泌尿器科領域におけるポリアミン

第1報 尿路腫瘍における全血中ポリアミン

湯 浅 誠
前 林 浩 次
香 川 征
徳島大学医学部泌尿器科学教室
(主任: 黒川一男教授)

POLYAMINES IN UROLOGICAL DISEASES

Report 1. Whole Blood Polyamine Value In Urological Cancer

Makoto Yuasa, Koji Maebayashi and Susumu Kagawa

Department of Urology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima

(Director: Prof. K. Kurokawa)

Polyamine values have been evaluated in tumor tissue, blood and urine of patients bearing variety of tumors to assess its potential clinical utility. In this biphasic clinical and experimental study, we measured whole blood polyamine concentrations of tumor-bearing human and animals using thin layer chromatographic technique.

In the experimental phase, polyamine levels in ACI/N rats bearing BC-47 tumor which was induced by oral administration of BBN (Butyl-Butanol-Nitrosamine) were determined. Whole blood polyamine levels were gradually elevated since the 5th day after subcutaneous inoculation of BC-47 tumor and continued to the 30th day. This finding suggests that polyamine is produced by the tumor.

In the clinical phase, polyamine levels in patients with bladder tumor, prostatic cancer and testicular tumor were measured. Polyamine levels in cancerous patients were slightly elevated without statistical difference, while it showed a statistically significant elevation in end stage patients. This finding suggests that whole blood polyamine determination has no usefulness in early detection of malignancy.

After treatment with irradiation and/or anticancer drugs, polyamine levels were elevated, suggesting effective response against the tumors.

Polyamine levels were significantly elevated in benign prostatic hyperplasia in contrast with normal subjects.

要旨: 全血ポリアミンと腫瘍増殖の関連につき, 動物実験及び臨床症例につき検討を行なった。

動物実験は ACI/N ラットに膀胱腫瘍の継代培養株 BC-47を移植し, 移植後の日数と全血ポリアミン濃度との相関を見た。全血ポリアミンは, 移植後5日目より有意に上昇し, 以後漸増する傾向を示し, 腫瘍によるポリアミンの産生を裏づけるものであった。

一方臨床症例では疾患別, 治療法別に検討を行なった。膀胱腫瘍, 前立腺癌, 睪丸腫瘍の3種の癌患者では, 全血ポリアミン濃度は正常者に比し, やや高値を示したが, 有意の差は認められなかった。また, 末期癌患者における全血ポリアミン濃度は極めて高いレベルを示し, 正常者との間に有意の差が認められた。今回のわれわれの検討では, 現在の所全血ポリアミン濃度を, 癌の早期診断に用いる事は困難と思われた。治療法の検討では全血ポリアミン濃度は, 放射線療法や, 化学療法等の治療により有意に上昇し, これらの治療法の効果判定に有用と思われた。

前立腺肥大症は良性腫瘍であるが, 前立腺肥大症患者の全血ポリアミン濃度についても同時に検討した。前立腺肥大症患者では, 正常者と比較して極めて高い全血ポリアミン濃度を示し, 正常者とは, 明らかな有意差が認められ, ポリアミンの産生等につき, 今後検討が必要と考えられた。

緒 言

ポリアミンは生物界に広く存在する生体アミンで、その生理的役割は未だ完全には解明されていないが、細胞増殖と密接な関連があり、蛋白、核酸合成の促進因子として働くと考えられている^{1)~7)}。1971年の Russell ら⁸⁾の報告以後、癌患者における各種体液中のポリアミン濃度の変動は治療効果や予後判定の指標として有用とされ、種々の報告が見られる^{9)~15)}。今回、われわれも、動物実験において癌を移植したラットの全血ポリアミン濃度と腫瘍の増殖度の関連について検討し、さらに臨床症例において、各種癌患者の全血ポリアミン濃度の比較検討を行うとともに、癌患者における全血ポリアミン濃度の変動を治療法別に比較検討し、ポリアミンが、新しい腫瘍マーカーとして臨床的に有用であるか否かの検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

対 象

実験動物は近交系 ACI/N ラットを使用し BBN [(N)-Butyl-(N)-Butanol-(4)-Nitrosamine] により発癌せしめた膀胱腫瘍の継代培養株である BC-47 の腫瘍塊を細切し、その 1ml を体重 150~200g 程度のラットに皮下移植する。移植後腫瘍は局所にて増大し、ラットは約 1 ヶ月で癌死する。移植後 5 日目、10 日目、15 日目、20 日目、30 日目にそれぞれ約 8 四つつの心穿刺を行い採血し、全血ポリアミンの定量を行った。

