

膀胱癌患者における  $\beta$ -Glucuronidase の研究

長崎大学医学部泌尿器科学教室（主任：近藤 厚教授）

田 中 健 嗣

STUDIES ON  $\beta$ -GLUCURONIDASE IN PATIENTS  
WITH BLADDER CARCINOMA

Kenji TANAKA

*From the Department of Urology, Nagasaki University School of Medicine**(Chairman: Prof. A. Kondo, M. D.)*

The finding of a relationship between bladder carcinoma and  $\beta$ -glucuronidase ( $\beta$ -G) in 1947 arose the attention of many investigators. Thus a number of papers have reported the fact that a  $\beta$ -G activity in urine is high among patients with bladder carcinoma. It is, however, not yet clear what the main course of these observations is. The present biochemical studies were aimed to find the relationship between the increase of  $\beta$ -G activity in urine of bladder carcinoma patients and their tumors. The data are summarized as follows:

1. The levels of  $\beta$ -G activity in both urine and serum of bladder carcinoma patients were higher than those of the normal subjects. The  $\beta$ -G activity of the extract of bladder carcinoma was also higher than that of the normal. The  $\beta$ -G activity of the kidney extract was the highest value in the normal subject, but there were no significant difference between the activity of kidney extract and that of bladder carcinoma statistically.
2. By Pevicon block electrophoresis two bands from the bladder carcinoma extract and one band from the normal bladder extract were observed.
3. By DEAE-cellulose column chromatography the  $\beta$ -G activity of the bladder carcinoma extract emerged as three peaks designated as Fractions I, II and III, in contrast to one peak (Fr. I) from the normal bladder and two peaks (Fr. I and III) from kidney were detected. Fr. II was observed only in the bladder carcinoma extract.
4. By DEAE-cellulose column chromatography the  $\beta$ -G activity of urine of bladder carcinoma patients was fractionated into three fractions (Fr. I, II and III) in contrast to two fractions (Fr. I and III) of that of normal urine. Fr. II was also specific for urine of the bladder carcinoma patients, likewise in the tissue extract.
5. These data suggested that the  $\beta$ -G activity in urine of the bladder carcinoma patient is apparently derived from the carcinoma tissue.

## 緒 言

1947年 Fishman ら<sup>1)</sup>が、人体あるいは動物の癌組織中に $\beta$ -グルコニダーゼ（以下 $\beta$ -Gと省略）活性が増加していることを報告して以来、泌尿器科領域においても1955年 Boyland ら<sup>2)</sup>が、膀胱癌患者の血清、尿および腫瘍組織中の $\beta$ -G活性が著明に増加してい

ることを指摘した。さらに、Boyland ら<sup>3)</sup>は、膀胱癌の発生と $\beta$ -Gとの関係に注目、発癌物質がグルクロン酸抱合体として尿中に排泄されるとき、尿中に存在する $\beta$ -Gによりこの抱合体が加水分解されて、ふたたび発癌作用を有する物質となり、膀胱癌が発生すると説明した。このように発癌要因の一つとして $\beta$ -Gをとらえる考え方に対して<sup>4,5)</sup>、尿中の $\beta$ -G活性が高

いは腫瘍自体に起因するものであるとする考え方がある<sup>6-9)</sup>。しかし両者の考え方には、担癌生体の  $\beta$ -G 活性が対照群にくらべて高いか低いかという  $\beta$ -G 活性の量的変化にもとづいて、腫瘍発生の原因を見いだそうとする考え方が前提になっていたように思われる。

そこで、著者は膀胱癌患者の尿、血清および癌組織中の  $\beta$ -G 活性が上昇する原因を解明するため、患者の尿、血清および癌組織中の  $\beta$ -G 活性を測定し、対照群と比較するとともに、各試料中の  $\beta$ -G の物理学的ならびに酵素化学的特性を比較検討し、若干の新知見を得たので報告する。

## 実験材料および方法

### I. 実験材料

#### (1) 実験検体

尿は2～3滴のトルエンを加えた24時間蓄尿の一部を使用した。血清は早朝空腹時採血した静脈血より血清を分離して使用した。外科的に摘出した膀胱腫瘍の非癌部膀胱壁および前立腺肥大症ならびに膀胱尿管逆流症の膀胱切開手術時採取した生検用膀胱壁小片などの粘膜および筋層を正常膀胱組織材料として使用した。腎盂腫瘍、尿管腫瘍および腎外傷などで摘出した腎の肉眼的非癌部または健常部を正常腎組織として使用した。膀胱癌の癌部は外科的に摘出後、直ちに冷凍保存し使用した。

#### (2) その他の材料

p-ニトロフェニル- $\beta$ -D-グルコピラノシドウロン (以下 p-NPG と省略) は中外製薬製、ペビコン C870 は半井化学製、DEAE-セルロース (DESH) はシルバー製、コロジオンバック (CM 13200) はサルトリウス社製のものを用いた。

### II. 尿、血清および臓器組織の $\beta$ -G 活性測定法

#### (1) 尿中 $\beta$ -G 活性

$\beta$ -G の活性測定は Kato ら<sup>9)</sup>の方法に準じておこなった。24時間蓄尿の一部の遠心上清を使用した。基質の 0.1 M p-NPG 溶液 0.1 ml, 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.7) 0.2 ml および尿 0.1 ml を含む反応液を15時間インキュベートした後、0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 2 ml を加えて反応を停止すると同時に、遊離した p-ニトロフェノールを発色させ 400 nm の吸光度を適当な比色計で測定した。

