腎細胞癌における組織, 血液, 尿中ポリアミンの臨床的意義

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 河田幸道教授)

小 出 卓 也

THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF TISSUE, BLOOD AND URINE POLYAMINE IN RENAL CELL CARCINOMA

Takuya Koide

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

(Director: Prof. Y. Kawada, M.D.)

With the use of a newly developed and convenient enzymatic method, tissue, urine and blood polyamine (diamine, spermidine and spermine) levels were evaluated as a tumor marker of renal cell carcinoma (RCC) in 50 cases with the disease. Furthermore, blood and urine polyamines were periodically determined and evaluated as a follow-up marker. The pretreatment three polyamine levels in tissue, blood and urine of the patients were all significantly higher than those of the controls. However, because of their low sensitivities, they were not always decisive for biochemical diagnosis of RCC. Tissue spermidine levels were increased with the advance of the stages. Tissue diamine level also showed a good correlation with the pathological grade. Tissue diamine was found to predict distant metastasis. Blood spermidine and urine diamine were useful as follow-up markers. In conclusion, combined determination of tissue, blood and urine polyamine levels was thought to be useful as tumor markers of RCC.

Key words: polyamine, renal cell carcinoma, tumor marker

要旨: 腎細胞癌50例の組織, 血液および尿中のポリアミン(diamine, spermidine, spermine)を新しい簡便な酵素法により分別定量し, 腫瘍マーカーとしての臨床的意義を検討した。癌患者群では対照群に対し, 組織中の spermidine($p<0.01$), 血中の3分画($p<0.05$), 尿中の diamine および spermidine($p<0.05$)などが, 有意に高値を示した。組織, 血液および尿中の3分画とも病期が進むにつれて高値を示し, 特に組織中の spermidine において顕著であった。組織中の diamine は組織学的異型度が進むにつれて高値を示した。また, 組織中の diamine は転移性再発の有無との相関を示した。術後の経過観察中に転移性再発を示した9例の血液および尿について検討したところ, 血中の spermidine と尿中の diamine が, 転移性再発後に有意に高値を示した($p<0.01$)。しかし, 非再発例では, 血液および尿中の3分画は有意な上昇を示さなかった。治療経過および転移性再発の指標として, 特に血中の spermidine および尿中の diamine が有用であると思われた。以上より, 組織, 血液および尿中のポリアミンは, 組み合わせて測定することにより腎細胞癌の腫瘍マーカーとして病態を把握するうえで有意義であると思われた。

キーワード: ポリアミン, 腎細胞癌, 腫瘍マーカー

結 言

ポリアミンは, 複数のアミノ基を有する直鎖の脂肪族炭化水素化合物の総称であり, 生物界に広く存在し, 核酸やタンパク質の合成や安定化, あるいは細胞の増殖や機能的分化に重要な役割を果たしていることが知られている。1971年 Russell ら¹⁾が癌患者における尿中

ポリアミンの増加を報告して以来, 腫瘍マーカーとして注目され, 尿のほか血液²⁾・脳脊髄液³⁾などの各種体液中で測定されて臨床的に検討されている。さらに, 細胞増殖の盛んな癌組織ではポリアミンの合成, 蓄積が亢進し細胞内濃度が増加しているといわれ, 体液中のポリアミン値には悪性腫瘍病巣との相関において不

安定な要素があることから、腫瘍組織中のポリアミンの測定が望まれている⁴⁾。

われわれは、従来のアミノ酸分析法²⁾や高速液体クロマトグラフ法⁵⁾などに比して、新しい簡便な酵素法を開発して、尿路性器癌患者の組織⁶⁾、血液⁷⁾、尿⁸⁾におけるポリアミン濃度を測定し、その臨床的意義について検討してきた。今回、有力な特異的腫瘍マーカーが未だ確立されていない腎細胞癌について、組織、血液、尿中のポリアミンを測定し、血液および尿に関しては長期間の経過観察を加えて、腫瘍マーカーとしてのポリアミンの臨床的意義を検討したので報告する。

対象および方法

対象は主に岐阜県立岐阜病院で手術を施行し、組織学的に腎細胞癌と診断された50例（男子38例、女子12例、平均年齢63.1歳）である。病期はRobsonらの分類⁹⁾に従い、stage I 18例、stage II 14例、stage III 9例、stage IV 9例であった。組織学的異型度は腎癌取扱規約¹⁰⁾に従い、G1 12例、G2 35例、G3 3例であった。組織学的細胞型も腎癌取扱規約¹⁰⁾に従い、clear cell type 40例、alveolar cell type 7例、mixed cell type 3例であった。術前に遠隔転移を認めなかったstage I～IIIの41例について、術後1～4年の経過観察中に転移性再発を認めた転移性再発例は9例であり、術後1年以上再発を認めなかった非再発例は32例であった。

