精路に関する臓器での N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) isoenzyme について

大阪市立大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 前川正信教授)

安達 高久 川嶋 秀紀 森 勝志 田中 重人
浅川 正純 安本 亮二 前川 正信

N-ACETYL- β -GLUCOSAMINIDASE IN TISSUES OF VARIOUS HUMAN UROGENITAL ORGANS

Takahisa Adachi, Hidenori Kawashima, Shigeto Tanaka, Katsushi Mori,
Masazumi Asakawa, Ryoji Yasumoto and Masanobu Maekawa
Department of Urology, Osaka City University Medical School
(Director: Prof. M. Maekawa)

The urinary level of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) was reported to be a useful marker for the assessment of renal function. This enzyme was also detected at a high activity in seminal fluid. In our preliminary report, seminal NAG activity was 1,000 times higher than urinary NAG level in healthy volunteers. Moreover, the fraction ratio A to B isozymes was changed in seminal fluid independently from that in urine. In order to study the source of seminal NAG, NAG activity and the isozomal fraction were determined in the tissues of the genital organs (prostate, testis, epididymis, and seminal vesicle) as well as the urinary organ (kidney). Various levels of NAG activities were obtained, the mean tissue concentration (Unit/g protein) being 26.7 ± 2.4 , 43.3 ± 30.5 , and 8.75 ± 0.72 unit/g, respectively, in the testis, epididymis and seminal vesicle. In particular the mean concentration of 97.7 ± 23.3 was significantly high in the prostate. In regard to the isozyme fraction of NAG, B fraction (%) accounted for 15.1 ± 5.5 , 33.6 ± 8.2 , 37.7 ± 0.1 , and 70.6 ± 4.5 percent, respectively, in the testis, epididymis, seminal vesicle and prostate. It was to note that the A to B fraction ratio in the prostate corresponded to that in the seminal fluid. These results suggest that seminal NAG is mainly from the prostate.

要旨: 尿中 NAG 活性は腎障害の指標として有用視されているが, 本酵素は精液中にも高い活性が認められることが知られている。健常者の精漿中 NAG 活性および NAG アイソザイム分画を測定したところ, NAG 活性については尿中のものに比べて1000倍の値を示し, またそのアイソザイム分画における A 対 B の比率の検討より, 尿中のものに比べまったく異なることが認められた。精漿中 NAG の由来について検討するため, ヒトの精路に関する臓器 (辜丸, 副辜丸, 精嚢腺, 前立腺) と尿路に関する臓器 (腎臓) を用いて NAG 活性とそのアイソザイム分画の測定を行った。その結果, NAG 活性 (U/g Protein) は, 前立腺では 97.8 ± 23.3 (Mean $\pm$ SD), 辜丸 26.7 ± 2.4 , 副辜丸 43.3 ± 30.5 , 精嚢腺 8.75 ± 0.72 で, 前立腺は其中でも著明な高値を示した。また NAG アイソザイム分画 (A : B) を調べた結果, B 分画 (%) は辜丸 15.1 ± 5.5 , 副辜丸 33.6 ± 8.2 , 精嚢腺 37.7 ± 0.1 , 前立腺 70.6 ± 4.5 の順に増加していた。とくに, 前立腺での A 対 B の比率は精漿中 NAG アイソザイム分画比に類似していた。これらのことにより, 精漿中の NAG の由来が前立腺であると考えられた。

結 言

N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) は, 分子量約12万で腎近位尿管細胞に特に多く含まれ, ムコ多糖類や糖蛋白の分解に関与している Lysosome 中の

水解酵素の一つである。また尿中 NAG 活性は, 腎障害, 急性腎不全, 慢性腎不全, ネフローゼ症候群などで上昇することが知られており, 各種腎疾患の診断および経過観察, 腎移植後の拒絶反応の診断や, アミノ

グリコシドなどの腎毒性物質による尿細管障害の指標として臨床に利用されている^{1)~3)}。しかしながら、尿中 NAG 活性の上昇は、単に腎障害のみならず、前立腺炎症例および精液混入においても認められるとの報告⁴⁾もある。今回、私たちは精漿中 NAG の由来について検討するため、ヒトの精路に關係する臓器別の NAG 活性とそのアイソザイム分画を測定したので報告する。

材料と方法

1. 試料とその調整

A. 試料

健康者 (21~40歳) からの尿 (20例) と精液 (10例) を試料とし、尿については精子の混入がないことを確認した。臓器中 NAG 測定用として、被膜式前立腺摘出術または膀胱摘出術にて得られた前立腺と精囊腺を、除睾術にて得た睾丸・副睾丸を試料とした。対照として腎摘出術にて得た腎臓を用いた。