#### (2) 血清中 $\beta$ -G 活性

早朝空腹時に採血した静脈血より血清を分離し、尿の場合と同様な方法で p-NPG を基質とし、0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) 中で10時間インキュベートした後、発色させ生成 p-ニトロフェノール量を定量した。

#### (3) 臓器組織の $\beta$ -G 活性

採取した組織小片を細切し、生食水で洗浄後 1% (w/v) になるよう 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) を加え、ガラス製ホモジナイザーで磨砕した。ホモジネイトを 4°C で 10,000 rpm 30分遠心後、得られた上清を酵素液とし、尿の場合に準じて 0.1 ml 用いて活性測定をおこなった。ただし反応液を1時間インキュベートしたのち遠心しその上清を比色定量した。

#### (4) $\beta$ -G 活性の算出法

p-ニトロフェノールを用いてあらかじめ作成した検量曲線より遊離した p-ニトロフェノール (p-NP) 量 ( $\mu$ g) を求め、計算式にしたがって活性 (単位) を算出した。

##### (a) 尿および血清

$$\frac{\text{遊離 p-NP 量 } (\mu\text{g})}{\text{被検液量 } (\text{ml})} \times \frac{100}{\text{温置時間 } (\text{時})} = \text{単位/dl/時}$$

##### (b) 組織

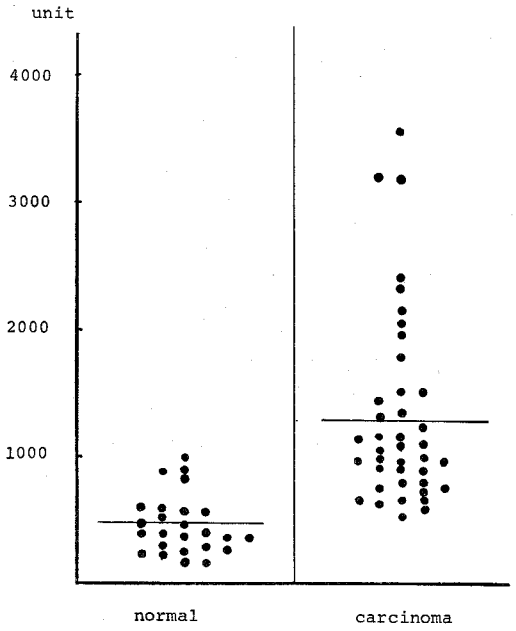
$$\frac{\text{遊離 p-NP 量 } (\mu\text{g})}{\text{被検液量 } (\text{ml})} \times \frac{\text{ホモジネイト全量 } (\text{ml})}{\text{組織量 } (\text{g})} \times \frac{1}{\text{温置時間 } (\text{時})} = \text{単位/g(湿重量)/時}$$

### III. ペビコン (pevicon) ブロックを支持体とする電気泳動法

正常膀胱組織 (10例) および膀胱癌組織 (10例) を用いて、0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) で 25% (w/v) ホモジネイトを調製した後、4°C で 10,000 rpm 30分遠心し、得られた上清を組織抽出液として用いた。蒸留水および 0.03 M ベロナール緩衝液 (pH 8.6) でじゅうぶん洗浄したペビコン (C870)<sup>10)</sup> を支持体として用いた。ガラス板上に合成樹脂で 7×40×1.5 cm に枠組みした中に 0.03 M ベロナール緩衝液で平衡化した支持体を充満し、試料 1 ml (蛋白量 30～50 mg 相当含有) を枠内中央部に 1 cm に流し込んだ後、4°C で 20時間 400 V の定電圧で泳動した。活性含有バンドの同定と活性測定をおこなうため、ブロックを 1 cm 幅に切断し、各ブロックをガラスフィルター付ポートに移し、吸引ろ過により酵素を溶出 (抽出) した。この溶出液の 0.1 ml を、II項の(2)と同様な反応液に加え、20時間インキュベートしたのち生成 p-ニトロフェノール量を比色定量した。

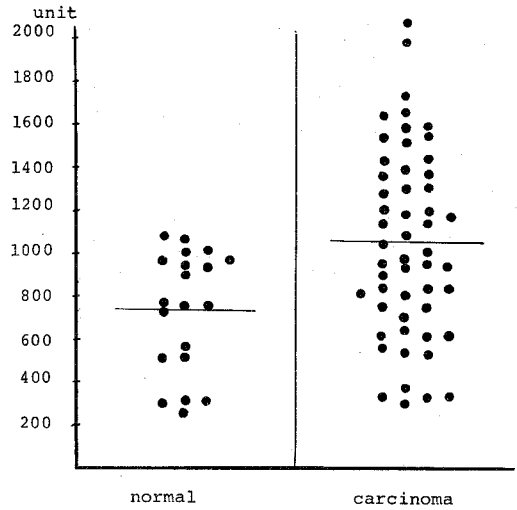
### IV. DEAE-セルロースカラムクロマト法

正常膀胱組織 (10例)、膀胱癌組織 (10例)、および正常腎組織 (5例) を用いて 25% (w/v) のホモジネイトを調製し、4°C で 10,000 rpm 30分遠心し、得られた上清を試料として使用した。また、正常人尿 (8例) および膀胱癌患者尿 (7例) をコロジオンバック



