

# 前立腺癌および肥大症のホルモン依存性に ついての酵素学的研究

東京医科歯科大学医学部泌尿器科教室 竹内 弘 幸  
(主任: 落合京一郎教授)

## ENZYMOLOGICAL STUDY ON THE HORMONE-DEPENDENCY OF THE PROSTATIC CANCER AND PROSTATIC HYPERTROPHY

Hiroyuki Takeuchi

Department of Urology (Director: Prof. K. Ochiai),  
Tokyo Medical and Dental University, Tokyo

It is already known the structure and the functions of the prostate are controled by androgens. Also the growth of prostatic cancer, which is characterized by their automatic growth, depends on androgens like the normal prostate, and, on the utilization of this biological character, hormone therapy of prostatic cancer, that is to say anti-androgenic therapy, has been developed. Some pathological and biochemical results supporting effectiveness of the hormone treatment are seen in literature. But it is rather hard to find any literature in which the hormone-dependency of prostatic cancer is investigated on the cancerous tissue itself by biochemically quantitative way.

The first purpose of author's investigation is to pursue the problem of the hormone-dependency of prostatic cancer quantitatively by measuring some enzymatic activities contained in the cancerous tissue.

On the other hand, benign prostatic hypertrophy and prostatic cancer strikingly contrast each other in many points. One of the most noticeable differences in clinical findings of both diseases is the fact that the growth of prostatic cancer can be controled with hormone treatment, whereas in prostatic hypertrophy the hormone-dependency in the same significance is scarcely demonstrated. The second purpose of this investigation is to compare these differences biochemically and enzymologically.

### Methods

Acid phosphatase and protease which are belived to be characteristic of the prostate were chosen as the indicators of this investigation. These enzymatic activities in prostatic tissue were measured, and then, their rise and fall after hormonal treatment were pursued in this present study.

The estimation of these enzymes was done with fresh specimens obtained actually at operation. Patients from whom prostatic tissue was removed consist of 39 cases of prostatic adenoma, 20 cases of postatic cancer and 4 cases of normal prostate. Among them, in 22 cases of prostatic hypertrophy and 11 cases of prostatic cancer a synthetic estrogen (hexestrol) was administered or orchietomy was performed before removal of the prostatic tumor. After the removed prostatic tissue was homogenized, the extract with physiologic saline solution was prepared, was diluted 1:50,000, and each enzyme was estimated per gram fresh tissue.

Acid phosphatase was determined by the metod of Hudson. The activity was expressed by the amount of p-nitrophenol liberated from p-nitrophenylphosphate by enzymatic reaction of the tissue extract. Protease was determined by the casein-Folin method described by Hagiwara. The activity was expressed by the amount of the portion that remained dissolvable when protein-precipitant was added to the products liberated from casein by the tissue extract.

### Results

The results of the study are summarized as follows.

(1) Normal prostatic tissue contained almost the same amount of acid phosphatase per gram fresh tissue.

(2) The adenomatous tissue generally contained apparently much more acid phosphatase than the normal tissue. Individually, however, slight differences were recognized, and the were considered to be related to histological appearance. Those that had well developed grandular structure contained more acid phosphatase than less developed. The more portion was occupied by the

interstitial tissue, the less amount of acid phosphatase was contained. The amount of acid phosphatase contained in the adenomatous tissue hardly decreased in so far as the treatment with 300 mg. of hexestrol, and histomorphologic changes were also not recognized.

(3) The cancerous tissue showed significant difference of the enzyme amount whether histologically well differentiated or less differentiated, and contained mostly as much acid phosphatase as the adenomatous tissue; both tissues showed higher level than the normal tissue. The cancerous tissue after hexestrol administration or orchiectomy showed a remarkable decrease of the acid phosphatase content, and the significant inhibition of the enzyme production in the prostatic cancer was confirmed after the administration of hexestrol above 100 mg. Histologic changes caused by estrogen were found in some cases, but were very slight.

From the fact that the production of acid phosphatase in the prostate is intimately related with androgen secretion, abundant content of the enzyme in prostatic hypertrophy as well as in prostatic cancer shows that both prostatic tumors are androgen-dependent. But the responses of anti-androgenic treatment are remarkably different; whereas in the prostatic cancer the phosphatase activity can be distinctly inhibited by the treatment before the morphologic changes appear, in the prostatic hypertrophy the enzyme activity is scarcely influenced. Though such a difference remains to be clarified, author's enzymological investigation demonstrates that the prostatic cancer is the androgendependent tumor in strict sense.

(4) Though the quantity of protease in prostatic tissue was considerably different in individual cases, it might be said in general that normal prostate, adenomatous prostate and cancerous prostate contained nearly similar amount of protease. After hexestrol administration the normal prostatic tissue, adenomatous and cancerous tissues showed less amount of protease than the one treated with estrogen, and the rate of decrease in the cancerous tissue was more noticeable.

(5) Alkaline phosphatase in prostatic tissue could not be detected. In other words, alkaline phosphatase level in prostatic tissue can be thought to be very low, compared with acid phosphatase.

## I. 緒言

周知のように、前立腺癌はホルモン依存性(hormone-dependent)の悪性腫瘍の代表的なものである。この前立腺癌がホルモンとくに、男性ホルモンに依存するということは、主としていわゆる抗男性ホルモン療法によってこの癌の発育をコントロールできるという Huggins ら (1941) の経験的事実に基くといえるわけであるが、もちろんこれと平行してこのホルモン依存性は病理組織学的、あるいは間接ではあるが血清中のphosphataseの消長などの生化学的研究によつても一応は裏づけされている。ところが、これとは発生母地を異にするとはいへ、同じ前立腺という臓器から発生する前立腺肥大症に於ては、この抗男性ホルモン療法というものが殆ど効果を来さないことが経験的に認められている。いいかえると自律性 (autonomous) 発育ということを特徴とする悪性腫瘍である前立腺癌がホルモンによつてコントロールされるのに、あくまで良性腫瘍としての性状をもつ前立腺肥大症の方がかえつてホルモン依存性を示さないという奇妙な対照を示している。前立腺腫瘍におけるホルモン依存性の問題が提起されてすでに20年余りになるが、この点についての詳しい研究追求はまだ全く行なわれていない。

そこで著者はこの前立腺癌および前立腺肥大症におけるホルモン依存性のちがい、また前立腺癌のホルモン依存性といわれる抗男性ホルモン(発情物質投与あるいは除勢術)によるコントロールの消長ということに重点をおき、前立腺に特有とされるphosphatase(とくに酸 pho-

sphatase) および前立腺腫瘍と関連が深いともいわれているproteaseの前立腺組織内の含有量を測定することによつて、生化学的な面から検索比較を行ったものである。

## II. 検索材料と検索方法

緒言で述べたように、前立腺組織内に含有される P-ase (とくに酸 P-ase), 前立腺機能との関連が深いと推定されている protease を示標とし各種ホルモン療法 (estrogens 投与あるいは両側睾丸切除術) を行った場合の前立腺腫瘍組織について、これら酵素を測定しその活性度の消長からホルモン依存性ということを生化学的に追求したものである。

### (A) 測定に供した前立腺組織

これら酵素の測定に用いたものはいずれも著者の泌尿器科教室において手術的に採取した前立腺腺腫、前立腺癌および正常前立腺組織である。

前立腺腺腫39例(第2表, 第3表): 前立腺肥大症として腺腫切除術を行ったもので、このうち17例は手術前に estrogens 投与を行ったもの、22例は手術前に estrogens を投与してから(投与量および投与期間については第3表の検索成績を参照) 腺腫切除を施行したもの。

前立腺癌20例(第4表, 第5表, 第6表): 大部分は経尿道的あるいは経膀胱的に組織を採取したものであり、1例だけが比較的早期の癌で根治的前立腺切除術によるものである。このうち9例は組織切除前に何らのホルモン療法も行わなかつたもの、9例は予め estrogens を投与してから、2例は去勢術を行つてから組織を切除したものである。酵素活性度測定には後述するように最少

量 4 ~ 5 g を必要とするわけで前立腺癌においてはいずれもこれを最少量としてそれ以上の癌組織を採取している。

正常前立腺 4 例 (第 1 表) : これは前立腺腫瘍の対照としたもので、膀胱腫瘍のために膀胱全切除を行ったものあるいは前立腺結石手術 (前立腺切石術) の際に臓器組織の一部を採取したものである (第 1 表参照)。

以上のようにして採取した前立腺組織の一部分は病理組織学的検査に供し、残りの組織部分については次のような方法で酵素活性度を測定した。

## (B) 前立腺組織内の酵素測定方法

### (1) 前立腺組織抽出液の作成

手術的に切除採取した前立腺組織を滅菌水で洗ってできるだけ血液を除去、速やかに  $-20^{\circ}\text{C}$  のアイスストッカー内で凍結させる。完全に凍結したところでその 5 g を秤量切除し、これをカミソリで削って薄片とする。これに生理食塩水 20cc を加えて元にもどし、ユニバーサル・ホモジナイザー (日本精器製作所製の HA 型、無負荷 20,000 r.p.m.) に 5 分間かけて完全に乳化させる。1 時間放置抽出を行ってから高速遠心沈澱機 (久保田製作所製、KCF 62 型) で 10,000 ~ 1,2000 G, 20 分間の遠心分離を行う。この上澄液を小試験に数 cc ずつ分注、密栓して  $-20^{\circ}\text{C}$  に凍結する。これらの操作はすべて  $4^{\circ}\text{C}$  以下にて行う。

