口腔癌患者における血清 LDH 活性値および血清 LDH isozyme に関する臨床的，実験的研究

九州歯科大学第二口腔外科学教室（指導：池尻 茂教授）

大学院生 銅 城 将 紘

（昭和46年3月5日受理）

（本論文の要旨は昭和42年6月3日第15回日本化学療法学会総会，昭和43年6月25日九州歯科学会6月例会，昭和45年5月23日第30回九州歯科学会総会，昭和46年2月25日九州歯科学会2月例会において発表した）

CLINICAL AND EXPERIMENTAL STUDIES OF SERUM LDH ACTIVITY AND LDH ISOZYME OF PATIENTS WITH ORAL CANCER

By

Masahiro DOHJYO

Second Department of Oral Surgery (Director: Prof. Shigeru IKEJIRI)

Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

Studies were made on serum LDH activity and isozyme in 126 patients with various oral diseases (54 patients with oral cancer and 72 patients with various benign oral diseases) and in rabbits with experimental oral cancer by Vx2 carcinoma implantation.

Alterations of serum LDH activity and isozyme during therapy in oral diseases and tumor-bearing rabbits were assayed.

Serum LDH activity was determined according to Wróblewski and Ladue. And electrophoretic separation of serum LDH isozymes was performed according to Yoshida.

The results were summarized as follows.

1. 36 (66.6%) of 54 patients with oral cancer showed an elevation of serum LDH activity, whereas in 13 (18.1%) of 72 patients with benign oral diseases a slight elevation of serum LDH activity was observed.

Statistically, the significant difference was ascertained in the value of serum LDH activity among the cancer group, the group of benign oral diseases, and the normal group.

As to the serum LDH isozyme, a marked increase in LDH₁, and decrease in LDH₂ were present in the patients with benign oral diseases, whereas patients of oral cancer, a marked increase in LDH₄, LDH₅ and decrease in LDH₂ were present.

But on the average, distribution of 5 isozymes was LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ in normal adult individual.

2. Generally, when the activity of serum LDH was compared, its activity in the patients with gingival cancer was relatively higher than that in the patients with upper jaw cancer (from maxillary sinus) or tongue cancer. As to the serum LDH isozyme, no characteristics were observed.

3. A significant difference was found in serum LDH activity and isozyme between patients with upper jaw cancer and patients with chronic maxillary sinuits, and these data seemed to serve as an aid in differential diagnosis.

4. In serum LDH isozyme a marked decrease in LDH₁ and increase in LDH₄, LDH₅ paralleled well to the progressive stages of cancer lesion.

But a slight elevation of serum LDH activity was observed.

Especially, a significant difference was found in experimental oral cancer

5. On the correlations between serum LDH activity or isozyme and primary lesions in oral cancer, no characteristics were observed.

6. Serum LDH activities in patients with oral cancer undergoing therapy with anti-tumor agents was markedly decreased in effective group, correlating with tumor regression, whereas ineffective group showed no changes in serum LDH activity.

Treatment of these oral cancer with anti-tumor agents resulted in a tendency for normalization of LDH isozyme pattern in effective group; such was not the case in ineffective group.

Especially, serum LDH activity in the patients with effective group was relatively higher than that in the patients with ineffective group undergoing chemotherapy, and experimental oral cancer also showed much the same result.

7. Administration of anti-tumor agents to the experimental animals bearing Vx2 carcinoma by way of intra-arterial infusion with BLM and MMC controlled elevation of serum LDH activity in the effective group. Both an elevation of serum LDH activities and an increase in LDH₄ and LDH₅ were observed in the ineffective group.

8. It is therefore concluded that the changes of serum LDH level following treatment with anti-tumor agents reflect metabolic improvement or aggravation.

Determination of serum LDH activity, therefore, may serve as an indicator of the effectiveness of treatment by the anti-tumor agents, on the basis of tumor-host-drug relationship.

目 次

I 緒言

II 臨床的研究

A. 研究材料ならびに研究方法

1. 研究材料

2. 研究方法

a). 血清 LDH 活性値の測定方法について

b). 血清 LDH isozyme の測定方法について

B. 臨床的研究成績

1. 口腔領域各種疾患患者における血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme について

a). 嚢胞性疾患について

b). 慢性上顎洞炎について

c). エナメル上皮腫ならびに歯牙腫について

d). その他の疾患 (骨腫, 混合腫瘍) について

e). 悪性腫瘍 (口腔癌) について

1). 口腔癌患者について

2). 原発部位との関係について

3). 臨床進展度との関係について

4). 病理組織型との関係について

2. 口腔癌および各種疾患に対する諸種治療による血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について

a). 良性疾患に対する手術療法が血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme におよぼす影響について

b). 口腔癌治療, とくに局所動注法による血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動

について

- 1). 有効例と血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme との関係について
- 2). 無効例と血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme との関係について

III 実験的研究

A. 研究材料ならびに研究方法

1. 研究材料
2. 研究方法

B. 実験的研究成績

1. 健康家兎における血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme について
2. Vx2 carcinoma 移植家兎における血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について
3. 制癌剤投与時における Vx2 carcinoma 移植家兎血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について
 - a). 腫瘍緩解群について
 - b). 腫瘍非緩解群について

IV 総括ならびに考按

V 結論

文献

I 結 言

1943年, Warburg and Christian⁷⁷⁾ が Jensen Sarcoma 移植 rat の血清中における aldolase activity の増加と腫瘍との関係を報告して以来, 多くの研究者達が担癌生体における血清酵素学的な研究に着手し, 諸酵素による病態追求が盛んに試みられるようになり, すでに数種^{10,22,78)}のものについては診断的意義もみとめられている。

これらの嫌氣的解糖系酵素の中でも, とくに診断上重要な価値を有するものとして, しばしば報告されている乳酸脱水素酵素・Lactic Dehydrogenase (以下 LDH と略す) は, 1954年, Hill and Levi²⁶⁾ が癌患者血清中で活性値の高率な上昇がみとめられたという報告に端を発し, この方面の研究は次第に臨床家の注目を集めるところとなった。その後, 諸家により実験癌, 人癌において基礎的, 臨床的に種々検討され, 各種疾患における LDH 活性値の変動の臨床的な意義について報告されている。さらに, ここ数年来, 従来の量的分析に加えて isozyme による質的分析が広く応用され, 悪性腫瘍はもとより, 他方面にわたって研究され, 診断, 治療効果の判

定, 予後の推定などの一方法として重要性を増している。

本酵素に関する従来の研究は主として, 肺癌, 肝癌, 胃癌, 悪性貧血, 白血病, 心筋梗塞などについてのものであり, 口腔癌をはじめとする口腔領域各種疾患についての系統的な研究はみられず, わずかに口腔癌に関する 2, 3 の報告^{21,37,45~47,68)}をみるにすぎない。

著者は口腔癌を中心に, とくに口腔領域各種疾患に対する診断的な意義, 治療効果ならびに口腔癌化学療法時における本酵素のもつ臨床的な意義について検索するとともに, 若干の動物実験を行ない, いささかの知見をえたのでその成績を報告する。

II 臨床的研究

A. 研究材料ならびに研究方法

1. 研究材料

1966年5月より1970年10月迄の4年6ヶ月間に本学第2口腔外科学教室でとりあつかった外来および入院患者のうち126例を研究対象とした。口腔癌および各種疾患はいずれも病理組織学的に検査し, その診断が確認されたもののみで, 不確実なものはさけた。また, 各種疾患患者では血液検査, 心電図, 肝・腎機能検査等をおこない, 他疾患の併存を思わせる異常所見がみとみられた症例は除外した。したがって研究対象は嚢胞性疾患22例(歯根嚢胞16例, 濾胞性歯嚢胞3例, 球状上顎嚢胞1例, 側頸嚢胞2例), 慢性上顎洞炎25例, エナメル上皮腫13例, 歯牙腫2例, その他の疾患10例(骨腫6例, 唾液腺混合腫瘍4例), および口腔癌54例(上顎癌24例, 歯肉癌10例, 舌癌12例, 口底癌4例, 口唇癌2例, 頬粘膜癌2例)である。

2. 研究方法

a). 血清 LDH 活性値の測定法について

LDH は嫌氣的解糖系に属する酵素であり, Pyruvate と Lactate の交換を可逆的に触媒するもので NAD (nicotinamide-adenine dinucleotide), あるいは NADH₂ (reduced nicotinamide-adenine dinucleotide) を補酵素とする^{54,59)}。今日まで, 各種測定法が考案され, 臨床検査法としても多数の測定法が報告されている^{16,27,70,79,80,95)}。

著者は比較的操作が簡単で, 一般に使用されている光電比色計により測定しうる Cabaud 法の変法により測定した。本法についてはすでに Cabaud¹⁴⁾, 青木⁸⁾, 橋本³⁷⁾らにより報告され, 臨床的に最も広く普及している測定法である。したがって IATRON 社製の LDH 測定用試薬を使用し, 波長 530m μ のフィルターで光電比色した。なお, 盲検には蒸留水を使用し, 標準曲線により

LDH 活性値を算出した。

測定操作はまず、基質液 1.0ml, NADH₂ Disc 1 個を加えてよく混和したのち、37°C, 5 分間加温する。蒸留水で正確に 6 倍に希釈した被検血清 0.1ml をこれに加えて、混和し、37°C の恒温槽中で 30 分間加温する。とり出して室温に 30 分間放置したのち、呈色試液・2, 4-Dinitrophenylhydrazine 1.0ml を加えてよく振盪する。そのまま 20 分間放置。さらに 0.4N-NaOH 10ml を加えて 5 分間室温に放置したのち、波長 530m μ で、蒸留水を対照として吸光度を測定した。標準曲線は基質液を漸減的にまた、蒸留水を漸増的に加えて、同一方法で測定し、作製した。

b). 血清 LDH isozyme の測定法について

isozyme を分離同定する方法としては種々な方法がみられるが、LDH isozyme については電気泳動法による分離が昨今盛んに試みられている。電気泳動法による分析では支持体の種類によって種々な方法があげられるが、寒天ゲル、セルローズアセテート膜を支持体とする方法が広く行なわれているようである。

1966年、吉田^{91,92)}らが Wieme⁸³⁾, Van der Helm⁷⁶⁾らの方法を一部改良することにより、鮮明な分画像のえられる方法を案出し、推奨している。著者は寒天ゲルを支持体として吉田^{91,92)}らの方法に準じて血清 LDH isozyme を分離した。以下、試薬と泳動方法について記述する。

試薬：

- 1). ベロナール HCl 緩衝液
- 2). 寒天粉末
- 3). 石油エーテル
- 4). Tris-HCl 緩衝液
- 5). 0.4g/dl KCN
- 6). 2M 乳酸ソーダ
- 7). 20mg/dl phenazine methosulfate
- 8). 基質染色液
 - (a). トリス緩衝液……………56ml
 - (b). シアン化カリ液……………5 ml
 - (c). 乳酸ソーダ……………4 ml
 - (d). phenazine methosulfate……………5 ml
 - (e). β -NAD……………40mg
 - (f). NBT……………30mg

泳動方法：

寒天板の作製；

寒天粉末 (Difco 製) をベロナール緩衝液に 0.8 % の割に加え、熱湯中でしゃ沸溶解し、透明化させたのち、

50°C まで冷却して、スライドガラス上に厚さ約 0.2cm になるように液化寒天を重層した。

試料の塗布；

上記、泳動用寒天板の中央部に約 1.0×0.2×0.1cm の試料溝を作製する。次いで血清 0.03ml をマイクロピペットを使用して塗布し、4°C の冷室内で 20～30 分間かけて十分に支持体に滲透させる。

電気泳動装置ならびに泳動条件；

電気泳動装置は富士理研の寒天電気泳動装置一式で、泳動槽は TY-4 型、整流器は 0～300V, 0～100mA 容量のものである。

泳動条件は 5.6mA/cm の定電流方式をとり、寒天板 4 枚で 60mA, 100～120V で、60 分間通電した。

反応染色ならびに固定脱色；

泳動終了後ただちに、寒天板を予め調製しておいた染色液中に入れ、37°C の恒温槽内で 60～80 分間反応させる。染色後、ただちに固定脱色液中に浸す。水洗し、37°C のふらん器内で乾燥させる。

分画濃度の測定；

各分画の濃度は OZUMOR-8 型 (ATAGO 製) 濃度計により、波長 500m μ の干渉フィルターを使用して測定した。なお、各分画の命名は Wieme⁸³⁾ にしたがって陽極側から順に第 1 分画 LDH₁, 第 2 分画 LDH₂, ……第 5 分画 LDH₅, と命名した。

B. 臨床的研究成績

1. 口腔領域各種疾患患者における血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme について

上述した口腔領域における各種疾患患者の血清 LDH 活性値, LDH isozyme を比較検討するにあたっては、その対象となる正常健康人について測定する必要がある。

LDH 活性値；正常健康人における活性値については、測定方法により種々と異なり、Wilkinson⁸⁷⁾ の集計にみられるように統一されていない。著者は諸種臨床検

Fig.1. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Normal Adult Individuals

査などでいずれも正常とみなされる健康成人で、男女各々10名を選んで測定した。その結果、性別あるいは年齢による差異はみとめられず、300~390単位となり、本邦において同一方法で測定した玄番²³⁾らの成績とほぼ一致した測定値がえられた。したがって、この測定値内を正常値範囲とし、高値を示したものを上昇、低値を示したものを低下として、以後の各種疾患における測定値を比較検討した。

