膀胱癌のアルドラーゼ活性並びに アイソザイムパターンに関する研究

岡山大学医学部泌尿器科学教室 田中嶺太郎*
(主任: 新島端夫教授)

A STUDY ON ALDOLASE ACTIVITY AND ISOZYME PATTERN OF THE BLADDER TUMOR

Reitaro Tanaka

Department of Urology, University of Okayama, School of Medicine, Okayama
(Director: Prof. T. Nijima)

Aldolase activities and isozyme patterns of mucous membrane and tumor tissue of the bladder were studied in order to investigate their enzymochemical characteristics and forecast recurrence of the tumors.

Results were as follows:

- 1) The average fructose-1,6-diphosphate (FDP) activity of normal mucous membrane of the bladder was 7.6 ± 1.3 U/g protein and the value of the tumor tissues was 43.7 ± 5.8 U/g protein. Then FDP activity of the latter is 5.8 folds higher than the former.
- 2) The average fructose-1-phosphate (F1P) activity of bladder tumors was 4.2 ± 0.8 U/g protein, while no F1P activities was assayed in normal mucous membrane of the bladder.
- 3) The average ratio of FDP/F1P was 16.3 ± 2.0 in bladder tumors.
- 4) The FDP activities were higher in large sized tumors than in medium sized tumors.
- 5) No relationship was found between FDP activities and number, grade or stage of bladder tumors.
- 6) There was an increasing tendency of aldolase C fraction in large sized tumors but not in medium sized tumors.
- 7) No relationship was found between aldolase isozyme patterns and number, grade or stage of bladder tumors.
- 8) There was an increasing tendency of aldolase C fraction in bladder tumors of high FDP activities compared with those of low FDP activities.
- 9) No relationship was found in bladder tumors between F1P activities or FDP/F1P activity ratios and isozyme patterns.
- 10) No relationship was found between recurrences of bladder tumor after the operation and the FDP activities or the aldolase isozyme patterns of the tumor.
- 11) The aldolase A and A₃C hybrid were found in many bladder tumors, while the aldolase A and A₃B hybrid were found in normal mucous membranes. It was suggested that a disordered pattern on gene expression occurred during carcinogenesis of the bladder.

緒 言

膀胱腫瘍は尿路性器悪性腫瘍のうちで最も頻度が高く、泌尿器科教室の外来患者数に対する割合をみるに、酒井¹⁾ (1941) は0.65%, 浅井²⁾ (1959) は0.91%, 黒沢等³⁾ (1972) は2.1%と発表機関が異なるとはいえ年

代の推移と共に増加する傾向が見られる。岡山大学泌尿器科において、1968年より1972年に至る最近5年間の外来患者数に対する割合は2.8%となっており、他機関に比して高率である。また、1951年より1960年までの10年間の膀胱腫瘍患者実数が250例であるのに対し、1961年より1970年の10年間では372例と1.5倍の増加となつてゐる。外国でもわが国同様発生頻度の上昇を認めること

* 大学院学生

は吉田⁴⁾ (1973) も指摘しているところである。本症はまた、死亡率も比較的高く、瀬木等⁵⁾ (1965) によれば米国、スコットランド、デンマークでは人口10万に対し4以上であり、Maltry⁶⁾ (1968) は本症が全米の悪性腫瘍患者死亡の約4%を占めていると報告している。

さらに本症では職業性膀胱癌の問題、化学的発癌物質の関与、また、保存的手術後の異所性再発の問題等、種々の特色をそなえた腫瘍として、最近とみに注目を集めつつある。

この膀胱腫瘍においても、治療対策としては他の悪性腫瘍と同様早期発見、早期根治的除去が望ましいが、初め期待された根治的膀胱全摘除術は、それに伴う尿路変更術の問題も含めて現在なお満足すべき治療法とはいえず、当面の処、保存的手術の適用、確実な follow up と再発予防といった治療の適応例を増加せしめることが、本症の総体的な遠隔成績の向上に直接的につながるものと思われる。

従つて、再発も含め、膀胱腫瘍では、その早期発見の問題が一段と重要性を加えることによる。

膀胱腫瘍の診断は通常、膀胱鏡検査によつてなされているが、初期のごく小さい腫瘍或は病変の段階では慢性の炎症性変化と鑑別困難なこともあり、他方 Carcinoma in situ として経過するものや、とくに異所性再発の早期の変化などを内視鏡的にとらえることは一層困難である。そこで最近尿中細胞診⁷⁾⁸⁾、蛍光膀胱鏡⁹⁾¹⁰⁾などにより診断率の向上が計られているが、満足すべき成果は得られていない。

一方、最近、肝癌などにおいて、腫瘍細胞の酵素化学的性質の追求が行われるようになり、その正常発生母地組織の示す化学的性質と異ることが解明された。即ち、腫瘍化に伴う変化が認められ、癌化ないし発癌に関連してその意義が注目されている。

その1つが Aldolase (以下 ALD と略記) に関する研究である。

ALD は Meyerhof と Lohmann¹¹⁾ (1934) が筋肉と酵母の抽出液より分離した酵素で、図1¹²⁾に示すごとく、Fructose-1, 6-diphosphate (以下 FDP と略記) を可逆的に di-OH-Acetone-P と D-Glyceraldehyde-3-P に開裂すると共に、Fructose-1-Phosphate (以下 F1P と略記) を di-OH-Acetone-P と D-Glyceraldehyde に開裂する酵素である (図1)。

ALD は広く生物界に分布する酵素であるが、このうち哺乳動物、原生動物に存在するものを Class I ALD

Fig. 1. Metabolic utilization of fructose

Table 1. Catalytic and molecular properties of prototype FDP aldolases

	Class I	Class II	
	Rabbit muscle	S. cerevisiae	C. perfringens
Inhibition by chelating agents	0	100%	100%
Bound metal	None	Zn*	Co* or Fe**
K ⁺ activation(fold)	0	35	4.7
SH requirements	0	+	+
pH optimum			
a FDP cleavage	6.9—8.8	6.9—7.1	7.5—7.8
b H exchange DHAP	6.9—8.8	5.9—6.1	6.1—6.2
FDP/F1P specificity	60	2,500	2,000
Km(FDP)molar	1.5×10 ⁻⁵	3.7×10 ⁻⁴	3×10 ⁻⁴
Vmax moles FDP cleaved/min per mole enzyme	3,100	6,900	5,000
Molecular weight	146,000	70,000	
S20,w	7.9s	5.4s	5.6s

*Must be added to the assay medium for optimum enzymatic activity.

と呼び、酵母、細菌に存在するものを Class II ALD と呼んだ。これ等2種類の ALD については、表1に示すごとく、その差異が明らかにされてきている (表1)。

哺乳動物には FDP を基質とする活性 (FDP 活性) と F1P を基質とする活性 (F1P 活性) とがあり、両者

Table 2. Properties of (Class I) homologous FDP aldolase variants (Rabbit)

	A Muscle	B Liver	C Brain
Molecular weight	150,000 — 160,000	153,000	157,000
“Schiff-base intermediate” (lysine residue)	+	+	+
Immunological reaction with anti-A	+	—	—
Immunological reaction with anti-B	—	+	—
Residual FDP activity after carboxypeptidase (%)	5	50	20
FDP/F1P activity ratio	50	1	10
Vmax (FDP cleavage)*	5,300	250	~ 1,000
Vmax (FDP synthesis)*	10,000	2,600	
Km (M)	FDP	6×10^{-5}	2×10^{-6}
	F-1-P	1×10^{-2}	9×10^{-4}
	DHAP	2×10^{-3}	4×10^{-4}
	GA-3-P	1×10^{-3}	3×10^{-4}

*Moles substrate cleaved (or synthesized)/min/mole protein

の活性化 (FDP/F1P 活性比) が50を示すA型 (筋型) ALD, 1を示すB型 (肝型) ALD, 約10を示すC型 (脳型) ALD が存在し, これ等3種類の ALD アイソザイムの性質は表2¹⁴⁾に示されるごとくである (表2)。

