〔泌尿紀要32巻5号〕
〔1986年5月〕

ポリアミンテスト—エンザイムによる尿路性器癌患者における尿中ポリアミンについて

岐阜県立岐阜病院泌尿器科（部長：酒井俊助）
酒井俊助・小出卓也・伊藤康久
長浜赤十字病院泌尿器科（部長：鄭 漢彬）
鄭 漢彬
岐阜大学医学部泌尿器科学教室（主任：西浦常雄教授）
出口 隆・松田聖士・加藤直樹
坂 義人・西浦常雄

THE URINE POLYAMINE IN PATIENTS WITH MALIGNANT UROLOGICAL DISEASE USING A POLYAMINE-TEST ENZYME KIT

Shunsuke SAKAI, Takuya KOIDE and Yasuhisa ITO
From the Department of Urology, Gifu Prefectural Gifu Hospital
(Chief: Dr. S. Sakai)
Kanhin TEI
From the Department of Urology, Nagahama Red Cross Hospital
(Chief: Dr. K. Tei)
Takashi DEGUCHI, Seiji MATSUDA, Naoki KATO,
Yoshihito BAN and Tsuneo NISHIURA
From the Department of Urology, School of Medicine, Gifu University
(Director: Prof. T. Nishiura)

Using a polyamine-test enzyme kit, the urine polyamine concentration was determined in 74 patients with malignant urological disease (12 with renal cell cancer, 13 with pelvic-ureter cancer, 24 with bladder cancer and 25 with prostate cancer), 7 patients with BPH, 20 patients with benign urological disease and 20 normal subjects.

The urine polyamine level was significantly elevated in all the patients with any malignant urological disease compared to normal subjects. It was also significantly high in the patients with BPH.

Defining the mean±3SD (=50 μmole/g Cr.) of 20 normal subjects as an upper limit, slightly higher levels not exceeding 100 μmole/g Cr. were frequently observed in the patients with BPH or with benign urological disease.

Setting the upper limit at 100 μmole/g Cr., the positive rate amounted to 33% (low stage 17%) in renal cell cancer, 23% (low stage 14%) in pelvic ureter cancer, 13% (low stage 0%) in bladder cancer and 4% (low stage 0%) in prostate cancer. The positive rate was low especially in low stage cases.

Key words: Urinary Polyamine, A Polyamine-test enzyme kit

緒　　言

ポリアミンは生物界に広く存在する生体アミンで，1678年 Lecumenhock により人の精液中においてリン酸塩の結晶として見いだされて以来，その代謝および生理作用の研究が進み，蛋白や核酸合成の促進因子として働くものと考えられる．1971年，Russel ら[1,2]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，新しい tumor marker として注目を集め，各種体液中のポリアミン濃度が測定されるようになった．しかし，電気泳動法・高速液体クロマトグラフィ法やアミノ酸分析法などの従来の測定法はいずれも手技が複雑で測定に長時間を要するため，一般臨床検査として限界があった．久保田ら[3]は簡便・迅速かつ一度に多数の検体を処理できる日常臨床検査に適した新しい尿中ポリアミンの測定法を開発した．今回，われわれはこの尿中ポリアミンキットを用いて，泌尿器科領域の悪性腫瘍患者における尿中ポリアミンを測定したので，その結果を報告する．

対象および方法

対象は岐阜大学附属病院泌尿器科および関連病院泌尿器科に入院し，組織学的に悪性腫瘍と診断された治療前の74症例である．癌の深達度は U.I.C.C. の分類にしたがって分類した．その内訳は腎細胞癌12例，腎盂尿管腫瘍13例，膀胱腫瘍24例および前立腺癌25例である．なお，良性腫瘍ではあるが前立腺肥大症7例についても検討を加えた．

一方，対照群は明らかな腫瘍性病変を持たない泌尿器科的良性疾患20症例および健常人20例である．泌尿器科的良性疾患の内訳は尿路結石症15例，腎のう胞症2例，腎盂尿管狭窄症1例，膀胱尿管逆流現象1例および陰のう水腫1例である．

測定法はポリアミンテストーエンザイムの下記の試薬を使用した．

緩衝液：0.4 M (Tris-Hcl) (pH 8.0)