LDH isozyme；上述した正常健康人20名について、血清 LDH isozyme を分離測定したところ、Fig. 1 に示すような LDH₂ に peak をもつ pattern がえられた。この pattern は Wróblewski⁸⁶⁾、Vesell⁷⁵⁾、宮本⁵⁷⁾、田中⁷¹⁾、早川³⁶⁾、山田⁹³⁾、寺岡⁷²⁾らとほぼ一致した成績であった。しかし、LDH₄、LDH₅ の活性が低く、肉眼的には識別しえても、densitometer では計測出来ないものが数例にみとめられた。このことは検体の処理法、あるいは技術的な面にもよるが、易動度が遅く、しかも不安定なためと思われる。

次に、各分画の平均値については、LDH₂・48.7±3.5%が最も高く、次いでLDH₁・36.8±5.1%、LDH₃・13.3±5.1%の順となり、LDH₄・1.0±1.4%、LDH₅・0.2±0.4%はきわめて低かった。したがって正常健康人の LDH isozyme pattern は LDH₂>LDH₁>LDH₃>LDH₄>LDH₅ となり、これも上記報告者との成績と一致していた。なお、正常値範囲より高いものを増加、低いものを減少として以下の成績を比較検討した。

a). 嚢胞性疾患について

顎・口腔領域に発現した歯系嚢胞19例、非歯系嚢胞3例の計22例について LDH 活性値を測定した。歯系嚢胞19例（歯根嚢胞16例、濾胞性歯嚢胞3例）では歯根嚢胞3例、濾胞性歯嚢胞1例の計4例（21.1%）に上昇がみとめられたが、平均値は361±73単位となり、正常健康人における平均値とさほどの差異はみられなかった。また、非歯系嚢胞3例（側頸嚢胞2例、球状上顎嚢胞1例）はいずれも正常範囲内値であった。したがって嚢胞性疾患22例では4例（18.1%）に上昇がみとめられたが、嚢胞の大きさ、あるいは型との間に相関関係はみとめられず、平均値も357±69単位で、正常健康人平均値と、ほぼ同じ程度の測定値であった。

次に、嚢胞性疾患13例についての isozyme 分画測定成績は Fig. 2. に示す通りで、LDH₁ では6例（46.2%）に増加、LDH₂ では2例（15.4%）に減少が、LDH₃ では1例（7.7%）に増加、2例（15.4%）に減少がそれぞれみとめられたが、LDH₄、LDH₅ では全例

Fig. 2. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Cystic Diseases

ともに正常範囲内値であった。平均値については LDH₁・43.0±9.7%、LDH₂・41.8±6.9%、LDH₃・14.1±6.8%、LDH₄・0.7±1.2%、LDH₅・0.2±0.7%となり、正常健康者にくらべ LDH₁ がわずかに高く、逆に、LDH₂ がわずかに低くなっていた。isozyme pattern についてみると、正常健康人 pattern としての LDH₂>LDH₁>LDH₃>LDH₄>LDH₅ の pattern を示したものが6例（46.2%）であったが、7例（53.8%）では正常健康人 pattern と異った LDH₁>LDH₂>LDH₃>LDH₄>LDH₅ の pattern がみられた。なお、各分画の平均値 pattern は LDH₁>LDH₂>LDH₃>LDH₄>LDH₅ の pattern を示し、正常健康人と異っていた。

b). 慢性上顎洞炎について

慢性上顎洞炎25例の活性値については、4例（16%）に上昇がみられ、嚢胞性疾患にくらべて上昇率がわずかに低くなっていたが、平均値は366±65単位で、嚢胞性疾患同様に、正常健康人平均値と明らかな差異はみとめられなかった。次に、慢性上顎洞炎14例についての isozyme分画では Fig. 3 に示すような測定成績がえられ

Fig. 3. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Chronic Maxillary Sinusitis

た。LDH₁ では5例 (35.7%) に増加が、LDH₂ では2例 (14.3%) に増加、1例 (7.1%) に減少がみられ、LDH₃ では2例 (14.3%) に減少がみられたが、LDH₄、LDH₅ はいずれも正常範囲内であった。平均値でも正常健康人平均値とほぼ同程度の測定値がえられ、明らかな差はみられなかった。isozyme pattern については正常健康人と同じ、LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが7例 (50%) で、LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが7例 (50%) で、嚢胞性疾患でみられたと同じ程度の変化がみとめられた。しかし、各分画の平均値 pattern は LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ となり、正常健康人と同様な pattern であった。

c). エナメル上皮腫および歯牙腫について

エナメル上皮腫13例、歯牙腫2例の計15例については、わずかにエナメル上皮腫1例 (6.7%) のみに活性値の上昇がみとめられ、平均値は326±66単位で正常健康人平均値とほぼ同じ測定値であった。多少の炎症を伴っていた前記嚢胞性疾患、慢性上顎洞炎にくらべて上昇率が著しく低下していたことが注目された。なお、腫瘍の大きさ、あるいは発現部位と活性値との間に相関関係はみとめられなかった。次に、エナメル上皮腫7例についての isozyme 分画測定成績は Fig. 4 に示す通りである。

Fig. 4. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Ameloblastoma and Odontoma

LDH₁、LDH₂ にそれぞれ1例 (14.2%) 増加がみとめられたが、他の分画値では、全例ともに正常範囲内値であった。したがってエナメル上皮腫7例での各分画平均値は、正常健康人のそれとほぼ同じ測定値であった。isozyme pattern については、1例を除く他の6例 (85.7%) では LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の正常健康人 pattern を示し、嚢胞性疾患、慢性上顎洞炎で45~50%にしか出現しなかった正常健康人 pattern

ern がエナメル上皮腫例に高度に出現したのが注目された。

d). その他の疾患 (骨腫、混合腫瘍) について

その他の腫瘍疾患として、口腔領域に発現した骨腫6例、唾液腺混合腫瘍4例の計10例についての活性値測定成績は Fig. 5 に示す通りである。このうち、骨腫2例 (20%)、唾液腺混合腫瘍2例 (20%) にそれぞれ上昇

Fig. 5. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Other Benign Oral Diseases

がみとめられた。本疾患での上昇率はエナメル上皮腫例にくらべてかなり高く、嚢胞性疾患、慢性上顎洞炎とはほぼ同じ程度であったが、正常健康人平均値にくらべてわずかに高くなっていた。次に、本疾患10例についての isozyme 分画測定成績は Fig. 5 のようになり、LDH₁ に4例 (40%) の増加が、LDH₂ では1例 (10%) の減少、1例 (10%) に増加がみとめられた。LDH₃ では全例ともに正常範囲内値であった。また、LDH₄、LDH₅ でも全例ともに正常範囲内値であった。したがって、僅少差ではあるが LDH₁ の平均値で増加、LDH₂ で減少がみとめられた。しかし、他の各分画平均値はいずれも正常健康人とほぼ同様な測定値であった。isozyme pattern については LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したのが4例 (40%) で、嚢胞性疾患および慢性上顎洞炎とはほぼ同程度の出現率を示した。また、LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern が6例 (60%) の高率にみられ、良性腫瘍としてのエナメル上皮腫でわずかに1例 (14.3%) しかみられなかったのに対し明らかな差異がみられた。

e). 悪性腫瘍疾患 (口腔癌) について

口腔癌54例について LDH 活性値を測定した。全例ともに新鮮例で、過去において化学療法、放射線療法のいずれも受けてないものである。以下、全例についての活性値を比較するとともに、原発巣の発現部位、組織型、臨

床進展度などについてもそれぞれ比較検討を行なった。

1). 口腔癌患者について

口腔癌54例における測定成績は Table 1, 2, Fig. 6に示すとおりである。54例中6例 (No. 2, 5, 9, 46, 47, 51) (11.2%) に LDH 活性の低下がみられ, 12例 (No. 6, 8, 13, 16, 19, 20, 26, 28, 43~45, 49) (22.2%) は正常範囲内値であったが, 他の36例 (No. 1, 3, 4, 7, 10~12, 14, 15, 17, 18, 21~25, 27, 29~42, 48, 50, 52~54) (66.6%) では上昇していた。悪性腫瘍患者で著明な上昇を呈するという活性値は著者の成績では約70%で, 先記, 良性疾患での約18% (72例中13例の上昇) にくらべて明らかな差異が認められた。なお, 統計学的にも正常健康人と, 口腔癌患者との間には

Fig. 6. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Oral Cancer

Table 1 Serum LDH Activity in Patients with Oral Cancer

Case Number	Patient	Sex	Age	First Seen	Diagnosis	Pathohistological Findings	Stage	LDH Total Act. (u/ml)
1	I. M.	F	53	May '66	Tongue c.	Squamous cell c.	II	470
2	S. M.	F	57	"	Upper jaw c.	"	III	240
3	N. Y.	F	65	Sep '66	"	Adeno c.	I	480
4	T. K.	M	76	Oct '66	Gingiva c.	Simple c.	II	430
5	N. M.	F	43	Dec '66	Upper jaw c.	Squamous cell c.	II	270
6	O. U.	F	71	Feb '67	"	Basal cell c.	III	390
7	K. T.	F	51	"	"	Squamous cell c.	III	440
8	M. T.	F	60	Mar '67	"	"	II	360
9	T. N.	M	53	"	"	Simple c.	II	280
10	Y. D.	F	45	Apr '67	"	Squamous cell c.	III	490
11	T. S.	M	60	"	"	"	II	440
12	U. K.	M	41	"	Mouth floor c.	"	III	430
13	N. T.	M	43	May '67	Tongue c.	"	III	350
14	H. T.	M	59	Jun '67	Upper jaw c.	"	IV	460
15	B. K.	F	46	Aug '67	"	Simple c.	II	460
16	I. M.	F	68	Sep '67	Tongue c.	Squamous cell c.	II	330
17	M. T.	F	78	Oct '67	"	"	II	510
18	T. K.	M	70	"	Buccal c.	"	III	420
19	Y. H.	M	38	Dec '67	Tongue c.	"	II	365
20	M. K.	M	70	Jan '68	Upper jaw c.	Simple c.	II	365
21	M. J.	M	56	Mar '68	"	Squamous cell c.	IV	460
22	N. C.	F	56	"	"	"	II	420
23	Y. Y.	M	71	"	"	"	III	420
24	N. S.	M	66	"	Mouth floor c.	"	II	410
25	H. M.	F	63	"	Gingiva c.	Simple c.	II	420
26	M. T.	F	65	Apr '68	Tongue c.	Squamous cell c.	I	330
27	M. M.	F	73	"	Upper jaw c.	Simple c.	II	440
28	O. K.	F	38	May '68	Gingiva c.	Squamous cell c.	II	380
29	I. K.	M	50	"	Upper jaw c.	"	II	510

Table 2 Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Oral Cancer

Case Number	Patient Sex	Age	First Seen	Diagnosis	Pathohistological Findings	Stage	LDH Total Act. (u/ml)	LDH isozymes (%)				
								LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
30	O. H.	M	56	May '68	Gingiva c.	Simple c.	II	425	29.6	53.3	17.1	0
31	N. I.	M	71	Nun '68	Tongue c.	Squamous cell c.	II	410	25.6	50.0	24.4	0
32	K. Y.	M	67	Aug '68	Upper jaw c.	"	II	410	63.5	22.2	14.3	0
33	M. M.	M	68	Sep '68	Mouth floor c.	"	III	475	33.4	48.5	15.2	2.1
34	Y. S.	F	43	Jan '69	Tongue c.	"	II	460	73.7	15.8	10.5	0
35	K. T.	M	45	Apr '69	Gingiva c.	"	II	460	29.7	37.9	21.6	8.1
36	F. Y.	M	63	Jun '69	Lip c.	"	I	430	45.5	38.2	16.3	0
37	K. S.	M	58	"	Gingiva c.	"	III	660	29.9	51.7	10.8	7.7
38	Y. T.	M	70	Jul '69	Lip c.	"	II	460	40.0	43.3	16.7	0
39	S. M.	M	53	"	Gingiva c.	"	II	600	39.8	57.9	2.3	0
40	N. M.	M	70	Aug '69	Gingiva c.	"	II	500	30.0	60.0	10.0	0
41	S. T.	M	57	Oct '69	Tongue c.	Simple c.	II	690	51.1	26.7	6.7	8.8
42	K. Y.	M	56	Nov '69	"	Squamous cell c.	II	400	42.8	44.2	10.4	2.6
43	H. R.	M	68	"	Gingiva c.	Adeno c.	II	370	41.2	48.6	9.5	0.3
44	M. M.	F	68	Mar '70	Tongue c.	Squamous cell c.	II	375	44.2	50.0	5.8	0
45	I. Y.	M	42	May '70	Upper jaw c.	"	II	340	41.1	49.3	9.6	0
46	M. Y.	M	53	Aug '70	"	"	III	280	45.2	43.8	9.6	1.4
47	T. K.	M	73	"	"	"	II	270	38.5	46.2	15.3	0
48	I. K.	M	34	"	Gingiva c.	"	III	620	35.7	40.5	23.8	0
49	M. F.	F	67	"	Upper jaw c.	"	I	330	46.8	44.1	9.0	0
50	Y. T.	M	65	Sep '70	Buccal c.	"	II	570	33.4	56.3	10.3	0
51	O. I.	M	45	"	Upper jaw c.	"	II	270	50.1	40.2	9.3	0.4
52	M. S.	M	70	Oct '70	Mouth floor c.	"	III	430	32.1	49.2	15.4	2.1
53	H. I.	M	43	"	Tongue c.	"	III	430	42.4	38.9	16.7	1.4
54	S. S.	M	38	"	Upper jaw c.	"	III	505	27.7	41.5	20.0	5.4

