高く、血清中 spermidine 濃度はそれに対応する尿の値の約10分の1であり、putrescine では約10分の1から100分の1の差がある⁴³⁾とされている。従って血中 polyamines 量よりも尿中 polyamines 排泄量の経時的測定の方が治療効果判定のために有効であると考えられている。本研究における治療前後の尿中 polyamines 排泄量の比較では spermine は治療前から低値なので別としても、putrescine, spermidine のいずれもが治療後には多くの例で低値となっている。ただ putrescine あるいは spermidine のいずれかが低下している例も含めると大部分の例で治療後には低値を示し、従来の報告とほぼ同様に治療効果判定の補助的手段として使用できる可能性のあることが判明した。

頭頸部腫瘍症例においても、臨床経過と尿中 polyamines 排泄量の経時的変動は比較的平行する例が多く、治療効果判定の上でも補助的手段の1つとして有用なものと思われる。

B. 頭頸部腫瘍患者の尿中 β -AIBA および β -ala について 一主として尿中 polyamines との関連から一

β -AIBA は1951年 Crumpler ら⁴⁴⁾ および Fink ら⁴⁵⁾ により別々にヒト尿中に発見され Crumpler ら⁴⁴⁾ はイ

ギリス人の人口の約5%で高排泄者がみられること、Fink ら⁴⁵⁾ は癌患者にこのアミノ酸が大量に排泄されていると報告した。Fink ら⁴⁵⁾ はラットに DNA および RNA を投与し、 β -AIBA が DNA-thymine 由来であるとしたが、その後 Nielsen ら⁴⁶⁾ により β -AIBA は DNA-thymine および t-RNA thymine に由来することが証明された。悪性腫瘍に関する β -ala については Fink ら⁴⁵⁾ が chronic myelogenous leukemia について報告したのが最初であるが、その主な内因性の供給源は uracil あるいは cytosine であるとされている。

β -AIBA および β -ala は正常人尿中にも微量ながら存在する核酸の中間代謝産物で、 β -AIBA は常染色体劣性遺伝形式の遺伝的高排泄者があり⁴⁷⁾ 人種による尿中排泄頻度に関しても多数の報告がある⁴⁸⁾。遺伝的高排泄者では、肝臓における D- β -aminoisobutyrate pyruvate aminotransferase が欠損していることも証明されている⁴⁹⁾。しかし、そのような遺伝的高排泄者以外に、癌⁵⁰⁾⁵¹⁾、Burkitt's lymphoma⁵²⁾、X線大量被曝後⁵³⁾、外科手術後⁵⁴⁾等に著明に上昇すると報告されている。癌患者尿中に β -AIBA が高排泄を示すのは、癌組織では DNA よりも t-RNA の turn over rate が速いこと、あるいは t-RNA 分子中のメチル化塩基の増量あるいはこの両者に由来する⁵¹⁾⁵⁵⁾とされている。土居ら⁴⁾の報告でも頭頸部癌患者尿中で β -AIBA の高排泄が示されている。しかし、癌患者の全例が β -AIBA の高排泄を示すわけではない。 β -AIBA あるいは β -ala が高排泄であるからといって尿中 polyamines 排泄が多いわけではなく、むしろ β -AIBA および β -ala の両方あるいはいずれか一方の高排泄者群と非高排泄者群との間では尿中 polyamines 排泄量に関しては有意の差を認めない。しかしながら、polyamines と β -AIBA, β -ala の両方あるいはいずれか一方が高排泄者の陽性率を合計すると86%であった。既報⁴⁾の β -AIBA の陽性率と今回 polyamines と併せて測定した β -AIBA の陽性率との間には明らかに有意差 ($p < 0.005$) があるが、これは既報で対象とした頭頸部癌患者では進行例が多くを占めているのに対し、今回 polyamines と併せて測定した β -AIBA の対象例では病期が比較的早期例のものが多くを占めているので、対象とした症例の病期進行度の違いによるものと思われる。以上のことから、polyamines, β -AIBA および β -ala のいずれか1つ以上が高排泄を示す割合は、頭頸部腫瘍患者を対象にした場合86.0%という結果が得られた。

