

悪性腫瘍における乳酸脱水素酵素と その Isozyme に関する研究

第 一 編

白血病の化学療法と血清乳酸脱水素酵素及び その Isozyme の関係について

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木 潔教授）

大学院学生 大 島 由 紀 子

〔昭和42年6月21日受稿〕

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料及び実験方法

第3章 実験成績

第1節 正常人血清乳酸脱水素酵素活性及び Isozymepattern

第2節 白血病患者

1. 白血病患者における血清乳酸脱水素酵 素活性

2. 白血病患者における血清乳酸脱水素酵 素 Isozymepattern

3. 臨床経過と血清乳酸脱水素酵素活性及 び Isozymepattern の関係

4. 治療による血清乳酸脱水素酵素活性及 び Isozymepattern の変化

第4章 総括並びに考按

第5章 結 語

第1章 緒 言

近年の酵素化学の進歩に伴って、酵素を治療や診断の目的に応用しようとする臨床酵素学が著しく発展した。更に、最近になつて Isozyme の概念が臨床面にも導入されるに及び、酵素の診断的価値の増大のみでなく、病態生理の解明への手掛りを得ることも容易となりつつある。癌及び白血病においてもこの様な観点から数多くの酵素について研究がなされてきているが、就中乳酸脱水素酵素（LDH）については最も目覚ましい成果が得られている。1954年 Hill¹⁾ が悪性腫瘍で、1955年 Wróblewski²⁾ が白血病及び癌で血清 LDH (S-LDH) が上昇することを報告して以来、S-LDH の臨床的意義について多くの報告がなされている。更に、1957年 Vesell³⁾ が澱粉電気泳動法によつて LDH は同じ酵素作用を有する4成分に分離される事を発見し、これに対して1959年 Markert, Möller⁴⁾ が "Isozyme" の概念を提唱したが、この Isozyme が臨床酵素学の分野に導入されるに及んで、臨床診断のみならず生理、代謝、遺伝発生、あるいは免疫学等の分野においても広く応

用されるに至つた。又白血病或は悪性腫瘍においてもその発生の原因並びに機構を Isozyme の面より解明しようとする試みもなされつつある。私はこの様な観点から S-LDH 活性及び Isozymepattern の変動が顕著であると報告されている^{2) 5) 6) 7) 8) 9) 10) 11) 12)} 白血病患者について、治療経過によるそれらの変動を測定し、その成績より S-LDH 活性並びに Isozymepattern の変化の機序について考察するとともに、それらの診断あるいは予後判定等における意義についても検索を行い、興味ある成績を得たので報告する。

第2章 実験材料及び実験方法

1. 研究対象 末梢血液像、骨髓像及び平木式骨髓培養等の諸検査により白血病と診断された平木内科入院の患者29例について測定を行つた。その内訳は急性骨髓性白血病男4例女7例、慢性骨髓性白血病男1例女4例、急性リンパ性白血病男7例女3例、慢性リンパ性白血病男2例、単球性白血病女1例である。

2. 検査材料 患者血液は原則として早朝空腹時に

抗凝固剤を用いず肘静脈から採取した。

3,000 r. p. m. で15分間遠沈後直ちに血清を分離し測定に供した。直ちに測定の出来ない場合は deep freezer 中に貯蔵し1週間以内に使用した。

3. S-LDH 活性測定法 Wr'oblewski²⁾ の方法によつた。即ち pyruvic acid と DPNH を血清と共に incubate し DPNH の減少を Beckmann Du. 型分光光度計を用いて 340m μ における吸光度の変化から求め、S-LDH 活性を測定した。そして血清 1ml の1分間の吸光度減少が 0.001 の場合を1単位とした。

4. isozyme 測定法 Wieme³⁾ による寒天ゲル電気泳動法を用い、Helm⁴⁾ 及び Yakulis⁵⁾ の方法を多少 modify して測定した。即ち載物ガラス上の厚さ 2mm の寒天ゲルに長さ 10mm の slit を作製して約 20 μ l の血清を入れ、泳動槽を 3~4°C に保ちつつ 20volt/cm で45分間泳動し、その後 Yakulis の方法による染色液中に60分間 37°C で incubate して染色し、ついで常水中で約3時間水洗した。

