

(泌尿紀要15巻3号)
1969年3月)

膀胱癌患者における β -Glucuronidase および その Inhibitor 投与の影響について

広島大学医学部泌尿器科学教室

(主任: 仁平 寛巳 教授)

(指導: 加藤 篤二 前教授*)

白 石 恒 雄

BETA-GLUCURONIDASE IN CARCINOMA OF THE BLADDER AND EFFECTS OF ITS INHIBITOR

Tsuneo SHIRAISHI

From the Department of Urology, Hiroshima University Medical School

(Chairman: Prof. H. Nihira, M. D.)

(Also Instructed by Former Prof. T. Katō, M. D.)

Urinary β -glucuronidase activity and glucaric acid level were biochemically determined, and tissue β -glucuronidase in the removed bladder tumor was histochemically investigated. SLA, diacetyl-type of glucaro-(1 $\rightarrow$ 4)(6 $\rightarrow$ 3)-dilactone, was orally administered to the postoperative patients, and its effects on urinary β -glucuronidase and glucaric acid were studied. Moreover, SLNA, sodium salt of SLA, was directly injected into the tumor tissue, and its effects on tissue β -glucuronidase were investigated.

Urinary β -glucuronidase was measured using a part of 24-hour urine with phenolphthalein monoglucuronide as the substrate. Urinary glucaric acid was isolated and measured by Ishide's method with use of anion exchange resin column chromatography. Tissue β -glucuronidase was studied by Hayashi's method which is the histochemistry with naphthol AS-BI glucuronide as the substrate on the frozen section. The following results were obtained.

1) Urinary β -glucuronidase activity of the patients with carcinoma of the bladder was 520~3,067 μ g/hr/dl, which was generally higher than that of the normal persons, 250~688 μ g/hr/dl. Urinary β -glucuronidase in acute pyelonephritis measured as a control was also high and showed 1,067~2,333 μ g/hr/dl.

2) The urinary glucaric acid of the patients with carcinoma of the bladder was 1.9~10.2 mg/day. Most of all the cases had the low level as compared with the control group which showed 2.3~21.0 mg/day. SLA-glucaric acid conversion rate was lower than 18% except one patient.

3) Distribution of β -glucuronidase activity in the tissue of transitional cell carcinoma was not even but was striking in the vicinity of the papillary growth. The activity, however, was variable according to grade of anaplasia. Namely, in the more anaplastic area, the more activity was seen.

4) The character of β -glucuronidase positive granules seemed to be correlated with grading. The β -glucuronidase staining granules in the tissue of higher malignancy were larger and denser. Histochemical investigation of β -glucuronidase in the tumor tissue seems to be quite

* 現京都大学教授

significant to determine its grade just like Broders' classification.

5) Under oral administration of SLA, both the urinary level and tumor tissue activity of β -glucuronidase were inhibited. At the present time, no final conclusion could be made as to the prophylactic effects of SLA on the recurrence of the bladder tumor.

6) Local injection of SLNA into the tumor inhibited β -glucuronidase activity of cancer tissue and produced the vacuolization of the tissue. Some tumors underwent shrinkage or even disappeared after SLNA injection, although its mechanism could not be elucidated.

I 緒 言

悪性腫瘍と β -glucuronidase (以下 β -G と略記する)の関係については Fishman ら (1947)¹⁾ が癌組織中に本酵素活性の高いこと、および Levvy ら (1948)²⁾ が組織の細胞増殖、核分裂と β -G との関係を報告したことにはじまる。そのご癌患者の血清、尿、白血球、髄液、胃液、腹水、胸水および各種癌組織中の β -G 活性に関する研究が1950年から1953年の間にFishman ら³⁻⁵⁾、Anlyan ら⁶⁻⁸⁾により体系的になされている。わが国では1953年芝ら⁹⁾の研究に始まり桜井¹⁰⁾、鍋島ら¹¹⁾、湯川ら¹²⁾、鮫島¹³⁾、東¹⁴⁾、園田¹⁵⁾、今村¹⁶⁾および米瀬¹⁷⁾により癌患者の胃液、髄液、血清、尿および癌組織などについての研究が報告されている。

膀胱癌と β -G の関係については1955年から1957年にかけて Boyland ら¹⁸⁻²¹⁾が膀胱癌患者の尿中、血清中および癌組織中の β -G 活性が上昇することを報告し、わが国では鮫島(1956)が血清中 β -G 活性の上昇が膀胱癌の診断に有意義であることを、東 (1958) は尿中本酵素の上昇が悪性のものほど高いことを、園田(1959)は膀胱癌組織中および尿中の β -G 活性の上昇を認め、今村は血清および尿中の β -G 活性を比較し尿中の β -G 活性の測定が意義を有することを述べ、米瀬(1963)は癌腫の存在の結果として尿中 β -G 活性の上昇に意義を認めそれぞれ報告している。しかし最近 Hradec ら (1965)²²⁾ は膀胱癌患者尿中の β -G 活性の上昇を認めながらも腫瘍除去後も尿中 β -G 活性がなお上昇していることより、これは腫瘍の存在に関係ないとしている。

膀胱癌発生と尿中 β -G の関係について1958年より1963年にかけて Boyland²³⁻²⁵⁾は尿中に glucuronide の形で排泄された carcinogenic

な aromatic amine の代謝産物が尿中に存在する β -G により水解され、free の carcinogen に変化することを指摘し、これらは lipid に可溶で膀胱粘膜内に透過し発癌が起こるのではないかという仮説をたてた。

一方 Levvy(1952)²⁶⁾ は β -G 活性を特異的に抑制する物質が d-glucosaccharo-(1 $\rightarrow$ 4)-lactone であると報告し、Marsh (1963)²⁷⁾ はヒト尿中においてさきに Abul-Fadl (1957)²⁸⁾ が指摘した β -G 抑制作用を有する尿中の非透析性物質が glucaric acid であることをつきとめ、これは Levvy の報告せる glucosaccharo-(1 $\rightarrow$ 4)-lactone であることを確かめた。石館(1964)²⁹⁾ はグルコ糖酸系の glucosaccharo 1 : 4, 3 : 6 dilactone の合成、製剤化に成功し、同時にグルコ糖酸の微量定量法³⁰⁾を確立し、glucuronolactone の尿中代謝物である glucaric acid の測定を可能とした。

臨床的には Boyland ら (1964)³¹⁾ が初めて saccharolactone を膀胱癌術後患者105名に投与し、尿中 β -G 活性を抑制させることにより膀胱癌再発防止を試みたが、対照群との間に有意の差を見いださず不成功に終わっている。その理由のひとつに saccharolactone の投与によって尿中 β -G 活性の抑制がじゅうぶんでなかったことをあげている。最近、高安ら³²⁾および米瀬³³⁾はさきに述べた石館により開発された glucaro-(1 $\rightarrow$ 4)(6 $\rightarrow$ 3)-dilactone の diacetyl 型のもの (以下 SLA と略記する)を経口的に投与し、またその Na 塩として (以下 SLNA と略記する)腫瘍内に直接注入し、尿中および腫瘍組織中の β -G 活性を生化学的に測定し、その著明な低下を報告して長期経口投与による再発防止を検討している。

一方 β -G の組織化学的研究方法は Frieden-

wald と Becker (1948)³⁴⁾ により始められ, Burton と Pearse (1952)³⁵⁾, Fishman と Baker (1956)³⁶⁾ により改良された 8-hydroxy-quino-line glucuronide を基質とする方法と, 1949年より1954年の間に Seligman 一門^{37,38)} により開発された 6-brom-naphthol glucuronide を基質として用いる方法が代表的なものである。しかし近年 1963 年から 1964 年に林, 中島および Fishman ら^{39,40)} により, また 1964 年鈴木ら⁴¹⁾ により報告された naphthol AS-BI glucuronide または naphthol AS-OL glucuronide を基質として用いる方法が非常に優れた方法であることが認められるようになった。

また悪性腫瘍の β -G 組織化学的研究は 1947 年 Fishman ら⁴²⁾ がヒトの癌組織を対象として報告したことに始まり, 1949 年に Campbell⁴³⁾ は fowl の卵巣癌, mouse の乳癌および皮膚癌について報告している。その後 Monis ら (1956)⁴⁴⁾, Fishman ら (1959)⁴⁵⁾, 園田 (1959), Monis ら (1960)⁴⁶⁾, 米瀬 (1963) などによりそれぞれヒト悪性腫瘍組織に対する研究報告が見られるが, 膀胱癌組織を対象とした組織化学的研究は少なく, Monis ら, 園田, 米瀬および森⁴⁷⁾ などにより簡単に報告されているにすぎない。

著者は過去 3 年間に広島大学医学部附属病院泌尿器科を受診した膀胱癌患者のうち, 48 例を対象として尿中 β -G 活性値, 尿中 glucaric acid 値を測定し, 膀胱癌組織の β -G を組織化学的に検索, SLA を経口的に投与して尿中 β -G に対する影響および SLNA を膀胱癌組織に直接注入することによる組織内 β -G に対する影響などについて検討を加えたので報告する。

II 膀胱癌患者の尿中 β -G 活性

膀胱癌患者 37 例および対照例 25 例について測定した。

A 尿中 β -G 活性測定法

1 採尿および保存

24 時間全尿の一部を採取して冷暗所で $0\sim4^{\circ}\text{C}$ に保存し, できるだけ早く測定に供したが, この状態の保存では β -G 活性値は約 1 週間は不変であることが東の報告で立証されている。

2 試薬

a 基質: 0.01M phenolphthalein monoglucuronide (PMG)

b 酸性緩衝液: 0.1M 酢酸緩衝液 (pH 4.5)

c アルカリ性緩衝液: 0.5M glycine-NaOH 緩衝液 (pH 10.5)

3 標準曲線の作成

まず 1ml 中に $100\mu\text{g}$ の phenolphthalein を含有する溶液を作製し, これに蒸留水を混じて全量 1.2ml 中に phenolphthalein をそれぞれ 10, 20, 30, 40, 50, $60\mu\text{g}$ 含有する段階的希釈液の系列を作製した。つぎにこれらのおおの 0.1M 酢酸緩衝液 0.8ml および 0.5M glycine-NaOH 緩衝液 4.0ml を加えて発色させ, 分光光度計により $550\text{m}\mu$ の波長で測定し標準曲線とした (Fig. 1)。このさい optical density

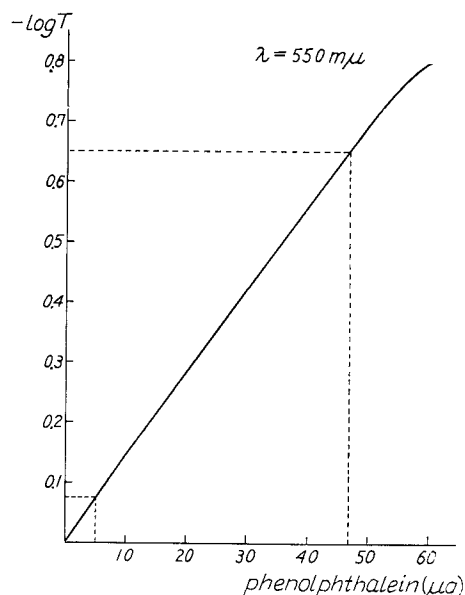


Fig. 1 標準曲線

($-\log T$) が 0.08~0.65 の範囲を示す酵素活性のとき使用し, 0.65 以上のときは尿を適当に希釈して測定した。

4 定量操作

0.1M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) 0.8ml

↓
0.1M PMG 0.1ml 加

↓
検体尿 0.1ml 加

↓
 37°C で 24 時間保温

↓
0.5M glycine-NaOH 緩衝液 (pH 10.5) 4.0ml 加

↓
蒸留水 1.0ml 加

↓
分光光度計 $550\text{m}\mu$ にて比色

この際 blank としては PMG の代りに蒸留水を等量使用した。また保温時間と β -G 活性値との間には 24 時間内で直線関係が証明されている。

5 単位の計算

上記の操作によりさきに作製した標準曲線から、遊離した phenolphthalein の μ g 数を求め、次の式より単位時間、検体尿 100ml あたりの μ g 数で表わした。

$$\frac{\text{遊離phenolphthalein } \mu\text{g 数}}{0.1 (\text{検体尿量})} \times \frac{100}{24 (\text{保温時間})} = \mu\text{g/hr/dl.}$$

B 測定結果

1 対照群尿中 β -G 値

対照群として正常人、尿路炎症性疾患患者尿および腎、副腎疾患患者尿を用いた。

Table 1 正常人尿中 β -G 値

症例 No.	性別	年齢	β -G 活性値 (μ g/hr/dl)	24時間尿量 (ml)
1	男	35	500	900
2	男	31	250	1,350
3	女	21	300	1,800
4	男	24	208	2,800
5	女	43	688	2,000
6	男	62	541	1,100
7	男	65	583	1,400
8	女	42	648	1,250
9	男	7	687	800
10	女	48	437	1,000

a 正常人尿中 β -G 値

7才より65才までの健康者男6名、女4名の10名について測定した。測定値はTable 1 [に示すごとくであり、最高688 μ g/hr/dl (以下単位は略す) 最低250であり、いちおう650以下を正常範囲と定めた。この値は東の1.1、園田の1.2 γ /ml/hr (この場合検体尿は0.5mlである) の値とほぼ同じである。

b 尿路炎症性疾患および腎、副腎疾患患者尿中 β -G 値

尿路炎症性疾患として急性膀胱炎患者6例、急性腎盂腎炎患者6例および嚢胞腎、褐色細胞腫、アルドステロン症各1例につき同様方法により測定した。測定値はTable 2 に示すごとくである。急性膀胱炎患者例については糖尿病を合併せるTable 2 の症例2に1,200という高値を認めたが、他は全例正常範囲内であった。しかし急性腎盂腎炎患者例においてはその全例に高値を示し、Table 2 の症例8のごとく最高2,330と正常値上界の約4倍近い値を示したのもも認めた。他の各疾患3例も全例正常範囲より高値を示した。

2 膀胱癌患者尿中 β -G 値

膀胱癌患者37例(男30例、女7例)について測定した。全例組織学的には移行上皮癌と診断された。測定は主として入院治療前の時期に同様の方法で測定した。測定結果はTable 3 に示した。測定値は最低520より最高3,067までの広い範囲に分布し、37例中4例が正常範囲内の値を示した。この4例はいずれも有茎性の乳頭状腫瘍であり、単発2例、多発2例で、浸潤性、広基性の腫瘍例はすべて高値を示す傾向を認めた。

Table 2 腎、副腎疾患および尿路炎症性疾患患者の尿中 β -G 値

症例 No.	性別	年齢	臨床診断	β -G 活性値 (μ g/hr/dl)	24時間尿量 (ml)
1	女	42	急性膀胱炎	648	950
2	男	65	急性膀胱炎・糖尿病	1,200	2,250
3	男	58	急性膀胱炎・前立腺肥大症	520	1,400
4	女	38	急性膀胱炎	533	1,200
5	女	52	"	231	930
6	男	48	"	213	1,000
7	男	52	急性腎盂腎炎	1,800	1,150
8	女	53	"	2,333	1,200
9	男	25	"	1,556	1,530
10	男	19	"	2,187	900
11	男	26	アルドステロン症	2,100	1,730
12	女	42	嚢胞腎	1,060	1,650
13	男	53	褐色細胞腫	1,000	1,320
14	男	38	急性腎盂腎炎	1,067	1,120
15	女	57	"	1,612	2,350