$p < 0.001$, 正常健康人と、良性患者との間、および口腔癌患者と良性疾患患者との間には $p = 0.05$ で、その血清 LDH 活性値において有意の差が認められた。

次に、25例について isozyme 分画測定を行なった。Fig. 6 に示すように LDH₁ で 7 例 (No. 32, 34, 36, 41, 46, 49, 51) (28.0%) が増加し、他の 18 例 (No. 30, 33, 35, 37~40, 42~45, 47, 48, 50, 52~54) (72.0%) はいずれも正常範囲内値で、平均値は $40.9 \pm 10.9\%$ となり正常健康人のそれより僅かに高くなっていた。LDH₂ では 3 例 (No. 39, 40, 50) (12.0%) に増加、3 例 (No. 32, 34, 41) (12.0%) に減少がみられたが 19 例 (No. 30, 31, 33, 35, 37~40, 42~45, 47~49, 51~54) (76.0%) は正常範囲内値であった。

LDH₃ についても、3 例 (No. 39, 41, 44) (12.0%) に減少がみられた以外、他の 22 例 (No. 40, 42, 43, 45~54) (88.3%) は正常範囲内値で、平均値もそれぞれ LDH₂ $\cdot 43.7 \pm 10.6\%$, LDH₃ $\cdot 13.1 \pm 5.8\%$, となり健康人平均と明らかな差異はみとめられなかった。LDH₄, LDH₅ ではそれぞれ 4 例 (No. 35, 37, 41, 54) (16.0%), 2 例 (No. 41, 54) (8.0%) に増加がみとめられ、平均値もそれぞれ LDH₄ $\cdot 1.4 \pm 2.9\%$, LDH₅ $\cdot 0.8 \pm 1.8\%$ となり、正常健康人のそれにくらべて明らかな差は認められなかった。したがって、各分画平均値による isozyme pattern は LDH₂ に peak がみられる、正常健康人のそれと同じ pattern であった。しかし、個々の pattern とくに LDH₁ と LDH₂ の関係についてみると、健康人の場合はすべて LDH₂ > LDH₁ の関係がみられたのに対し、口腔癌では LDH₃ < LDH₁ (No. 32, 34, 36, 41, 51) (5 例 $\cdot 20.0\%$), LDH₂ = LDH₁ (No. 38, 42, 46, 49, 53) (5 例 $\cdot 20.0\%$), LDH₂ > LDH₁ (No. 30, 31, 33, 35, 37, 39, 40, 43~45, 47, 48, 50, 52, 54) (15 例 $\cdot 60.0\%$) の関係がみられ、過半数の症例では LDH₂ に peak をもつ健康正常人 pattern で、LDH₁ に peak をもつものは約 30% であった。また、癌で最も特徴的ともいわれる LDH₄, LDH₅ の増加は 6 例 (No. 35, 37, 41, 54) (24.0%) で約 3 分の 1 に過ぎなかった。

2). 原発部位との関係について

原発巣の発現部位による LDH 活性値上昇率についてみると、上顎癌では 24 例中 13 例 (No. 3, 7, 10, 11, 14, 15, 21~23, 27, 29, 32, 54) (54.1%), 歯肉癌では 10 例中 8 例 (No. 4, 25, 30, 35, 37, 39, 40, 48) (80.0%), 舌癌 12 例中 7 例 (17, 31, 34, 41, 42, 53) (58.3%), その他 (口唇・口底・頬粘膜癌) 8 例中 8 例

(100.0%) となり、上顎癌、舌癌にくらべて歯肉癌、およびその他の軟組織原発癌が高率に上昇していた。次に、原発巣の発現部位と isozyme 分画値との関係については Table 2 および Fig. 7 に示す通りである。上顎癌 7 例

Fig. 7. Correlation between Serum LDH Activity, Isozyme and Primary Lesions in Oral Cancer

についてみると LDH₁ では 4 例 (No. 32, 46, 49, 51) (57.1%) に増加がみとめられたが、3 例 (No. 45, 47, 54) (42.8%) は正常範囲内であった。LDH₂ ではわずか 1 例 (No. 32) (14.2%) に減少がみられたが、他の 6 例 (No. 45, 46, 47, 49, 51, 54) (85.7%) は正常範囲内であった。LDH₃ は全例ともに正常範囲内であった。LDH₄, LDH₅ では各 1 例 (No. 54) (14.2%) に増加が認められたにすぎなかった。すなわち、上顎癌例では主として LDH₁ に変動がみられ、過半数の症例で増加がみとめられた。したがって、平均値も $44.7 \pm 11.0\%$ となり正常健康人の LDH₁ 値にくらべてわずかに増加していた。歯肉癌 7 例においては、上顎癌で変動のみられた LDH₁ がいずれも正常範囲内であったのに対し、LDH₂ で 2 例 (No. 39, 40) (28.5%) に増加が、LDH₃ 1 例 (No. 39) (14.2%) に減少がみられたが、LDH₄ では 2 例 (No. 35, 37) (28.5%) に増加がみられた。LDH₅ では全例ともに正常範囲内であった。舌癌 6 例については LDH₁ で 2 例 (No. 34, 41) (33.3%) に増加、1 例 (No. 31) (16.6%) に減少がみられ、LDH₂, LDH₃ では、おのおの 2 例 (No. 34, 41, 44) (33.3%) に減少が認められた。また、LDH₄, LDH₅ でも同様に各々 1 例 (No. 41) (16.6%) に増加がみとめられた。

以上の成績からすると、上顎癌では LDH₁ にかなりの変動がみられたのに対し、歯肉癌では LDH₂ にわずかな変動がみられた。また、舌癌では LDH₁, LDH₂ ともにわずかな変動がみられ、上顎癌で変動のみられなかった LDH₃ にも、歯肉癌同様にわずかな変動がみられ

た. また, LDH_4 , LDH_5 についても発現各部位により, 数例に変動がみられたが, 有意な変動とはいえなかった. また, その他の発現部位の悪性腫瘍例ではいずれも正常値範囲内で明らかな変動はみとめられなかった. 発現部位別による各分画の平均値については Fig. 7 に示すように, いずれも僅少差を示すのみで発現部位により特異な測定値は得られなかった.

3). 臨床進展度との関係について

口腔癌54例について臨床進展度と活性値との関係について比較検討した. なお, 臨床進展度は国際対癌連合提案によるTNM分類に準じて分類した. その結果は Fig. 8 に示す通りで, Stage I に属するものは4例で, 2例

Fig. 8. Correlation between Serum LDH Activity, Isozyme and Clinical Status (TNM) in Oral Cancer

(50.0%)に上昇, 2例 (50.0%) は正常範囲内値で, 平均値は393 $\pm$ 75単位であった. Stage II に属するものは31例で, 20例 (64.5%) に上昇, 4例 (12.9%) に低下がみられ, 7例 (22.6%) は正常範囲内で平均値は421 $\pm$ 95単位であった. 次に, Stage III に属するものは17例で, 12例 (70.6%) に上昇, 1例 (5.9%) に低下がみられ, 4例 (23.5%) は正常範囲内値で, 平均値は437 $\pm$ 104単位であった. Stage IV では2例中2例 (100.0%) に上昇がみられ, 平均値は460 $\pm$ 0単位であった. したがって上昇率は Stage I, II, III, IV の順に高くなり, 臨床進展度とはほぼ平行関係が認められた. また平均値でも進展度が進むにつれて高くなっていた. 次に臨床進展度と isozyme の各分画値との関係は Fig. 8 に示す通りである. Stage I では LDH_1 で2例中2例 (No. 36, 49) に増加, LDH_2 , LDH_3 , LDH_4 , LDH_5 では2例ともに正常範囲内値であった. したがって Stage I では

LDH_1 にのみ変動がみられた. Stage II では LDH_1 で4例 (No. 32, 34, 41, 51) (23.5%) に増加, 1例 (No. 31) (5.9%) に減少がみられ, 他の12例 (No. 30, 35, 38, 39, 40, 42~45, 47, 50, 53) は正常範囲内値であった. LDH_2 では3例 (No. 39, 40, 50) (17.6%) に減少がみられたが, 他の14例 (No. 30, 31, 32, 34~38, 40, 42, 43, 45~54) (82.4%) はいずれも正常範囲内値であった. LDH_4 , LDH_5 については, LDH_4 で2例 (No. 35, 41) (11.8%) に, LDH_5 で1例 (No. 41) (5.9%) に増加がみられた他はほとんど変動がみられなかった. Stage III においては, LDH_1 で1例 (No. 46) (16.7%) に増加, 他の5例 (No. 33, 37, 48, 52, 54) (83.3%) はいずれも正常範囲内値であった. LDH_2 , LDH_3 , ではいずれも正常範囲内値であったが LDH_4 では2例 (No. 37, 54) (11.8%) が, LDH_5 では1例 (No. 54) (5.9%) が増加し, 他はいずれも正常範囲内値であった. すなわち, LDH_1 では Stage が進むにつれて順々に分画値は減少し, LDH_2 では反対に Stage が進むにつれて分画値が増加した. LDH_3 , LDH_4 , LDH_5 とも LDH_2 と同様に進展度が進むにつれて増加していた. とくに, LDH_4 , LDH_5 では初期ではほとんどその出現がみられなかったが, 病勢の進行とともに出現する傾向がみられた. 以上の実験成績から, LDH 活性値と癌進展度との間には, 特異的な相関関係はみとめられなかったが, isozyme 各分画平均値と癌進展度との関係については, LDH_1 で負の相関が, LDH_2 , LDH_4 , LDH_5 でいずれも正の相関関係がみとめられるという興味ある成績がえられた.

4). 組織型との関係について

原発巣を各病理組織型に分け, 組織型と上昇率との関係について調べたところ, 扁平上皮癌型では43例中29例 (67.4%) に, 単純癌型では8例中6例 (75.0%) に, 腺癌型では2例中1例にそれぞれ上昇が認められたが, 基底細胞癌型1例では上昇はみられなかった. このように, 各組織型と上昇率との間には明らかな関係はみい出されなかった.

2. 口腔癌および各種疾患に対する諸種治療による LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について

a). 良性疾患に対する手術療法が血清 LDH 活性値ならびに isozyme におよぼす影響について

口腔領域に発現した, 各種良性疾患44例の病巣を外科的に除去して, 術前, 術後における LDH 活性値ならびに isozyme の変動について観察した. 臨床効果との相

関関係を検討するにあたっては、まず手術侵襲による影響を知る必要がある。そこで著者は、手術による影響と血清蛋白、血清鉄の変動により検索した、諸家の報告^{1,55,73,88)}、および当教室渥美⁹⁾の報告を参考にして、術後2週を目安として採血測定したところ Fig. 9~12に示

Fig. 9. Alterations by Surgical Therapy of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Cystic Diseases

Fig. 10. Alterations by Surgical Therapy of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Chronic Maxillary Sinusitis

Fig. 11. Alterations by Surgical Therapy of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Ameloblastoma

Fig. 12. Alterations by Surgical Therapy of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Patients with Other Benign Oral Diseases

すような成績がえられたので、以下の項目にしたがって検討した。

1). 嚢胞性疾患について

嚢胞摘出術を行なった13例では、LDH 活性値は、術後4例 (30.7%) に低下がみられたが、9例 (69.1%) では増加し、上昇傾向がみとめられた。しかし、多くの症例は正常値範囲内での変動であった。したがって平均値でも術前364±87単位から術後376±130単位となり、僅少差でほとんど変動がみられなかった。次に、isozyme の変動については、LDH₁ で3例 (23.0%)、LDH₃ で1例 (7.7%) が正常値範囲内に復帰しえなかったが、他はいずれも復帰した。LDH₄、LDH₅ では変動がみられなかった。したがって、術後の各分画平均値は術前とほとんど変動なく、正常健康人平均値とほとんど変らなかった。pattern については術後、健康人と同様な LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが10例、LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが3例であった。なお、術前に LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ のものから術後 LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern に変化したものが7例中4例にみられた。

2). 慢性上顎洞炎について

14例における根治手術前後の LDH 活性値の変動については、術後低下のみられたものが8例 (57.2%)、不変2例 (14.2%)、上昇4例 (28.6%) となり、多くの症例では不変あるいは低下という傾向がみられた。しかし、平均値は術前388±92単位、術後363±99単位で、さほどの変動はみられず正常健康人平均値よりもわずかに高くなっていた。14例の術後における isozyme pattern では LDH₁ で6例 (42.9%)、LDH₂ に3例 (21.4%)、LDH₃ に2例 (14.3%) がそれぞれ僅少差ではあるが

正常範囲内に復帰することができなかったが, LDH₄, LDH₅ ともに手術により変化しなかった. また各分画の平均値は手術の前後を通じてさほどの変化はみとめられず, 正常健康人のそれとほとんど変わらなかった. isozyme pattern については, 術後, 正常健康人の LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern に変化したものが2例 (14.3%), LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ に変化したものが2例 (14.3%) で, 他の9例 (64.3%) は前後を通して変化がみられなかった. しかし, 手術後 LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern に変化したものが6例 (42.9%) にみられ, 嚢胞性疾患における場合よりも多くなっていた.

