



Clinical significance of acidic pI isoenzyme of ribonuclease in human serum

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 飛鋪, 修二 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1302

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 25号	学位授与年月日	昭和62年 3月18日
氏 名	飛 鋪 修 二		
論文題目	<p>Clinical significance of acidic pI isoenzyme of ribonuclease in human serum (ヒト血清におけるリボヌクレアーゼの acidic pI isoenzyme の臨床的意義)</p>		

Clinical significance of acidic pI isoenzyme of ribonuclease in human serum

(ヒト血清におけるリボヌクレアーゼの acidic pI isoenzyme の臨床的意義)

論文の内容の要旨

血清リボヌクレアーゼ(RNase)と膵RNaseの酵素学的類似性に基づき、血清RNaseの起源は膵組織であることが推定されていた。他方、多くの臨床研究において膵癌患者そして悪性腫瘍・腎不全などの血清においてRNase活性が高値であることが報告されている。本研究では血清および組織RNaseの等電点電気泳動による多様性・等電点 isoenzyme の性質・由来臓器そして臨床的意義に関して検討した。

〔材料および方法〕

血清の試料は健康人および各種消化器疾患患者の静脈血より得た。組織の試料は手術標本(臓器)の一部および臨床的に妊娠中絶を余儀なくされたヒト胎児臓器より得た。これらはホモゲナイズし100,000×g、1時間超遠心分離し、その上清を試料に供した。純粋膵液は膵十二指腸切除症例の膵管内に留置された外瘻チューブより得た。

RNase活性の測定は、0.1 ml poly C(0.1 mg/ml)・0.3 ml phosphate borate buffer (0.1 mol/l, pH 6.5)・0.1 ml 試料を含む反応系にて、37℃・15分間インキュベートし、硝酸ランタン(20 mmol/l)を含む0.5 mlの12% perchloric acidを加え反応停止後、遠心上清を278 nmの波長で測光した。

RNase isoenzymeの分離は、LKB 8100-1 アンフォライン等電点泳動カラムを用い等電点電気泳動法により行った。泳動は4℃にて24時間行い、各分画の酵素活性とpHを測定した。

〔結果〕

健康人血清RNase活性の平均値および膵癌・胆道癌・肝癌・消化管癌(胃癌・大腸癌)・肝硬変・胆石症の患者の平均値は次のとおりである。17.6、34.5、32.8、32.5、29.3、32.3、24.0 units/ml。健康人血清に比べ、すべての群の血清RNase活性は有意に高い。特に健康人血清平均値+2SDをcut off値として設定した場合、膵癌・胆道癌・肝癌を予測するこの測定法の感受性は非常に高い。しかしすべての群においてその特異性は比較的低い。

手術標本から得られた各組織(膵・肝・脾・リンパ節)および胎児組織のRNase活性を測定した。正常膵と純粋膵液でRNase活性は非常に高い。対照的に膵癌組織のRNase活性は低く、胎児膵組織においても正常膵(成人)に比し著しい低値を示した。

等電点電気泳動法によって3つのpI isoenzymeが分画され、それぞれbasic(pI9.6)、neutral(pI6.3)、acidic(pI4.6)と分類された。basicおよびneutral isoenzymeは健康人血清・正常膵組織で優位な分画として検出された。対照的に膵癌・肝癌患者血清でacidic isoenzymeがわずかにあるが検出された。興味深いことに、このacidic isoenzymeは、膵癌組織・肝癌組織・胎児組織(膵・肝)に優位な分画として検出された。この事実はacidic pI isoenzymeが癌胎児性蛋白であることを示唆した。

〔結論〕

総RNase活性は各種癌などで上昇するが特異性は低く、腫瘍マーカーとしては問題がある。一方等電点電気泳動法を用い、ヒトRNaseには3つのpI isoenzymeの存在が示された。acidic pI isoenzymeは膵癌組織・肝癌組織・胎児組織(膵・肝)、そして膵癌・肝癌患者血清に検出された。この結果はacidic pI isoenzymeが癌胎児性蛋白であることを示唆し、この isoenzyme の検出が膵癌・肝癌の生化学的診断に有用であることを示した。

