

[泌尿紀要13巻4号]
昭和42年4月]

泌 尿 器 腫 瘍 と 酵 素

1. 実験的ラット前立腺腫瘍における LDH, ALP 活性,
LDH isozyme の変動ならびに諸種 ホルモンのこれらに
及ぼす影響について

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 加藤篤二教授)

加	藤	篤	二
石	部	知	行
福	重		満

UROLOGICAL NEOPLASMS AND ENZYMES

I. CHANGES OF LDH AND ALP ACTIVITIES AND LDH ISOZYME IN EXPERIMENTAL PROSTATIC NEOPLASMS IN RAT AND EFFECTS OF VARIOUS HORMONES UPON THESE ENZYME ACTIVITIES

Tokuji KATO, Tomoyuki ISHIBE and Mitsuru FUKUSHIGE

From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine

(Director: Prof. T. Kato, M. D.)

A local injection of 20-methylcholanthrene (20 MC) was performed into the dorsolateral lobe of the prostatic gland of male Wistar strain rats, weighed about 100 g. Such treated rats were divided into 4 groups and were combinedly given none or subcutaneous injection of either one of estradiol benzoate (Eb), testosterone propionate (TP) or thyrid powder (Thy). Rats given neither 20 MC nor hormones reserved as the control. The prostatic and serum LDH activity, LDH isozyme and ALP activity were determined along with the lapse of time for a period of 11 months. The results obtained are summarized as follows.

(1) The LDH activity of the prostatic tissue showed a tendency of increase with advancing of age. It slightly decreased in the rats given 20 MC only and 20 MC with Eb, while it slightly increased in the rats given 20 MC with Tp and 20 MC with Thy. The serum LDH activity, however, showed a tendency of increase in control group as far as the value obtained 11 months after the start of the experiment was concerned. It also showed an increase in the 20 MC simple-treated group and a decrease in the groups given 20 MC combined with TP or Eb.

(2) The LDH isozyme pattern of the prostatic tissue showed a decrease of M-type and an increase of H-type with advancing of age. Increase of M-type was observed in the 20 MC simple-treated and 20 MC with Tp treated groups, but decrease of M-type was seen in the 20 MC with Eb treated group. The serum LDH isozyme also showed ageing changes characterized by an increase of M-type and decreases of H-type and III-component. In rats given 20 MC with Thy M-type was higher than the others in general.

(3) The ALP activity of the prostatic tissue was not affected with ageing. It slightly decreased in the group 20 MC with Eb, but no noticeable change was observed in both of groups

given 20 MC along with Tp or Thy. The serum ALP activity showed an increase in the 20 MC simple-treated group and a decrease in both of the groups given with combination of Eb or Tp.

緒 言

この数年来悪性新生物と LDH 活性との関係について多くの報告が発表され、それは主として担癌動物の血清ないし腫瘍組織についての研究であるが、実験的泌尿生殖器腫瘍についての報告はなお少い。さらに LDH isozyme の存在が知られ電気泳動法により簡単にこれが分離出来るようになるとともに腫瘍組織でもその Isozyme が検討されるようになった。

今回われわれは普遍的に生体内に存在し Hill (1954)以来担癌動物ではその殆んど全ての場合著明に増加するといわれる LDH を対象とし、実験的ラット前立腺腫瘍における LDH, LDH isozyme, AIP の変化とホルモン異常のこれらに及ぼす影響について検討したのでその成績を報告する。

実 験 法

竹中 (1964)の方法に従って Ravonal 麻酔下、正中線切開により 3% 20-Methylcholanthrene (以下 MC と略す) tween 80 溶液 0.1cc を体重100g の雄 Wistar 系ラット側背葉に局注した。対照, MC 単独, MC+女性ホルモン (以下 Eb と略す), MC+男性ホルモン (以下 Tp と略す), MC+甲状腺ホルモン (以下甲ホと略す) の各処置を加えながら経時的に前立腺組織を取り出しその側背葉を実験に供した。血清および組織内酵素系活性の測定は肉眼的に腫瘍を認めない場合は各群とも3匹の平均をとり、腫瘍の発生を肉眼的に認めた場合は1匹でもって実験に供した。用いたホルモンとして Eb は Estradiol benzoate (帝臓), Tp は Testosterone propionate (帝臓), 甲ホは乾燥甲状腺末 (帝臓) をおのおの 0.1mg 宛週3回皮下に投与した。飼料は日本 Clea の CE-2 を使い、水は自由飲水とし、恒温恒湿のもとに飼育した。

LDH は Jatron のキットに準じ 550m μ の Filter でもって Coleman の光電光度計でこれを測定した。単位は LDH Wróblewski 単位/ml ないし 1 g 湿重量で示した。

AIP は石津製薬のキットに従い 550m μ の Filter でもってこれを測定、単位は KA 単位/ml ないし 1 g

湿重量で示した。以上 LDH, AIP 活性値に対する信頼性のため Dado 社の Enzatrol を対照として用いた。

LDH isozyme は薄層寒天ゲル電気泳動法でもって Wieme の方法に準じて行った。すなわち寒天は noble special agar (Difco) を使い、これをバルビタール緩衝液 pH 8.4, $\mu=0.025$ に 1% 溶液として溶解し、これに PVP を 1% になるように加えた。緩衝槽には同様緩衝液で $\mu=0.1$ のものを用い、装置を冷蔵庫内に入れ 4°C で 20V/cm 40分泳動した。試料は Yakulis らの方法に準じて 12mm の溝を作り、試料 10 μ l を正確に注入した。泳動後の寒天ゲル板は表1の如き組