臨床例は、昭和 53 年 7 月から昭和 54 年 12 月までの当科の入院患者のうち、尿管結石等の患者で、感染もなく生化学検査でも全く異常所見の認められない全身状態良好な成人患者を正常群 (8 例) とし、膀胱腫瘍 (17 例)、前立腺癌 (7 例)、睪丸腫瘍 (8 例) の 3 種の癌患者をそれぞれ 1 群として採血し、全血ポリアミン濃度を測定した。さらに、これとは別に種々の泌尿器科癌患者で、広汎な転移が見られ、臨床的に末期と考えられる癌患者を末期癌患者群 (11 例) として 1 群を設けた。また前立腺肥大症 (13 例) は悪性腫瘍ではないが、ポリアミンが精液中に多量に含まれる事よりポリアミンの産生と何らかの関連があるのではないかと考え、別の 1 群とした。

さらに前述の癌患者を治療法別に大別し、化学療法および放射線療法等の非観血的療法を施行した群 8 例と、手術により腫瘍を摘除した観血的療法群 8 例の 2 群に分け、非観血的療法群では治療前、治療中、治療後の 3 回、全血ポリアミン濃度の測定を行い、観血的療法群では術前と術後の 2 回全血ポリアミン濃度の測定を行い、その変動を見た。なお、非観血的療法群の治療後および

観血的療法群の術後の測定は、それぞれ治療および手術後少なくとも 1 週間以上経過した後検体採取を行った。

また全血中ポリアミンは、その大部分が赤血球に含まれ、血清中ポリアミン濃度は極めて低い事が報告されており¹¹⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾臨床例については血清中ポリアミン濃度は無視できると仮定して、ヘマトクリット値より赤血球 1ml 当りのポリアミン濃度を算出し、その結果についても検討を行った。

測定方法

全血ポリアミン濃度の測定はダンシル化薄層クロマトグラフィー法を用い、putrescine, spermidine, spermine (以後 put., spd., spm. と略す。) の別に測定した。この測定原理は、被検液にダンシルクロライドを加えて反応させ、全てのポリアミンをダンシル化ポリアミンとして、薄層クロマトグラフィーに展開する事により、put., spd., spm. の別に分離抽出した後、その発する蛍光によりポリアミンの定量を行う方法である²⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。(Fig. 1) すなわち、血液に同量の 4% 過塩素酸 (PCA) を加えて充分に混和し、これを遠沈して除蛋白を行った後、2% PCA 0.1 ml に標準液 (put. 2.5nmol/ml, spd. 10nmol/ml, spm. 5nmol/ml) をそれぞれ 5 μ l, 10 μ l を加えたものを作成してこれをスタンダードとし全く加えないものをブランクとする。次いでサンプルを 0.1ml ずつ取り、先に作成したスタンダードおよびブランクとともに無水炭酸ナトリウムを 15mg ずつ加えてアルカリ性とした後、これにダンシルクロライドのアセトン溶液 (30mg/ml) を 0.2 ml ずつ加えて常温 (冬季は 16°C) にて 16 時間暗所で反応させポリアミンをダンシル化する。その後これにプロリン溶液 (150mg/ml) 0.05ml を加えて暗所で約 20 分間反応させ余分のダンシルを取り除いた後、0.2ml のベンゼンを加えて約 20 分間攪拌しダンシル化ポリアミンをベンゼン層に抽出、この 50 μ l をシリカゲル薄層に apply し、酢酸エチル 20ml, シクロヘキサン 30ml 混合液により 120 分間展開する。ポリアミンは分子量の差により薄層上に下より spm., spd., put. の順に泳動される。展開後これを乾燥させ、トリエタノールアミン; イソプロパノール (1:4) を噴霧し、蛍光を安定化した後 U-V ライト (マナスライト, マナス工業) にて 254nm の光線を当てて蛍光を発生させ、スタンダードと比較してその蛍光をマークし、これにメタノール・アンモニウム (95:5) を加えて 15 分間混合し、put., spd., spm. を抽出し、この蛍光を蛍光分光光度計 (日立製作所, 204-R) にて測定する。(メタノールアンモニウムを 0 とし、

Fig. 1 Polyamines determination method

365nm で励起, 500nm で測定) このようにして得られた値をスタンダードと比較して各試料内に含まれる各ポリアミン量を求め, さらにそれに試料の稀釈倍数20を掛けて全血中ポリアミン濃度 (nmol/ml) とする (Fig. 1).