Lebherz 等¹⁵⁾ (1969), 鮫島等¹⁶⁾ (1972) は人の諸臓器の ALD アイソザイムパターンについての研究を行い, 筋肉, 脾臓ではA型バンド, 心臓ではA型バンドとA-C ハイブリッド, 肝臓ではB型バンドとA型バンド, 腎臓ではA型バンドとA-B ハイブリッド, 脳ではA型バンドとC型バンドさらにA-C ハイブリッドが出現すると報告している。

これ等諸臓器におけるアイソザイムパターンは癌化により変化する。すなわち杉村等¹⁷⁾ (1966) はラット肝癌

Fig. 2. Schematic expression of switch-on and switch-off mechanism during carcinogenesis

における ALD について検索し, Ascites hepatoma では FDP/F1P 活性比が40~60に上昇したため, 正常肝に認めるB型が消失し, かわりにA型が出現するものと推測し, これは図2に示すごとく癌化過程においてB型ALDの遺伝子がswitch offされ, A型ALDの遺伝子がswitch onされたためであると説明し, 発癌解明の手だてとしている (図2)。

著者はこのALDの膀胱腫瘍におけるアイソザイムパターンが正常膀胱粘膜のそれと異なるか否か, もし異なれば, その変化が癌化の結果としてもたらされたものか, subclinical な前癌状態において既に発生する変化であるか否かを追求し, 発癌の早期診断に結びつく基礎的研究となすことを企図した。即ちまずヒト膀胱の正常粘膜, 膀胱腫瘍組織, および腫瘍より充分離れた膀胱粘膜の3種につき, ALD活性並びにアイソザイムパターンを検索し, 比較検討したのであるが, ここに若干の興味ある新知見を得たので文献的考察を加えて報告する。

実験材料並びに実験方法

1) 実験材料

1969年より1973年の5年間における岡山大学泌尿器科とその関連病院に入院せる膀胱腫瘍患者の内, 膀胱全摘除術により得た腫瘍5例, 経尿道的手術で得た腫瘍21例の計26例を腫瘍材料とした。また膀胱腫瘍の腫瘍以外の粘膜としては全摘除術より3例, 部分切除術より3例の計6例を対象とした。即ち後者では, 手術時腫瘍から離れた肉眼的病的所見のない粘膜を採取して材料とした。また, 正常膀胱粘膜としては前立腺肥大症4例で恥骨上前立腺摘除術を行なつた際に採取したものを材料とした (表4, 表5, 表7)。

2) 実験方法

上記にて得た腫瘍並びに粘膜は直ちにアイスジャーの氷中に入れて実験室に運び, 腫瘍はできるだけ凝血ならびに壊死組織を除去したのち, 周囲粘膜を完全に取り去つた腫瘍のみの重量を測定記録する。ついでこれをビーカーに入れ, 乾燥を防ぐためセロファン紙にて密封して, デイプ・フリーザー (−80°C) に保存した。また粘膜については, 完全に筋層を除去したのち秤量, 記録後同様にデイプ・フリーザーに保存し, 両者とも出来るだけ早く実験に供した。

a) ALD 活性測定法

デイプ・フリーザー中にて凍結した材料の自然融解を待つ間に, ハサミで出来るだけ小さく刻み, 図3に示すごとく, 0.154M KCl および1mM EDTA を含む

Fig. 3. Method of assaying of aldolase activity

Material + 20mM Tris HCl buffer (pH 7.4)
containing 0.154M KCl and 1mM EDTA

(Modified method of Blostein and Rutter)

20mM Tris HCl buffer (pH 7.4) を加え, Virtis 45 で約 5 分間ホモゲナイズし, さらに 40 P 型日立分離超遠心器で 105,000×g にて 60 分間遠沈を行いその上澄につき Blostein and Rutter の変法¹⁸⁾¹⁹⁾により FDP 活性と F1P 活性を測定した。即ち, 試料 0.2ml に H₂O 0.6ml, Tris buffer (pH 7.4) 0.4ml, NADH₂ 0.2ml, 2-Glycerophosphate dehydrogenase と Triosephosphate isomerase の混合液 0.2ml を加えた後, FDP 0.4ml を加え, NADH₂ の酸化を EPS 3 型日立自記分光光度計にて波長 340mμ でよみ, FDP 活性を測定した。F1P 活性も同様の方法で測定した (図 3)。

なお試料の蛋白定量を Lowry 法²⁰⁾により行い, ALD 活性値は単位蛋白量当りの値として算出した (U/g protein)。

b) 材料の保存期間による ALD 活性の変動についての予備実験

採取した膀胱腫瘍および粘膜をディープ・フリーザーで -80°C に保存した場合の ALD 活性値の経日的変動をみるため次のごとき予備実験を行なった。すなわち膀胱腫瘍の 1 例で採取材料を 3 等分し, 手術当日と -80°C 保存 6 日後, および -80°C 保存 22 日後の 3 回に分けてそれぞれ ALD 活性を測定比較した。

その結果, 表 3 に示すごとく, FDP 活性は保存 6 日

Table 3. ALD activities of bladder tumors after storage at -80°C

Days	0	6	22
FDP*	23.9	22.9 (96%)	21.7 (91%)
F1P*	1.0	1.0 (100%)	1.0 (100%)

*U/g protein

後, 96%, 22 日後, 91% の活性が保たれていた。一方 F1P 活性は 6 日後, および 22 日後共に全く活性が低下していなかった (表 3)。

この結果より, 採取材料の ALD 活性は, 前記保存法で 1 週後に測定した場合でも, F1P 活性については支障なく, また FDP 活性もせいぜい 4% の低下に止り, 測定誤差範囲にあると考えられる。従つてすべて 1 週以内に測定された本研究の材料については, 測定値を補正することなく取扱うこととした。

c) ALD 電気泳動法並びに染色法

腫瘍および粘膜を処理して得られた上澄を, 10mM β-Mercaptoethanol を含む Veronal buffer (pH 8.6, I = 0.05) を使い, セルロースアセテート膜上で, 250V, 3 時間電気泳動を行なった後, Penhoet and Rutter の変法¹⁹⁾²¹⁾により ALD 活性の染色を行なった。即ち, 図 4 に示す①, ②, ③の混合液をガラス板に約 5mm の様な厚さにひいて, この上にさきに電気泳動を行なったセル

Fig. 4. Method of staining for aldolase activity

Mixed solution (①+②+③) was poured on glass strip

(Modified method of Penhoet and Rutter)

ローズアセテート膜を置き、37℃で約20分間 incubate することにより発色させた(図4)。

なお盲検として、電気泳動後、基質(FDP)を含まないものについても同様の方法で染色を行い、バンドを認めないことを必ず確認した。

d) ラット臓器の ALD アイソザイムパターンについて。

予備実験として文献上に確認されているラット筋肉、肝、脳の ALD 電気泳動を行なった。

図5は夫々の臓器に含まれる ALD アイソザイムパターンを写真にしたもので、図6はその模式図である。筋肉では原点よりやや陰極側に移動するA型バンドを示

Fig. 5. Aldolase isozyme patterns of rat organs on cellulose acetate membrane electrophoresis

Fig. 6. Schematic representation of aldolase isozyme patterns of rat organs

し、肝ではA型バンドよりさらに陰極側に移動するB型バンドが出現する。脳ではA型バンドと陽極側に移動するC型バンドとその中間に3本のハイブリッドが出現する。これらはA型バンドよりC型バンドへの順にそれぞれ A_3C , A_2C_2 , AC_3 と呼ばれている(図5, 図6)。

実験結果

1) ALD 活性

a) 膀胱粘膜の ALD 活性

i) 前立腺肥大症例における膀胱粘膜の ALD 活性

前立腺肥大症で手術時に採取した膀胱粘膜4例のALD活性を表4に示した。年齢は62才より64才までに分布し

Table 4. ALD activities of bladder mucosas of prostatic hypertrophy

No.	Pt.	Age	Sex	FDP*	FIP*
1	NK	62	M	11.2	0
2	MK	64	M	7.2	0
3	KA	62	M	6.3	0
4	OK	63	M	5.6	0