Nishioka and Romsdahl³⁾³³⁾ は結腸直腸癌を対象に

した場合、血清 polyamines 単独での陽性率は全体で65%と報告しており、著者が頭頸部悪性腫瘍患者尿中で得た63.7%とほぼ同じである。彼らは CEA も併せて測定しており、この陽性率は64%で両方を併せると72%と陽性率が向上している。このように単一の marker だけに頼らず何種類かを組み合わせれば、当然陽性率は高くなる。そこで少なくとも頭頸部悪性腫瘍の診断に関しては、 β -AIBA が遺伝的高排泄という短所をもっている以上、 β -AIBA と polyamines とを組み合わせることにより一層癌診断の陽性率が高まり臨床大いに期待できると思われる。いずれの markers も腫瘍細胞の代謝に関与するものであり、かつ細胞増殖や細胞崩壊が著明な時期に尿中排泄量が多いとされながらも、一方が出て他方が出ない場合の理由は明らかではない。どの markers も排泄量が少ない場合には腫瘍細胞全体の代謝形態が比較のおだやかな状態にあり変化が少ないのか、あるいは頭頸部腫瘍では一般に tumor mass が小さいことが多いために個体全体としては腫瘍の代謝上の変化が陰蔽されてしまうのかもしれない。また、尿中 polyamines 量は高値を示すが、 β -AIBA は低値を示す例が少なからずみられる。これは癌組織周辺の炎症が加味されたために polyamines 排泄量が高くなるのか、あるいはラットの Novikoff hepatoma (rapidly growing tumor) では t-RNA thymine が β -AIBA へと代謝されないで DNA 合成に再利用されている可能性が高いために、尿中 β -AIBA が減少すると報告されている³⁶⁾ように、ヒトにおいても同様の機序が関与しているのかもしれない。

尿中 β -AIBA および β -ala 排泄量を経時的に測定し臨床経過との関係を見ると、臨床経過に比較的一致する例が多いが、必ずしも一致する例ばかりではない。

舌癌のラジウム針組織内照射で比較的多く観察されることであるが、 β -ala が一過性に高排泄を示すことがある。hepatoma 組織内では pyrimidine および DNA の代謝パターンに不均衡がおこり、 β -AIBA や β -ala の方向への代謝が抑制されている³⁷⁾ことが報告されている。舌癌でも同様に pyrimidine および DNA 合成の方向へ偏っていることが推定され、これがラジウム針組織内照射により腫瘍細胞の代謝パターンに大きな変化を引きおこし、pyrimidine および DNA 合成が抑制されるために一過性に β -ala の高排泄をきたし、その後に生体のもつ homeostasis で正常状態に復するのかもしれない。このような一過性の β -ala 高排泄は舌癌のラジウム針刺入例の約半数や悪性リンパ腫でみられるが、原発部位の

みでなく頸部リンパ節転移の活動性も関係する可能性もあり、今後検討を要する課題である。

以上述べたごとく、polyamines、 β -AIBA および β -ala をそれぞれ単独ではなく、併せて測定するならば、診断面のみならず治療経過および予後を推定する上で有効な客観的補助手段の一つであろうと思われる。しかし、頭頸部腫瘍の多くは管腔臓器癌であるが故に視診である程度診断確定できる。そこで、肉眼的に直視するという頭頸部領域の特性を利用して、治療経過に沿った腫瘍の外観上の変化とともに、これら biochemical marker がどのように変動していくかを詳細に検討することが可能である。その結果、これら markers の臨床経過における変動の細部にわたる意義、あるいは新たな markers の組み合わせ等も明らかになってくるものと思われる。このような観点からも頭頸部領域悪性腫瘍のかかる研究が他科領域悪性腫瘍の研究発展へも貢献できることが多くなるであろうことが期待される。