Table 3 膀胱癌患者尿中 β -G 値

症例 No.	性別	年齢	腫瘍細胞型	膀胱鏡的腫瘍性状	尿中 β -G 値 ($\mu\text{g/hr/dl}$)	24時間尿量 (ml)	備 考
1	男	65	移行上皮癌	乳頭状・多発性・有茎性	616	2,000	
2	女	62	"	" " "	620	1,900	
3	男	58	"	" 広基性・浸潤性	2,133	1,630	死 亡
4	男	59	"	" " "	800	1,300	死 亡
5	男	63	"	" " "	2,633	1,490	
6	男	56	"	" " "	1,700	2,000	
7	男	47	"	" 多発性・有茎性	500	1,730	
8	女	58	"	" 単発・広基性・浸潤性	1,800	1,350	死 亡
9	男	57	"	" 多発 " "	1,900	1,520	
10	男	58	"	" " " "	1,340	1,300	
11	男	60	"	" 単発・広基性・浸潤性	2,133	1,400	腎・尿管乳頭腫 症 死亡
12	男	52	"	" 単発・広基性	700	2,000	
13	男	66	"	" 多発・広基性・浸潤性	938	1,600	死 亡
14	男	49	"	" 単発性・有茎性	1,050	1,200	
15	男	52	"	" " "	520	1,100	
16	男	93	"	" " 広基性	1,334	1,000	
17	男	51	"	" " "	2,500	1,100	
18	男	77	"	" 多発・広基性・浸潤性	1,333	980	
19	男	68	"	" 単発・広基性	1,556	960	
20	男	57	"	" 多発・広基性・浸潤性	1,612	2,350	
21	男	63	"	" 単発性・有茎性	2,500	1,760	
22	女	66	"	" " 広基性	1,000	1,200	
23	男	54	"	" " "	1,010	1,400	
24	女	68	"	" 多発性・浸潤性	667	1,020	
25	女	64	"	" " 有茎性	720	1,200	
26	女	52	"	" 単発性・有茎性	600	1,300	
27	男	47	"	" " "	650	1,480	
28	男	65	"	" " "	800	1,700	
29	男	85	"	" 多発・広基性・浸潤性	1,800	1,290	
30	男	47	"	" 多発・有茎性	1,300	1,450	
31	男	62	"	" 多発・広基性・浸潤性	3,067	1,000	死 亡
32	男	52	"	" " " "	2,500	1,870	死 亡
33	男	80	"	" 多発性・有茎性	1,600	1,500	
34	男	54	"	" 単発性 "	800	1,500	
35	男	52	"	" " "	820	1,800	
36	男	58	"	" " "	1,217	1,500	
37	女	61	"	" " "	1,406	1,260	

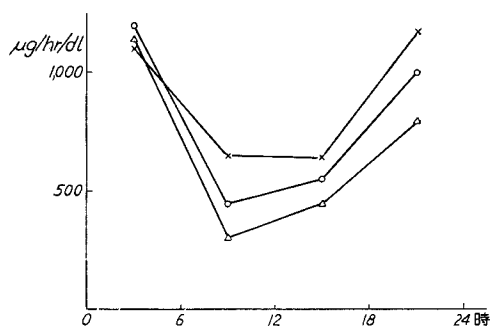
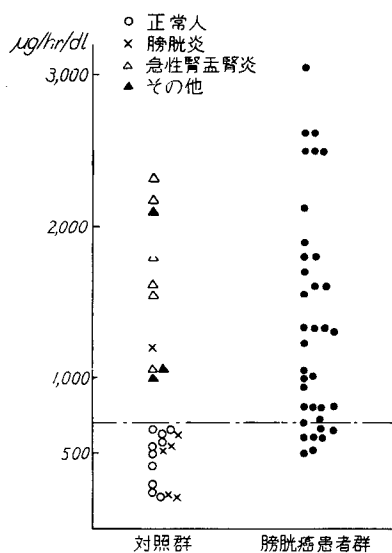
3 膀胱癌患者尿中 β -G 値の日中変動

膀胱癌患者 3 例について 24 時間尿を 0 時より 6 時、6 時より 12 時、12 時より 18 時、18 時より 24 時までの各 6 時間ごとに分割蓄尿保存し、各区分ごとに測定した結果は Fig. 2 のごとくで、0 時より 6 時、18 時より 24 時の夜間区分が高く、他の昼間区分が低くちょうど V 字型を呈する結果を得た。これは東の正常人の日中変動と異なっている。東の報告では正常人の場合昼間部

のほうが夜間部より高値の傾向を示している。

4 対照群および膀胱癌患者群の比較

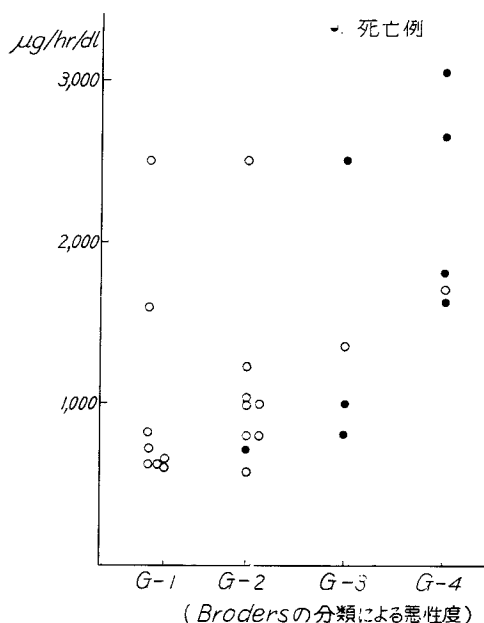
対照群および膀胱癌患者群の尿中 β -G を一括図示して見ると Fig. 3 のごとくである。正常者および急性膀胱炎患者例と膀胱癌患者例とは全体的に明らかな差異を認め、 $650\mu\text{g/hr/dl}$ を境として上下に広がっている。しかし急性腎盂腎炎患者および腎、副腎疾患のある種のものとは膀胱癌患者例の尿中 β -G 値には有意

Fig. 2 膀胱癌患者尿中 β -G 値の日中変動Fig. 3 対照群と膀胱癌患者群の尿中 β -G 活性値の比較

の差を認めがたい。

5 癌悪性度および患者予後と尿中 β -G 値

組織学的に Broders の分類による悪性度の判然とせるものについて、入院時の尿中 β -G 活性値を比較検討した結果は Fig. 4 のごとくであった。すなわち各 grade 間に有意差は判然としがたいが、いわゆる G-1, G-2 のとき low grade といわれるものと G-3, G-4 のとき high grade に分けてみると、high grade のものは全例に正常範囲より高い値を示した。また死亡例は high grade のものに多く、これらは高い値を示す傾向を認めた。なお死亡例 3 例について死亡前 6 カ月間に測定した尿中 β -G の値を Table 4 に示したが、死亡前悪液質の状態を呈している患者の尿中 β -G 値は持続的に著明な上昇を示している。この 3 例はいずれも手術不能の症例で、腫瘍に対して

Fig. 4 組織的悪性度と尿中 β -G 活性値との関係Table 4 末期膀胱癌患者の尿中 β -G 活性値 (死亡前 6 カ月間の測定)

症例 No.	性別	年齢	尿中 β -G 活性値 (μ g/hr/dl)			
			第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回
1	男	68	2,133	667	3,200	2,188
2	男	62	1,500	1,533	1,750	3,067
3	男	63	2,875	3,400	2,933	2,313

なんら操作を加えていない。尿中 β -G 値の持続的かつ著明な上昇は、患者の予後に対して悪い徴候であると考えられた。

III 膀胱癌患者の尿中 glucaric acid 値

A 尿中 glucaric acid 測定法

1964年石館らにより確立された化学定量法に従って実施した。

1 採尿、保存、検体尿について

採尿、保存は β -G 活性測定時と同様に 24 時間全尿の一部を採取し、0~4°C の冷暗所に保存して測定に供した。検体尿量は通常の尿性状の尿の場合には約 2ml を、lactone を多量に含んでいる尿の場合には約 1ml を測定に供した。

2 試薬

a 液：0.1M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 水溶液

- b 液 : 0.05M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ -0.02M Na_2SO_4 水溶液
 c 液 : 0.05M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ -0.10M Na_2SO_4 水溶液
 d 液 : KH_2PO_4 水溶液
 e 液 : HIO_4 水溶液
 f 液 : 1% phenylhydrazine hydrochloride 水溶液
 g 液 : conc-HCl
 h 液 : $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 水溶液

そのほか分離操作のカラムクロマトグラフィーに用いた陰イオン交換樹脂は、Dowex IX8 borate 型 mesh 200~400 を 5~6 倍量の 2N-HCl および 0.1M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 水溶液で調整し氷室に保存して用いた。

3 分離操作

a 検体尿 (2ml または 1ml)

同量の a 液を加える
 ↓
 0.2% 2,6-dichlorophenol indophenol 水溶液
 1~2 滴滴加
 ←15分間放置
 NaBH_4 50mg 加
 ←30分間放置
 アセトン 1.0ml 加
 ↓
 処理尿

b カラムによる分離操作

カラムにはあらかじめ調整された陰イオン交換樹脂 3ml をつめておく。

処理尿 をカラムに流す
 ↓
 b 液 5ml をカラムに流し洗浄
 ↓
 b 液 150ml を流しする
 ↓
 c 液 20ml を流す
 ↓
 被検体

このようして分離された被検体は 1~3 日間氷室に保存し使用しても、定量操作上に特に差は認められない。

4 定量操作

被検体 5ml
 ↓
 d 液 1.0ml 加
 ↓
 e 液 0.10ml 加
 ↓ ← (ふりまぜる)
 f 液 1.0ml 加
 ↓ ← (ふりまぜる)
 g 液 4.0ml 加
 ↓ ← (ただちに)

h 液 1.0ml 加

↓

発色, 比色測定

このさいブランク被検体には c 液 5ml を用いて同様の操作を行ない、比色は $\lambda_{\text{max}} \times 520\text{m}\mu$ にて分光光度計を用いて測定を実施した。なお標準測定曲線の作製には K, H-D-glucarate 1.000~2.000mg を微量天秤にて正確に測定して 100ml に溶かしたものを用い、その 0.5, 1.0, 1.5 および 2.0ml のそれぞれに c 液を加えて全量 5.0ml とし、上記定量操作を加えて直線関係を証明した (Fig. 5)。定量操作ごとにス

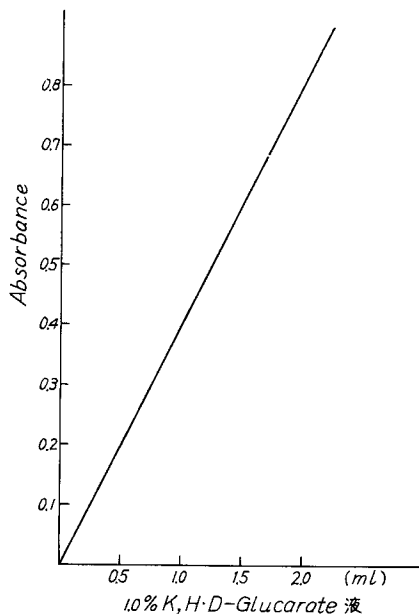


Fig. 5 glucarate 標準曲線

タンダードとして上記 K, H-D-glucarate 溶液 1.0~2.0ml をとり、これに e 液を加えて全量 5.0ml として同様に操作した。測定値の単位は上記操作よりスタンダードとの対比計算により mg/day で算定した。また同時に原尿 2.0ml に 20~1,000 γ の glucaric acid を付加して同様操作を行ない、回収率を計算してほぼ 100 $\pm$ 5% の範囲内で測定した。

B 測定結果

1 対照群尿中 d-glucaric acid 値

21才より62才までの9例の健康者および腎疾患患者1例の合計10例について測定した。測定値は Table 5 に示すごとくであり、2例を除いて他はだいたい 10mg/day (以下単位を略す) 以上を占めているのでいちおう10以上を正常範囲と定めた。低値を示した2

Table 5 対照群尿中グルコ糖酸値

症例 No.	性別	年齢	尿中グルコ糖酸値 (mg/day)	回収率 (%)
1	男	35	20.1	102
2	女	43	10.0	98
3	男	62	2.3	96
4	女	21	9.4	101
5*	女	42	3.3	102
6	男	51	13.0	99
7	男	25	14.0	95
8	男	36	18.0	98
9	男	32	15.0	101
10	男	44	21.0	95

*印は腎疾患患者，他はすべて正常人

例のうち Table 5 の症例 5 は腎疾患を有する患者である。この値は石館らの14例の正常人尿中 d-glucaric acid 値12~24より少し低い値である。

2 膀胱癌患者尿中 d-glucaric acid 値

膀胱癌患者11例を対象に測定した。これらは全例組織学的に移行上皮癌であった。測定値は Table 6 に示した。症例11の1例を除いて全例に正常範囲以下の

Table 6 膀胱癌患者尿中グルコ糖酸値

症例 No.	性別	年齢	尿中グルコ糖酸値 (mg/day)	回収率 (%)
1	男	93	1.9	99
2	男	51	6.1	96
3	男	65	4.5	102
4	男	66	2.3	105
5	男	52	3.1	101
6	男	60	2.3	98
7	男	52	3.1	98
8	女	62	4.8	95
9	男	58	2.9	99
10	男	56	2.9	97
11	男	58	10.2	98

低値を認めた。対照群との比較は Table 6 に示しているが、尿中 β -G 値とは反対に膀胱癌患者群が対照群より低値を示す傾向のあることが認められる。米瀬の報告による54例の測定で48例に正常範囲より低値を認めているのとほぼ一致する。

IV 膀胱癌組織中の β -G 組織化学的検索

1963年 林，中島，Fishman らが発表した基質に naphthol AS-BI glucuronideを用いる方法により実施した。naphthol AS-BI glucuronide は下記のごとき

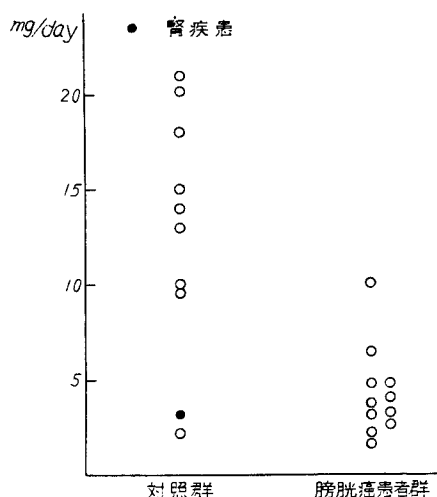
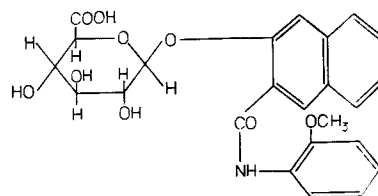


Fig. 6 対照群と膀胱癌患者群の尿中グルコ糖酸値の比較

構造式をもつ物質である。



A 標本固定法

膀胱癌患者より手術的に摘除された腫瘍組織片を厚さ 3mm，大きさ約 5mm×5mm の切片とし，4% (W/V) formaldehyde および 1% anhydrous calcium chloride を含む formol calcium 固定液中に24時間 0~4°C にて固定し，つぎに 0.88M の Holt's hypertonic gum-sucrose medium 中に同様24時間固定した。ついで 5~10 μ の凍結切片を作り染色に供した。

B 染色法

1 基質液

naphthol AS-BI glucuronide 28mg に 0.5M 重曹溶液 1ml を加えて溶解，pH 5.0~5.2 に調整された 0.2M acetate buffer を加えて全量 100ml とし，これを基質保存溶液として室温に保存した。

2 デアゾ化液

pararosaniline hydrochloride 0.1g に蒸留水 20ml を加え，conc-HCl 5ml を加えたのち加温，冷却濾過後室温に保存した。

3 反応液

デアゾ液 0.3ml，4%亜硝酸ソーダ 0.3ml，基質保



Fig. 7 慢性膀胱炎. β -G 染色, $\times 40$.