このようにして凍結保存された前立腺組織抽出液は酵素測定に先だつてまず室温で自然に融解させる。(一度融解した検体は再使用しない)。Protease の活性度測定にはこの溶液をこのまゝ使用し P-ase の活性度測定には  $4^{\circ}\text{C}$  に冷却した生理食塩水で 10,000 倍に希釈したものを供する。

### (2) P-ase (酸およびアルカリ P-ase) の測定

いわゆる総酸 P-ase (total acid phosphatase) の測定には p-nitrophenyl-phosphate を基質とする Bessey-Lowry 法 (1946) の Hudson らの変法 (1947)、いわゆる前立腺性酸 P-ase (prostatic acid phosphatase) の測定には酵素活性抑制のため l-tartrate を用いる Fishman Lerner 法 (1953) を応用、これを加えた被検液について Hudson らの方法で酸 P-ase を測定したわけである。アルカリ P-ase は Bessey-Lowry 法によつた。測定法の大略は次のようである (金井, 1960; 落合, 1963; 竹内, 1964 などを参照)。

P-ase 活性の単位は、実際に使用に供した前記の希釈液によつて得られた測定値をもつて表現してある (Bessey-Lowry 単位は元来、被検液 1 l が  $37^{\circ}\text{C}$  1 時間 p-nitro-phenyl-phosphate に作用して遊離する p-nitrophenol の mM 数で定義する)。1 g の前立腺組織が含有する P-ase は p-nitrophenyl-phosphate に  $37^{\circ}\text{C}$  1 時間作用させた場合、ここに表現された活性度の 50 倍の

数値に相当する mM 数の p-nitrophenol を遊離する能力をもっている。したがつて 1 cc の血清に比較した場合、1 g の前立腺組織は大よそその 50,000 倍のフォスファターゼ活性を示していることになる。

著者が実施した P-ase 測定法

- (i) アルカリ P-ase 測定用緩衝液: 0.1 M-glycine, 0.001M-Mg Cl<sub>2</sub> を含む混液で pH は 10.5 に調整する。
- (ii) 総酸 P-ase 測定用緩衝液: 0.09M-citrate 0.18 M-NaOH, 0.01M-HCl を含む混液で、pH は 4.8 に調整する。
- (iii) 前立腺性酸 p-ase 測定用緩衝液: 上記総酸 P-ase 測定用緩衝液に l-tartrate を 0.04M の濃度に加えたもので、pH は 4.8 に調整する。
- (iv) 基質原液: Disodium p-nitrophenyl phosphate 100mg を水 25 $^{\circ}\text{C}$  に溶解する。
- (v) 標準曲線: 0.05mM-p-nitrophenol 溶液を標準液とし、この溶液 1 cc を 11.1cc に希釈したものが示す吸光度 (波長 420m $\mu$ ) をアルカリ P-ase 活性の 1 単位、酸 P-ase の 0.234 単位とする。標準液 1 cc ~ 10cc の系列について測定した数値をグラフ上に描記したものを標準曲線として使用する。
- (vi) アルカリ P-ase の測定法: 基質液と緩衝液の pH 10.5 に調整した等量混和液 1cc を  $37^{\circ}\text{C}$  恒温槽で定温とし、検体 0.1cc を加え 30 分間作用させたあと、0.02N-NaOH 10cc 加えて呈色させ、酵素液のかわりに水 0.1cc を用いて上記と同様の操作をしたものを対照としてその吸光度を求める。次に両試験管に濃 HCl 2 滴を加えて p-nitrophenol の色を消し、検体そのものの吸光度を測定する。検体が作用して呈色した p-nitrophenol の吸光度から検体そのものの吸光度を差引いた数値から標準曲線を用いて検体の酵素活性を定める。
- (vii) 総酸 P-ase 測定法: 基質原液と総酸 P-ase 測定用緩衝液の pH 4.8 に調整した等量混和液 1 cc を  $37^{\circ}\text{C}$  の恒温槽で定温とし、0.2cc の検体を加え 30 分間作用させたあと、0.1N-NaOH 4 cc を加え p-nitrophenol を発色させる。検体のかわりに水 0.2cc を加えて上記と同様の操作をしたものを対照として吸光度を求める。別に検体盲検として検体 0.2cc に 0.1N-NaOH 5 cc を加えたものの吸光度を 0.1N-NaOH を対照として求める。検体を作用させたものの吸光度から盲検の吸光度を差引いた数値から標準曲線を用いて酵素活性を定める。
- (viii) 前立腺性酸 P-ase の測定法: 総酸 P-ase の測定法と異なるところは、総酸 P-ase 測定用緩衝液のかわりに l-tartrate を加えた緩衝液を用いる点である。前立腺性酸 P-ase の活性度は総酸 P-ase の活性度から l-tartrate を加えた緩衝液使用の酸 P-ase の活性度を差引いたものである。

酸 P-ase について何故にこのような測定法によつたかは、P-ase 酸の測定には一つの問題があるからである。前立腺が他の臓器組織とは桁はずれに多い酸 P-ase を生成分泌するもので、男子血清中に含まれる酸 P-ase の大部分は前立腺に由来すると考えてよいが、一部分は肝、骨、腎などにも由来する酸 P-ase である。また赤血球中にもかなり多量の酸 P-ase が含まれている。この血清中の酸 P-ase はこの意味で一般に総酸 P-ase (total acid phosphatase) とよばれ前立腺に由来する酸 P-ase (前立腺性酸 P-ase, prostatic acid phosphatase) と区別されている。一般に行われている血清の酸 P-ase 測定法はこの総酸 P-ase の活性度を測定しているものであるが、前立腺腫瘍の場合にはこの前立腺性酸 P-ase だけを測定する方法が望ましい。このために、前立腺性酸 P-ase だけをできるだけ特異的に測定しようといういろいろな測定法が考察発表されている。たとえば ethyl alcohol 法 (Herbert, 1946), formaldehyde 法 (Abdul-Fadl, 1949), l-tartrate 法 (Fishman-Lerner, 1953) などである。このうちでは、l-tartrate で前立腺性酸 P-ase 活性を抑制する Fishman-Lerner 法が臨床的には賞用されている (松村, 1959; 糸井, 1959; 竹内, 1964 など)。

これは血清についての測定の場合のことで、前立腺組織そのものについての酸 P-ase 測定なら、総酸 P-ase と前立腺性酸 P-ase とをとくに区別する必要はないわけである。しかし、採取した前立腺組織はできるだけ完全に残存する血液を洗い落してはいるが、組織内部のものまで完全に除去するわけにはいかないこともある。またホモジナイザーにかけて抽出液を遠心分離しても、ごく少量残存しているかもしれない赤血球が崩壊して、その含有する酸 P-ase がこの前立腺組織抽出液中に流入している

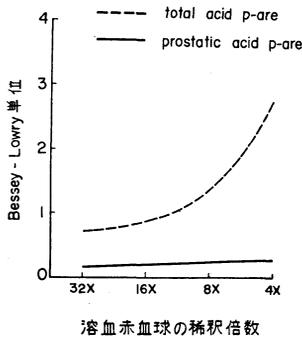
こともあり、総酸 P-ase の測定では必ずしも前立腺性酸 P-ase だけを測定しているとは断言できない。そこで著者はつぎのような予備実験を行なった。

(3) 前立腺組織についての酸 P-ase 測定法の予備実験

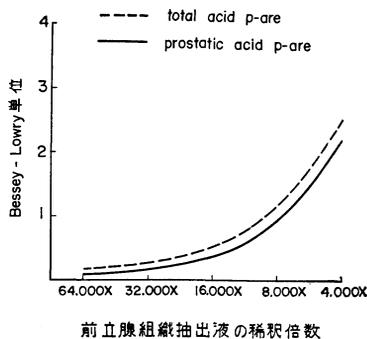
まず前立腺組織の抽出液 (作製については第 2 節を参照)、血液より赤血球を分離洗滌して溶血させた液という 2 種類の被検体をつくる。それぞれの被検体を Woodard (1951) の方法で不活性化し保存血清で倍数稀釈する。各稀釈液について総酸 P-ase (Hudson 法) および前立腺性酸 P-ase (Fishman-Lerner 変法) の活性度を測定した。その成績は第 1 図および第 2 図の如くである。