乾燥後波長 570m μ のフィルターを使用して densitometry を行い isozyme 各分画の百分比を算定した。LDH isozyme は泳動により5つの分画に分けられるが各分画を Wr'oblewski²⁾ に従つて最も陰極側に泳動されるものから順に LD₁, LD₂, LD₃, LD₄, LD₅ と命名した。

5. 尿酸測定 ヤトロンの尿酸測定キッドを使用して測定した。

第3章 実験成績

第1節 正常人 S-LDH 活性及び isozyme pattern

既往歴及び理学的所見に異常を認めない20才及び30才台の健康人10人について測定し正常値とした。活性及び isozyme には性による差は認められない。又今回の成人を用いた実験においては年齢による相違もみられなかつた。(表1)

第2節 白血病患者

29例の白血病患者の S-LDH 活性及び isozyme pattern について約130回の測定を行つた。同一症例についての観察期間は最高7ヶ月、測定回数は1~12回である。

表2は対象とした全症例の一覧表で治療開始前の LDH 活性並びに LD₃ の百分比を示す。入院時既に治療が開始されている症例では入院後最初の検査をもつて治療開始前とした。

1. 白血病患者における S-LDH 活性

図1は各病型別の S-LDH 活性を示す。活性値は夫々の症例の示した最高値である。

29例中慢性リンパ性白血病 (CLL) の1例を除いた28例 (97%) に S-LDH の上昇が認められた。即ち病型別に上昇率をみると、CLL では50%であるが急性骨髄性白血病 (AML) 慢性骨髄性白血病 (CML) 急性リンパ性白血病 (ALL) 及び単球性白血病 (ML) では100%である。

上昇の程度は AML, CML では一般に比較的高い。ALL では比較的低いが、増悪時に極めて高い活性

表1 正常人 S-LDH 活性及び isozyme pattern

正 常 人 番 号	年 令	性	活 性 (単位)	LD ₁ (%)	LD ₂ (%)	LD ₃ (%)	LD ₄ (%)	LD ₅ (%)
1	20	女	65	1.3	2.5	7.6	41.8	46.8
2	22	女	90	2.8	1.8	2.9	50.0	42.5
3	26	女	70	1.7	1.9	7.1	38.4	50.9
4	26	女	100	1.2	1.5	7.5	45.5	44.3
5	26	女	90	4.4	4.4	13.7	36.4	41.1
6	27	男	80	1.0	1.2	2.2	41.6	54.0
7	27	男	90	1.7	2.5	5.8	40.5	49.5
8	27	男	70	2.0	2.7	3.4	36.0	55.9
9	27	女	70	4.7	1.2	2.4	30.6	61.1
10	34	男	90	2.0	3.1	3.1	43.8	48.0
平 均 値			81.5	2.3	2.3	5.6	40.5	49.4
標準偏差			±11.4	±1.2	±0.9	±3.3	±4.9	±6.0
変 化 域			65~100	1.0~4.7	1.2~4.4	2.2~13.7	30.6~50.0	41.1~61.1

表 2 白血病患者 S-LDH 活性及び LD₃ 百分比

*印 入院前に治療開始せるもの

症例番号	年齢	性	白血球数 ()内は ($\times 10^3$) blasts (%)		S-LDH活性 (単位)	LD ₃ (%)	LDH初回測定 からの生存期間
1	15	女	8	34	525	11.4	22週
* 2	42	男	123	69	55	25.6	(20週以上)
* 3	51	男	27	56	205	—	8週
* 4	51	女	25	63	215	17.3	6週
* 5	38	女	18	88	525	20.4	5週
AML 6	53	女	14	0	130	—	(軽快退院)
* 7	37	女	72	14	1,190	16.9	11週
* 8	16	男	9	36	165	11.4	10週
* 9	32	男	43	2	450	17.2	1週
10	43	女	4	42	210	5.6	(8週以上)
* 11	38	女	5	51	480	25.9	(2週以上)
* 12	44	女	41	2	345	20.0	(20週以上)
13	34	女	17	0	80	—	(軽快退院)
CML 14	60	女	575	3	325	15.9	(軽快退院)
* 15	37	女	95	1	485	17.1	(軽快退院)
* 16	34	男	5	2	807	24.3	7週
* 17	27	男	4	59	1,210	12.7	13週
18	22	男	504	4	2,040	—	3週
* 19	23	女	1	30	65	—	18週
* 20	15	男	6	0	200	18.6	7週
* 21	38	男	2	69	195	10.1	3週
ALL 22	29	女	13	59	300	15.2	(軽快退院)
23	43	男	1	1	150	5.6	9週
* 24	39	男	149	94	300	18.5	17週
* 25	17	男	57	79	175	—	3週
26	53	女	—	—	140	—	(5週以上)
CLL 27	69	男	98	0	600	22.9	2週
* 28	67	男	31	0	80	7.7	(軽快退院)
ML 29	68	女	18	54	220	13.4	5週