脱着液：0.4 M トリクロル酢酸溶液

中和液：0.3 M トリス—アミノメタン溶液

酵素液A：凍結乾燥したアシルポリアミン加水分解酵素を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 8.0) で用時溶解した溶液

酵素液 B：4—アミノアンチピリンおよび凍結乾燥したペルオキシダーゼおよびプトレッシンオキシダーゼに対し 2.4—ジクロルフェノールを含む 0.1 M トリス—塩酸緩衝液 (pH 8.0) で用時溶解した溶液

標準液：30 μM プトレッシンの塩酸溶液

カラム：弱酸性カチオン交換樹脂を充てんずみのミニカラム

尿 1 ml に緩衝液 1 ml および酵素液 A 1 ml を加えて混和した．37°Cで1時間 incubation 後，3,000×g で5分間遠心分離にて尿中アセチル抱合型ポリアミンを遊離型にし，上清全量をカラムに添加した．精製水 3 ml でカラムを洗浄後，脱着液 1 ml にて溶出した．溶出液に中和液 1 ml および酵素液 B を加えて混和し，37°Cで15分間 incubation 後，510 nm にて吸光度を測定した．尿同様に，精製水および標準液についても測定し以下の計算にて尿中ポリアミン値を求めた (Table 1).

$$\text{ポリアミン値} = 25.0 \times \frac{ODs - ODb}{ODe - ODb} (\mu mole/l)$$

(ODs：検体の呈色度，　ODe：標準液の呈色度，ODb：盲検液の呈色度)

検体は24時間尿の一部を測定日まで −20°C にて保存し測定に用いた．測定値は尿中ポリアミン値 (μmole/l) を尿中クレアチニン (g/l) で除した値 (μmole/g.Cr.) で求めたが，本法にて測定されるポリアミンはスペルミジンとジアミンのみの総量であり，スペルミンは含まれない．

成　　績

本測定法を用い，臨床検体を測定した結果を Table 2 および Fig. 1 に示す．健常人20例の平均は 25.43 ±8.08 μmoles/g.Cr. であり，泌尿器科的良性疾患群20例のそれは 34.09±15.05 μmoles/g.Cr. であった．前立腺肥大症7例のそれは49.90±17.56 μmoles/g.Cr. であり，健常人に対し $P<0.01$ で有意な差を示したが，泌尿器科的良性疾患群に対しては有意の差を示さ

Table 1

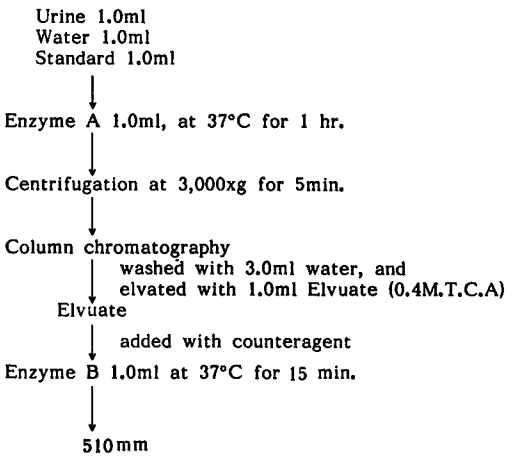

Table 2. Polyamine of urine by polyamine test-enzyme in urological desease (corrected by creatinine)

	n	Mean ± SD (moles/g.Cr.)
Normal	20	25.43 ± 8.08
Urological benign disease	20	34.09 ± 15.05
BPH	7	49.90 ± 17.56
Renal cancer	12	91.87 ± 51.95
Renal pelvic cancer	13	74.27 ± 65.99
Bladder cancer	24	57.88 + 35.88
Prostate cancer	25	54.65 + 30.97