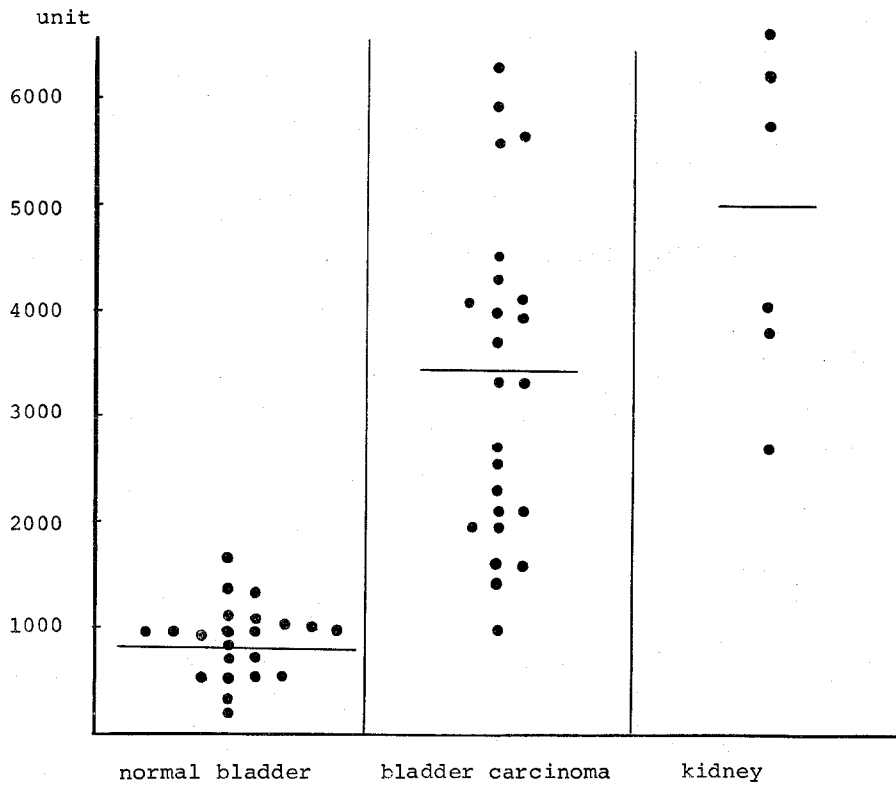
normal carcinoma  
 $465 \pm 230$   $1300 \pm 745$  SG (0.001)

Fig. 1. β-glucuronidase activity of urine.



normal carcinoma  
 $744 \pm 275$   $1064 \pm 438$  SG (0.01)

Fig. 2. β-glucuronidase activity of sera.



normal bladder bladder carcinoma kidney  
 $831 \pm 364$   $3478 \pm 1774$   $5020 \pm 1645$   
 SG (0.001)

Fig. 3. β-glucuronidase activity of tissues.

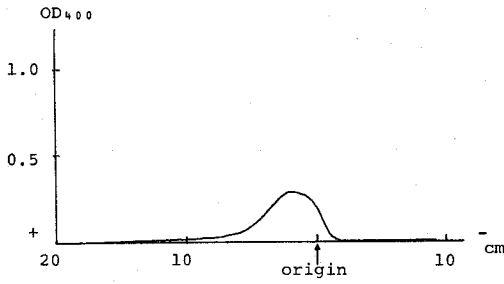


Fig. 4. Pevecon block electrophoresis of extract of normal urinary bladder tissue.

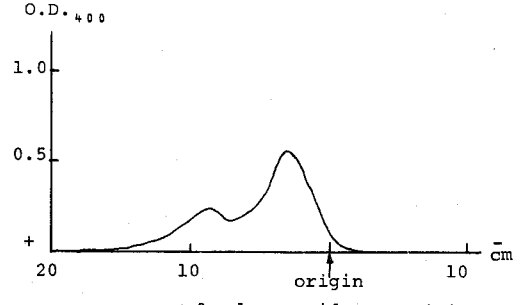


Fig. 5. Pevecon block electrophoresis of extract of urinary bladder carcinoma tissue.

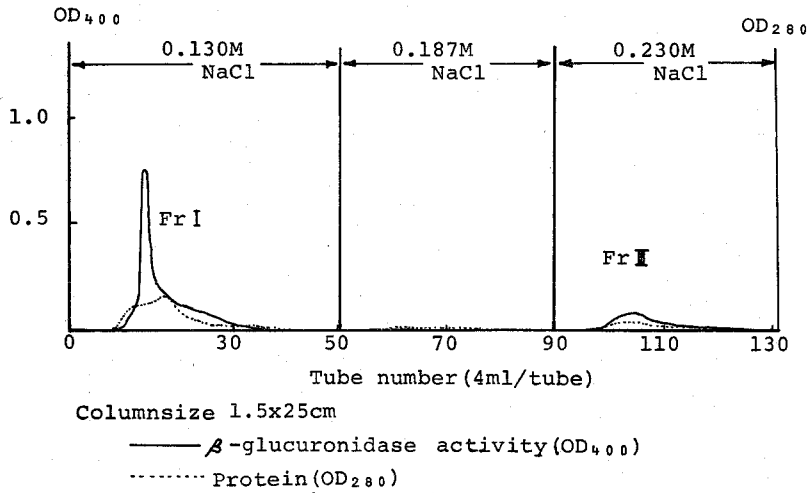


Fig. 6. DEAE-cellulose column chromatography of  $\beta$ -glucuronidase in normal urine.

