



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32689">https://hdl.handle.net/11094/32689</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">大阪大学の博士論文について</a>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

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 isozyme 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 isozyme 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- $\beta$ -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  $\pm$  S. D. で表わすと、正常腎 8 例では  $10.5 \pm 1.6$  units/mg protein、腎癌組織 12 例では  $18.0 \pm 7.3$  units/mg protein、胎盤 3 例では  $9.4 \pm 1.8$  units/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 40.4 units/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 isozyme 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 が軽度減少するとして、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  $660.7 \pm 132.6$  units/g wet tissue と  $192.5 \pm 42.4$ 、一方腎癌では  $497.8 \pm 246.7$  と  $391.5 \pm 285.3$  であり、なお胎盤では  $194.6 \pm 10.8$  と  $197.6 \pm 43.6$  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 をとると正常腎では  $3.49 \pm 0.64$ 、腎癌では  $1.49 \pm 0.64$ 、胎盤では  $1.01 \pm 0.19$  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°C 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- $\beta$ -2-acetamido-2-deoxy-D-glucoside および *p*-nitrophenyl- $\beta$ -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  $0.65$  mM, Hex B が  $0.50$  mM で、腎癌の Hex A が  $0.68$  mM, Hex B が  $0.53$  mM 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。