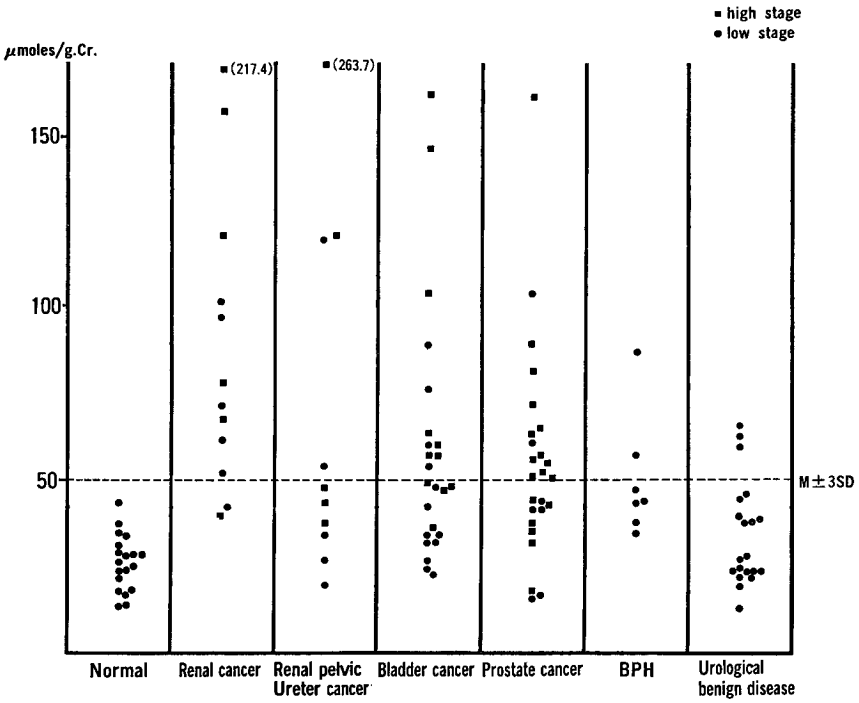

Fig. 1. Polyamine of urine by polyamine test-enzyme in urological disease (corrected by creatinine)

なかった.

腎細胞癌 12 例のそれは 91.87±51.95 μmoles/g.Cr. であり，健常人および泌尿器科的良性疾患群に対し P<0.01 で有意の差を示した．深達度別に検討すると，low stage 群 6 例の平均は 70.55±24.24 μmoles/g.Cr. であり，high stage 群 6 例の平均は 113.19±65.27 μmoles/g.Cr. であった．low stage 群および high stage 群はいずれも健常人に対し P<0.01 で，泌尿器科的良性疾患群に対し P<0.05で有意の差を示した.

腎盂尿管腫瘍13例のそれは 74.27±65.99 μmoles/g.Cr. であり，健常人に対し P<0.05 で有意の差を示したが，泌尿器科的良性疾患群に対しては有意の差を示さなかった．深達度別に検討すると，low stage 群 7 例の平均は 50.60±33.53 μmoles/g.Cr. であり，high stage 群 6 例の平均は 101.65±86.20 μmoles/g.Cr. であった．low stage 群および high stage 群はいずれも健常人および泌尿器科的良性疾患群に対し有意の差を示さなかった.

膀胱腫瘍 24 例のそれは 57.88±35.88 μmoles/g.Cr. であり，健常人および泌尿器科的良性疾患群に対し，P<0.01 で有意の差を示した．深達度別に検討する

と，low stage 群13例の平均は43.35±21.28 μmoles/g.Cr. であり，high stage 群11例の平均は 75.05±42.64 μmoles/g.Cr. であった．high stage 群は健常人に対し P<0.01で，泌尿器科的良性疾患群に対し P<0.05で有意の差を示した．low stage 群は健常人に対し P<0.05で有意の差を示したが，泌尿器科的良性疾患群に対しては有意の差を示さなかった．

前立腺癌25例のそれは 54.65±30.97 μmoles/g.Cr. であり，健常人および泌尿器科的良性疾患群に対し P<0.01で有意の差を示した．深達度別に検討すると，low stage 群7例の平均は45.65±30.19 μmoles/g.Cr. であり，high stage 群 18 例の平均は 58.08±31.42 μmoles/g. Cr. であった．high stage 群は健常人および泌尿器科的良性疾患群に対し P<0.01で有意の差を示したが，low stage 群はいずれに対しても有意の差を示さなかった．