酵素 (溶血赤血球液、前立腺組織抽出液) を加えない不活性化血清のみの酸 P-ase 活性度は 0 である。総酸 P-ase は赤血球性 P-ase に強く反応するが、前立腺性酸 P-ase ち即 l-tartrate により抑制されている酸 P-ase 分量はかなりの低値を示し、各稀釈度に於て総酸 P-ase 中にしめる割合は 20% 程度である (第 1 図)。しかるに前立腺組織抽出液に対しては総酸 P-ase と前立腺性酸 P-ase とはほぼ一致した値を示し、各稀釈度に於て後者の前者に対する割合は 80% 程度である (第 2 図)。換言すれば、前立腺組織抽出液の中には l-tartrate により抑制されない酸 P-ase 分量は殆んど含まれず、高々 20% 程度であることがわかる。しかも試料中には混在する赤血球に由来する酸 P-ase が含まれている可能性もあるから、実際には更に低い値を示すものと考えられる。一方赤血球中の酸 P-ase は、クエン酸だけの緩衝液と l-tartrate を加えた緩衝液とを用いた測定で殆んど同様の測定値を示すが、l-tartrate により抑制される酸 P-ase 分量は 20% 程度には存在する。したがつて前立腺組織抽出液でも検体によ

第 1 図 赤血球性 P-ase に対する p-nitrophenyl-phosphate 法の感受性



第 2 図 前立腺性 P-ase に対する p-nitrophenyl-phosphate 法の感受性



つて溶血量が異なるから、総酸 P-ase と同時に前立腺性酸 P-ase を測定しなければ相互の比較は不正確となる。

本測定法の前立腺性酸 P-ase に対する感受性の赤血球性 P-ase との相対的な特異性を数字で表わすのに、総酸 P-ase 値が同値を示す時の両者にみられる l-tartrate に抑制される分量の割合の比を採用すると、本節の予備実験に供された検体では、種々の総酸 P-ase 値について大凡その比は 4 である。したがって本測定法は、前立腺性酸 P-ase に対し赤血球性酸 P-ase に対するより 4 倍高い感受性を示すと言える。しかし実際に我々が前立腺組織について測定を行なう時の溶血量は極めて低いため、更に高い特異性をもっているものと考えられる。

実際にも前立腺組織について著者がその酸 P-ase 活性度を測定したところでは、Hudson 法と Fishman-Lerner 法とでは多くの場合と同じ測定値を示していた。しかし、上述のように完全に赤血球由来の酸 P-ase の混在を除去できないという点を考慮し、必ず両者の測定法を行なつた。ただし以下に挙げた酸 P-ase 値はいずれも Fishman-Lerner 法による前立腺性酸 P-ase の値定値である。

#### (4) アルカリ P-ase の測定

酸 P-ase 測定と同時に、同じ被検体について上述したような方法でアルカリ P-ase をも測定した (Bessey-Lowry 法)。

#### (5) Protease の測定

後章でも述べるように、前立腺組織内のいわゆる蛋白溶解酵素の本態についてはなおいちいち議論があるが、著者は一応これを Protease として測定したものである。

P-ase 測定に使用したと同じ前立腺組織抽出液の別のサンプルについて、その含有する Protease を測定した。Protease の測定法としては萩原 (1961) の Casein-Folin 呈色法を応用した。すなわち、酵素を含有する被検液、この場合は稀釈した前立腺組織抽出液をまず Casein に作用させてから、除蛋白剤を加え、この非沈澱性分解物を Folin 試薬で発色させて、これを光電比色計で測定する方法である。ただし原法では 1 分間に tyrosine 1.0  $\gamma$  相当量の Folin 呈色を示す非蛋白性物質を生成する如き酵素活性を 1.0 単位とするが、著者は標準 protease 1.0  $\gamma$  と同じ力価を示す実際に使用する稀釈された前立腺組織抽出液の酵素活性を 1.0 単位と定めた。これによる単位は、tyrosine 単位の約 1.4 倍を示す。又前立腺組織 1 g の有する casein 溶解能は、表現された測定値の 5 倍値に相当する  $\gamma$  数の標準 Protease と同価である。

著者の行つた protease 測定法

(i) 基質溶液: Casein (Merck 社製) 1.2 g を 0.05 M- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  160 cc に加温溶解し pH 7.5 に調整したのち、水で 200 cc に稀釈する。

(ii) 除蛋白液: 0.11 M- $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , 0.22 M- $\text{CH}_3\text{COONa}$  および 0.33 M- $\text{CH}_3\text{COOH}$  を含む混液。

(iii) Folin 呈色用緩衝液: 0.55 M- $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 。

(iv) Folin 試薬: 1.5 l ~ 2 l の丸底フラスコに約 700 cc の水を入れ  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  100 g,  $\text{Na}_2\text{M}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  25 g を溶解する。これに 85% 磷酸 50 cc, 濃塩酸 100 cc を添加する。フラスコにゴムまたはコルク栓で還流冷却器をつけ穏かに沸騰させる。1 ~ 2 時間以内に濃緑色になるが 10 時間沸騰をつづける。液は殆んど透明な筈である。終了後直ちに  $\text{LiSO}_4$  150 g, 水約 50 cc を加え、脱色のために液体臭素 1 ~ 2 滴を添加してから冷却器を外して沸騰させる。脱色後液が完全に黄色になったら、過剰の臭素を追出すために、15 分間緑色に復色しないように穏かに沸騰をつづける。この液を冷却後水で全容を 1 l とにしてからガラスフィルターで濾過する。密栓して保存する。

(v) 標準曲線: 市販の Protease (Nutritional Biochemicals Corporation) 1  $\gamma$ /cc が基質溶液に作用して産生される非沈澱分解物が示す Folin 呈色量を 1 単位とする。標準 protease 0 ~ 20  $\gamma$ /cc の間で濃度の異なる系列を作り、この溶液で下記測定法によつて得られた測定値をそれぞれ 0 ~ 20 単位に対応してグラフ上に描記しものを標準曲線とする。

(vi) Protease の測定: 5 cc の基質溶液を 30°C の恒温槽で定温とし、酵素液 1 cc を加えて 10 分間作用させる。10 分後除蛋白液 5 cc を加えて恒温槽中に 30 分間放置した後硬質濾紙で濾過する。濾液 2 cc に 0.55 M- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液 5 cc, Folin 試薬の 3 倍稀釈液 1 cc を加えて振盪混和し、30°C 恒温槽に 30 分放置する。呈色を示した試料は 660 m $\mu$  で吸光度を測定する。

対照には酵素液に除蛋白液を加え、10 分間放置後基質液を加えたものを 30°C で 30 分間放置したものを上記の要領で Folin 呈色させる。

測定試料の吸光度から対照の吸光度を差引いた数値から標準曲線を用いて検体の酵素単位を定める。

#### (6) 前立腺組織の病理組織学的検索

P-ase および protease の含有量を測定した前立腺腫瘍については、すべてその一部で病理組織学的検査を行い、前立腺肥大症あるいは前立腺癌であることを組織学的に確認した (中央検査室病理学部)。また前立腺腫およ

び前立腺癌については、その組織像からこれを次のように分類した。

(a) 前立腺肥大症の病理組織学的分類

前立腺肥大症（腺腫）の組織については、主として左右あるいは中葉のいずれかを横断して組織標本を作製し、これについて腺構造が間質に対して占める割合からこれを以上のような3型に分類した。

第1型：全視野を通じて腺葉および管腔構造の部分が間質に対し大よそ2/3以上を占めているもの。

第2型：第1型よりは腺管構造の部分がやや少ないもの。

第3型：腺管構造部分よりは間質組織の方が多量の。

(b) 前立腺癌の病理組織学的分類

前立腺癌の病理組織分類についてはいくつかの提案があるが、著者は一応 Shelleyら（1958）の分類に準じてこれを2型に分けた。Shelleyらはもともと腺管構造と癌細胞の分化の程度によつてこれを4型に分けているが、実際にはこの細かい分類は必ずしも容易ではない。ことにホルモン療法施行後の切除組織では、このような分け方が困難というよりも不正確になりやすいからで、この点を考慮して著者はこれを次の2型に分けた。

第1型：癌細胞の分化の程度が比較的高く腺管構造もよく発達しており、管腔内には分泌物がかなり多量に含まれているもの、これよりもやや分化の程度は低く腺管構造はある程度までつくられているが管腔内容は比較的乏しいもので、いずれにしても、形態的にはつきり腺癌と判定し得るものを含めてある。たゞこの後者の型は後述するように、ある程度の量の estrogens を投与された前立腺癌には時に見られる構造ともいえる。

第2型：大小不同の集団をつくつた癌細胞巣が浸潤性に間質内に存在し、この癌細胞集団のところどころにわずかながら腺構造の存在が認められるもの、あるいは殆んど腺構造を示していない未分化の細胞集団からなるものを含めた。いわば前立腺の未分化癌か、それに近いものを第2型として分けた。

### III. 検索成績

前章で述べたように、組織内の各酵素を測定した材料は正常前立腺4例、前立腺肥大症39例および前立腺癌20例の計63例である。その測定成績のうち訳は次のとおりである。