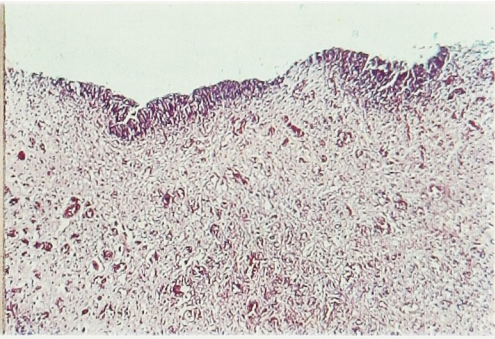


Fig. 8 慢性膀胱炎. H. E. 染色, $\times 40$.

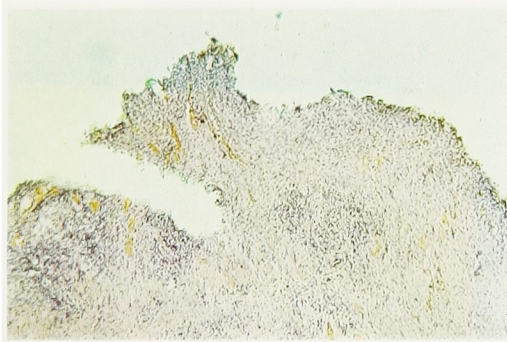


Fig. 9 Fig. 8 の症例の β -G 染色 +
H核染色, $\times 40$.

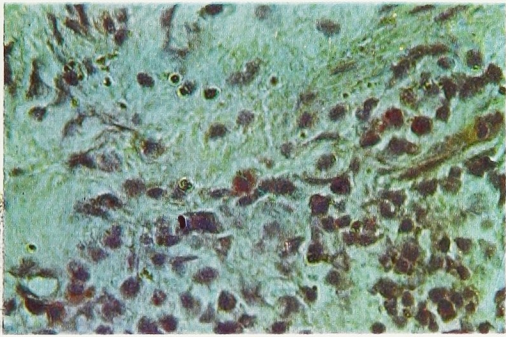


Fig. 10 Fig. 9 の強拡大. $\times 400$.

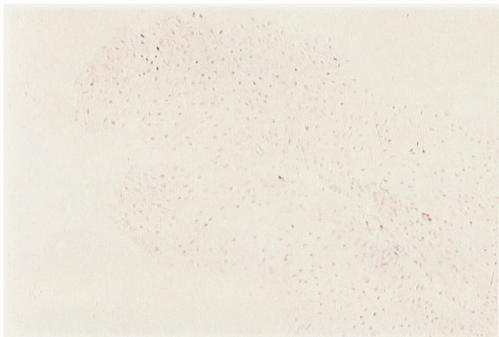


Fig. 11 G-1 の膀胱癌. H. E. 染色, $\times 100$.

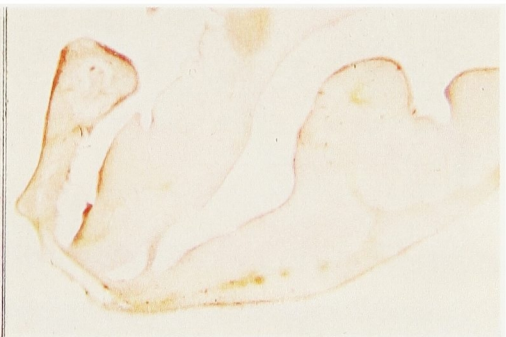


Fig. 12 Fig. 11 の症例の β -G 染色, $\times 40$.

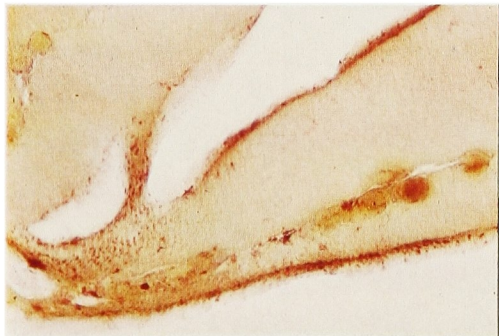


Fig. 13 Fig. 11 の症例の β -G 染色, $\times 100$.

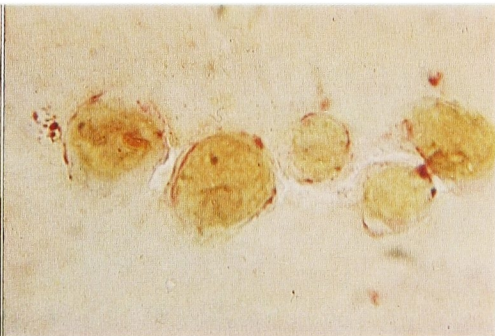
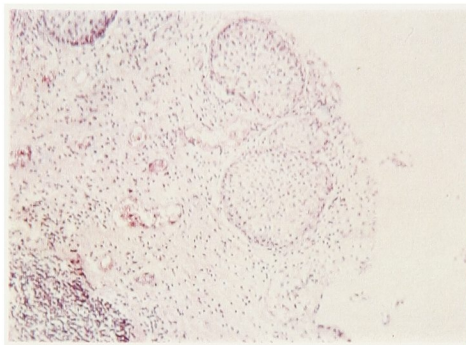
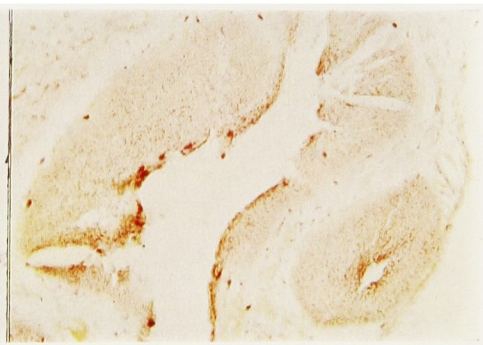
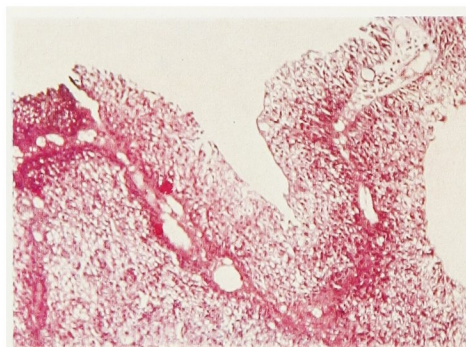
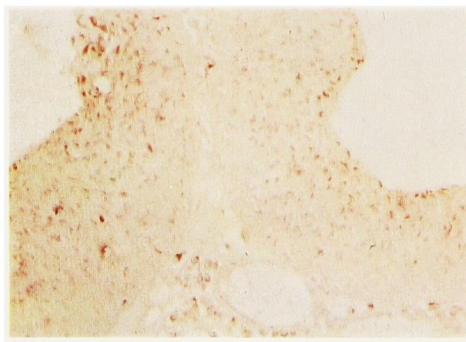
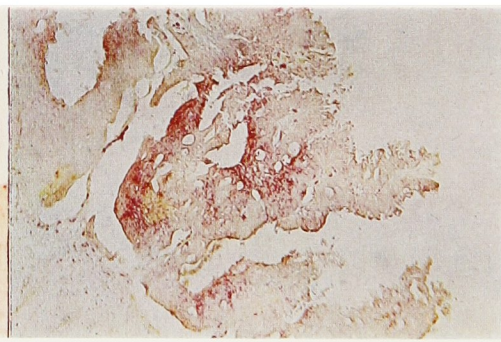
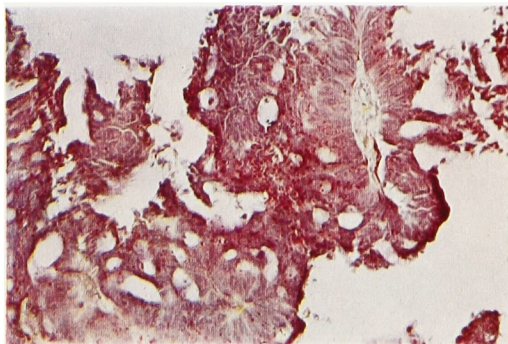
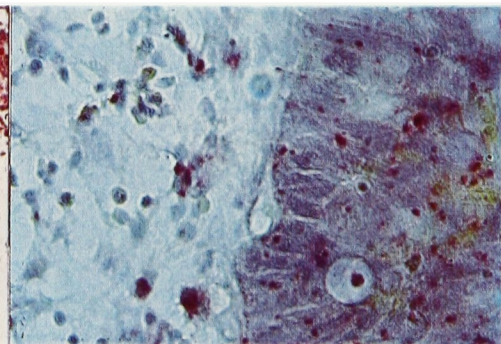


Fig. 14 Fig. 11 の症例の腫瘍基質の血管
像. β -G 染色, $\times 400$.

Fig. 15 G-1 の膀胱癌. H. E. 染色, $\times 100$.Fig. 16 Fig. 15 の症例の β -G 染色, $\times 100$.Fig. 17 G-2 の膀胱癌. H. E. 染色, $\times 100$.Fig. 18 Fig. 17 の症例の β -G 染色, $\times 100$.Fig. 19 Fig. 17 の症例の β -G 染色, $\times 100$.Fig. 20 G-2 の膀胱癌, β -G 染色, $\times 40$.Fig. 21 Fig. 20 の症例. β -G 染色 + H核染色, $\times 100$.Fig. 22 Fig. 20 の症例の腫瘍組織と基質の状態を示す. β -G 染色 + H染色, $\times 400$.

存溶液 10ml の割合に混じ、1N-NaOH 溶液を加えながら pH 5.2 に調整後、蒸留水を加えて全量 20ml となるように調整し直ちに染色に供した。

4 染色操作

反応液中に凍結切片を浮遊させ、37°C で30分間保温染色し、水洗後ゼラチン処理されたプレパラートに固定、乾燥後バルサム封入し鏡検に供した。また一部は hematoxylin による核染色を実施した。

5 酵素非働化試験

100°C, 1 分間の煮沸試験と反応液中に saccharo-(1 $\rightarrow$ 4)-lactone 10 $^{-4}$ mg % に混じた抑制試験を行ない、この状態において同様操作により組織化学的に β -G 活性がほとんど完全に抑制されていることを確認した。

C 検索結果

1 対照群

健康者の膀胱粘膜が得られなかったため、前立腺肥大症患者の膀胱粘膜を用いて対照とした。対照症例として用いた中等度の慢性膀胱炎の膀胱粘膜の β -G 活性は Fig. 7 に示すごとく、 β -G 活性は粘膜上皮にはほとんど認められず、間質の遊走細胞にのみ陽性に認められた。また粘膜下に広範な亜急性ないし慢性の炎症所見を認める組織においても (Fig. 8)、その β -G 活性は Fig. 9 に示すごとく粘膜上皮にはほとんど認められず、ただ遊走細胞に少量の活性を認めた (Fig. 10)。図に示したように対照群の膀胱粘膜の β -G 活性はほとんど陰性と考えてよい結果を得た。

2 膀胱癌群

17例の膀胱癌患者より手術的に摘出された腫瘍組織片につき検査した。組織学的には全例移行上皮癌であった。組織学的に Broders の分類に従い、悪性度 1 より 4 までのもののうち代表的症例につき図で示した。

症例 1 : 45才, 女子。

膀胱鏡的に三角部より頸部にかけて有茎性の乳頭状腫瘍の多発を認め、経尿道的に切除した。予後良好。

HE 染色所見：移行上皮が少量の樹枝状の結合組織を基質として乳頭状の増生をする腫瘍であるが、移行上皮はよく分化し核の大小不同、異型性に乏しく、核分裂像もほとんどなく、かつ浸潤性の発育を認めない。また腫瘍基質は血管にやや富み、水腫状に傾くが細胞浸潤は比較的少ない。いわゆる移行上皮癌の悪性度 1 の像と考える (Fig. 11)。

β -G 染色所見：腫瘍細胞の β -G 活性度は一般的にきわめて乏しく、染色顆粒もきわめて繊細である。乳頭状に増殖している腫瘍の周辺部表面に一致して β -G

活性がやや強い (Fig. 12)。基質細胞の活性もおおむね軽度であるが、主として血管壁、ことに内皮細胞を中心に活性が認められる (Fig. 14)。腫瘍細胞群の中にところどころかなり強い活性をもっている部分もある (Fig. 13)。しかし総じて β -G 活性は弱く、分布は腫瘍周辺部により著明な傾向を認めた。

症例 2 : 58才, 男。

膀胱鏡所見では三角部より右尿管口部にかけて乳頭状有茎性、一部広基性の腫瘍の多発を認め、膀胱部分切除術を施行し、染色検査には乳頭状の比較的広基性の部分を供した。予後良好。

HE 染色所見：本切片では粘膜に比較的良好に分化せる移行上皮よりなる nests がとところどころに認められ、異型性も軽度ながら認められる。この部では悪性度 1 の移行上皮癌と考えられる (Fig. 15)。

β -G 染色所見： β -G 活性は腫瘍細胞全体に中等度に認められるが、染色顆粒はなお繊細である。間質の浸潤細胞にも比較的軽度ながら活性を認める (Fig. 16)。腫瘍周辺部の β -G 活性は割合に強い傾向がある。

症例 3 : 52才, 男。

膀胱鏡的に右尿管口部より約 1cm 後内方に拇指頭大の乳頭状、有茎性腫瘍の単発を認め、膀胱部分切除術を施行した。予後良好。

HE 染色所見：移行上皮由来の細胞が少量の結合組織性基質により樹枝状に、乳頭状の増生を示している腫瘍であり、腫瘍細胞の多形性、異型性は軽度ながら認められるが核分裂像には乏しく、浸潤性の増殖は認めない。基質は比較的乏しく血管に富み、小円形細胞の浸潤を軽度にも認める (Fig. 17)。総じて移行上皮癌の悪性度 2 と考える。

β -G 染色所見：腫瘍細胞は全般的に、ことに乳頭状の辺縁部に一致して β -G 活性が強く認められる。染色顆粒はやや繊細である。基質への浸潤形質細胞の β -G 活性もかなり強く認められる (Fig. 18, 19)。

症例 4 : 52才, 男。

膀胱鏡的に右尿管口の後上方部に小指頭大の有茎性、乳頭状腫瘍の単発を認め、膀胱部分切除術を施行した。

β -G 染色所見：hematoxylin 核染色により、ほぼ悪性度 2 の移行上皮癌と考えられる。比較的分化した移行上皮が乳頭状に増殖した腫瘍であり、浸潤像に乏しい。 β -G 活性は腫瘍細胞全般には比較的弱い、が、辺縁部に局部的に中等度に認められる。染色顆粒はやや繊細である (Fig. 20, 21)。基質の浸潤細胞では腫瘍組織に接する部分に層状に β -G 活性が比較的強く認められ、腫瘍組織から遠く離れるほど β -G 活性は

少ない (Fig. 22, 23).

症例 5 : 62才, 男.

膀胱鏡的に左側壁に拇指頭大, 乳頭状, 比較的広基性, 単発の腫瘍を認め, 膀胱部分切除術を施行した.

HE 染色所見: 乳頭状増殖を示す移行上皮由来の腫瘍で, 異型性, 多形性ならびに核分裂像も中等度に認められ, かつ一部は粘膜下に浸潤傾向がみられる. 粘膜下および腫瘍基質には小円形細胞の浸潤が中等度に認められる. 組織学的には悪性度 3 と考えられる (Fig. 24).

β -G 染色所見: 腫瘍組織全体に比較的平均化して β -G 活性をかなり強く認めるが, 腫瘍細胞が anaplastic となるとともに強い傾向があり, また組織周辺部の活性も強い (Fig. 25, 26). 腫瘍組織基質の β -G 活性はあまり強くないが, 粘膜下の腫瘍組織に接して活性の強い部が層状に認められる (Fig. 28). 染色顆粒はやや粗大となる傾向がある. また活性は腫瘍細胞の細胞質内に顆粒状に認められる (Fig. 27).