対照としては、組織に関してはそれぞれの摘出腎から肉眼的・組織学的に健常部の腎皮質組織を採取して

Fig. 1 Principles and methods for determination of diamine, spermidine and spermine

Fig. 2 Protocols for isolation and determination of polyamine in tissue

測定し、血液は健常成人25例、尿は健常成人20例から採取した。

測定原理は第1報¹¹⁾で詳説した (Fig. 1)。測定方法は、既報^{11)~13)}で述べたとおり、組織、血液および尿をそれぞれ前処理後、陽イオン交換樹脂を含むカラムに添加し、0.5N HClでポリアミンを溶出させた。それらに、基質特異性の異なるプトレッシン酸化酵素 (PUO) およびポリアミン酸化酵素 (PAO) の2種類のアミン酸化酵素を加えて発生する H₂O₂を比色定量することにより、diamine (putrescine+cadaverine, Dia), spermidine (Spd) および spermine (Spm) を分別定量した (Fig. 2)。血中ポリアミンはHt値で補正し⁷⁾、尿中ポリアミンは随時尿をcreatinine値で補正し⁸⁾、組織中ポリアミンは、Lowryら¹⁴⁾の方法で測定したタンパク量当たりの含量として検討した⁶⁾。検体は測定まで-20℃で凍結保存して使用した。

統計処理はt検定を用い、危険率5%以下を有意とした。また、組織、血液および尿中の3分画の相互関係についてはPearsonの相関分析を用いた。

結 果

1. 組織中のポリアミン濃度

結果をTable 1およびFig. 3~5に示した。癌組織50例と健常組織50例とを比較検討すると、3分画とも癌組織の方が健常組織に比して高値を示し、特にSpdは有意に高値を示した (p<0.01)。病期別に検討すると、3分画ともstage I・IIよりstage III・IVの方が

Fig. 3 Distribution of diamine concentration in normal and cancerous tissue from the patients with RCC

高値を示し、stage IIIとstage IVとの比較でもstage IVの方が高値を示した。特にSpdは病期が進むとともに高値を示す傾向がより顕著であった。組織学的異型度別の検討では、G3の症例数が3例と少ないもの

Table 1 Polyamine concentrations and ratios in normal and cancer tissues from patients with renal cell carcinoma in terms of histological or clinical findings

	n	Concentration(nmol/mg protein)			spermidine/ spermine
		diamine	spermidine	spermine	
Normal	50	0.108±0.164	0.714±0.544	2.088±0.904	0.392±0.316
Renal cell ca.	50	0.261±0.543	1.350±0.915	2.560±1.480	0.598±0.337
Stage I	18	0.182±0.320	0.957±0.661	2.266±1.516	0.545±0.381
Stage II	14	0.173±0.152	1.322±0.702	2.455±1.427	0.603±0.267
Stage III	9	0.199±0.265	1.739±1.212	2.372±0.689	0.736±0.395
Stage IV	9	0.278±1.160	1.789±1.091	3.505±1.870	0.556±0.297
Grade 1	12	0.227±0.235	1.231±0.566	2.145±1.472	0.609±0.326
Grade 2	35	0.263±0.243	1.620±0.997	2.611±1.114	0.552±0.341
Grade 3	3	1.542±1.481	2.170±0.693	3.607±1.596	0.682±0.274
Clear cell type	40	0.165±0.187	1.432±0.926	2.427±1.399	0.647±0.340
Granular cell and mixed type	10	0.447±1.117	1.021±0.829	3.088±1.749	0.499±0.253
Metastatic recurrence(-)	32	0.135±0.148	1.111±0.696	2.183±1.243	0.568±0.308
Metastatic recurrence(+)	9	0.392±0.431	1.808±1.193	2.952±1.481	0.746±0.459

(Mean±SD) * p<0.05 ** p<0.01

Fig. 4 Distribution of spermidine concentration in normal and cancerous tissue from the patients with RCC

Fig. 5 Distribution of spermine concentration in normal and cancerous tissue from the patients with RCC

の、3分画ともG1からG2、さらにG3になるにつれ高値を示した。特にDiaにその傾向が強くみられた。組織学的細胞型別の検討では、clear cell type 40例と、