を示すものもある。

活性の上昇と病勢との関係については白血球数との間には全く相関々係が認められないのに対し幼若白血球百分率との間には AML, ALL でやや正の相関々係がみられる。

2. 白血病患者における S-LDH isozymepattern

表3は最高の LDH 活性を示した時の isozyme patternを示す。各病型に共通してみられるのはLD₃の増加, LD₅の減少, LD₂の増加である。この傾向は平均値では CML で最も著明で AML, CLL, ALL がこれにつぐが、個々の症例についてみるとその程度には可成の差があり、各病型を特徴づけることは

出来ない。尚 AML では LD₁ の増加も認められる。又 LDH 活性の上昇と LD₃ の増加, LD₅ の減少は比較的正の相関々係を示し、特に ALL では明らかである。

病勢との関係については LD₃ の増加と 幼若白血球百分率の間に AML, ALL でやや正の相関々係がみられるが、CML, CLL ではみられない。白血球との間には CLL で正の相関々係がみられるが AML, CML, ALL ではみられない。

3. 臨床経過と S-LDH 活性及び isozymepattern の関係 (表4)

各症例について S-LDH 活性及び isozyme を数回

表 3 白血病患者 S-LDH 活性及び isozyme pattern

症例番号	年令	性	S-LDH活性 (単位)	LD ₁ (%)	LD ₂ (%)	LD ₃ (%)	LD ₄ (%)	LD ₅ (%)	
AML	1	15	女	525	1.1	3.1	11.4	56.8	27.6
	2	42	男	460	3.4	8.2	20.6	37.7	30.1
	3	51	男	480	4.7	8.3	41.2	33.3	12.5
	4	51	女	215	5.8	8.9	17.3	45.7	22.3
	5	38	女	525	0.6	4.8	20.4	42.4	31.8
	6	53	女	300	7.8	8.1	16.3	40.3	27.5
	7	37	女	1,190	10.8	7.9	16.9	41.2	23.2
	8	16	男	165	2.9	5.7	11.4	40.0	40.0
	9	32	男	450	19.6	10.0	17.2	45.7	22.3
	10	43	女	280	5.4	5.4	5.4	56.8	27.0
	11	38	女	720	0.4	1.1	26.1	47.8	24.6
平 均 値			482.7	5.7	6.5	18.6	44.3	26.3	
変 化 域			165~1,190	0.4~19.6	1.1~10.0	5.4~41.2	33.3~56.8	12.5~40.0	
CML	12	44	女	525	1.0	14.4	32.8	32.8	19.0
	13	34	女	230	2.4	5.8	17.8	43.3	30.7
	14	60	女	585	0.6	4.2	26.2	45.5	23.5
	15	37	女	485	0.3	4.0	17.1	52.5	26.1
	16	34	男	807	0.2	1.7	24.3	41.7	32.1
平 均 値			526.4	0.9	6.0	23.6	34.8	26.3	
変 化 域			230~807	0.2~2.4	1.7~14.4	17.1~32.8	32.8~52.5	19.0~32.1	
ALL	17	27	男	1,210	0.4	1.3	12.7	61.3	24.3
	18	22	男	3,800	4.7	13.3	26.3	31.0	24.7
	19	23	女	160	2.7	3.4	10.4	50.0	33.5
	20	19	男	2,550	0.1	5.5	32.9	41.4	20.1
	21	38	男	195	14.5	4.3	10.1	43.5	27.6
	22	29	女	300	2.4	4.6	15.2	28.2	49.6
	23	43	男	150	1.0	1.8	5.6	55.5	36.1
	24	39	男	300	1.1	5.3	18.9	42.1	32.6
	25	17	男	175	—	—	—	—	—
	26	53	女	180	4.1	3.4	5.2	42.1	45.2
平 均 値			802.0	3.4	4.8	15.3	43.9	32.6	
変 化 域			150~3,800	0.1~14.5	1.3~13.3	5.2~32.9	28.2~61.3	20.1~49.6	
CLL	27	69	男	600	1.4	8.5	22.9	50.2	17.0
	28	67	男	80	2.5	2.6	7.7	41.0	46.2
平 均 値			340	2.0	5.6	15.3	45.6	31.6	
ML	29	68	女	1,540	3.4	11.0	22.8	29.0	42.2