3). エナメル上皮腫について

エナメル上皮腫と歯牙腫とは手術術式を異にするために本項では顎連続離断などという比較的大きな手術を必要とするエナメル上皮腫7例について検討した. したがって, 7例中4例 (57.1%) に活性値の上昇がみられたが, 3例 (42.9%) では低下がみられ, 一定の傾向はみとめられなかった. 平均値についても術前 320 ± 114 単位から, 術後 354 ± 142 単位とわずかに上昇がみられたが, いずれも正常値範囲内での変動であった. isozyme 各分画値の変動については, 術後 LDH₁ で1例 (14.3%) に減少がみられたが, LDH₂, LDH₃, LDH₄, LDH₅ はいずれも正常範囲内値を示し, 手術前後を通じてさほどの変動は認められなかった. isozyme pattern については, 手術前に LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を呈した1例も術後, 正常健康人と同様な pattern に復帰した. したがって, 腫瘍摘出後における7例の isozyme pattern はいずれも正常健康人同様の LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示し, 嚢胞性疾患あるいは慢性上顎洞炎でみられた LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern は全く認められず, それらにくらべて外科的侵襲が大きいにもかかわらず, 正常健康人と同様な pattern に復したという興味ある成績がえられた.

4). その他の腫瘍疾患について

腫瘍の切除または摘出を行なった10例についてみると, LDH 活性値は術後8例 (80.0%) に低下, 2例 (20.0%) に増加がみられた. したがって, 平均値でも術前 394 ± 75 単位と正常範囲内よりもわずかに高値を示したものが, 術後 330 ± 53 単位となり, ほぼ正常健康者と同数値までの低下がみられた.

次に isozyme pattern についてみると, 術後, 正常

健康人と同様な LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern に変化したものが5例 (50%), 変化がみられなかったもの5例 (50%) であった. したがって, 術後では9例 (90%) が LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示した. なお1例は術前, 術後を通じて不変で LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示した.

b). 口腔癌治療, とくに局所動注法による血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について

教室では, 口腔癌に対する化学療法としては, まず, 原則として原発病巣の準根治的な手術を行なうとともに, 主として患側浅側頭動脈を介して各種制癌剤を投与する動注法を行ないながら観察し, さらに放射線療法を追加するという方法^{39,42)}が実施されている. 本項では所定量の各種制癌剤を動注し, 十分に経過を観察しえた上顎癌6例, 歯肉癌7例, 舌癌6例, 口底癌, 口唇癌各2例と, 筋注により全身投与を行なった上顎癌, 頬粘膜癌各1例の計25例について, 活性値ならびに isozyme の分画値を測定した. なお臨床成績を有効例と無効例にわけ, 測定値との関係について検索した.

使用薬剤は Mitomycin C (以下 MMC と略す), Endoxan (以下 EX と略す), Toyomycin (以下 TM と略す), Bleomycin (以下 BLM と略す), PC-B-45, であり, 症状に応じて, 各々の薬剤を単独にあるいは組合わせて使用した. BLM, PC-B-45 についてはすべて単独で使用し, PC-B-45 については筋注による全身投与を行なった. なお, 各症例とも原則として投与前, 投与中, 投与完了時に測定した. また, 若干の症例ではさらに治療後30日, 60日にも測定した.

1) 有効例と血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme との関係について

各種制癌剤の動注により臨床的, 病理組織学的に良好な成績の得られた9例 (No. 19, 29, 30, 32, 38, 39, 41, 42, 43) について, 治療前後, さらに30日後における測定成績を追加して活性値の変動を観察したところ, Fig. 13に示すような成績がえられた.

各種制癌剤動注開始後, 早期に, しかも全例ともに一時的にかなり活性値の低下がみられ, その後, 活性値はさほど変動しないか, あるいは徐々に低下して, 動注終了時には治療前, 正常値よりも高い活性値を示した6例 (No. 39, 30, 32, 38, 39, 41) のうち3例 (No. 30, 32, 38) が正常範囲内値へ復帰した. また3例 (No. 29, 39, 41) では正常値近くにまで復帰した. 2例 (No.

Fig. 13. Fluctuation of Serum LDH Activity in Effective Group before and after Chemotherapy in Oral Cancer

19, 43) は正常値範囲内での変動であったが, やはり低下傾向がみられた. 1例 (No. 42) では正常値からかなり低下していた. 動注終了後30日における活性値については, 終了後ひきつづき低下がみられた3例 (No. 19, 29, 42) でも, その後, 上昇あるいは横這いの状態で, 正常範囲内値へ復帰した. またこの間に復帰しえなかった2例 (No. 35, 39) でも, 30日後には正常値に復帰していた. したがって, 臨床的, 病理組織学的に有効であった症例は, いずれも化学療法終了30日後では正常範囲内値を示すという注目すべき結果がえられた. なお, 治療薬剤別による変動は例数が少なく明らかでなかった. 以上の成績から, 有効例では, 治療前, 比較的高活性値を示した例が多く, 治療終了時における活性値では正常値を中にして上昇, 低下値の間にかなりの幅がみとめられたが, 活性値はその後, さらに低下, 不変, 上昇などの経過をとって正常範囲内値へ復帰する傾向を示し, 化学療法終了30日後では有効例すべてが正常値を示していたというまことに興味ある結果がえられた. 次に, 有効例における LDH isozyme について, 治療前後の測定値を比較検討した. なお, 上記9例 (No. 19, 29, 30, 32, 38, 39, 41, 42, 43) を, 長期間にわたっての観察はできなかったが, 治療前後で有効と判定された上顎癌, 舌癌各2例 (No. 46, 51, 34, 44), 口唇, 頬粘膜癌各1例 (No. 36, 50) を追加して, 計15例について検討したところ, Fig. 14に示すような成績がえられた.

LDH₁ については治療後5例 (No. 30, 31, 36, 38, 50) (33.3%) に増加がみとめられたが, その倍の10例 (No. 32, 34, 39, 41, 42, 43, 44, 46, 49, 51) (66.6%) に減少がみとめられた. 治療前に高値を示した5例 (No. 32, 34, 36, 41, 51) ではかなりの減少がみとめられた. 平均値では治療前 $44.8 \pm 11.7\%$ から治療後

Fig. 14. Fluctuation of Serum LDH Isozyme in Effective Group before and after Chemotherapy in Oral Cancer

$37.9 \pm 3.0\%$ となり, わずかながら減少がみられた. また, 治療前正常範囲内値を示した9例では4例 (No. 30, 31, 38, 50) に増加が, 5例 (No. 39, 42~44, 46) に減少がみられた. 以上のように有効例における LDH₁ では, 平均値ではわずかな減少がみられたにすぎず明らかな差異はみとめられなかったが, 治療前に正常範囲値より高い値を呈した症例では著明に減少し, 低い値を示した症例では著明な増加により, それぞれ正常範囲内値への強い復帰傾向がみとめられた. LDH₂ については, 治療後, 増加がみられたもの9例 (No. 32, 34, 39, 41~44, 46, 51) (60.0%), 減少がみられたもの5例 (No. 30, 31, 38, 49, 50) (33.3%), 不変1例 (No. 36) (6.6%) で, 過半数以上の症例では LDH₁ と異なり増加がみとめられた. 次に, 治療前に高値を示した2例では1例 (No. 39) (50.0%) に軽度の増加が, 1例 (No. 50) (50.0%) にかかなりの減少がみられ, 正常範囲内値をわずかに下まわっていた. また, 低値を示した3例では3例 (No. 32, 34, 36) (100.0%) ともに増加がみられた. 平均値も治療後, $44.9 \pm 7.3\%$ とわずかに増加していた. 以上のことより, 有効例における LDH₂ では, 多くの症例で LDH₁ とは反対に増加の傾向がみられ, 低値を示した症例ほど著しい増加を示し, 平均値でも治療前にくらべてわずかに増加していた. LDH₃ は治療後, 12例 (No. 30, 34, 38, 39, 41~44, 46, 49, 50, 51) (80.0%) に増加が, 3例 (No. 31, 32, 36) (20.0%) に減少がみられた. また低値を示した3例 (No. 39, 41, 44) では増加して, それぞれ正常値への復帰傾向がみられた. 他の12例 (No. 30, 31, 32, 36, 38, 39, 42, 43, 46, 49~51) はいずれも治療前, 正常範囲内値であった症例で, そのうち3例 (No. 31, 32, 36)

(13.3%) では減少し、9 例 (No. 30, 38, 39, 42, 43, 46, 49~51) ではわずかな増加がみられたが、いずれも正常範囲内での変動であった。したがって、平均値でも $11.5 \pm 5.5\%$ から $15.5 \pm 6.0\%$ となり、わずかな増加がみとめられたにすぎなかった。以上のことより、有効例では LDH_2 と同様に多くの症例では治療後にわずかな増加がみとめられた。 LDH_4 では、治療前、高値を示した 1 例 (No. 41) (6.6%) が減少し、正常範囲内値を示した 3 例 (No. 46, 49, 51) (20.0%) が、治療後にわずかに増加していたが、いずれも正常値範囲内の変動であった。したがって、有効例における LDH_4 では多くの症例が正常値範囲内でわずかに変動していたが、数例に増加、あるいは減少がみられたに過ぎなかった。また、平均値でも治療前 $0.8 \pm 3.1\%$ から、治療後 $0.9 \pm 2.2\%$ となり有意差はみられなかった。すなわち、治療前、高値を示した 1 例 (No. 41) (6.6%) は正常値へ復帰し、1 例 (No. 51) (6.6%) が治療後に高値を示したほか、他の 13 例 (86.6%) は正常値へ復帰し、1 例 (No. 51) (6.6%) はいずれも正常値範囲内での変動であった。したがって、平均値も治療前 $0.6 \pm 1.7\%$ から治療後 $1.0 \pm 2.6\%$ とわずかに増加していた。

次に、治療前後における isozyme pattern について比較した。治療前に $\text{LDH}_2 > \text{LDH}_1 > \text{LDH}_3 > \text{LDH}_4 > \text{LDH}_5$ の pattern を示したものが 6 例 (No. 30, 31, 39, 43, 44, 50) で、治療後も変化がみられなかった。また、治療前 $\text{LDH}_1 > \text{LDH}_2 > \text{LDH}_3 > \text{LDH}_4 > \text{LDH}_5$ の pattern を示したものは 5 例 (No. 32, 34, 36, 46, 51) で治療後 $\text{LDH}_2 > \text{LDH}_1 > \text{LDH}_3 > \text{LDH}_4 > \text{LDH}_5$ の pattern に 2 例 (No. 34, 51) が変化していた。

2). 無効例と血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について

臨床的に、あるいは病理組織学的に改善がほとんどみられなかったか、または、若干改善がみられたが結局は経過不良で後日再発がみとめられた、いわゆる無効 10 例 (No. 2, 13, 15, 21, 22, 24, 35, 40, 45, 47) については Fig. 15 に示すような活性値の変動がみとめられた。動注開始後早期では上昇したもの、変化しなかったもの、あるいは低下したものなど、有効例にくらべて不規則で、動注終了時では 5 例 (No. 13, 15, 22, 45, 47) (50%) のみが正常範囲内値へ復帰したが、5 例 (No. 2, 24, 33, 35, 40) (50%) は復帰することができなかった。化学療法終了 30 日後では 6 例 (No. 2, 21, 22, 24, 35, 40) (60%) が正常値範囲よりも高い活性値を示していた。また正常範囲内値を示した 4 例 (No. 13,

Fig. 15. Fluctuation of Serum LDH Activity in Ineffective Group before and after Chemotherapy in Oral Cancer

15, 45, 47) でも 60 日後には 3 例 (No. 13, 45, 47) が正常値よりも高い活性値を示し、また、1 例 (No. 15) では低値を示した。したがって、無効例では治療終了 60 日後では正常範囲内値を示した症例は全くみられなかった。これらの症例はいずれも改善がなかった例と局所再発が確認されたものである。

次に、無効 10 例における治療前後の LDH isozyme の各分画測定成績は Fig. 16 に示す通りである。LDH₁

Fig. 16. Fluctuation of Serum LDH Isozyme in Ineffective Group before and after Chemotherapy in Oral Cancer

では治療後に、増加がみられたものが 2 例 (No. 40, 54) (20.0%), 減少したものが 5 例 (No. 33, 37, 35, 48, 52) (50.0%) で、ほとんど変動していなかったものが 3 例 (No. 45, 47, 53) (30.0%) で、一定の傾向はみられなかった。また、平均値では治療前 $35.5 \pm 6.0\%$ から治療後 $35.0 \pm 9.2\%$ となり、ほとんど変動がみられなかった。 LDH_2 では治療後に 5 例 (No. 33, 37, 40, 47, 54) (50.0%) が減少し、5 例 (No. 35, 45,

48, 52, 53) (50.0%) に増加がみられ、有意差はみとめられなかった。したがって平均値でも、 $45.3 \pm 5.3\%$ から $46.6 \pm 6.5\%$ となり、ほとんど変動がみとめられなかった。LDH₃ では4例 (No. 35, 45, 53, 54) (40.0%) に減少が、4例 (No. 33, 40, 47, 52) (40.0%) に増加がみられたが、2例 (No. 37, 48) (20.0%) は変動がみられなかった。したがって平均値でも治療前 $16.2 \pm 4.6\%$ から、治療後 $16.7 \pm 4.8\%$ となり、LDH₁, LDH₂ 分画値と同様に、治療前後を通じてほとんど変動がみとめられなかった。LDH₄ では治療後2例 (No. 33, 35) (20.0%) に増加、1例 (No. 54) (10.0%) に減少がみられ、他の7例 (No. 37, 40, 45, 47, 48, 52, 53) (70.0%) では変動がみとめられなかった。平均値は治療前 $1.4 \pm 2.9\%$ 、治療後 $1.7 \pm 3.4\%$ であった。LDH₅ では1例 (No. 54) (10.0%) に治療後減少がられたのみで、他の9例 (No. 33, 35, 37, 40, 45, 47, 48, 52, 53) (90.0%) では、ほとんど変動がみられなかった。したがって、平均値でも治療前 $1.0 \pm 1.8\%$ 、治療後 $0.6 \pm 1.0\%$ と差異がみとめられなかった。また、治療前後における isozyme pattern について比較した。治療前に LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが8例 (No. 33, 35, 37, 40, 45, 47, 48, 54) で、LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅, LDH₂ = LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したのがおのおの1例 (No. 52, 53) であった。治療後では、LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが8例 (No. 33, 35, 40, 45, 47, 48, 53, 54), LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したものが2例 (No. 37, 57) であった。