*U/g protein

ており、FDP 活性の最高値は11.2U/g protein、最低値は5.6U/g protein、平均値は7.6±1.3U/g proteinであった。FIP活性は全例において認められなかった(表4)。

ii) 膀胱腫瘍症例における膀胱粘膜の ALD 活性

膀胱腫瘍症例で全摘除術を行なった3例と、部分切除術を行なった3例において、肉眼的に病的変化のない膀胱粘膜のALD活性を表5に示した。55才より67才までの男3例、女3例であり、FDP活性値は4.8~16.5U/g proteinに分布し、平均値は11.5±1.4U/g proteinであ

Table 5. ALD activities of bladder mucosas of bladder tumor

No.	Pt.	Age	Sex	FDP*	FIP*
1	HY	62	F	9.6	0
2	CY	64	M	7.6	0
3	TK	67	M	15.1	0
4	TH	65	M	16.5	0
5	OC	55	F	15.4	0
6	NT	58	F	4.8	0

*U/g protein

Table 6. FDP activities of bladder mucosas

Diagnosis	No. cases	FDP (U/g protein)		
		maximum	minimum	average
Prostatic hypertrophy	4	11.2	5.6	7.6± 1.3
Bladder tumor	6	16.5	4.8	11.5± 1.4

つた。F1P 活性は全例において認められなかった (表 5)。

表 6 は前立腺肥大症と膀胱腫瘍症例の膀胱粘膜のFDP 活性値をそれぞれ集計したものである (表 6)。

b) 膀胱腫瘍組織の ALD 活性

膀胱腫瘍26例の ALD 活性を表 7 に示した。年齢分布は43才より75才におよび、男18例、女8例となっている。FDP 活性の最高値は97.8U/g protein、最低値は

5.0U/g protein、平均値は43.7± 5.8U/g protein であつた。F1P 活性はこのうち19例に測定可能であり、1.0~15.1U/g protein に分布し、平均値は 4.2± 0.8 U/g protein であつた。FDP/F1P 活性比はこれら19例で、2.2~35.5に分布し、平均値は16.3± 2.0であつた (表 7)。

c) 膀胱腫瘍における臨床所見と ALD 活性

i) 腫瘍の大きさと FDP 活性

教室の分類に従つて、大豆大までの腫瘍を小、小指頭大より拇指頭大までの腫瘍を中、それ以上の腫瘍を大とした。

腫瘍の大きさと FDP 活性については、表 8 のごとく集計してみると、大腫瘍群は15例あり、その FDP 活性の最高値は97.8U/g protein 最低値は7.3U/g protein、平均値は51.3± 7.4U/g protein であつた。一方中腫瘍群

Table 7. ALD activities of bladder tumors

No.	Pt.	Age	Sex	Size	Number	Grade	Stage	Recurrence	FDP*	F1P*	FDP/F1P
1	Y N	71	M	large	single			+	81.4	3.9	20.9
2	K M	66	M	medium	single	IV	B ₂	—	5.0	0	
3	N H	44	M	medium	single	II	A	+	6.8	0	
4	H Y**	62	F	large	single	III	B ₂		29.9	1.8	16.6
5	C Y	64	M	medium	multiple	III	B ₁	+	47.8	1.9	25.2
6	K K	64	M	large	single	III	B ₁		97.8	0	
7	S S	54	M	medium	single	II	B ₁		51.8	4.6	11.3
8	T K	67	M	large	single	III	B ₁	+	55.4	2.3	24.1
9	Y M	70	M	large	single	II		—	76.0	3.0	25.3
10	B S	72	M	medium	single	III	B ₁		16.9	3.3	5.1
11	K E	60	M	medium	multiple			—	89.0	5.5	16.2
12	H K	66	M	medium	multiple	III	A	—	32.4	1.9	17.1
13	K M	43	M	medium	multiple	II		—	12.0	0	
14	T H	65	M	medium	single	III	A	—	74.4	5.7	13.1
15	O C**	55	F	large	single	III	A		19.0	0	
16	R T	65	M	medium	multiple	IV	B ₂	+	17.1	0	
17	N T**	58	F	large	multiple	II	A		7.3	3.3	2.2
18	K Y	56	F	large	multiple	III		+	55.2	4.5	12.3
19	A T	68	M	medium	multiple	II		+	14.2	0	
20	M F**	49	F	large	single				24.4	1.0	24.4
21	N Y	75	F	large	single	II	A	+	23.9	1.0	23.9
22	M S	44	F	large	single	III	B ₁		81.7	2.3	35.5
23	N S	64	M	large	multiple				56.8	15.1	3.7
24	H A**	63	M	large	multiple	IV	C		86.9	6.5	13.4
25	I A	65	M	large	single	II	A	—	50.0	10.4	4.8
26	U O	62	F	large	single	III	B ₁	—	24.1	1.6	15.1

** Case of total cystectomy

* U/g protein

Table 8. Relationship between tumor size and FDP activity

Size	No. cases	FDP (U/g protein)		
		maximum	minimum	average
large	15	97.8	7.3	51.3 ± 7.4
medium	11	89.0	5.0	24.3 ± 9.1

は11例あり、5.0~89.0U/g protein に分布し、平均値は24.3± 9.1U/g protein であった(表8)。大豆大以下の腫瘍では測定材料が微量で純粋に腫瘍のみの FDP 活性を測定することが困難であるため、小腫瘍群では測定し得たものはなかった。

ii) 腫瘍の数と FDP 活性

原発腫瘍が単発性であるか、多発性であるかの違いと FDP 活性について同じく集計してみると、表9に示す

Table 9. Relationship between tumor number and FDP activity

Number	No. cases	FDP (U/g protein)		
		maximum	minimum	average
single	16	97.8	5.0	44.7 ± 7.5
multiple	10	89.0	7.3	41.9 ± 9.6

ごとく、単発性腫瘍16例の FDP 活性の最高値は97.8U/g protein、最低値は5.0U/g protein、平均値は44.7± 7.5U/g protein であった。また多発性腫瘍は10例あり、その FDP 活性は7.3~89.0U/g protein に分布し、平均値は41.9± 9.6U/g protein であった。

iii) 腫瘍の悪性度と FDP 活性

病理組織学的悪性度を Broders の分類²²⁾に従って I ~ IVに分け、これと FDP 活性の相関の有無について調べてみた。

悪性度の判明している22例について表10に示すごとく

Table 10. Relationship between grade and FDP activity

Grade	No. cases	FDP (U/g protein)		
		maximum	minimum	average
II	8	51.8	6.8	30.3± 9.1
III	11	97.8	6.9	48.6± 8.2
IV	3	86.9	5.0	36.3± 23.1

にまとめると、Grade I の症例なく、Grade II は8例で、その FDP 活性の最高値51.8U/g protein、最低値6.8U/g protein、平均値30.3± 9.1U/g protein であった。Grade III は11例で、その FDP 活性は16.9~97.8U/g protein に分布し、平均値48.6± 8.2U/g protein であった。さらに Grade IV は3例で、その FDP 活性は5.0~86.9U/g protein に分布し、平均値36.3± 23.1U/g protein であった(表10)。

iv) 腫瘍の浸潤度と FDP 活性

病理組織学的浸潤度を Jewett の分類²³⁾に従って決定し、これと FDP 活性との相関をみた。

浸潤度の判明している18例について、表11に示すごとく

Table 11. Relationship between stage and FDP activity

Stage	No. cases	FDP (U/g protein)		
		maximum	minimum	average
A	7	74.4	6.8	30.5± 9.2
B ₁	7	97.8	16.9	53.6± 10.9
B ₂	3	29.9	5.0	17.3± 7.2
C	1		86.9	

くまとめると、Stage A は7例あり、その FDP 活性の最高値は74.4U/g protein、最低値6.8U/g protein、平均値30.5± 9.2U/g protein であった。Stage B₁ は7例で、その FDP 活性は16.9± 97.8U/g protein に分し、平均値53.6± 10.9U/g protein であった。Stage B₂ は3例でその FDP 活性は5.0~29.9U/g protein に分布し、平均値は17.3± 7.2U/g protein であった。Stage C は1例のみでその FDP 活性は86.9U/g protein であった(表11)。

v) 腫瘍の再発の有無と FDP 活性

ALD 活性が測定された膀胱腫瘍症例において、活性測定後1973年末まで follow up されたものの経過期間は最長で4年6カ月、最短で6カ月である。その間に1度でも再発をきたしたものを再発有りとして、再発の有無と ALD 活性の相関を検討した。

表12はその16例における集計で、再発をきたさなかった8例の FDP 活性の最高値は89.0U/g protein、最低値は5.0U/g protein、平均値は45.4± 11.2U/g protein であり、再発をきたした8例の FDP 活性は6.4~81.4U/g protein に分布し、平均値は37.7± 9.2U/g protein であ

Table 12. Relationship between recurrence and FDP activity

Recurrence	No. cases	FDP (U/g protein)		
		maximum	minimum	average
—	8	89.0	5.0	45.4±11.2
+	8	81.4	6.4	37.7± 9.2

つた (表12).