結 果

全血中の put. 濃度はラット・ヒトとも極めて低く, 今回の我々の測定方法では測定限界以下であり, 今回の検討は, spd., spm. についてのみ施行した.

1. 動物実験成績

正常の ACI/N ラットにおける全血ポリアミン濃度は, spd. 28.8 ± 4.4 nmol/ml, spm. 9.4 ± 2.4 nmol/ml で, spd./spm. 比は3.1であつたが BC-47移植後5日目には spd. 41.0 ± 5.7 nmol/ml, spm. 13.9 ± 2.7 nmol/ml と有意の上昇 ($p < 0.05$) を示したが, spd./spm. 比は2.9と変化なく, spd., spm. とも並行した上昇を示した. 全血ポリアミン濃度は以後漸増したが15日目のみ spd. 濃度が 57.3 ± 6.2 nmol/ml と10日目の 69.4 ± 11.7 nmol/ml より低下している. なおこの時の spd./spm. 比は2.4と低値を示した. 全血ポリアミン濃度は15日目以後上昇を続け, 30日目には spd. 141.7 ± 27.6 nmol/ml, spm. 32.8 ± 7.9 nmol/ml と著明な高値を示し, spd./spm. 比も4.3と上昇した. ラットは BC-47移植後約30日で死亡した.

2. 臨床成績

Fig. 2 Polyamine levels of whole blood in BC-47 bearing rats.

a) 各種癌患者および前立腺肥大症患者と正常人との比較.

正常人 ($n=8$) の全血ポリアミン濃度は, spd. 16.7 ± 4.6 nmol/ml, spm. 11.2 ± 2.5 nmol/ml, spd./spm. 比は1.49で, ヘマトクリット値により補正した赤血球1ml中の spd. は 40.1 ± 12.8 nmol/ml, spm. 26.7 ± 7.0 nmol/ml であつた. これを癌患者におけるポリアミン濃度と比較すると, spd. 濃度では, 膀胱癌 ($n=17$) 19.1 ± 3.6 nmol/ml (Ht. 補正; 50.3 ± 10.6 nmol/ml) 前立腺癌 ($n=7$) 25.2 ± 7.8 nmol/ml (Ht. 補正; 86.3 ± 47.5 nmol/ml, 睾丸腫瘍 ($n=8$) 21.4 ± 9.8 nmol/ml (Ht. 補正; 57.0 ± 32.1 nmol/ml) とすべて正常者より高値を示したが, 症例数が少ない事もあつて, 正常者と有意の差が見られたのは前立腺癌患者のみであつた. spm. 濃度も spd. 濃度と同様, 膀胱癌 14.0 ± 2.8 nmol/ml (Ht. 補正; 37.3 ± 7.7 nmol/ml), 前立腺癌 14.2 ± 5.8 nmol/ml (Ht. 補正; 50.0 ± 33.7 nmol/ml), 睾丸腫瘍 15.3 ± 5.6 nmol/ml (Ht. 補正; 40.4 ± 19.5 nmol/ml) と正常者に比し高値を示したが, 有意の差は認められなかつた. 一方末期癌患者におけるポリアミン濃度は spd. 31.5 ± 5.5 nmol/ml, spm. 18.3 ± 4.2 nmol/ml と極めて高いレベルを示し, 正常人と比較して spd., spm. とともに明らかな有意差を認められた ($p < 0.05$). また, ヘマトクリット値にて補正した赤血球中ポリアミン濃度は末期癌患者では, spd. 106.8 ± 27.5 nmol/ml, spm. 63.2 ± 20.1 nmol/ml と spd., spm. とともに正常者の約2.5倍もの高値を示し正常者との差はより顕著であつた. 末期癌患者における

Fig. 3 Polyamine levels of whole blood in urological cancer.

Fig. 4 Polyamine levels of red cell compartment in urological cancer. (corrected by Ht. value)

spd./spm. 比は1.72であり、正常者の1.49より高く, spm. の上昇より spd. の上昇の方が優位であつた。一方、前立腺肥大症患者でも全血中ポリアミン濃度の上昇が見られ、spd. 24.3 ± 3.7 nmol/ml (Ht. 補正; 62.8 ± 9.2 nmol/ml) spm. 14.3 ± 2.6 nmol/ml (Ht. 補正; $36.8 \pm$

6.6 nmol/ml) と正常者と比較して有意に高値を示した ($p < 0.05$).

b) 癌に対する治療と全血ポリアミン濃度の変動

癌に対する治療法を手術的に癌を摘除し得た観血的療
法群と、radiation 及び chemotherapy 等を施行した非観

Fig. 5 Pre and post-operative polyamine levels in urological cancer.