それ以外のtype 10例との間に有意の差は認められなかった。転移性再発例9例と非再発例32例との比較検討では、3分画とも転移性再発例の方が非再発例に比し高値を示し、特にDiaは有意に高値を示した ($p <$

Table 2 Polyamine concentrations and ratios in blood from patients with renal cell carcinoma in terms of histological or clinical findings

	n	Concentration(nmol/ml)			spermidine/ spermine
		diamine	spermidine	spermine	
Normal	25	3.31 ± 1.95	18.49 ± 3.72	11.90 ± 2.51	1.64 ± 0.54
Renal cell ca.	50	5.48 ± 4.68 *	22.81 ± 10.59 *	16.75 ± 7.87 *	1.35 ± 0.81
Stage I	18	5.31 ± 3.79	18.91 ± 6.23	15.42 ± 7.02	1.18 ± 0.58
Stage II	14	4.68 ± 3.22	21.41 ± 14.13	14.92 ± 4.35	1.72 ± 1.12
Stage III	9	5.82 ± 5.83	22.73 ± 8.43	17.91 ± 6.30	1.36 ± 0.67
Stage IV	9	6.87 ± 6.09	24.66 ± 10.19	22.68 ± 10.84	1.09 ± 0.69
Grade 1	12	4.67 ± 2.90	19.54 ± 12.94	14.40 ± 5.19	1.82 ± 1.03
Grade 2	35	6.13 ± 5.14	20.35 ± 9.71	17.64 ± 8.71	1.20 ± 0.70
Grade 3	3	4.25 ± 1.32	26.07 ± 5.82	17.78 ± 4.74	1.42 ± 0.72
Clear cell type	40	5.45 ± 4.39	20.55 ± 10.54	16.50 ± 6.75	1.40 ± 0.82
Granular cell and mixed type	10	5.63 ± 5.97	16.86 ± 10.86	17.76 ± 11.79	1.14 ± 0.80
Metastatic recurrence(-)	32	4.70 ± 3.72	19.54 ± 11.13	15.21 ± 6.52	1.45 ± 0.89
Metastatic recurrence(+)	9	6.89 ± 5.64	18.93 ± 9.24	16.33 ± 5.79	1.25 ± 0.60

(Mean $\pm$ SD) * $p < 0.05$

Table 3 Changes of blood and urine polyamine levels by nephrectomy and relapse

	Concentration			spermidine/ spermine
	diamine	spermidine	spermine	
Blood(nmol/ml)				
Pre-ope	6.89±5.64	18.93±9.24	16.33±5.79	1.25±0.60
NED	4.67±3.35	17.07±7.23	13.86±3.68	1.21±0.50
Relapse	5.97±3.03	30.84±17.40	15.45±6.11	1.53±1.01
Urine(μmol/g. Cr.)				
Pre-ope	27.64±20.34	4.16±2.58	1.32±1.21	5.99±5.04
NED	17.65±8.31	2.14±1.15	1.07±0.61	4.78±2.16
Relapse	26.57±9.39	3.19±1.55	1.44±1.00	4.08±2.41

(n=9) (Mean±SD) ** p<0.01

0.01). 転移性再発例 9 例中 stage III が 6 例と多数を占めたが、Fig. 3～5 に示すように同じ stage III の中でも転移性再発例は、3 分画とも非再発例に比して高値を示す傾向がみられた。また、stage I～III で G2 の症例 28 例において、転移性再発例 5 例と非再発例 23 例とを比較検討したところ、Dia は転移性再発例が $0.363 \pm 0.473 \text{ nmol/mg protein}$ で、非再発例の $0.131 \pm 0.144 \text{ nmol/mg protein}$ に比し有意に高値を示した。Spd および Spm ではこのような傾向はみられなかった。

2. 血中のポリアミン濃度 (Table 2)

治療前の癌患者 50 例は健常人 25 例に比し、3 分画とも有意に高値を示した ($p < 0.01$)。病期別に検討すると、3 分画とも stage I・II より stage III・IV の方が高値を示し、stage III と stage IV との比較では stage IV の方が高値を示した。組織学的異型度および組織学的細胞型別の検討では 3 分画とも有意の差は認められなかった。