測定しそれらの変動と血液像骨髓像その他一般状態の変動との相関々係について検討した。全症例を通じてそれらの間に明らかな平行関係が認められたのは29例中10例(34%)であった。

AML 11例中4例において明らかに S-LDH 活性及び isozyme pattern (主として LD₃) は血液像骨髓像その他一般状態をよく反映して変動した。全く相関々係の認められなかつたのは1例で残りの6例に

表4 白血病患者 S-LDH 活性及び LD₃ と臨床経過の相関々係

病 型	例 数	平行関係の有無	S-LDH 活 性 と 臨 床 経 過	LD ₃ と臨床経過	S-LDH活性及び LD ₃ と臨床経過
AML	11	あ り	4 例	4	4
		やゝあり	7	6	6
		な し	0	1	1
CML	5	あ り	3	3	3
		やゝあり	2	1	1
		な し	0	1	1
ALL	10	あ り	6	3	3
		やゝあり	2	4	5
		な し	2	3	2
CLL	2	やゝあり	2	2	2
ML	1	あ り	1	0	0
		やゝあり	0	1	1

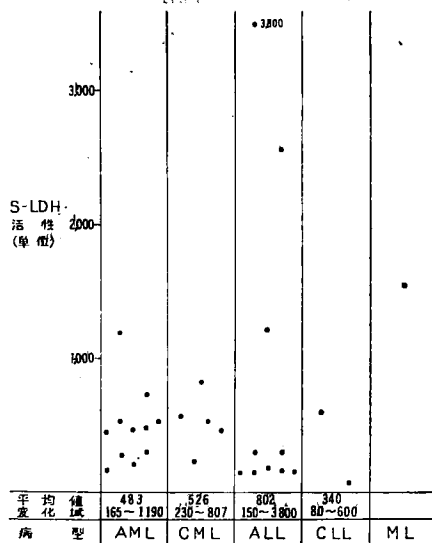


図1 白血病患者S-LDH活性

いでもある程度の相関々係が認められた。図2は症例3で相関々係の明らかな例である。白血病としては寛解期にありながら合併せる真菌症のため死亡した。

CML 5例中3例において明らかな相関々係を認め1例においては全く相関々係を認めなかった。図1は症例12で相関々係の明らかな例である。

ALL 10例中3例において明らかな相関々係を認め2例においては全く相関々係を認めなかった。図1は症例17で明らかな相関々係が認められた。末期における白血球増多に先だつて S-LDH 活性及び LD₃ 上昇を認め増悪を予知し得た症例である。

T.O 51 YRS ♂ AML

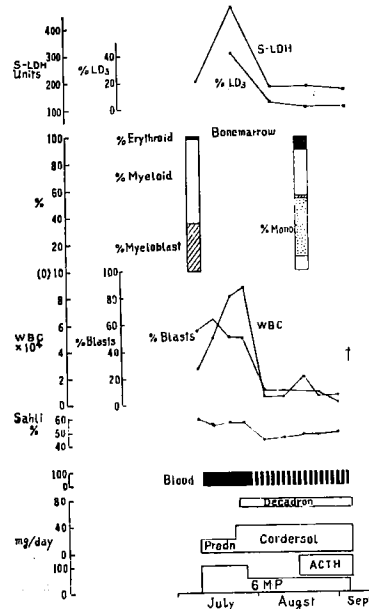


図2 症例3

CLL 2例共 S-LDH 測定回数少く、比較検討の対象とならなかった。

ML S-LDH 活性はよく相関したが LD₃ は必ずしも相関しなかった。(図8)