小 括

前立腺肥大症の手術時に採取した正常膀胱粘膜4例の FDP 活性の平均値は 7.6 ± 1.3 U/g protein で、膀胱腫瘍症例の膀胱粘膜6例のそれは 11.5 ± 1.4 U/g protein と、前者に比し51.3%の高値を示したが、推計学的には両者の間に有意の差を認めなかつた ($0.9 > P > 0.8$).

膀胱腫瘍組織26例の FDP 活性の平均値は 43.7 ± 5.8 U/g protein と、正常膀胱粘膜の5.8倍の活性を示し、F検定、さらにt検定においても、有意の差で高値を示した ($0.05 > P > 0.02$).

F1P 活性は膀胱粘膜では全例に測定不能であつたが、膀胱腫瘍では26例中19例において活性を有し、その平均値は 4.2 ± 0.8 U/g protein であつた.

また FDP/F1P 活性比はこれ等膀胱腫瘍19例において、平均値は 16.3 ± 2.0 となつている.

腫瘍の大きさと FDP 活性についてみると、その平均値は大腫瘍群15例において 51.3 ± 7.4 U/g protein, 中腫瘍群では 24.3 ± 9.1 U/g protein であり、大腫瘍群では中腫瘍群より有意の差をもつて高値を示した ($0.05 > P > 0.02$).

原発腫瘍が単発性であるか、多発性であるかの違いと FDP 活性との間について検討したが、これでは全く有意の差を認めなかつた.

悪性度と FDP 活性については Grade IVは例数が少いため推計学的な検討から除外して、Grade IIと Grade IIIの FDP 活性のみにつき比較検討を行なつたところ、Grade IIIの FDP 活性は Grade IIに比し60%の高値を示したが、推計学的に有意となしえなかつた ($0.2 > P > 0.1$).

浸潤度と FDP 活性については Stage A と Stage B₁ 以上との FDP 活性の間には有意の差はなかつた. また、例数の少い Stage B₂ と Stage C を除外して、Stage A と Stage B₁ の FDP 活性のみにつき検討を行なつたところ、Stage B₁ の FDP 活性は Stage A に比

し、76%の高値を示したが、有意の差とならなかつた ($0.2 > P > 0.1$).

再発の有無と FDP 活性との関係についても検討を試みたが、明らかな相関は認めない.

2) ALD アイソザイムパターン

a) 膀胱粘膜の ALD アイソザイムパターン

前立腺肥大症の膀胱粘膜4例と膀胱腫瘍の膀胱粘膜6例の ALD アイソザイムパターンを検討したが、その2例の写真を図7に、その模式図を図8に示した. 上段は

Fig. 7. Aldolase isozyme patterns of bladder mucos on cellulose acetate membrane electrophoresis

Fig. 8. Schematic representation of aldolase isozyme patterns of bladder mucosas
Black bar indicates band staining intensely and open bar, faintly.

A と弱い A₃B (faint A₃B と表示), 下段はAのみのバンドを表わしている (図7, 図8).

i) 前立腺肥大症例における膀胱粘膜の ALD アイソザイムパターン

Table 13. ALD isozyme patterns of bladder mucosas of prostatic hypertrophy

No.	Rt.	Age	Sex	Isozyme pattern
1	NK	62	M	A faint A ₃ B
2	MK	64	M	A
3	KA	62	M	A faint A ₃ B
4	OK	63	M	A

前立腺肥大症の手術時に採取した膀胱粘膜4例のALDアイソザイムパターンは表13に示すごとくで、2例にAと弱いA₃B、他の2例にAが認められた(表13)。

ii) 膀胱腫瘍症例における膀胱粘膜のALDアイソザイムパターン

膀胱全摘除術を行なった3例と部分切除術を行なった3例において手術時得た膀胱粘膜6例のALDアイソザイムパターンは表14に示すごとく、4例にAと弱いA₃B、他の2例には、Aを認めた(表14)。

Table 14. ALD isozyme patterns of bladder mucosas of bladder tumor

No.	Pt.	Age	Sex	Isozyme pattern
1	HY	62	F	A faint A ₃ B
2	CY	64	M	A faint A ₃ B
3	TK	67	M	A faint A ₃ B
4	TH	65	M	A faint A ₃ B
5	OC	55	F	A
6	NT	58	F	A

Table 15. ALD isozyme patterns of bladder mucosas

Diagnosis	Isozyme pattern	No.cases.
Prostatic hypertrophy	A faint A ₃ B	2
	A	2
Bladder tumor	A faint A ₃ B	4
	A	2

表15は前立腺肥大症例と膀胱腫瘍症例の膀胱粘膜のALDアイソザイムパターンをそれぞれ集計したものである(表15)。

b) 膀胱腫瘍組織のALDアイソザイムパターン

膀胱腫瘍組織26例におけるALDアイソザイムパターンの内代表3例の写真を図9に、その模式図を図10に示

Fig. 9. Aldolase isozyme patterns of bladder tumors on cellulose acetate membrane electrophoresis

Fig. 10. Schematic representation of aldolase isozyme patterns of bladder tumors

Black bar indicates band staining intensely and open bar, faintly.

した。いずれも上段はAとA₃C、中段はAと弱いA₃C(faint A₃Cと表示)、下段はAのみのバンドを表わしている(図9、図10)。

膀胱腫瘍におけるALDアイソザイムパターンは表16に示す様な関係が見られた。すなわちAとA₃Cが10例、Aと弱いA₃Cが8例、さらにAを8例に認め、Bバンドが描出されたものはない(表16)。

c) 臨床所見とALDアイソザイムパターン

i) 腫瘍の大きさとALDアイソザイムパターン

Table 16. ALD isozyme patterns of bladder tumors

No.	Pt.	Size	Number	Grade	Stage	Recurrence	Isozyme pattern
1	Y N	large	single			+	A A ₃ C
2	K M	medium	single	IV	B ₂	—	A
3	N H	medium	single	II	A	+	A
4	H Y*	large	single	II	B ₂		A
5	C Y	medium	multiple	III	B ₁	+	A faint A ₃ C
6	K K	large	single	III	B ₁		A A ₃ C
7	S S	medium	single	II	B ₁		A A ₃ C
8	T K	large	single	III	B ₁	+	A A ₃ C
9	Y M	large	single	II		—	A A ₃ C
10	B S	medium	single	III	B ₁		A faint A ₃ C
11	K E	medium	multiple			—	A faint A ₃ C
12	H K	medium	multiple	III	A	—	A
13	K M	medium	multiple	II		—	A
14	T H	medium	single	III	A	—	A faint A ₃ C
15	O C*	large	single	III	A		A
16	R T	medium	multiple	IV	B ₂	+	A
17	N T*	large	multiple	II	A		A faint A ₃ C
18	K Y	large	multiple	III		+	A A ₃ C
19	A T	medium	multiple	II		+	A
20	M F*	large	single				A faint A ₃ C
21	N Y	large	single	II	A	+	A faint A ₃ C
22	M S	large	single	III	B ₁		A A ₃ C
23	N S	large	multiple				A A ₃ C
24	H A	large	multiple	IV	C		A A ₃ C
25	I A	large	single	II	A	—	A A ₃ C
26	U O	large	single	III	B ₁	—	A faint A ₃ C