Table 1. 基質、色素混合液

Sodium lactate (1.0M)	1.5ml
β -DPN	4.5mg
Phenacin methosulfate 2mg/ml	1.5ml
NTB 5mg/ml	1.5ml
NaCN (0.1M)	2.5ml
Phosphate buffer pH6.0 (0.1M)	2.5ml
H ₂ O	6.5ml

成の基質、色素混合液内に入れ 37°C, 1時間孵卵器内において。染色後軽く水洗し、メタノール・水・氷醋酸 (5 5 1) 混合溶液に10分間浸し、脱色固定、充分水洗乾燥した。LDH isozyme zymogram は EKDS Lumicon P-2 自動記録式電気泳動用濃度計を用い 530m μ のフィルターでもって行なった。

LDH ならびに AIP 測定用の組織は剔出後直ちに生塩水で十分血液を除いた後、その側背葉を取り出し pH 7.4 の2倍量の生塩水を加え、ホモゲナイザーでこれを磨砕し 4,000 回転40分間遠沈、上清をとった。血清は頸動脈よりの瀉血によってこれを得た。なお実験は時差を考慮して何れも午前8時より9時の間に動物を殺し、同日ないし翌日中にこれを処理したが季節による変動は無視した。

実 験 成 績

I LDH 活 性

A. 組 織

対照は生後より加齢によってわづかながら増加の傾向を認め、6.1~11.8 $\times 10^4$ 単位を示した。MC 投与による LDH はその多くが正常範囲内にあったがやや低

い値を示すものが多かった。5カ月の例は高い活性を示したが組織学上腫瘍の発生は認めていない。Ebの併用例は正常低値を示すものが多くやや減少の傾向を認めた。4カ月、5カ月の例は $14.5, 13.2 \times 10^4$ 単位と高い値を示したがこれらは何れも扁平上皮癌の発生を組織学的に証明した。Tpを併用した例では一般に高い活性を示すものが多く、時とともにその増加がみられた。これらの例では腫瘍の発生を認めていない。甲ホの併用では正常ないしやや高い活性を示すものが多く、5.5カ月および6.5カ月の例は何れも肉腫で高い活性を示した。しかし10カ月の例は肉腫でありながら 9.5×10^4 単位と正常範囲内にあった。5カ月、6カ月の例は扁平上皮癌であるが前者は 12.8×10^4 単位と高い値を示し、後者は 7.6×10^4 単位と低い値を示した。

B. 血 清

対照のLDH活性は $10 \sim 14.4 \times 10^2$ 単位を示し、加令とともにやや増加の傾向を示した。MC投与による増加は著明であったが、Ebの併用を行なった場合その多くが正常範囲内にあり低下すると言えよう。4, 5, 6カ月のものは扁平上皮癌であったが、6カ月のものが 20.1×10^2 単位と高い活性を示したにすぎなかった。Tpを併用するとその多くが正常値以下を示していた。甲ホを併用した場合その活性は不定で5カ月のものは 16.3×10^2 単位と高い活性を示したが、この例は扁平上皮化生が強く、癌真珠様の構造がみられ、間質の増生はかなり強く同時に炎症も中等度にみられた。6.5および10カ月のものは $24.8, 24.0 \times 10^2$ 単位と極めて高い活性を示していたが、これらは何れも肉腫を証明した。

II LDH isozyme

H型およびM型に分けて検討した。

A. 組 織

正常値はM型63~82%で加令とともにやや減少し、H型は5~15%の間にあり加令とともに増加するように思われた。第Ⅲ分画は加令とともにやや増加し、12~23%を占めている。MC投与を行なうとM型の減少がみられなかった点よりM型は増加の傾向にあるといえ、5.5カ月の例はM型が高い割合を示したが、この例は扁平上皮癌でこの場合第Ⅲ分画は著明に減少していた。H型は何れも正常範囲内にあったが、対照と異り加令により減少の傾向を認めるといえ、第Ⅲ分画はほとんど変化していなかった。Ebの併用によってM型は減少し、H型は第Ⅲ分画とともに増加の傾向にあった。Tp併用例ではM型は正常ないしやや高い割合を示したのに対し、H型はより低い割合を示した。甲ホ併用例ではM型は正常範囲内にあった。