4. 治療による S-LDH 活性及び isozymepattern の変化

治療に反応して経過が変動すれば、それに応じて S-LDH 活性及び isozymepattern に変化が認められることは、既に述べた。本項では更に、治療開始後

T. I. 44 YRS ♀ CML

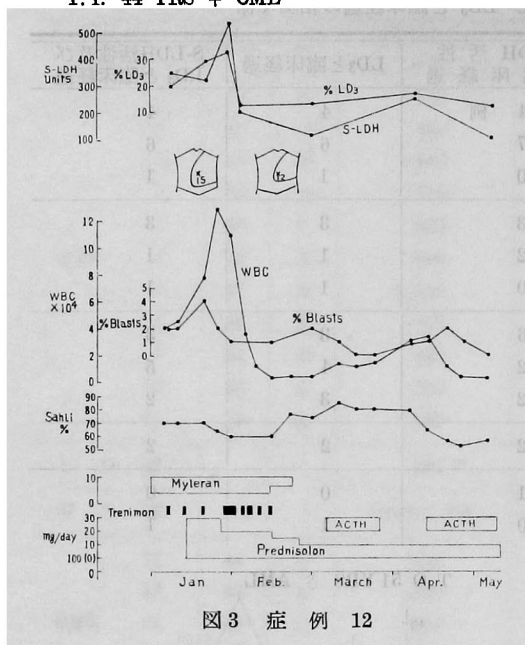


図3 症例 12

S. A. 27 YRS ♂ ALL

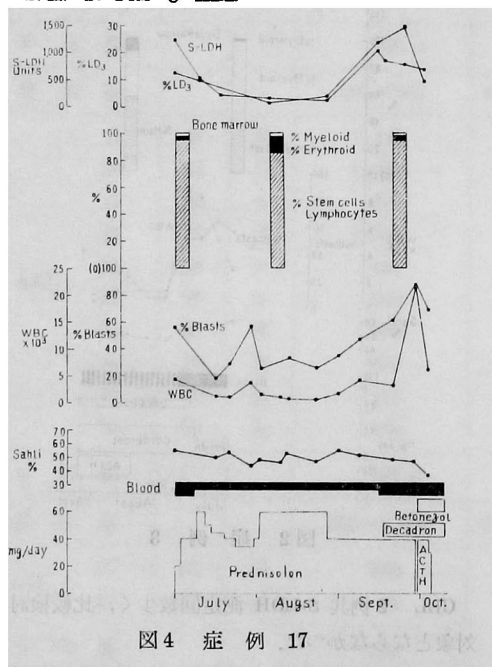


図4 症例 17

の諸種変化を逐時的に観察し、S-LDH 活性及び isozyme pattern 変動の機序の解明を試みた。即ち AML 2 例, ALL 1 例, ML 1 例計 4 例について、治療開始後 6, 12, 24, 48 時間後の S-LDH 活性, isozyme pattern 及び核酸崩壊産物である尿酸の血清中濃度を測定し、白血球数及び幼若細胞百分率の変動と比

較検討した。

症例10 (AML) (図5) Prednisolon 20 mg 静注で始めた。白血球数、白血球像がやや改善され、発熱もみられなくなったが S-LDH 活性、尿酸については著しい変化は認められなかった。即ち S-LDH 活性は、6 時間後に軽度上昇し以後低下したが LD₃ には有意の変化は認められず、正常範囲内でわずかに変動したにすぎなかった。尿酸も正常範囲内での変動に留まり、12 時間後にわずかに減少し 24 時間目以後正常の上界に留まった。

症例11 (AML) (図6) Prednisolon 20 mg 静注及び 6 MP 内服で始めた。白血球数、幼若白血球百分率共に低下した。S-LDH 活性は 12 時間目まで上昇、以後低下し、LD₃ は 6 時間目に既に減少し、以後も減少した。尿酸は正常範囲内ではあるが減少した。