(A) 酸 P-aseの測定成績

(a) 正常前立腺組織内の酸 P-ase（4例、第1表）。

ここにいう正常前立腺とは前立腺肥大症および癌以外の前立腺組織という意味である。全く正常な前立腺から、酵素測定が可能なだけの組織を採取することは実際上不可能だからでもある。したがつて第1表に示すように、3例の膀胱腫瘍で膀胱全別除術を行つたもののうちの1例は病理組織学的には小さいながら腫瘍の形成を認めたものがある。また前立腺結石症例では慢性の前立腺炎を伴っていたが、腺構造には著しい変化はなかつたものである。

これら前立腺組織内の測定値について見ると、前立腺肥大症および癌以外のいわば正常かそれに近い中年者あるいはそれ以後の前立腺組織1g当りの酸 P-ase活性度は0.16~0.34単位の示していた。ただし3例では0.16~

第1表 肥大症、癌以外の前立腺組織内の酸 P-ase および protease 含有量

症例	年齢	酸 P-ase (1g当り)	Protease (1g当り)	診断
1	46	0.18	22.6	前立腺結石
2	64	0.17	1.2	膀胱腫瘍
3	55	0.16	10.4	"
4	63	0.34	8.8	膀胱腫瘍+ (前立腺腺腫)

第2表 前立腺腺腫組織内の酸 P-ase および protease 含有量

症例	年齢	酸 P-ase (1g当り)	Protease (1g当り)	病理組織像
1	70	3.01	—	I
2	53	1.56	11.6	I
3	68	1.49	6.2	I
4	58	1.13	—	I
5	70	0.95	4.0	I
6	65	0.61	13.9	I
7	78	0.19	8.8	I
8	76	0.70	13.2	I
9	64	0.86	8.0	I
10	61	0.36	—	II
11	74	0.34	12.0	II
12	72	0.29	4.5	II
13	71	0.72	13.0	II
14	72	0.08	8.0	III
15	59	0.21	11.3	III
16	68	0.21	4.0	III
17*	74	0.21	6.4	I (癌を合併)

\*この症例は前立腺肥大症として腺腫別除を行ない、組織学的にその一部に癌病巣が証明されたもので、この症例では腺腫部分と癌部分について別々に酵素を測定した。

0.18と略々一定しており、0.34とやゝ高い値を示した1例は病理学的には前立腺肥大症といえるものである(第1表)。

(b) 前立腺肥大症(腺腫)組織内の酸 P-ase

(i) 発情物質非投与の前立腺腺腫組織内の酸 P-ase (17例, 第2表)

術前に estrogens 投与を行わずに剔除した腺腫組織についての酸 P-ase含有量を測定したものである。

前立腺肥大症の場合の組織内 P-aseの含有量にはかなりのちがひがある。たゞ病理組織学的に比較的腺管構造がよく発育した腺腫では1g当りの酸 P-ase 含有量は0.70~3.01(第7例だけは0.19と低値であることを除けば)を示し、大よそ1.0単位前後とすることができる。これは腺腫以外の前立腺組織内含有量にくらべると、完成された前立性腺腺腫では明かに酸 P-aseの含有量はかなり多いといえる(第1表をも参照)。

これに対し、前立腺肥大症でも腺管構造の間質組織に対し占める割合が比較的少い著者のいうⅡ型およびⅢ型では、酸 P-ase含有量はやはり前者に比して少く0.08~0.36単位の間であり、大よそ0.2~0.3単位前後である

(第13例だけは0.72単位とやゝ高い)。しかし、腺腫以外の前立腺組織と比較すると、酸 P-aseの含有量はわずかではあるが多いといえることができる。第1表中の第4例などもこの好例といえる。

これは組織内の酸 P-ase含有量の多寡はある程度まで腺管構造の発達の状態と平行していること、それと同時にこのことはまた、前立腺腫瘍というものが機能的にも正常前立腺と同じように、あるいはそれよりも活発な分泌機能を保持していることをも示している。したがって、正常の場合のようにこの酸 P-ase分泌機能が主として男性ホルモンの支配下にあるとすれば、前立腺腺腫の酸 P-ase分泌機能も同じように男性ホルモンの支配を受けていると見ることが出来る。

(ii) 発情物質投与後の前立腺腺腫内の酸 P-ase (21例, 第3表)。

いずれも手術前に合成発情物質である hexestrol を投与してから腺腫剔除術を施行し、その腺腫組織について(i)と同じように酸 P-aseを測定した。Hexestrol の投与量はやゝ区々であるが、はじめのころは1日10mg~30mg, 総計100mg前後を同様に投与したもので、それ

第3表 発情物質(hexestrol)投与後の前立腺腺腫組織内の酸 P-ase および protease 含有量

症 例	年 令	Hexestral (投与量×日数)	酸 P-ase (1g当り)	Protease (1g当り)	病理組織像
1	74	60mg (15×4)	1.15	—	I
2	75	71mg (27×3)	0.56	—	I
3	65	90mg (15×6)	0.55	—	II
4	64	90mg (15×6)	0.53	—	II
5	65	90mg (15×6)	0.48	—	I
6	72	100mg (10×10)	0.57	0.5	I
7	66	120mg (6×20)	0.42	0.5	II
8	71	120mg (30×4)	1.76	9.5	I
9	83	180mg (6×30)	0.48	2.4	I
10	69	210mg (30×7)	0.83	8.0	I
11	65	210mg (30×7)	0.45	—	I
12	75	210mg (30×7)	0.20	5.0	I
13	73	240mg (30×8)	0.76	—	II
14	76	240mg (30×8)	0.05	7.0	III
15	78	240mg (30×8)	0.00	—	II
16	73	270mg (30×9)	0.93	—	I
17	73	270mg (30×9)	0.12	0.0	II
18	62	300mg (30×10)	0.17	4.0	II
19	72	330mg (30×11)	0.98	1.0	I
20	73	480mg (30×16)	0.16	13.1	II
21	70	510mg (30×17)	0.10	11.4	II
22	75	除辜術 (14日後)	0.00	0.0	II

以後の大部分では総計 200mg以上(平均して1日30mg7~10日以上)を投与してから腺腫剔除術を行った。酸 P-ase の腺腫内含有量は第3表のような成績であった。

まず 100mg以下の hexestrol 投与後の腺腫組織内の酸 P-aseは最大1.15単位,最少0.48単位であるが,大部分は 0.5単位を示している。これは hexestrol 非投与群の腺腫組織内の含有量とくらべて多少は減少しているといえるが,そのちがいは極めてわずかである。したがって腺腫内酸 P-aseの分泌機能は,発情物質の 100mg程度の投与によつては,多少は抑制されるとしてもまずあまり強くその影響を受けることはないといつてもよいようである。同様のことは,発情物質 100mg以上から 200mg程度までの投与についてもいえる。発情物質 200mg以上に投与についても**0.76, 0.93, 0.98**(第13表の13例,第16例第19例など)のように hexestrol 非投与群と同じような酸 P-ase 活性を示すものも存在するが,0.2単位前後からそれ以下のものも約半数において認められる。つまり前立腺腺腫では,100~300mgの発情物質投与によつてその酸 P-ase 産生機能は多少抑制される傾向がないとはいえないが,一般的にいえばそれ程強い抑制影響を受けていないといふことができる。またこの範囲の発情物質投与量によつては,病理組織学的にその影響と思われる腺細胞のごく軽微な萎縮退化変化を認めるものも一部に存在したが,それも極く部分的局所的なもので,その大部分においてははつきりと発情物質投与によると指摘できる病理組織学的変化を確認することはできなかった。

すなわち,前立腺腺腫は正常前立腺組織よりもかなり高い酸 P-ase産生機能をもっており,この機能は当然体内の男性ホルモン分泌状況の支配下にあると考えられるが,この男性ホルモンの作用に拮抗するはずの発情物質の投与によつて,形態的のみならず,酵素活性から見た機能にも殆んど影響をうけていないと考えることができる。なお,第3表第22例は前立腺肥大症とかなり進行し前立腺癌を併発していたもので,これは除手術を行なった14日後に腺腫だけを剔除したわけであるが,この腺腫内には酸 P-aseを測定することができなかった。しかし腺腫部分には組織学的にまだはつきりと除手術の影響と思われる形態学変化は確認していない。それにもかかわらず,機能的の面では酸 P-ase (protease も同様)の産生が全く抑制されている。わずか1例の成績ではあるが,発情物質投与群の成績と対照して興味ある所見であった。これについては後章でも触れることにする。

### (C) 前立腺癌組織内の酸 P-ase

(i) ホルモン療法を行なわなかつた前立腺組織内の酸 P-ase (9例,第4表)。

第4表 前立腺癌組織内の酸 P-ase および protease 含有量

症例	年齢	酸 P-ase (1g 当り)	Protease (1g 当り)	病理組 織像
1	68	0.98	5.2	I
2	71	0.70	6.7	I
3	60	0.21	10.0	I
4	80	0.20	—	I
5	55	0.42	11.4	I
6	65	0.87	9.6	II
7	68	0.51	12.5	II
8	67	0.55	23.4	I
9*	74	0.21	8.2	I
10**	68	1.01	8.8	II

