

Title	原発性肝癌患者に出現するアルカリホスファターゼアイソザイム, 特に笠原アイソザイムに関する研究
Author(s)	工藤, 俊次郎
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32521">https://hdl.handle.net/11094/32521</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	工藤俊次郎
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4818 号
学位授与の日付	昭和 55 年 2 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	原発性肝癌患者に出現するアルカリホスファターゼアイソザイム, 特に笠原アイソザイムに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 北村 旦 教授 浜岡 利之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

正常ヒトに見られるアルカリホスファターゼ (AP) アイソザイムとしては, 大別して胎盤型, 肝型, 腸型の三種類が知られている。一方癌患者 (肝癌を除く) では Regan isoenzyme, Nagao isoenzyme などの胎盤型 AP が出現することが知られている。

我々の教室では, 原発性肝癌患者の血清中にポリアクリルアミドゲル電気泳動による易動度が特異な AP を見出し, その血清より本酵素を精製し酵素学的, 免疫学的性質をしらべ, 胎盤 AP や肝 AP とは異なる性質をもつ AP であることを報告してきた。

著者は本酵素と既知の AP を比較し, 本酵素が特異な性質をもつことを明らかにするとともに, 本酵素が肝癌組織で産生される均一な分子種であることを明らかにしようとした。なお我々は, 本酵素を患者名に因み笠原アイソザイム (KI) と呼ぶことを提唱した。

#### 〔方法および成績〕

原発性肝癌患者の材料は, 剖検または手術により得た。正常肝及び腸は, 死後 8 時間以内に提供を受け, 胎盤は正常分娩 (40 週) 時のものを用いた。血清ならびに各組織の AP は, Morton 変法により n-butanol で抽出し, acetone 分画または ethanol 分画後, DEAE-cellulose column chromatography 及び Sephadex G-200 ゲル濾過により部分精製し, 電気泳動上一本の活性帯を示すことを確認した。AP 活性の測定は, phenyl phosphate を基質として行なった。ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動は, 荻田らの変法を用いた。その活性染色には  $\alpha$ -naphthyl phosphate と Fast Blue BB を用いた。AP の抗体は部分精製した AP を家兎に免疫して産生せしめ, 各 AP の抗原性は Ouchterlony の二

重拡散法を用いて検討した。

- (1) 原発性肝癌患者の一例の血清中に見出したKIと同じ易動度をもつAPが、他の肝癌患者の血清及び肝癌組織中にも存在することを電気泳動的に明らかにした。
- (2) この電氣的易動度がKIと一致するAPが同一酵素か否かを検討するために、血清及び肝癌組織よりそれぞれ部分精製し、酵素学的、免疫学的性質を比較した。同時にKIの特性を明確にするために、三大別される胎盤AP、肝AP、腸AP（成人及び胎児腸AP）とも比較した。

その結果、

- Ⓐ 肝癌患者の血清中のKIと肝癌組織中のKIとは各種アミノ酸、EDTA、尿素、無機リンなどによる酵素活性の阻害度、耐熱性、至適pH、Km値、neuraminidase処理後の電氣的易動度に及ぼす影響及び抗原性などで差異を認めなかった。
  - Ⓑ KIは成人及び胎児腸APとは、各種アミノ酸、EDTA、尿素、無機リンなどによる阻害度、至適pH、Km値、抗原性などが一致したが、耐熱性、電氣的易動度、neuraminidase処理後の電氣的易動度に及ぼす影響などの点で異なった。
  - Ⓒ KIは胎盤APとは部分的に共通な酵素学的性質を示したが、電氣的易動度、L-leucineと無機リンによる阻害度、耐熱性、Km値に於ては差を認めた。また胎盤APと一部共通の抗原性を示した。
  - Ⓓ KIと肝APとは酵素学的、免疫学的性質が明らかに異なった。以上の結果から、KIは腸型APの範疇に属するが、特異な酵素であると思われた。
- (3) 血清中のKIの起源を知るために、肝癌の中心部、肝癌の末梢部、肉眼的に正常と思われる周辺部よりそれぞれAPを抽出し、総活性を測定するとともにポリアクリルアミドゲル電気泳動後活性染色し、デンストメーターによりKIの単位組織当りの活性の占める割合を比較した。その結果、KIが肝癌組織に多く存在するが、非癌部肝組織に少ないことから肝癌組織で産生されていることが強く示唆された。
  - (4) KIが肝癌患者に出現する頻度について我々が検討し得た例数は約50例で、そのうち約60%を剖検し得た。KIの有無は電気泳動により判定した。その結果、原発性肝癌患者の血清中には47例中5例（約11%）にKIが陽性であった。一方肝癌組織には28例中10例（約36%）に陽性であった。
  - (5) AFPが肝癌の70~80%に陽性であるのに比べ、KIは肝癌組織中でも約36%と低かった。しかしAFP陰性の肝癌例にもKI陽性例が見られたことは、KIが原発性肝癌の診断に役立つことを示唆している。KI検出の精度を上げるために、将来radioimmunoassay法などの鋭敏な方法が必要と思われる。

〔総括〕

- ① 原発性肝癌患者には、血清や肝癌組織中にKIの見出される症例がある。そして血清及び癌組織由来のKIが均一であることや癌組織に局在することより、この酵素は人工産物ではなく肝癌組織で産生される酵素である。
- ② KIは酵素学的、免疫学的に腸APと最も類似し胎盤APや肝APと多くの点で異なるので、腸

型APに属する酵素であると思われた。

③ KIは肝癌の診断に用い得る酵素であると思われた。

### 論文の審査結果の要旨

アルカリホスファターゼは、臨床診断に広く用いられ、Reganアイソザイムは、癌診断の一つのマーカーになっている。著者は肝癌にはReganが出現せず、代って均一な笠原アイソザイムが出現することや、 $\alpha$ -フェトプロテイン陰性例にも出現することを見出し、この酵素が癌組織で産生されること、そして部分精製標品について腸型アイソザイムと共通の性質をもつことを明らかにした。さらにまた笠原アイソザイムが、糖鎖異常のある可能性を指摘した。かかる知見は、肝癌の診断ならびに臨床酵素学の発展に貢献すること大なるものと認める。