転移性再発例 9 例と非再発例 32 例について、術前の値を比較検討したが、3 分画とも有意の差は認められなかった。また、転移性再発例 9 例について、腎摘出術の前(以下、治療前と略す)、腎摘出術を施行した 1 カ月以上後で化学療法や放射線療法などを受けていない時点(以下、治療後と略す)、転移が判明した後(以下、転移性再発後と略す)のそれぞれ 3 つの時点で検討した (Table 3)。3 分画とも治療後は治療前に比して低値を示し、転移性再発後は治療後に比して高値を示した。特に、Spd は転移性再発の前後で上昇を示す症例が多く (Fig. 6)、治療後の $17.07 \pm 7.23 \text{ nmol/ml}$ に比し、転移性再発後は $30.84 \pm 17.40 \text{ nmol/ml}$ と有意に高値を示した ($p < 0.01$)。一方、非再発例 32 例では、

Fig. 6 Changes of spermidine levels in blood due to occurrence of metastasis

Spd をはじめ 3 分画とも治療前に比し治療後の方が低値を示したが、その後の経過観察中に著明な上昇を示すものは認められなかった (Fig. 7)。さらに、術前に遠隔転移を認めた stage IV の症例 9 例の腎摘出術前後のポリアミン値を比較すると、治療前に比し治療後

Fig. 7 Changes of spermidine levels in blood after nephrectomy

Table 4 Positive ratios

		n	Diamine	Spermidine	Spermine
Blood	Stage I	18	33.3	16.7	22.2
	Stage II	14	28.6	28.6	28.6
	Stage III	9	22.2	33.3	44.4
	Stage IV	9	22.2	44.4	55.5
	Total	50	28.0	28.0	34.0
Urine	Stage I	18	22.2	27.8	11.1
	Stage II	14	28.6	21.4	14.3
	Stage III	9	55.5	22.2	33.3
	Stage IV	9	44.4	55.5	66.6
	Total	50	34.0	30.0	26.0

(%)

の方がSpdをはじめ3分画とも低値を示し、術後の経過観察においては全身状態の増悪とともにポリアミン各分画の値も上昇する傾向がみられた。

健常人群のmean+2S.D.を越えるものを陽性とした場合の陽性率について病期別に検討したが、Stage I・IIは3分画とも10~30%前後と低い陽性率を示したのみであった (Table 4)。

3. 尿中のポリアミン濃度 (Table 5)

治療前の癌患者50例と健常人20例とを比較検討すると、3分画とも癌患者の方が健常人に対して高値を示し、特にDiaとSpdは有意に高値を示した。病期別に検討すると、3分画ともstage Iからstage IVへと進むにつれて高値を示す傾向がみられた。組織学的異型度別に検討すると、DiaにおいてG1からG3へと進むにつれて高値を示す傾向がみられた。組織学的細胞型別の検討では3分画とも有意の差は認められなかった。

転移性再発例9例と非再発例32例について、術前の値を比較検討したが、3分画とも有意の差は認められなかった。また、転移性再発例9例について、血中ポリアミンと同様に治療前、治療後、転移性再発後のそれぞれ3つの時点で検討した (Table 3)。3分画とも治療後は治療前に比して低下し、転移性再発後は治療後に比して高値を示した。特に、Diaは転移性再発後が治療後に比して $p < 0.01$ で有意の高値を示し、転移性再発の前後で上昇する症例が多かった (Fig. 8)。一方、

Table 5 Polyamine concentrations and ratios in urine from patients with renal cell carcinoma in terms of histological or clinical findings

	n	Concentration ($\mu\text{mol/g. Cr.}$)			spermidine/ spermine
		diamine	spermidine	spermine	
Normal	20	16.6 ± 5.8	4.7 ± 2.0	0.99 ± 0.51	
Renal cell ca.	50	26.71 ± 21.42 *	6.79 ± 7.12 *	1.44 ± 1.47	8.66 ± 11.72
Stage I	18	19.48 ± 11.35	4.57 ± 3.98	0.98 ± 0.99	13.86 ± 17.13
Stage II	14	28.35 ± 27.42	5.64 ± 3.14	1.30 ± 1.46	6.57 ± 5.25
Stage III	9	31.20 ± 20.46	5.99 ± 1.76	1.40 ± 1.10	4.47 ± 2.49
Stage IV	9	33.84 ± 21.74	12.79 ± 13.16	2.64 ± 1.85	5.34 ± 6.93
Grade 1	12	18.66 ± 14.71	6.65 ± 2.48	1.43 ± 0.95	8.75 ± 6.73
Grade 2	35	26.52 ± 21.30 **	6.90 ± 8.34	1.41 ± 1.62	9.24 ± 13.58
Grade 3	3	61.15 ± 10.70 **	5.30 ± 3.60	1.63 ± 0.77	2.26 ± 1.85
Clear cell type	40	24.95 ± 21.29	5.53 ± 4.06	1.33 ± 1.35	8.82 ± 13.04
Granular cell and mixed type	10	33.74 ± 21.59	8.79 ± 13.02	1.89 ± 1.90	8.09 ± 4.97
Metastatic recurrence(-)	32	24.44 ± 21.47	5.84 ± 3.83	1.14 ± 1.24	10.58 ± 14.04
Metastatic recurrence(+)	9	27.64 ± 20.34	4.16 ± 2.58	1.32 ± 1.21	5.99 ± 5.04