\* この症例は第2表の第17例で(肥大症と癌の合併),ここでは癌病巣について測定した酵素含有量である。

\*\* これは本表の第1例で根治的前立腺剔除術を行なった際に剔除した1個の骨盤リンパ腺転移癌組織の測定値である。

前立腺癌組織内の酸 P-ase (1g 当り)は 0.2~0.22単位と正常前立腺組織内のそれと同じ程度の含有量を示すものもあるが,過半数においては 0.5単位から 1.0単位弱とそれよりかなり高い含有量を示している。つまり,酸 P-aseに関するかぎり,前立腺癌組織内の含有量は前立腺腫のそれとほとんど同じであるといふことができる。つまり,悪性腫瘍である前立腺癌細胞も正常前立腺と同じくあるいはそれよりも活発な酸 P-ase産生機能をもっており,したがって同じように男性ホルモンの支配下にある。この前立腺癌における酸 P-ase含有量と病理組織像との間にははつきりとした関係は認めることはできなかった。いいかえると腺管構造の未分化のもので,その癌細胞は男性ホルモンの支配下にあつてむしろ正常よりもかなり高い酸 P-ase産生能を保持していると考えられるものである。(第3章をも参照)。

(ii) 発情物質投与後の前立腺癌組織内の酸 P-ase (9例,第5表)。

第5表の第1例はその組織内酸 P-aseも0.53と非投与の前立腺癌とほとんど差がなく,これは恐らく hexestrol の投与量がわずかに45mgと少量のためその影響をうけなかつたものであろう。これに対し,少くとも hexestrol 100mg以上を投与された場合には癌組織内の酸 P-aseは

第5表 発情物質 (hexestrol) 投与後の前立腺癌組織内の酸 P-ase および protease 含有量

症例	年齢	Hexestrol (投与量×日数)	酸 P-ase (1 g 当り)	Protease (1 g 当り)	病理組織像
1	63	45mg (15×3)	0.53	—	I
2	80	105mg (15×7)	0.00	—	I
3	78	144mg (24×6)	0.05	1.6	I
4	62	210mg (30×7)	0.09	6.4	I *
5	73	270mg (30×9)	0.05	0.0	I *
6	68	300mg (30×10)	0.00	0.0	I
7	79	300mg (30×10)	0.06	1.6	I
8	64	420mg (30×14)	0.06	0.0	II
9	67	660mg (30×22)	0.03	6.6	I *
10**	67	660mg (30×22)	0.05	6.2	I *

\* 癌細胞のごく一部に核の濃縮あるいは崩壊像, 原形質の空胞化を生じているが, 癌巢全体としてはそれほど著明の変化とはいえない。

\*\* これは本表の第9例で, 骨盤腔にあつた巨大なリンパ腺転移癌組織の一部を切除した標本について測定したものである。

全部が 0.1単位以下, なかには全くその活性が抑制されて測定できなかつたもの (第2例, 第6例など) さえある。もちろん, 300mg以上の投与になると多少とも癌細胞の萎縮退行すなわち核の濃縮あるいは崩壊像, 原形質の空胞化など明らかに hexestrol の影響による形態学的変化を認めるが, いずれもこれは極めて軽度のもので, またごく一部分に限局していた。

このように, 発情物質 (hexestrol) 投与による前立腺癌組織内の酸 P-ase 産生機能の抑制は, 前立腺と前立腺癌とは明らかにながいがいを示しており, 癌においてはその酸 P-ase 産生機能は, 前立腺腺癌ではほとんど影響がなかつたほゞ同量の発情物質によつてすでに強く抑制されている。しかも, この機能抑制は, 発情物質による癌細胞の形態学的変化が全くあるいは軽度にしかならないうちに, これに先立つて発現している。つまり, 酸 P-ase 活性から見た前立腺癌細胞の機能は, 自律性の悪性腫瘍でありながら, 良性腫瘍である前立腺腺腫よりは男性ホルモンの支配が強いという現象が認められることになる。

#### (iii) 除手術後の前立腺組織内の酸 P-ase (2例, 6表)

この測定例は2症例だけで, いずれも0.08単位および0.10単位を示している。症例は少いが, 除手術後2週間前後までの前立腺癌組織に対する影響はほゞ hexestrol 投与群のそれと同じかそれよりはやゝ弱い傾向を示している。ただし除手術の前立腺癌細胞に対する組織学的影響は hexestrol 投与よりもかなり高度に発生している。つまり, 形態学的な影響は除手術の方がより早くより著明に発現, いかえると, この点では抗男性ホルモ

第6表 除手術後の前立腺癌組織内の酸 P-ase および protease 含有量

症例	年齢	除手術後	酸 P-ase (1 g 当り)	Protease (1 g 当り)	病理組織像
1	70	14日	0.08	0.0	未分化腺癌*
2	57	14日 Hexestrol 500mg (50×10)	0.10	14.4	髄様癌*

\* 除手術の影響と思われる細胞質の空胞化と壊死が部分的に認められた。

ン療法としては除手術の方がより drastic ともいえるかもしれないが, 酸 P-ase産生という機能的な影響は発情物質投与の方がむしろ早く発現する傾向もあるように考えられる。

#### (B) アルカリ P-ase の測定成績

酸 P-aseの測定と同時に同じ, サンプルの一部についてアルカリ P-aseの含有量も測定した。しかし, 著者の実施した測定法 (2章を参照) によつてば, 正常前立腺のみならず前立腺肥大症および前立腺癌のいずれの組織においてもアルカリ P-aseは測れなかつた。つまり, これら前立腺組織にはその抽出液の50,000倍稀釈液では測定できない程度の少量のアルカリ P-aseしか含有されていないといつてよい (後章をも参照)。

#### (C) Protease の測定成績

これも酸およびアルカリ P-ase測定に用いたのと同じ組織抽出液の一部について測定したものである。

#### (a) 正常前立腺組織内の protease (第1表)。

第1表に示すように、proteaseの含有量は最少1.2単位、最高は22.6単位で、酸P-aseの場合のようにほぼ一定した値は得られなかった。たゞ第1表、第1例は慢性前立腺炎をも合併しておりproteaseの高値はこれに関係があるかもしれない。

(b) 前立腺肥大症(腺腫)組織内のprotease

(i) 発情物質投与を行なわなかった前立腺腺腫組織内のprotease(第2表)

腺腫内のprotease含有量は最少4.0単位、最高は13.9単位で大部分は10.0単位前後の含有量といえる。また、酸P-aseとほぼ同様に、このprotease含有量の多寡と病理組織との間にははつきりした関係は認められなかった。

(ii) 発情物質投与後の前立腺腺腫組織内のprotease(第3表)

発情物質(hexestrol)を投与したのちに剔除した前立腺腺腫内のprotease含有量は最高13.1単位から11.4単位および9.5単位などと比較的高い値を示すものもあるが(第3表の第20例、第21例、第8例など)、半数においては2単位か10単位以下であった。つまりある程度はそのprotease産生機能が発情物質によつて抑制されていることを認め得る。しかし、これは必ずしも発情物質の投与量に比例するものではなく、むしろ500mgと大量になるとかえつてprotease活性は高められると考えられるような成績でもある。これについては後章で触れることにする。

(C) 前立腺癌組織内のprotease

(i) ホルモン療法を行なわなかった前立腺癌組織内のprotease(第4表)

無治療の前立腺癌組織内のprotease含有量は5.2単位あるいは6.7単位程度のものであるが(第1例、第2例)大部分は10単位を越えており、このprotease含有量は発情物質非投与の前立腺腺腫群のそれとほぼ同じといえる。つまり、前立腺腺腫と前立腺癌におけるprotease産生機能ではとくに差異はないと見てよい。また、このprotease含有量と病理組織像との間にもはつきりした関係は認められなかった。この点は酸p-aseの場合と同様であった。

(ii) 発情物質投与後の前立腺癌組織内のprotease(第5表)

発情物質(hexestrol)投与後に採取した前立腺癌組織内のprotease含有量は6.0単位を示すものもあるが(第4例、第9例)、大部分では1.0単位前後か、ある

いは全く測定されないものであった(第5表、第5例、第6例および第8例)。つまり、proteaseについてみると、前立腺癌組織では発情物質によつてその機能がかなり強く抑制されることを示している。第3表のように前立腺腺腫でprotease産生機能が必ずしもはつきりとは抑制されないのと異り、前立腺癌では酸P-aseのそれと同じように発情物質によつてはつきりと抑制的影響を蒙っていると考えることができる。

(iii) 除腺術後の前立腺癌組織内のprotease(第6表)

第6表の第1例では除腺術14日後の前立腺癌組織内にはすでにproteaseを証明しないのに対し、第2例(髄様癌)ではproteaseだけは無影響で14.4単位を示している。両症例とも組織学的には除腺術による形態的变化がある程度はつきり発現しているのに、第2例だけなぜprotease値が低下していないのか例数が少ないのでその機序は不明だが、あるいは発情物質の投与などもこれに関係あるのかも知れない。