* Case of total cystectomy

Table 17. Relationship between tumor size and isozyme pattern

Size	Isozyme pattern	No. cases
large	A A ₃ C	9
	A faint A ₃ C	4
	A	2
medium	A A ₃ C	1
	A faint A ₃ C	4
	A	6

腫瘍の大きさと ALD アイソザイムパターンについては表17に示すごとく、大腫瘍群ではAとA₃Cを9例、Aと弱いA₃Cを4例、Aを2例に認めた。中腫瘍群ではAとA₃Cを1例、Aと弱いA₃Cを4例、Aを6例に認めた(表17)。

ii) 腫瘍の数と ALD アイソザイムパターン

Table 18. Relationship between tumor number and isozyme pattern

Number	Isozyme pattern	No. cases
single	A A ₃ C	7
	A faint A ₃ C	5
	A	4
multiple	A A ₃ C	3
	A faint A ₃ C	3
	A	4

表18に示されるごとく、単発性ではAとA₃Cを7例、Aと弱いA₃Cを5例、Aを4例に認め、多発性ではAとA₃Cを3例、Aと弱いA₃Cを3例、Aを4例に認めた(表18)。

iii) 腫瘍の悪性度と ALD アイソザイムパターン
腫瘍の悪性度と ALD アイソザイムパターンについて

Table 19. Relationship between grade and isozyme pattern

Grade	Isozyme pattern	No. cases
II	A A ₃ C	3
	A faint A ₃ C	2
	A	3
III	A A ₃ C	4
	A faint A ₃ C	4
	A	3
IV	A A ₃ C	1
	A	2

は表19に示すごとく、Grade IIではAとA₃Cを3例、Aと弱いA₃Cを2例、Aを3例に認めた。またGrade IIIではAとA₃Cを4例、Aと弱いA₃Cを4例、Aを3例に認め、Grade IVではAとA₃Cを1例、Aを2例に認めた(表19)。

iv) 腫瘍の浸潤度と ALD アイソザイムパターン

腫瘍の浸潤度と ALD アイソザイムパターンについては表20に示すごとく、Stage AではAとA₃Cを1例、Aと弱いA₃Cを3例、Aを3例に認め、Stage B₁ではAとA₃Cを4例、Aと弱いA₃Cを3例に認め、Stage B₂の3例、Stage Cの1例ではいずれも全てAとA₃Cを認めた(表20)。

Table 20. Relationship between stage and isozyme pattern

Stage	Isozyme pattern	No. cases
A	A A ₃ C	1
	A faint A ₃ C	3
	A	3
B ₁	A A ₃ C	4
	A faint A ₃ C	3
B ₂	A A ₃ C	3
C	A A ₃ C	1

v) 腫瘍の再発の有無と ALD アイソザイムパターン

腫瘍の再発の有無と ALD アイソザイムパターンについて前述 ALD 活性値との相関を検討した対象群において調査すると表21に示すごとく、再発をきたさなかつたものではAとA₃Cを2例、Aと弱いA₃Cを3例、Aを3例に認め、再発をきたしたものではAとA₃Cを3例、Aと弱いA₃Cを2例、Aを3例に認めた(表21)。

小 括

前立腺肥大症の手術時に採取した膀胱粘膜と膀胱腫瘍症例の膀胱粘膜における ALD アイソザイムパターンに

Table 21. Relationship between recurrence and isozyme pattern

Recurrence	Isozyme pattern	No. cases
—	A A ₃ C	2
	A faint A ₃ C	3
	A	3
+	A A ₃ C	3
	A faint A ₃ C	2
	A	3

全く差を認めなかつたが、膀胱腫瘍では膀胱粘膜に認めたB型が完全に消失し、C型の出現を認めた。

腫瘍の大きさと ALD アイソザイムパターンについては、大腫瘍群ではA₃Cを9例に認めたのに反して中腫瘍群では1例にしか認めなかつた。このA₃Cの出現率

Table 22. FDP activities of bladder tumors and their isozyme patterns

No.	Pt.	FDP*	Isozyme pattern
1	KK	97.8	A A ₃ C
2	KE	89.0	A faint A ₃ C
3	HA	86.9	A A ₃ C
4	MS	81.7	A A ₃ C
5	YN	81.4	A A ₃ C
6	YM	76.0	A A ₃ C
7	TH	74.4	A faint A ₃ C
8	NS	56.8	A A ₃ C
9	TK	55.4	A A ₃ C
10	KY	55.2	A A ₃ C
11	SS	51.8	A A ₃ C
12	IA	50.0	A A ₃ C
13	CY	47.8	A faint A ₃ C
14	HK	32.4	A
15	HY	29.9	A
16	MF	24.4	A faint A ₃ C
17	UO	24.1	A faint A ₃ C
18	NY	23.9	A faint A ₃ C
19	OC	19.0	A
20	RT	17.1	A
21	BS	16.9	A faint A ₃ C
22	AT	14.2	A
23	KM	12.0	A
24	NT	7.3	A faint A ₃ C
25	NH	6.8	A
26	KM	5.0	A

* U/g protein

には有意な差が存在し ($0.1 > P > 0.01$), このことより大腫瘍群では中腫瘍群よりC型の増加傾向が認められる。

原発腫瘍が単発性であるか、多発性であるかの違いとALDアイソザイムパターンとの関係および悪性度とALDアイソザイムパターンとの間には明らかな相関はなかった。

浸潤度とALDアイソザイムパターンについてはStage AとStage B₁以上のものとの比較では、Stage B₁以上のものにA₃Cの出現率が高かった ($0.02 > P > 0.01$)。しかし例数の少いStage B₂とStage Cを除外したStage AとStage B₁のA₃Cの出現率を検討したが、推計学的に有意の差を示さなかった ($0.2 > P > 0.1$)。

再発の有無とALDアイソザイムパターンについては、明らかな相関は認めなかった。

3) ALD活性とALDアイソザイムパターンとの関係

i) FDP活性とALDアイソザイムパターン

FDP活性とALDアイソザイムパターンについては表22に示すごとく、FDP活性が平均値43.7U/g protein

Table 23. FIP activities of bladder tumors and their isozyme patterns

No.	Pt.	FIP*	Isozyme pattern
1	N S	15.1	A A ₃ C
2	I A	10.4	A A ₃ C
3	H A	6.5	A A ₃ C
4	T H	5.7	A faint A ₃ C
5	K E	5.5	A faint A ₃ C
6	S S	4.6	A A ₃ C
7	K Y	4.5	A A ₃ C
8	Y N	3.9	A A ₃ C
9	B S	3.3	A faint A ₃ C
10	N T	3.3	A faint A ₃ C
11	Y M	3.0	A A ₃ C
12	T K	2.3	A A ₃ C
13	M S	2.3	A A ₃ C
14	C Y	1.9	A faint A ₃ C
15	H K	1.9	A
16	H Y	1.8	A
17	U O	1.6	A faint A ₃ C
18	M F	1.0	A faint A ₃ C
19	N Y	1.0	A faint A ₃ C

* U/g protein

より高い値を示す13例の内10例にAとA₃C、3例にAと弱いA₃Cを認め、平均値より低い値を示す13例の内5例にAと弱いA₃C、8例にAを認めた(表22)。

ii) FIP活性とALDアイソザイムパターンとの関係

FIP活性とALDアイソザイムパターンについては表23に示すごとく、FIP活性が平均値4.2U/g proteinより高い値を示す7例の内5例にAとA₃C、2例にAと弱いA₃Cを認め、平均値より低い値を示す12例の内4例にAとA₃C、6例にAと弱いA₃C、2例にAを認めた(表23)。

iii) FDP/FIP活性比とALDアイソザイムパターンとの関係

FDP/FIP活性比とALDアイソザイムパターンについては表24に示すごとく、AとA₃Cを認める9例の

Table 24. Relationship between isozyme pattern and FDP/FIP

Isozyme pattern	No. cases	FDP/FIP		
		maximum	minimum	average
A A ₃ C	9	35.5	3.7	16.8± 3.5
A faint A ₃ C	8	25.2	2.2	15.7± 3.1
A	2	17.1	6.6	16.9± 0.3