(Mean $\pm$ SD) * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Fig. 8 Changes of diamine levels in urine due to occurrence of metastasis

Fig. 9 Changes of diamine levels in urine after nephrectomy

非再発例32例では、Diaをはじめ3分画とも治療前と比し治療後の方が低値を示したが、その後の経過観察中に著明な上昇を示すものは認められなかった (Fig. 9). さらに、術前に遠隔転移を認めた stage IV の症例9例の腎摘出術前後のポリアミン値を比較すると、治療前と比し治療後の方がDiaをはじめ3分画とも低値を示し、術後の経過観察においては全身状態の増悪

とともにポリアミン各分画の値も上昇する傾向がみられた。

健常人群の $\text{mean} + 2\text{S.D.}$ を越えるものを陽性とした場合の陽性率について病期別に検討したが、stage I・II は3分画とも10~30%と低い陽性率を示した (Table 4).

4. 組織、血液および尿中ポリアミンの相互関係

腎細胞癌50例のDia, Spd, Spmについて、組織、血液、尿の3者間の相関係数を検討した。Diaに関しては、組織と血液は相関係数 $r = -0.137$, 組織と尿は $r = 0.225$, 血液と尿は $r = -0.266$ であり、いずれもよい相関を示さなかった。Spdに関しては、組織と血液は $r = 0.113$, 組織と尿は $r = -0.195$, 血液と尿は $r = 0.061$ とよい相関を示さなかった。Spmにおいては、血液と尿は $r = 0.405$ ($p < 0.01$) で相関を示したが、組織と血液は $r = -0.044$, 組織と尿は $r = -0.065$ でよい相関は示さなかった。

考 察

腎細胞癌における組織中ポリアミンの研究としては、Dunzendorfer ら¹⁵⁾のアミノ酸分析法による腎細胞癌13例の検討、松田ら¹⁶⁾のダンシル化薄層クロマトグラフ法による26例の検討がある。Dunzendorfer ら¹⁵⁾は、腎細胞癌では正常腎に比し putrescine (Put) および Spd が高値を示し、Spd/Spm 比も高値を示したと報告している。松田ら¹⁶⁾は、腎細胞癌は正常腎皮質に対し Put および Spm で約2倍、Spd で約4倍の高値を示し、腎細胞癌の組織学的悪性度と Spd および Spd/Spm 比は相関し、Put/Spd 比は逆相関したと報告している。さらに松田ら¹⁶⁾は、腫瘍の組織学的悪性度が高くなるにつれてポリアミン、特に Spd の組織中濃度が増加することから、腎細胞癌の診断や治療効果の判定において、Spd の尿中および血中濃度の測定が有意義ではないかと推定している。

今回の検討では腎細胞癌患者50例について組織だけでなく、同時に血液および尿中のポリアミンも測定し、血液および尿に関しては長期間の経過観察も加えて、腎細胞癌におけるポリアミンの腫瘍マーカーとしての意義を次の4点から検討した。すなわち、1) 早期診断・スクリーニングの手段としての意義、2) 腫瘍の組織学的深達度、異型度、細胞型との関連について、3) 予後を評価する指標としての意義、4) 治療効果および再燃の指標としての意義である。

はじめに、早期診断・スクリーニングの手段としての意義であるが、血液および尿中のポリアミンはあま

り有用でないという評価が多い¹⁷⁾。今回の検討でも血液および尿中の Dia, Spd, Spm は、stage I・II においていずれも 10~30% 前後の低い陽性率しか示さなかった。腎細胞癌のスクリーニングの手段としては、超音波断層法などの画像診断が確実で、すでに日常化されている現在、ポリアミンの早期診断における意義は低いと思われる。