以上の成績から、LDH 活性値については、有効例では治療開始早期に活性値の低下がみられ、その後、さらに低下して、治療終了時では6例 (No. 19, 29, 31, 32, 38, 43) (66.7%) が正常範囲内値へ復帰した。さらに30日後では全例が正常範囲内へ復帰するという成績がえられた。これに反し、無効例では、上昇あるいは変動しない症例が多く、低下したものも、以後再び上昇するという結果がえられた。したがって、治療終了時では5例 (No. 13, 15, 22, 45, 47) (50.0%) が正常範囲内値を示したが、30日後では4例 (No. 13, 15, 45, 47) (40.0%) となり、有効例とは明らかな差がみとめられた。また、60日後では正常範囲内値を示した症例は全くみとめられなかった。以上のように臨床効果と活性値の変動との間には平行関係がみられた。

LDH isozyme については、有効例においては、治療

後に LDH₁ で減少、LDH₂, LDH₃ でわずかではあるが増加がみられたのに反し、無効例では、isozyme の各分画値が治療前後で、ほとんど変化がみられなかった。このように LDH 活性値でみられたような有効例での正常範囲内値への強い復帰傾向、また無効例では正常範囲内値へ復帰しえなかったという臨床効果との関係は、LDH isozyme ではみられなかった。

III. 実験的研究

A. 研究材料ならびに研究方法

前章まではヒトの顎・口腔領域における良性および悪性疾患患者血清を対象として、診断的な意義、あるいは諸種治療法による変動について臨床病理学的な検索を行なったが、本章では担癌動物を使用、以後の実験を行ない検討した。

1. 研究材料

1952年、Rous⁶²⁾ により家兎の Shope 乳頭腫・癌腫系から可移植性株とされた Vx 2 carcinoma を使用した。本腫瘍株は愛知がんセンターより分与を受け、当教室で累代移植を行なっているものである。

2. 研究方法

伊藤の方法⁴¹⁾にしたがって、本腫瘍を体重3.0kg 前後の健康家兎の咬筋部付近内に移植した。移植2週後、移植部にほぼ拇指頭大の腫瘍が形成された。腫瘍形成家兎の同側耳動脈内に、内径1mm のポリエチレン管を挿入し、Evans Blue を注入して、腫瘍を含む側頭顔面の着色を確認したのち、ポリエチレン管の脱落を防ぐために遊離端部を耳介後部に固定した。この部より MMC 0.12 mg/kg, BLM 0.9mg/kg をそれぞれ5%ブドウ糖液 20 ml に溶解し、約20分間で徐々に注入した。上記制癌剤は連日、15日間注入した。実験はまず健康家兎10例について、血清 LDH 活性値、LDH isozyme を測定して正常値範囲を決定した。次に、担癌家兎6例については移植後、経日的に採血測定して、腫瘍の増大との関係について検討した。担癌家兎に対する MMC, BLM 動注群ではそれぞれ5例宛実験を行ない、動注前、中、および動注終了後に反対側耳介静脈より採血し、先記実験方法と同一方法で測定した。

B. 実験的研究成績

1. 健康家兎における血清 LDH 活性値ならびに血清 LDH isozyme について

制癌剤を投与するに当り、当教室で一定期間、一定条件のもとで飼育した 3.0kg 前後の健康家兎10例について、先記方法で測定を行なったところ、Fig. 17に示

Fig.17. Scattergrams Showing Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Normal Rabbits

すような成績がえられた。LDH 活性値については、最低200単位から最高340単位となり、かなりの幅がみられたが、この測定値を一応正常域値とした。なお平均値は266±48単位であった。LDH isozyme の各分画値については、人の場合とことなり、全例ともに LDH₁ を peak とする LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern であった。

2. Vx2 carcinoma 移植家兎における血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について。

健康家兎6例に上記移植法で移植し、移植1, 2, 3週後にそれぞれ測定した。その成績は Fig. 18 に示す

Fig. 18. Alterations of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Rabbits with Experimental Oral Cancer by Vx2 Carcinoma Implantation

とおりである。全例とも、移植1週後では、移植前のほぼ2倍の活性値を示したが、その後、経日的に、腫瘍の増大と平行して活性値の上昇がみられ、3週後では、移植前のほぼ5倍近い高活性値を示し、まもなく死亡した。以上のように、腫瘍の増大進行と活性値との間に明らかな相関関係が認められた。LDH isozyme については、移植1週後では LDH₁ で2例に減少が、1例にわずかな増加がみられたが3例は正常範囲内値であった。LDH₂ では逆に2例が増加し、1例に減少がみられ

たが、3例は正常範囲内値であった。LDH₃ では全例とも正常範囲内値で変動がなかった。また、LDH₄ , LDH₅ では増加がみられなかった。したがって、各分画平均値の pattern は LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ となり、正常家兎 pattern と同じであった。移植2週後についてみると、LDH₁ では1例が増加、1例にわずかな減少がみられたが他の4例はいずれも正常範囲内値であった。LDH₂ では5例が正常範囲内値で、1例に低下がみられた。LDH₃ では移植1週後と同様に全例が正常範囲内値で変動がみられなかった。LDH₄ , LDH₅ ではいずれも正常範囲内値で変動がみられなかった。したがって各分画平均値の pattern は LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ となり、正常家兎 pattern と同様であった。移植3週後では、LDH₁ において、2例が正常範囲内値で、2例が増加、1例にわずかな減少がみられた。LDH₃ では1例が増加していたが5例では変化がみとめられなかった。LDH₄ , LDH₅ については各々半数の3例に増加がみられた。しかし、各分画平均値の pattern は LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ で正常家兎の pattern とかわらなかった。

以上の成績より、LDH isozyme と腫瘍増大との関係については、腫瘍移植早期には LDH₁ , LDH₂ , にかなりの変動がみられた。その後、一時、健康家兎に近似の分画値がえられたが、以後腫瘍の増大にともなって LDH₄ , LDH₅ の増加がみとめられ、両者間にかかなりの平行関係がみとめられた。しかし、LDH₃ はその期間中殆んど変動がなく特別な関係がみとめられなかった。

3. 制癌剤投与時における Vx2 carcinoma 移植家兎血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme の変動について

本項では、腫瘍が比較的大きくなり、触知可能で、しかも上記実験成績のように LDH 活性値ならびにその isozyme にさほどの変動がみとめられない移植14日後頃より、MMC および BLM の動注を開始した。投与した各制癌剤の濃度は MMC 0.12mg/kg, BLM 0.9mg/kg で、連日15日間投与した。なお、移植後無処置群を対象として、薬剤投与にもかかわらず、対象同様に腫瘍の増大がみとめられた腫瘍非緩解群、および、腫瘍の増大が対象に比べて抑制され、発育緩徐であった腫瘍緩解群とに分けて比較検討した。

a). 腫瘍緩解群について

MMC 動注5例中2例、BLM 動注5例中3例の計5例に腫瘍の緩解がみられた。治療前後における活性値ならびに isozyme 分画値の変動は Fig. 19, 20 に示す通り

Fig. 19. Fluctuation of Serum LDH Activity in Good Group before and after Intra-arterial Infusion in Experimental Oral Cancer

である。5回投与で MMC・2例, BLM・2例はともに上昇していたが, BLM・1例では低下していた。すなわち5例中4例(80.0%)に活性値の上昇がみとめられた。5回以後10回までは, 2例(40.0%)に低下, 1例(20.0%)に軽度の上昇, 2例(40.0%)が不変であった。したがって, 5例中4例(80.0%)が不変あるいは低下を示した。15回投与後では3例(60.0%)が低下, 1例(20.0%)が不変, 1例(20.0%)がわずかに上昇していた。以上のことより腫瘍緩解群における活性値の変動はまず上昇がみられ, そのまま不変, あるいはさらに低下したのち, ついでそのまま不変あるいは低下していたものが多くの症例(80.0%)にみとめられた。したがって, 平均値では著しい変動はみとめられなかった。

次に, isozyme 分画値について, LDH₁では投与後, 4例(80.0%)が増加し, 正常値への復帰傾向がみられたが, 1例(20.0%)は正常値以下に減少していた。し

たがって, 平均値でもわずかに増加していた。LDH₂では2例(40.0%)に増加, 2例(40.0%)に減少がみられ, 1例(20.0%)はほとんど変動がみられなかった。したがって, 投与後における増加, 減少例は同数で平均値も変わらず, 一定の傾向はみとめられなかった。LDH₃では, 投与前に高値を示した3例(60.0%)は正常値あるいはその近くまで復帰したが, 正常範囲内値を示した2例(40.0%)は投与後わずかに増加していた。しかし, 平均値では有意な差はみとめられなかった。LDH₄では1例(20.0%)が減少して, 正常範囲内値へ復帰したが, 1例ではかえって増加がみられた。他の3例(60.0%)では殆んど変動がみられず, 平均値でもさほどの変動はみとめられなかった。LDH₅では1例が正常範囲内値へ復帰し, 4例ともに投与前後において変動がなく, 平均値でも差異はみとめられなかった。また, isozyme pattern は LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示し, 正常家兎の pattern と変わらなかった。

b). 腫瘍非緩解群について

MMC 動注3例, BLM 動注2例の計5例に腫瘍の緩解がみられなかった。Fig. 21, 22に示すように腫瘍緩解

Fig. 21. Fluctuation of Serum LDH Activity in Poor Group before and after Intra-arterial Infusion in Experimental Oral Cancer

群と同様に, 5回投与では5例ともに上昇がみとめられた。5回以後10回投与では不変2例(40.0%)で, 他の3例(60.0%)はかなり上昇していた。また15回投与後では, 不変1例で他の4例(80.0%)は著しく上昇していた。

以上のように腫瘍非緩解群における活性値の変動はまず上昇がみられ, そのまま不変あるいは上昇し, ひきつづき制癌剤の投与にかかわらず, 不変あるいは高度の上昇を示し, 5回以後, 15回となるに従って腫瘍緩解群と

Fig. 20. Fluctuation of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Good Group before and after Intra-arterial Infusion in Experimental Oral Cancer

Fig. 22. Fluctuation of Serum LDH Activity and LDH Isozyme in Poor Group before and after Intra-arterial Infusion in Experimental Oral Cancer

は明らかに異なった活性値の変動を示した。

次に、腫瘍非緩解群における isozyme 分画値についてみると、LDH₁ では5例 (100.0%) に減少が認められ、平均値でもかなり減少していた。LDH₂ では5例 (100.0%) とともに増加し、LDH₃ では2例 (40.0%) が増加、2例 (40.0%) に減少がみられたが、1例 (20.0%) では変動がみられなかった。LDH₄ では1例を除く他の4例 (80.0%) に増加がみとめられ、LDH₅ では4例 (80.0%) に増加がみられたが、1例 (20.0%) は変動しなかった。平均値でも LDH₄、LDH₅ とともにそれぞれわずかながら増加がみられて、腫瘍緩解群とは異なった傾向がみられた。また isozyme pattern は LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示し、正常家兔の pattern と変わらなかった。

以上の実験成績からすれば、ヒトの場合と同様に、投与前 LDH 活性値が比較的高い例にかなりの腫瘍緩解効果がえられた。このことは今後さらに多くの研究が必要であるが、興味ある成績であった。

LDH isozyme については、ヒトの場合ではみるべき相関はみとめられなかったが、動物実験成績ではかなりの相関関係がえられた。

IV. 総括ならびに考按

近年、悪性腫瘍を局所的な疾患としてではなく、tumor and host relationship さらに tumor host and drug relationship の立場から、担癌生体における病態生理を理解するとともに、癌化学療法における体液諸因子の変動についても広く研究されている^{10,11,13,18,25,64}。癌患者の体液諸因子のうち、悪性腫瘍と生体との相互関係、あるいは予後、治療効果を推測する有力な資料として、最も広く検討されている解糖系酵素の一つに乳酸脱

水素酵素；Lactic Dehydrogenase がある。本酵素は1919年、Meyerhof⁴⁹により骨格筋中に Enzyme Complex として発見されて以来、先述したように多くの研究者により悪性腫瘍における臨床的な意義が種々と検討されている。さらに、1959年 Markert, Möller⁵³らによって isozyme の概念が提唱されるにおよんで、本酵素は5個の zymogen に分画されることが明らかになった。この pattern の臓器特異性と関連して、最近では、活性値とともにもっぱら pattern を追求する方向に研究が向けられている。著者は口腔癌を中心とした、口腔領域各種疾患患者における血清 LDH の量的活性の変動、および質的变化について測定し、臨床的な意義について検討したので総括しつつ、以下の考察を試みる。

A. 口腔癌における血清 LDH 活性値の臨床的な意義について。

悪性腫瘍患者の血清 LDH 活性値に関する報告はすこぶる多く見受けられる。しかし、これらの報告の多くは、肝癌、肺癌、胃癌、白血病等に関するものであり、口腔癌患者を対象とした報告は、藤崎²¹、橋本³⁷、笠木⁴⁶、小林⁴⁷、梶山⁴⁵らの報告を散見するにすぎない。