B. 試料の調整

1) 活性測定用

尿は2500回転10分間遠沈後上清を試料とした。精液は3000回転10分間遠沈後精漿を分離し、さらに生食で50倍に希釈し活性測定に供した。また、臓器は細切後0.04% Triton X-100 入り0.25M Sucrose 溶液10ml 中でhomogenize し3000回転10分間遠沈後、上清を試料とした。

2) アイソザイム分画測定用

尿は1. で調整した試料をアミコン B-15 (ミニコン社) により濃縮させ、NAG 活性が30~40単位になるように調整した。精漿及び臓器は、生食で希釈し40~60単位になるように調整した。

2. 方法

A. NAG 活性の測定

人工基質 m-cresolsulfonphthaleinyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide (MCP-NAG) を用いる方法の試薬キット“NAG テストシオノギ”を使用した。

B. NAG アイソザイム分画の測定

NAG アイソザイムの測定は、福島ら⁵⁾の方法を一部修正して行った。すなわち調整した試料10 μ l をTitan-3-lipo (ヘレナ社製)、cellulose-acetate 膜に塗布し冷却しながら180v、40分間電気泳動を行い、同支持体に塗布した9mM MCP-NAG をサンドイッチ法にて反応させ、炭酸ナトリウムで停止させると同時に発色させ直ちに densitometry を行った。

結 果

表1に示すように、健康者における精漿中 NAG 活

表1 健康人における尿中及び精漿中の NAG 活性とそのアイソエンザイム分画

	N	NAG (U/L)	NAG Isoenzyme	
			A (%)	B (%)
尿	男子	14	2.68 ± 1.29	79.7 ± 6.8
	女子	6	2.67 ± 1.15	74.1 ± 4.3
	総計	20	2.68 ± 1.22	78.0 ± 6.6
精漿	10	3232.3 ± 859.1	24.9 ± 3.3	75.0 ± 3.3

表2 臓器別 NAG 活性とそのアイソエンザイム分画

	N	NAG (U/g Protein)	NAG Isoenzyme	
			A (%)	B (%)
睾丸	3	26.7 $\pm$ 2.4	84.8 $\pm$ 5.5	15.1 $\pm$ 5.5
副睾丸	3	43.3 $\pm$ 30.5	66.3 $\pm$ 8.2	33.6 $\pm$ 8.2
精囊腺	2	8.8 $\pm$ 6.7	62.2 $\pm$ 0.1	37.7 $\pm$ 0.1
前立腺	3	97.8 $\pm$ 23.3	29.3 $\pm$ 4.5	70.6 $\pm$ 4.5
腎臓	2	77.0 $\pm$ 8.5	74.9 $\pm$ 3.0	25.0 $\pm$ 3.0

図1 臓器別 NAG 活性

性は、尿中のものに比べて1000倍以上の値を示し、アイソザイム分画のA対Bの比率は尿中のものと全く異なっていた。また、尿中 NAG 活性の男女差は認められなかった。臓器中 NAG 活性とそのアイソザイム分画を測定した結果は、表2に示すように、NAG 活性は腎臓、前立腺、副睾丸においてともに高値を示し、それらの値は睾丸 ($p < 0.005$), 精囊腺 ($p < 0.005$) と比べて有意に高かった。精路に関する臓器での比較では、前立腺が最も高く、副睾丸、睾丸、精囊腺の順に低かった (図1)。そのアイソザイム分画については、睾丸、

図2 臓器別アイソザイム分画

副辜丸, 精嚢腺, 前立腺の順に B 分画の占める割合が高くなり前立腺は他の臓器と比べて有意に高い傾向 ($p < 0.005$) を示した (図2)。

考 察

ヒトの精漿中で NAG 活性が高値を示すことは, Gupta ら⁶⁾によってすでに報告されている。今回行った尿と精漿中の NAG 活性の比較, さらにそのアイソザイム分画を測定した結果, 精漿中 NAG 活性は尿中のものに比べ1000倍以上の活性を示すとともに, そのアイソザイム分画 A 対 B の比が逆転することを認めた。このことより尿中の NAG と精漿中の NAG はそれぞれ関与する臓器において, その生化学的な役割を異にしていると考えられた。このアイソザイムの名称については, まだ尿のものと精漿のものとその生化学的な面からや酵素としての特性からの検討を行っていないが, 私たちの行った電気泳動法で同時に泳動させた尿中 NAG と精漿 NAG の移動度がほぼ同じであった点から, 今回それぞれのピークに A, B と名称した。しかし, ピーク B には他のピークのものも含まれている可能性もあり, この点は今後の研究課題と考える。