つぎに、腫瘍の病期、異型度、細胞型との関連については、血液および尿中のポリアミンは癌の病態の進行とともに上昇すると報告されている¹⁷⁾。今回の検討でも病期との関係において、血中、尿中の 3 分画とも stage I・II の low stage 群より stage III・IV の high stage 群の方が高値を示し、stage III と stage IV との比較では stage IV の方が高値を示した。これらの血液および尿中のポリアミンの増加が、病態が進行するに従い腫瘍の単位当たりのポリアミン産生能が活発化しているのか、それとも原発腫瘍組織や転移腫瘍組織などの腫瘍容積が増大することにより全体としてポリアミン量が増加しているのかは不明な点が多い。今回の組織中の検討では、3 分画とも stage I・II より stage III・IV の方が高値を示し、stage III と stage IV との比較では stage IV の方が高値を示した。特に、組織中の Spd は stage I から stage IV へと進むにつれて高値を示す傾向がより顕著であった。これは、膀胱癌における清原¹⁸⁾の研究で、組織学的深達度を pT1 以下の群と pT1 より進んだ群に分けて比較し、後者の方が組織中の Put, Spd の含量が有意に高かったことと一致している。腎細胞癌の病期の進行とともに、腫瘍組織の増殖能および生合成能が上昇して腫瘍自体のポリアミン産生能も上昇しているものと考えられた。また、術前に遠隔転移を認めた stage IV の症例 9 例において、腎摘出術により腫瘍容積が減少すると血中および尿中のポリアミン値が低下したことも考えあわせると、病期の進行による腫瘍のポリアミン産生能の増加の他に、腫瘍容積の増大も加因して血中および尿中のポリアミンが上昇するものと思われた。

組織学的異型度に関しては、異型度が高いほど腫瘍の悪性度が高く増殖能も高いと考え、組織中のポリアミンとの間に良い相関が得られるのではないかとと思われる。松田ら¹⁶⁾は、low grade 群と high grade 群とを比較し、後者の方が Spd で有意に高値を示したと報告している。今回の検討では、症例に偏りがあるものの、組織中の 3 分画とも、G1 よりも G2、さらには G3 の方が高値を示し、特に Dia では G1 および G2 と G3

との間に有意差がみられた ($p < 0.01$)。一方、異型度と血液および尿中ポリアミンとの間には、尿中 Dia 以外はあまりよい相関は得られなかった。血液および尿中のポリアミン値は、腫瘍細胞そのものの増殖能だけでなく、病期の進行による腫瘍容積の増大などの要素にも影響されるため、異型度とあまり相関しなかったものと思われる。異型度を表す一つの指標としては、組織中のポリアミン、特に Dia が有用である可能性が示唆された。

組織学的細胞型に関しては、clear cell type とそれ以外の type との間に、組織、血液、尿のいずれの分画も有意の差は認められなかった。

続いて、腎細胞癌の予後、特に転移性再発の可能性を示す指標としてのポリアミンの意義について検討を加えた。術前に遠隔転移を認めなかった stage I~III の症例 41 例について、転移性再発例 9 例と、非再発例 32 例とを比較検討したところ、術前の血液および尿中のポリアミン分画には明らかな差は認められなかったが、組織中の 3 分画は Dia をはじめ転移性再発例の方が高値を示した。これは、腎細胞癌について遠隔転移をきたした症例と、遠隔転移をきたさなかった症例との間に組織中ポリアミン含量の相違はなかったという松田ら¹⁶⁾の報告とは食い違ったが、膀胱癌について検討した清原¹⁸⁾が、転移性再発例の組織中の Put および Spd が非再発例に比し有意に高値を示したとしていることと一致し興味深い。清原¹⁸⁾はさらに、転移性再発例の組織中 Put/Spd 比が非再発例のそれに比して有意に高値を示したと報告しており、今回の検討でも組織中 Dia/Spd 比は、非再発例の 0.164 ± 0.257 に対し転移性再発例は 0.539 ± 1.020 と高値を示した。また、stage I・II で転移性再発を示した 3 例のうち、stage I, G2 の症例は組織中 Dia が $1.298 \text{ nmol/mg protein}$ と非常に高く、stage II, G1 の症例の組織中 Dia も $0.520 \text{ nmol/mg protein}$ と高値を示した。この両者はいずれも組織中 Spd は高値を示さなかった。stage III の 9 例中 6 例が転移性再発しているが、転移性再発例の組織中 Dia は非再発例に比し高値を示すものが多かった。さらに、stage I~III の G2 の症例 28 例で転移性再発例 5 例と非再発例 23 例とを比較検討した結果でも、組織中の Dia は転移性再発例の方が非再発例に比し有意に高値を示し、組織中の Spd および Spm はそのような傾向を示さなかった。ほぼ同じ stage あるいは同じ grade の症例では、組織中の Dia の高い方が転移性再発する可能性が高いのではないかとと思われる。清原¹⁸⁾は、その報告