症例 6 : 66才, 女子.

膀胱鏡的に左尿管口の後側壁より頂部にかけて拇指頭大の広基性, 乳頭状腫瘍の単発を認め, 膀胱部分切除術を施行した.

HE 染色所見: 腫瘍細胞にはかなり強い異型性と浸潤傾向を認める移行上皮癌で, 悪性度は 2~3 と考えられる (Fig. 29).

β -G 染色所見: 腫瘍組織に一致して全般的に β -G 活性を中等度に認め, とくに染色顆粒が粗大化の傾向を認める (Fig. 30).

症例 7 : 54才, 男.

膀胱鏡的には三角部, 頸部, 前壁を残してほとんど全壁に, 特に後壁より頂部を中心に乳頭状, 浸潤性の腫瘍の多発を認め, 膀胱亜全摘除術を施行した.

HE 染色所見: 一部に移行上皮由来を示す nests も見られるが, おおむね著明に anaplastic な腫瘍細胞が粘膜下層に充実性に浸潤増生を示し, 巨細胞の形成も著しい. 基質は比較的乏しく, 小円形細胞の浸潤を伴う. 悪性度 4 の移行上皮癌と考える (Fig. 31).

β -G 染色所見: 腫瘍組織に一致してはなはだ強い β -G 活性を認め, 染色顆粒は粗大で密な傾向が強い (Fig. 32). 摘除断端に近い部の粘膜にも腫瘍性の増殖が認められ, 粘膜に程度は弱い β -G 活性を認める. 特徴的な所見は粘膜下層に β -G 活性の強い細胞の浸潤が層状に認められることである (Fig. 33). 腫瘍組織に接する粘膜下層の大単核細胞, および一部に線維芽細胞と考えられる細胞にも強い活性がかなり広範囲に認められる (Fig. 34, 35, 36). また腫瘍細胞

のかなり多数に強い活性をもった粗大な染色顆粒を散在性に認める (Fig. 34). 本組織の直接塗抹 β -G 染色で, 腫瘍細胞内の β -G 活性が細胞質内に判然と認められた (Fig. 37).

症例 8 : 58才, 女子.

膀胱鏡的に左尿管口の側後上方に拇指頭大, 乳頭状, 広基性, 浸潤性の腫瘍を認め, 膀胱部分切除術を施行, 6 カ月後再発悪化し 10 カ月後に悪液質のため死亡した.

HE 染色所見: 膀胱粘膜下に広範に不規則な配列を示す腫瘍細胞が認められるが, 部位によりわずかに移行上皮由来を思わせる部を認める. 大部分は不整紡錘形, 肉腫様像を呈する. 腫瘍細胞の異型性, 多形性は顕著で核分裂像もしばしば認められ, 表面の壊死も見いだされる. 粘膜下に小円形細胞の浸潤が軽度見られる. なお Azan-Mallory, Gomori 染色により肉腫は否定されたので悪性度 4 の移行上皮癌と考えられる (Fig. 38).

β -G 染色所見: 腫瘍細胞は全体的に β -G 活性を強陽性に認め, 染色顆粒の粗大さが顕著である (Fig. 39).

3 症例の小括

以上のごとく今まで用いられてきた Broders の組織学的悪性度所見と, β -G 組織化学的所見とを対比して検討すると Table 7 のごとくなる. すなわち G-1, G-2 のごとくいわゆる low grade とされているものの β -G 染色では染色顆粒は繊細であるが,

Table 7 膀胱癌組織の β -G 組織化学的所見

症例数	組織学的悪性度	組織化学的 β -G 活性度	顆粒
3	G-1	±~+	繊細
6	G-2	±~+	やや繊細
5	G-3	++~+++	粗大, 密
3	G-4	+++~++++	粗大, 密

G-3, G-4 の high grade のものでは染色顆粒が粗大, 密となる傾向を認めた. β -G 活性の増加がこの顆粒の状態によっており, 悪性度決定に意義を有することが考えられる. つぎに活性分布は全体的には腫瘍の乳頭状周辺部に一致して強いが, 組織内での分布は必ずしも均一ではない. 特に腫瘍細胞が anaplastic となると活性も強くかつ染色顆粒が粗大となる傾向を認めた. また β -G 活性は腫瘍細胞の細胞質内に顆粒状に認められる. 最後に粘膜下の浸潤細胞, 基質の浸潤細胞

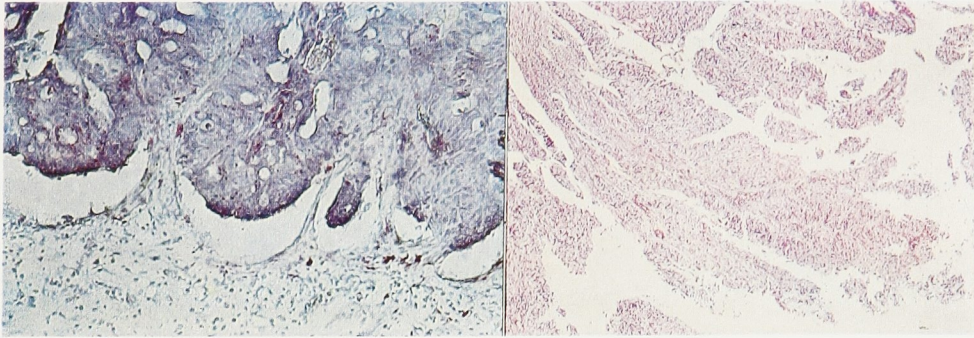


Fig. 23 Fig. 20 の症例の腫瘍基底部の状態. β -G 染色 + H核染色, $\times 100$.

Fig. 24 G-3 の膀胱癌. H. E. 染色, $\times 40$.

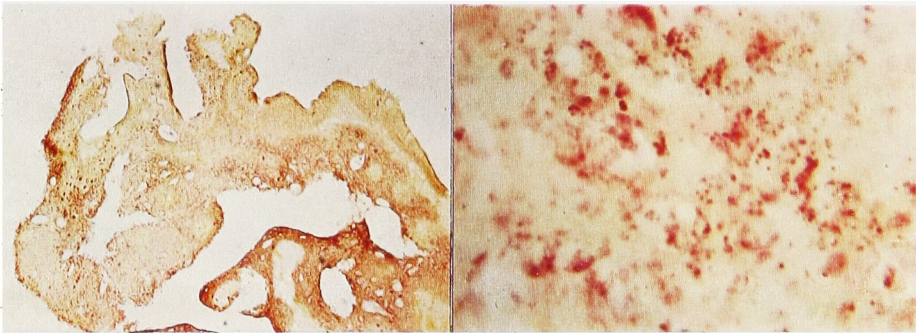


Fig. 25 Fig. 24 の症例の β -G染色, $\times 40$.

Fig. 26 Fig. 24 の症例の腫瘍組織の一部の状態. β -G 染色, $\times 400$.

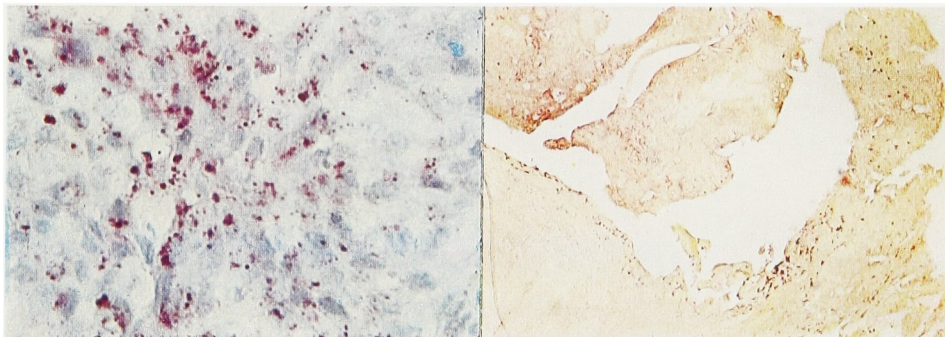


Fig. 27 Fig. 24 の症例の腫瘍組織の一部の状態. β -G 染色 + H核染色, $\times 400$.

Fig. 28 Fig. 24 の症例の腫瘍基底部の状態. β -G 染色, $\times 40$.

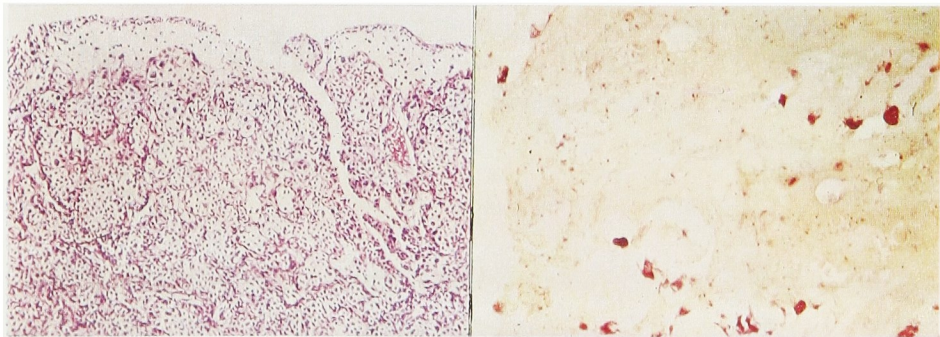
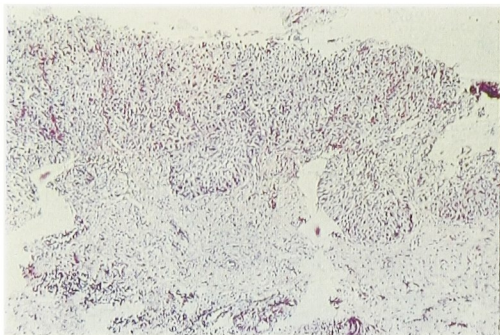
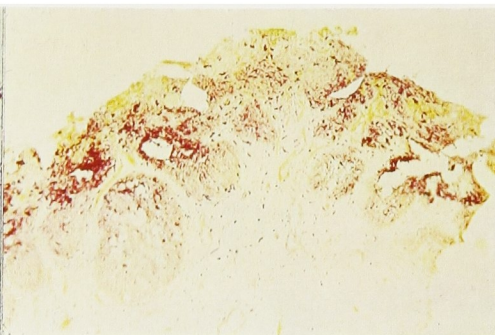
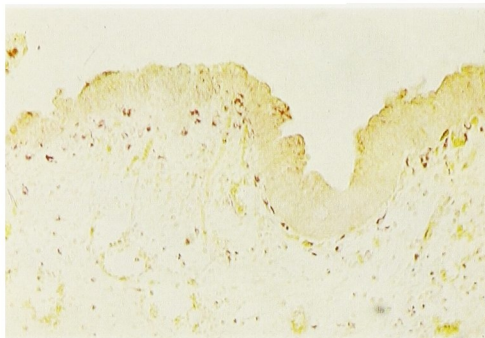
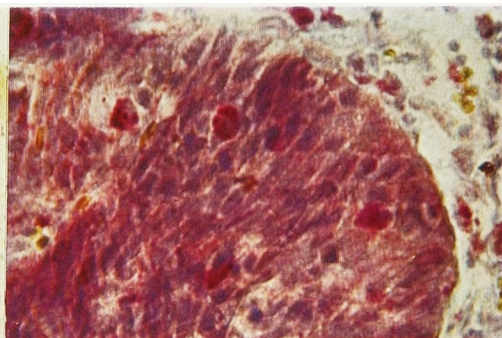
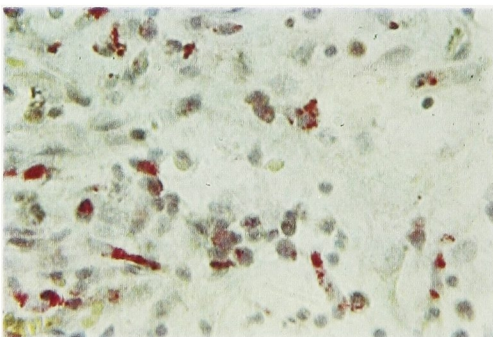
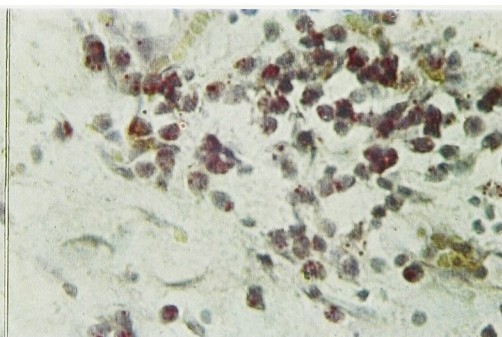
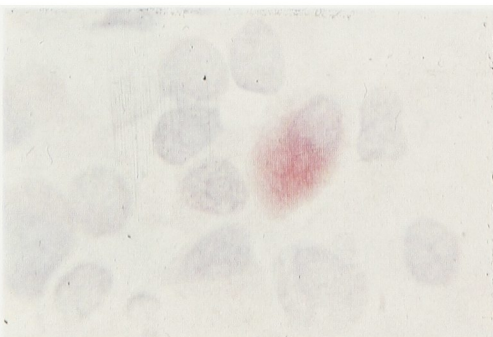
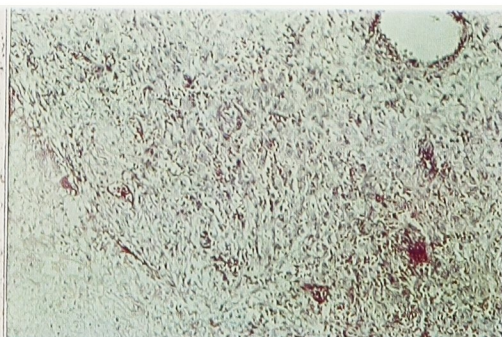


Fig. 29 G 2 ~ 3 の膀胱癌. H. E. 染色, $\times 100$.

Fig. 30 Fig. 29 の症例の β -G 染色, $\times 100$.