次に, 精漿中の NAG の由来について検討するため, 精路に関する臓器の NAG 活性とそのアイソザイム分画を測定したところ, NAG 活性については, 前立腺が一番高く 97.8 ± 23.3 (U/g Protein) で, つづいて副辜丸, 辜丸, 精嚢腺の順に低くなっていた。この値は吉田ら⁷⁾による報告とほぼ同じであったが, 辜丸についてはわれわれの測定値がかなり高い値を示した。この違いは発育未熟な辜丸を検討したためと考えられる。また, NAG アイソザイム分画についてみると, B 分画の割合が, 辜丸, 副辜丸, 精嚢腺, 前立腺の順に高い値を示した。

NAG の生体内での役割については現在よく解明さ

れていないが, Beccari ら⁸⁾はラットおよびヒトの副辜丸における β -hexosaminidase を調べた結果, この酵素が精子の発育過程に関係していると述べている。人についての検討した報告はみられないが, 私たちの得た成績, すなわち NAG 活性については前立腺が最も高く, 次に副辜丸が高値を示したことから, さらに NAG アイソザイム B 分画の臓器内分布の結果とをあわせて考えると, 精子の発育や成熟の過程に NAG が何らかの関与をしているものと考えられた。特に, NAG アイソザイムの B 分画は, hexosamine の生成速度を調整する役割を持っているのではないかと思われた。

また, すでに一部報告している様に⁹⁾, 精漿中の NAG の由来について Vasectomy 前後の NAG アイソザイム分画を2症例について測定したところ, パターンの変化がないことから, 精漿中の NAG アイソザイムの B 分画は主に前立腺に由来すると思われた。

結 語

尿, 精漿ならびに精路に関する臓器(辜丸, 副辜丸, 精嚢腺, 前立腺)の NAG 活性とそのアイソザイム分画を測定した結果, 尿と精漿中の NAG はそれぞれが関与する臓器での働きが異なることが考えられた。また, 精漿中の NAG が前立腺に由来することがアイソザイムの検討で推測された。

本論文の要旨は第7回日本アンドロロジー学会並びに第21回国際泌尿器科学会にて発表した。この研究に際して大阪市立北市民病院検査科, 山本昌彦, 土井和仁両氏のご協力に感謝いたします。

文 献

- 1) Kind, P.R.N.: N-acetyl- β -D-glucosaminidase in urine of patients with renal disease, and after renal transplants and surgery. Clin. Chim. Acta, 119, 89—97, 1982.
- 2) Whiting, P.H., Ross, I.S. and Borthwick, L.J.: N-acetyl- β -D-glucosaminidase levels and the onset of diabetic microangiopathy. Ann. Clin. Biochem., 20, 15—19, 1983.
- 3) Gilbey, R., Dupond, J.L. and Henry, J.C.: Uriary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) isoenzyme profiles; a tool for evaluating nephrotoxicity of aminoglycosides and cephalosporins. Clin. Chim. Acta, 137, 1—11, 1984.
- 4) 安本亮二, 小早川等, 柿木宏介, 川嶋秀紀, 梅田優, 前川正信: 前立腺炎症例における N-acetyl- β -glucosaminidase の変動について。泌尿紀要, 32, 841—845, 1986.
- 5) 福島昭典, 長沢俊彦: 尿中 N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) isoenzyme の分画測定

- と腎疾患におけるその測定の臨床的意義. 日内会誌, 73, 1140—1148, 1984.
- 6) Gupta, G.S. and Agarwal, P.: Immunological characteristics of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) from human seminal plasma. Indian J. Biochem. Biophys., 19, 37—40, 1982.
- 7) 吉田謙一郎, 中目康彦, 高橋 卓, 斉藤 博, 木原和彦: ヒト精液中の NAG 活性についての研究—その基礎的検討—. 泌尿紀要, 33, 391—395, 1987.
- 8) Beccari, T., Lombi, R., Datti, A., Porena, M., Pezzetti, F. and Orlicchio, A.: Hormonal regulation of β -hexosaminidase in human and rat epididymis. Proceeding of Int. Forum Andrology, 104, 1988.
- 9) 安本亮二, 浅川正純, 山本昌彦, 土井和仁, 柿木宏介, 川嶋秀紀, 梅田 優, 前川たかし: 尿中逸脱酵素・蛋白に関する研究. 第1報: 尿中器科疾患での N-acetyl- β -glucosaminidase. 泌尿紀要, 33, 807—811, 1987.

(1988年10月5日受理)