の中で膀胱癌の予後に関して、手術時に採取した癌組織中の Put および Spd が有用であり、特に再発や転移を予知する指標として組織中 Put を有力視している。そして、他の悪性腫瘍の末期や、膀胱腫瘍を含む悪性腫瘍の再発に先立ち、尿中 Put の増加がみられるという報告と考えあわせると非常に興味深いとしている¹⁸⁾。

組織中でのポリアミンの産生は、Put から始まり Spd、さらに Spm へと進む。Russell ら¹⁹⁾は尿中の Put 濃度が腫瘍の増殖と良く相関すると述べており、今回の検討で組織中でも Dia が腫瘍の増殖能、さらには転移能を示す指標となる可能性が示唆された。血液および尿中のポリアミン濃度は、腫瘍自体の増殖能だけに影響されるのではなく、腫瘍容積の差によるポリアミン産生量の差にも大きく影響されるため、ポリアミンの腫瘍における増殖能、転移能をより正確に知るには摘出組織中のポリアミンを測定することが望ましいと思われる。特に組織中の Dia が高値を示すものは、転移性再発の可能性が高いと思われ、このような症例では、より慎重な経過観察が必要と思われた。

最後に、諸家²¹⁾¹⁷⁾¹⁹⁾により有用性が報告されている、治療効果および再発を示す指標としての血液および尿中のポリアミンの意義について検討した。転移性再発例 9 例について検討したところ、腎摘出術を施行して腫瘍が存在しなくなった時点では血中・尿中の各分画とも術前に比し低下し、転移性再発を示した後ではいずれの分画も上昇を示した。特に血中の Spd と尿中の Dia は有意の上昇を示した($p < 0.01$)。これは、腎摘出術によりポリアミンを著しく産生している腫瘍部分が消失したため、血液および尿中に排出されるポリアミンがいずれの分画も低下し、ついで、転移性再発による転移腫瘍病巣でのポリアミン各分画の著しい産生増加により、血液および尿中のポリアミン、特に血中 Spd および尿中 Dia が上昇したものと思われた。非再発例 32 例では、血中・尿中各分画とも経過観察中に明らかな上昇はみられなかった。増殖の盛んな腫瘍組織中では 3 分画とも増加を示しているが、血中で特に増加しているのは Spd であり、尿中では Dia であった。これは、組織で産生されたポリアミンは血中に出て他の臓器で代謝されることから、血中のポリアミン濃度は 3 種のポリアミンの生合成、分泌、代謝を反映しているものと考えられ、3 種の中で最も排出されやすい Dia が尿中に一番多いものと思われる。組織中の 3 分画と血液および尿中の 3 分画との間にはよい相関関係は得

られず、組織における活発なポリアミンの産生を最も良く表すのが血中は Spd、尿中は Dia であると考えられ、治療効果判定および再発の指標として有用であると思われた。

結 語

腎細胞癌患者 50 例の血液、尿、組織中のポリアミン濃度を酵素法により分別定量し、その臨床的意義について検討し、以下の結論を得た。

1) 腎細胞癌患者群では対照群に比し、組織、血液、尿中の 3 分画とも高値を示し、組織中の Spd ($p < 0.01$)、血中の 3 分画 ($p < 0.05$)、尿中の Dia および Spd ($p < 0.05$) は有意差を示した。

2) 組織中の Spd をはじめ組織、血液および尿中の 3 分画とも病期が進むにつれて高値を示した。病期とともに組織中のポリアミン産生が増加し、腫瘍容積の増大と相まって血液および尿中のポリアミンが上昇するものと思われた。

3) 組織学的異型度は、Dia をはじめとする組織中の 3 分画とよく相関した。血液および尿中の 3 分画は尿中の Dia 以外ではあまりよい相関を示さなかった。異型度の高い腫瘍は増殖能も高く、組織中のポリアミン濃度も高いものと思われた。

4) 組織中の 3 分画、特に Dia は転移性再発の有無と相関した。血液および尿中のポリアミンはあまりよい相関を示さなかった。

5) 治療経過および転移性再発の指標としては、血中の Spd および尿中の Dia が有用であると思われた。

6) 血液と尿の Spm の間以外には、組織、血液および尿の 3 者間に Dia, Spd, Spm のいずれもよい相関関係は認められなかった。

以上より組織、血液、尿中のポリアミンは、それぞれの特性を考慮して組み合わせることにより、腎細胞癌における腫瘍マーカーとして病態を把握するうえで有意義であると思われた。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜った恩師河田幸道教授に深甚なる感謝の意を表します。また、直接本研究を終始御指導下さいました岐阜薬科大学生化学教室沢田英夫教授、原 明助教授、県立岐阜病院泌尿器科部長酒井俊助博士に深謝致します。