Fig. 31 G-4 の膀胱癌. H.E. 染色, $\times 40$.Fig. 32 Fig. 31 の症例の β -G 染色, $\times 40$.Fig. 33 Fig. 31 の症例. β -G 染色, $\times 40$.Fig. 34 Fig. 31 の症例. β -G 染色 + H核染色, $\times 400$.Fig. 35 Fig. 31 の症例の基質細胞. β -G 染色 + H核染色, $\times 400$.Fig. 36 Fig. 31 の症例の基質細胞. β -G 染色 + H核染色, $\times 400$.Fig. 37 Fig. 31 の症例. β -G 染色 + H核染色, $\times 1,000$.Fig. 38 G-4 の膀胱癌. H. E. 染色, $\times 100$

胞の β-G 活性は、浸潤性の強くない腫瘍組織では腫瘍組織に接した部分に層状に比較的強い活性として認められ、浸潤性の腫瘍組織の場合には腫瘍に接する部位よりかなり広範囲に粘膜下に広がって認められた。

V SLA 経口投与の尿中 β-G 値, glucaric acid 値と術後再発および組織内 β-G 活性に対する影響

A SLA 経口投与の尿中 β-G 値および glucaric acid 値に対する影響

膀胱癌患者 6 例について SLA を経口的に投与し、尿中 β-G 値および尿中 glucaric acid 値に対する影響を比較検討した。

1 投与方法

1 日量 1.5g の SLA を 4 分割して 6 時間ごとに経口的に内服させ、前述の方法により 24 時間尿について β-G 値および glucaric acid 値を測定した。

2 結果

測定結果は Table 8 に示すごとく全例に尿中 β-G 値は抑制されたが、症例 2 および 5 の低下はそれほど著明でない。また尿中 glucaric acid 値も全例に上昇

Table 8 SLA 投与前後の尿中 β-G 値およびグルコ糖酸値

症例 No.	性別	年齢	SLA 投与前		SLA 投与後	
			β-G 値	グルコ糖酸値	β-G 値	グルコ糖酸値
1	男	49	1,050	3.4	0	720
2*	男	65	616	10.5	333	29.5
3	男	54	1,700	2.9	312	215
4	男	52	700	3.1	0	215
5	女	62	620	4.8	375	145.5
6	男	58	1,340	2.9	200	136.1

*印の症例は常に再発を繰り返したもの

を見たがその程度は一様でなく、特に症例 2 のごとく過去 15 年間に 1 年 4～5 回の割合で再発を繰り返している例ではほとんど上昇を認めなかった。そこで米瀬の指摘しているように、膀胱癌患者の SLA 投与による glucaric acid 転換率が低値であるかどうかを下記式により計算してみた。

$$\text{転換率} = \frac{b-a}{c} \times 100\%$$

ただし a : 投与前 glucaric acid 値

b : 投与後 glucaric acid 値

c : 投与全量が glucaric acid になった場合の値、すなわち SLA 1,500mg = glucaric

acid 1,200mg である。

症例 1 を除いて他は全例 18% 以下の低値であり、症例 1 は約 60% であった。SLA-glucaric acid の転換率の正常値は 30～40% であるから 1 例を除き全例低値であり、このことは米瀬の成績とほぼ一致する。

B SLA 経口投与の手術後再発に対する影響

膀胱癌手術後患者に対する SLA 投与の再発に対する影響を見る目的で検索したが、経過観察期間がじゅうぶんでないで結論的報告ではない。

1 投与方法および期間

手術的に腫瘍を除去した患者に前述と同様 1 日量 1.5g の SLA を 4 分割して 6 時間ごとに経口的に投与し、1 年以上経過を観察した 21 例について検討した。再発については 1～2 カ月に 1 度膀胱鏡的に腫瘍の有無について調査した。うちの 9 例については経時的に尿中 β-G 値を測定した。

2 結果

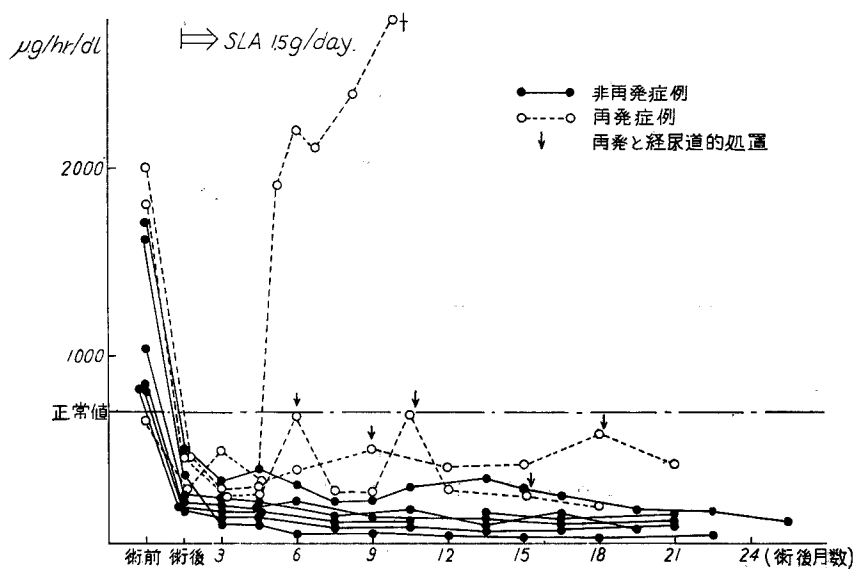
観察結果は Table 9 に示したごとくである。すなわち G-3, G-4 のごとく high grade のものは全例とも手術後 2 年以内に再発し、G-1, G-2 の low grade のものでは 18 例中 6 例に再発を認めているが、症例 10 および 17 は内服中止後に再発し経尿道的処置後に内服を持続しており、現在は再発を認めない。症例 2 は再発の間隔に延長を認め、現在 12 カ月間は再発はない。しかし症例 4 は長期間の内服にもかかわらず再発を繰り返している。尿中 β-G の経時的測定結果は Fig. 40 に示すごとく非再発群の 6 例は全例 300 μg/hr/dl 以下に抑制され変動を認めないが、再発群 3 例中 2 例は正常範囲内での変動があり、1 例は腫瘍再発、悪化にて 10 カ月後に死亡した。

C SLA 経口投与の腫瘍組織内 β-G 活性に対する影響

SLA 内服の腫瘍組織内 β-G に対する影響を組織化学的に検討した。すなわち Table 9 の症例 13 は手術前の 1 カ月間に SLA を 1 日量 1.5g, 4 分割して 6 時間ごと毎日内服させ、摘出標本について β-G 染色を前述の方法で実施した。HE 染色所見で重層の移行上皮細胞が乳頭状に増殖し、多形性は比較的軽度であるが、異型性は明らかであり、核分裂像もところどころに見られる。腫瘍間質は貧かつ粗で細胞浸潤はさほど著明でない。悪性度 2 の移行上皮癌と考えられる。特に SLA 内服の影響は認められない (Fig. 41)。β-G 染色所見では乳頭状の周辺部に非常に弱い活性を認め、基質細胞にやや軽度の活性を認めるのみで全体

Table 9 SLA 経口的投与の手術後再発に関する調査

症例 No.	性 別	年 令	腫瘍細胞型	悪性度	投 与 前 処 置	投与期間 (月)	再発について
1	男	54	移行上皮癌	G-4	膀胱全摘術	27	24ヵ月後再発転移(+)
2	女	62	"	G-1	腫瘍切除術	24	最近12ヵ月間再発(-)
3	男	58	"	G-1	経尿道的切除術	24	(-)
4	男	65	"	G-1	腫瘍切除術	24	(+)
5	男	52	"	G-1	経尿道的切除術	12	(-)
6	男	54	"	G-1	"	12	(-)
7	男	47	"	G-1	"	15	(-)
8	男	63	"	G-2	膀胱部分切除術	15	(-)
9	女	66	"	G-2	"	12	(+)
10	男	52	"	G-2	"	20	中止後2ヵ月再発(+)
11	男	47	"	G-1	"	15	(+)
12	男	52	"	G-2	"	20	(-)
13	男	49	"	G-2	"	24	(-)
14	女	64	"	G-1	"	15	(-)
15	男	47	"	G-1	腫瘍切除術	25	(+)
16	女	58	"	G-4	膀胱部分切除術	10	6ヵ月後再発, 10ヵ月後死亡
17	男	58	"	G-2	経尿道的切除術	15	中止後再発(+)
18	男	44	"	G-1	"	15	(-)
19	男	51	"	G-1	膀胱部分切除術	24	(-)
20	女	52	"	G-1	経尿道的切除術	15	(-)
21	男	58	"	G-3	膀胱部分切除術	15	(+)

Fig. 40 SLA 投与の尿中 β -G に対する影響

的に β -G 活性は低下していると考えられる (Fig. 42).

VI SLNA の腫瘍組織内局所注射の腫瘍組織および組織 β -G 活性に対する影響

A 投与方法

手術用膀胱鏡を用い、阿久津式注射針を腫瘍実質内または基部、基底部に刺し込み、500mg ないし 2 g の SLNA を 1~10ml の蒸留水に溶解してただちに

可視下に注入した。このさい腫瘍の膨隆および注入時抵抗を腫瘍組織内注入確認の指標とした。最終注入後約2週間して手術的に摘出した標本について、前述の方法により組織学的および組織化学的に β -Gを検索した。

B 結 果

16例の膀胱癌患者に実施し、注入後7～10日目に膀胱鏡的に腫瘍の状態を観察した。成績はTable 10に示すごとく16例中8例に縮少を認め、3例は消失、うち2例は異所再発を繰り返している。不変例は5例で

Table 10 SLNA の腫瘍組織内局所注射の腫瘍に対する影響

症例 No.	性 別	年 令	膀胱鏡的腫瘍性状	SLNA 投与量・回数	投 与 後 腫瘍性状	そ の 他
1	男	65	乳頭状・多発性・有茎性	200mg×5	消 失	異所再発(+)
2	女	62	" " "	200mg×7	消 失	再発(-)
3	男	47	" " "	200mg×5	消 失	異所再発(+)
4	男	58	" 広基性・浸潤性	500mg×2	不 変	
5	男	93	" 単発性・有茎性	500mg×3	不 変	
6	男	51	" " "	1000mg×1	縮 少	
7	男	57	" 広基性・浸潤性	500mg×1	縮 少	
8	男	63	" 単発性・広基性	1000mg×1	不 変	局注後出血(+) 転移あり死亡
9	男	54	" 多発性・広基性	1000mg×4	縮 少	
10	男	58	" 多発性・広基性	500mg×3	不 変	
11	男	47	" 多発性・広基性	500mg×2	不 変	
12	男	54	" 単発性・有茎性	200mg×1	縮 少	
13	男	52	" " "	500mg×4	縮 少	
14	男	44	" " "	500mg×5	縮 少	
15	男	67	" " "	500mg×1	縮 少	
16	男	61	" " "	500mg×1	不 変	
				1500mg×1	縮 少	

1例を除いて4例は広基性、浸潤性の腫瘍であった。以下症例について述べる。

Table 10 の症例14

膀胱鏡的に左尿管口部に小指頭大の乳頭状、有茎性の腫瘍1コを認めた。処置前の腫瘍所見はFig. 43に示すごとくである。これに対してSLNA 500mg 1回局注した。局注10日目の膀胱鏡検査所見はFig. 44に示すごとく腫瘍の大きさは約 $\frac{1}{2}$ に縮少し、このため以前は主腫瘍にかくれて見えなかった小帽針頭大の小腫瘍を後斜上方に認めるようになり、同時に尿管口も判然としてきた。経尿道的電気凝固術で簡単に治癒した。

Table 10 の症例11

初診時の膀胱鏡検査で左尿管口より約2cm左の側壁部に小指頭大、有茎性の腫瘍の単発を認めた。これにSLNA 500mg を1回局注後10日目に縮少を認めたので、経尿道的に切除し組織学的検査を行なった。組織学的には核に軽度の多形性を認めるが核分裂像の所見はきわめて少なく、腫瘍細胞はしばしば空胞状の原形質を示している(Fig. 45)。

Table 10 の症例13

右尿管口の後方約1.5cmの部位に示指頭大、有茎性の腫瘍を認め、これにSLNA 500mg ずつ7日ごとに4回局注し、約 $\frac{1}{2}$ の大きさになったところでこれを経尿道的に切除した。その組織学的所見はFig. 46, 47に示すごとくで腫瘍細胞の原形質は明るく、空胞化が見られ、細胞全体が粗になり、腫瘍細胞は異型性および核分裂像に乏しい所見がみられる。 β -G染色所見ではFig. 48に見られるごとく全体的に β -G活性は非常に低く、組織内のごく一部にわずかに弱い活性が残っているにすぎない(Fig. 49)。

Table 10 の症例8

左尿管口部の後上方に拇指頭大、比較的広基性、乳頭状の腫瘍を認め、これに7日ごとにSLNA 1,000mg ずつ4回を局注後、 $\frac{1}{2}$ くらいに縮少したので膀胱部分切除術を施行した。組織学的に腫瘍は移行上皮が乳頭状の増生を示しており、腫瘍細胞の異型性、多形性、核分裂像は軽度に認められる。しかし基底膜をこえての浸潤性増殖は明らかでない。基質は比較的乏しい粗な結合織よりなり、血管に富み、かつ、かなりの好中球あるいは好酸球を混じる小円形細胞の浸潤が中等度認められる(Fig. 50)。腫瘍組織自体にはSLNA局注に

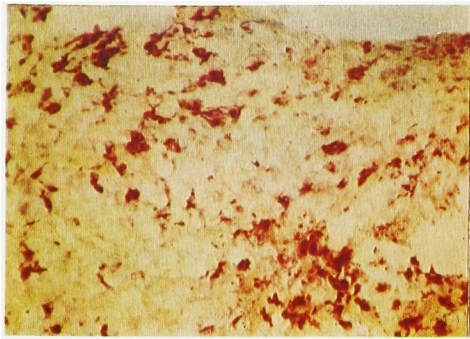
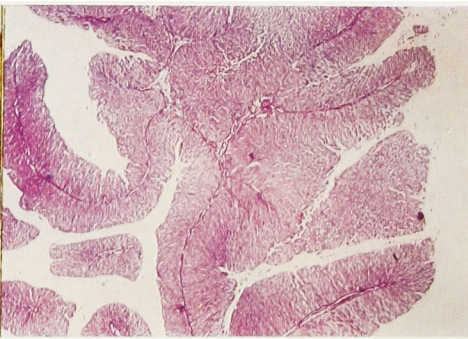
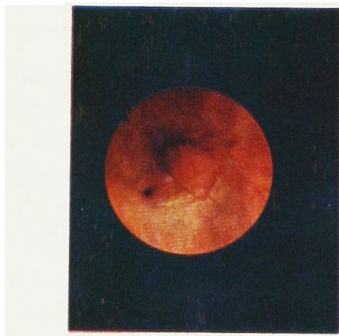
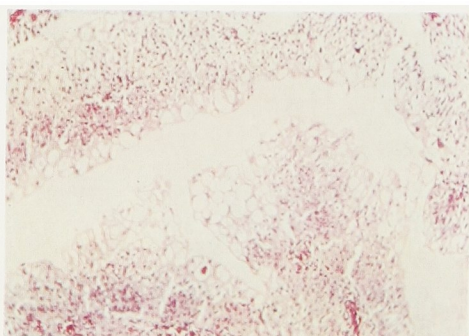
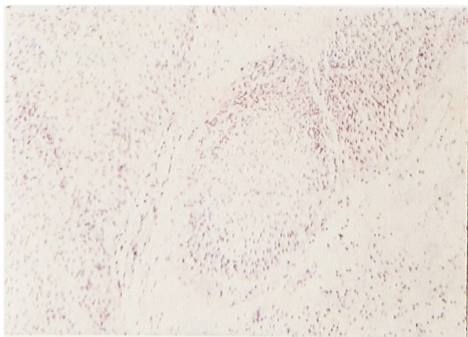
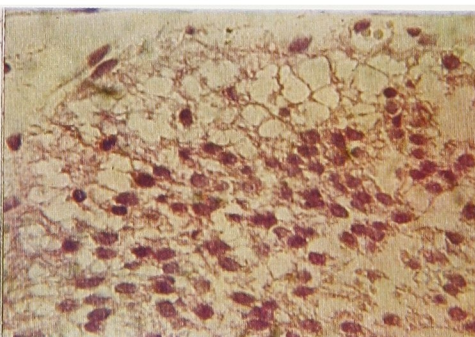
Fig. 39 Fig. 38 の症例の β -G 染色, $\times 100$.Fig. 41 G-2 の膀胱癌, SLA 1 カ月間内服後. H. E. 染色, $\times 40$.Fig. 42 Fig. 41 の症例の β -G 染色, $\times 100$.

Fig. 43 SLNA 局所注入前の膀胱内写真.

Fig. 44 SLNA 500mg 局所注入後10日目
の膀胱内写真.Fig. 45 SLNA 500mg 局所注入後10日目.
H. E. 染色, $\times 100$.Fig. 46 SLNA 500mg 局所注入 4 回後.
H. E. 染色, $\times 100$.Fig. 47 Fig. 46 の強拡大, $\times 400$.

