泌尿器科領域における尿乳酸脱水素の研究 特に尿路悪性腫瘍と尿乳酸脱水素酵素について

新潟県立癌センター新潟病院泌尿器科 医 長 阿 部 礼 男*
医 員 渋谷 宗 則
新潟大学医学部泌尿器科教室 助教授 中 村 章
(指導: 佐藤昭太郎教授)

URINARY LACTIC DEHYDROGENASE ACTIVITY IN UROLOGICAL DISEASES, WITH SPECIAL REFERENCE TO URINARY TRACT MALIGNANCY

Norio Abe and Munenori Shibuya,

From the Department of Urology, Prefectural Cancer
Center, Niigata Hospital, Niigata

Sho Nakamura

From the Department of Urology, Niigata University
School of Medicine, Niigata
(Director: Prof. S. Sato)

Urinary and serum activities of lactic dehydrogenase (LDH), which an enzyme necessary for the conversion of pyruvate to lactate in anaerobic phase of glycolysis, were investigated in patients with various urological diseases, both benign and malignant, as to know the clinical significance of urinary LDH activity in diagnosis of urinary tract malignancy, as advocated by Wacker and Dorfman in 1962. The authors' study was based on the data of LDH activity determination in the urine and serum of 24 normal controls and 44 patients with various urological conditions. Urinary LDH activity was determined by the method described by Wacker and Dorfman in 1962. And serum LDH activity was determined according to Wroblewski and Latue (1955). Electrophoretic separation of urinary LDH isozymes was performed according to Vesell and Bearn (1957). The results were as follows:

(1) Urinary LDH activity of 24 healthy adults was measured with a range from 279 to 2000 units per 8-hour volume, the average being 984 units per 8-hour volume with standard deviation of 436. The upper limit of normal was considered to be 2000 units per 8-hour volume. Addition of red blood cells resulted in the elevation of LDH activity, but the effect was negligible, when the amount of red blood cells was minimal such as the degree of hematuria remained microscopic. The activity showed a significant elevation in heavily infected urine. Following urological instrumentation the urinary LDH activity was elevated for 4 days, which gradually subsided thereafter.

(2) Fourteen (82.4%) of 17 patients with urinary tract malignancy showed an elevation of urinary LDH activity, whereas in 5 (22.7%) of 22 patients with benign urological disorders a slight elevation of urinary LDH activity was observed. In patients with bladder carcinoma on whom surgical removal had been underwent, recurrence was accompanied with elevation of urinary LDH activity.

(3) Electrophoretic separation of urinary LDH isozymes revealed a suggestive distribution of patterns.

* 新潟大学医学部講師

(4) No correlation was observed between the urinary LDH activity and the serum LDH activity.

In conclusion, determination of urinary LDH activity may be of value as a screening test for malignant neoplasm of the urinary tract. The course of urinary tract malignancy should be followed by repeated determinations of urinary LDH activity. Electrophoretic separation of the isozymes will afford an accurate information concerning LDH pattern changes.

I 緒 言

最近の生化学及び酵素化学の進歩は目覚ましいものがあり、酵素に関連した研究も著しく増加している。しかし酵素の測定が疾患の診断や予後の判定に応用されたのは1908年 Wohlgemuth が急性肺炎の診断に Amylase を用いたのが最初であるといわれ、左程古いものではない。泌尿器科領域においても酵素が疾患の診断、予後の判定及び治療に応用されることにあるが、凡そアルカリ及び酸フォスファターゼ、線維素溶解酵素、 β -Glucuronidase, Phosphohexose isomerase 並びにヒアルロナーゼ等極く限られた酵素が対象とされていたに過ぎない^{2)~12)}。我々は今回の研究で各種の尿路疾患における尿中の乳酸脱水素酵素(Lactic dehydrogenase; LDH)活性値及び一部に血清 LDH 活性値も測定し、本酵素の泌尿器科領域の疾患における臨床的意義を検討すると共に測定上の問題点及び尿 LDH Isozyme (異性酵素又は同位酵素)についても若干の検討を加えたので報告する。

II 乳酸脱水素酵素について

LDHは体内でのGlycolysisの過程に働く重要な酵素であつて(第1図), 補酵素 Diphosphopyridine nucleotide (DPN) の存在のもとで乳酸を焦性ブドウ酸に変じ、還元型 DPN (DPNH) の存在のもとで焦性ブドウ酸を乳酸に変ずる可逆反応に関与する酵素(第2図)であつて、最近臨床的に注目されてきた酵素の1つである。LDH は人体各組織中に存在し、特に腎臓、心筋、骨格筋、脾臓及び赤血球等に多く含まれており、更に人体の種々の体液中にも存在していることが明らかになっている^{14)~20)}。

この酵素が臨床的に応用されるようになったのは1953年 Hill & Levi²¹⁾ が癌患者の血清中に LDH 活性値が高くなっていることを発見して以来のこととて、その後各種癌疾患のみならず白血病、心筋梗塞、急性肝炎、筋肉疾患及び腎疾患等で血清中の LDH 活性値の上昇が認められており^{21)~31)}、腹腔液、肋膜腔液、脳脊髄液及び胃液等の LDH 活性値の臨床的意義も認められている。

第1図 細胞のエネルギー生産系 (斎藤正行: 1961より¹³⁾)

第2図 LDHの作用過程

^{15~20)32)}。一方1959年 Rosalki & Wilkinson³³⁾は腎細胞の壊死を伴う急性の腎疾患で尿 LDH 活性値が上昇していることを発見し、各種尿路疾患における尿 LDH 活性値の測定が補助的診断法として価値あることを示唆し、臨床的应用への緒を開いた。その後 Crookson(1961)³⁴⁾, Wacker & Dorfman (1962)³⁵⁾, Brenner & Gilbert (1963)³⁶⁾, Dorfman et al. (1963)³⁷⁾, Wacker et al. (1964)³⁸⁾ 及び Ramkissoon et al. (1964)³⁹⁾, 等の報告があり、尿路疾患の診断や予後の判定に価値あることが認められて来た。又、一方最近の酵素化学の進歩によって、同一基質に対して同一反応を触媒する酵素でありながら酵素蛋白の分子型が異なるもの、すなわち Isozyme Markert & Møller; (1959)⁴⁰⁾ が存在するなどが確認された。人体での LDH に関しては5つの Isozyme の存在が明らかにされ、各臓器によつてこの Isozyme のパターンが異なり⁴¹⁾⁴²⁾⁴³⁾, 更に血清中の Isozyme パターンを決定することは各種疾患の鑑別及び補助的診断に有用であることが報告されている^{23)41)~49)}。