FDP/FIP活性比の最高値は35.5、最低値は3.7、平均値は16.8± 3.5であり、Aと弱いA₃Cを認める8例のそれは2.2~25.2に分布し、平均値は15.7± 3.1であり、Aのみを認める2例のそれは17.1と16.6で平均値は16.9± 0.3であつた(表24)。

小 括

膀胱腫瘍のFDP活性とALDアイソザイムパターンについては、FDP活性が平均値より高い例にA₃Cの出現率が高かつた ($0.02 > P > 0.01$)。すなわち、膀胱腫瘍ではFDP活性が高い例にC型の増加傾向を認める。FIP活性とALDアイソザイムパターンについては、FIP活性が平均値より高い例にA₃Cの出現率が高い傾向があるが、推計学的に有意の差を示さなかった ($0.2 > P > 0.1$)。

FDP/FIP活性比とALDアイソザイムパターンについては、AとA₃Cを認める例、Aと弱いA₃Cを認める例、さらにAのみを認める例の3群におけるFDP/FIP活性比の間に明らかな関係は存在せず、FDP/FIP活性

比より ALD アイソザイムパターンを類推することは不可能と思われた。

考 按

前述せるごとく ALD は広く生物界に存在し、解糖系酵素として重要な位置にあるが、癌と ALD との関係については Warburg と Christian²⁴⁾ (1943) が担癌ラット血清中に ALD と Triose phosphate isomerase の活性が上昇していることを報告して以来、担癌動物並びに癌患者血清ならびに癌組織における ALD 活性の変化についての研究が盛んとなった。

Sibley 等²⁵⁾ (1949) はラット移植癌において、腫瘍の大きさに伴い血清 ALD 値が上昇し、腫瘍切除により正常値に復することを報告した。杉村等¹⁷⁾ (1966) は Morris hepatoma では FDP/F1P 活性比は 3~6 で、肝型と筋型 ALD を含むが、一方、Ascites hepatoma では FDP/F1P 活性比は 40~60 で、筋型 ALD を含むと推測したが、このことは松島等¹⁹⁾ (1968)、池原等²⁶⁾ (1970) によつて、電気泳動法並びに ALD の結晶化により証明された。杉村等²⁷⁾ (1970) はラット肝癌についてさらに研究を進め、Yoshida asites hepatoma の内 AH 143 A などに A と A₃C と弱い A₂C₂ を認めたが、Schapira 等²⁸⁾ (1970) は fast-growing hepatoma では A と A-C ハイブリッドが出現し、胎児肝と近似するが、slow-growing hepatoma では A 型と B 型が出現し、正常肝と近似すると報告している。

人の癌における ALD の研究としては Sibley 等²⁹⁾ (1955) が結腸並びに直腸癌組織と正常粘膜の ALD 活性を比較し、癌では正常の 2~3 倍の値を示すこと、Grade I ですでに ALD 活性は非常に増加するが、Grade が進むと間質が増加するためむしろ ALD 値の増加は少くなることなどを報告している。一方、Shonk 等³⁰⁾ (1965) は他の解糖系酵素と比べ ALD 活性は特に増加していないと述べている。また常松等³¹⁾ (1969) は胃癌組織では正常胃粘膜に比し、FDP 活性の上昇、F1P 活性の低下、したがって FDP/F1P 活性比の上昇を認めているが、鮫島等¹⁶⁾ (1972) も胃癌患者血清において同様の傾向を認めたと報告している。

肝癌について、Schapira 等³²⁾ (1963) は正常人や肝硬変患者の肝組織の FDP/F1P 活性比が 1 に近いのに対し、肝癌組織では 5.48 ± 1.17 と上昇することを報告し、Nordmann 等³³⁾ (1967) は電気泳動で正常肝は B 型と A 型バンドを認めるのに対し、肝癌組織では A 型と A-B ハイブリッドへの移行が起つていると述べている。

子宮頸癌について内田³⁴⁾ (1965) は、血清 ALD は上昇しており、広汎性子宮全剝術施行後正常化し、放射線療法によつても、終了後一時上昇するが、ついで次第に正常値まで低下すると述べている。しかし、癌の進行期、腫瘍の大きさ、悪性度と血清 ALD 値との有意な関係を認めていない。さらに癌組織 ALD 活性は正常子宮頸部上皮の 4 倍の高値を示すことを報告している。

つぎに脳腫瘍についてみると、杉村等³⁵⁾ (1969) は正常脳において、FDP/F1P 活性比は、19.2、Glioblastoma では 20.8、Meningioma では 47.6 となり、電気泳動でも Glioblastoma は正常脳と似ているが、Meningioma では A 型のみであつたと報告し、佐藤等³⁶⁾ (1971) は人胎児脳ならびに他の脳腫瘍も加えた実験により、脳腫瘍間の ALD アイソザイムパターンの違いは、脳細胞と Glia 細胞が外胚葉由来であるのに、Meningioma は中胚葉由来であることによると論じ、ALD 活性測定並びに電気泳動は脳腫瘍鑑別診断に有益であると述べている。

泌尿器科疾患における ALD の研究についてみると、Baker 等³⁷⁾ (1953) は進行性前立腺癌では加療前血清 ALD は正常より上昇しているが、除手術とエストローゲン療法により多くは正常化し、臨床的にも緩解したと述べ、また早期前立腺癌および前立腺肥大症では血清 ALD は正常値を示し、かつ血清 ALD は手術、栄養状態とは全く関係がないと報告している。West 等³⁸⁾ (1964) も前立腺癌、特に転移例では血清 ALD は高値を示し、腎細胞癌、セミノームでは半数に上昇するとしている。寺尾³⁹⁾⁻⁴²⁾ (1968) は血清 ALD は腎盂癌、膀胱癌、前立腺癌において正常と有意の差をもつて上昇しているが、高値を示す頻度は高くなく、個々の症例に対する診断的価値は低いと述べ、また澱粉粒ゾーン電気泳動を行い、正常膀胱では陰極に泳動される ALD I のみを、膀胱癌では ALD I と ALD II を認めたと報告し、さらに FDP 活性、F1P 活性、FDP/F1P 活性比を求めており、膀胱の FDP/F1P 活性は膀胱全層 50.7、膀胱癌 138.3 であつたと報告した。

膀胱腫瘍における ALD 研究についてはこの外、West 等³⁸⁾ (1964) は膀胱腫瘍の 60% に血清 ALD の高値を認め、特に転移例に多かつたと報告している。また、寺尾の測定では膀胱腫瘍は粘膜の 21.4 倍の FDP 活性を有し、著者の 5.8 倍に比し、はるかに高倍率となつており、腫瘍の FDP/F1P 活性比も著者の 16.3 に比べ高値となつている。但しその測定では、筋肉の FDP/F1P 活性比は 352.8、肝で 6.3 に対し、著者の用いた Blostein

and Rutter 法では筋肉で50, 肝で1となることで分るように測定法による違いによるが, 粘膜では F1P 活性が 0 U/g protein であり, 腫瘍では FDP 活性, F1P 活性とも上昇することは著者の結果と同様である。

膀胱腫瘍の臨床所見と ALD 活性並びにアイソザイムパターンとの比較検討についての研究はほとんどみられず, わずかに Dikow⁴³⁾ (1970) の ALD 活性は乳頭腫, 膀胱癌の順に高いとする報告のみで他に臨床所見との詳しい比較検討は見当らない。

著者は膀胱腫瘍の臨床所見と ALD 活性との比較を行なつたが, まず腫瘍の大きさと FDP 活性については, 大腫瘍群では中腫瘍群より有意の差をもつて FDP 活性は高値を示した。これは大腫瘍群では腫瘍の成長が早く, したがって解糖系代謝が盛んであること, 大腫瘍群では活性測定に際し, 純粋に腫瘍の実質を材料とし得たことによるものと思われる。