癌患者における血清 LDH 活性値の上昇については、1954年 Hill, Levi²⁶らが96%の高率に上昇がみとめられたという報告が最初で、その後、Lührs, Negelein⁴⁸らが追試を試み40%に増加がみられたと報告している。これらの成績を初めとして欧米諸国における成績は Erickson¹⁷らによって集計されている。また、本邦においても松尾、服部⁵⁰、浅野^{3,5}、鮫島⁶⁷、山村⁹⁰、鈴木⁶⁶、林田³⁸、藤原²⁰ら、橋本³⁷らをはじめ各科にわたっての報告が散見されるが、諸家の成績では上昇率にかなりの幅がみとめられる。これは Wilkinson⁸⁷の集計にみられるように、各報告者により測定方法が若干異なっていることと、さらに、対象症例がまちまちであるためと思われるが、ほぼ40~70%の上昇が認められるようである。

口腔癌54例についての著者の成績では66.6% (36例) に上昇がみられ、同じ頭頸部悪性腫瘍を対象とした橋本³⁷の成績とはほぼ同じ上昇率であった。また、著者は口腔領域における各種良性疾病72例についても同様に測定したところ、各疾患にわたって上昇例が散見されたが、上昇率は18.1% (72例中13例) で、口腔癌とは明らかに上昇率を異にしていた。

統計学的にみても、口腔癌では良性疾病に比して有意差をもって血清 LDH 活性値の上昇が認められた。しかし、また良性疾病でもこの値は正常健康人に比して、有意差をもって上昇を示していることがやはり統計学的に

も証明された。このように良性疾患でも上昇例がみられたことは LDH 活性値の上昇が癌のみに限られた現象ではなく、その他の疾患でも上昇因子の存在を示唆するとともに、すでに報告されているような LDH 活性値上昇機序に対する説明の複雑性をうらづけているように思われる。

血清 LDH 活性値が比較的著明な上昇を示すものとしては肝癌、胆道癌、膀胱癌、肺癌などが挙げられ、胃癌では低い場合が多く、ことに転移のない場合は正常値内であるとの報告もみられ^{33,37)}、発現部位によって上昇率にかなり差がみられるようである。口腔癌における著者の成績でも、本活性値の上昇を示した症例が上顎癌 54.1%、舌癌 58.3% にくらべて、歯肉癌では 80.0% と高くなっていた。このような発現部位による上昇率の差の要因は、著者の成績では明らかでなかった。とくに、日常の臨床で上顎癌と鑑別を必要とする慢性上顎洞炎については、25 例中 4 例 (16.0%) に上昇がみられ、橋本³⁷⁾の 5.2% にくらべてかなり高くなっていた。しかし、著しい高値を示したのはそのうちの 2 例で、あとの 2 例は軽度の上昇であった。このことよりみると大部分 (81.2%) は正常範囲内にあった。このことは早川³⁶⁾も言うように、炎症、壊死など、急激な組織変化をともなう場合も、癌の場合と同様に、LDH 活性値が上昇する場合もあると考えられる。さらに、上顎洞炎に対しては抗炎症剤、抗生物質を、上顎癌に対しては宮本⁵⁶⁾ら、山村⁸⁹⁾らも言うように、制癌剤の大量負荷試験を行ない、その変動を考慮すれば、両疾患の鑑別はさらに容易になるものと考えられる。

原発病巣の組織型と活性値との関係について、鮫島⁶⁷⁾、本間³²⁾らは未分化癌、腺癌にくらべて扁平上皮癌では低い活性値を示すと報告しているが、阿部⁴⁾、早川³⁶⁾らのように相関関係を否定しているものもみられる。著者の成績では単純癌では 8 例中 6 例 (75.0%) に上昇がみられ、扁平上皮癌では 43 例中 29 例 (67.4%) で、わずかに低くなっていた。また、腺癌ではわずか 2 例で、比較検討できなかった。以上の成績よりみとる、組織型と上昇率との間には特別な相関はみとめられないと言える。

次に、口腔癌患者の臨床進展度と上昇率との関係を TNM 分類による Stage 別に検討した。その結果、Stage I (50.0%) < II (64.0%) < III (70.6%) < IV (100.0%) と順に高くなり、上昇率と進展度との間に比例的関係がみとめられた。癌の進展度と活性値上昇との関係について、肺癌、肝癌を研究対象とした多くの報

告では早期癌、あるいは比較的限局したものでは、活性値の上昇はあまりみられず、早期診断に対する否定的な意見も少なくない。しかし、転移のみられる症例では著しい上昇がみられるという点では諸家の一致した見解である。また、頭頸部癌をとりあつかった橋本³⁷⁾も癌の大きさによる上昇率の変動を指摘している。著者の成績からしても、前述のように、Stage I, II で上昇のみられなかった症例が 30~50% もみられたこと、および腫瘍の増大、転移とは比例関係がえられたことから、他科における諸家の見解同様に口腔癌においても、活性値の上昇は早期における補助的診断法としての有用性にいささか欠けるところがあり、むしろ転移発生、または癌の進行度を知るうえに重要性を増してくるよう思われた。

担癌生体における LDH については、動物実験においても種々と検討されてきた。すなわち、マウス移植癌を用いた Hsieh^{28,30)}、マウス白血病による Friend¹⁹⁾ ら、Bodansky¹²⁾ ら、Hill²⁹⁾ ら、Manso⁵¹⁾ ら、浅野^{3,6)} らによる移植癌または自然発生癌での実験、組織培養法による Moore⁵²⁾、浅野³⁾ らの実験などがみられるが、これら諸家の研究は腫瘍の増殖と LDH 上昇との相関関係を肯定している。しかし実験口腔癌における体液諸因子の変動についての研究は見当らず、教室渥美⁹⁾ が Vx2 carcinoma 移植家兎の血清蛋白、血清鉄の変動について報告しているに過ぎない。著者は正常家兎の咬筋内に Vx2 carcinoma を移植し、実験口腔癌により、腫瘍増殖と LDH 活性値との関係を検索した。腫瘍移植後、経日的に上昇し、腫瘍増殖と LDH 活性値の上昇率との間には明らかな比例関係が成立し、他の部における移植癌での諸家の報告と同様な成績がえられた。

かかる、口腔領域各種疾患および、ヒト口腔癌、さらに実験動物癌で、LDH 活性値が諸種の治療法により、いかなる推移を示すかということは、臨床上大いに興味ある問題である。まず、口腔領域良性疾患 44 例について、手術前後における活性値の変動について検討したところ、手術侵襲の程度により多少活性値の変動がみられたが、ほとんど正常値内の変動で、とくべつな変化はみられなかった。

各種制癌剤の投与による LDH 活性値の変動と臨床効果との関係について、肺癌、肝癌等の報告では、一般に有効例では低下し、無効例で上昇する傾向がみられる^{5,35,44,68,69,71)}。また、笠木⁴⁶⁾ は頭頸部悪性腫瘍に動注を行ない、同じ成績をえている。著者は口腔癌に対して BLM を中心とした動注を行なったところ、有効例では低下、無効例では不変あるいは、増加という上記報告者

と同じ成績がえられた。

注目すべきことは有効例では動注開始後早期に活性値の上昇、あるいは低下するという変動がみられたことで、病状の改善と平行して制癌剤の適否あるいは、治療効果の判定に示唆をあたえるものと考えられる。また、無効例における遅延性上昇は、予後経過観察上で転移、再発等を知るに重要な資料となるものと考えられる。

次に、著者は家兎に Vx2 carcinoma を移植した実験口腔癌により、治療効果と活性値との関係について検討を加えてみた。すなわち、動物実験においては腫瘍緩解群、腫瘍非緩解群ともに治療開始早期に活性値の上昇が抑制され、以後、腫瘍緩解群では低下し、腫瘍非緩解群ではさらに上昇するという成績がえられ、臨床成績とよく一致していた。制癌剤を担癌動物に使用し、LDH 活性の変動を追求した研究も多くみられるが、浅野⁷⁾らは Strong A 系ハツカネズミに Fibrosarcoma を移植し、制癌剤を投与し、効果のえられたものでは著しい活性値の低下がみとめられたと報告している。宮本⁵⁶⁾、阿部⁴⁾らは吉田肉腫移植ラットに Tespamin, MMC, Nitromin を腹腔内投与し、経時的に LDH 活性値を測定した結果、Nitromin 耐性吉田肉腫移植ラットでは Nitromin を投与した場合、活性値の変動がみられなかったが、Tespamin 投与に著しい変動がみられたと報告している。

以上の臨床的、実験的研究成績より LDH 活性値の上昇機序について若干考察を加えたい。LDH の血清への遊出機序については、すでに幾つかの論説が報告されているが、山村⁸⁹⁾は以下のように 1. 癌組織における酵素の過剰生産、2. 癌組織の正常組織への浸潤による正常組織からの酵素の遊出、3. 癌組織の細胞膜透過性の変化、4. 担癌状態発生による他の組織の酵素生産の異常と膜透過性の変化、5. 癌組織の器械的閉塞による酵素の逆流、6. inhibitor または activator の増減による血清酵素活性の変化をあげている。

著者は、LDH 活性値の上昇機序については充分解明するには至らなかったが、1. 良性疾患にくらべて口腔癌で明らかな上昇がみられた。2. 口腔癌で病勢の進展に相関して活性値の上昇がみられた。3. 制癌剤投与によって、有効例で活性値の低下あるいは上昇の抑制がみられた。4. 実験口腔癌で腫瘍の増大とともに著しい活性値の上昇がみられた。5. 実験口腔癌に制癌剤を投与することによって、腫瘍緩解群では LDH 活性値の上昇が抑制された。

浅野⁷⁾、田中ら⁷¹⁾は LDH 活性値の上昇は腫瘍由来を推論している。しかし、著者は以上の研究成績より同様の

推論は出来るが、その決定には、なお今後の研究にまっべきであると考ええる。

このような血清 LDH 活性値の変動は、癌のもつ生化学的な特性の一面を把握しており、治療の影響、経過を考慮するにあたり、診断的な意義を充分有しているものと考えられる。

B. 口腔癌における血清 LDH isozyme の臨床的な意義について。

1957年、Vesell⁷⁵⁾により血清 LDH の電気泳動による分画が試みられて以来、Wieland⁸¹⁾により LDH は5分画にわけられ、この各分画はたとえ臓器は異っても、同一移動度を持ち、臓器によって特異的な pattern を呈することも明らかにされた。その後、Wróblewski⁸⁵⁾、Weime⁸³⁾、Van der Helm⁷⁶⁾らにより、さらに研究が広められ、心筋梗塞⁸⁶⁾、肝疾患^{85,86)}、白血病^{3,6,17,19)}での意義がみとめられてきた。また、これと同時に Wieland⁸²⁾ら、Weber⁸⁴⁾らにより組織の癌化に伴い臓器特異性の pattern が消失して、癌特有の pattern を呈することも明らかにされた。

癌組織の LDH isozyme については Wieland⁸⁵⁾、Pfleiderer⁶¹⁾らは、ヒト癌組織では陰極側の LDH₄、LDH₅ に主活性がみられ、とくに LDH₅ の増加が著明であったと報告しているように、LDH₅ の増加が多く研究者によりみとめられている。しかし、Starkweather⁶⁵⁾らのようにヒト正常組織と癌組織の isozyme を比較して、腫瘍組織では LDH₃ の増加がみられ、正常組織の LDH₃ とは異なる蛋白質構成であったという報告もあるが、Goldman²⁴⁾らはこれを否定し、癌組織では LDH₅ が主活性を有すると云っている。頭頸部悪性腫瘍についての報告は鈴木⁶³⁾、橋本³⁷⁾、笠木⁴⁶⁾、小林⁴⁷⁾らの報告がみられるが、上顎癌組織で LDH₅ の増加が特徴的で、癌特有の pattern の存在を認めている。このことは頭頸部癌においても他領域における癌のそれと同様に、癌に特有な生化学的代謝 pattern が存在するという Greenstein の法則に一致するものである。

以上のように、種々と論議されている LDH isozyme は1959年、Markert, Møller⁵³⁾による isozyme の概念の提唱にはじまる。

LDH isozyme の構成に関して、Markert, Møller⁵³⁾、Kaplan⁴³⁾は正に荷電しているM型と、負に荷電しているH型の2種の Subunit によって構成され、2種の Subunit は4個結合して、LDH 分子を作る際にその組合せにより5種類に分けられると説明している。このことは電気泳動法により、組織、血清から5個の band

が検出されるという事実とよく一致している。さらに、M型、H型 Subunit の生理的機能は異なっていることも知られている。すなわち、H-Subunit は好氣的条件下で主活性を有し、M-Subunit は嫌氣的条件下で正常触媒機能を発揮するものである^{15,24,60,74}。癌組織における LDH₅ の増加、すなわち嫌氣的環境下における M-Subunit の増加は癌組織の嫌氣性解糖能の亢進という概念ときわめてよく一致している。

一方、癌患者血清の isozyme については、肝癌に関する研究が多く、Wróblewski, Gregory⁸⁶ らは癌組織同様に LDH₅ の増加を報告し、吉田⁹⁴ らも肝癌血清で LDH₅ の増加を報告している。しかし、伊藤⁴⁰ ら、服部³⁴ らのように、肝癌血清の LDH isozyme は原発性、転移性をとわず、診断的な意義は少ないとしているものもみられる。頭頸部癌患者血清の LDH isozyme については小林⁴⁷ の研究がみられ、LDH₁ の減少、LDH₄、LDH₅ の増加、とくに LDH₅ の著明な増加が目立ち、頭頸部の癌患者血清では H-Subunit が減少し、M-Subunit が増加していたと報告している。