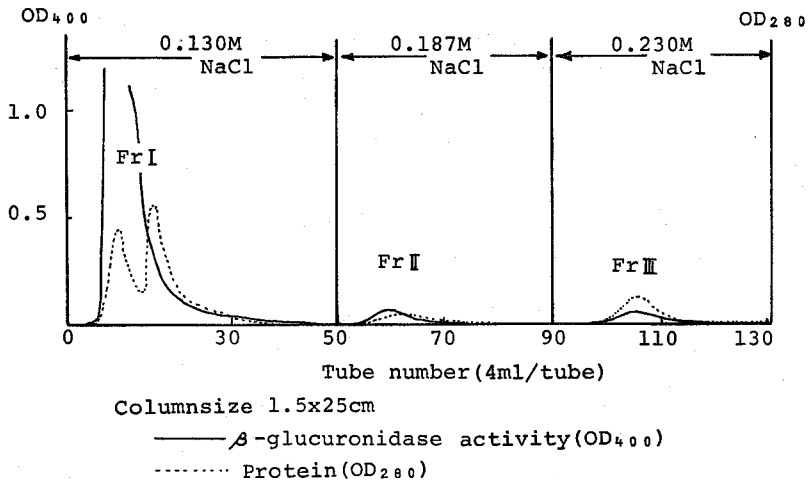


Fig. 7. DEAE-cellulose column chromatography of urinary  $\beta$ -glucuronidase in patients with bladder cancer.

(CM 13200) を用いる限外濾過法によって約100倍に濃縮したものを尿の試料として用いた。

DEAE-セルロースを純水で洗浄後、0.005 M トリスリン酸緩衝液 (pH 7.8) で平衡化後  $1.5 \times 25$  cm のカラムに充填し、ついで  $4^\circ\text{C}$  に冷却し、これに蛋白質質量約 100 mg を含有する試料を吸着後、食塩濃度を 0.130 M, 0.187 M, 0.230 M と段階的に変化させて活性部分を溶出した。溶出液は 4 ml ずつ分取し、その 0.2 ml を用いて、組織の場合は、pH 4.0, 尿の場合は pH 4.7 の 0.1 M 酢酸緩衝液を使用し、24 時間インキュベート後、生成 p-ニトロフェノールを比色定量した。

#### V. 至適 pH の測定

DEAE-セルロースカラムクロマトにより分画した尿および組織の各活性画分を酵素液とし、pH 3.0~6.0 の 0.1 M 酢酸緩衝液を用いて、至適 pH を測定した。

#### VI. その他の方法

組織の蛋白質質量はビュレット法により測定した。カラムクロマトの溶出液の蛋白質質量は、ベックマン社の DB 型分光光度計を用いて 280 nm の吸光度で測定し、吸光度で表わした。

### 成 績

#### I. 尿、血清、組織の $\beta$ -G 活性値

##### (1) 尿中 $\beta$ -G 活性値

Fig. 1 にしめすように、健康成人男女 25 例の尿中  $\beta$ -G 活性値は、 $467 \pm 230$  単位であったのに反して、40 例の膀胱癌患者尿の平均活性値は  $1,300 \pm 745$  単位

で、健康人活性値の約 3 倍の活性上昇を認めた。

##### (2) 血清中 $\beta$ -G 活性値

Fig. 2 にしめすように、健康成人男女 20 例の血清  $\beta$ -G 活性値は  $744 \pm 275$  単位であり、膀胱癌患者 53 例の血清は  $1064 \pm 438$  単位で、尿の活性上昇ほどではなかったが明らかに患者血清で上昇を認めた。

##### (3) 組織中 $\beta$ -G 活性値

Fig. 3 にしめすように、正常膀胱組織の  $\beta$ -G 活性値は  $831 \pm 364$  単位であり、膀胱癌組織 24 例では  $3,478 \pm 1,774$  単位で、尿、血清中の活性と同様に上昇を認めた。正常腎組織 6 例では  $5,020 \pm 1,645$  単位で、正常膀胱組織の活性値より高いが膀胱癌組織と同程度の活性を認めた。

#### II. ペピコンブロックを支持体とした電気泳動像

10 例の正常膀胱組織の抽出液を試料として泳動し、支持体を切断し各ブロックの  $\beta$ -G 活性を測定し、泳動パターンを作成し、その結果を Fig. 4 にまとめた。活性部分は原点よりわずかに陽極側に泳動する小さな活性ピークを有する 1 相性の泳動パターンを示し、10 例の膀胱癌組織の抽出液では Fig. 5 にしめすように、正常膀胱組織と同様に活性部分は陽極側に泳動され、2 つの活性のピークを有する 2 相性の泳動パターンを示し、原点に近いピークの活性が高かった。

#### III. DEAE-セルロースカラムクロマトの溶出パターン

(1) 8 例の健康成人男女の尿を試料としてカラムクロマトをおこない、0.130 M, 0.187 M, および 0.230 M 食塩溶液で段階的に溶出される各画分 (以下 Fr. と省略) を Fr. I, II, III と命名し、各溶出液につい

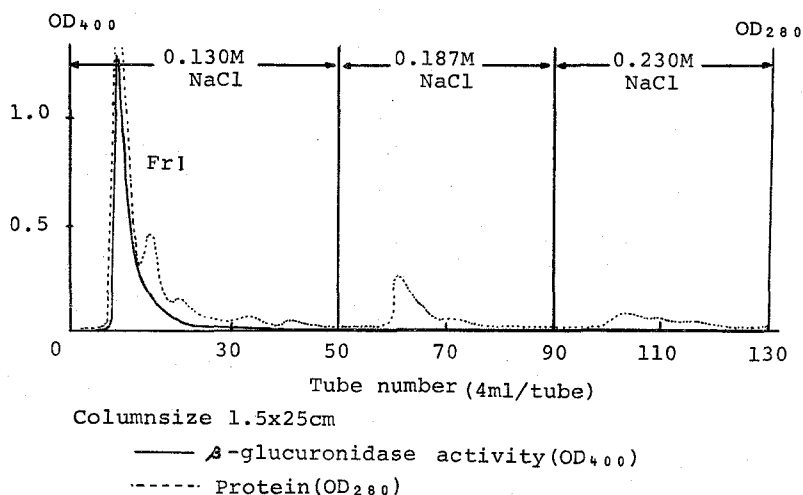


Fig. 8. DEAE-cellulose column chromatography of  $\beta$ -glucuronidase in normal urinary bladder tissue.