原発腫瘍が単発性であるか, 多発性であるかの違いと FDP 活性との間には明らかな関係を認めなかつた。

石部等⁴⁴⁾ (1970) は ALD と同じく解糖系酵素の一つである LDH について膀胱腫瘍の臨床所見との関係について比較しているが, 彼は膀胱腫瘍組織の LDH 活性は対照部分に比して高値をとり, Grade III~IV では Grade I~II より低い活性を示し, Stage C~D では Stage A~B より高い活性を示したと報告している。而して悪性度の高いものにむしろ LDH 活性が低値を示したことは, Hradek⁴⁵⁾ (1965) の指摘の如く, 間質量の増加と腫瘍組織の中心壊死が関与するものと考えている。

著者の研究において, 膀胱腫瘍の悪性度と FDP 活性については, Grade III の FDP 活性は Grade II に比し, 60%の高値を示しているが, 推計学的には有意の差を示さなかつた。

また, 浸潤度と FDP 活性については, Stage B₁ の FDP 活性は Stage A に比し, 76%の高値を示しているが, これも推計学的に有意の差ではない。

石部等の LDH についての報告に比べ, 著者の実験では悪性度, 浸潤度とも FDP 活性との間に明らかな関係を示さなかつたが, これは比較群の分け方の相違, 推計学的処理の有無, 自験例では壊死組織はできるだけ除いたことなどによるものと思われる。

再発の有無と FDP 活性については明らかな関係を認めなかつた。このことは膀胱腫瘍の再発が原発腫瘍の生化学的性質以外の諸因子即ち手術時における腫瘍以外の粘膜の変化, 術後における発癌物質の持続排泄等, 多元

的な内因外因により大きく影響されることを示唆しており, 原発腫瘍の ALD 活性の変化をもつて再発の有無を推測しえないことを物語る。

次に著者は膀胱腫瘍の臨床所見と ALD アイソザイムパターンとの比較を行なつた。まず腫瘍の大きさと ALD アイソザイムパターンについては, 大腫瘍群では中腫瘍群より C 型の増加傾向を認めた。これは前述したラット肝癌における fast growing hepatoma と slow-growing hepatoma の ALD アイソザイムパターンにみられた違いすなわち偏倚の急速な癌ではより一層正常よりかけ離れた ALD アイソザイムパターンを示してくるという現象が膀胱腫瘍でも現われているものと解釈できよう。

原発腫瘍が単発性か, 多発性かの違いと ALD アイソザイムパターンとの間には明らかな関係を認めなかつた。

膀胱腫瘍の悪性度および浸潤度と ALD アイソザイムパターンとの相関については, 前者に明らかな相関を示さなかつたが, 浸潤度と ALD アイソザイムパターンについては Stage A と Stage B₁ 以上の例との比較で, Stage B₁ 以上の例に A₃C の出現率は高かつた。しかし例数の少い Stage B₂ と Stage C を除外した Stage A と Stage B₁ との間の A₃C の出現率には有意差がなかつたことより, 浸潤がすすむ程 C 型が増加するという傾向については, にわかに断定し得ない。

再発の有無と ALD アイソザイムパターンについては, 明らかな相関なく, 原因としては, 前述せる再発の有無と FDP 活性との関係の場合と同様の理由を考慮することができよう。

次に著者は膀胱腫瘍症例の腫瘍以外の粘膜につき, その ALD 活性並びにアイソザイムパターンを正常膀胱粘膜, 腫瘍組織と比較することにより, 異所性再発の早期局所変化を追求した。病理組織学的には Melicow⁴⁶⁾

(1952) は腫瘍近接部10例の内10例全てに上皮増殖を, 4例に嚢胞或は腺形成を認めたが, 非腫瘍粘膜5例ではそれぞれ1例づつを認めたのみであつた。また, 市川⁴⁷⁾

(1952) は腫瘍近接部40例の内35例に陰窩状上皮増殖を, 7例に嚢胞性膀胱炎を認め, 遠隔部26例の内前者を24例に, 後者を3例に認めた。さらに長谷川⁴⁸⁾ (1955) は腫瘍近接部24例の内10例に乳頭状増殖を, 17例に陰窩状増殖を, 11例に嚢胞形成を認め, 遠隔部においてもそれぞれを10例, 16例, 9例に認めたが, 非腫瘍粘膜24例では乳頭状増殖は全く認められず, 4例に陰窩状増殖を, 2例に嚢胞形成を認めたのみであつたという。この

ように非腫瘍粘膜に比し、腫瘍近接部粘膜には高率にいわゆる前癌状態を認め、この変化は遠隔粘膜にも中等度に認められる。上記の変化がすべて癌に移行するものではないが、かかる状態にある粘膜に発癌因子が作用すれば、他の正常粘膜に先んじて癌化傾向をきたすことは、膀胱腫瘍に異所性再発の高いという報告⁽⁴⁹⁻⁵³⁾からしても容易に想像されることである。しかし、酵素化学的方面よりこの点についての研究は見当たらないため著者はALDの面より追求した。

腫瘍組織の FDP 活性は腫瘍症例の腫瘍以外の粘膜におけるその 3.8倍の高値を示し、F 検定さらに t 検定においても有意の差を示した ($0.1 > P > 0.05$)。しかし、腫瘍症例の腫瘍以外の粘膜の FDP 活性と正常粘膜のその間には有意差は認めなかつた。また、ALD アイソザイムパターンにおいても、腫瘍症例の腫瘍以外の粘膜と腫瘍との間には B 型の消失と C 型の出現という差異を認めるも、正常粘膜との間には差異を認めなかつた。このことにより、腫瘍以外の粘膜に先に述べた病理組織学的前癌状態があつたとしても、ごく小部分にしか存在しない時は、少量の材料で ALD 活性測定並びに電気泳動を正確に実施することが困難である現在の方法では前癌状態のみを純粋に測定していないためにその差が現われていないか、または ALD 活性並びにアイソザイムパターンの変化は癌化して始めて生ずる現象であり、

Fig. 11. Schematic expression of switch-on and switch-off mechanism during carcinogenesis in bladder

前癌状態ではその変化が起こっていないため差を認めなかつたものと考えられる。

著者は膀胱腫瘍において、膀胱粘膜に認めた B 型が消失し、C 型の出現を認めたが、これは先に述べた杉村等による Yoshida ascites hepatoma におけると同傾向の変化が膀胱腫瘍においても起っているものと思われる。すなわち図11に示すごとく、膀胱粘膜においては A 型 ALD の遺伝子と B 型 ALD の遺伝子が共に switch on され 5 種類のバンドの内 A と A₃B が出現するが、癌化過程において B 型 ALD の遺伝子が switch off され、A 型 ALD の遺伝子と共に C 型 ALD の遺伝子が switch on されるため 5 種類のバンドの内 A と A₃C が出現するものと推定される (図11)。

以上著者は膀胱腫瘍、腫瘍症例の腫瘍以外の粘膜、正常膀胱粘膜の ALD 活性並びにアイソザイムパターンの比較検討を行い、膀胱腫瘍保存療法後の再発の予測ないし早期診断、腫瘍の酵素化学的性質の究明、ひいては発癌解明のアプローチの一助にせんものと企図し、若干の資料を得たが、未解決の点も多く、今後さらに広い分野よりの追求が望まれるところである。

結 語

膀胱腫瘍の酵素化学的性質を ALD 活性並びにアイソザイムパターンの面から究明し、腫瘍発生ないし過程との関連を検討した。

即ち1969年より1973年の5年間に岡山大学泌尿器科とその関連病院に入院せる膀胱腫瘍26例、腫瘍症例で肉眼的変化の全くない膀胱粘膜6例、正常膀胱粘膜4例の ALD 活性測定並びに電気泳動を行い、実験結果を臨床所見との関連性を含めて比較検討した。

1) FDP 活性の平均値は正常膀胱粘膜では 7.6 ± 1.3 U/g protein, 膀胱腫瘍組織では 43.7 ± 5.8 U/g protein であり、腫瘍では粘膜の 5.8倍の高値を示した。

