免疫化学的測定法による前立腺酸性フォスファターゼ

第2報 正常人および前立腺肥大症患者における検討

ならびに従来法との比較検討

	酒	井	俊	助
	加	藤	直	樹
岐阜大学泌尿器科学教室 (主任: 西浦常雄教授)	説	田		修
	鄭	漢		彬
	河	田	幸	道
岐阜薬科大学生化学教室 (主任: 沢田英夫教授)	西	浦	常	雄
	沢	田	英	夫

DETECTION OF PROSTATIC ACID PHOSPHATASE BY IMMUNOCHEMICAL METHOD

II. Studies in Normal Men and Prostatic Benign Hypertrophy Patients, and Comparison with Conventional Method

Shunsuke Sakai, Naoki Kato, Osamu Setsuda, Kanhin Tei,
Yukimichi Kawada and Tsuneo Nishiura

Department of Urology, Gifu University School of Medicine
(Director: Prof. T. Nishiura)

Hideo Sawada

Department of Biochemistry, Gifu College of Pharmacy
(Director: Prof. H. Sawada)

Specific anti-prostatic acid phosphatase serum was prepared with the prostatic acid phosphatase (PAPase) purified from prostatic adenoma. And a new immunochemical method for measuring the PAPase activity with anti-PAPase serum was devised. Using this new method, the PAPase activities in 7 cases of normal men, 7 cases of normal women and 54 cases of benign prostatic hypertrophy were determined. The total acid phosphatase (APase) activity and the PAPase activity inhibited by L-tartrate were determined. The total acid phosphatase (APase) activity and the PAPase activity inhibited by L-tartrate were determined simultaneously. The results were as follows:

1) When sera of patients with benign prostatic hypertrophy were allowed to stand at room temperature, the total APase activity decreased remarkably.

2) There were no differences between groups of normal men and women and group of benign prostatic hypertrophy in the total APase activity and the PAPase activity inhibited by L-tartrate. In addition, there were no differences in the ratio of the PAPase activity inhibited by L-tartrate against the total APase activity, while a high L-tartrate inhibited rate as about 48% was observed in normal women.

3) According to the immunochemical method, the PAPase activity was 0.33 ± 0.29 (n moles/min/ml) in the group of benign prostatic hypertrophy. This value was slightly higher than those in normal men and women, but no significant difference was observed. In the ratio of the PAPase activity against the total APase activity, a similar result was observed.

4) No significant correlation was observed between weight of prostate and the PAPase activity determined by immunochemical method in 16 cases of benign prostatic hypertrophy.

要旨：前立腺腺腫より前立腺酸性フォスファターゼ (PAPase) を精製し、これをウサギに免疫して得られた抗血清より PAPase 活性のみを測定する免疫化学的方法をもちいて、正常男性 7 例、正常女性 7 例、前立腺肥大症患者 54 例の PAPase 活性を測定した。同時に従来の方法によつて全酵素活性値、L-tartrate 阻害による PAPase 活性も測定し比較検討した。正常男女および前立腺肥大症患者血清の全酵素活性値、L-tartrate 阻害による PAPase 活性値はいずれの群の間にも差を認めなかつた。全酵素活性値に対する L-tartrate 阻害の割合において、正常女性血清では 48% 前後の高い阻害率を認めた。免疫化学的方法 (immunochemical method) による PAPase 活性値の前立腺肥大症患者 54 例における平均は 0.33 ± 0.29 n moles/min/ml であり、正常男性 (0.18 ± 0.16) や正常女性 (0.13 ± 0.20) より高値を示したが有意の差を認めなかつた。

緒 言

酸性フォスファターゼ (Acid Phosphatase : 以下, APase) は種々の臓器に存在するが、とくに前立腺に多く存在し、前立腺癌患者血清中に本酵素活性が上昇することから臨床上重要な指標とされる。前立腺酸性フォスファターゼ (Prostatic Acid phosphatase : 以下, PAPase) のみの酵素活性を測定することは前立腺疾患患者の診断および治療など臨床上非常に有用で、特異的な PAPase 活性の測定が望まれる。