B. 血 清

正常値はM型が60~80%、H型が10~25%を示し、M型は加令により増加、H型、第Ⅲ分画は減少の傾向にあった。MC投与によりM型はやや増加するものが多かったが、大体正常範囲内にあるといえる。加令によりM型は増加、H型ならびに第Ⅲ分画はやや減少の傾向を示した。5.5カ月の例は扁平上皮癌を認めたが本例ではM型の増加、H型ならびに第Ⅲ分画の減少をみたが、局所における炎症がかなり強かった。EbあるいはTpを併用した際のM、H分布に対する一定した影響はみられなかった。Eb併用4, 5, 6カ月の例は何れも扁平上皮癌を認めたが、前二者は比較的低いM型を示したのに対し、後者では高いM型を示した。4カ月の例は悪性度が比較的低い例であるが、局所の炎症は中等度に存在していた。甲ホ併用の場合一般に高いM型を示すものが多かった。甲ホ併用5.5カ月の例は滑平筋肉腫でこの場合血清LDHは高い活性を示したにもかかわらず前立腺組織のLDH活性、M型分布とともにやや低い値を示していた。他方甲ホ併用6.5カ月の例は横紋筋肉腫でこの場合は血清、前立腺LDH活性は高く、M型の占める割合も高かった。これら肉腫の2例は何れも局所の炎症は比較的小く、また間質もほとんどなく条件的にはほとんど同じと考えられたにもかかわらず一定した傾向はなかったといえ、同時に血清、前立腺組織のM、H型分布、LDH活性の何れにおいても相互関係を見出し得なかった。

III AIP

A. 組 織

対照値は $7 \sim 12 \times 10^2$ 単位で、加令による変化は見られなかった。MC投与によって正常ないしやや低い活性を示した。7.5カ月の例はやや高い値を示したが組織学上扁平上皮化生を認め、LDH活性、LDH isozymeともに正常範囲内にあった。Eb併用によってやや低い活性を示すものが多かったが、Tpの併用による変化は明らかにし得なかった。また甲ホ併用による影響は明らかでなく、5.5および10カ月の肉腫例では何れも高い値を示していない。

B. 血 清

正常値は30~50単位を示し、MC投与を行なうと何れも高い活性を示した。EbならびにTpの併用による変化ははっきりしないが、MC単独の場合に比し低い例が多いことからこれらホルモンの併用は血清AIPを減少せしめるといえる。

考 按

LDHは解糖に關与する酵素でLDH活性の

増加は悪性腫瘍それ自身に特有な変化でなくその速やかな発育とその代謝の結果であろうと解されているが (Douglas 1963), Mori (1962) などは実験腫瘍における LDH を組織化学的に調べ腫瘍上皮にこれが増すことを報告し, Kline (1964) などは実験肝癌の場合 LDH 活性の増加があることを報告している。前立腺に対して実験的に腫瘍を作るためには化学物質, ホルモン投与など種々の方法があるが, われわれは竹中 (1964) に従って MC でもって腫瘍を作った。発癌実験において, 例へば MC の投与はある種動物では乳癌の発生が報告されているように, 目的臓器以外, 特に肝臓の関与なども無視出来ないと考えられるが, この場合の前立腺腫瘍発生率は約6カ月の経過でみたところ竹中によると単独では53.9%, Eb の併用で85%, Tp の併用で71.3% となったという。Goodfriend (1964) は Estradiol を短期間投与したところラット子宮の LDH 活性が, 逆に Tp を未熟ラットに投与したところ精囊, 前立腺の LDH 活性が高まることを報告している。その他ホルモンによる肝ホモゲネートの LDH 活性の変化について Huggins (1959) は広範な実験をラットで行ない雌の場合去勢, 副腎切除によっては殆んど変化のみられないこと, 甲剔で著明に下ること, 雄の場合去勢によってやや減少すること, 雌ではあるがその他の臓器, 例へば腎の皮質では垂剔によってやや増加すること, 垂剔後甲ホを投与すると増加すること, 去勢および甲剔を行なった雌ラットで甲ホを投与すると著明に増加することなどを報告している。われわれの場合 Eb の併用によってやや減少の傾向を認め, Tp を併用した場合その活性の増加がみられた。以上の事実は長期の実験では成熟したラットの場合には Goodfriend (1964) の成績と一致すると考えられ, Eb によって前立腺 LDH 活性の下るのはそのホルモン依存性ととも興味ある成績である。MC 投与によって前立腺 LDH 活性が増加しないのはなお問題はあとしても Hradec (1965) が膀胱腫瘍で述べているごとく間質の増生, 上皮の扁平化生がこれに関係するためと考えられ, このことは Crispens (1963)