III 研究方法

A) LDH 活性値の測定法

1) 尿 LDH 活性値測定法 (第3図)

i 測定原理: LDH は先きにも述べた如く補酵素 DPN の存在下で乳酸を焦性ブドウ酸に変え、DPNH の存在下で焦性ブドウ酸を乳酸に変える可逆反応を触媒する酵素である (第2図)。従つてこの可逆反応のうちどちらの方向への反応を LDH 活性値の測定に利用するかによつて2つの方法があるわけであるが、我々は Wacker & Dorfman (1962)³⁵⁾ の記載に従つて乳酸と DPN 系の反応を利用し、DPNH の増加から LDH 活性値を測定する方法を用いた。

ii 試料; 夜間の8時間蓄尿を被検試料とした。すなわち午前10時から翌朝午前6時までの8時間の全尿を清浄した尿器に採取した。8時間蓄尿後尿量を測定し、その一部を蛋白、糖の定性試験及び沈渣の顕微鏡的検査に供した。次いで蓄尿中の一部をとり遠心し、その上澄5.0ccをとり透析操作を行つた。すなわち透析チューブ (セロファンチューブ) を長さ約25cmに切りとり、純水で数回洗滌後冷純水中に浸しておいたものを用いてその下端をひもで閉じ、先述の如く5.0ccの尿を透析チ

第3図 尿LDH活性値の測定法
(Wacker & Dorfman 1962)³⁵⁾

夜間8時間尿 ↓ 遠心 ↓ 5ccを透析 (4℃水中、攪拌80分) ↓ 透析尿1cc+反応液2cc (25℃) ↓ 340 mμでの吸光度 (2分毎で10分間測定)	反応液 Na ₂ HPO ₄ 6.2 g 乳酸 2.0cc D P N 1.10 g <hr/> 水 → 200cc 冷凍保存で4ヵ月安定
活性値=単位×8時間尿量 × $\frac{\text{透析後重量}}{\text{透析前重量}}$	

ューブに移し、上端をひもで閉じる。これを4℃以下の冷純水に入れて Magnetic stirrer で攪拌しながら80分間透析を行う。なお活性値の単位を計算するさいに必要なので、透析前後の重量を計り記載しておく。以上の如き透析操作を施した尿を被検試料とした。

iii 反応混液; ピロ磷酸ナトリウム 6.2g 及び乳酸 2.0ccを約150ccの加熱純水に溶かしこみ、冷却後 DPN 1.1gを更に溶かし1N荷性ソーダでpH 8.8に合わせってから純水を加えて総量を200ccにする。この反応混液を2.0ccずつ試験管に分注し deep freezer (-20℃) 中に貯えておき、用いたのぞんで室温で溶かして使用した。-20℃で保存すると約5ヵ月間は安定であると云われている。実際の測定に当つては反応混液2.0ccに試料尿1.0ccを加えるが、このさいの終濃度はピロ磷酸ソーダ50 mM/L, 乳酸77.5mM/L, DPN 5.25mM/L の割合になる。

iv 測定及び計算; 反応混液2.0ccを入れた試験管を室温で溶かし、次いで25℃の恒温槽中に約5分間入れて温度を一定にする。そこへ透析尿1.0ccを加えてよく混和し、直ちに3cc容の光路1cmのキューベットに移し、日立分光光度計 (EPU 2型) で340mμにおける吸光度を2分間々隔で10分間記録する。このさい反応混液2.0ccに純水1.0ccを加えたものを盲検とした。分光光度計のセル室の温度はほぼ25℃に維持した。次に8時間尿の総活性値は Dorfman et al. に従つて次式を用いて計算

した。

総活性値 (単位)

$$= \text{単位} \times 8 \text{ 時間尿量} \times \frac{\text{透析後重量}}{\text{透析前重量}}$$

こゝで LDH 活性の表現には単位を用いているが、分光光度計の 340m μ における吸光度の増加が 0.001/min/cc 尿である場合これを 1 単位と定義しており、我々もこの定義に従って単位で活性値を求めた。

2) 尿 LDH Isozyme の測定法

夜間 8 時間尿を用いて、血清 LDH Isozyme 測定の場合の Vesell & Bearn (1957)⁴⁴⁾ の方法に大体準じて尿 LDH Isozyme の測定を行った。

i 試料；尿 LDH 活性値測定の場合と同様に夜間 8 時間尿を採取し、このうち 10cc をとり透析チューブに移して冷水中で攪拌しながら 2 時間透析を行った。次いで透析チューブのまゝ 4℃ 以下に冷却した Polyethylenglycol (Carbowax 6000) 生食緩衝液中⁵⁰⁾ に移し、時々観察しながら数時間放置し約 1 cc 迄濃縮したものを試料として電気泳動を行った。

ii 電気泳動；長さ 45cm、巾 2 cm 及び高さ 1 cm のプラスチックのケースにでんぶんの緩衝液で洗滌したものを充填する。でんぶんが充填されたら濾紙で余分の緩衝液を充分に吸いとり、次いで巾 1 cm 分のでんぶんを端から 15cm のところで切り出し、ピーカーの中に上記尿試料 0.5 cc とよくねりませる。これを再びもとの切り出した位置へ戻し、両端に濾紙又はガーゼを垂らし、それを泳動槽に入れる。泳動槽及び電極槽にはペロナール緩衝液 (pH 8.6, $\mu=0.05$) を充しておく。次いで尿試料添加部が陰極に来るようにケースを置いて小林式定電流定電圧発生装置に接続し、低温室内 (0 乃至 4℃) で 20 之至 22 時間泳動を行なう。電圧；350V、電流；4 乃至 6 mA)。泳動終了後でんぶんを 1 cm ずつの長さで切りとり、各々の試験管中で 3 cc の生食水を加えて尿 LDH を抽出し、この抽出液各々について Hill & Levi (1954)²¹⁾ の方法で大森ら (1962)⁵¹⁾ の変法により LDH 活性値を測定した。この各々の測定値 (4E 340) をグラフ上で順に結べば尿 LDH の Isozyme のパターンが得られる。

3) 血清 LDH 活性値の測定法

これは Wróblewski & LaDue (1955)²⁷⁾ の方法により測定した。

B) 基礎的研究

基礎的研究として次の如き事項について検討を行った。

1) 正常人尿 LDH 活性値

既往歴に尿路疾患がなく、現在全く健康な 20 才乃至 55 才の成人 24 人 (いずれも新潟県立癌センター新潟病院勤務の医師及び職員である) を対象として尿 LDH 活性値を測定した。

2) 尿 LDH 活性値に影響を与える因子の検討

次の如き項目について検討を行った。

(a) 透析操作の有無と尿 LDH 活性値について

尿 LDH 活性値の測定にさいし、透析尿と非透析尿のそれぞれについてその差違を検討した。すなわち健康成人 11 人の尿を対象とし、それぞれの透析及び非透析尿について LDH 活性値を測定し、そのさいの分光光度計での吸光度の増加と時間の関係を調べ、両者の相違について検討した。

(b) 赤血球混入程度と尿 LDH 活性値について

赤血球の混入が尿 LDH 活性値に与える影響を調べた。すなわち LDH 活性値既知の正常人 3 人を選びその各々の尿に同人の血液を添加し、それぞれ 20, 50, 10², 10³, 10⁴ 及び 10⁵ 倍の稀釈尿を作成し、18 時間放置後各々の尿試料について LDH 活性値を測定した。更にその各々の尿試料について沈渣の赤血球の顕微鏡的所見及び Hb 値をも測定した。尚 LDH 活性値はすべて 8 時間尿量についての値で計算した。