#### IV 総括と考案

前立腺の形態および機能が男性ホルモンに強く支配されていることは周知のとおりであるが、自律性発育を特徴とする前立腺癌という悪性腫瘍も正常前立腺と同じようにその発育増殖は男性ホルモンに依存している。これが前立腺癌のホルモン依存性、具体的にいえば男性ホルモン依存性癌(androgen-dependent cancer)の第一の条件である。この生物学的性状を利用して発展したものが前立腺癌のホルモン療法、いわゆる抗男性ホルモン療法である。この治療法によつて癌組織の萎縮退行を生ずることが男性ホルモン依存性癌の第2の条件である。そしてこの治療法がHugginsら(1941)によつて提唱実施されて以来、前立腺癌は悪性腫瘍でありながらホルモンによつてコントロールされ得るということは、確実な臨床的事実となつているわけである。そしてこの裏づけとなる病理組織学的検索はすでにいくつか発表されており、また間接的ではあるが血清の酸P-aseの消長などによる生化学的検索の裏づけとなる論文もいくつか報告されている(馬場, 1959; 糸井, 1959; 松村, 1959; その他)。しかし、前立腺癌組織そのものについて、このホルモン依存性ということを生化学的の面から詳しく検索した研究はほとんどないといつてよい。その最大の理由の一つは生化学的あるいは薬理的にそのホルモン依存性を研究するための十分な量の材料を採取することが、前立腺癌では甚だ困難だからである。このために、これ

までホルモン依存性という前立腺癌組織そのものの機能的な面の研究データがまだ乏しいわけで、この方面の検索はホルモン療法という広い意味での癌の化学療法の新たな発展への手掛りを与えるものでもあるといえる。

ところが同じ前立腺から発生しながら、前立腺肥大症と前立腺癌とはいろいろな点で極めて対照的なちがいを示している。もちろん、前立腺癌と前立腺肥大症とでは病理学的にもいろいろとちがっている。たとえば、前立腺肥大症は前立腺という同じ母地のうち前立腺のいわゆる内腺 (inner glands) から発生するのに対し、前立腺癌の方は本来の前立腺組織である外腺 (outer glands) に発生する。また、病理学的には多少の異論はあるが前立腺肥大症は腺腫というあくまで良性的腫瘍性新生物と考慮されおき、これに対し前立腺癌ははじめから悪性腫瘍としての特徴的な性状 (浸潤性発育、転移など) をもっている。それにもかかわらず機能の点では著しくちがっている。たとえば、悪性腫瘍である前立腺癌の発育はホルモンによつてコントロールされ得るのに、前立腺肥大症ではこれまでの臨床的経験からもほとんどホルモン依存性を示していない。しかし、上述した材料採取の困難なことなども大きな理由となり、このホルモン依存性のちがいを生化学的に比較した研究は見当らない。

著者がこの研究を企図したのは大よそ上に述べた2つの事項を重点的にとり上げ、これを生化学的な面からなるべく定量的に検索追求したいと考えたからである。そしてこの検索法として選んだのが、前立腺組織に特有とされる酸 P-ase および protease で、これらの酵素の前立腺腫瘍組織内における含有量とホルモンによるその消長を測定したものである。その測定成績は第3章に記載したとおりであるが、一応その成績を総括するとともに、これを基に若干の考察を行なつて見る。

#### (A) 酸 P-aseについて

前立腺組織には後述する蛋白分解酵素 (protease) や  $\beta$ -glucuronidase などの外、酸 P-ase が含まれている。

(Mann, 1954; その他)。しかも前立腺内の酸 P-ase は血清中のその  $10^5 \sim 10^6$  (Gutmanら, 1938)、組織 1 g 当り 5,000 ~ 40,000 Bodansky 単位 (Tagnon, 1960) あるいは 8,000 ~ 14,000 Gutman 単位 (Kirk ら, 1962) と極めて多量である。また Goetsch (1960) も組織化学的にこれを証明している。たとえば、正常前立腺ではアルカリ P-ase は小葉の上皮には含まれず管上皮内にわずかに存在するだけであるが、酸 P-ase の方は小葉のみならず管上皮内にも多量に含まれており、しかもそれ

は主として細胞の管腔に面した外方<sup>1)</sup>の部分に局限しているという。これほど桁はずれに大量の酸 P-ase を含有する臓器は前立腺だけであり、この意味で酸 P-ase は前立腺に特有な酵素といつてもよいものである。しかもこの酸 P-ase 産生能は前立腺機能と平行している。この前立腺機能は男性ホルモンの直接の支配下にあるから、酸 P-ase の産生能も当然男性ホルモンの分泌状況と平行しており、したがつて前立腺の酸 P-ase 産生状態は間接的ではあるが男性ホルモンの分泌状況の指標とすることができ (Huggins ら, 1940, 1942) など。また前立腺腫瘍とくに前立腺癌ではその発生母地たる正常前立腺と同じくこの酸 P-ase 産生能を保持しており、前立腺癌においてその転移の有無あるいはホルモン療法による癌発育増殖の消長を知る好指針として、血清中の酸 P-ase 測定が不可欠な検査法となつているわけである。著者が前立腺腫瘍のホルモン依存性を生化学的に検索するのにその指標の一つとして酸 P-ase を選んだのもこのためである。

正常前立腺、前立腺肥大症および前立腺癌組織内の酸 P-ase 含有量とホルモン療法によるその消長を測定検索した著者の成績は以下のように総括できる (第3章をも参照)。

正常前立腺組織 1 g 当りの酸 P-ase 含有量は著者の測定法によれば、全く正常の組織では 0.16 ~ 0.18 単位とほぼ一定した値を示していた。1例は 0.34 とやや高いがこれは組織学的にも初期腺腫の像をもっていたものである (第1表, 第4例)。測定法がちがうのでそのまま比較はできないが、この測定値はこれまでの報告のものとは大差はない (Tagnon, 1960; Kirk ら 1962 など)。

前立腺肥大症 (腺腫) 組織についての酸 P-ase 含有量は最高 8.01 単位から 0.08 単位とかなりの差異を示している (第2表)。これは大よそ腺腫の組織像と関連している。すなわち、著者の規定した分類の第1型、腺管構造のよく発達した腺腫では 1.0 単位以上あるいは 1.0 単位前後の値を示しており、第2型ではやや少なくて 0.4 ~ 0.3 単位、第3型では 0.2 単位前後の値であつた。このことは前立腺腫でも正常前立腺と同様に酸 P-ase は腺小葉および腺管上皮内に多量に含まれているという Goetsch (1960) の組織化学的検索成績とも一致する。このように前立腺腫の酸 P-ase 含有量は病理組織像によつてかなりの変動を示してはいるが、少なくとも著者の定量測定成績からすれば、前立腺腺腫組織は明かに正常前立腺組織よりも多量の酸 P-ase を含有しているといふことができる。また同時に、酸 P-ase を指標とした

ところでは、前立腺腺腫も男性ホルモンの支配下にあるということがべき。しかし、この腺腫が男性ホルモン依存腫瘍の範疇にはいるものと断定するわけにはいかない。この点を次の実験成績によって考察して見る。

予め発情物質 (hexestrol) を投与してから剔除した前立腺腺腫組織の酸 P-ase含有量は第3表に示すような成績であつた。これは投与した hexestrol の量が必ずしも一定していないので個々を比較するわけにはいかないが、ほぼ以下のように要約することができよう。酸 P-ase 産生能の抑制は投与量によつてちがうわけであるが、

100mg程度の投与量では極めて軽度、200~300mgとなると一応は酸 P-ase産生能の抑制がある程度はつきりと確認される。しかしそれでは大よそ $1/2$ 程度抑制されるに過ぎないようで、とくにこれは腺管のよく発育した第1型に認められる。もちろん hexestrol のこの投与量では腺腫の形態学的変化は全くあるいはほとんど発生していない。すなわち、前立腺肥大症(腺腫)も発情物質投与によつて酸 P-aseの産生能が抑制されることは確かであるが、200~300mgでは極めて軽度にすぎないといつてよい。いいかえると、前立腺腺腫の酸 P-ase産生能は正常よりも明かに旺盛で、このかぎりでは男性ホルモン依存性の腫瘍といえないことはないが、抗男性ホルモン治療による酵素産生能の抑制作用はあるとしても極めて軽微であり、後述する前立腺癌のような意味の男性ホルモン依存性癌という性状は確認できなかつた。たゞ除率術を行つた1例(第3表、第22例)は術後14日で剔除した腺腫において、組織像にほとんど変化がないのに酸 P-ase値(proteaseも)は0であつた。前立腺肥大症には除率術がほとんど効かないことは臨床的にも経験されている。ところがこの症例は除率術によつて腺腫内の酸 P-ase産生能が完全に抑制されることを示している。しかし、1例だけなので常にこのような成績になるかどうかは未定であるが、興味ある所見とも考えられる。