の成績に反するが Eb 併用によって LDH 活性が低下し, Tp 投与で増加することとも関係があると思われ, White (1958) が血清蛋白量の減少が LDH 活性の増大を来すとした事実も無視出来ないが, 同時に今後の組織化学的検索が必要であると考えられる。甲ホ併用による肝 LDH 活性の変化について Bargoni (1961) は乾燥甲状腺末を投与したラット肝の G-6-P Cycle および解糖が促進されるとともに LDH 活性の増加することを報告し, Vestling (1950), Allison (1964) などは低下すると述べている。Glock (1956) は¹⁴Cを用いた実験で Thyroxine をラットに投与すると肝の嫌気性解糖, G-6-P Cycle の増大しないことを明らかにしたが, 逆に Spiro (1958) はこれらの促進がみられるとしている。われわれの場合に甲ホを併用した場合正常ないしやや高い LDH 活性を示すものが多く, 平滑筋肉腫の5.5カ月の例は横紋筋肉腫の6.5カ月の例とともに高い LDH 活性を示したのに対し, 10カ月の例は同じ横紋筋肉腫でありながら正常範囲を示したことは Meister (1950), Angeletti (1960), Ree (1960) などが悪性腫瘍の場合一般に LDH 活性が増すのに対し, 横紋筋肉腫は例外であるとしたのを一部支持する成績かと思われる。また5カ月, 6カ月の例は扁平上皮癌でありながら前者は強い活性を示し, 後者は弱い活性を示した。血清 LDH 活性は MC 投与により増加が著明にみられ, Eb 併用によりやや低下し, 4, 5, 6カ月のものは扁平上皮癌を認めたが, 6カ月のもののみが高い活性を示したにすぎなかった。Tp を併用するとその多くが正常値以下を示した。これらのことは Tp で血清 LDH が臓器と異り下る点よりみて臓器より血清への移行が少い場合もあると推定される。甲ホ併用5カ月のものは高い活性を示したが, この例は扁平上皮化生が強く, 癌真珠腫様の構造がみられ間質の増生もかなり強く, 同時に炎症像も中等度にみられている。6.5および10カ月のものは高い活性を示したが, これは間質の少い肉腫で炎症像は軽度存在するのみであった。これらの事実は Riggins (1963), Goldman (1964) などものべているように極めて高

い LDH 活性を示す場合に腫瘍の存在が疑われるといった程度の相関しかないと考えられる。さらに組織での LDH 検索の場合正常組織の混在があること、赤血球は普通の洗滌によっただけではこれを完全に除くことが出来ないこと、洗滌および赤血球の LDH 活性への影響について全く検討されていないといったことは本実験でも問題となるが今後この面からの検討も必要と思われる。

その Catalytic properties によって LDH は M 型と H 型に分けることが出来、心筋に多く含まれる H 型は比較的低い焦性ブドウ酸濃度によってその活性が失われ、他方 M 型は骨骼筋に多く含まれ、焦性ブドウ酸による活性の低下が少いといわれている。このことは H 型は焦性ブドウ酸および NADH の好気性代謝に適しているといえるわけである。また M および H 型の割合がその発育と共に変ることが知られている [Markert (1959), Cahn (1962), Wigger^t (1962)] が、そのようになる原因はなにかは明らかにされていない [Fine (1963)] が、機能および分化に伴って変ることが考えられる (Goodfriend, 1964) のでわれわれは H および M 型に分けてこれを検討した。

Starkweather (1962) Goldman (1964) は膀胱癌組織において LDH が質的に異なるとし、Nisselbaum (1963), Goldman (1963) は質的な差はなく単に量的な差にすぎないとしている。よってわれわれはラットにおける前立腺癌発生過程における LDH isozyme の分布がどのように変わるかをみた。われわれの場合前立腺組織の正常値は M 型 63~82% で加令とともにやや減少し、H 型は 5~15% の間にあり加令とともにやや増加するように思われた。第 III 分画は加令とともにやや増加し 12~23% の間を占めていた。このことは前立腺は精囊などとともにその代謝過程はなを明らかにしても成長に伴って M 型が減少し、H 型が増すという成績は少くとも生後 10 カ月位エネルギー代謝が主として好氣的条件下で行なわれていると解すればより合理的であろう。MC 投与を行なった場合 M 型が加令による減少を示さなかった点より

増加の傾向にあるといえ Kline (1964) などの報告と同様であった。H 型はいずれも正常範囲内にあったが、対照と異り加令によって減少の傾向を認めるとはいえ、第 III 分画はほとんど変化していない点よりみて MC 投与による LDH 活性の増加は主として M 型の増加に基くものと考えられる。Vesell (1962) は長期の組織培養を兎、鶏、人間などの組織について行ないその LDH isozyme パターンの変ることを認め、Insulin によってそれが影響されないとしている。すなわち肝、筋肉では発育とともに H 型の減少と M 型の増加、心筋では H 型の増加と M 型の減少がみられるとした。他方ホルモンの M, H 分布への影響について Allen (1961) はマウスで授乳期に LDH isozyme のパターンが変ることや、去勢ラット子宮の LDH isozyme パターンが Estrogen 投与により変ることを報告し、Richterlich (1963) も人間を用い妊娠、非妊娠子宮での M, H 型の占める割合が変ることを報告した。Goodfriend (1964) は幼若ラット子宮の M 型が去勢により増加し、前立腺に男性ホルモンを与えた場合 M 型がわづかながら増加し、精囊では明らかに増加したとのべているが、われわれの場合 Eb 投与によって M 型は減少傾向を示した。このことは Kaplan (1962) のいう機能的な因子がそこにあると考えられ、臓器の性ホルモン依存性の差とともに興味ある成績である。Eb 併用による M 型の減少、H および第 III 分画の増加があることは LDH 活性の減少が主として M 型に基くものであると考えられるが、臓器によって性ホルモンの M 型に対する関与に差があると考えたい Tp 併用例では M 型は正常ないしやや高い値を示したのに対し、H 型はより低い値を示した。甲ホ併用例では M 型は正常範囲にあった。甲ホの肝 LDH に対する影響について Bargoni (1950) はラットで増加するとのべ、Vestling (1950) は逆に減少するとのべ、Allison (1964) は T₃ を兎に投与し、肝の LDH 活性の低下と第 V 分画の消失を報告しているが、われわれの場合ラット前立腺での実験であるが、かかる傾向を見出し得なかった。このことは実験開始の時期とも関係するののかも