(c) 白血球混入程度と尿 LDH 活性値について

尿中白血球が尿 LDH 活性値に与える影響について赤血球混入の場合と同様に調べんとしたが、全血からの白血球の抽出操作が困難のため、今回はとり敢ず各種尿路感染症患者の尿を対象とした。すなわち膀胱炎患者 3 例及び尿管切石術後尿路感染を併発した患者 1 例 (いずれも新潟病院入院患者) を対象として、治療経過に伴う尿中白血球数と尿 LDH 活性値との関係を調べた。

(d) 泌尿器科的器械操作の尿 LDH 活性値に及ぼす影響について

非腫瘍患者で尿の異常所見を認められない時期の患者 3 例 (新潟病院入院患者) について、膀胱鏡検査を施行する前日、施行後 1 日目及び 4 日目の尿について尿 LDH 活性値を測定しその消長を調べた。尚本操作後に尿路感染や血尿を惹起した症例はなかった。

(e) 尿 LDH 活性値と血清 LDH 活性値との関係について

血清 LDH 活性値と尿 LDH 活性値の相関々係について検討した。すなわち血清 LDH 活性値が著しく高値を示した肝臓癌 3 例及び白血病 1 例合計 4 例の患者につい

て尿 LDH 活性値を測定し、又尿 LDH 活性値が高値を示した膀胱癌患者 4 例及び腎腫瘍患者 1 例合計 5 例の血清 LDH 活性値を測定した。

C) 各種尿路疾患における尿 LDH 活性値について

新潟県立癌センター新潟病院泌尿器科及び新大病院泌尿器科入院患者について腫瘍群及び非腫瘍群の 2 群に分けて尿 LDH 活性値を測定し検討を行なった。

1) 腫瘍群 (20例)

腫瘍群として膀胱癌11例、膀胱乳頭腫 2 例、腎腫瘍 4 例、前立腺癌 1 例及び辜丸セミノーム 2 例の合計 20例について尿 LDH 活性値の測定を行った。このさい肉眼的血尿及び高度の膿尿などの異常所見がない時期に測定を行い、又膀胱鏡検査や逆行性腎盂撮影等の検査後では 1 週間以上経過した時期に測定を行なった。

2) 非腫瘍群としては慢性腎炎 3 例、急性腎炎 1 例、尿路結石症 7 例、腎外傷 1 例、腎出血 3 例、水腎症 3 例、前立腺肥大症 1 例、嚢胞腎 1 例、膀胱炎 1 例及び尿道狭窄兼膀胱炎 1 例の合計 22例について尿 LDH 活性値を測定した。中には治療後の経過を辿って数回の測定を行った症例もある。勿論このさいも腫瘍群の場合と同様に肉眼的血尿及び高度の膿尿のある時期並びに尿路に器械的操作を加えた直後は測定を行わないように努めたが、前立腺肥大症の症例は尿閉があつたため、留置カテーテルを施行したまゝ尿試料を採取した。又治療後の経過を観察した患者では膿尿が高度の時期にも測定を行なった。

3) 尿路悪性腫瘍術後の経過と尿 LDH 活性値の消長について

膀胱癌の 2 例 (移行上皮癌及び腺癌) の尿 LDH 活性値について術前及び術後長期に亘りその消長を観察した。このうち 1 例は術後の再発はなかつたが、他の 1 例は術後約 2 カ月後に再発を見た症例である。この 2 症例について尿 LDH 活性値の消長を比較検討した。

D) 正常人及び各種尿路疾患における尿 LDH Isozyme について

健康成人 2 例、尿道狭窄兼膀胱炎 1 例及び膀胱癌 3 例合計 6 例の尿について、尿 LDH Isozyme の測定を行つて比較検討した。

IV 研究成績

A) 基礎的研究の成績

1) 正常人尿 LDH 活性値

健康成人 24 人 LDH の尿活性値は第 1 表及び第 4 図に示す如くて、最低 279 単位/8 時間尿、最高 2000 単位/8 時間尿であり。平均値は 984 単位/8 時間尿、標準偏

第 1 表 正常人尿 LDH 活性値

No.	活 性 値 (単位/8 時間尿)	No.	活 性 値 (単位/8 時間尿)
1	1579	13	932
2	804	14	1192
3	279	15	784
4	886	16	808
5	1330	17	1760
6	1512	18	750
7	546	19	1600
8	1300	20	842
9	854	21	506
10	689	22	800
11	430	23	2000
12	693	24	751

平均値 984 標準偏差 ± 436

第 4 図 正常人尿 LDH 活性値の分布

差 ± 436 単位/8 時間尿であつた。

2) 尿 LDH 活性値に影響を与える因子の検討

(a) 透析操作の有無と尿 LDH 活性値

健康成人 11 人の尿を透析尿と非透析尿の 2 つに分けその各々について分光光度計による吸光度 (340mμ) と時間との関係を調べた。11 人ともほぼ同様の関係を示し、時間と吸光度の増加との関係が、透析尿でよほど直線的関係にあるが、非透析尿の場合には次第に増加の度が少なくなつた (第 2 表及び第 5 図)。10 分後の吸光度の平均では透析尿の場合に比して非透析尿の場合は約 17% 減少を示した。従つて非透析尿で尿 LDH 活性値を測定した場合は可成り低値を示すことになる。

(b) 赤血球の混入程度と尿 LDH 活性値

第 2 表 透析尿及び非透析尿での時間と吸光度（吸光度/cc）

時間（分） No.	2		4		6		8		10	
	（＋）	（－）	（＋）	（－）	（＋）	（－）	（＋）	（－）	（＋）	（－）
1	.002	.002	.003	.004	.004	.004	.008	.005	.008	.007
2	.013	.009	.013	.014	.034	.022	.023	.026	.045	.032
3	.008	.023	.008	.029	.014	.029	.018	.042	.021	.044
4	.008	.006	.013	.008	.017	.010	.019	.013	.023	.015
5	.024	.013	.036	.024	.047	.031	.058	.040	.068	.051
6	.013	.010	.024	.019	.026	.019	.033	.021	.037	.020
7	.017	.014	.027	.024	.036	.032	.046	.037	.049	.044
8	.006	.014	.011	.023	.017	.016	.018	.011	.022	.003
9	.020	.020	.036	.027	.046	.040	.054	.051	.058	.054
10	.006	.004	.012	.007	.015	.009	.019	.011	.024	.013
11	.035	.042	.049	.062	.066	.079	.079	.084	.092	.090
平均	.0140	.0140	.0210	.0220	.0292	.0265	.0341	.0310	.0410	.0340

第 5 図 透析尿及び非透析尿での時間と吸光度（正常11人の平均）

第 6 図 尿中赤血球混入程度と尿 LDH 活性値

健康成人 3 人の尿で血液(同一人)を倍数稀釈してその各々について尿 LDH 活性値を測定したものであるが、各例とも同様な傾向を示し、赤血球の混入程度が強くなると尿 LDH 活性値は上昇した。代表的な 1 例を第 6 図に示した。すなわちこの例では赤血球混入前の尿試料では LDH 活性値が 565 単位／8 時間尿であったが、赤血球混入程度が増強すると共に 639, 694, 801, 936, 1421, 及び 2759 単位／8 時間尿と漸次 LDH 活性値が上昇し、それに平行して尿中 Hb 量も増加している。