著者らは第 1 報に報告した如く、前立腺腺腫から PAPase を精製し、これより特異的な anti-PAPase 血清を作ることができたが、anti-PAPase 血清による PAPase の免疫学的特異性を利用し血清中の PAPase 活性のみを特異的に測定しうる可能性を認めた。今回この原理を応用して新しい PAPase 測定方法 (免疫化学的方法, immunochemical method) を考案したのでその方法を報告し、同時に、まず正常人および前立腺肥大症患者について、従来の方法と比較検討した成績について報告する。

対象および従来法による研究方法

対象とした症例は昭和 53 年 9 月より昭和 54 年 12 月までの 1 年 3 カ月間に岐阜大学医学部附属病院泌尿器科および関連病院の泌尿器科を受診した前立腺肥大症患者 54 例と正常男性 7 例および正常女性 7 例で、血清中の酸性フォスファターゼの全酵素活性、L-tartrate 阻害による PAPase 活性、immunochemical method による PAPase 活性について検討した。また、前立腺肥大症患者 16 例について摘出標本の重量と immunochemical method による PAPase 活性の関係についても検討した。

なお、前立腺肥大症患者はいずれも以前に手術および女性ホルモンなどの投与をうけていない症例のみを対象とした。

前立腺触診、前立腺マッサージ、前立腺生検、尿道カテーテル操作などにより血清中の酸性フォスファターゼ

が上昇するとの報告^{1) 2) 3) 4) 5) 6) 7)}があることより、採血はそれらの操作のない時期を選んだ。

血清中の酸性フォスファターゼの全酵素活性は Ohmori-Bessey-Lowry-Brock の方法に準じて行なつたが、0.2M citrate buffer (pH 5.5) 1.0ml, 蒸留水 0.7ml に血清 0.1ml を加え、L-tartrate 阻害による PAPase 酵素活性は 0.2M citrate buffer 1.0ml, 蒸留水 0.5ml に血清 0.1ml および 0.2M L-tartrate 0.2ml を加え、いずれも 20mM p-nitrophenylphosphate 0.2ml の基質で 37°C 30 分間酵素反応させ、0.4N NaOH 1.0ml で酵素反応をとめ、同時に血清 blank を求め、波長 410nm にセットした光電分光光度計にそれぞれの吸光度をもとめ、検量線より全酵素活性値および L-tartrate 阻害による PAPase 活性値をもとめた。

免疫化学的方法 immunochemical method

特異的な PAPase と anti-PAPase の複合体が酸性側で耐熱性であるという原理⁸⁾を応用したもので、Table 1 に示す如く、human serum 0.5ml, anti-PAPase serum 0.05ml, 0.2M citrate buffer (pH 5.5) 0.25ml, 0.9% NaCl solution 0.1ml, 蒸留水 0.1ml の計 1ml を小試験管に加え、これを test sample の系とし、control sample の系は human serum 0.5ml, normal rabbit serum 0.05ml, 0.2M citrate buffer 0.25ml, 0.9% NaCl solution 0.1ml, 蒸留水 0.1ml の計 1ml を小試験管に加えた。さらに anti-PAPase serum による酵素活性をのぞくための test blank sample として、anti-PAPase serum 0.05ml, 0.2M citrate buffer 0.25ml, 0.9% NaCl solution 0.1ml, 蒸留水 0.6ml の計 1ml を小試験管に加え、同時に、normal rabbit serum による酵素活性をのぞくための control blank sample として、normal rabbit serum 0.05ml, 0.2M citrate buffer 0.25ml, 0.9% NaCl solution 0.1ml, 蒸留水 0.6ml の計 1ml を小試験管に加え、いずれの系も 4°C にて 3 時間反応させた。

いずれの sample においても、処理前と 56°C 熱処理 30

Table 1 Immunochemical Determination of Prostatic Acid Phosphatase in Human Serum

	test (ml)	control (ml)	test blank (ml)	control blank (ml)
human serum	0.5	0.5	—	—
anti PAPase serum	0.05	—	0.05	—
normal rabbit serum	—	0.05	—	0.05
0.2M citrate buffer pH 5.5	0.25	0.25	0.25	0.25
0.9% NaCl soln.	0.1	0.1	0.1	0.1
water	0.1	0.1	0.6	0.6
incubation at 4°C for 1 hrs.				
heat treatment at 56°C for 30min and 2 hrs.				
0.2ml of each sample				
0.2M citrate buffer pH 5.5	1.0ml			
water	0.1ml			
pre incubation at 37°C for 3min.				
20mM p- nitrophenyl phosphate	0.2ml			
incubation at 37°C for 30min.				
0.4M NaOH	1.0ml			
absorbance at 410nm.				