て  $\beta$ -G 活性を測定し、その溶出パターンを Fig. 6 に示した。全例に高い活性ピークをもつ Fr. I が出現し、4 例 (50%) に低いピークをもつ Fr. III が認められた。なお Fr. II では 1 例だけに弱い活性を認めた。

(2) 7 例の膀胱癌患者尿を試料として、(1) と同様な方法で DEAE-セルロースカラムクロマトをおこなった。その溶出パターンを Fig. 7 に示すように Fr. I は全例に高い活性ピークを認めたが、6 例 (86%) に Fr. II を、3 例 (43%) に Fr. III を認めたが、いずれも Fr. I に比べ弱い活性ピークであった。

(3) 10 例の正常膀胱組織を試料として、同様なカラムクロマトをおこなったところ、Fig. 8 に示すように、全例に高い活性ピークを示す Fr. I を認めたが、Fr. II, III には活性は検出されなかった。

(4) 10 例の膀胱癌組織を試料として、同様なカラム

クロマトをおこなったところ、Fig. 9 に示すように、全例に高い活性ピークを Fr. I に認め、9 例にやや低い活性ピークであるが Fr. II, III が認められた。

(5) 5 例の正常腎組織を試料として同様なカラムクロマトをおこなうと、Fig. 10 に示すように、全例に高い活性ピークを示す Fr. I と、4 例 (80%) にやや低い活性ピークを示す Fr. III が認められた。2 例 (40%) に Fr. II にわずかな活性が認められた。

#### (6) 各活性画分の至適 pH

DEAE-セルロースカラムクロマトで Fr. I, II, III に活性ピークを認めたのは膀胱癌患者尿と膀胱癌組織であったので、両者の活性画分を酵素材料として、本酵素反応の至適 pH を測定した。その結果、尿酸素では Fr. I は pH 4.6、に、Fr. II および Fr. III では pH 4.4 にそれぞれ活性のピークを有する pH 活性曲

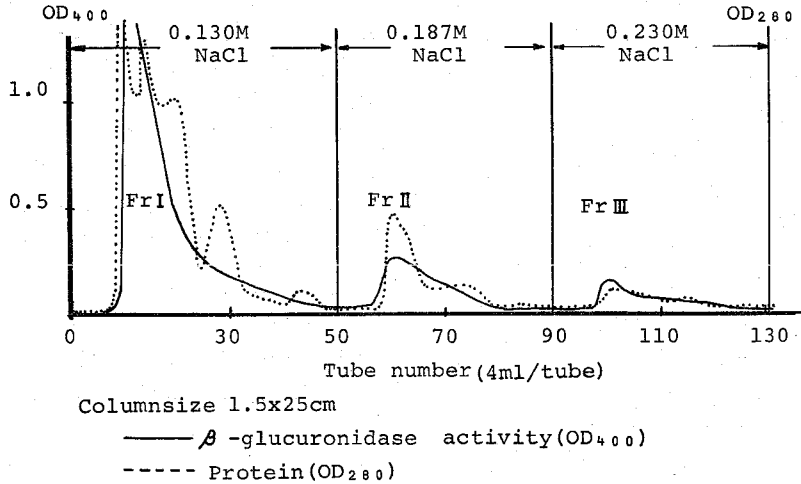


Fig. 9. DEAE-cellulose column chromatography of  $\beta$ -glucuronidase in bladder carcinoma tissue.

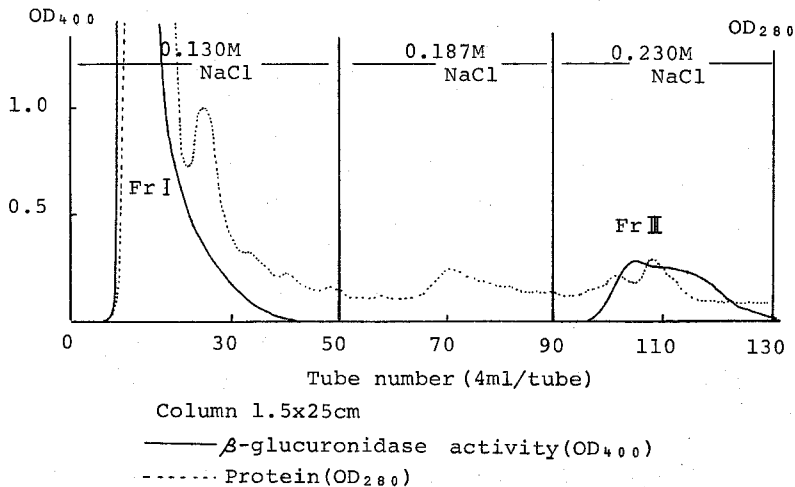


Fig. 10. DEAE-cellulose column chromatography of  $\beta$ -glucuronidase in kidney tissue.

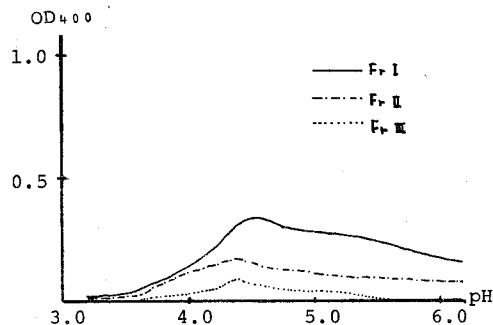


Fig. 11. Optimum pH of  $\beta$ -G on each fraction of urine in patients with bladder carcinoma.