V 結 語

1. 尿中 polyamines 排泄量の測定は β -AIBA や β -ala とともに癌診断の補助的手段の1つとして頭頸部領域でも有用と思われた。とくに putrescine と spermidine 排泄値が重要であり、これらを用いた診断率は63.7%であった。

2. 女性患者で尿中 spermine 値が高い場合には癌の内在する可能性が高く、臨床的に詳細な検索を要する1つの指標であろうと思われた。

3. 尿中 polyamines 排泄量と喉頭癌の TNM分類各病期との間には明らかな相関関係は認められなかった。

4. 喉頭癌の組織分化度との関係では分化度の低いもののほど putrescine と spermidine の排泄量が多い傾向がみられるが、統計的に有意の差は得られなかった。

5. 喉頭癌早期例が放射線療法で根治できたものと、できなかったものとを比較すると、感受性のあるものでは polyamines、中でもとくに putrescine が低値であり、抵抗性のもものでは高値であった (Fisher の直接確率計算法で0.47%)。喉頭癌を放射線治療で根治できるか否かを治療開始前に推定する手段の1つとして有用であろうと思われた。

6. 尿中 polyamines、 β -AIBA および β -ala 排泄量を併せて測定すると、診断率は更に上昇し86%であり、診断上の補助的手段の1つとして有用と思われた。

7. 治療効果判定の手段としても尿中 polyamines、

β -AIBA および β -ala の経時的変動をみると、治療効果を客観的に表現でき、かつ臨床経過と平行することが多い。しかし、各々単独では臨床経過と一致しないこともあるので同時に併せて検討するのが好ましい。

参 考 文 献

- 1) *Russell D H et al*: Urinary polyamines in cancer patients. *Cancer Res*, 31: 1555-1558, 1971.
- 2) *Fujita K et al*: Urinary putrescine, spermidine, and spermine in human blood and solid cancers and in an experimental gastric tumor of rats. *Cancer Res*, 36: 1320-1324, 1976.
- 3) *Nishioka A et al*: Preliminary longitudinal studies of serum polyamines in patients with colorectal carcinoma. *Cancer Lett*, 3: 197-202, 1977.
- 4) 土居保幸 他: 頭頸部悪性腫瘍と biochemical markers — 尿における β -aminoisobutyric acid β -alanine — 医学のあゆみ, 106: 539-541, 1978.
- 5) *Gerritsen T et al*: On the determination of free amino acids in serum. *Anal Biochem*, 11: 460-466, 1965.
- 6) *Benson J V et al*: Accelerated chromatographic analysis of amino acids in physiological fluids containing glutamine and asparagine. *Anal Biochem*, 18: 228-240, 1967.
- 7) *Russell D H and Review*: Clinical relevance of polyamines as biochemical markers of tumor kinetics. *Clin Chem* 23: 22-27, 1977.
- 8) 佐々木楨一: Creatinine の測定法 — 尿中, 血清中 Creatinine と Creatine の測定法をめぐって — メディヤサークル, 151: 1-10, 1972.
- 9) *Dreyfuss F et al*: Polyamine excretion in the urine of cancer patients. *Israel J Med Sci*, 11: 785-795, 1975.
- 10) *UICC (Union Internationale Contre le Cancer)*: TNM Classification of malignant tumors. 3rd Ed, Geneva. 1978.
- 11) *Bachrach U*: Function of naturally occurring polyamines. Academic Press NY 1973. pp. 1より引用
- 12) *Dudley H W et al*: The chemical constitution of spermine. 1. The isolation of spermine from animal tissue, and the preparation of its salt. *Biochem J*, 18: 1263-1272, 1924.
- 井上秀夫: ポリアミンの生合成とその調節, 9: 1010-1017, 1972. から引用
- 13) *Tabor H et al*: Biosynthesis and metabolism of 1, 4-diaminobutane, spermidine, and related amines. *Adv Enzymol*, 36: 203-268, 1972.
- 14) 遠藤康夫, 鯨島啓二郎: ポリアミン, 医学のあゆみ 106: 282-287, 1978.
- 15) *Russell D H et al*: The dynamics of synthesis and degradation of polyamines in normal and regenerating rat liver and brain. *J Biol Chem*, 245: 6732-6738, 1970.
- 16) 竹田義朗, 井上秀夫: ポリアミンと細胞増殖, ホルモンと臨床 23: 111-119, 1975.
- 17) *Inoue H et al*: Effect of isoproterenol on polyamine metabolism in mouse salivary glands. *J Biochem*, 25: 679-687, 1974.
- 18) *Russell D H and Durie B G M*: Polyamines and their accumulation in tumor cell. In "Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth. Raven Press. N.Y. 1978. pp. 15-17.
- 19) *Russell D H*: Increased polyamines concentration in the urine of human cancer patients. *Nature New Biology*. 233: 144-145, 1971.
- 20) *Russell D H*: Intracellular and extracellular polyamines in animal models of tumor regression. In "Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth. Raven Press. N.Y. 1978. pp. 31-42.
- 21) *Nishioka K et al*: Polyamines in sera of patients with solid tumors. In "Advances in polyamines research." vol. 2. Raven Press. N.Y. 1978. pp. 265-272.
- 22) *Lipton A et al*: Urinary polyamines in patients with localized malignancy. *Cancer*. 38: 1344-1347, 1976.
- 23) *Russell D H*: Polyamines and the clinical evaluation of patients with cancer. In "Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth." Raven Press. N.Y. 1978. pp. 139-155.
- 24) *Marton L J et al*: The relationship of polyamines in cerebrospinal fluid to the presence of central nervous system tumors. *Cancer Res*. 36:

- 973-977, 1976.
- 25) *Russell D H*: Clinical utility of polyamine determination. In "Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth." Raven Press. N. Y. 1978. pp. 127-138.
- 26) *Durie B G M et al*: Polyamines of markers of response and disease activity in cancer chemotherapy. *Cancer Res.* 37: 214-221, 1977.
- 27) *Russell D H*: Assay procedure for polyamines in tissue and physiological fluids. In "Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth." Raven Press. N. Y. 1978. pp. 121-126.
- 28) 金井 泉, 他: 臨床検査法提要, 改訂28版 金原出版, 東京 1978. pp. 11-53.
- 29) *Bachrach U*: Function of naturally occurring polyamines. Academic Press. N. Y. & London. 1973. pp. 12.
- 30) Meeting report. Conference of polyamines in cancer. *Cancer Res.* 37: 939-942, 1977.
- 31) *Bachrach U*: Polyamines as chemical markers of malignancy. *Ital J Biochem.* 25: 77-93, 1977.
- 32) 仁田正和, 他: 癌患者の尿中ポリアミン, 癌の臨床 25: 986-990, 1979.
- 33) *Nishioka K et al*: Elevation of putrescine and spermidine in sera of patients with solid tumors. *Clin Chim Acta.* 57: 155-161, 1974.
- 34) *Townsend R M et al*: Polyamines in malignant melanoma: Urinary excretion and disease prognosis. *Cancer.* 38: 2088-2092, 1976.
- 35) *Russell D H et al*: Polyamines of predictors of success and failure in cancer chemotherapy. *Lancet.* 2: 797-799, 1975.
- 36) 坂本澄彦: 癌の放射線生物学, 中外医学社 1978. pp. 164.
- 37) 坂本澄彦: 癌の放射線生物学, 中外医学社 1978. pp. 28.
- 38) *Brown P E*: Some effects of binding agents on the X-irradiation of DNA. *Radiat. Res.* 34: 24-35, 1968.
- 39) *Bachrach U*: Function of naturally occurring polyamines. Academic Press. N. Y. & London. 1973. pp. 65.
- 40) *Russell D H et al*: Change in serum putrescine and spermidine level following local radiation to hepatoma 3924A of the rat. *Cancer Res.* 36: 420-423, 1976.
- 41) *Russell D H et al*: Polyamine depletion of the MTW 9 mammary tumor and subsequent elevation of spermidine in the sera of tumor-bearing rats as a biochemical marker of tumor regression. *Cancer Res.* 34: 2378-2381, 1974.
- 42) *Russell D H et al*: Polyamine depletion of tumor tissue and subsequent elevation of spermidine in the sera of with 3924A hepatomas after 5-Fluorouracil administration. *Cancer Res.* 34: 2382-2385, 1974.
- 43) *Russell D H and Russell S D*: Relative usefulness of measuring polyamines in serum, plasma and urine as biochemical markers of cancer. *Clin Chem.* 21: 860-863, 1975.
- 44) *Crumpler H R et al*: β -aminoisobutyric acid (α -methyl- β -alanine): A new amino-acid obtained from human urine. *Nature.* 224: 307-308, 1951.
- 45) *Fink K et al*: Beta-aminoisobutyric acid, A possible factor in pyrimidine metabolism. *Proc Soc Exp and Biol Med.* 78: 135-141, 1951.
- 46) *Nielsen H R et al*: Dual origin of β -aminoisobutyric acid, a thymine catabolite. *Acta Pathol. Microbiol Scand* 80A: 687-688, 1972.
- 47) *Scriber C R and Rosenberg L E*: Amino acid metabolism and its disorders. W. B. Saunders Company. Philadelphia. London. Toronto. 1973. pp. 384-386.
- 48) 柿本泰男: β -アミノイソ酪酸, 代謝, 2: 918, 1965.
- 49) *Kakimoto Y et al*: D- β -aminoisobutyrate: pyruvate aminotransferase in mammalian liver and excretion of β -aminoisobutyrate by man. *J Biol Chem.* 244: 335-350, 1969.
- 50) *Abe M et al*: The significance of urinary beta-amino-isobutyric acid in cancer patients. *Int J Radiat Biol.* 24: 73-79, 1973.
- 51) *Nielsen H R et al*: Relationship between urinary β -aminoisobutyric acid and transfer RNA turnover in cancer patients. *Cancer Res.* 34: 3428-3432, 1974.
- 52) *Waalkers T P et al*: Brief communication:

- Beta-aminoaciduria in patients with Burkitt's lymphoma. J Natl Cancer Inst. 57: 435-438, 1976.
- 53) *Rubini J R et al*: Urinary excretion of beta-aminoisobutyric acid (BAIBA) in irradiated humanbeings. Proc Soc Exper Biol & Med. 100: 130-133, 1959.
- 54) *Levey S et al*: Urinary excretion of β -aminoisobutyric acid following surgical procedures. Metabolism. 12: 148-156, 1963.
- 55) *Borek E et al*: High turn over over rate of transfer RNA in tumor tissue. Cancer Res. 37: 3362-3366, 1977.
- 56) *Nielsen H R*: β -aminoisobutyric acid, a new probe for the metabolism of DNA and RNA in normal and tumorous tissue. Cancer Res. 34: 1381-1384, 1974.
- 57) *Weber G*: III. DNA metabolism: Pattern of imbalance. In "The molecular biology of cancer." Academic Press. N. Y. 1974. pp. 500-508.
-
- 稿を終るに臨み、本研究の遂行に当たり終始懇切なる御指導を戴き、御校閲を賜った形浦昭克教授、生化学第一講座大野公吉教授ならびに秋野豊明助教授に深く謝意を表します。さらに、頭頸部悪性腫瘍患者尿の採取にご協力いただいた斗南病院耳鼻咽喉科土居保幸先生、国立札幌病院放射線科桜井智康先生ならびに西尾正道先生に深謝いたします。
- 本論文の要旨は、第2回、第3回および第4回頭頸部腫瘍学会および第80回日本耳鼻咽喉科学会総会において報告した。
- なお、本研究の一部は北海道老年医学研究振興会（老医研）研究費補助のもとに行われた。
-
- （原稿受付 昭和 55. 11. 7日急載）
- 別刷請求先 〒060 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学耳鼻咽喉科学教室 保立 武雄