血的療法群において観察した。

観血的療法群における術前の全血中ポリアミン濃度は, spd. $20.2 \pm 5.8 \text{ nmol/ml}$, spm. $12.1 \pm 2.1 \text{ nmol/ml}$ であり, 術後は spd. $21.9 \pm 6.0 \text{ nmol/ml}$, spm. $12.4 \pm 2.0 \text{ nmol/ml}$ で, 術前術後を通してほとんど変動は見られなかった。

一方, 非観血的療法群では治療開始後全血中ポリアミン濃度の有意の上昇が認められた。 ($p < 0.05$) すなわち, 治療前の全血中ポリアミン濃度は, spd. $11.8 \pm 4.2 \text{ nmol/ml}$, spm. $11.8 \pm 2.5 \text{ nmol/ml}$ であつたが, 治療開始約1週間後の全血ポリアミン濃度は, spd. $27.1 \pm 15.1 \text{ nmol/ml}$, spm. $18.6 \pm 6.7 \text{ nmol/ml}$ と有意に上昇し, 治療後 spd. は $18.9 \pm 4.0 \text{ nmol/ml}$ と治療前と比較してなお高値を示しているが, spm. は $14.9 \pm 3.7 \text{ nmol/ml}$ と治療前値と有意差なく低下の傾向を示している。

考 案

ポリアミンは, 1678年 Leeuwenhoek によって人の精液中にリン酸塩の結晶として見出されたのが最初であるが, その後生物界に広く分布する生体アミンである事が知られるようになり, 近年その代謝および生理作用の研究が進むにつれ, 核酸や蛋白代謝との密接な関連が指摘され注目を浴びるようになった。特に1971年 Russell ら

Fig. 6 Whole blood polyamine levels during radiation therapy and chemotherapy.

が癌患者における尿中ポリアミン排泄の増加を報告して以来, 新しい腫瘍のマーカーとして関心が高まり, 各種体液中のポリアミン濃度が測定され種々の報告が見られるようになった⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾²⁰⁾。今回われわれは癌増殖と全血ポリアミン濃度に関する基礎実験として, 膀胱腫瘍の継代培養株である BC-47 を ACI/N ラットに移植して腫瘍の増殖と全血ポリアミン濃度につき検討を行つたが, 全血ポリアミン濃度は移植後5日目より有意に上昇し, 以後ラットが死に至るまで漸増する傾向を示し, 腫瘍によるポリアミンの産生を推測させるものであつた。しかしながら, この経過中, 15日目のみ spd. の軽度低下が見られ, この低下の原因について検討を行つたが不明であつた。一方, 臨床例では各種癌患者における全血ポリアミン濃度は他の報告¹¹⁾²¹⁾²²⁾と同様 spd., spm. とともに正常と比較して高値を示したが, 症例数が少ないこともあつて有意の差は見出し得なかつた。しかしながら, 末期癌患者では全血ポリアミン濃度は極めて高いレベルを示し, 正常者との間には明らかな有意差が認められた。血液中のポリアミンは赤血球中にその大部分が含まれるため, 臨床例での比較の場合は全血中ポリアミンより, 赤