分間後, 120分間後の sample 0.2ml (血清量0.1ml) を 0.2M citrate buffer 1.0ml, 蒸留水0.6ml に加え, 基質として20mM *p*-nitrophenylphosphate 0.2ml をもちいて 37°Cにて30分間酵素反応させ, 0.4N NaOH 1.0ml で反応をとめ, 同時にそれぞれの系の sample および test blank, control blank における血清 blank をもとめ, 波長410nm にセットした光電分光光度計にてそれぞれの吸光度をもとめた。

anti-PAPase serum 添加の系, normal rabbit serum 添加の系, test blank, control blank における処理前, 熱処理30分間後, 120分間後の吸光度からそれぞれの系における血清 blank の吸光度の差をもとめたのち, さらに anti-PAPase serum 添加の系では処理前, 熱処理30分間後, 120分間後の吸光度から test blank におけるそれぞれの時間の吸光度の差をもとめ, normal rabbit serum 添加の系でも同様に control blank の差をもとめた。それらよりもとめた anti-PAPase 血清添加の test sample の系における処理前の吸光度に対する熱処理30分後, 120分間後における吸光度の比率をもとめ, 同様に normal rabbit serum 添加の control sample の系においても吸光度の比率をもとめた。第1報で報告した如

く, 抗血清添加の場合には56°Cで熱処理すると2時間後も精製 PAPase 活性が100%残存し, normal rabbit serum 添加では30分間の熱処理により活性が速やかに消失することによりそれぞれの系の熱処理30分間後, 120分間後における吸光度の比率をもとめ, その平均値を酸性フォスファターゼの全酵素活性値に対する PAPase 活性値の割合とした。さらに全酵素活性値に PAPase の割合を乗じて immunochemical method による PAPase 活性値とした。

血清中の酸性フォスファターゼの全酵素活性値, L-tartrate 阻害による PAPase 活性値および immunoc-hemical method による PAPase 活性値の単位は, 血清 1ml あたり, 酵素反応時間1分あたりの *p*-nitrophenol の nmoles 単位 (acid phosphatase activity is expressed in nmoles of *p*-nitrophenol produced per minute per ml) で示し, 以後単位は省略する。

なお, 各測定値の群別比較は原則として t 検定による推計学的検討によつて有意差の有無を検定し, 有意水準は5%と考えた。また, 群間の相関関係は Pearson の相関係数を使用した。

Table 2 Total APase Activity after 12hrs. and 24hrs. at Room Temperature and after one Month at -20°C in sera of BPH Patients

No.	Total Activity at Ohr.	after 12 hrs. n moles (%)	after 24 hrs. n moles (%)	after one month at -20°C
1	7.06 n moles	5.78 (18.20)	3.40 (51.88)	7.25 n moles
2	8.06	6.38 (20.78)	5.13 (36.36)	7.75
3	6.78	5.21 (23.09)	3.15 (53.49)	6.54
4	7.67	5.06 (33.97)	3.94 (48.67)	7.92
5	5.78	4.43 (23.29)	3.80 (34.25)	5.71
6	4.06	3.29 (19.05)	2.46 (39.40)	
7	6.39	5.33 (16.52)	3.51 (45.12)	
8	5.83	4.82 (17.32)	3.63 (37.81)	
9	4.44	3.23 (27.17)	2.66 (39.99)	
10	5.56	5.00 (9.96)	3.45 (37.97)	
Ave.	6.16	4.85 (20.94)	3.51 (42.49)	7.03