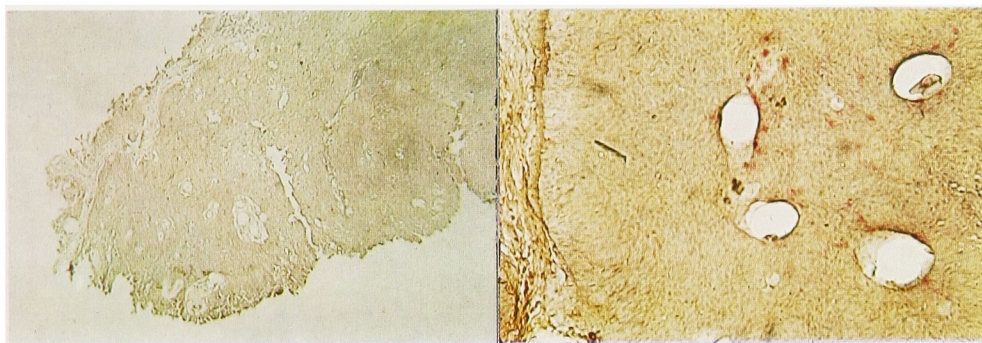


Fig. 48 Fig. 46 の症例の β -G 染色, $\times 40$.

Fig. 49 Fig. 46 の症例の β -G 染色, $\times 100$.

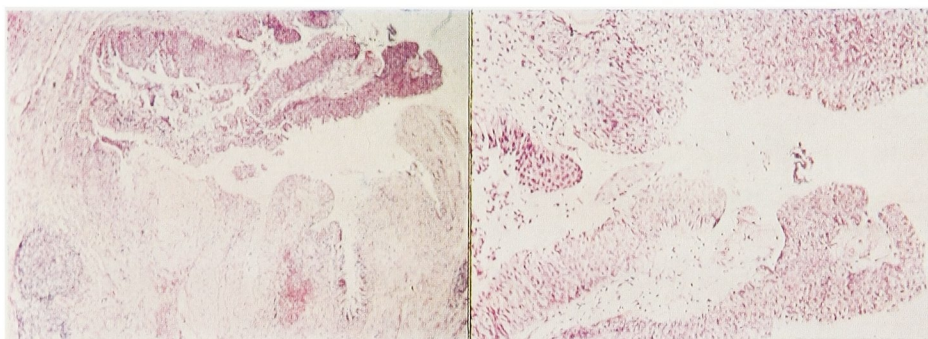


Fig. 50 SLNA 1,000mg 局所注入 4 回後.
H. E. 染色, $\times 40$.

Fig. 51 Fig. 50 の一部拡大. $\times 100$.

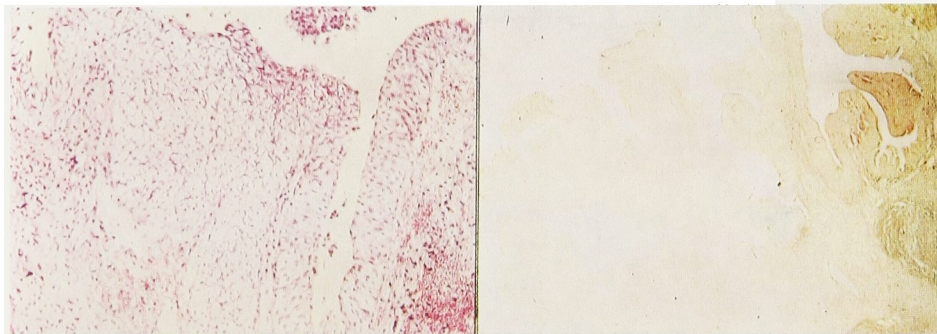


Fig. 52 Fig. 50 の一部拡大. $\times 100$.

Fig. 53 Fig. 50 の症例の β -G 染色, $\times 40$.

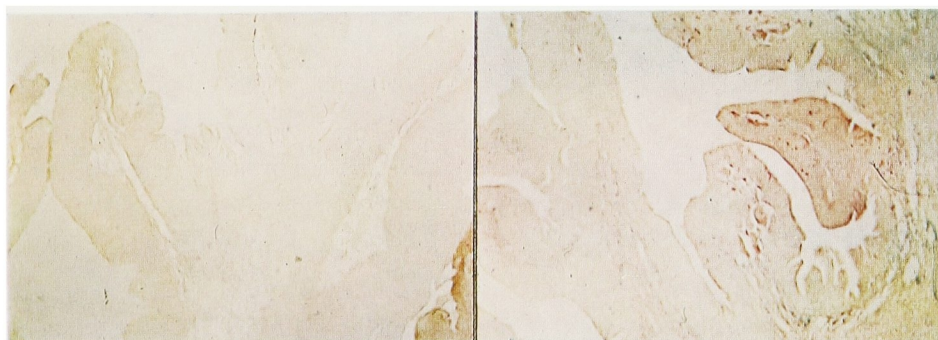


Fig. 54 Fig. 53 の一部拡大. $\times 100$.

Fig. 55 Fig. 53 の一部拡大. $\times 100$.

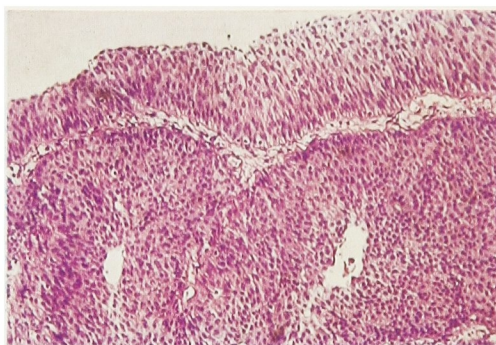


Fig. 56 SLNA 500mg 局所注入 4 回後.
H. E. 染色, $\times 100$.

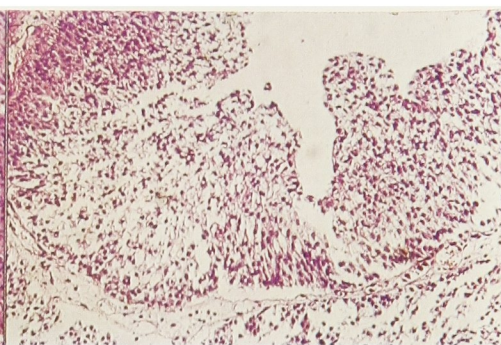


Fig. 57 Fig. 56 と同一症例. H. E. 染色,
 $\times 100$.

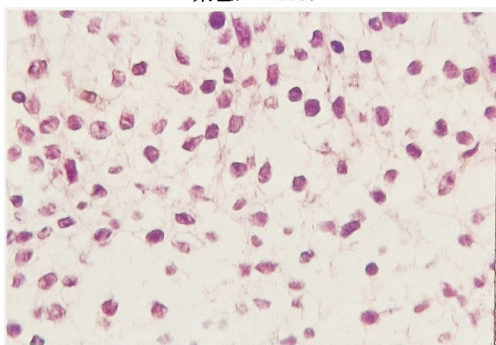


Fig. 58 Fig. 57 の拡大. H. E. 染色, $\times 400$.

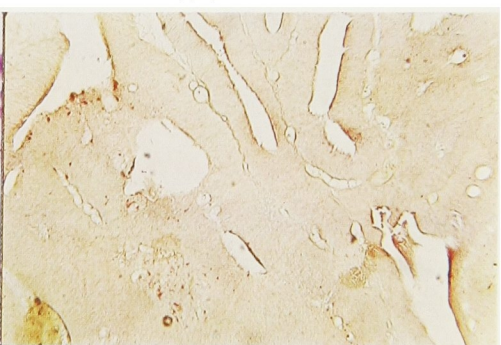


Fig. 59 Fig. 56 の症例の β -G 染色, $\times 40$.

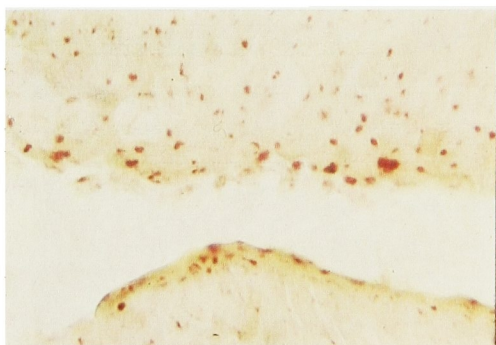


Fig. 60 Fig. 59 の一部拡大. $\times 400$.

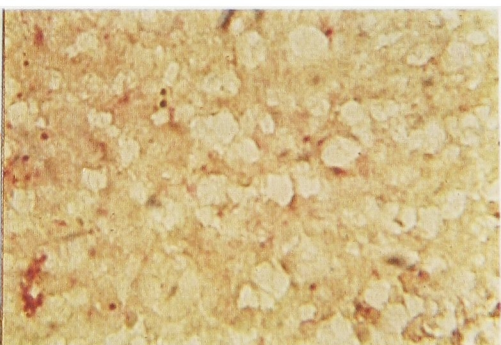


Fig. 61 Fig. 59 の一部拡大. $\times 400$.

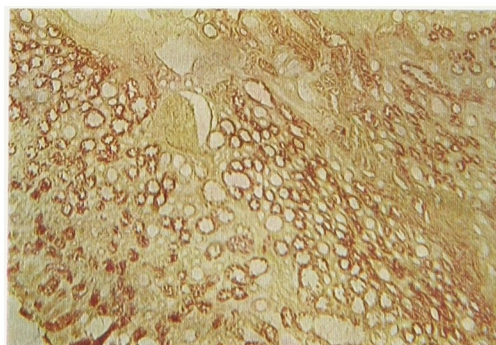


Fig. 62 尿管腫瘍患者の腎の β -G 染色, $\times 40$.

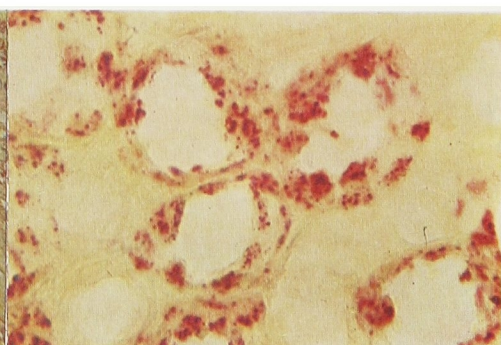


Fig. 63 Fig. 62 の一部拡大, $\times 400$.

よる形態学的変化は全く認められない部分 (Fig. 51) と、Fig. 52 に示す一部のごとく腫瘍細胞の断裂、粗、空胞化が認められる部位とがある。 β -G 染色では腫瘍組織は部位により β -G 活性にかなりの差があるととも全体的に活性が弱い (Fig. 53)。基質にごくわずかの活性を認めるのみでほとんど完全に抑制されている場所 (Fig. 54) と、酵素活性が比較的中程度に残っている部位がある (Fig. 55)。活性残存部位はおもに腫瘍組織の辺縁部に強く認められ、基質内の浸潤細胞群にもかなり強く、ことに出血巣に著明に見られる。以上の所見から腫瘍組織の β -G 活性低下は SLNA 投与の影響と考えられ、腫瘍組織の各部位による活性強弱の差は、腫瘍がある程度大きい場合に局注された SLNA が全組織に均一に注入されないために起こった変化と考えられる。

Table 10の症例12

左尿管口部の後側方に示指頭大、有茎性の単発腫瘍を認め、これに対し SLNA 500mg を7日ごとに4回局注し、約 $\frac{1}{2}$ 程度に縮小したところで経尿道的に切除した。組織学的には Fig. 56 のごとく全く形態学的変化が見られない場所と、Fig. 57, 58 のごとく細胞全体が粗となり核消失傾向の著明な部位とを認めた。 β -G 染色による酵素活性は組織全体に弱い (Fig. 59)、組織学的に変化を認めなかった部位では Fig. 60 のごとく腫瘍組織の辺縁部を中心にかなり強い活性が認められ、組織変化の強い部位では Fig. 61 のごとく酵素活性はほとんど認められない。この症例も前症例と同じく SLNA の注入が均一でないために同じ腫瘍内で上記のごとき差が生じたものと考えられる。

症例の小括：SLNA を膀胱癌組織内に注入すると組織内 β -G 活性は著明に抑制される。 β -G 活性の抑制の強い部位では組織学的に腫瘍細胞の空胞化と細胞間の断裂、核消失の傾向を認めた。酵素活性の抑制は、米瀬が注入腫瘍組織中の β -G 値を生化学的測定により認めている結果と一致する。

VII 総括および考按

β -G は哺乳動物の肝、脾、腎などのほかあらゆる組織、体液に存在していることは諸家の報告により明らかにされている。そしていろいろの生理的状态ならびに病的状態においてこの酵素活性に消長がみられることも種々研究がなされてきたが、本酵素の臨床的意義についてはなお不明の点が多い。現在までに明らかなことは尿、胆汁中に排泄される β -d-glucuronide の

加水分解を触媒しているらしいこと、同時に glucuronide の合成にも関係しているらしいことが明らかになってきた。著者は上述の実験結果および諸家の報告に基づいて尿中 β -G、尿中 glucaric acid、癌組織中の β -G および β -G inhibitor として SLA, SLNA の投与について 2, 3 の考察を行なった。

A 膀胱癌患者の尿中 β -G について

まず尿中 β -G の由来については血清中の β -G が腎糸球体で濾過されて尿中に移行するもの、腎組織そのものより（おもに尿細管上皮より）分泌されるもの、および腎盂、尿管、膀胱粘膜上皮より分泌されるものの3つに大別される。第1の場合には血清中の β -G 値と尿中 β -G 値の間に相関関係が当然認められねばならない。Boyland ら (1955)¹⁹⁾ は両者の間に相関関係を認め、尿中 β -G は腎を通して血清中から蛋白とともに出てきたものであると報告している。今村 (1962)¹⁶⁾ はイヌを用いた実験で β -G を静脈注射により投与した場合に、尿中本酵素活性の上昇、下降は血清中の活性の上昇、下降とはほぼ平行関係を示すが、時間的には遅れると報告している。さらに Watt ら (1966)⁴⁸⁾ は子宮頸部癌に対して深部レントゲン治療、ラジウム治療により尿中 β -G 活性の上昇を認めた結果より、この尿中 β -G は組織より遊離したものが腎を経て尿中に出て来るのではないかと報告している。Lewis ら (1960)⁴⁹⁾ は膀胱癌患者尿中 β -G に関する研究の中で、対照群として選んだ尿路疾患とは全く関係のない骨折患者の尿中 β -G 値が骨折後10日頃を peak に著明に上昇することを報告している。これに対して Goldberg ら⁵⁰⁾ は血清 β -G と尿中 β -G の間に相関関係はないと報告し、米瀬¹⁷⁾ もまた両者の β -G はそれぞれ日内変動を示すが、必ずしも両者は平行せず、特に関係はないと報告している。第2に腎組織より能動的または受動的に分泌されるとする考えであるが、腎組織中には β -G 活性が脾、肝とともに高いことはよく知られている事実であり、腎における β -G の組織化学的研究は Campbell (1949)⁴³⁾、Burton ら (1952)³⁵⁾、Fishman ら (1956)³⁶⁾、Ruten-

burg ら (1958)⁵¹⁾, 園田 (1959)¹⁵⁾, 出口 (1930)⁵²⁾, 林ら (1964)³⁹⁾, 林 (1964)⁴⁰⁾, 鈴木 (1965)⁵³⁾ などによりラット, ヒトを対象として行なわれ, 諸家の一致した意見として近位尿管に強い活性分布を認めている. また腎の本酵素は androgen により特異的に上昇し, 同時に尿中の該酵素活性も腎酵素活性の上昇と平行的に上昇することが Fishman ら⁵⁴⁾ および米瀬により報告されている. これらのことは腎がなんらかの理由で障害された場合, または腎に刺激が加わった場合に腎組織中の β -G 活性が上昇し, 容易に尿中の β -G に移行する可能性を示している. 第3には尿路の粘膜上皮より分泌されるか, あるいは尿に接して存在する腫瘍の崩壊, 移行によるとする考えであるが, Haije ら (1962)⁵⁵⁾ の膀胱癌患者尿中 β -G の由来についての研究報告において, 膀胱癌患者と同様に膀胱粘膜になんらかの損傷があると尿中 β -G 活性は上昇することを報告し, Fripp (1965)⁵⁶⁾ はサルを用いた実験で尿管, 膀胱粘膜上皮の β -G 活性を組織化学的に証明し, 正常の尿中の β -G の一部はこれより由来し, また一部は腎尿管上皮に由来しているのではないかと結論している.