知れず、もっと早期に甲ホを投与すればM型の低下ないし第V分画の消失を認め得たかも知れないと考えられる。以上われわれの実験では性ホによるM, H分布の変化, LDH活性の変化が見られたことは多くの文献と一致する所である。

血清のM, H型の占める割合の正常値は各々60~80%, 10~25%でありこの場合M型は加令により増加, H型は減少, 第Ⅲ分画も減少の傾向にあった。MC 単独投与, Eb Tp 併用投与による影響は明らかではなく, MC+Eb 併用4, 5, 6カ月の例は扁平上皮癌であるが, 前二者は比較的低いM型を示したのに対し, 後者では高いM型を示していた。血清LDHに対する甲ホの影響として Allison (1964) はM型の減少, H型の増加であると報告しているが, われわれの場合甲ホ併用は一般に高いM型を示すものが多かった。甲ホ併用5.5カ月および6.5カ月の例は何れも肉腫であり局所炎症は少く, 間質はほとんどなく条件的には同じと考えられたにもかかわらず, 一定したLDH活性, M, H分布を見出し得なかった。

実験腫瘍におけるAIP活性の変化をMoriは組織学的に調べ炎症を伴った上皮に多いことを認め, Huggins (1959) は女性ホルモンの投与のみでは余り増加しないが, 女ホと甲ホを併用すると増加することを報告している。われわれの場合前立腺組織ではMC投与により低い活性を示し, Eb併用によっても同じような傾向を示したものが多かったが, 扁平上皮化生を来した一部の例では高い活性を示した。他方血清についてみるとMC投与により高い活性を認めたが, Ebの併用を行なった場合やや減少を来した。甲ホ併用を行なった場合はやや高い活性を示すものが多くHugginsの説と一致したといえるが, 組織では甲ホ併用による変化は明らかでなくこの不一致の原因はこれらの成績からのみでは明らかにし得ない。

炎症のLDH活性に対する影響はRiggins (1964), Wacker (1962) は腎炎, 腎盂腎炎で, またWroblewski (1961) は肝炎の場合活性の増加とともに特異的なパターンの出ると報告し

ているがわれわれの場合かなりはっきりした炎症のある際その増加を認めたが, M, H分布に対しての影響は明らかでなかった。悪性度との関係では間質の少ない極めて悪性の場合LDH活性の著明な増加を来す例が多いようであった。Wacker (1962) は間質の少ない場合M型の占める割合が増すとしたが, われわれの場合肉腫ではM型の占める割合が高く, LDH活性も高い例が多かったが, 癌腫の場合M型分布LDH活性ともに不安定であり, 間質の多い場合組織学的にMori (1962), Hardec (1965) などが証明しているように臓器全体としてのLDH活性は低下するものが多かった。このことはCrispens (1963) ののべるごとく大きさとは関係なくHsieh (1956) ののべているように腫瘍の発育とも関係したものと解してよいと考えられる。

結 語

体重100gの雄Wistar系ラット前立腺側背葉に対しMCを局注し, 対照, MC単独, MC+Eb, MC+Tp, MC+甲ホの各群にわけ約11カ月にわたり経時的に前立腺および血清のLDH活性, LDH isozyme, AIP活性を測定し次の結果を得た。

1. LDH活性を前立腺組織についてみると加令により増加の傾向を示し, MC単独, MC+Ebの例ではやや減少を示し, MC+Tp, MC+甲ホの場合やや増加した。血清ではLDH活性が実験開始後11カ月の経過でみる限り増加の傾向を認め, MC単独では増加, TpおよびEbの併用でその減少を認めた。

2. LDH isozymeを前立腺についてみると加令とともにM型は減少し, H型は増加した。MC単独, MC+Tpの場合M型は増加し, MC+Ebでは減少した。血清では加令によりM型は増加, H型, 第Ⅲ分画は減少の傾向にあった。MC+甲ホではM型が一般に高かった。