前立腺癌組織内の酸 P-ase含有量は最高0.98単位、最少は0.20単位であるが過半数は1.0~0.4単位の間にある(第4表を参照)。そしてこの値は、前立腺癌の病理組織像、分化した腺癌か未分化癌かによつてもとくにちがつてはいない。すなわち、前立腺癌の酸 P-ase含有量は組織学的な分化、未分化ということよりは、むしろ癌組織中の癌細胞の多寡に関係しているということが出来る。これは前立腺癌の酸 P-aseについての Goetsch (1940) の組織化学的検査成績とも一致している。彼によると、前立腺癌における細胞内の酸 P-ase 分布は全

く不規則で、たゞどちらかと云えば小葉構造を示す部分において管腔に面した側にやゝ多量に存在する。しかし未分化癌ではとくにその分布は一定しておらず、間質内に浸潤増殖している癌細胞では細胞質全体に存在する。なお前立腺小葉および管腔内に存在する分泌液中には正常のみならず腺腫および癌腫においてもいずれも酸 P-ase は濃縮されて証明されるという。一方また、Woodard (1952), Downey ら (1954) あるいは Marberger ら (1956) によると、前立腺腺腫と癌とでは酸 P-ase の組織内含有量は後者の方がかなり低いという。著者の成績でも、癌腫の方が腺腫より酸 P-ase 含有量はやゝ少いという一般的傾向を示してはいるが過半数は0.4~1.0単位の間であり(少数が0.2単位)、癌腫と腺腫との間組織内 P-ase含有量に有意な差を認めることはできなかつた。いずれにしろ、前立腺癌組織の酸 P-ase 含有量は正常前立腺組織よりも明かに多いといえるもので、この意味では前立腺腺腫と同じようにその酸 P-ase 産生能は正常よりは確かに旺盛だといつてことができる。

次に発情物質 (hexestrol) を投与した後に採取した前立腺癌組織の酸 P-aseを測定すると、これではその産生能が著明に抑制されていることが認められた(第5表を参照)。Hexestrol 45mg投与(第5表、第1例)ではその抑制作用はなお現われていないが、100mg以上の投与例ではその酸 P-ase産生能は対照群とくらべて有意の差をもつてはつきりと抑制されている。ただし、著者の行つた hexestrol 投与量では病理組織学的な変化はほとんどないか、あつても軽微なものであつた。それにもかかわらず、酸 P-ase産生能という機能の面では極めて鋭敏に発情物質の抑制的影響をうけている。これは前立腺癌が男性ホルモン依存性癌であることを酵素学的にはつきり裏づけし得た成績である。このことは同時に前立腺腺腫の酸 P-aseの消長とも著明な対照を示しているもので、前立腺腺腫はホルモン依存性腫瘍とはいえないわけである。なお2例では除率後術の前立腺組織内の酸 P-aseを測定したが(第6表)、第1例では酸 P-aseは著明に抑制されたのに対し、第2例はそれほどでなかつた。この理由は不明だが、あるいは Brendler (1960) のいう除率術の遅発効果のためかもしれない。

#### (B) アルカリ P-ase について

第3章で述べたように、アルカリ P-ase は正常前立腺のみならず、前立腺肥大症および前立腺癌組織では測定できるだけの量は存在しなかつた。すなわち、組織抽出

液 50,000倍稀釈では前立腺内にはアルカリ P-aseは測定し得ない程度、しいていえば精々10—100稀釈液で測定できる程度の量しか含まれていない。すでに Goetsch (1960) は組織化学的にアルカリ P-ase は腺小葉の上皮には含まれず腺管上皮内に僅かに証明されるにすぎないといっており、著者の測定成績も定量的にこれを確め得たわけである。

### (C) Protease について

著者が前立腺腫瘍のホルモン依存性の指標として protease という酵素を選んだのは次の理由からである。

ヒトの精液中に一種の蛋白溶解酵素の存在することを推定したのは Huggins ら (1942) であるがその後に至りこれが確認されている (Mann, 1954; その他)。また広汎な転移を生じた前立腺癌では強い出血傾向とか溶血現象を続発することが臨床的に経験されている。Tagnon ら (1952) はこのような血液性状の変化が plasmin system の賦活によるものではなく、むしろ前立腺中に含有される蛋白溶解酵素が血中に流出したために発生したためではないかと推定した。さらに Tagnon ら (1953) は前立腺組織の食塩水抽出液が fibrinogen および fibrin を溶解することを *in vitro* で認めた発表をした。Lombardo ら (1958, 1959) も加熱 fibrin 平板法により組織抽出液が fibrin を溶解することを確めている。このようにして、正常前立腺のみならず前立腺腫瘍組織には蛋白溶解能をもつ一種の酵素がかなり多量に含まれていることは確かと考えられるに至っている、しかし、これが果して Tagnon らや Lombardo らがいうように fibrinolysin そのものかどうかについてはなお異論がないわけではない。たとえば Prout ら (1956) は転移をもつ前立腺癌患者血清にはウマの fibrinogen-thrombin clot を溶解する作用はなく、これに streptokinase-streptodornase を添加してはじめて fibrinolytic な活性を示すものだという。Laderhoffs ら (1961) は前立腺腺腫は KSCN 抽出液で plasminogen activator を測定し、このものが多量に含まれているという成績を発表している。黒田ら (1962) は前立腺腺腫の生理食塩水抽出液には plasmin actiator とその proactivator は存在するが plasmin は含まれておらなると報告している。

著者らの測定は Casein-Folin 法によつたもので、上述したような点から、これによつて測定されたものを一応 protease としたものである。

正常前立腺組織の protease 含有量は個人差が大きく一定していないようである (第 1 表)。

前立腺腺腫組織内の protease もある程度の個人差を示しているが、最高は 13.9 単位、最少は 4.0 で大部分では 8.0—10.0 単位前後とみてよい (第 2 表)。この含有量と組織像との間には特別の関連は認められなかった。予め発情物質を投与した後に剔除した前立腺腺腫内の protease は 200mg 以上の投与量で逆にむしろ高値を示すものが 2 例 (第 20, 第 21 例) あつたが、一般には低下するものが過半数に認められた。Tagnon ら (1953) が発情物質の術前投与は外科的手術の出血を減少させると発表。Goodhope (1960) も臨床的に認めている。たゞ Goodhope は polyestradiol phosphate を投与した場合の量は 40 mg が適当で、それ以上ではかえつて出血傾向を助長する傾向もあるらしいという。このことは上記した著者の実験成績 (hexestrol 投与量の多いもので protease の増加があつた) と一致する。

前立腺癌組織内の protease も個人差を示し、最高 23.4 単位、最少 5.2 単位であるが、大体において 10.0 単位前後の含有量と見ることができ (第 5 表)。また、この含有量は病理組織像とはとくに関連はない。おそらく酸 P-ase と同じように、protease 含有量もむしろ癌細胞の多寡によるものとも考えられる。いずれにしろ、protease 含有量については前立腺癌組織と前立腺肥大症(腺腫)組織との間にほとんど差異はないと考えてよい。ところが、予め発情物質を投与した後に切除採取した前立腺癌組織では、その protease 含有量は明かになり強く抑制されており、この抑制現象も前立腺肥大症の場合よりはるかに顕著である (第 4 表, 第 5 表)。これと発情物質による癌細胞の形態的变化とは必ずしも一致せず、むしろ軽度ながら形態的变化を認めたもので protease の抑制が少ないものもあるという現象が認められている。同様のことは剔除術を行つた第 6 表, 第 2 例でも認められる。しかし前立腺癌においても protease を指標とした場合、酸 P-ase とほぼ同様にやはり発情物質によつてその産生能がより強く抑制されると考えてよい。

以上に記述したところから、酵素学的に前立腺肥大症と前立腺癌のホルモン依存性というものには明かにちがいのことが確められたといえる。すなわち、protease は一応別として前立腺肥大症も前立腺癌もその産生機能が男性ホルモンの支配下にある酸 P-ase から見た場合は、同じように男性ホルモン依存性をもつということが出来るが、発情物質に対する感受性という観点からは自律性発育を特徴とする前立腺癌の方がこのホルモンの影響を受けやすく、良性腫瘍たる前立腺肥大症はかえつ

てホルモンでコントロールをなし難いという著しい差異を示しているわけである。つまり、前立腺肥大症はつきりとホルモン依存性腫瘍とはいえないものである。

Huggins (1960) はホルモン依存性腫瘍というものを次のように定義している。癌というものはずべてが全く自律性(autonomous)だとはかぎらない。ある組織の細胞の代謝活動が強くあるホルモンに依存している場合、その組織を発生母地とする癌細胞も同じようにホルモンに依存しており、正常細胞と同様にしこのホルモン供給がなくなると癌細胞も萎縮する。このような癌をホルモン依存性癌と定義するというのである。この前立腺癌がホルモン依存性癌であること、これに対し前立腺肥大症の方は本来の意味でこのホルモン依存性腫瘍というものには入れ難いものであることを、従来専ら定性的あるいは形態的な面から検索されていたのに対し、上に記述した著者の臨床実験成績は前立腺組織そのものについて定量的あるいは酵素学的にこれを裏づけ得たものである。