著者は口腔領域における良性疾患44例、および口腔癌25例についての LDH isozyme を測定した。その結果、良性、悪性疾患ともに LDH₁、LDH₂ に若干の増加、あるいは減少例がみとめられたが、平均値では正常健康人平均値とさほどの差はみとめられなかった。LDH₃ ではいずれの疾患でも殆んど変動はみられなかった。LDH₄、LDH₅ については口腔癌で若干上昇例がみられ、平均値でもわずかな上昇傾向がみられたに過ぎなかった。しかし、良性腫瘍ではそのような上昇傾向はみとめられなかった。また、LDH isozyme pattern についてみると、良性疾患では多くの症例で LDH₂ を peak とする LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を示したが、LDH₁ を peak とする LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern を呈した症例もかなりみられた。これは悪性疾患における各分画平均値 pattern は LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の正常健康人 pattern を示したのと対照的で isozyme pattern の多様性をものごとになっているように思われる。また、Starkweather⁶⁵ らによる LDH₃ の増加という特徴的な分画はえられなかった。さらに、Goldman²⁴ らは悪性腫瘍にくらべて、良性腫瘍ではM型 Subunit の増加率が低いことから、組織学的な診断と併せて、臨床応用への可能性を示唆している。著者が行なった顎・口腔領域諸種疾患での実験成績からすれば、本見解を支持するには、今後さらに多くの症例で検討をする必要があるよう

に思われた。

次に口腔癌の発現部位と LDH isozyme の関係について、とくに慢性上顎洞炎と鑑別を必要とする上顎癌について比較検討した。慢性上顎洞炎にくらべて、上顎癌で LDH₂ に減少がみられた以外はいずれの分画も増加がみられた。また、isozyme pattern では上顎癌で LDH₁ を peak とする LDH₁ > LDH₂ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の pattern がみられたのに対し、慢性上顎洞炎では LDH₂ を peak とする LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ の異った pattern がえられた。したがって、両疾患の鑑別にあたっては活性値とともに、isozyme による分析を併せ試みる必要があると考えられる。

次に口腔癌の臨床進展度と LDH isozyme の関係については進展度が高くなるにつれて、M型 Subunit の増加がみられたことから、口腔癌においても、肺、肝癌での報告^{33,34,36} 同様に早期における診断的な意義は少ないと思われる。このことは著者の動物実験成績からも充分肯定されることである。

次に、LDH isozyme が諸種治療法によって変動することが当然考えられ、治療経過に伴う変動を追求することは临床上意義あることである。

Hoch-Ligeti³¹ は手術前後における変動を否定しているが、藤原²⁰ らは子宮頸癌に放射線照射を行なって組織変性の強いものでは増加した LDH₅ が減少すると述べ、笠木⁴⁶ は頭頸部癌に 5-Fu と放射線の同時併用治療を行なって有効例では LDH₅ の減少をみとめ、また、藤崎²¹ らも上顎癌に放射線照射を行なって治療後、LDH₅ の減少をみとめている。小林⁴⁷ も頭頸部癌に制癌剤の局所動注、および放射線照射を行なって有効例では LDH₅ が減少したが、無効例では各分画の変動はみられなかったと報告している。また、森下⁵⁸ は Vx2 carcinoma を家兎大腿部筋肉内に移植し、放射線照射を行なって、照射後では LDH₄、LDH₅ が減少すると報告している。著者は口腔癌患者に制癌剤を動注し、臨床効果との関連性を検討したが、無効例では治療前後を通じて、各分画値に殆んど変動がみられなかったが、有効例では主として正常値範囲内での変動であったが、LDH₁、LDH₂ で正常値範囲外での変動が数例にみとめられた。しかし、治療前後で、測定平均値に著差はみとめられなかった。また、LDH₄、LDH₅ については増加、減少がほぼ同数例にみられた。上記、実験口腔癌に制癌剤を動注し、腫瘍発育と LDH isozyme の関係についても同様に検討したが、腫瘍緩解群と腫瘍非緩解群とでは明らかな差がみられ、腫瘍緩解群では腫瘍緩解とともに LDH₄、LDH₅

の増加率が抑制されたのに反し、非緩解群では増加がみられた。

したがって、顎・口腔領域における悪性腫瘍の臨床的、実験的研究成績からすれば血清 LDH 活性値ならびに LDH isozyme は、他科領域の先人の報告にみられると同様に、早期診断法という有用性には欠けるきらいがあるが、病状の増悪、改善、制癌剤治療による影響等とはかなりの相関関係を有し、とくに癌化学療法時における血清 LDH 活性値の変動は、臨床効果の判定に有用な指標になり得ると考えられる。

V. 結 論

1966年5月より1970年10月迄の4年6ヶ月間に九州歯科大学第2口腔外科でとりあつかった外来、および入院患者のうち、口腔癌54例、良性疾患72例の計126例、さらに担癌動物について、血清 LDH 活性値、ならびに LDH isozyme を測定し、治療前後、あるいは治療経過に伴う変動より、顎・口腔領域疾患における血清乳酸脱水素酵素の臨床的な意義について検討し、次のような結果をえた。

1. LDH 活性値については口腔癌では66.6% (54例中36例)の高率に上昇がみられたが、良性疾患ではわずか18.1% (72例中13例)に上昇がみとめられたにすぎず、明らかな差がみとめられた。また、この活性値においては、口腔癌、良性疾患、および正常健康人の3群の間にはいずれも、それぞれ統計学的に有意の差が証明された。

LDH isozyme については、口腔癌、良性疾患ともに LDH₁, LDH₂ に増加または減少傾向がみとめられた。とくに口腔癌では LDH₄, LDH₅ に増加傾向がみられたが、各分画平均値では、正常健康、良性疾患と口腔癌との測定値間に大差はみとめられなかった。したがって、isozyme pattern は3者ともに LDH₂ > LDH₁ > LDH₃ > LDH₄ > LDH₅ であった。

2. 口腔癌の発現部位と LDH 活性値との関係については、上顎癌、舌癌にくらべて、歯肉癌ではかなり高い上昇率がえられた。LDH isozyme については発現部位により特異的な各分画値、および pattern はえられなかった。

3. 慢性上顎洞炎と鑑別診断を必要とする上顎癌については、LDH 活性値が上顎癌では54.1% (24例中13例)に、慢性上顎洞炎では16% (25例中4例)に上昇がみられ、両者間には明らかな差がみられ、さらに isozyme

による分析を考慮すれば、かなり鑑別を容易ならしめると思われた。

4. 口腔癌の臨床進展度と、LDH 活性値との関係については進展度が高くなるにつれて活性値もわずかに上昇したが、とくに有意な関係はみとめられなかった。しかし、LDH isozyme については、進展度が高くなるにつれて LDH₁ の減少傾向が強く、LDH₄, LDH₅ でも増加がみとめられた。とくに、実験口腔癌ではその傾向が強くみとめられた。

5. 口腔癌原発病巣の組織型と活性値、あるいは isozyme との間には有意な関係をみ出しえなかった。

6. 口腔癌に対して、制癌剤の局所動注を行ない、臨床的、病理組織学的に有効であった症例においては、血清 LDH 活性値は低下し、正常化されたが、無効例では治療前後を通じて有意な変動はみとめられなかった。LDH isozyme についても有効例では各分画値で変動がみられ正常化傾向がみとめられたが、無効例ではほとんど変動がみられなかった。

7. 家兎の実験口腔癌に、BLM, MMC, の動注を行なったが、腫瘍緩解群では LDH 活性値の上昇、および LDH₄, LDH₅ の増加も抑制された。これに反し、腫瘍非緩解群では活性値の上昇、LDH₄, LDH₅ の増加がひきつづきみとめられ、腫瘍の増殖と LDH との間に平行関係がみとめられた。

8. 口腔癌、実験口腔癌ともに制癌剤投与前 LDH 活性値が比較的高い例にかなりの治療効果がえられた。

9. 著者の実験成績から、担癌生体における血清 LDH 活性値上昇機序について充分解明するには至らなかったが、tumor-host-drug-relationship の観点から腫瘍由来による上昇を推論した。

稿を終るに臨み、本研究に終始御懇切なる御指導と御校閲を賜った恩師池尻茂教授に深甚なる感謝の意を表します。また、種々御助言をいただきました本学生化学教室松下義雄教授、外科学教室犬塚貞光教授に深く感謝致します。また、日夜をいとわず実験上種々御教示を戴いた梶山稔講師に衷心よりの謝意を捧げ、あわせて本研究に種々御協力戴いた古本克磨助教授、古賀久保助手ならびに教室諸兄に対して深く感謝致します。また、実験上種々御協力戴いた国立小倉病院がんセンター久恒一雄学兄、同検査科末松吉男科長に感謝致します。

文 献

1. 安部彦司；外科領域における血清蛋白分屑に関する

- 研究: 外科の領域, 8, 449—478, (1960).
2. Appella, E., and Markert, C. L.; Dissociation of Lactate Dehydrogenase into Subunits with Guanidine Hydrochloride: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 6, 171—176, (1961).
 3. 浅野健夫, 新谷善治, 松浦孝典; 担癌生体に関する酵素学的研究 — Lactic Dehydrogenase に関する実験的臨床的研究: *日内科誌*, 51, 101—109, (1962).
 4. 阿部貞義; 肺癌の血清学的診断における乳酸脱水素酵素活性値の臨床的ならびに実験的評価: *肺と心*, 10, 273—292, (1963).
 5. 浅野健夫; 癌における諸種血清酵素の変動とその臨床診断的価値: *臨床病理*, 11, 333—336, (1963).
 6. 浅野健夫, 松浦孝典, 小野昌利; 実験白血病ハツカネズミの血清乳酸脱水素酵素: *医学と生物学*, 68, 79—83, (1964).
 7. 浅野健夫, 福留正郎, 高安正雄, 和氣由紀子; 移植腫瘍による 2, 3 の抗癌剤の制癌効果と効果判定基準としての血清 LDH 活性の意義について: *癌の臨床*, 12, 559—562, (1966).
 8. 青木隆一; LDH: *日本臨床*, 25, 129—136, (1967).
 9. 渥美剛重; 各種制癌剤動注時における口腔癌患者の血清蛋白像ならびに血清鉄の変動に関する臨床的, 実験的研究: *九州歯会誌*, 22, 137—144, (1970).
 10. Baker, R., and Govand, D.; The Effect of Hormonal Therapy of Prostatic Cancer on Serum Aldolase: *Cancer Res.*, 13, 141—146, (1953).
 11. Bodansky, O.; Serum Phosphohexose Isomerase in Cancer. III. As an Index of Tumor Growth in Metastatic Carcinoma of the Prostate: *Cancer*, 8, 1087—1114, (1955).
 12. Bodansky, O., and Scholler, J.; Comparison of Phosphohexose Isomerase and Lactic Dehydrogenase Activities in Plasma; Liver, and Tumor Tissue of Tumor-bearing Rats: *Cancer Res.*, 16, 894—899, (1956).
 13. Bodansky, O.; Serum Phosphohexose in Cancer. IV. Comparison with Metastatic Cancer: *Cancer*, 10, 865—876, (1957).
 14. Cabaud, P. G., and Wróblewski, F.; Colorimetric Measurement of Lactic Dehydrogenase Activity of Body Fluids: *Am. J. Clin. Path.*, 30, 234—236, (1958).
 15. Cahn, R. D. Kaplan, N. O. Levine, L., and Zwilling, E.; The Nature and Development of Lactic Dehydrogenase. The Two Major Types of This Enzyme Form Molecular Hybrids which Change in make up During Development: *Science*, 136, 962—969, (1962).
 16. Elliott, B. A., and Wilkinson, J. H.; Serum α -Hydroxybutyric Dehydrogenase in Myocardial Infarction and in Liver Diseases: *Lancet*, 1, 689—699, (1961).
 17. Erickson, R. J., and Morales, D. R.; Clinical Use of Lactic Dehydrogenase: *New Eng. J. Med.*, 265, 478—482, (1961).
 18. Fishman, W. H., and Lerner, F.; A Method for Estimating Serum Acid Phosphatase of Prostatic Origin: *J. Biol. Chem.*, 200, 89—97, (1953).
 19. Friend, C., and Wróblewski, F.; Lactic Dehydrogenase Activity of Serum in Mice with Transplantable Leukemia: *Science*, 124, 173—174, (1956).
 20. 藤原幸郎, 秋谷清, 坂田稔, 岩倉具一, 中村保, 高山雅臣, 小堀彰一, 浦崎彦志; 子宮頸癌に於ける乳酸脱水素酵素アイソザイムについて: *産科と婦人科*, 34, 680—691, (1967).
 21. 藤崎茂己, 酒井俊一; 慢性副鼻腔炎の癌化に関する組織内 LDH 活性からみた研究: *耳鼻臨床*, 61, 1920—1929, (1968).
 22. Gutman, A. B., and Gutman, E. B.; An "acid" Phosphatase Occurring in the Serum of Patients with Metastasizing Carcinoma of the Prostate Gland.: *J. Clin. Invest.*, 17, 473—478, (1938).
 23. 玄番昭夫, 谷中誠, 林康之, 福井玲子; 健康人血清正常値の検討 — 血清乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性値: *医学のあゆみ*, 47, 357—360, (1963).
 24. Goldman, R. D., Kaplan, N. O., and Hall, T. C.; Lactic Dehydrogenase in Human Neoplastic Tissues: *Cancer Res.*, 24, 389—399, (1964).
 25. Huggins, C., and Hodges, C. V.; Studies on Prostatic Cancer. The Effect of Castration, of Estrogen and of Androgen Injection on Serum Phosphatases in Metastatic Carcinoma of the Prostate.: *Cancer Res.*, 1, 293—297, (1941).