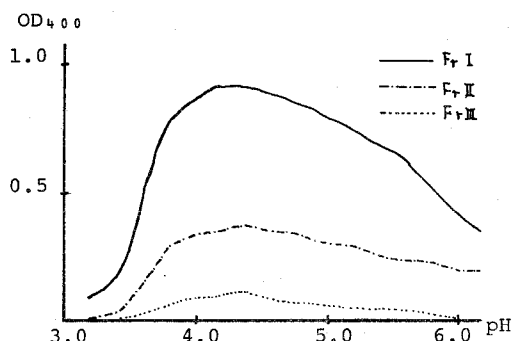


Fig. 12. Optimum pH of  $\beta$ -G on each fraction of bladder carcinoma tissue.

線が得られた (Fig. 11). 癌組織酵素では, Fr. I は pH 4.2 に, Fr. II および III では pH 4.4 にそれぞれ活性のピークを有する pH 活性曲線が得られた (Fig. 12).

## 考 察

### I. 尿, 血清および組織中の $\beta$ -G 活性について

#### (1) 尿中 $\beta$ -G 活性

健康成人男女の尿の  $\beta$ -G 活性値は  $465 \pm 230$  単位, 膀胱癌患者尿は  $1300 \pm 745$  単位であった. 両群を比較すると膀胱癌患者尿のほうが高かった ( $P < 0.001$ ). 田宮<sup>11)</sup>が測定した正常値は,  $5.7 \pm 2.0 \mu\text{g/ml/時}$ で, 自験例よりやや高く, また膀胱癌は,  $11.1 \pm 8.2 \mu\text{g/ml/時}$ と自験例よりやや低いが, ほぼ一致したオーダーの活性値を得ている. Boyland ら<sup>2)</sup>, 園田<sup>4)</sup>, 今村<sup>6)</sup>, 米瀬<sup>9)</sup>, 東<sup>12)</sup>らも正常人尿に比べ膀胱癌患者尿の活性が高いことを報告している.

#### (2) 血清中 $\beta$ -G 活性値

健康成人男女の血清中  $\beta$ -G 活性値は  $744 \pm 275$  単位, 膀胱癌患者は  $1,064 \pm 438$  単位であった. 両群を比較すると膀胱癌患者のほうが高かった ( $P < 0.01$ ). Boyland ら<sup>2)</sup>, 園田<sup>4)</sup>, Hradec<sup>5)</sup>, 米瀬<sup>9)</sup>らも, フェノールフタ

レイン-モノ- $\beta$ -グルクロニダーゼを用いて測定し, 健康群にくらべて担癌群が高値を示すことを報告している.

### (3) 組織中 $\beta$ -G 活性値

正常膀胱組織の  $\beta$ -G 活性値は  $831 \pm 364$  単位, 膀胱癌組織は  $3,478 \pm 1,774$  単位であった. 両群を比較すると膀胱癌患者のほうが高かった ( $P < 0.001$ ). Boyland ら<sup>2)</sup>, 園田<sup>4)</sup>, 米瀬<sup>9)</sup>らも癌組織のほうがはるかに高いことを報告している. 正常腎組織の活性値は  $5,020 \pm 1,645$  単位で, 膀胱癌組織と比べると両群に有意の差は認めなかった ( $P < 0.1$ ). 園田<sup>4)</sup>によれば, 4例の正常腎組織の  $\beta$ -G 活性値は  $4.7 \mu\text{g/ml/時}$ であり, 23例の膀胱癌組織の平均  $\beta$ -G 活性値は  $5.8 \mu\text{g/ml/時}$ であった. 米瀬<sup>9)</sup>は正常腎組織の  $\beta$ -G 活性値は  $1,300 \sim 3,000 \mu\text{g/g/時}$ の間にあるがほぼ  $2,000 \mu\text{g/g/時}$ を境にして高低2型に大別できると報告している.

以上のように膀胱癌では尿, 血清および癌組織の  $\beta$ -G 活性が上昇していることは明らかである. Boyland ら<sup>2)</sup>は尿中  $\beta$ -G 活性の上昇が腫瘍摘出後も低下しないことから, 前述のように,  $\beta$ -G が尿中の不活性化発癌物質を活性型に変えることにより, 尿路上皮の発癌に関与しているものと考えた. そして, 尿中の  $\beta$ -G は血清中の  $\beta$ -G が腎を経由して尿に排泄されると述べた. 一方, 米瀬<sup>9)</sup>は分離尿の採取, 組織化学的方法により, 尿中  $\beta$ -G 活性値の増加は, 腫瘍と尿との接触によって腫瘍中の  $\beta$ -G が尿中に移行することが主因であり, 血清中の  $\beta$ -G は腎の糸球体で濾過されるのではなく, 主として近位尿細管で分泌されるものと考えた. 田宮<sup>11)</sup>は膀胱癌患者の尿中  $\beta$ -G の由来について7項目をあげ, この中で最も有力な因子は壊死または感染などの傷害が腫瘍に加わることによって  $\beta$ -G の逸脱が増加することであると述べている. 以上のように, 最近では尿中  $\beta$ -G 活性の異常高値は, 腫瘍組織自体に起因するものであり, 異常高値をもって直ちに発癌の原因であるとはいえないという考え方が多い. この結論にいたるまでには, 多種類の実験がおこなわれており枚挙にいとまがないが, すべての方法に共通していることは, 腫瘍例と対照例との  $\beta$ -G 活性値の量的な比較検討が根拠となっているようである. そこで, 著者は  $\beta$ -G の物理化学的ならびに酵素化学的特性を調べて, 膀胱癌患者尿の  $\beta$ -G が腫瘍に由来するものであるかどうかを検討した.