論文審査の結果の要旨

臨床では人体に癌の発生した時点で、血清または尿中に当該癌に特有な物質（腫瘍マーカーという）が検出されることが、癌の早期発見に有用なことは言うまでもないことであり、近年このものの存在が懸命に検索されているが、いまだ決定的なものは僅かしかない。

申請者はこの点に着目し脾癌でのそれを見出さんとして次の実験を行った。

材料として、脾癌ほか主として肝・胆道・消化管の癌と肝硬変及び胆石症の患者計121例の血清、また腹部領域の外科的切除標本計41例の組織を用いた。更に胎児組織（4胎児・26臓器）についても検索した。組織はその抽出物を試料とした。その他、健常人15例の血清、また脾頭十二指腸切除後の残存脾に留置した脾管外瘻チューブより得た純粋脾液を用いた。

検索法は、紫外吸収による血清及び組織中の ribonuclease (RNase) 活性値測定、等電点電気泳動法による RNase isoenzyme の分画を用いた。

その結果、血清 RNase の平均値は脾・胆道・肝癌、胃癌及び大腸癌と肝硬変、胆石症例では、健常人のそれに比し有意に高く、特異性は低いが、脾癌・胆道癌・胆癌の陽性率はそれぞれ 88.2、90.2、83.3 % と高かった。

組織及び脾液での RNase の比較では、正常脾組織及び脾液では異常に高いが、正常肝組織では低値を示した。一方脾癌・肝癌及び胎児組織（腎を除く）では低値を示した。

等電点電気泳動法では、ヒト RNase は 3 つの分画 (basic, neutral, acidic) として検出され、脾癌・肝癌及び胎児組織では、acidic pI isoenzyme が優位な分画として検出された。

即ち、以上のことから RNase 活性は、各種癌などで上昇するが特異性は少ない一方、等電点電気泳動法によりヒト RNase の 3 つの分画のうち acidic pI isoenzyme が脾癌、肝癌、胎児組織と脾癌、肝癌患者血清で検出された。

この結果、この isoenzyme の検出が脾癌、肝癌の生化学的診断に有用であることを示した。又、この acidic pI isoenzyme が癌胎児性蛋白であることを示唆した。

（本論文の評価）

RNase をヒト血清及び各種組織で比較検討した研究は少なくないが、脾癌を中心とした多数の手術材料からその特性を把握せんとした努力は評価される。

更に、本法の如き等電点電気泳動法により RNase を幾つかの分画に分類し、各分画特に acidic pI isoenzyme の特徴を示した点は例を見ない。

この結果少なくとも脾癌、肝癌の診断に腫瘍マーカーとして将来利用しうる可能性を示唆した。

今後の問題点として次のような点が指摘され討論された。

- 1) 外科治療により癌組織が除去された後の follow up はなされているのか。
- 2) 癌の発生部位によっては本物質の検出が必ずしも容易ではないのではないのか。
- 3) 肝と脾の癌の鑑別は不可能であるのか。
- 4) 肝癌に特異とされる α -fetoprotein との関係はどうか。
- 5) 腹部以外の臓器癌（例：肺癌）との比較はなされているのか。
- 6) 電気泳動の条件はどうか。
- 7) 今後臨床応用として用いる場合、どのような改良がなされれば良いか。

これらの質疑に対して申請者から概ね納得の出来る回答が得られ、今後解決すべき諸問題等研究の方向性が示された。

以上の審査の結果、本論文は学位授与に値する十分な内容を備えているものと委員会全員で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉村敬三		
	副査	教授	高田明和	副査	教授
					神田洋三
	副査	助教授	馬場正三	副査	助教授
					金子栄蔵