26. Hill, B. R., and Levi, C.; Elevation of a Serum Component in Neoplastic Diseases. : *Cancer Res.*, 14, 513-515, (1954).
27. Hess, B., und Gehm, E.; Über die Milchsäuredehydrogenase im menschlichen Serum: *Klin. Wschr.*, 33, 91-93, (1955).
28. Hsieh, K. M., Suntzeff, V., and Cowdry, E. V.; Comparative Study of Serum Lactic Dehydrogenase Activity in Mice with Transplanted and Induced Tumors: *Cancer Res.*, 16, 237-239, (1956).
29. Hill, B. R. and Jordan, R. T.; Serum Lactic Dehydrogenase Activity in Mice with Transplantable Leukemia; *Cancer Res.*, 17, 144-147, (1957).
30. Hsieh, K. M., Mao, S. S., and Sasanononth, K.; Serum Lactic Dehydrogenase Activity after Excision of Transplanted Tumors: *Cancer Res.*, 19, 700-704, (1959).
31. Hoch-Ligeti, C.; Effect of Irradiation and Operation on Serum Lactic Dehydrogenase and Glutamic Oxalacetic Transaminase in patients with Malignant Tumors: *Cancer*, 15, 818-825, (1962).
32. 本間日臣, 吉場朗, 山崎統四郎, 吉田光孝; 肺癌の酵素学的観察. 原発性肺癌患者における乳酸脱水素酵素活性値変動の評価: *胸部外科*, 15, 762-768, (1962).
33. 服部 信, 松尾裕; 癌患者血清の酵素学的検討: *日内会誌*, 51, 536-542, (1962).
34. 服部 信; 肝臓癌における乳酸脱水素酵素 isozyme について: *生物物理化学*, 11, 31-35, (1965).
35. 原 義雄, 川井和夫, 木村 元, 藤宮松太郎, 藤崎茂, 小越和栄; 癌患者の臨床経過と血清蛋白分割と血清酵素活性: *ガン新病誌*, 4, 203-211, (1964).
36. 早川 滉; 胸部疾患とくに肺癌患者における血清乳酸脱水素酵素活性とその同位酵素について: *長崎医学会誌*, 40, 379-398, (1965).
37. 橋本啓介; 頭頸部悪性腫瘍における血清 LDH 活性値及び組織 LDH isozyme に関する研究: *日耳鼻*, 71, 111-130, (1968).
38. 林田健一郎; 泌尿器科領域における酵素学的研究—悪性腫瘍における乳酸脱水素の意義について—: *久留米医誌*, 33, 58-84, (1970).
39. 池尻 茂; 口腔癌の治療について: *九州歯会誌*, 18, 40-46, (1964).
40. 伊藤憲一, 三浦克郎, 水口千里; 肝領域におけるアイソザイムの基礎と臨床への応用—肝癌における LDH, LAP を中心に—: *日本臨床*, 22, 51-59, (1964).
41. 伊藤洋平; 実験腫瘍学, 545-551, 朝倉書店 (東京), (1966).
42. 池尻 茂; 制癌剤による口腔癌の制圧, 一持続動脈内注入法を中心として—: *歯界展望*, 34, 1-4, (1969).
43. Kaplan, N.O., Ciotti, M. M., Hamolsky, M., and Bieber, R. E.; Molecular Heterogeneity and Evolution of Enzymes: *Science*, 131, 392-397, (1960).
44. 北山久雄, 杵谷多恵子, 橋本礼子, 富山淳子, 太田喜一郎; 血清 Lactic Dehydrogenase 活性測定の意義ことに血液疾患について: *和歌山医学*, 16, 343-353, (1965).
45. 梶山 稔, 古賀久保, 渥美剛重, 宮原弘次, 銅城将紘; 口腔癌および口腔領域各種疾患における血清乳酸脱水素酵素活性値についての検討: *九州歯会誌*, 22, 137-144, (1968).
46. 笠木正勝; 頭頸部悪性腫瘍の各種治療法による血清 LDH 活性値及び組織 LDH isozyme の変動について: *日耳鼻*, 71, 131-147, (1968).
47. 小林 力; 頭頸部悪性腫瘍の LDH アイソザイムに関する研究: *日耳鼻*, 72, 55-80, (1969).
48. Lührs, W. und Negelein, E.; Über das Vorkommen von Milchsäuredehydrogenase im Serum Krebskranker Patienten. *Klin. Wschr.*, 34, 148-149, (1956).
49. Meyerhof, O.; Über die Atmung der Froschmuskulatur: *Arch. Ges. Physiol.*, 175, 20-87, (1919).
50. 松尾 裕, 服部 信; 癌の臨床生化学的研究: *最新医学*, 13, 2487-2498, (1958).
51. Manso, C., Sugiura, K. and Wróblewski, F.; Glutathione Reductase and Lactic Dehydrogenase Activities of Tissues of Rodents with Transplanted Tumors: *Cancer Res.*, 18, 682-686, (1958).
52. Moore, A. E. and Wróblewski, F.; Lactic Dehydrogenase Production in Tissue Culture of

- Normal, Transformed, and, Malignant, Human Cell Lines : Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y., 98, 782-786, (1958).
53. Markert, C. L. and Møller, F.; Multiple Forms of Enzymes : Tissue, Ontogenetic, and Species Specific Patterns : Proc. Nat. Acad. Sci., 45, 753-763, (1959).
 54. Meister, A.; Reduction of α -Keto and, γ -Diketo Acids Catalyzed by Muscle Preparations and by Crystalline Lactic Dehydrogenase : J. Biol. Chem., 184, 117-129, (1950).
 55. 宮沢鉄郎; 血清蛋白分画の臨床生理的研究 (その 2), 組織損傷時の血清蛋白分画の変動について: 慈医誌, 76, 2252-2260, (1961).
 56. 宮本 忍, 大畑正昭, 佐々木 昌, 阿部貞義, 大畠元宏; 肺癌における乳酸脱水素酵素活性値測定の臨床的意義について (第一報), 胸部外科, 15, 515-522, (1962).
 57. 宮本 忍, 瀬在幸安, 佐々木 昌, 佐藤 規, 奈良田光男, 広田悦文, 大畠元宏, 栗原稔, 阿部貞義, 原田裕光, 中村 潔, 坂野洋南, 根本光規, 小川昭一郎, 森弘一, 山口定見, 井上誠一郎, 幸島郁夫, 村中定幸, 菅原源也, 天野隆三, 飯田守, 額原寛; 開心術による血清中の酵素活性値上昇機序の検討—とくに LDH isozyme pattern について—: 胸部外科, 16, 564-572, (1963).
 58. 森下正明; X線照射の実験腫瘍におよぼす影響に関する研究: 阪大歯誌, 13, 139-149, (1967).
 59. Neilands, J. B.; Studies on Lactic Dehydrogenase of Heart. I. Purity, Kinetics, and Equilibrium : J. Biol. Chem., 199, 373-381, (1952).
 60. 大橋望彦; ガン細胞のアイソザイム: 蛋白質核酸酵素, 9, 1143-1152, (1964).
 61. Pfeleiderer, G., und Wachsmuth, E. D.; Alters- und Funktionsabhängige Differenzierung der Lactatdehydrogenase menschlicher Organe : Biochem. Z., 334, 185-198, (1961).
 62. Rous, R. and Beard, J. W.; The Progression to Carcinoma of Virus-Induced Rabbit Papillomas (Shope) : J. Exptl., 62, 523-548, (1935).
 63. Richterich, R., Locher, J., Zuppinger, K., and Rossi, E.; The Differential Diagnosis of Malignant and Benign Effusions by the Determination of Lactic Dehydrogenase Isoenzyme: Schweiz. Med. Wschr., 92, 919-927, (1962).
 64. Sibley, J. A., and Lehninger, A. L.; Aldolase in the Serum and Tissue of Tumor-Bearing Animals : J. Nat. Cancer Inst., 9, 303-309, (1949).
 65. Starkweather, W. H., and Schok, H. K.; Some Observation on the Lactate Dehydrogenase of Human Neoplastic Tissue : Biochem. Biophys. Acta., 62, 440-442, (1962).
 66. 鈴木千賀志, 近藤 敏, 宗形喜久男, 川島喜代志, 荒井他嘉司, 水野愛子; 肺癌の血清化学的診断法: 肺と心, 10, 209-222, (1963).
 67. 鮫島夏樹, 佐々間昭直, 小林定道, 大野義雄, 中村尚孝, 佐藤拓可; 癌患者における血清解糖酵素の臨床的研究: 癌の臨床, 10, 668-680, (1964).
 68. 鈴木安恒, 三宅浩郷, 坂木 裕, 橋本啓介, 笠木正勝, 小林力; 上顎癌組織の LDH isozyme について: 生物物理化学, 14, 1-8, (1969).
 69. 斉藤達雄; 癌化学療法と病態生理学的知見: 癌の臨床, 12, 225-233, (1966).
 70. Thiers, R. E. and Vallee, B. L.; Analytical Considerations in Serum Enzyme Determination : Ann. N. Y. Acad. Sci, 75, 214-226, (1958).
 71. 田中順三郎; 解糖系代謝因子の消長よりみた癌治療の研究—とくに血清 LDH 活性測定の意義について—: 札幌医誌, 32, 89-107, (1967).
 72. 寺岡昭彦; ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による日本人成人血清乳酸脱水素酵素 isozyme の正常値について: 慈医誌, 82, 752-761, (1968).
 73. 漆崎一朗, 伊藤義広, 松田幹人, 白松幸爾; 担癌体の血清鉄及び鉄結合能: 癌の臨床, 11, 827-833, (1965).
 74. 植田啓嗣, 中田俊士, 伊藤友昭, 村尾茂雄, 西川光夫, 永原篤; LDH アイソザイム組織を規定する因子について: 最新医学, 22, 354-362, (1967).
 75. Vesell, E. S. and Bearn, A. G.; Isozymes of Lactic Acid Dehydrogenase Activity in Serum Fraction : J. Clin. Invest., 40, 586-591, (1961).
 76. Van der Helm, H. J.; A Simplified Method of Demonstrating Lactic Dehydrogenase Isoenzymes in Serum : Clin. Chim. Acta., 7, 124-128, (1962).
 77. Warburg, O., and Christian, W.; Gärungsfer-

- mente im Blutserum von Tumor-Ratten: Biochem. Ztschr, 314, 399—408, (1943).
78. Woodard, H. Q. ; Role of The Chemical Laboratory in Diagnosis of Neoplastic Diseases of Bone. : Arch. Surg., 47, 368—383, (1943).
 79. Wróblewski, F. and LaDue, J. S. ; Lactic Dehydrogenase Activity in Blood. : Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y., 90, 210—213, (1955).
 80. White, L. P. ; Serum Enzymes. I. Serum Lactic Dehydrogenase in Myocardial Infarction : New Eng. J. Med., 255, 984—988. (1956).
 81. Wieland, Th., and Pfeleiderer, G. ; Nachweiss der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenase verschiedenen Ursprungs durch Tragelektrophorese. : Biochem. Z., 329, 112—116, (1957).
 82. Wieland, Th., Pfeleiderer, G., Haupt, I., und Wörner, W. ; Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenasen. IV. Quantitative Ermittlung einiger Enzymverteilungsmuster vergleichende Betrachtung bei verschiedenen Wirbeltierklassen : Biochem. Z., 332, 1—10, (1959).
 83. Wieme, R. J. ; An Improved Technique of Agar-Gel Electrophoresis on Microscope Slides : Clin. Chim. Acta, 4, 317—321, (1959).
 84. Weber, G. and Pfeleiderer, G. ; Isozymes in the Human Epidermis : Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 933—936, (1961).
 85. Wieland, Th., and Pfeleiderer, G. ; Chemical Differences between Multiple Forms of Lactic Acid Dehydrogenases : Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 691—700, (1961).
 86. Wróblewski, F., and Gregory, K. F. ; Lactic Dehydrogenase Isozymes and Their Distribution in Normal Tissues and Plasma and Disease States : Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 912—932, (1961).
 87. Wilkinson, J. H. ; Isoenzyme : Tokyo, Maruzen. (1969).
 88. 吉田 作 ; 血清蛋白像の推移からみた回盲部切除術後の適合状態について : 日外会誌, 57, 1872—1887, (1957).
 89. 山村雄一, 螺良英郎, 青木隆一, 正木 繁, 小倉剛 ; 肺癌の血清学的診断—特に酵素化学的ならびに免疫化学的診断法について— : 肺と心, 10, 223—230, (1963).
 90. 山村雄一, 青木隆一 ; 乳酸脱水素酵素 : 総合臨床, 15, 966—972, (1966).
 91. 吉田光孝, 石川和子, 北村元仕 ; 体液 LDH アイソザイムに関する研究 (1) 寒天電気泳動法による LDH 分画測定法 : 生物物理化学, 11, 345—350, (1966).
 92. 吉田光孝, 北村元仕 ; LDH アイソザイム : 臨床病理, 増刊12, 96—109, (1967).
 93. 山田 欽, 久田忠男, 荻原 正, 今川省, 寺岡昭彦, 松岡継明 ; ヒト血清の LDH isozyme 特に健常者について : 生物物理化学, 12, 15—17, (1967).
 94. 吉田光孝, 吉場朗 ; LDH アイソザイムの臨床的応用 : 臨床病理, 17, 185—189, (1969).
 95. Zimmerman, H. J., and Weinstein. H.H. ; Lactic Dehydrogenase in Human Serum : J. Lab. & Clin. Med., 48, 607—616, (1956).