(c) 白血球混入程度と尿 LDH 活性値

この場合は尿路感染を起した患者を対象として尿中白血球の増減と尿 LDH 活性値の消長を見たが、第 3 表に示す如く 4 例ともほぼ同様な傾向を示した。すなわち、尿管結石例では術前低値を示した尿 LDH 活性値が術後尿路感染を併発し尿中白血球が増加すると共に著明に増加し、治療により尿路感染が治癒に向い、尿中白血球が減少すると、又低値に復した。膀胱炎患者の 3 例の場合も全く同様であつて、尿中白血球数と尿 LDH 活性値は比例的関係にあつた。

(d) 泌尿器科的器械操作と尿 LDH 活性値

第3表 尿中白血球と尿LDH活性値の関係

第1例：尿管結石症例（尿管切石術施行）

経過	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)	検尿所見 (白血球数/シヤ)
術前	854	2～3
術後7日		多数
術後14日	7971	〃
術後21日	2325	20～30
術後35日	1510	10～15

第2例：膀胱炎症例

経過	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)	検尿所見 (白血球数/シヤ)
初診時	7050	多数
5日目 (化学療法)	2200	10～20
13日目 (〃)	1700	4～5

第3例：膀胱炎症例

経過	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)	検尿所見 (白血球数/シヤ)
入院時	2710	多数
10日目 (化学療法)	2240	
12日目 (〃)	1293	2～3

第4例：尿道狭窄兼膀胱炎症例（外尿道切開術施行）

経過	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)	検尿所見 (白血球数/シヤ)
術前	7730	多数
術後（膀胱炎治癒）	1058	3～4

膀胱鏡検査の施行前日、施行後1日及び4日にそれぞれ尿LDH活性値を測定した。結果は第7図に示す如くて、第1例では膀胱鏡検査を施行しても全く尿LDH活性値の上昇は見られず、第2例では施行後軽度の上昇を示し、第3例では著明な上昇を示した。しかしこれらの上昇も施行後4日では既に低値に復している。

(e) 尿LDH活性値と血清LDH活性値の関係

第4表(A)に示す如く、尿LDH活性値が2000単位/8時間尿以上の高値を示している5例では血清LDH活性値が全て850Wróblewski単位（正常値上昇）以下の値であり、又第4表(B)に示す如く、血清LDH活性値が著明に上昇している4例中1例で尿LDH活性値

第7図 膀胱鏡検査が尿LDH活性値に与える影響

第4表 血清LDHと尿LDHの関係

(A) 尿LDH活性値の上昇例

患者	疾患名	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)	血清LDH活性値 (Wróblewski単位)
小○	膀胱癌	3119	419
小○	〃	11440	460
細○	〃	2264	566
秋○	〃	3035	497
阿○	腎腫瘍	4298	375

(B) 血清LDH活性値の上昇例

患者	疾患名	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)	血清LDH活性値 (Wróblewski単位)
大○	肝臓癌	554	5274
小○	白血病	576	2075
三○	肝臓癌	2319	3020
仁○見	〃	950	4092

が2000単位/8時間以上の高値を示しているに過ぎなかった。

B) 各種尿路疾患における尿LDH活性値

1) 腫瘍群

腫瘍群における尿LDH活性値を第5表に示した。20例中2000単位/8時間尿以上の高値を示したものは14例(70%)であり、それ以下の値を示したものが6例(30%)であつた。膀胱の悪性腫瘍では全て2000単位/8時間尿以上の高値を示し、膀胱の良性腫瘍(乳頭腫)の2例は全て2000単位/8時間尿以下であつた。腎腫瘍では4例中3例が2000単位/8時間尿以上の高値を示し、1例のみがこれ以下の低値を示していた。その他尿路に直接関係のない前立腺癌及び睾丸セミノームの症例では全て尿LDH活性値は2000単位/8時間以下の低値を示した。

第5表 腫瘍群の尿LDH活性値

No.	患者	疾患名	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)
1	矢 ○	膀胱癌	13000
2	秋 ○	"	3035
3	堀 ○	"	4743
4	小 ○	"	3119
5	丸 ○	"	10018
6	星 ○	"	8940
7	久 ○	"	3410
8	小 ○	" (再発)	11440
9	細 ○	" (")	17900
10	小 ○	"	4878
11	佐 ○	"	3986
12	林 ○	膀胱乳頭腫	371
13	前 ○	"	858
14	藤 ○	前立腺癌	1008
15	阿 ○	睾丸セミノーム	1443
16	妹 ○	"	1703
17	斎 ○	腎腫瘍	2727
18	阿 ○	"	24029
19	井 ○	"	8660
20	高 ○	"	1795

2) 非腫瘍群

非腫瘍群における尿 LDH 活性値を第6表に示した。22例中尿 LDH 活性値が2000単位/8時間尿以上の高値を示した症例は5例(22.7%)であり、それ以下の低値を示した症例が17例(77.3%)であつた。これらのうちで症例番号18の前立腺肥大症例は尿閉のため留置カテーテルが施してあり、又症例番号22の尿道狭窄兼膀胱炎の症例は外尿道切開術を行つて尿路感染が消失した時期では1058単位/8時間尿に低下した。症例番号19の慢性膀胱炎症例は膀胱鏡所見で膀胱腫瘍も疑われ、尿 LDH 活性値も2710単位/8時間尿と高値を示していたが、化学療法を行つて膀胱鏡的にも膀胱腫瘍でないことが確認された時期では尿 LDH 活性値は1293単位/8時間尿に低下した。

以上、正常人24例、腫瘍群20例及び非腫瘍群22例の尿 LDH 活性値の分布を第8図に示した。

3) 尿路悪性腫瘍術後(膀胱部分摘除術後)の経過と尿 LDH 活性値

第1例(移行上皮癌)では手術前の尿 LDH 活性値が13000単位/8時間尿と極めて高度の上昇を示したが、部分摘除術によつて腫瘍を摘出した後は4400、1529及び1110単位/8時間尿となり、諸検査でも再発の所見は全

第6表 非腫瘍患者の尿LDH活性値

No.	患者	疾患名	尿LDH活性値 (単位/8時間尿)
1	今 ○	慢性腎炎	842
2	豊 ○	"	746
3	坂 ○	"	1143
4	田 ○	急性腎炎	2290
5	小 ○	尿路結石症	1990
6	浅 ○	"	1661
7	星 ○	"	976
8	荒 ○	"	854
	同 上	術後感染併発	7971
9	高 ○	尿路結石症	1064
10	後 ○	"	1290
11	佐 ○	腎外傷 (治療後)	1651
12	佐 ○	腎出血 (血尿のない時)	1495
13	伊 ○	" (")	1170
14	相 ○	" (遊走腎による)	2041
15	上 ○	両側水腎症	808
16	本 ○	右水腎症	328
17	藤 ○	"	1245
18	水 ○	前立腺肥大症 留置カテーテル	2747
19	竹 ○	慢性膀胱炎	2710
	同 上	化学療法	2240
	同 上	化学療法	1293
20	大 ○	嚢胞腎	975
21	鎌 ○	腎杯憩室兼 尿路結石症	1249
22	登 ○	尿道狭窄兼 膀胱炎	7730
	同 上	外尿道切開術後	1058

くなかつた(第9図(A)).第2例(腺癌)では膀胱部分摘除術によつて腫瘍を摘除し退院時には尿 LDH 活性値が394単位/8時間尿と低値を示していたものが、術後約3ヵ月目には2260単位/8時間尿と高値を示し、その後続いて肉眼的血尿が現われ、尿 LDH 活性値も4900単位/8時間尿と上昇し、諸検査でも再発腫瘍が確認された。7ヵ月後の現在17900単位/8時間尿の高値を示している(第9図(B)).

