

氏名(本籍)	ねもと しんいち (茨城県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	博乙第252号
学位授与年月日	昭和60年6月30日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	膀胱癌浸潤因子に関する研究 ——膀胱癌のエラスターゼ様酵素活性について——
主査	筑波大学教授 医学博士 杉田良樹
副査	筑波大学教授 医学博士 岩崎寛和
副査	筑波大学教授 医学博士 中村恭一
副査	筑波大学教授 医学博士 眞崎知生
副査	筑波大学助教授 医学博士 福富久之

## 論文の要旨

表在性膀胱癌は膀胱を温存する経尿道的膀胱腫瘍切除術によって治療されるが、再発しやすく一部は再発をくりかえす間に浸潤癌に移行する。深部浸潤癌の予後は表在性膀胱癌に比して著しく悪いため、浸潤癌に移行する可能性のある表在性膀胱癌に対しては膀胱全摘術などの根治的治療を加える必要がある。しかし浸潤能を示す明確な指標に関しては現在検索中といえよう。

一方、癌細胞は蛋白分解酵素を放出して正常間質を破壊しつつ深部に浸潤するとされ、コラゲナーゼに関しては浸潤能の指標となる可能性について言及されている。そこで膀胱に豊富に存在する弾性線維の主成分であるエラスチンに着目し、膀胱癌の浸潤に際しエラスチンを分解する酵素であるエラスターゼの活性が上昇しているか否かを検討した。

### (1) 研究方法

エラスターゼの測定には合成基質succinyl trialanine paranitroanilide (Suc-Ala<sub>3</sub>-NA)を用いた。エラスターゼはSuc-Ala<sub>3</sub>-NAをSuc-Ala<sub>3</sub>とNAに分解するが、endopeptidaseもAla-NA, Ala<sub>2</sub>-NAを産生し、これらよりleucine aminopeptidaseによってNAが分解放出される。

そこで、leucine aminopeptidaseの阻害剤であるamastatinを反応系に加えた条件下でNAの産生を測定しエラスターゼ活性とした。

1983年6月より12月に至る7か月間に筑波大学附属病院に入院した膀胱移行上皮癌患者20例

を対象とした。また対照として正常膀胱粘膜 17 例を採取した。

Suc-Ala<sub>3</sub>-NAの濃度が 2 mMとなる様に50mMのTris-HCl buffer, pH7.4 (100mM CaCl<sub>2</sub>を含む)にて溶解し,これを基質液とした。試料 10~20 mgにその 50 倍量の上記bufferを添加してホモジェネートした後1100G, 5 分間, 4 °Cの条件下で遠沈し,その上清を酵素液とした。amastatinも上記bufferにて溶解した。酵素反応は,ホモジェネート上清 70 μ l, 2 mM Suc-Ala<sub>3</sub>-NA70μ l, 0.3mM amastatin70μ l を混和後 37°C, 1 時間incubationした。60%trichloroacetic acid 20μ l にて反応を停止し,1100G 5 分間遠沈後上清 50 μ l を高速液体クロマトグラフィー系を用いて分析した。

endopeptidaseによって産生されたAla-NA, Ala<sub>2</sub>-NAは325nm, エラスターゼによるNAは 387.5nmの吸光度により測定した。ホモジェネート上清内蛋白濃度をLowry法により測定し,上清内蛋白 1 mgあたり 1 時間に分解されたAla-NA, Ala<sub>2</sub>-NA, NAの量 (nmol/mg of protein/hr) によって各分解活性を表わした。

## (2) 研究成績

膀胱癌組織(20 例)のAla-NA, Ala<sub>2</sub>-NA, およびNA産生活性は 19± 4 (Mean±SE), 20± 5, 83±18 であり,正常膀胱粘膜 (17 例) の 7± 1, 6± 1, 11± 2 に比してすべての産生活性において有意に高値を示した。また膀胱癌を深達度によってT1以下(8 例)とT2以上(12 例)の 2 群に分けSuc-Ala<sub>3</sub>-NA分解活性を比較すると,T2以上群の産生活性は 99±23 でありT1以下群の 59±24 に比し有意に高値を示した。

Ala-NA, Ala<sub>2</sub>-NA各産生活性には有意差を認めなかった。

## (3) 考 察

以上より,膀胱癌組織のNA産生活性が正常膀胱粘膜よりも有意に高く,また膀胱癌のうちでも浸潤癌に有意に高値を示す事が明らかとなったが,これはNA産生活性が膀胱癌の浸潤能を示す生化学的指標として有用である事を示唆しているものと思われる。ただ組織ホモジェネート上清の様に多くの酵素が混在している測定条件下では酵素の同定には慎重でなければならないため,NA産生活性をエラスターゼ様酵素活性と称した。

## 審 査 の 要 旨

表在性膀胱癌の治療は,浸潤癌に移行する可能性が大きいかどうかにより非常に異なるので,これを判別するために浸潤能を示すよい指標が望まれているが,現在まで適当なものは見出されていない。著者はこの指標の一つとして,膀胱に多量に存在する弾性線維に着目し,この主成分であるエラスチンを分解するエラスターゼ活性を用いることを検討した。実験系においてエラスターゼに似た活性を呈する他のペプチダーゼ活性は阻害剤で抑えてエラスターゼ活性を測定した。その結果,正常膀胱粘膜に比し癌組織は約 7 倍の活性を示し,また深達度の大きい癌は小さなものに比べ

て有意に高値を示した。

本研究はエステラーゼ活性が膀胱癌の浸潤能を示す生化学的指標として臨床的に有用であることを示し、高い評価が与えられる。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。