血球中ポリアミンの方がより適切と思われるがヘマトクリット値より補正した赤血球中ポリアミン濃度での検討では正常者と癌患者との差はいつそう顕著なものとなつた。

癌の種類別における全血ポリアミン濃度の検討では、各種癌患者の間で有意の差は認められなかつたが、前立腺癌患者では、他の癌患者に較べてやや高い傾向を示した。これは、前立腺癌の発症が遅く、他の癌に較べ発見が遅れるためではないかと考えられ、前立腺癌におけるポリアミン産生が特異的に多いためではないと考えられた。また、組織学的に絨毛上皮腫と診断された睾丸腫瘍で、極めて高い全血ポリアミン濃度を示した1例が認められたが、この症例の場合、腫瘍は極めて大きく、広汎な中心壊死を伴なつており、おそらく大量の癌細胞の崩壊により、多量のポリアミンが血中に流入したためと考えられた。この事は全血ポリアミン濃度を癌の進行度の指標に用いる際の1つの限界を示すものとも思われる。以上のように、癌の種類にかかわらず、癌患者における全血ポリアミン濃度の平均は正常者と比較して高値を示すが、早期癌患者では正常者との間に有意差はなく、著明な高値を示すのは、末期癌患者および大量の壊死を伴う癌患者においてのみである。これには、癌細胞によるポリアミンの産生以外にポリアミンの代謝、排泄等の因子が大きく関与しているものと思われ、今後のさらに詳細な検討が待たれるが、現時点では、全血あるいは赤血球中ポリアミン濃度を癌の早期診断に用いる事は極めて困難と言わざるを得ない。一方、癌に対する治療と全血ポリアミン濃度との検討では、全血ポリアミン濃度と癌に対する治療は比較的良く相関するように思われた。すなわち、治療法別の検討において、手術的に癌病巣の摘除を行つた観血的療法群では、術前、術後とも全血ポリアミン濃度は正常者と変わらず、治療による変動は見られなかつたが、放射線療法や、化学療法等を施行した非観血的療法群では、治療開始後全血ポリアミンの著明な上昇が見られ、治療開始前と比べ明らかな有意差が認められ ($p < 0.05$)、治療終了後再度低下し、治療前の値に復するような傾向を示している。このような全血ポリアミン濃度の変動は、治療により癌細胞が崩壊し、細胞内ポリアミンが血中に多量に流入したためと考えられる。Russell, Durie とも同様の報告をしており²³⁾²⁴⁾²⁵⁾、血中および尿中ポリアミン濃度の変動は、抗癌剤や放射線療法の効果判定の重要な指標となると述べており、ポリアミンの臨床応用への一つの道を示すものとして注目され

るが、放射線や抗癌剤による正常組織への障害をどう評価するか等なお多くの問題を残しており、今後の検討が必要である。また今回の検討で興味を持たれた事は、良性腫瘍である前立腺肥大症において全血ポリアミン濃度が癌患者よりも高いレベルを示し、正常者との間に、spd., spm. とも有意の差が見られた事である。従来人の精液中には多量のポリアミンが含まれていることが知られており、不妊症との関連について検討を加えた報告も見られるが²⁶⁾²⁷⁾、現在の所、精液中のポリアミンの生理的な役割はなお不明である。前立腺肥大症患者において全血ポリアミン濃度が高値を示す事は、前立腺、特にその腺腫におけるポリアミンの産生を推測させ極めて興味深い。

結 語

1. ラットによる動物実験では腫瘍移植後全血ポリアミンは漸増し、腫瘍増殖と全血ポリアミン濃度の間に関連が見られた。
2. 臨床例では、末期癌患者の全血ポリアミン濃度は極めて高く、正常者との間には明らかな有意差が認められたが、早期癌患者と正常者との間では差は認められず、全血ポリアミン濃度と癌の進行度とは必ずしも平行しなかつた。このことより、現時点で、全血ポリアミン濃度を癌の早期診断に用いることは困難と思われた。
3. 全血ポリアミン濃度の上昇は、癌の種類とは関係がなかつた。
4. 全血ポリアミン濃度は、抗癌剤や放射線による治療により上昇し、治療効果の判定に有用と思われたが、正常組織の障害の程度の判定等なおいくつかの問題点があり今後の検討が待たれる。
5. 全血ポリアミン濃度は前立腺肥大症患者において、正常者と比較して有意に高値を示し、興味を持たれた。

(稿を終えるにあたり、御指導、御協力下さった徳島大学歯学部生化学教室の竹田義郎教授、井上秀夫助教授に深く感謝致します。なお論文の要旨は第67回日本泌尿器科学会総会において発表した)。

文 献

- 1) Tabor, H. and Tabor, C.W.: Spermidine, spermine and related amines. *Pharmacol. Rev.*, **16**, 254—300, 1966.
- 2) Cohen, S.S.: Introduction to the polyamines. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1971.
- 3) 井上秀夫, 竹田義郎, 大工原恭: ポリアミン。