C) 正常人及び各種疾患における尿 LDH Isozyme

尿 LDH Isozyme パターンは第10図AよりFまでに図示した。図示法は横軸にはでんぷんの各ブロック番号を陰極側から順にとり、縦軸にはその各々のブロックから

第8図 正常人、腫瘍群及び非腫瘍群の尿LDH活性値の分布

第9図 術後の経過と尿LDH活性値：(A)は治癒例，(B)は再発例

第10図 正常人及び各種尿路疾患におけるLDH Isozyme パターン

抽出された LDH 活性値を分光光度計の吸光度の読みで附してある。

1) 正常人尿 LDH Isozyme パターン

正常人2例の尿について測定したが、第10図A及びBに示す如く、原点(尿試料を加えた部位)より陽極側、すなわちブロック番号17乃至20の部での Isozyme が高いのが特徴的である。

2) 各種尿路疾患における尿 LDH Isozyme パターン

尿道狭窄兼膀胱炎1例及び膀胱癌3例の尿について測定したが、第10図C,D,E 及びFに示した如くであった。すなわち尿道狭窄膀胱炎例(尿 LDH 活性値7730単位/8時間尿)では原点より陰性側でブロック番号6乃至12の部の Isozyme が高くなっている。これに対し膀胱癌の3例ではいずれも原点より陽極側でブロック番号15乃至25の部の Isozyme が高くなっており、特にE(尿 LDH 活性値8940単位/8時間尿)及びF(尿 LDH 活性値8660単位/8時間尿)ではその増加が著明である。

V 総括及び考按

1) 正常人尿 LDH 活性値

我々が測定した正常健康成人の尿 LDH 活性値は最低 279 単位/8 時間尿, 最高 2000 単位/8 時間尿であつて, 平均値が 984 単位/8 時間尿で標準偏差は ± 436 単位/8 時間尿であつた. 正常人の上界として標準偏差の 2 倍をとると 1856 単位/8 時間尿となり, 大体 2000 単位/8 時間尿以上を異常値とみなすことが出来る. Dorfman et al. (1963)³⁷⁾によれば正常人 47 例の尿についての測定で平均値が 1304 単位/8 時間尿であり, 標準偏差は ± 374 単位/8 時間尿であつて上界は 2050 単位/8 時間尿であると述べている. 又 Ramkissoon et al. (1964)³⁹⁾が同様の方法を用いた結果でも正常人では 250 乃至 2025 単位/8 時間尿の間にあり我々の成績ともほぼ一致している. 我々の測定法は乳酸と DPNH 系の反応を応用して DPNH の増加を見たのであるが, これに対して Riggins & Kiser (1964)⁵²⁾は Wróblewski & LaDue (1955)²⁷⁾の方法, すなわち焦性ブドウ酸と DPNH 系の反応を応用して DPNH の減少率から測定したが, Dorfman et al. の方法によつて測定した場合よりも 2 乃至 4 倍の高値を得ている. この事に関しては Wacker et al. (1964)³⁸⁾も指摘している如く, 尿 LDH 活性値の測定には種々の因子が影響するので同一方法によつた値でないと比較検討するのが不可能であつて, この点は更に検討すべきものと考え.

2) 尿 LDH 活性値の測定に影響を与える種々の因子について

尿 LDH 活性値の測定には種々の因子が影響を与える. 第 1 に非透析尿中に存在する尿 LDH 活性の抑制物質について, Dorfman et al. (1963)³⁷⁾は同一人の同一尿試料で非透析および透析尿の各々について同一条件で尿 LDH 活性値を測定し, 非透析尿中には本活性を抑制する物質があることを推定し, 更にこの物質は尿を透析することにより除かれると述べている. 我々の測定成績でもやはり同様であつて, 透析尿では測定のさい分光光度計での吸光度と時間との割合がほぼ比例しているのに対し, 非透析尿ではこの割合が比例せず, 吸光度の増加の割合が次第に小さくなつており非透析尿で, 尿 LDH 活性値を測定した場合には実際より低値を示すことになる. 従つて本活性値を測定する場合は必ず透析操作を行うべきであることを指摘している Dorfman et al. の報告と一致するものである. 第 2 に尿路腫瘍等の患者の尿でしばしば見られる尿中赤血球の尿 LDH 活性値に与え

る影響については, Crockson (1961)³⁴⁾によれば血尿の程度と尿 LDH 活性値とは関係がないとされている.

しかし Riggins & Kiser⁵²⁾によると, 尿中に存在する赤血球そのものは LDH 活性値に影響を与えないが, 溶血を起こすと LDH 活性値が上昇することを報告し, Dorfman et al.³⁷⁾も溶血により尿 LDH 活性値は上昇するが, 溶血が肉眼的に認められない程度の場合は本活性に何ら影響を与えないと述べている. 我々の測定成績から見ても, 尿中赤血球の存在は確かに尿 LDH 活性値の上昇を惹起するが, 顕微鏡的血尿の程度であれば, 尿 LDH 活性値を有意に上昇せしめることはないことが判明した. 第 3 に尿路感染症患者等てしばしばみられる尿中白血球の尿 LDH 活性値に与える影響について, Brenner & Gilbert (1963)³⁶⁾は非遠心膿尿で尿 LDH 活性値を測定し, 膿尿の程度と本活性値とは有意な関係があるとしており, Riggins & Kiser も白血球混入程度と尿 LDH 活性値とは大体比例的関係があり, 尿中白血球数が 70 個/mm³ 以上では本活性値は正常より高値を示すと報告している. 我々の成績でも尿路感染が発生して白血球が尿中に増加すると尿 LDH 活性値も上昇し, 治療により減少すると本活性値も正常に復しているのて, 一見尿中白血球は尿 LDH 活性値に影響を与えるように思われる. しかしながらこの場合は尿中に細菌が存在した場合もあり, このような場合には, Brenner & Gilbert, Dorfman et al. 及び Riggins & Kiser 等が指摘している如く, 菌種, その混入程度及び発育状態によつては尿 LDH 活性値の上昇が起る. 更に我々が対象とした症例では腎感染症 (例えば腎盂腎炎等) が合併している可能性もあるので, もしこのようなことがあれば後述する如く本活性値の上昇が起りうるわけである. このように尿路感染が起れば尿 LDH 活性値は上昇するが, 白血球そのものが本活性値に与える影響を把握するのは今回の研究では不可能であつた. 我々はこれらの点を更に検討中である. 第 4 に泌尿器科的操作の尿 LDH 活性値に与える影響について, Dorfman et al.³⁷⁾は膀胱鏡検査や逆行性腎盂撮影は本活性値を上昇せしめるが, 器具の除去後は前値に復すると述べている. 我々は今回膀胱鏡検査の前後で尿 LDH 活性値の消長を調べたが, 膀胱鏡検査によつても本活性値が余り変化のないものがあるが, 中には 2000 単位/8 時間尿以上の上昇を示すものがあり, 確かに泌尿器科的器械操作は尿 LDH 活性値を上昇せしめる場合がある. しかしこの上昇は一過性であつて施行後 4 日では既に正常値に復している. 従つて補助的診断の目的で尿 LDH 活性値を測定する場合は, 少なくとも 4 日