著者はまず (1) 尿管を中心にして腎に β -G 活性が強いこと (Fig. 62, 63), (2) 対照として用いた前立腺肥大症患者の膀胱粘膜上皮の β -G 活性が組織化学的にはほとんど陰性に近いこと (Fig. 7), (3) 米瀬の報告にあるように前立腺肥大症患者の尿管の β -G 値と膀胱尿 β -G 値がほとんど変わらないこと, (4) 膀胱炎患者尿よりも急性腎盂腎炎または腎疾患を有する患者の尿中 β -G 値が高いこと (Table 2), (5) Fishman ら, 米瀬の実験で腎の組織内 β -G 活性の上昇が尿中 β -G 活性の上昇と正の相関関係を有することなどよりして, 尿中 β -G 活性のほとんどのものは腎に由来するものと考えたい. しかし血清中の β -G および尿路粘膜の損傷なども尿中 β -G の由来として全く否定するものではないが, もしあってもわずかなものであると考える.

以上のことより膀胱癌患者尿中 β -G 活性の

上昇は, まず癌腫の存在の結果として考えるのが妥当であると思われる. このことは組織化学的に腫瘍組織の周辺部において β -G 活性が強く, この部が直接尿に接していることより, 膀胱癌患者尿中 β -G 値の日中変動においてみられるごとく (Fig. 2), 腫瘍と接触する時間の長い夜間部に β -G 値が上昇していること, そして米瀬の報告に見られるように腫瘍除去, または尿路変更により尿中 β -G 値が正常化することより裏づけされる. しかし Boyland ら¹⁸⁾ や Hradec ら²²⁾ のごとく腫瘍除去後も尿中 β -G 値は減少しないとして尿中 β -G 値の上昇は neoplasm とは関係ないという報告もある.

つぎに膀胱癌患者の尿中 β -G 値を測定することの臨床的意義について検討を加えてみた. 最初に診断的意義であるが, Table 3 に示したごとく膀胱癌患者のなかである者は尿中 β -G 値が正常範囲内にあることと, 急性腎盂腎炎および腎, 副腎疾患のあるものでは尿中 β -G 値の上昇を認める点に問題がある. 後者の点については東, 園田, 今村, 米瀬, Lewis ら, Boyland ら, Haije らなどの各種泌尿器科的疾患および他臓器疾患, 手術患者, 骨折患者などについての測定結果よりして, 尿中 β -G 値の上昇が膀胱癌に特異的な変化とはいいがたいので診断的にはあまり有意義とは考えられない.

つぎに膀胱癌の悪性度との関係についてみると, 東, 今村は悪性か良性かの判定に有意義であるとし, その理由として良性の乳頭腫の場合には尿中 β -G 値は正常範囲内であり, 乳頭腫で再発を繰り返しているうちに尿中 β -G の異常値を示してくるものは悪性化を起こしたものに見られるとしている. 著者は Broders の組織学的悪性度分類と尿中 β -G 値の関連を検討したが, 両者の間に特に関連があるとは認めがたかった. ただ G-3, G-4 のものは全例が著明な上昇を示しており, 膀胱癌を low grade, high grade のごとく2分して考えるなら悪性度の強いものほど尿中 β -G 値の上昇が強いといえるかもしれない. しかし同一悪性度のものの間にも相当大きなばらつきが認められることからして, 尿中 β -G 値の上昇は腫瘍の悪性度

に関連があるとするよりは、Haijeらの報告にあるごとく腫瘍の表面の状態によって左右されるものと考えたほうが妥当と思われる。すなわち彼らは同じ腫瘍群では非潰瘍性のものより、潰瘍性の腫瘍のほうが尿中 β -G 値が高いことを示している。膀胱癌においては高悪性度のものはしばしば表面が壊死におちいり、潰瘍化して炎症を合併しているものが多く、癌組織中では β -G 活性が高いからこれが容易に尿中に移行することを想定すれば、悪性度の高いものでは尿中 β -G 活性の著明な上昇をきたすものが多いといえるであろう。

つぎに膀胱癌患者の予後との関係についてみると、Fig. 4 および Table 4 に示したごとく予後不良の膀胱癌患者の尿中 β -G 活性は著明に上昇していることが認められる。尿中 β -G と予後との関係については、今村は生存年数の増加につれて尿中 β -G 活性が低値を示す例数の百分率が多くなる傾向を認め、例数が少ないので確かなことはいえないとしながらも膀胱癌の病勢の進行度および予後の判定に有意義であるとし、また Boyland らも尿中 β -G 値は診断的というよりも予後の判定に対して有意義だと述べている。以上より膀胱癌患者の尿中 β -G 活性の持続的かつ著明な上昇は病勢の強さを示し、予後不良を考えさせる資料のひとつである。また前述のごとく尿中 β -G 値の上昇が腫瘍存在の結果とすると、膀胱癌患者の治療効果のひとつの判定に有意義ではないかと考えられる。以上を要約すると膀胱癌患者の尿中 β -G 値測定の臨床的意義は病勢、予後、治療効果の判定に役だつところにあると考える。

最後に尿中 β -G と膀胱癌の発生との関係について考察を加える。Rehn (1895)⁵⁷⁾により aniline による膀胱癌の発生が報告されて以来、Hueper ら (1938)⁵⁸⁾、Jull (1951)⁵⁹⁾、Bonser ら (1952)⁶⁰⁾、Billicard-Duchesne (1947, 1959)^{61), 62)}、Melick ら (1955)⁶³⁾ により諸種の化学物質と発癌の問題が検討され、2-naphthylamine, benzidine, 4-aminobiphenyl などがこれに暴露された人の膀胱に癌を発生させる物質であることが認められた。さらに臨床的、基礎的研究に

より、これらの物質自体は直接の発癌性はなく、体内での代謝過程において発癌性を有する物質に変化することが判明し、この直接の発癌物質は ortho-aminophenol かまたは aryl-hydroxyl amine であることが解明された。そして1956年より1963年にかけて Boyland ら^{23~25, 64)} はこれらの代謝がおもに肝で行なわれ、肝で発癌物質はただちに glucuronic acid, sulfuric acid, phosphoric acid, glutathione などと結合して非活性化され、胆汁中や尿中に排泄され、尿中に排泄されたものは尿中の水解酵素により水解されて free の発癌物質となるという。それゆえに膀胱に発癌を起こすためには、代謝産物の排泄と同時に水解酵素が発癌物質の遊離に要するだけの時間は共存する必要がある。この場合尿中の発癌物質を遊離させることのできる水解酵素は aryl-sulfatase と β -G であり、ortho-aminophenol の sulfuric ester はヒト尿中の aryl sulfatase により水解されないことから、活動性を有する代謝産物はたぶん β -G により水解される glucosid uronic acids として存在するのではないかと報告した。このことより glucuronide の形で尿中に排泄された発癌性代謝物質が、尿中の β -G の存在により発癌物質として尿中に遊離されてくるといういわゆる Boyland の仮説が提起され、尿中 β -G と膀胱癌との関係を関連づけた。もちろんこれが発癌に関するすべてではなく、ほかにも tryptophan の中間代謝産物などが重要な内因性発癌物質として報告されている^{65, 66)}。Boyland の仮説よりすれば尿中 β -G は重要な意義を有しているが、現実にはこの尿中 β -G を抑制したとしても膀胱癌は発生または再発してくる事実があり、発癌の問題は非常に複雑な諸種の因子をもっているものと考えられる。

B 尿中グルコ糖酸について

1952年に Levvy が β -G を特異的に抑制する物質はグルコ糖酸-(1 $\rightarrow$ 4)-ラクトンであることを報告し、ついで Abul-Fadl (1957) がヒト尿中に非透折性の β -G 阻害物質の存在を明らかにし、しばらくして Marsh (1963) がヒト尿中の非透折性の β -G 阻害物質がグルコ糖

酸であることをつきとめてからはじめて尿中グルコ糖酸と β -G との関係が明確にされた。また1963年から1966年にかけて Marsh はグルクロン酸-グルコ糖酸経路の代謝過程について検討を行ない⁶⁷⁻⁶⁹⁾。酵素的定量法により正常人尿中グルコ糖酸の1日量は約10mgであると報告した。しかしながら Marsh の方法では非透折性の β -G 阻害物質の影響が無視できないとして、石館ら(1965)は陰イオン交換樹脂を用いるカラム・クロマトグラフィー法により生体試料中グルコ糖酸の精度の高い化学定量法を考案した。この方法によりかれらは正常人尿中のグルコ糖酸排泄量は1日約10数mgで、食物の質や栄養の状態に極端な変化がない限り著変がないと報告している。

膀胱癌患者尿中のグルコ糖酸値は高安ら(1967)、米瀬(1968)により大部分の症例が正常人より低値を示すことが報告され、この値は術前、術後ともにあまり変動しないし、また膀胱癌患者のグルクロノラクトンよりグルコ糖酸への変換率が低いことを認めた。同時にこのことは、Marsh ら^{70,71)}の報告にみるように担癌生体の肝における glucuronolactone dehydrogenase の活性低下と同様の意義が考えられると推論している。これに対して近藤ら⁷²⁾は男子脊損患者62例において検索した成績で、1日のグルコ糖酸排泄量はその62%に低値を示し、正常範囲のものはわずかに29%にすぎず、また SLA-glucaric acid 変換率が85%に低値を示すことから、尿中グルコ糖酸の低下は膀胱癌患者のみに認められる特異的な変化と考えられず、同時に転換率の低値も診断的意味をもたないと反論している。著者の尿中グルコ糖酸値の測定成績では、対照群10例において10mg/day以上を正常範囲とすれば腎疾患患者1例と正常人1例に低値を認め (Table 5)、膀胱癌患者群11例では1例を除きほか全例に低値を認めた (Table 6)。また Table 8 に示した症例において、1例を除いた残りの全例に SLA-glucaric acid 変換率18%以下と低値を認め、特に再発を繰り返す1例においては著明な低下を認めている。これらのことは Marsh のいうごとく、

担癌生体の肝における glucuronolactone dehydrogenase の活性低下と関係があるのかも知れない。著者の測定成績は膀胱癌患者の尿中 glucaric acid 値が正常人に比較して低値の傾向があり、同時に SLA-glucaric acid の変換率は低いという結果を得たが、このことが膀胱癌に全く特異的な現象でかつ膀胱癌の発癌に関連のある事実であるか否かは、他の種々な臓器の癌および疾患において検討を重ねたうえでなければ決定することは困難と考える。

C 膀胱癌組織中の β -G について

ヒトの悪性腫瘍における組織 β -G に関する研究は1947年 Fishman ら¹⁾によりなされ、かれらは乳房、胃、腸、子宮、卵巣、陰茎および肺の悪性腫瘍の組織中に β -G 活性が著明に上昇していることを生化学的ならびに組織化学的に認めている。Campbell (1949)⁴³⁾ は β -G の細胞内分布に関する研究で正常 mouse の腎、肝および mouse や chicken の腫瘍について組織化学的に検討を加え、悪性腫瘍の組織においてはおもに細胞分裂の盛んな anaplastic area に著明に認められ、細胞内の mitochondria に一致して存在すると報告している。その後 Fishman ら (1959)⁴⁵⁾ はヒトの小腸、S状腸、直腸、子宮、副腎、前立腺および胸腺などの悪性腫瘍について同様の組織化学的検索を行ない、腫瘍細胞の細胞質内にも β -G 活性が存在すること、および非腫瘍性の白血球、線維芽細胞、線維細胞などにも酵素活性を有すること、間質がこれら種々の酵素活性を有していることなどより組織を homogenate にして β -G 活性を生化学的に定量する場合に注意を払う必要があることを述べている。Monis ら (1956)⁴⁴⁾ は書簡の中でヒト悪性腫瘍の β -G について25例の上皮性悪性腫瘍は中等度より強度の活性上昇を認めたが、9例の間葉性の悪性腫瘍では大部分陰性であったと記述している。同じく Monis ら (1960)⁴⁶⁾ は100例のヒトの上皮性悪性腫瘍および21例の間葉性の悪性腫瘍に関する広範囲の組織化学的検索を行ない、悪性の上皮性腫瘍は全体的に著明な β -G 活性を有するが、間葉性の悪性腫瘍は β -G 活性がないか、あるいはあってもごくわずかであると報告している。

鈴木 (1965)^{53,73)} は組織の増殖と β -G の関係を検索する目的で、ラットの肝部分切除後の残存肝の再生途上において増殖の盛んな時期に β -G 酵素活性は低くなっていることを認め、酵素活性の上昇と細胞増殖とを単純に結びつけることはできないと論じているが、一方、吉田肉腫の腹水細胞において静止細胞の核に近接した部位にある本酵素活性が分裂時には azur rosette に認められ、分裂とともに娘細胞に分配される過程の観察から β -G は細胞分裂ないし組織増殖となんらかの関係を有するであろうとも推論している。そのほか泌尿器科領域における β -G の組織化学的研究は本邦では園田、米瀬により腎癌、膀胱癌、前立腺癌、陰茎癌などの悪性腫瘍についての報告をみる。

さて膀胱癌組織の β -G に関する組織化学的研究は1956年 Monis が書簡中で移行上皮癌の1例に強い活性を認めたと記述したのに始まり、1960年には浸潤性の乳頭状移行上皮癌において著明な β -G 活性の上昇を認めたと報告した。本邦では園田が膀胱癌患者の有茎性、乳頭状組織を用いた検索で、腫瘍の茎部は活性が粗であり乳頭状組織の尖端部に特に活性分布が著明であると述べ、ついで米瀬 (1963) は移行上皮膀胱癌で腫瘍組織全体にわたって不規則に散在する強度の本酵素活性を認めると報告している。

著者はこの実験において膀胱癌組織を対象に種々検索を試みた。まず現在まで用いられてきた Broders の分類による組織学的悪性度の段階と、 β -G 分布および酵素活性についての関係は Table 7 に示したごとくである。すなわち Broders の分類による G-1, G-2 の low grade においては染色された顆粒の状態はともに概して繊細で分布は粗であるのに対して、G-3, G-4 という high grade のものではそれぞれ粗大、密となる傾向を認め、特に G-4 のものに顕著で、これは腫瘍の悪性化の傾向の強い場合に特に著明に認められた。Fig. 39 に示した症例はこの1例で、6カ月後に再発して急に悪化し、全身転移をきたして10カ月後に死亡している。つぎに同一腫瘍内における β -G

の分布であるが、これは米瀬の指摘したごとく本酵素活性は必ずしも均一なものではなく、腫瘍によっては散在性に認められるものがある。このことは同一腫瘍の全層標本による組織検査でも、部位により細胞の状態がかなり異なって相当に差異のあるものが認められることより、現在膀胱癌の悪性度分類として用いられている Broders の分類のひとつの大きな欠点であるともいえることに一致する所見と考えられる。このことより著者は悪性度の分類決定に β -G の酵素組織化学的所見を加えることは意義を有すると考える。すなわち同一症例でも、とくに anaplastic cell type の強い部位では β -G 活性もまた他の部位より特に著明であり、このことは Boyland の報告と一致する所見であった。