## V. 結 語

(1) 著者は前立腺肥大症(腺腫)および前立腺癌とホルモンとの関係、とくに後者のホルモン依存性癌ということにつき、主として機能の面から生化学的酵素学的に検索する目的で、前立腺と密接な関係をもつ phosphatase (主として酸 phosphatase) および同じくある程度の関連性が推定されている protease という酵素の活性度を指標して、正常前立腺(4例)前立腺腺腫(39例)、前立腺癌(20例)の組織抽出液にこれら酵素の組織内含有量を測定するとともに、いわゆる抗男性ホルモン療法(発情物質投与あるいは除睾術)による酵素含有量の消長をも定量的に追求比較した。組織抽出液の酸 phosphatase (P-ase) アルカリ P-ase および protease はそれぞれ Fishman-Lerner 法を原理とする Hudson 法、Bessey-Lowry 法、Casein-Folin 法(萩原)によつた。その結果以下のような成績を得た。

(2) 正常前立腺組織 1 g 当りの酸 P-ase 含有量は 0.16~0.18 単位とほぼ一定した値を示していた。

(3) 前立腺腺腫組織 1 g 当りの酸 P-ase 含有量は、一般に正常前立腺のそれよりも明かに高い含有量を示している。個々の例ではある程度の差異を示しており、これは腺腫の組織像と関係していると考えられるもので、腺管構造のよく発達したもので 1.0 単位前後、間質組織の占める割合が大きくなるにしたがつて 0.4 単位から 0.2 単位前後の値であつた。予め発情物質(hexestrol)を投与してから剔除した前立腺腺腫組織の酸 P-ase 含有量は hexestrol 100mg 投与ではほとんど減少せず、200

~300mg 以上でも極めて軽度にしか減少しない。いずれの場合も組織学的には hexestrol 投与による形態的变化は発生していない。

(4) 前立腺癌組織 1 g 当りの酸 P-ase 含有量は、組織学的に分化した腺癌か未分化癌かにはほとんど関係なく、大部分は 0.4~1.0 単位の値を示した。これは前立腺腺腫とほとんど同じで、正常前立腺のそれよりは明らかに高値であつた。予め発情物質を投与した(あるいは少数例では除睾術)後に切除採取した前立腺癌組織の酸 P-ase 含有量は著明な減少を示し、この酵素産生能の抑制は 100mg 以上の発情物質投与ですでに明かに確認された。発情物質投与による組織学的変化は 3 例にごく軽度に認められた程度であつた。すなわち組織内酸 P-ase の量的消長から、前立腺癌は多量の酸 P-ase をもつことでは前立腺肥大症と同じといえるが、後者と著しく異なるところは抗男性ホルモン療法に極めて鋭敏に反応すること、この機能的変化は形態的变化が発生するのに先立つて現われてくる。この成績は前立腺癌は前立腺肥大症とちがひ、その発育増殖がホルモンによつてコントロールされ得る腫瘍。つまりホルモン依存性癌であることを酵素学的に裏づけるデータである。

(5) アルカリ P-ase は著者の測定法(前立腺組織抽出液の 50,000 倍稀釈液での測定)では正常前立腺、前立腺肥大症および前立腺癌組織のいずれでも定量できなかった。つまり前立腺は正常、腫瘍を問わず組織内のアルカリ P-ase は含有されていても、P-ase 酸のように特異的といえるほど多量に含まれているものではない。

(6) Protease の組織内含有量はかなりの個人差があるが、一般的にいつて正常前立腺、前立腺肥大症および前立腺癌の値は大体において 5.0~10.0 単位で前者と後者との間には酸 P-ase の場合のようなちがひは認められなかつた。予め発情物質を投与した後の組織内 protease 含有量は非投与にくらべ前立腺腺腫でも前立腺癌でも明かに減少しており、この減少度は前立腺癌の方にやゝ著明であつた。しかし、100mg 以上投与例のうち少数例ではかえつて高値をした。

## 文 献

- 1) Abdl-Fadl, M.A.M., and King, E.J.: Biochem. J. 45, 51, 1949.
- 2) 馬場: 日泌尿会誌, 50, 1113, 1959.
- 3) Babson, A.L., Read, P.A., and Phillips, G.E.: Am. J. Clin. Path. 32, 83, 1959.
- 4) Bessey, O.A., Lowry, O.H., and Brock, M.J.: J. Biol. Chem. 164, 321, 1946.
- 5) Brendler, H.: Cooperative [Study Program

- in Therapy of Advanced Prostatic Cancer. Biological Activities of Steroids in Relation to Cancer ed by G Pincus & E.P. Vollmer, P 401, Acad. Press, New York, 1960.
- 6) Downey, et al.: Brit. J. Urol. 26, 160, 1954.
  - 7) Fishman, W.H., Bonner, C.D., and Homburger, F.: New Engl. J. Med. 255, 925, 1956.
  - 8) Fishman, W.H., and Lerner, F.: Biol. Chem. 200, 89, 1953.
  - 9) Goetsch, J.B.: J. Urol. 84, 636, 1960.
  - 10) Goodhope, C.D.: J. Urol. 84, 386, 1960.
  - 11) Gutman, A.B., and Gutman, E.B.: Proc. Soc. Exper. Biol & Med. 38, 470, 1938.
  - 12) Gutman, A.B., and Gutman, E.B.: J. Clin. Invest. 17, 473, 1938
  - 13) 荻原: 酵素研究法, 朝倉書店, II: 240, 昭36.
  - 14) Hudson, P.B., Brendler, H., and Scott, W.W.: J. Urol. 58, 89, 1947.
  - 15) Hudson, P.B., Finkle, A.L., Hopkins, J.A., Sproul, E.E., and Srout, A.P.: Cancer 7, 690, 1954.
  - 16) Huggins, C.: Steroids, Growth and Cancer. Biological Activities of Steroids in Relation to Cancer ed by G Pincus & E.P. Vollmer, P. 1, Acad. Press. New York, 1960.
  - 17) Huggins, C., and Clark, P.J.: Exper. Med. 72, 747, 1940.
  - 18) Huggins, C., and Hodges, C.V.: Cancer Res. 1, 293, 1941.
  - 19) Huggins, C., and Neal, W.: J. Exper. Med. 76, 527, 1942.
  - 20) Huggins, C., and Scott, W.W.: Ann. Surg. 122, 1031, 1945.
  - 21) Huggins, C., and Talalay, P.: J. Biol. Chem. 159, 399, 1945.
  - 22) 糸井: 日泌尿会誌, 50, 597, 1959.
  - 23) 金井: 臨床検査法提要, 金原出版, VII-71, 昭36.
  - 24) Kirk, J.E., Wang, I.C., and Schans, R.: J. Lab. Clin. Med. 57, 705, 1962.
  - 25) 黒田: 日本泌尿器科全書, 金原・南江堂, 7, 169, 1957.
  - 26) 黒田, 久住, 向來: 日泌尿会誌, 53, 735, 1962.
  - 27) Ladehoff, A.A., and Rasmussen, J.: Scand-inav. J. Clin. Investigation 13, 231, 1961.
  - 28) Lombardo, L.J.: J. Internat. Coll. Surgeons 30, 412, 1958.
  - 29) Lombardo, L.J.: J.A.M.A. 169, 1718, 1959.
  - 30) Mann, T.: The Biochemistry of Semen, Methuen & Co., London, 1954.
  - 31) Marberger, H., Riedsel, R.D., Anderson, D.O., and Malek, L.H.: J. Urol. 75, 857, 1956.
  - 32) 松本: 日泌尿会誌, 52, 72, 1961.
  - 33) 松村: 日泌尿会誌, 50, 902, 1959.
  - 34) 落合: 日本臨床, 18, 2497, 1960.
  - 35) 落合: 臨床酵素学, 朝倉書店, 247, 1963.
  - 36) Prout, G.R., Siegel, M., and Clifton, E.E.: J.A.M.A. 160, 840, 1956.
  - 37) Seligman, A.M., Chauncey, H.H., Nachlas, M.M., Manheimer, L.H., and Ravin, H.A. J. Biol. Chem. 190, 7, 1951.
  - 38) Shelley, H.S., Auerbach, S.H., Classen, K.L., Marks, C.H., and Wiederanders, R.E.: A.M. A. Arch. Surg. 77, 751, 1958.
  - 39) Shinowara, G.Y., Jones, L.M., and Reinhart, H.L.: J. Biol. Chem. 142, 921, 1942.
  - 40) Tagnon, H.J., and Steens-Lievens, A.: Cancer 13, 507, 1960.
  - 41) Tagnon, H.J., Whitmore, W.F., and Shulman, N.R.: Cancer 5, 9, 1952.
  - 42) Tagnon, H.J., Whitmore, W.F., Shulman, P., and Kravitz, S.C.: Cancer 6, 63, 1953.
  - 43) 竹内: ホルモンと臨床, 11, 176, 1964.
  - 44) Woodard, H.Q.: J. Urol. 65, 688, 1951.
  - 45) Woodard, H.Q.: Cancer 5, 236, 1952.

(昭和39年3月15日受付)