間位は尿路に器械的操作を行わない方がよい。第5に LDH 尿活性値と血清 LDH 活性値との関係について、Crockson³⁴⁾, Riggins & Kiser⁵²⁾ 及び Dorfmann et al.³⁷⁾ 等によると、尿 LDH 活性値の上昇は必ずしも血清 LDH 活性値の上昇を伴わず、両者の間には関連々係がないとされている。我々の成績でも血清 LDH 活性値が著明に上昇している例で尿 LDH 活性値が正常の場合が多く、又逆に尿 LDH 活性が上昇している例で血清 LDH 活性値が上昇している例はなく、血清 LDH 活性値と尿 LDH 活性値との間には関連々係はなかった。この事に関して Rosalki & Wilkinson(1959)³³⁾ は LDH は腎細胞の障害により血中及び尿中に多量に放出されるが、破壊された糸球体から漏出するものではないことを指摘しており、又 Crockson³⁴⁾ は LDH クリアランスと Albumin クリアランスを比較し、両者の間には有意の相関があり、LDH の腎における態度は他の蛋白質と同様であり、従って血清 LDH 活性値と尿 LDH 活性値とは同一の観点から解釈することが不可能であることを指摘している。

3) 各種尿路疾患における尿 LDH 活性値

尿路疾患で尿 LDH 活性の上昇していることを指摘し、本活性値測定の臨床的意義を始めて示唆したのは Rosalki & Wilkinson³³⁾ であるが、これを系統的に臨床例について研究し、その意義について検討したのは Dorfman 一派である。Wacker & Dorfman (1962)³⁵⁾ は 200例に及ぶ臨床例に関しての研究成績から、腎及び膀胱腫瘍では95%に尿 LDH 活性値の上昇があり、その他の非腫瘍性の腫瘍では殆んどが正常値を示し、患者が無症状であつても本活性値が上昇している時は悪性疾患の潜在していることを示し、腎及び膀胱腫瘍での本活性値の測定は Screening test として役立つものであるが、この上昇は腫瘍の局在、細胞の悪性度及び浸潤等には関係がないと述べ、更に他の腎実質疾患例えば急性糸球体腎炎、急性尿管管壊死、壊死を伴う腎血管疾患及び腎盂腎炎等でも本活性値は上昇するが、この上昇は血清残余窒素の上昇や尿蛋白の程度とは無関係であると述べている。又1964年の報告³⁶⁾によれば本活性値の測定は一般腎疾患の補助的診断及び予後の判定に役立つが、特に腎疾患を伴った動脈性高血圧症を他の高血圧症から鑑別するのに有用であることを指摘している。このように Dorfman 一派の研究結果から見ると、尿路疾患特に尿路悪性腫瘍の補助的診断法として尿 LDH 活性値の測定は重要な意義があることが示されている。しかしながらこの

Dorfman 一派の見解に対して Riggins & Kiser⁵²⁾ は尿路悪性腫瘍は本活性値の上昇を来すが、中には正常の場合もあり、又尿路の非腫瘍性の疾患でも可成りの頻度で本活性値の上昇が見られ、更に尿中への赤血球及び白血球の混入による影響が大きいため、尿 LDH 活性値を尿路悪性腫瘍の患者の Screening test として用いることは意義がないと反論している。Ramkissoon et al. (1964)も確かに尿路悪性腫瘍では尿 LDH 活性値が高くなる頻度は大きい、Screening test として応用するのは可成りの制限があることを指摘している。我々の研究成績を見ると、腫瘍群では70%に尿 LDH 活性値の上昇があり、非腫瘍群では22.7%が上昇しているに過ぎず、明らかに腫瘍群で陽性率が高かつた。更に内容について検討すると、腫瘍群で上昇を示さなかつたものは膀胱の良性腫瘍、前立腺癌、腎腫瘍の1例及び睪丸セミノームであつて、膀胱癌及びその他の腎腫瘍の3例では全例が上昇していた。前立腺癌やセミノーム等の尿路に直接関係のない臓器の腫瘍を除外して考えると、尿 LDH 活性値の上昇例は17例中14例(82.4%)である。この場合血尿及び膿尿が測定に影響を与えるようなものは除外されているので、尿 LDH 活性値の上昇はこれらの因子を考慮する必要がない。従つてこの結果から判断して尿路の腫瘍と他の非腫瘍性疾患との鑑別には尿 LDH 活性値の測定は絶対的意義がないにしても可成り有用であり、特に尿路の良性腫瘍と腎臓及び膀胱の悪性腫瘍との鑑別に役立つものと考えられる Warburg (1913)⁵³⁾ 及び Warburg & Christian (1943)⁵⁴⁾ によると腫瘍細胞はエネルギーとしては嫌気性の Glycolysis に依存しており、一般に癌患者で血清中の種々の酵素が上昇することに関しては、腫瘍により組織が崩壊して酵素が逸脱するという説と、腫瘍が酵素を活発に生合成しているという説が有力である⁵⁵⁾。この観点からすれば、尿路悪性腫瘍においても当然尿 LDH 活性値の上昇が期待されるものである。今回我々が対象とした症例には所謂潜在性又は早期の腎腫瘍の症例がなかつたが、既に Wacker & Dorfman³⁵⁾ が述べている如くこの種の腎腫瘍で尿 LDH 活性値の上昇が診断上重要な手掛りを与えるものとするれば、その臨床的価値は極めて大きいと考えられるので、我々は今後特にこの点について検討する予定である。

非腫瘍性尿路疾患での尿 LDH 活性値の上昇は、急性腎炎やその他尿路結石症、前立腺肥大症及び尿道狭窄兼膀胱炎等で腎実質障害のあるものや尿路感染の高度のものに見られている。Wacker et al.³⁶⁾によれば、慢性腎

盂腎炎では細菌尿の程度、化学療法の有無及び血清残余窒素値の上昇程度に関係なく症例の80%に尿 LDH 活性値の上昇があり、慢性腎盂腎炎の疑いのある患者の発見に役立ち、又その予後を判定する手掛りとなることが指摘されており、更に糸球体腎炎等でも本活性値は上昇するが、治療により回復すると正常化すると述べている。我々の非腫瘍群における成績から見ても少数例ではあるが、腎炎等の腎実質障害や尿路感染がない限りは尿 LDH 活性値は正常であり、尿路感染の程度と腎実質の障害程度を判定する一応の基準になるのではないかと考えられる。これら良性疾患の中で尿 LDH 活性値の上昇が起る場合、いかなる機序によるものかは判然としないが、Rosalki & Wilkinson が述べている如く、腎実質細胞の破壊の程度や又 Wacker & Dorfman 及び Riggins & Kiser が述べている如く、白血球、菌種及びその発育段階によるものかも知れない。