3. AIP活性を前立腺についてみると加令による変化はなく, MC+Ebではやや減少したが, Tp, 甲ホ併用では明らかな変化を見出し得なかった。血清ではMC単独ではその増加を, Eb, Tpの併用ではやや減少を認めた。

本実験には41年度文部省科学研究費の補助をうけたことを付記する。尚組織所見について御教示いただいた本学原医研病理部門広瀬助教授に感謝する。

本稿は第52回日本泌尿器科学会総会シンポジウムにおいて発表したものの一部である。

文 献

- 1) Allison, M. J., Gerszten, E. & Sanchez, B. : *Endocrinology*, **74** : 87, 1964.
- 2) Angeletti, P. U., Suntaeff, V. & Moore, B. : *Cancer Res.*, **20** : 1229, 1960.
- 3) Bargoni, N., Luzzati, A., Rinando, M. T., Rossini, L. & Strumia, E. : *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie*, **326** : 65, 1961.
- 4) Cahn, R. D., Kaplan, N. O., Levine L. & Zwillig, E. : *Science*, **136** : 962, 1962.
- 5) Crispens, C. G. : *J. Nat. Cancer Inst.*, **30** : 361, 1963.
- 6) Glock, G. E., McLean, P. & Whitehead, J. K. : *Biochem. J.*, **63** : 520, 1956.
- 7) Goodfriend, T. L. & Kaplan, N. O. : *J. Biol. Chem.*, **239** : 130, 1964.
- 8) Goldman, R. D. & Kaplan, N. O. : *Biophys. Acta*, **77** : 515, 1963.
- 9) Goldman, R. D., Kaplan, N. O. & Hall, T. C. : *Cancer Res.*, **24** : 389, 1964.
- 10) Hradec, E., Motlic, K., Marek, J., Pavlu, J. & Sula, J. : *Urologe*, **4** : 93, 1965.
- 11) Hsieh, K. M., Suntzeff, V. & Cowdry, E. V. : *Cancer Res.*, **16** : 237, 1956.
- 12) Huggins, C. & Yao, F. : *J. Exp. Med.*, **110** : 899, 1959.
- 13) Kaplan, N. O. & Cahn, R. D. : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48** : 2123, 1962.
- 14) Kline, E. S. & Clayton, C. C. : *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, **117** : 891, 1964.
- 15) Markert, C. L. & Møller, F. : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **45** : 753, 1959.
- 16) Meister, A. : *J. Nat. Cancer Inst.*, **10** : 1263, 1950.
- 17) Mori, M., Miyaji, J., Murata, I. & Nagasuna, H. : *Cancer Res.*, **22** : 1323, 1962.
- 18) Mivsky, I. A. & Broh-Kahn, R. H. : *Amer. J. Physiol.*, **117** : 6, 1936.
- 19) Nisselbaum, J. S. & Bodansky, O. : *J. Biol. Chem.*, **238** : 969, 1963.
- 20) Ree, E. D. & Huggins, C. : *Cancer Res.*, **20** : 963, 1960.
- 21) Riggins, R. S. & Kiser, W. S. : *J. Urol.*, **90** : 594, 1962.
- 22) *ibid.* : *Invest. Urol.*, **2** : 30, 1964.
- 23) Spiro, M. J. & Ball, E. G. : *J. Biol. Chem.*, **231** : 31, 1958.
- 24) Starkweather, W. H. & Schoch, H. K. : *Biochim. Biophys. Acta*, **62** : 440, 1962.
- 25) Vesting, C. S. & Knoepfelmacher, A. A. : *J. Biol. Chem.*, **183** : 63, 1950.
- 26) Wacker, W. E. C. & Dorfman, L. E. : *J. A. M. A.*, **181** : 972, 1962.
- 27) White, L. P. : *J. Nat. Cancer Inst.*, **21** : 685, 1958.
- 28) Wiggert, B. & Villev, C. A. : *Science*, **138** : 509, 1962.
- 29) Wroblewski, F. & Gregory, K. F. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **94** : 912, 1961.

(1967年2月25日特別掲載受付)

Table 2. Control value of enzyme activities in the serum.

Treatment Mons	No. of rats	LDH, total $\times 10^2$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU
			I	II	III	IV	V	
1	3	11.0	52.4	12.7	17.0	6.2	11.7	23
2	3	11.6	46.9	12.8	17.6	8.6	14.1	35
2.5	3	11.0	61.1	5.0	11.1	7.6	15.2	45
3	3	10.4	59.7	7.5	14.2	5.5	13.3	32.8
4	3	12.8	44.6	6.9	20.5	6.9	21.1	36
4.5	3	13.5	60.8	6.1	12.9	5.3	14.9	31
5	3	10.0	54.6	22.7	9.1	4.5	9.1	32
6	3	14.4	68.0	7.0	8.2	3.6	13.2	34
7	3	12.8	75.6	6.3	8.6	2.9	6.6	28
8	3	11.5	54.2	12.2	16.1	7.0	10.5	41
Mean		11.9	57.8	9.9	13.5	5.8	13.0	33.8

Note : Amount of interstitium : + ; normal, ++ ; moderately increased, +++ ; remarkably increased

Cellular infiltration : - ; normal, $\pm$ rather increased, + ~ ++ ; moderately increased, +++ ; remarkably increased.

Table 3. Control value of enzyme activities in the prostate.

Treatment Mons	No. of rats	LDH, total $\times 10^3$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU
			I	II	III	IV	V	
1	3	82	38.6	41.8	13.9	3.0	2.7	80
2	3	108	47.0	34.5	12.5	3.2	2.8	78
2.5	3	68	39.0	33.3	15.2	10.6	1.9	
3	3	100	36.9	42.2	12.7	4.7	3.5	112
4	3	106	39.9	34.6	12.7	10.0	2.8	95
4.5	3	102	43.6	27.8	16.4	9.2	3.0	
5	3	61	37.2	28.5	18.8	11.9	3.6	78
6	3	110	36.0	28.0	22.8	9.1	4.1	
7	3	70	35.1	32.0	18.6	8.5	5.8	77
8	3	118	42.0	32.0	19.2	5.6	1.2	94
Mean		92.7	39.5	33.5	16.3	7.6	3.1	87.8

Table 4. Effects of 20-methylcholanthrene on the enzyme activities in the serum.