### II. $\beta$ -G の物理化学的ならびに酵素化学的性質

#### (1) ゾーン電気泳動像

Ito ら<sup>13)</sup>はヒト, ラツテ, マウス肝を生澱粉を支持体としてブロック電気泳動をおこなったところ, ヒト

肝では4本、ラッテ肝で3本、マウス肝で2本のバンドを認め、その泳動パターンは特異的であったと報告した。平木ら<sup>14)</sup>も正常人、萎縮性胃潰瘍症例の各部胃粘膜、胃癌組織のホモジネイトおよび上記症例の基礎分泌胃液を材料として、ブロック電気泳動をおこない、癌組織に特有なパターンがあることを報告した。Plappら<sup>15)</sup>はゼオンを支持体としてウシ肝を試料とし、ゾーン電気泳動をおこない、2本のバンドを認めた。池田<sup>16)</sup>は子宮頸癌の血清について澱粉ブロック電気泳動をおこない、頸癌に特有なパターンを見いだしている。その他ディスク電気泳動もおこなわれ、Edwinら<sup>17)</sup>は、セプラホーレⅢというセルロースアセテート膜を用いてヒト血清の電気泳動をおこない4本のバンドを見いだした。Motomiyaら<sup>18)</sup>は澱粉セルロースアセテート膜およびポリアクリルアミドゲルを用いて正常人尿、膀胱癌患者尿および正常人膀胱粘膜ならびに膀胱癌組織の抽出液を電気泳動し、正常人尿では $\gamma$ -グロブリンの位置と $\beta$ -グロブリンの位置に2本と、 $\gamma$ -グロブリンの位置に1本のベルトを有するものとの2種類があり、膀胱癌尿では2本のバンドをもつものが10例中6例あり、また組織の場合も類似の結果を得たと報告している。以上のように、膀胱癌患者尿および癌組織には正常人尿のものとはちがった $\beta$ -Gが存在するという知見がみられる。

著者は、正常膀胱組織について、ブロック電気泳動をおこない、正常膀胱組織では1本のバンド、膀胱癌

組織では2本のバンドを認めた。

(2) DEAE-セルロースカラムクロマトによる溶出パターン

1960年 Mooreら<sup>19)</sup>は肝 $\beta$ -GをDEAE-セルロースカラムクロマトを用いて分画し、多数の活性ピークを認め、 $\beta$ -Gには分子多様型の存在することを示唆した。Itoら<sup>19)</sup>がDEAE-セファデックス(A-50)を用いて、正常人血清、肺結核、急性肝炎の血清についてカラムクロマトをおこなった結果、肝炎ではFr. Iに、肺癌ではFr. IIに高い活性ピークが出現した。さらに、Fr. IとFr. IIIについて至適pHを測定し、Fr. IはpH 4.3に、Fr. IIIはpH 4.5であったと報告した。Aoshimaら<sup>20)</sup>はDEAE-セルロース(DE-11)を用いてラット肝および吉田肉腫についてカラムクロマトをおこなった。ラット肝では4つの活性ピークを認め、Fr. IIIが最も高く、ついでFr. I, IVの順であった。吉田肉腫ではFr. IIが最も高く、ついでFr. IIIが高くFr. I, IVは低かった。さらに、肉腫細胞のライゾソームについておこなったが肉腫組織と同様の結果を得ている。

著者は正常膀胱組織、正常腎組織、膀胱癌組織、正常人尿および膀胱癌患者尿についてカラムクロマトをおこなった結果、Fig. 5からFig. 10に示したような成績が得られた。これらの成績をTable 1のようにまとめた。すなわち、Fr. Iの活性ピークはすべての試料に出現している。Fr. IIの活性ピークの出現は

Table 1. Frequency of peak in each fraction of various specimens.

material (case number)	fraction		
	Fr I number (%)	Fr II number (%)	Fr III number (%)
normal bladder tissue (10)	10 (100)	0	0
bladder carcinoma tissue (10)	10 (100)	9 (90)	9 (90)
normal urine (8)	8 (100)	1 (13)	4 (50)
urine of bladder cancer cases (7)	7 (100)	6 (86)	3 (43)
normal kidney (5)	5 (100)	2 (40)	4 (80)



膀胱癌組織で90%と最も高く、ついで膀胱癌尿で86%と高い。膀胱癌組織と正常腎組織との Fr. II における活性ピークの出現頻度を比較すると膀胱癌組織のほうが高い ( $P < 0.05$ )。正常人尿と膀胱癌尿とで、Fr. II における活性ピークの出現頻度を比較すると膀胱癌尿のほうが高い ( $P < 0.025$ )。膀胱癌組織と膀胱癌尿とでは両群の出現頻度に差がなかった ( $P < 0.1$ )。また Fig. 11, 12 にしめした  $\beta$ -G の至適 pH 曲線では、膀胱癌組織および膀胱癌尿ともに pH 4.4 に至適 pH が認められる。以上の成績より、Fr. II に出現する活性ピークは膀胱癌組織および膀胱癌患者尿に特有なものと推定した。

Fr. III の活性ピークの出現頻度は膀胱癌組織が最も高く、ついで正常腎組織、正常人尿、膀胱癌患者尿の順序となっている。膀胱癌組織と正常人尿では差がなく ( $P < 0.1$ )、膀胱癌組織と膀胱癌患者尿でも差がない ( $P < 0.1$ )。正常腎組織と膀胱癌患者尿との間にも差がなく ( $P < 0.1$ )、正常人尿と膀胱癌患者尿の間にも差がない ( $P < 0.1$ )。すなわち、Fr. III に出現する活性ピークは正常膀胱組織には出現せず、他の試料間には出現頻度に有意差がない。したがって、この活性ピークは正常腎組織と膀胱癌組織とに共通な  $\beta$ -G であると推定される。以上の成績より、膀胱癌患者の尿中  $\beta$ -G には、膀胱癌組織由来の Fr. II および腎組織由来の Fr. III が混在していると推測された。