次に尿路悪性腫瘍の術後の経過と尿 LDH 活性値との関係であるが、尿路の悪性腫瘍によって何らかの形で尿中への LDH の放出があるとすれば、腫瘍を尿路から完全に除去すれば尿 LDH 活性値は正常に戻り、再発があれば再び上昇して来ることが推定される。我々は膀胱癌で膀胱部分摘除術後の尿 LDH 活性値の消長を見たが、術前高値を示していたのが手術により正常となり、再発のあった場合は正常化していた尿 LDH 活性値が再び上昇している。この事実は臨床的にも興味のある点で、術後の腫瘍の残存及び再発を早期に予測する手段となりうることを示している。

4) 各種尿路疾患における尿 LDH Isozyme

“Isozyme” (異性酵素⁵⁵⁾又は同位酵素⁵⁶⁾という概念は1959年 Markert & Möller⁴⁰⁾により提唱されたものであるが、その後多くの研究者の賛同を得て臨床分野に登場して来た新しい酵素化学の領域である。現在多くの酵素についてその Isozyme の存在が明らかにされているが⁵⁷⁾、この分離方法は電気泳動法、クロマトグラフィー、免疫学的方法、物理化学的方法及び酵素学的方法等がその主なものである^{38), 59)}。LDH に関しては既に1957年 Vesel & Bearn⁴⁴⁾が血清で Zone electrophoresis により3つの分畫に分け、心筋梗塞で特徴的パターンがあることを指摘しており、この方面で最も早く臨床的応用がなされた酵素である。その後の研究で血清 LDH は5つのIsozymeに分けられ、易動度の小さいものから順にそれぞれ LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ 及び LDH₅ などと呼ばれ、又血清蛋白分畫と対比した呼稱も用いら

れている^{23), 34), 60)}。人体に關しての研究対象としては血液のみとは限らず、各組織でもそれぞれ研究され、正常人組織で LDH Isozyme のパターンが異なることや人類の発育段階によつてもそのパターンに差があることが示され、更に臨床的応用として、生検材料や浸出液なども対象とされるようになった^{20), 40), 41), 42), 49), 61), 62), 63)}。

尿尿についての LDH Isozyme に関しては未だ余り研究が行われておらず、どのようなパターンが得られるものなのか判然としないが、Riggins & Kiser (1964)^{52), 64)}によれば正常人尿 LDH Isozyme パターンでは、 α_1 及び α_2 グロブリン分畫に相当する部分に多くの Isozyme があるといわれている。又尿 LDH 活性値が上昇している例では γ グロブリン分畫に相当する部分の Isozyme が増加する傾向にあるが、良性尿路疾患と悪性尿路疾患の間で特徴的差はなく、特に診断的意義はないと述べている。我々の研究成績は未だ例数が少いので推測的段階ではあるが、Zone electrophoresis による正常人尿 LDH Isozyme の分析では、原点より陽極側(血清蛋白分畫では主としてアルブミン、 α 及び β_1 グロブリン分畫に相当)に多くの Isozyme があり、尿 LDH 活性値の上昇している膀胱癌症例の尿では陽極側の Isozyme の量が著明に増加し、尿路感染症例の尿では陰極側(血清蛋白分畫では β_2 及び γ グロブリン分畫に相当)に多量の Isozyme を有していた。このように今回我々が対象とした症例では、正常人、尿路感染患者及び尿路悪性腫瘍患者の尿 LDH Isozyme パターンは異つていた。血清 LDH Isozyme について肝炎や心筋疾患で特徴的 LDH Isozyme が得られるように^{23), 41), 42), 44), 47)}、尿路疾患においても腫瘍性及び非腫瘍性疾患で特徴的パターンがあり、又腫瘍の中でも発生部位や腫瘍の性質によつて尿 LDH Isozyme パターンに差があるとするれば、臨床的意義は大きいので、この点についても今後更に症例を重ねて検討する予定である。

VI 結 論

正常人及び各種尿路疾患で尿 LDH 活性値の測定を行い、そのうち1部については血清 LDH 活性並びに尿 LDH Isozyme の測定をも行なつた。更に尿 LDH 活性値に影響を与える種々の因子の検討を行つて次の如き結論を得た。

(1) 正常人尿 LDH 活性値は Dorfman et al. の方法で 279乃至2000単位/8時間尿であり、平均値は 984 単位/8時間尿、正常値の上昇は2000単位/8時間尿であつた。

(2) 非透析尿中には尿 LDH 活性の抑制物質の存在が推定され、これは透析操作により除かれた。

(3) 赤血球の尿中への混入は尿 LDH 活性値を上昇せしめるが、顕微鏡的血尿の程度であれば、有意な影響はなかった。

(4) 高度の感染尿では尿 LDH 活性値は上昇した。

(5) 泌尿器科的器械操作は尿 LDH 活性値を上昇せしめるが、少くとも 4 日以内にはその影響は消失した。

(6) 尿 LDH 活性値と血清 LDH 活性値の間には相関々係はなかった。

(7) 尿路の腫瘍性疾患特に腎及び膀胱腫瘍では高率 (82.4%) に尿 LDH 活性値が上昇していた。従つて補助的診断として有用と考えられた。

(8) しかし尿路の非腫瘍性疾患でも、尿 LDH 活性値の上昇する場合 (22.7%) があつた。

(9) 尿 LDH 活性値は尿路腫瘍の術後経過を可成りよく反映し、再発を予知する手段となりうる。

(10) Zone electrophoresis による正常人尿 LDH Isozyme の分析では、陽極側に多くの Isozyme があり、正常人、尿路感染症及び尿路悪性腫瘍の尿 LDH Isozyme パターンには差があるものの如くてあつた。従つて Isozyme の分析は診断上の意義を更に大ならしめると考えられる

稿を終るに当り、終始御指導、御校閲を賜つた恩師佐藤昭太郎教授に深甚なる謝意を表します。又各種測定にさいして御指導、御協力下された新潟県立癌センター新潟病院中央検査部生化学教室長川井和夫博士並びに渡辺泰男技師に深謝致します。