なお、本論文の要旨は第 78 回日本泌尿器科学会総会において報告した。

文 献

- 1) Russell, D.H., Levy, C.C., Schimpff, S.C. and Hawk, I.A.: Urinary polyamines in cancer

- patients. *Cancer Res.*, 31, 1555—1558, 1971.
- 2) Marton, L.J., Russell, D.H. and Levy, C.C.: Measurement of putrescine, Spd and Spm in physiological fluids by use of an amino acid analyzer. *Clin. Chem.*, 19, 923—926, 1973.
 - 3) Marton, L.J., Heby, O., Levin, V.A., Lubich, W. P., Crafts, D.C. and Wilson, C.B.: The relationship of polyamines in cerebrospinal fluid to the presence of central nervous system tumors. *Cancer Res.*, 36, 973—977, 1976.
 - 4) Russell, D.H. and Durie, B.G.M.: Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth. in *Progress in Cancer Research and Therapy*, Volume 8, 1st ed., p. 171, Raven Press Co., New York, 1978.
 - 5) Samejima, K., Kawase, M., Sawamoto, M., Okada, M. and Endo, Y.: A sensitive fluorometric method for the determination of aliphatic Diamines and polyamines in biological materials by high speed liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 76, 392—406, 1976.
 - 6) 小出卓也, 酒井俊助, 河田幸道, 原 明, 沢田英夫: 新しい酵素法によるポリアミン測定について. 第8報. 尿路性器癌患者における組織中ポリアミン分別定量. 泌尿紀要, 36, 1109—1116, 1990.
 - 7) 小出卓也, 酒井俊助, 篠田育男, 説田 修, 鄭 漢彬, 原 明, 沢田英夫: 新しい酵素法によるポリアミン測定について. 第5報. 尿路性器癌患者における血中ポリアミン分別定量. 泌尿紀要, 32, 919—928, 1986.
 - 8) 酒井俊助, 伊藤康久, 小出卓也, 鄭 漢彬, 原明, 沢田英夫: 新しい酵素法によるポリアミン測定について. 第3報. 尿路性器癌患者における尿中ポリアミン分別定量. 泌尿紀要, 32, 343—350, 1986.
 - 9) Robson, C.J., Churchill, B.M. and Anderson, W.: The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J. Urol.*, 101, 297—301, 1969.
 - 10) 日本泌尿器科学会・日本病理学会・日本医学放射線学会編: 泌尿器科・病理・放射線科腎癌取り扱い規約, 第1版, 金原出版, 東京, 1983.
 - 11) 酒井俊助, 伊藤康久, 小出卓也, 鄭 漢彬, 原明, 沢田英夫: 新しい酵素法によるポリアミン測定について. 第1報. 本法における尿中ポリアミン分別定量法の基礎的検討. 泌尿紀要, 32, 327—336, 1986.
 - 12) 小出卓也, 酒井俊助, 武田明久, 土井達朗, 鄭 漢彬, 原 明, 沢田英夫: 新しい酵素法によるポリアミン測定について. 第4報. 本法による血中ポリアミン分別定量の基礎的検討. 泌尿紀要, 32, 913—917, 1986.
 - 13) 小出卓也, 酒井俊助, 河田幸道, 原 明, 沢田英夫: 新しい酵素法によるポリアミン測定について. 第7報. 本法による組織中ポリアミン分別定量の基礎的検討. 泌尿紀要, 36, 1103—1108, 1990.
 - 14) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265—275, 1951.
 - 15) Dunsendorfer, U. and Russell, D.H.: Altered polyamine profiles in prostatic hyperplasia and in kidney tumors. *Cancer Res.*, 38, 2321—2324, 1978.
 - 16) 松田 稔, 長船匡男, 中野悦次, 園田孝夫, 清原久和: ヒト腎細胞癌の基礎的研究. 第4報. 腫瘍組織内ポリアミン類の含量について. 泌尿紀要, 25, 1239—1245, 1979.
 - 17) 遠藤康夫, 藤野雅之: Tumor marker による follow up, ポリアミン. *日本臨床*, 47, 1142—1146, 1989.
 - 18) 清原久和: 膀胱腫瘍の生化学的指標に関する研究. 膀胱癌組織内ポリアミン含量について. *日癌治誌*, 19, 820—831, 1984.
 - 19) 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.

(1992年2月3日受理)