成 績

精製 PAPase は熱, pH に非常に弱いことは第 1 報にて報告しているが, 血清中の酸性フォスファターゼも同様に Table 2 に示す如く, 10 例の前立腺肥大症患者血清において血清分離直後, 室温放置 12 時間, 24 時間後のそれぞれの酸性フォスファターゼの全酵素活性値を測定すると, 12 時間後に平均 21.0% の失活, 24 時間に 42.5% の失活を認めた。しかし, 同患者血清 5 例について血清分離後ただちに -20°C にて血清を凍結した場合, 1 カ月後に再検してもほとんど活性の低下を認めなかつた。以上より血清分離は冷却遠心器にておこない, 血清保存は実験に供するまで -20°C にて保存しておいた。

正常男性 7 例および女性 7 例, 前立腺肥大症患者 54 例の血清中の酸性フォスファターゼの全酵素活性, L-tartrate 阻害による PAPase 活性, immunochemical method による PAPase 活性についての成績は Table 3, 4 に示した。

凝血の際に血小板より遊出してくる血小板由来の APase をはじめ前立腺由来など種々の臓器由来の APase を含んでいる全酵素活性においては, 正常男性 7 例の平均は 5.89 ± 1.30 , 正常女性 7 例の平均は 6.05 ± 2.35 , 前立腺肥大症患者 54 例の平均は 5.44 ± 2.73 であり, 正常男性血清, 正常女性血清, 前立腺肥大症患者の比較検討においてはいずれも有意の差を認めなかつたが, 正常女性血清が前立腺肥大症患者および正常男性血清よりやや高値を示している。

第 1 報において報告した如く, 精製 PAPase において L-tartrate 濃度は 0.2M にて 95% の阻害を認めるが, 0.2M による L-tartrate 阻害による前立腺性酸性フォスファターゼの酵素活性においては, 正常男性 7 例の平均は 2.12 ± 1.36 , 正常女性 7 例の平均は 2.91 ± 1.89 , 前立腺肥大症患者 37 例の平均は 2.70 ± 2.08 であり, 正常男性血清, 正常女性血清, 前立腺肥大症患者の比較検討においてはいずれも有意の差を認めなかつた。正常女性血清は全酵素活性同様に前立腺肥大症患者よりも若干高値を示している。なお, 前立腺肥大症患者のうちもつとも高値を示している症例は 7.94 であり, もつとも低値の症例は 0.06, 正常女性血清においてももつとも高値の症例は 5.72, もつとも低値の症例は 0.78 であった。

次に全酵素活性値に対する L-tartrate 阻害の割合について検討すると, 正常男性血清の平均は $35.66 \pm 16.82\%$ であり, 正常女性血清においてももつとも阻害率の高い症例は 61.3% もあり, 平均して 48% 前後の阻害率を認めた。前立腺肥大症患者においてはもつとも高い阻害率を認めた症例は 80.8% であり, もつとも低い阻害率を認めた症例は 1.4% しかなく, かなりのバラツキを認めており平均して $41.02 \pm 21.26\%$ の阻害率を認めた。

immunochemical method による前立腺性酸性フォスファターゼ (PAPase) の酵素活性の検討では, 正常男性 7 例の平均は 0.18 ± 0.16 , 正常女性 7 例の平均は 0.13 ± 0.20 , 前立腺肥大症患者 54 例の平均は 0.33 ± 0.29 であり, 正常男性血清, 正常女性血清, 前立腺肥大症患者の

Table 3 Acid Phosphatase Activity in Sera of Normal Adult

No.	Sex	Total activity * (A)	Activity inhibited dy L-tartrate * (B)	Activity stabilized by anti-PAPase * (C)	(B) / (A) × 100 (%)	(C) / (A) × 100 (%)
1	male	4.61	0.56	0.14	12.1	3.0
2	male	4.39	1.78	0.05	40.5	1.1
3	male	5.11	1.12	0.26	21.9	5.1
4	male	6.81	2.78	0.51	40.8	7.5
5	male	5.71	3.12	0.11	54.6	1.9
6	male	7.85	4.37	0.07	55.8	0.9
7	male	4.64	1.11	0.09	23.9	1.9
8	female	8.56	5.11	0	59.7	0
9	female	4.44	2.06	0	46.4	0
10	female	7.44	3.00	0.43	40.3	5.8
11	female	9.33	5.72	0.10	61.3	1.1
12	female	5.00	2.56	0.07	51.2	1.4
13	female	4.00	1.12	0.12	28.0	3.0
14	female	3.56	0.78	0.04	21.9	1.2

* : Acid phosphatase activity in expressed in n moles of P-nitrophenol produced per minute per ml.