本論文の要旨は第52回日本泌尿器科学会総会で発表した。

参考文献

- 1) 須田正己, 中川央子: 最新医学, 15, 3083, 1960.
- 2) 黒田恭一: 内科, 11, 275, 1963.
- 3) 東国雄: 日泌尿会誌, 49, 50, 1958.
- 4) 園田孝夫: 日泌尿会誌, 50, 163, 1959.
- 5) 今村一男: 日泌尿会誌, 53, 613, 1962.
- 6) 米瀬泰行: 日泌尿会誌, 54, 211, 1963.
- 7) 白井茂樹: 日泌尿会誌, 50, 826, 1959.
- 8) 糸井壮三: 日泌尿会誌, 50, 597, 1959.
- 9) 落合京一郎: 臨床酵素学, 朝倉書店, 東京, 1964, pp. 247.
- 10) 杉浦式: 日泌尿会誌, 54, 263, 1963.
- 11) Butt, A.J., Hauser, E.A. & Seifter, J.: J.A.M.A., 150, 1096, 1952.
- 12) 黒田恭一: 最新医学, 16, 17, 1960.
- 13) 斎藤正行: 内科, 8, 804, 1961.
- 14) Wróblewski, F.: Am. Heart J., 54, 219, 1957.
- 15) Horrocks, J.E., King, J., Waind, A.P.B. & Ward, J.: J. Clin. Path., 15, 57, 1962.
- 16) Wróblewski, F.: Am. J. Med. Sci., 234, 301, 1957.
- 17) Englhardt-Gökel, A., Erick, E., Schrader, A. & Stuhlfauth, K.: Klin. Wschr., 36, 580, 1958.
- 18) Wróblewski, F., Decker, B. & Wróblewski, R.: Am. J. Clin. Path., 28, 269, 1957.
- 19) Smyrniotis, F., Schenker, S., O'Donnell, J. & Schiff, L.: Am. J. Digest. Dis., 7, 712, 1962.
- 20) Richterich, R., Zuppinger, K. & Rossi, E.: Nature., 191, 507, 1961.
- 21) Hill, B.R. & Levi, C.: Cancer Res., 14, 513, 1954.
- 22) Erickson, R.J. & Morales, D.R.: New Engl. J. Med., 265, 531, 1961.
- 23) Zuppinger, K., Richterich, R. & Rossi, E.: Schweiz. Med. Wschr., 92, 169, 1962.
- 24) 浅野健夫, 新谷善治, 松浦孝典: 日内誌, 51, 100, 1962.
- 25) Erickson, R.J. & Morales, D.R.: New Engl. J. Med., 265, 478, 1961.
- 26) 浅野健夫: 臨牀病理, 11, 333, 1963.
- 27) Wróblewski, F. & LaDue, J.S.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 90, 210, 1955.
- 28) White, L.P.: New Engl. J. Med., 255, 984, 1956.
- 29) Wacker, W.E.C., Ulmer, D.D. & Vallee, B.L.: New Engl. J. Med., 255, 449, 1956.
- 30) Horn, H.D. & Amelung, D.: Dtsch. Med. Wschr., 82, 619, 1957.
- 31) West, M. & Zimmerman, H.J.: J. Lab. & Clin. Med., 52, 185, 1958.
- 32) Wróblewski, F.: Ann. Int. Med., 50, 62, 1959.
- 33) Rosalki, S.B. & Wilkinson, J.H.: Lancet., 1, 327, 1959.
- 34) Crockson, R.A.: Lancet., 1, 140, 1960.
- 35) Wacker, W.E.C. & Dorfman, L.E.: J.A.M.A., 181, 972, 1962.
- 36) Brenner, B.M. & Gilbert, V.E.: Am. J. Med. Sci., 245, 31, 1963.
- 37) Dorfman, L.E., Amador, E. & Wacker, W.E.C.: J.A.M.A., 184, 1, 1963.
- 38) Wacker, W.E.C., Dorfman, L.E. & Amador, E.: J.A.M.A., 188, 671, 1964.

- 39) Ramkinsoon, R.A., Chamberlain, N.O., Baker, E.L. & Jennings, E.R.: J. Urol., 91, 603, 1964.
- 40) Markert, C.L. & Møller, F.: Proc. Nat. Acad. Sci., 45, 753, 1959.
- 41) Vesell, E.S.: Ann. N.Y. Acad. Sci., 94, 877, 1961.
- 42) Wróblewski, F., Ross, C. & Gregory, K.: New Engl. J. Med., 263, 531, 1960.
- 43) 北村元仕, 和島 毅: アインザイム, medical culture library, No. 1, 1963, pp. 26.
- 44) Vesell, E.S. & Bearn, A.G.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 94, 96, 1957.
- 45) 和田 恵: 総合医学, 20, 337, 1963.
- 46) 宮本忍, 大畑正昭, 佐々木昌, 阿部貞義: 日本臨牀, 22, 794, 1964.
- 47) Yakulis, V.J., Gibson, C.W. & Heller, P.: Am. J. Clin. Path., 38, 378, 1962.
- 48) Denis, L.J. & Prout, G.R.: Invest. Urol., 1, 102, 1963.
- 49) Wieme, R.J. & Herpol, J.E.: Nature., 194, 287, 1962.
- 50) 伊藤 齊: 電気泳動実験法, 文光堂, 東京, 1964, pp. 116.
- 51) 大森昭三, 原義雄, 大沢源吾, 小越和栄, 唐沢吉三郎: ガン新病誌, 2, 159, 1962.
- 52) Riggins, R.S. & Kiser, W.S.: J. Urol., 90, 594, 1963.
- 53) Warburg, O.: Pflüger's Arch. Ges. Physiol., 154, 599, 1913.
- 54) Warburg, O. & Christian, W.: Biochim. Z., 314, 399, 1943.
- 55) 斎藤正行, 大橋望彦: 総合臨牀, 13, 773, 1964.
- 56) 服部信: 医学のあゆみ, 41, 144, 1962.
- 57) 弓狩康三, 須田正己: アインザイム, medical culture library, No. 1, 1963, pp. 26.
- 58) 青木隆一: 最新医学, 19, 428, 1964.
- 59) 山村雄一, 青木隆一: 日本臨牀, 22, 751, 1964.
- 60) 伊藤文雄, 青木隆一, 林 昭, 大河内寿一, 高橋洋一: 最新医学, 18, 2112, 1963.
- 61) 伊藤憲一, 三浦克朗, 水口千里: 日本臨牀, 22, 777, 1964.
- 62) 荻田善一: 日本臨牀, 22, 732, 1964.
- 63) Weber, G. & Pfeleiderer, G.: Ann. N.Y. Acad. Sci., 94, 933, 1961.
- 64) Riggins, R.S. & Kiser, W.S.: Invest. Urol., 2, 30, 1964.
- 65) 服部 信, 多賀須幸男: 内科, 11, 218, 1963.
- 66) 三浦義彰, 手塚統夫, 百瀬健康: 最新医学, 15, 3110, 1960.
- 67) 須田正己: 日本臨牀, 22, 728, 1964.
- 68) 北村元仕: 臨床酵素学, 朝倉書店, 東京, 1964, pp. 24.
- 69) 平木潔, 浅野健夫: 臨床酵素学, 朝倉書店, 東京, 1964, pp. 461.
- 70) 北村元仕: 総合医学, 20, 330, 1963.
- 71) 服部信: 総合臨牀, 13, 798, 1964.
- 72) 織田敏次, 石井兼次, 鈴木宏, 小出輝: 内科, 8, 848, 1961.
- 73) Wróblewski, F. & Gregory, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci., 94, 912, 1961.
- 74) 杉村隆: 総合医学, 12, 972, 1955.
- 75) 柴田進: 総合医学, 12, 986, 1955.
- 76) Hill, B.R.: Cancer Res., 16, 460, 1956.
- 77) Zimmerman, H.J. & Weinstein, H.G.: J. Lib. & Clin. Med., 48, 607, 1956.
- 78) 服部信: 日本臨牀, 22, 770, 1960.

(昭和39年10月1日受付, 特別掲載)