- 生化学実験講座11. —アミノ酸代謝と生体アミン(下)—, 951—994, 1976.
- 4) 代謝—特集ポリアミン—, 9 (11), 1972.
 - 5) Bacharach, U.: Function of naturally occurring polyamines. Acad. Press, Inc. N.Y. and London, 1973.
 - 6) ホルモンと臨床: 特集「ポリアミン」23, 1—32, 1975.
 - 7) 遠藤康夫, 鮫島啓二郎: ポリアミン. 医学のあゆみ, 106, 282—287, 1978.
 - 8) Russell, D.H.: Increased polyamines concentrations in the urine of cancer patients. *Nature*, 233, 144—145, 1971.
 - 9) Russell, D.H., Levy, C.C., Schimpff, S.C. and Hawk, I.A.: Urinary polyamines in cancer patients. *Cancer Res.*, 31, 1555—1558, 1971.
 - 10) Janne, J., Poso, H. and Raina, A.: Polyamine in rapid growth and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 473, 241—293, 1978.
 - 11) 植原典美, 佐伯行一, 白川 茂, 堂前尚親, 内野治人: 癌患者における赤血球ポリアミン量の検討. 医学のあゆみ, 107, 23—25, 1978.
 - 12) Preeda Chaisiri and Maureene Harper: Plasma spermidine concentrations in patients with tumours of the breast or prostate or testis. *Clinica. Chimica. Acta.*, 104, 367—375, 1980.
 - 13) Russell, D.H., Durie, B.G.M. and Salmon, S.E.: Polyamines as predictors of success and failure in cancer chemotherapy. *Lancet*, 2, 797—799, 1975.
 - 14) Bachrach, U.: Polyamines as chemical markers of malignancy. *Ital. J. Biochem.*, 25, 77—93, 1976.
 - 15) 遠藤康夫, 東海林紀美, 三田村圭二, 鈴木 宏, 織田敏次: 血中ポリアミン定量による癌診断の試み. 医学のあゆみ, 98, 485—488, 1976.
 - 16) James, R., Shipe, P.H.D. Jr. and John Savory, P.H.D.: High performance liquid chromatographic separation and fluorescence detection of polyamines in plasma and erythrocytes. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 10, 128—136, 1980.
 - 17) Frantisek Bartos, Dagmar Bartos, Donald P. Grettie, Robert A. Cambell, Laurence J. Marton, Ronald G. Smith and G. Doyle Daves, Jr.: Polyamine levels in normal human serum. Comparison of analytical methods. *Biochem. and Biophys. Res. Communi.*, 75, 915—919, 1977.
 - 18) Fleisher, J.H. and Russell, D.H.: Estimation of urinary diamines and polyamines by thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.*, 110, 335—340, 1975.
 - 19) Seiler, N.: Use of dansyl reaction in biochemical analysis. *Methods Biochem. Anal.*, 18, 259—337, 1970.
 - 20) Chaisiri, P., Harper, M.E. and Griffiths, K.: Plasma spermine concentrations of patients with benign and malignant tumours of the breast or prostate. *Clin. Chim. Acta.*, 92, 273—282, 1979.
 - 21) Yukikazu Saeki, Noriyoshi Uehara and Shigeru Shirakawa: Sensitive fluorimetric method for the determination of putrescine, spermidine and spermine by highperformance liquid chromatography and its application to human blood. *Journal of Chromatography*, 145, 221—229, 1978.
 - 22) James R. Schipe, Jr. and John Savory: High performance liquid chromatographic separation and fluorescence detection of polyamines in plasma and erythrocyte. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 10, 128—136, 1980.
 - 23) Russell, D.H., Durie, B.G.M. and Salmon, S.E.: Polyamines as predictors of success and failure in cancer chemotherapy. *Lancet*, 2, 797—799, 1975.
 - 24) Durie, B.G.M., Salmon, S.E. and Russell, D.H.: Polyamines as markers of response and disease activity in cancer chemotherapy. *Cancer Res.*, 37, 214—221, 1977.
 - 25) Russell, D.H., Looney, W.B., Kovacs, C.J., Hopkins, H.P., Dattilo, J.W. and Morris, H.P.: Changes in serum putrescine and spermidine levels following local radiation to hepatoma 3924A of the rat. *Cancer Res.*, 36, 420—423, 1976.
 - 26) William R. Fair, M.D., Robert B. Clark and Nancy Wehner: A correlation of seminal polyamine levels and semen analysis in the human. *Fertility and Sterility*, 23, 38—42, 1972.
 - 27) White, I.G.: The effect of some seminal constituents and related substances on diluted mammalian spermatozoa. *Aust. J. Biol. Sci.*, 7, 379—390, 1954.

(1981年12月10日受付, 特別掲載)