つぎに本酵素の分布は乳頭状移行上皮癌組織では園田の指摘しているごとく乳頭状増殖の周辺部に活性分布が強いことがほとんど全例に認められたが、浸潤性腫瘍の場合には Monis が1960年に報告しているごとく組織全体に比較的均一に強い活性分布を認めた。このような増殖形態の異なった両者において腫瘍組織の基質の細胞の β -G 活性を比較してみると、前者の場合には白血球を主とする細胞に活性が強く認められ、粘膜下の β -G 活性は比較的少なく腫瘍組織に接して薄い層状を呈し、腫瘍組織と粘膜下組織とを境界づけているようである。後者の場合浸潤部位よりかなり広範囲に線維芽細胞、線維細胞、白血球などがかなりの β -G 活性の強さをもって筋層に向かって広がっているのが認められた。これらのことより基質の細胞の β -G 活性分布の差は、腫瘍の悪性度の強さにより多少趣を異にするように思われた。基質の浸潤細胞のこのような変化については、細田 (1961)⁷⁴⁾ が皮下組織球の変態に関する酵素組織化学的研究において、長期貪食形の組織球の β -G 活性は強く、また線維細胞のうちでも静止型のものより刺激型のもののほうがその β -G 活性が強いと報告している。この観察から著者の得られた結果を考察すると、浸潤型の膀胱癌のごとき場合には常に浸潤方向に向かって腫瘍組織のこれら基質に与える影響が強く、いいかえれば癌細

胞によるひとつの刺激として基質細胞中に β -G 活性の強いものが結果的に多く認められたのではないかと推定される。とすれば基質細胞の β -G 活性は癌の増殖形態、悪性度または進行度に密に関係し、これの活性の上昇は膀胱癌については悪い sign を示すものではないかと考えられる。また β -G 活性の細胞内分布については Fig. 37 に示すごとく細胞質内に認められ、前述の諸家の報告と一致するものである。癌組織および細胞中の β -G の意義については鈴木も述べているごとくいまだに解明されていないが、上記のことより少なくとも悪性度と染色顆粒の状態などから癌細胞の代謝に重大な関係を有し、核分裂や増殖に関与しているのではないかと想定されるが、この点は今後の検討にまたねばならないと考える。

D β -G inhibitor としての SLA および SLNA 投与について

β -G の生物学的意義は解明されていないが、Fishman によるといちおう本酵素が estrogen, androgen などの性ホルモンにより諸臓器内の活性を高めると同時に、分解酵素のみでなく glucuronide の生合成に関与しているといわれ、glucuronide を中心とする体内諸物質の合成を促進するための重要な酵素であるとされている。そして著者は β -G の組織化学的検索で癌細胞中の本酵素が分裂と増殖、細胞内代謝などになんらかの役割を演じているのではないかと推論を行ってきた。第1にはかかる立場に立ってこの酵素の特異的抑制作用を有する SLA および SLNA を経口的または組織内に直接的に投与することは、なんらかの形で癌細胞の異常代謝を阻害し、ひいては癌発育に対して少なくとも抑制的に作用するのではないかと考えて投与した。第2には Boyland の仮説のごとく尿中 β -G が発癌と関係を有するとするならば、これの抑制は癌発生または再発に対して予防的、抑制的に働くのではないかという期待で投与した。

まず再発の防止に関して尿中 β -G を抑制する試みは症例数、観察年数ともにじゅうぶんでないため結論には至らない。全体的には尿中

β -G はよく抑制され、症例によっては繰り返した再発の間に延長を認めたものもあったが、逆に尿中 β -G が抑制されながら再発を繰り返す症例もあって、発癌、再発の問題には種々の因子が関係しているように思われる。

つぎに癌組織中の β -G 抑制の問題に関しては、SLA 内服でも癌組織中の β -G 活性は確かに抑制されるが、組織学的にはあまり変化を認めなかった。米瀬は SLA 投与により組織学的に変化を認めない症例でも LDH-isozyme に変化を認めたと報告している。SLNA の腫瘍内直接注入により癌組織中の β -G は抑制され、実際に腫瘍の消失、縮小を認めた症例もあって、組織学的にも空腔性変化と核消失、細胞の断裂などを認めたが、これが SLNA の β -G 抑制による結果であるか、あるいは SLNA の腫瘍に対する直接効果であるかを断定することは困難である。したがって SLA 内服、あるいは SLNA の局所注入によって腫瘍組織の β -G の活性を抑制することの意味づけは、今後種々な方向から検討されるべき問題であると考えられる。

VIII 結 語

1 膀胱癌患者の尿中 β -G 活性は $520 \sim 3,067 \mu\text{g/hr/dl}$ で正常人の $250 \sim 688 \mu\text{g/hr/dl}$ に比較して全体的に高値を示すが、対照として用いた急性腎盂腎炎患者の尿中 β -G 値も $1,067 \sim 2,333 \mu\text{g/hr/dl}$ と高い値を示した。

2 尿中 β -G はおもに正常人の場合は腎に由来し、膀胱癌患者の場合には癌腫の存在の結果としてその活性が上昇すると考えるのが妥当と思われる。

3 膀胱癌患者の尿中 glucaric acid 値は $1.9 \sim 10.2 \text{mg/day}$ で、対照群の $2.3 \sim 21.0 \text{mg/day}$ よりも全体的に低値を示し、SLA-glucaric acid 変換率も1例を除き18%以下の低値であった。

4 末期膀胱癌患者の尿中 β -G 値は癌の進行度にはほぼ平行して持続的に高値を示し、尿中 β -G 測定は病勢、予後の判定に有意義である。

5 移行上皮性の膀胱癌組織中の β -G 活性分布はおもに乳頭状増殖の周辺部に強い活性が認められるが、必ずしも均一ではなく、特に腫

瘍細胞が anaplastic となると活性も強くなる傾向を認めた。

6 組織化学的に β -G 染色顆粒の状態は悪性度の上昇と関係があるようで、悪性度の強いものほど染色顆粒は粗大、密となる傾向を認めた。この点で Broders の分類とともに膀胱癌の悪性度の決定に有意義である。

7 腫瘍基質内細胞の β -G 活性は腫瘍の増殖形態により異なり、乳頭状増殖を示し浸潤傾向の少ない症例では基底部に薄く層状に、浸潤性増殖の強い症例では浸潤方向に比較的広範囲に活性が認められたが、基質細胞の β -G 活性の意義は判然としない。

8 SLA の経口投与により尿中 β -G は非再発群では全例 $400\mu\text{g/hr/dl}$ 以下に、再発群でもほぼ $650\mu\text{g/hr/dl}$ 以下と正常人活性値の範囲内に持続的に抑制され、癌組織内の β -G 活性もまた抑制される。しかし現時点で膀胱癌の再発防止の効果に関しては結論し得ないが、有効と認められた症例もある。

9 SLNA の腫瘍内局所注入により癌組織内の β -G 活性は抑制され、同時に組織に空胞性の変化を起こす。また注射後腫瘍の縮小、消失のみられた症例もあった。これらについては別に症例報告する予定である。

稿を終るにあたり終始ご指導、ご校閲を賜った恩師仁平寛己教授、加藤篤二前教授、本学第2病理学教室山田明教授に衷心より深甚の謝意を表するとともに、 β -G 組織化学的検索には中外製薬総合研究所秋葉朝一郎所長、鈴木成生研究員に、またグルコ糖酸の測定および SLA, SLNA の提供には東京生化学研究所石館守三所長、岡田正志副所長および研究所員のかたがたにご協力いただいたことを付記し謝意を表します。

本論文の要旨は1968年東京都における第56回日本泌尿器科学会総会において発表した。

なお本研究の費用の一部は文部省科学研究費および東京生化学研究所助成金の補助をうけたことを記し謝意を表します。

文 献

- 1) Fishman, W. H., Anlyan, A. J. and Gordon, E. : Cancer Res., 7 : 808, 1947.
- 2) Levvy, G. A., Kerr, L. M. H. and Camp-

- bell, J. G. : Biochem. J., 42 : 462, 1948.
- 3) Fishman, W. H., Markuo, R. L., Page, O. C., Pfeiffer, P. H. and Homburger, F. : Am. J. Med. Sci., 220 : 55, 1950.
- 4) Fishman, W. H., Kasdon, S. C. and Homburger, F. : J. A. M. A., 143 : 350, 1950.
- 5) Fishman, W. H., Smith, M., Thompson, D. B., Bonner, C. D., Kasdon, S. C. and Homburger, F. : J. Clin. Invest., 30 : 685, 1951.
- 6) Anlyan, A. J., Gamble, J. and Hoster, H. A. : Cancer, 3 : 116, 1950.
- 7) Anlyan, A. J. and Sherman, B. : Cancer Res., 12 : 244, 1952.
- 8) Anlyan, A. J. and Starr, A. : Cancer, 5 : 578, 1952.
- 9) 芝・木本・辻 : 日外会誌, 53 : 835, 1953.
- 10) 桜井 : 日外会誌, 54 : 1083, 1954.
- 11) 鍋島・山内 : 産婦の実際, 3 : 481, 1954.
- 12) 湯川・中川 : 日消会誌, 52 : 466, 1955.
- 13) 鮫島 : 皮と泌, 18 : 268, 1956.
- 14) 東 : 日泌尿会誌, 49 : 50, 1958.
- 15) 園田 : 日泌尿会誌, 50 : 163, 1959.
- 16) 今村 : 日泌尿会誌, 53 : 613, 1962.
- 17) 米瀬 : 日泌尿会誌, 54 : 211, 1963.
- 18) Boyland, E., Wallace, D. M. and Williams, D. C. : Brit. J. Urol., 27 : 11, 1955.
- 19) Boyland, E., Wallace, D. M. and Williams, D. C. : Brit. J. Cancer, 9 : 62, 1955.
- 20) Boyland, E. and Williams, D. C. : Biochem. J., 64 : 578, 1956.
- 21) Boyland, E., Gasson, J. E. and Williams, D. C. : Brit. J. Cancer, 11 : 120, 1957.
- 22) E. Hradec, R. Petřík and J. Pezlarová : J. Urol., 94 : 430, 1965.
- 23) Boyland, E. : Brit. Med. Bull., 14 : 153, 1958.
- 24) Boyland, E. et al. : Biochem. J., 76 : 388, 1960.
- 25) Boyland, E. : The Biochemistry of Bladder Cancer. p. 50, Charles C. Thomas Publ., Springfield, Illinois, 1963.
- 26) Levvy, G. A. : Biochem. J., 52 : 464, 1952.
- 27) Marsh, C. A. : Biochem. J., 86 : 77, 1963.
- 28) Abul-Fadl, M. A. M. : Biochem. J., 65 : 16, 1957.

- 29) 石館守三：新薬と臨床，**13**：853，1964.
- 30) Ishidate, M. Matsui, M. & Okada, M. :
Ann. Biochem., **11** : 176, 1965.
- 31) Boyland, E., Wallace, D. M. Avis, P. R.
D. and Kinder, C. H. : Brit. J. Urol., **36** :
563, 1964.
- 32) 高安久雄・米瀬泰行 中外医薬，**20**：48，
1967.
- 33) 米瀬泰行：日泌尿会誌，**59**：243，1968.
- 34) Friedenwald, J. S. and Becker, B. : J.
Cell. Comp. Physiol., **31** : 303, 1948.
- 35) Burton, J. F. and Pearse, A. G. E. : Brit.
J. Exp. Path., **33** : 87, 1952.
- 36) Fishman, W. H. and Baker, J. R. : J.
Histochem. & Cytochem., **4** : 570, 1956.
- 37) Seligman, A. M., Nachlass, M. M., Manke-
imer, L. H., Friedman, O. M. and Wolf,
G. : Ann. Surg., **130** : 333, 1949.
- 38) Seligman, A. M. and Tsou, K. C. : J.
Histochem. & Cytochem., **2** : 209, 1954.
- 39) Hayashi, M., Nakajima, Y. and Fishman,
W. H. : J. Histochem. & Cytochem., **12** :
293, 1964.
- 40) Hayashi, M. : J. Histochem. & Cytochem.,
12 : 659, 1964.
- 41) 鈴木成生ら：日薬誌，**60**：132，1964.
- 42) Fishman, W. H. & Anlyan, A. J. : Cancer
Res., **7** : 308, 1947.
- 43) Campbell, J. G. : Brit. J. Exper. Pathol.,
30 : 548, 1949.
- 44) Monis, B. and Rutenburg, A. M. : J. His-
tochem. & Cytochem., **4** : 498, 1956.
- 45) Fishman, W. H., Baker, J. R. and Borges,
P. R. F. : Cancer, **12** : 240, 1959.
- 46) Monis, B., Banks, B. M. & Rutenburg, A.
M. : Cancer, **13** : 386, 1960.
- 47) 森昌彦：腫瘍酵素組織化学，P.81，医学書院，
東京，1966.
- 48) Watts, C., MacVicar, J. & Goldberg, D.
M. : Brit. J. Cancer, **20** : 282, 1966.
- 49) Lewis, F. J. W. & Plaice, C. H. J. : Brit.
J. Cancer, **14** : 106, 1960.
- 50) Goldbarg, J. A., Pineda, E. P., Banks, B.
M. & Rutenburg, A. M. : Gastroenterol.,
36 : 193, 1959.
- 51) Rutenburg, A. M., Rutenburg, S. H., Mo-
nis, B., Teague, R. & Seligman, A. M. :
J. Histochem. & Cytochem., **6** : 122, 1958.
- 52) Deguchi, M. : Arch. Histol. Jap., **21** : 41,
1960.
- 53) Suzuki, S. : GANN, **56** : 461, 1965.
- 54) Fishman, W. H. & Farmelant, M. H. :
Endocrinol., **52** : 536, 1953.
- 55) Haije, W. G. & Van Der Werf-messing, B.
H. P. : Brit. J. Cancer, **16** : 570, 1962.
- 56) Fripp, P. J. : Brit. J. Cancer, **19** : 330,
1965.
- 57) Rehn, L. : Arch. Klin. Chir., **50** : 588,
1895.
- 58) Hueper, W. C. et al. : J. Industr. Hyg.,
20 : 46, 1938.
- 59) Jull, J. W. : Brit. J. Cancer, **5** : 328, 1951.
- 60) Bonser, G. M., Clayson, D. B., Jull, J. W.
and Pyrah, L. N. : Brit. J. Cancer, **6** :
412, 1952.
- 61) Billicard-Duchesene, J. L. : J. Urol. Med.
Chir., **5** : 401, 1947.
- 62) Billicard-Duchesene, J. L. : J. Urol. Med.
Chir., **65** : 746, 1959.
- 63) Melick, W. F., Escue, H. M., Naryka, J.
J., Mezera, R. A. & Wheeler, E. P. : J.
Urol., **74** : 760, 1955.
- 64) Boyland, E. et al. : Biochem. J., **76** : 388,
1960.
- 65) Price, J. M., Wear, J. B., Brown, R. R.,
Satter, E. J. and Olson, C. : J. Urol., **83** :
376, 1960.
- 66) Benassi, C. A. et al. : Clin. Chim. Acta.,
8 : 822, 1963.
- 67) Marsh, C. A. : Biochem. J., **87** : 82, 1963.
- 68) Marsh, C. A. : Biochem. J., **89** : 108, 1963.
- 69) Marsh, C. A. : Biochem. J., **99** : 22, 1966.
- 70) Marsh, C. A. et al. : Nature, **197** : 1298,
1963.
- 71) Marsh, C. A. et al. : Clin. Sci., **28** : 209,
1965.
- 72) 近藤賢ら：泌尿紀要，**14**：215，1968.
- 73) 鈴木成生：動物学雑誌，**74**：258，1956.
- 74) 細田峻：日病会誌，**50**：23，1956.

(1969年1月6日特別掲載受付)