比較検討においてはいずれも有意の差を認めなかつた。前立腺肥大症患者が正常男性血清、正常女性血清に比し若干高値を示しており、正常男性血清においてはもつとも高値の症例は0.51、低値の症例は0.05、正常女性血清においてはもつとも高値の症例は0.43、低値の症例は0で、前立腺肥大症患者のうちもつとも高値を示した症例は1.10、もつとも低値の症例は0であつた。

次に全酵素活性値に対する immunochemical method による PAPase 活性の割合について検討すると、正常男性7例の平均は3.06±2.42%，正常女性7例の平均は1.79±2.04%，前立腺肥大症患者54例の平均は5.82±4.37%であつた。前立腺肥大症患者の平均がもつとも高値を示しているが、正常男性血清、正常女性血清、前立腺肥大症患者の比較検討においてはいずれも有意の差を認めなかつた。

なお、正常男性血清のうちもつとも高値を示している症例は7.5%，低値を示している症例は0.9%で、正常女性血清において高値は5.8%，低値は0%で、前立腺肥大症患者のうちもつとも高値を示している症例は18.7%，もつとも低値を示している症例は0%であつた。

次に前立腺肥大症患者37例について、L-tartrate 阻害

による PAPase 活性値と immunochemical method による PAPase 活性値の相関関係を Pearson の相関係数をもちいて検討すると、両者間の相関係数は0.3886と低く (Fig. 1), L-tartrate 阻害による PAPase 活性値が7.94ともつとも高値を示した症例は immunochemical method による PAPase 活性では0.04しか認めず、L-tartrate による PAPase 活性値が0.06ともつとも低値を示した症例は immunochemical method による PAPase 活性値が0.16であつた。また同様に全酵素活性値に対する L-tartrate 阻害による PAPase 活性値の割合と immunochemical method による PAPase 活性値の割合の相関関係の検討でも、相関係数は0.0734と低値を示した (Fig. 2)。

前立腺肥大症患者16例について、その摘出標本の重量 (Table 4) と immunochemical method による PAPase 活性値および全酵素活性値に対する immunochemical method による PAPase 活性値の割合について検討した。重量の最高は83gr であり、その症例の PAPase 活性値は0.11, PAPase 活性値の割合は1.2%であつた。一方、最低重量は2gr でありその症例の PAPase 活性値は0.16, PAPase 活性値の割合は3.6%であつた。PAPase

活性値が1.10と最高値を示した症例の重量は20gr, 活性値が最低値を示した症例の重量は15grであり, また PAPase 活性値の割合が13.2%と最高値を示した症例の重量は18gr, 最低値を示した症例の重量は83grであつ

た. 以上より摘出標本の重量と PAPase 活性値および全酵素活性値に占める PAPase 活性値の割合との間には比例関係を認めなかつた.

Table 4 Acid Phosphatase Activity in Sera of BPH

No.	Total activity * (A)	Activity inhibited by L-tartrate * (B)	Activity stabilized by anti-PAPase * (C)	$\frac{(B)}{(A)} \times 100$ (%)	$\frac{(C)}{(A)} \times 100$ (%)	Weight (gr)
1	7.67	3.67	0.35	47.85	4.6	30
2	5.78	0.95	0.46	16.44	8.0	5
3	11.72	7.56	0.73	64.51	6.2	10
4	12.45	3.00	0.29	24.10	2.3	12
5	6.39	2.50	0.17	39.12	2.7	12
6	4.39	0.06	0.16	1.37	3.6	2
7	5.00	2.11	0.09	42.20	1.8	15
8	8.83	5.22	0.11	59.12	1.2	83
9	7.00	3.11	0.32	44.43	4.6	41
10	9.82	6.32	1.10	64.36	11.2	20
11	7.49	1.94	1.01	25.90	13.5	12
12	4.06	1.36	0.13	33.50	3.2	18
13	5.83	0.44	0.16	7.55	2.7	22
14	5.50	1.72	0.73	31.27	13.2	18
15	6.44	3.33	0.16	51.71	2.5	21
16	7.06	3.72	0.15	52.64	2.1	
17	8.06	4.06	0.62	50.37	7.7	
18	5.50	4.15	0.40	75.45	7.3	
19	10.39	7.83	0.85	75.36	8.2	
20	9.83	7.94	0.04	80.77	0.4	
21	6.78	1.95	0.55	28.76	8.1	
22	11.06	1.00	0.72	9.04	6.5	
23	1.67	1.34	0.07	80.24	4.1	
24	5.57	0.78	0.10	14.00	1.8	
25	4.06	1.12	0.29	27.59	7.2	
26	3.39	0.78	0.10	23.00	1.8	
27	4.44	0.50	0.14	11.26	3.1	
28	5.56	1.89	0.20	33.99	3.5	