Treatment Mons	No. of rats	LDH total $\times 10^2$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU
			I	II	III	IV	V	
1	3	11.6	71.1	6.6	11.0	3.0	8.3	59
2	3	16.8	62.5	8.6	10.6	8.7	9.6	51.5
3	3	17.3	46.4	6.3	15.8	8.1	23.4	57.5
4	3	16.0	58.8	17.1	11.4	4.5	8.2	57
4.5	3	12.6	54.1	6.1	17.7	9.0	13.1	
5	3	10.4	72.7	7.3	7.3	3.6	9.1	46
5.5	3	19.2	55.4	32.6	6.9	2.4	2.7	64
6	3	17.2	61.1	5.4	9.1	8.2	16.7	35
6.5	3	15.0	64.3	4.4	11.5	7.0	12.8	65.5
7	3	18.8	57.5	11.9	15.9	5.1	9.6	69.5
7.5	3	16.6	69.8	11.2	6.1	4.8	8.1	
8	3	19.4	71.2	5.4	9.7	3.7	10.0	38.5
9	3	22.0	76.5	4.9	6.7	3.6	8.3	56.5
10	3	10.2	41.3	9.3	20.0	8.8	20.6	56.5
Mean		15.9	61.6	9.8	11.4	5.8	11.4	54.7

Table 5. Effects of 20-methylcholanthrene on the enzyme activities in the prostate.

Treatment Mons	No. of rats	LDH total $\times 10^3$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU	Glandular epithelium	Amount of intersti- tium	Cellular infiltration
			I	II	III	IV	V				
1	3	90	40.0	32.4	18.0	7.1	2.5	91	atrophic	##	+
2	3	92	39.1	34.3	19.6	5.6	1.4	62	"	+	-
3	3	71	39.0	32.4	19.5	5.9	3.2	68	epidermoid metaplasia	+	++
4	3	73	34.1	37.4	11.9	11.3	5.3	68	"	++	++
4.5	3	45	35.6	31.8	17.3	11.2	4.1		"	##	##
5	3	13.7	27.1	43.6	17.0	7.2	5.1	75	"	+	++
5.5	3	86	40.2	43.7	3.9	6.6	5.0		squamous cell carcinoma	+	++
6	3	82	44.5	33.5	10.3	8.6	3.1	77	"	++	++
6.5	3	72	39.5	32.0	17.2	8.5	2.8		epidermoid metaplasia	##	+
7	3	75	35.2	33.2	21.5	7.7	2.4		"	##	##
7.5	3	85	36.3	33.2	17.9	8.2	4.4	130	atrophic	++	+
8	3	77	34.4	32.2	19.9	9.8	3.7	58	"	++	+
9	3	83	43.5	32.6	14.1	6.8	3.2	70	"	++	-
10	3	75	32.8	36.8	22.6	5.1	2.7	86	epidermoid metaplasia	+	-
Mean		81.7	37.2	34.9	16.6	7.8	3.5	78.5			

Table 6. Effect of estrogenic hormone on the enzyme activities in the serum of rat with 20-methylcholanthrene induced prostatic tumor.

Treatment Mous	No. of rats	LDH total $\times 10^2$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU
			I	II	III	IV	V	
1	3	11.0	79.1	4.7	5.8	2.9	7.5	47
2	3	15.2	65.6	6.9	10.8	6.9	10.3	24
3	3	18.8	49.7	11.0	13.2	14.2	11.9	42
4	3	13.8	51.6	12.9	9.7	9.7	16.1	26.5
5	3	17.6	55.0	4.0	8.6	10.9	21.5	
6	3	20.1	67.6	10.5	11.7	3.4	6.8	
6.5	3	12.6	61.8	8.3	12.1	6.2	11.6	
7.5	3	11.9	61.5	7.8	15.5	5.2	10.0	25
8	3	17.0	64.8	9.9	11.2	4.6	9.5	43
9	3	16.6	68.0	5.5	7.2	7.3	11.0	56.5
Mean		15.5	62.5	8.2	10.6	7.1	11.6	37.8

Table 7. Effect of estrogenic hormone on the enzyme activities in the prostate of rat during 20-methylcholanthrene-carcinogenesis.

Treatment Mous	No. of rats	LDH total $\times 10^3$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU	Glandular epithelium	Amount of interstitium	Cellular infiltration
			I	II	III	IV	V				
1	3	79	39.7	26.8	17.9	10.3	5.3	96	atrophic	+	++
2	3	94	51.1	31.8	13.4	2.3	1.4	94	"	++	+
3	3	111	48.1	28.9	17.3	3.4	2.3	76	"	+	++
4	3	145	25.5	40.8	20.4	9.1	4.2	102	squamous cell carcinoma	++	++
4.5	1	85	44.0	36.8	11.9	4.5	2.8		leiomyosarcoma	++	+
5	3	132	26.2	28.9	24.7	14.5	5.8		squamous cell carcinoma	+	+
6	3	76	39.2	32.8	21.0	3.8	3.2		"	++	+
6.5	3	64	39.7	26.7	21.3	6.8	5.5	99	epithelial proliferation	++	++
7.5	3	56	23.5	28.8	23.5	16.7	7.5	40	epidermoid metaplasia	++	+++
8	3	66	26.4	32.4	24.7	10.6	5.9	71	"	++	+
9	3	60	15.1	35.9	29.9	13.4	5.7	51	atrophic	++	-
Mean		87.9	34.4	31.9	20.5	8.7	4.5	78.6			

Table 8. Effect of androgenic hormone on the enzyme activities in the serum of rat with 20-methylcholanthrene induced prostatic tumor.