健常人 20 例の平均値は 25.43±8.08 μmoles/g.Cr. (M±SD)であり，M+3SD=49.67 μmoles/g.Cr. を超えるものを有意の高値とした．50 μmoles/g.Cr. 以上を陽性として検討すると，健常人20例では 50 μmoles/g.Cr. 以上を示すものはなかったが，泌尿器科的良性疾患20例においては3例，良性腫瘍である前立腺肥大症は7例中2例に高値を認めた．

腎細胞癌では12例中10例，83%の陽性率であり，それを深達度別に検討するとlow stage 群，high stage 群とも83%と高い陽性率を示した．腎盂尿管腫瘍では13例中6例，46%の陽性率であり，深達度別に検討すると low stage 群の陽性率は43%，high stage 群は50%であった．膀胱腫瘍では24例中11例，46%の陽性率であり，深達度別に検討すると low stage 群の陽性率は30%，high stage は 64%であった．前立腺癌では25例中14例，56%の陽性率であり，深達度別に検討すると low stage 群の陽性率は 29%，high stage 群は 67%であり，膀胱腫瘍および前立腺癌とも low stage 群の陽性率は低かった．

考　　察

1971年，Russel ら[1,2]による癌患者尿中へのポリアミン排泄増加の報告以来，ポリアミンは悪性腫瘍のマーカーのひとつとして注目されてきた．従来法であるアミノ酸分析法や高速液体クロマトグラフィは特別な装置を要したり，操作が繁雑なため，悪性腫瘍のスクリーニングテストとしては適していなかった．

最近，ポリアミンに対する抗体を用いて測定する RIA 法[4]や EIA 法[5]，酵素を用いてポリアミンを測定する方法[6,7]が開発され，迅速で簡便にポリアミンを測定することが可能となってきている．

今回，われわれは久保田らが開発した酵素法による尿中ポリアミン測定用キットを用いて，泌尿器科領域の悪性腫瘍患者について検討した．

健常人 20 例より得られた正常値は 25.43±8.08 μmoles/g.Cr. であり，正常上限値を平均+3 SD である 50 μmoles/g.Cr. に設置したが，この値は久保田ら[3]の成績とほぼ一致した．本法を用いた検討において，100 μmoles/g.Cr. 以下の軽度高値の症例は悪性腫瘍以外にも各種炎症性疾患，心筋梗塞，脳血管障害などさまざまな病態に際して認められたとの報告[8]がある．われわれの検討でも悪性腫瘍以外に100 μmoles/g.Cr. 以下の軽度高値症例は尿路結石，前立腺肥大症の疾患に認められたが，これらの症例はいずれも尿路感染および血尿を認めていない．Russel ら[9]によれば，悪性腫瘍以外の疾患で異常高値を示す場合には，その要因として尿路感染症や細菌汗染に起因するカダベリンの増量による可能性も考慮すべきと指摘している．

50 μmoles/g.Cr. に正常上限値を設置して検討した結果，腎細胞癌の陽性率は83%であり，陽性率の低かった膀胱腫瘍においても 46 %に認められた．low stage の症例に限っても腎細胞癌の陽性率は83%であり，さらに膀胱腫瘍においても30%の陽性率を認めるなど，泌尿器科領域の悪性腫瘍では比較的高い陽性率が得られた．しかし，今回の検討において，100 μmoles/g.Cr. 以下の軽度高値の症例は悪性腫瘍以外にもかなりの頻度で認められ，100 μmoles/g.Cr.以上の症例はいずれも悪性腫瘍であることより，100 μmoles/g.Cr. に正常上限値を設置する必要がある．100 μmoles/g.Cr. 以上を陽性とすると，腎細胞癌の陽性率は33% (low stage 17%)，腎盂尿管腫瘍 23 % (low stage 14%)，膀胱腫瘍13% (low stage 0 %) および前立腺癌 4 % (low stage 0 %) である．その結果，悪性腫瘍に対して非常に特異性の高い腫瘍マーカーとなる反面，泌尿器科領域における悪性腫瘍の陽性率は低く，low stage の症例においては著明であった．ポリアミンは前立腺癌に対する PAP や肝癌に対する AFP の臓器特異性の高い腫瘍マーカーと異なるためか，早期癌に対して高い陽性率が得られないのかもしれない．