## 結 論

膀胱癌患者の尿、血清、癌組織中の  $\beta$ -G 活性値を測定し、対照群と比較検討した。正常膀胱組織および膀胱癌組織について、ペピコンを支持体としてブロック電気泳動をおこない、両群の泳動パターンを比較した。正常人尿、膀胱癌患者尿、正常膀胱組織、正常腎組織について DEAE-セルロースカラムクロマトをおこない、活性部を食塩濃度を段階的に変化させて溶出し、各 Fr. に溶出される  $\beta$ -G 活性のピークについて比較検討した。以上の実験より次の知見を得た。

1. 膀胱癌患者の尿および血清の  $\beta$ -G 活性は、正常例にくらべ高値を示した。膀胱癌組織の  $\beta$ -G 活性は正常膀胱組織に比し高値を示した。正常腎組織の  $\beta$ -G 活性は正常臓器中で最も高かったが、膀胱癌組織との間に有意の差はなかった。

2. 正常膀胱組織と膀胱癌組織について、ペピコンを支持体とするブロック電気泳動をおこない、正常膀胱組織では1本のバンドを示す1相性の泳動像が、また膀胱癌組織では2本のバンドを示す2相性の泳動像が認められ、両群の間に差異があった。

3. 正常膀胱組織について DEAE-カラムクロマトをおこなうと、Fr. I だけに  $\beta$ -G 活性が認められた。膀胱癌組織では Fr. I, II, III に  $\beta$ -G 活性が認められた。正常腎組織では主として Fr. I および III に  $\beta$ -G 活性が認められた。

4. 正常人尿についてカラムクロマトをおこなうと、主として Fr. I および III に  $\beta$ -G 活性が認められ、膀胱癌患者尿では、Fr. I, II, III に  $\beta$ -G 活性が認められた。

5. 各試料について Fr. I, II, III における  $\beta$ -G 活性のピークの出現頻度について比較すると、Fr. I はすべての試料に出現し、正常膀胱組織では Fr. II, III には  $\beta$ -G 活性は認められなかった。Fr. II は膀胱癌組織および膀胱癌患者尿に特異的なものと推定した。

6. 各溶出画分の  $\beta$ -G 反応に対する至適 pH を調べてみると、膀胱癌組織の Fr. I, II および III の至適 pH はそれぞれ 4.2, 4.4, 4.4 であり、また、膀胱癌患者尿ではそれぞれ 4.6, 4.4, 4.4 であった。

稿を終るにあたり、本研究のご指導とご校閲をいただいた恩師近藤厚教授ならびに小池正彦教授に深く謝意を表するとともに、ご協力をいただいた齊藤泰助教授、下釜多久美研究補助員ならびに泌尿器科学教室員各位に感謝いたします。なおこの研究に対して1973年度長崎県医学振興基金の援助を受けたことを深謝します。

本論文の要旨は1975年4月第63回日本泌尿器科学会総会で発表した。

## 文 献

- 1) Fishman, W. H.: J. Biol. Chem., **169**: 7, 1947.
- 2) Boyland, E., Wallace, D. M. and Williams, D. C.: Brit. J. Cancer, **9**: 62, 1965.
- 3) Boyland, E., Wallace, D. M. and Williams, D. C.: Brit. J. Urol., **27**: 11, 1955.
- 4) 園田孝夫: 日泌尿会誌, **50**: 163, 1959.
- 5) Hradec, E., Petrik, R. and Pezlarova, J.: J. Urol., **94**: 430, 1965.
- 6) 今村一男: 日泌尿会誌, **53**: 613, 1962.
- 7) Kerr, W. K., Barkin, M. D., Alosio, J. and Menczykz, M.: Cancer, **16**: 633, 1963.
- 8) 米瀬泰行: 日泌尿会誌, **54**: 211, 1963.
- 9) Kato, K., Yoshida, K., Tsukamoto, H., Nobunaga, M., Masuya, T. and Sawada, T.: Chem. Pharm. Bull., **8**: 239, 1960.
- 10) Müller-Eberhard, H. J.: Scand. J. Clin. Lab. Invest., **12**: 33, 1960.

- 11) 田宮高広：札幌医誌, **29**: 269, 1966.
- 12) 東 国雄：日泌尿会誌, **49**: 50, 1958.
- 13) Ito, F. and Yamamura, Y.: Reports of the 10th Anniversary Symposium on Glucuronic Acid., 119, 1964.
- 14) 平木 潔・原田英男：診療, **22**: 1698, 1969.
- 15) Plapp, B. V., Hopkins, T. R. and Cole, R. D.: J. Biol. Chem., **238**: 3315, 1963.
- 16) 池田富士男：医学研究, **38**: 95, 1967.
- 17) Fondo, Jr. E. Y. and Bartalos, M.: Biochem. Biophys. Res. Commun., **3**: 591, 1969.
- 18) Motomiya, Y., Yamada, K., Matsushima, S., Ijyuin, M., Iriya, K. and Okajima, E.: Urol. Research, **3**: 41, 1975.
- 19) Moore, B. W. and Lee, R. H.: J. Biol. Chem., **235**: 1359, 1960.
- 20) Michiko, A. and Yoshio, S.: Gann, **60**: 129, 1969.

(1977年6月1日受付)