* : Acid phosphatase activity is expressed in n moles of P-nitrophenol produced per minute per ml.

Table 4 (continued)

No.	Total activity * (A)	Activity inhibited by L-tartrate * (B)	Activity stabilized by anti-PAPase * (C)	$\frac{(B)}{(A)} \times 100$ (%)	$\frac{(C)}{(A)} \times 100$ (%)	Weight (gr)
29	7.11	3.22	0.80	45.29	11.2	
30	3.94	1.55	0.09	39.34	2.5	
31	4.17	1.45	0.09	34.77	2.1	
32	7.79	2.96	0.62	38.00	8.0	
33	5.56	2.78	0.45	50.00	8.0	
34	2.50	0.49	0.06	19.60	2.3	
35	1.61	0.78	0.06	48.45	3.8	
36	5.06	3.06	0.52	60.47	10.2	
37	4.89	3.22	0.13	65.90	2.6	
38	0.56		0		0	
39	3.72		0.30		8.1	
40	4.67		0.87		18.7	
41	1.72		0.19		11.1	
42	4.67		0.48		10.3	25
43	2.78		0.33		11.9	
44	3.28		0.26		7.8	
45	3.44		0.01		0.3	
46	3.89		0.32		8.2	
47	8.28		0.94		11.3	
48	2.17		0.02		0.8	
49	1.83		0.03		1.7	
50	4.17		0.03		0.7	
51	4.67		0.19		4.1	
52	2.56		0.02		0.7	
53	2.17		0.31		14.4	
54	4.67		0.48		10.3	

* : Acid phosphatase activity is expressed in n moles of P-nitrophenol produced per minute per ml.

考 按

血清中の前立腺性酸性フォスファターゼの酵素活性のみを特異的に測定し、前立腺由来の APase と赤血球または他の組織由来の APase を区別することは前立腺疾患の生化学的診断に重要な意義をもつものである。

血清中の PAPase 活性を測定する方法には種々の方法が見いだされているが^{8) 9) 10)}、現在まで特異的に PAPase

のみの酵素活性値を測定する方法は確立されていない。

著者らの測定法は第 1 報¹¹⁾の報告のごとく、抗血清の免疫学的特異性を利用して特異的に血清中の PAPase の酵素活性値のみを測定する方法で、同じく免疫学的測定法として特異的に酵素を測定する counterelectrophoresis¹²⁾や radioimmunoassay^{13) 14) 15)}による方法があるが、これらは酵素自身の量を測定するもので、これに対して

Fig. 1 Correlation between PAPase Activity Determined by Immunochemical Method and L-tartrate Method

本法は酵素活性を測定するという意味でこれらとは異なり非常に意義がある。今後の検討において酸性フォスファターゼが高値を示す前立腺癌患者の血清中の PAPase を測定し対比するために、まず正常人および前立腺肥大症患者における PAPase 活性値および全酵素活性値に対する PAPase 活性値の割合を検討した。

精製 PAPase に関しては熱、pH に弱いことは第 1 報に報告したとおりで、血清中の APase も不安定であり、採血後の血清の室温放置により pH の上昇とともに速やかに失活するとの報告¹⁶⁾があるように、今回著者らの検討においても非常に弱く、血清分離直後に室温放置によりかなりの酵素活性の失活を認めているが、 -20°C 保存においては 1 カ月後もほとんど活性の低下を認めていない。しかし、普通の遠心器にての血清分離は遠心の時の熱発生により酵素活性の失活を認めることより、冷却遠心器にて血清分離の必要があり、保存する場合には