ポリアミンは早期癌においてはほとんど上昇がみられず，上昇している場合には進行癌症例との報告が散見される[9,10]一方，Sanford ら[11]によれば腎癌11例中9例，82%に尿中ポリアミンの増加を認め，CEA の陽性率よりもかなり高い陽性率を示したとの報告もみ

られる．このように，報告者により成績のバラツキがみられるのは測定法が種々であり，確立された測定法にて検討される必要がある．本キットはその意味から言えば，簡便でかつ多数の検体を処理できるため確立された測定法と思われる．しかし，本キットの欠点はスペルミンを含まないスペルミジンとジアミンの総量にて尿中ポリアミンを求めるものであり，ポリアミンの各分別を定量するものではない．

膀胱腫瘍において，プトレッシン，スペルミン，スペルミジンのうち2種以上のポリアミンが正常に比し増加した症例が95%であったとの報告にもみられるように，ポリアミン総量を求める本キットの結果のみにて早期癌における腫瘍マーカーへの応用が困難であるとは断定できない．簡便で確立されたポリアミン分別定量の測定法が望まれ，それにより早期癌に対する腫瘍マーカーとしての意義が高まる可能性もある．

結　　語

1）ポリアミンテストーエンザイムのキットを用いて，泌尿器科領域の悪性腫瘍患者74例（腎細胞癌12例，腎盂尿管腫瘍13例，膀胱腫瘍24例および前立腺癌25例），前立腺肥大症患者7例，泌尿器科的良性疾患患者20例および健常人20例の尿中ポリアミンを測定した．

2）尿路性器癌におけるいずれの疾患群も健常人に比し有意の上昇を認めたが，前立腺肥大症も同様に有意の上昇を認めた．

3）健常人20例の平均＋3 SD（＝50 μmoles/g.Cr.）を尿中ポリアミンの上限値とすると，前立腺肥大症および泌尿器科的良性疾患において 100 μmoles/g.Cr. 以下の軽度高値の症例がかなり認められた．

4）100 μmoles/g.Cr.に上限値を設置した結果，腎細胞癌の陽性率は33%（low stage 17%），腎盂尿管腫瘍 23%（low stage 14%），膀胱腫瘍 13%（low stage 0%）および前立腺癌4%（low stage 0%）であり，特に low stage の症例において陽性率が低かった．

文　　献

1) Russel DH : Increased polyamine concentrations in the usine of human cancer patients. Nature New Biol **233**: 144～145, 1971

2) Russel DH, Carl C, Levy S, Shimpff C and Hank I: Urinary polyamines in cancer patient. Cancer Res **31**: 1555～1558, 1971

3) 久保田俊一郎・岡田昌人・今堀和友・大沢仲昭：腫瘍マーカーとしての尿中ポリアミンの新しい簡便，迅速測定法．医学のあゆみ **124**：22～24, 1983

4) Bartos D: Direct determination of polyamines in human serum by radioimmuns assay.

5) Fujiwara K: Preparation of polyamine antibody and its use in enzyme immunoassay. Cancer Res **35**: 2056～2060, 1975

6) Kubota S, Okada M, Imahori K and Ohsawa N: A new simple enzymatic assay method for urinary polyamines in humans. Cancer Res **43**: 2363～2367, 1983

7) Isobe K, Tani Y and Yamada H: Differential determination for putrescine, spermidine and spermine with polyamine oxidase from fungi and putrescine oxidase. Agric Biol Chem **45**: 727～733, 1981

8) 岡部洋太郎・荒島　功・岡部龍也・中野栄二・河野均也・土屋俊夫：CRP とポリアミン．臨床病理 **59**：97～104, 1984

9) 遠藤康夫・鮫島啓二郎：ポリアミン．医学のあゆみ **106**：282～297, 1978

10) Durie BGM, Salmon SE and Russell DH: Polyamines as markers of response and disease activity in cancer chemotherapy. Cancer Res **37**: 214～221, 1977

11) Sanford EJ, Drago JR, Rohner TJ, Kessler GF, Sheehan L and Liptor A: Preliminary evaluation of urinary polyamines in the diagnosis of genitourinary tract malignancy. J Urol **113**: 218～221, 1975

（1985年8月2日受付）