OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒト腎癌のhexosaminidase isozyme patternについて
Author(s)	清家, 廣政
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32689
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【1】

氏名・(本籍)	清家廣政
学位の種類	医学博士
学位記番号	第5158号
学位授与の日付	昭和56年2月24日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ヒト腎癌のhexosaminidase isozyme patternについて
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 田中 武彦 教授 和田 博

論文内容の要旨

〔目 的〕

癌における代謝異常を酵素の分子変化としてとらえようと多くの研究がなされてきた。そして癌組織では実質細胞の分化とともに出現してきたisozme活性が消失または低下をきたし，もとの正常組織では存在しないか，あるいはごく微量に存在するisozme活性が出現ないしは増加することが明らかにされている。このような癌組織にみられる偏倚酵素を，血清などの体液を用いて検出し，癌の補助診断に応用しようと努力がなされている。

本研究では，ヒト腎癌の多糖体分解酵素のhexosaminidase（以下Hex)について，診断への応用を究極の目的に，正常腎組織，胎盤さらに培養腎癌細胞の酵素と比較し，その偏倚を研究した。

〔方法ならびに成績〕

各組織を0.1％Triton X-100を含む25mM phosphate buffer(pH 6.0)でホモジナイズし,その遠沈上清を以下の実験に用いた。

Hex活性は，p-nitrophenyl-β-2-acetamido-2-deoxy-D-glucosideを基質とし，酵素反応により生じたp-nitrophenolの吸光度を，410nmで測定した。各組織のHex活性値をmean±S. D. で表わすと，正常腎8例では10.5±1.6units/mg protein，腎癌組織12例では18.0±7.3units/mg protein，胎盤3例では9.4±1.8units/mg proteinであり，また，duplicateに培養した腎癌細胞株(OUR-10)ではともに40.4units/mg proteinであった。

Hex isozymeの分離は，Cellogel電気泳動またはDEAE-cellulose column chromatographyを用いて行った。Hex isozmeは，成人のほとんどすべての正常組織では，Hex Aの活性が，Hex B

に比して優位であると報告されている。Cellogel 電気泳動によってHex isozymeは，使用したいずれの組織でも主要な二つのband（陽極側からHex AとHex B）に分けられ，正常腎では明らかにHex AがHex Bよりも強い活性を示すが，腎癌，胎盤，培養腎癌細胞では，Hex B が主に増加するかあるいはHex Aが軽度減少するかして，Hex A/Hex Bが正常腎より低下傾向を示した。そこで組織中のHex A，Hex Bを定量的に知るため，前記chromatographyにより，25mM phosphate buffer(pH 6.0)中に食塩濃度を0および0.2Mのstepwise elutionで各組織のHex B と Hex Aをそれぞれ溶出，分離した。Hex AおよびHex B活性は，正常腎では660.7±132.6units/g wet tissueと192.5±42.4，一方腎癌では497.8±246.7と391.5±285.3であり，なお胎盤では194.6±10.8と197.6±43.6であった。すなわち，腎癌では正常腎に比してHex B活性の増加がみられた($p<0.05$)。また，Hex A活性については腎癌と正常腎では，統計的に有意差はみられなかった。Hex A/Hex Bをとると正常賢では3.49±0.64，腎癌では1.49±0.64，胎盤では1.01±0.19であり，また培養腎癌細胞では1.04であった。すなわち，腎癌では正常腎に比して，Hex A/Hex Bは低値を示し，胎盤のそれと類似の方向を示した。

そこで，正常腎と腎癌の両組織のHex AとHex Bについて酵素学的性質を比較検討した。まず至適pHは，Hex Aでは両組織ともにpH 4.0から4.7であり，Hex Bでは両組織ともにpH 4.0から4.5であった。次に58℃における耐熱性を調べると，両組織ともHex B活性が，Hex A活性より耐熱性を示したが，両組織のHex A間またはHex B間では差がなかった。二つの人工基質(*p*-nitrophenyl-β-2-acetamido-2-deoxy-D-glucosideおよび*p*-nitrophenyl-β-2-acetamido-2-deoxy-D-galactoside)のうち，前者に対するKm値は，正常腎のHex Aが0.65mM，Hex Bが0.50mMで，腎癌のHex Aが0.68mM，Hex Bが0.53mMで，このように両組織とも，Hex AとHex Bの間には差があったが，両組織のHex A間またはHex B間では差がなかった。また後者の基質に対するKm値は，両組織の両isozymeともに同一で，したがってHex AとHex Bの間にも差がなかった。

〔総　括〕

腎癌組織のHex活性は，正常腎に比して変動巾が大きく一定の傾向はみられなかったがisozymeでみるとHex A活性はあまり変わらず，Hex B活性は増加していた。Hex A/Hex Bでみると，腎癌と正常腎の差は著明で12例のすべての腎癌が，正常腎に比して低値を示した。また腎癌におけるこの比は，胎盤のそれときわめて類似した。しかし検討したいくつかの酵素学的性質においては腎癌におけるHex AとHex Bは，正常腎におけるおのおのと区別できなかった。それゆえ腎癌では，Hexの主要な二つのisozymeは質的には変わらず，量的patternに変化があり，この変化は正常腎とは異なり，胎盤のような増殖の速い組織に似ていると思われた。

論文の審査結果の要旨

著者はヒト腎癌組織のhexosaminidase isozymeについて研究し，腎癌12例では正常腎同様主たる

AおよびB isozymeのみからなり異常酵素の出現しないことを認めた。さらに腎癌では正常腎に比し主にB活性が増加し，A活性は軽度低下し，従ってA/Bが全例において低下することを明らかにした。また培養細胞（腎癌）や胎盤でも類似の所見を認めた。かかる知見は体液による腎癌診断への応用に貢献するものと評価する。