Fig. 2 Correlation between Ratio of PAPase Activity Determined by Two Methods in Total APase Activity

-20°C 以下の保存が必要と思われる。

血清中の前立腺酸性フォスファターゼの酵素活性の測定には、現在もお診断の補助として有用とされる inhibitor である L-tartrate を併用する方法⁹⁾が一般的にもちいられており、著者らの検討¹¹⁾でも精製 PAPase に対して 0.2M 以上の L-tartrate は 95% 近くの阻害を認めており、PAPase に対して強い阻害作用を認めている。しかし、L-tartrate による阻害は PAPase のみに特異的でなく、他の臓器由来の APase も阻害することが知られており、今回の検討でも女性血清においてもつとも高い阻害率を認めている症例は 61.3% もあり、平均すると 44% と高い阻害率を認めており、やはり前立腺由来の酸

性フォスファターゼのみを阻害しているとは考えられない。これに対し、immunochemical method による PAPase 活性値および全酵素活性値に対する割合は、L-tartrate 阻害の場合と同じ血清量、同じ反応時間でもかなり低値を示すのは、L-tartrate 阻害では前立腺由来の酸性フォスファターゼ以外にもかなりの阻害を認めることにより差が生じたものと考えられる。前立腺肥大症患者における immunochemical method による PAPase 活性値は正常男性および正常女性血清より若干高値を示すがやはり全体として低値を示すことより、前立腺由来の酸性フォスファターゼ自身は他臓器由来の酸性フォスファターゼと比較すると低いものと考えられる。とくに女性血清では L-tartrate 阻害においては44%の阻害を認めるのに対し、immunochemical method の PAPase 活性の割合では1.8%しか認めていない。

一方、前立腺肥大症患者における L-tartrate 阻害による PAPase 活性値とその割合および immunochemical method によるそれらの相関関係ではいずれも相関係数は低く、L-tartrate 阻害による PAPase 活性でバラツキを認めた前立腺肥大症患者において、immunochemical method による PAPase 活性値の平均は 0.33 ± 0.29 であり、もつとも高値は1.10、低値は0であり、1.0を越える症例は54例中2例で1.5を越える症例は1例も認めておらず、全活性値に対する PAPase 活性値の割合の平均も $5.82 \pm 4.37\%$ であり、約5%前後しか認めず15%を越える症例は54例中1例と少なく、もつとも高い症例でも18.7%であり20%以上を越える症例は現在までの検討では認めていない。さらに前立腺肥大症患者の摘出標本の重量と PAPase 活性値およびその割合の関係においても重量に比例して PAPase 活性が増加するものでないことが判明した。

以上より前立腺肥大症患者と正常男性血清および正常女性血清においては PAPase 活性値および全酵素活性値に対する割合において有意の差はなく、また前立腺肥大症患者の血清中の PAPase 活性値は低く、全活性値に対する割合も低いことが判明した。

これらの成績は酸性フォスファターゼが高値を示す前立腺癌患者との比較が可能であることを示唆しているものと思われる。

結 語

1) 前立腺腫瘍から前立腺酸性フォスファターゼ (PAPase) を精製し、これによつて特異的な抗前立腺酸性フォスファターゼ血清を作製し、これを用いた新

しい PAPase 活性の測定法 (免疫化学的方法 immunochemical method) を考案した。

2) この方法を用いて、正常男性7例、正常女性7例、前立腺肥大症患者54例について PAPase 活性を測定した。また同時に従来の方法によつて全酵素活性値、L-tartrate 阻害による PAPase 活性も測定し比較検討した。

3) 血清中の酸性フォスファターゼが熱に弱いことは従来よりよく知られているが、前立腺肥大症患者においても血清の室温放置により全酵素活性の明らかな低下を認めた。

4) 正常男女および前立腺肥大症患者血清の全酵素活性値、L-tartrate 阻害による PAPase 活性値はいずれの群の間にも差を認めなかつた。全酵素活性値に対する L-tartrate 阻害の割合においてもいずれの群の間にも差を認めなかつたが、正常女性血清において48%前後の高い阻害率を認めた。