2) F1P 活性は膀胱粘膜では測定不能であつたが、膀胱腫瘍では活性を有した19例の平均値は 4.2 ± 0.8 U/g protein であつた。

3) FDP/F1P 活性比の平均値は膀胱腫瘍において 16.3 ± 2.0 であつた。

4) 膀胱腫瘍では大腫瘍群は中腫瘍群より FDP 活性が有意の差で高値を示した。

5) FDP 活性と膀胱腫瘍の数又は悪性度或は浸潤度との間に明らかな相関を認めなかつた。

6) 膀胱腫瘍では大腫瘍群は中腫瘍群に比べ A₃C ハイブリッドの出現率が高く、C型の増加傾向を認めた。

7) ALD アイソザイムパターンと膀胱腫瘍の数又は悪性度或は浸潤度との間に明らかな相関を認めなかった。

8) 膀胱腫瘍では FDP 活性の高い例に有意な差で A₃C ハイブリッドの出現率が高く、C 型の増加傾向を認めた。

9) 膀胱腫瘍では F1P 活性又は FDP/F1P 活性比と ALD アイソザイムパターンとの間に明らかな相関を認めなかった。

10) FDP 活性並びに ALD アイソザイムパターンと腫瘍の再発の有無との間に明らかな相関を認めなかった。

11) 前立腺肥大症例の膀胱粘膜の FDP 活性並びに ALD アイソザイムパターンと膀胱腫瘍症例の膀胱粘膜のそれとの間に有意の差を認めなかった。

12) 膀胱腫瘍では膀胱粘膜で認めた B 型が消失し、C 型の出現を認めた。これは膀胱粘膜の癌化過程において B 型 ALD の遺伝子が、switch off され、かわりに C 型 ALD の遺伝子が switch on されるためであると推定される。

尚、本研究は文部省科学研究補助金及び厚生省癌研究助成金の援助を受けた。

稿を終えるにあたり、終始御指導、御校閲を賜りました恩師新島端夫教授、病理組織像等につき御指導下さいました松村陽右講師、実験材料を心よく御提供下さいました岡山大学泌尿器科関連病院の諸先生に深く感謝の意を表します。

又、実験方法、基礎的研究に御指導を賜りました国立ガンセンター研究所生化学部部長杉村隆博士、並びに松島泰次郎先生他研究所所員の方々に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 酒井俊司：日泌尿会誌，**31**，187，1941.
- 2) 浅井 明：臨床皮泌，**13**，1309，1959.
- 3) 黒沢昌也，鈴木麒一，佐々木健二，杉田篤生，加藤正和：日泌尿会誌，**63**，1001，1972.
- 4) 吉田 修：日泌尿会誌，**64**，707，1973.
- 5) Segi, M. and Kurihara, M.: Cancer Mortality for Selected Sites in 24 Countries, No. 5 Tohoku Univ., Sendai, 1965.
- 6) Maltry, E. Jr.: J. Urol., **99**, 165, 1968.
- 7) Papanicolaou, G.N.: J. Urol., **57**, 375, 1947.
- 8) 落合京一郎，稲田俊雄，山田 喬：日臨細胞会誌，**5**，50，1966.
- 9) Whitmore, F.F. and Buch, I.M.: J. Urol.,

- 95**, 201, 1966.
- 10) 伊東泰二：臨泌，**24**，503，1970.
- 11) Meyerhof, O. and Lohmann, K.: Biochem., Z., **271**, 89, 1934.
- 12) Rutter, W.J., Blostein, R.E., Woodfin, B.M. and Weber, G.S.: Advances in Enzyme Regulation., **1**, 39, 1963.
- 13) Rutter, W.J.: Fed. Proc., **23**, 1248, 1964.
- 14) Rutter, W.J., Rajkumar, T., Penhoet, E. and Kochman, M.: Annals New York Academy of Sciences., **151**, 102, 1968.
- 15) Lebherz, H.G. and Rutter, W.J.: Biochemistry., **8**, 109, 1969.
- 16) 鮫島美子，塩崎安子，水野孝子，笹川美年子，秋田光彦，南木伸一：総合臨床，**21**，835，1972.
- 17) Sugimura, T., Matsushima, T., Kawachi, T., Hirata, Y. and Kawabe, S.: Gann Monograph., **1**, 143, 1966.
- 18) Blostein, R.E. and Rutter, W.J.: J. Biol. Chem., **238**, 3280, 1963.
- 19) Matsushima, T., Kawabe, S. and Sugimura, T.: Biochem. Biophys. Res. Comm., **30**, 565, 1968.
- 20) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: J. Biol. Chem., **193**, 265, 1951.
- 21) Penhoet, E., Rajkumar, T. and Rutter, W.J.: Proc. Natl. Acad. Sci., **56**, 1275, 1966.
- 22) Broders, A.C.: Ann. Surg., **75**, 574, 1922.
- 23) Jewett, H.J.: J.A.M.A., **134**, 496, 1947.
- 24) Waburg, O. and Christian, W.: Biochem., Z., **314**, 149, 1943.
- 25) Sibley, J.A. and Lehninger, A.L.: J. Nat. Cancer Inst., **9**, 303, 1949.
- 26) Ikehara, Y. and Endo, H.: Arch. Biochem. Biophys., **136**, 491, 1970.
- 27) Sugimura, T., Sato, S. and Kawabe, S.: Biochem. Biophys. Res. Commun., **39**, 626, 1970.
- 28) Schapira, F., Reuber, M.D. and Hatzfeld, A.: Biochem. Biophys. Res. Commun., **40**, 321, 1970.
- 29) Sibley, J.A. and Fleisher, G.A.: Cancer Res., **15**, 609, 1955.
- 30) Shonk, C.E., Arison, R.N., Koren, B.J., Majima, H. and Boxer, G.E., Cancer Res., **25**, 206, 1965.
- 31) Tsunematsu, K. and Shiraishi, T.: Cancer., **24**, 637, 1969.
- 32) Schapira, F., Dreyfus, J.C. and Schapira, G.: Nature., **200**, 995, 1963.
- 33) Nordmann, Y. and Schapira, F.: Europ. J. Cancer., **3**, 247, 1967.
- 34) 内田 正：日産婦誌，**17**，507，1965.

- 35) Sugimura, T., Sato, S., Kawabe, S. and Suzuki, N.: *Nature.*, **222**, 1070, 1969.
- 36) Sato, S., Sugimura, T., Chien, T.C. and Takakura, K.: *Cancer.*, **27**, 223, 1971.
- 37) Baker, R. and Govan, D.: *Cancer Res.*, **13**, 141, 1953.
- 38) West, M., Schwarz, M.A., Cohen, J. and Zimmerman, H.J.: *Cancer.*, **17**, 432, 1964.
- 39) 寺尾尚民: *日泌尿会誌*, **59**, 91, 1968.
- 40) 寺尾尚民: *日泌尿会誌*, **59**, 98, 1968.
- 41) 寺尾尚民: *日泌尿会誌*, **59**, 865, 1968.
- 42) 寺尾尚民: *日泌尿会誌*, **59**, 873, 1968.
- 43) Dikow, A.L. and Donowski, L.: *Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.*, **8**, 124, 1970.
- 44) 石部知行: *仁平寛己: 泌尿紀要*, **16**, 68, 1970.
- 45) Hradec, E., Motlik, Pavlu, J., Marek, J. and Sula, J.: *Urologe.*, **4**, 93, 1965.
- 46) Melicow, M.M.: *J. Urol.*, **68**, 261, 1952.
- 47) 市川篤二, 辻 一郎, 石井澄子: *日泌尿会誌*, **43**, 19, 1952.
- 48) 長谷川泰: *日泌尿会誌*, **46**, 296, 1955.
- 49) Kretschmer, H.L.: *J. Urol.*, **31**, 423, 1934.
- 50) 市川篤二: *日泌尿会誌*, **49**, 602, 1958.
- 51) 大村順一: *日泌尿会誌*, **56**, 938, 1965.
- 52) 宮川美栄子, 原田 卓, 吉田 修, 加藤篤二: *泌尿紀要*, **16**, 731, 1970.
- 53) 平松 侃, 岡島英五郎, 本宮善恢, 入矢一文, 伊集院真澄, 近藤徳也, 平尾佳彦, 松島 進: *日泌尿会誌*, **64**, 287, 1973.

(1974年2月28日受付)