Treatment Mous	No. of rats	LDH total $\times 10^2$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU
			I	II	III	IV	V	
1	3	9.5	61.6	3.8	21.1	4.8	8.7	24
2	3	13.8	64.3	5.2	10.5	8.4	11.6	31
3	3	10.0	59.5	3.0	15.0	5.0	17.5	57.5
4	3	9.4	50.2	10.0	21.2	5.0	13.6	47
5	3	8.8	67.5	5.8	16.7	4.2	5.8	27
Mean		10.3	60.6	5.6	16.9	5.5	11.4	37.3

Table 9. Effect of androgenic hormone on the enzyme activities in the prostate of rat during 20-methylcholanthrene-carcinogenesis.

Treatment Mous	No. of rats	LDH total $\times 10^3$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU	Glandular epithelium	Amount of interstitium	Cellular infiltration
			I	II	III	IV	V				
1	3	62	40.5	32.5	17.8	6.8	2.0	51	atrophic epidermoid metaplasia	+	++
2	3	167	36.8	47.5	11.5	2.3	1.9	88		+	±
3	3	87	36.3	40.2	19.1	3.8	0.6	96	"	+	+
4	3	137	39.1	45.6	13.0	1.6	0.7	68	"	+	++
5	3	132	33.8	42.5	16.4	5.8	2.0	61	"	+	+
6	3	141	34.1	46.0	14.2	4.4	1.3		"	+	+
Mean		121	36.7	42.5	15.3	4.1	1.4	72.8			

Table 10. Effect of thyroid hormone on the enzyme activities in the serum of rat with 20-methylcholanthrene induced prostatic tumor.

Treatment Mous	No. of rats	LDH total $\times 10^3$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU
			I	II	III	IV	V	
1	3	10.2	56.4	10.8	17.0	5.2	10.6	32
2	3	12.4	59.5	9.4	11.4	5.6	13.2	44
3	3	11.3	64.3	6.8	14.1	5.2	9.6	56.5
4	3	13.2	68.7	6.7	10.3	4.9	9.4	39
5	1	16.3	77.0	3.5	6.9	4.2	8.4	53
5.5	1	9.0	54.2	7.1	9.8	10.4	18.5	
6	3	10.8	74.9	4.1	6.6	4.9	9.5	
6.5	1	24.8	79.3	2.5	6.8	2.6	8.8	51
7	3	12.0	74.1	5.1	8.2	3.5	9.1	37.5
7.5	3	11.4	57.0	7.7	18.4	7.7	9.2	40
8	3	18.3	72.6	6.5	7.6	4.4	8.9	45
9	3	14.6	77.3	5.6	5.6	3.5	8.0	37
10	1	24.0	68.1	10.6	8.8	3.9	8.6	42
Mean		14.5	67.9	6.6	10.1	5.2	10.2	43.4

Table 11. Effect of thyroid hormone on the enzyme activities in the prostate of rat during 20-methylcholanthrene-carcinogenesis.

Treatment Mous	No. of rats	LDH total $\times 10^3$ wu	LDH isozyme %					ALP total KAU	Glandular epithelium	Amount of interstitium	Cellular infiltration
			I	II	III	IV	V				
1	3	65	36.4	35.4	21.7	3.4	3.1	65	atrophic epidermoid metaplasia	+	+
2	3	84	38.5	36.8	19.1	2.8	2.8	78		+	+
3	3	97	36.3	40.1	18.4	3.1	2.1	85	"	+	±
4	3	108	37.1	42.3	16.4	2.4	1.8	62	squamous cell carcinoma	+	+
5	1	128	33.9	39.6	22.6	1.1	2.8		"	++	++
5.5	1	188	70.6	23.7	3.1	1.7	0.9	95	leiomyo-sarcoma	-	+
6	3	76	46.3	32.5	14.2	5.4	1.6		squamous cell carcinoma	+	+
6.5	1	125	43.6	26.3	18.3	7.0	4.8		rhabdomyo-sarcoma	±	+
7	3	130	39.6	31.4	16.5	6.6	5.9		epidermoid metaplasia	++	++
7.5	3	104	36.6	32.5	16.7	9.0	5.2	77	epithelial proliferation	++	+
8	3	80	41.1	34.2	16.9	6.6	1.2	48	atrophic	++	+
9	3	108	31.1	34.4	21.1	9.8	3.6	68	" (papillary)	++	±
10	1	95	35.8	41.4	18.5	2.8	1.5	109	rhabdomyo-sarcoma	+	+
Mean		106.9	40.5	34.7	17.2	4.7	2.9	76.3			