5) immunochemical method による PAPase 活性値の前立腺肥大症患者54例における平均は 0.33 ± 0.29 であり、正常男性 (0.18 ± 0.16) や正常女性 (0.13 ± 0.20) より高値を示したが有意の差を認めなかつた。また、全酵素活性値に対する immunochemical method による PAPase 活性値の割合も同様に差を認めなかつた。

6) 前立腺肥大症患者16例において、摘出前立腺の重量と immunochemical method による PAPase 活性値およびその全酵素活性値に占める割合を検討したが、摘出重量と PAPase 活性の間には有意の関係を認めなかつた。

本論文の要旨は第68回日本泌尿器科学総会および第31回日本泌尿器科学西部連合総会において発表した。

文 献

- 1) Kendall, A.R.: Acid phosphatase elevation following prostatic examination in the earlier diagnosis of prostatic carcinoma. *J. Urol.*, **86**, 442—449, 1961.
- 2) Dybkaer, R. and Jensen, G.: Acid serum phosphatase levels following massage of the prostate. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.*, **10**, 349—354, 1958.
- 3) Whitmore, W.F. and Woodard, H.Q.: The effects of prostatic surgery on the level of serum acid glycerophosphatase. *J. Urol.*, **74**, 809—817, 1955.
- 4) Stewart, C.B., Sweetser, T.H. and Delory, G.E.: A case of benign prostatic hypertrophy with recent infarcts and associated high serum

- acid phosphatase. *J. Urol.*, **63**, 128—131, 1950.
- 5) Glenn, J.F. and Spanal, D.J.: Serum acid phosphatase and the effect of prostatic massage. *J. Urol.*, **82**, 240—242, 1959.
 - 6) Nadsen, P.O. and Naber, K.G.: The importance of the pressure in the prostatic fossa and absorption of irrigating fluid during transurethral resection of the prostate. *J. Urol.*, **109**, 446—452, 1973.
 - 7) Greene, F.T. and Thompson, I.M.: The effects of various manipulations on serum phosphatase levels in benign disease. *J. Urol.*, **112**, 232—236, 1974.
 - 8) Fischman, W.H. and Lerner, F.A.: A method for estimating serum acid phosphatase of prostatic origin. *J. Biol. Chem.*, **200**, 89—97, 1953.
 - 9) Roy, A.V., Brower, M.E. and Hayden, J.E.: Sodium thymolphthalein monophosphate, a new acid phosphatase substrate with greater specificity for the prostatic enzyme in serum, *Clin. Chem.*, **17**, 1093—1102, 1971.
 - 10) Babson, A.L. and Read, P.A.: A new assay for prostatic acid phosphatase in serum. *Am. J. Clin. Pathol.*, **32**, 88—91, 1959.
 - 11) 酒井俊助, 加藤直樹, 河田幸道, 西浦常雄, 沢田英夫: 免疫化学的測定法による前立腺酸性フォスファターゼ. 第1報, 免疫化学的測定法確立に関する基礎的検討. 日泌尿会誌, 投稿中.
 - 12) Chu, T.M., Wang, M.C., Scott, W.W., Gibbons, R.P., Johnson, D.E., Schmidt, J.D., Loening, S.A., Prout, G.R., and Murphy, G.P.: Immunochemical detection of serum prostatic acid phosphatase. *Invest. Urol.*, **15**, 319—323, 1978.
 - 13) Foti, A.G., Herschman, H. and Cooper, J.F.: A solid-phase radioimmunoassay for human prostatic acid phosphatase. *Cancer Research*, **35**, 2446—2452, 1975.
 - 14) Foti, A.G., Cooper, J.F., Herschman, H. and Malvaey, R.R.: Detection of prostatic cancer by solid-phase radioimmunoassay of serum prostatic acid phosphatase. *N. Engl. J. Med.*, **297**, 1357—1361.
 - 15) Gittes, R.: Acid phosphatase reappraised. *N. Engl. J. Med.*, **297**, 1398—1399, 1977.
 - 16) Woodard, H.Q.: A note on the inactivation by heat of acid glycerophosphatase in alkaline solution. *J. Urol.*, **65**, 688—692, 1951.

(1981年6月15日受付)