M. A. 43 YRS ♀ AML

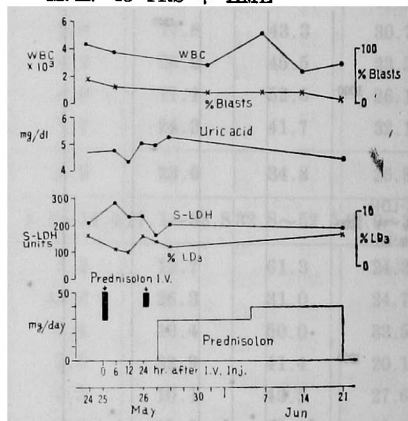


図5 症例 10

H. D. 38 YRS ♀ AML

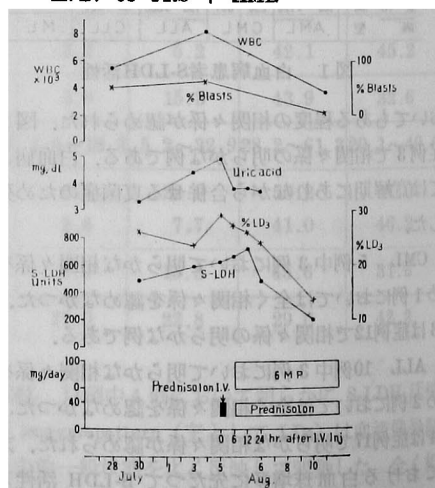


図6 症例 11

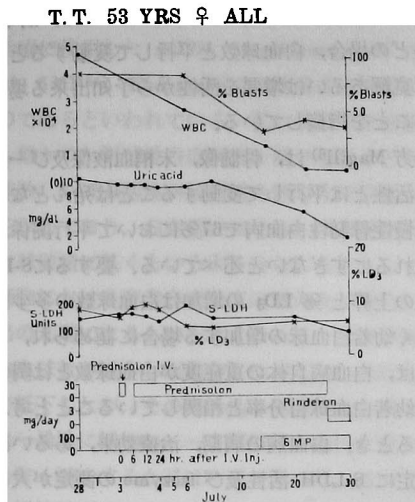


図7 症例 26

症例26 (ALL) (7図) Prednisolon 30 mg 静注で始めた。白血球数は著明に減少したが幼若白血球百分率は変化しなかった。S-LDH 活性は有意の変化を示さず、LD₃ は6時間目に軽度上昇以後次第に低下した。尿酸は高値であったが変動しなかった。ついで6 MP を使用したところ、白血球数は著減、幼若白血球百分率も1/2となった。S-LDH, LD₃ は殆んど正常範囲内で変動を認めなかった。尿酸は著減した。

症例29 (ML) (図8) Prednisolon 20mg 静注及び6 MP 内服で始めた。幼若白血球百分率がわずかに低下したが、病勢は全く軽快せず、白血球数、S-LDH 活性、LD₃、尿酸値は上昇した。ついで Bet-

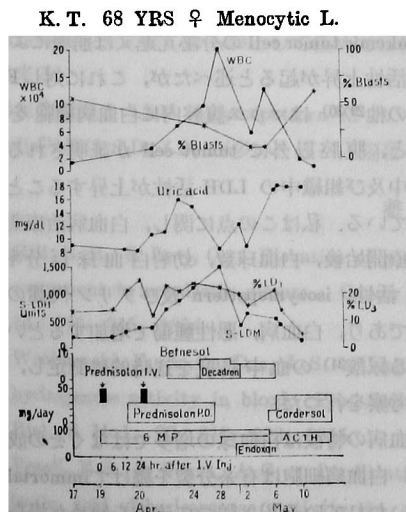


図8 症例 29

nesol 静注を追加したところ尿酸値は低下したが白血球数、S-LDH 活性は更に上昇した。ついで Prednisolon, 6 MP を中止し、Endoxan 経口投与を行ったところ、白血球数、幼若白血球百分率はS-LDH 活性と共に著明に、LD₃ は軽度に減少した。尿酸値は一過性に上昇、ついで下降した。死亡1週間前には全経過を通じて白血球数 S-LDH 活性、LD₃ は最低を、幼若白血球百分率、尿酸値は最高値を示した。

以上4例を通じてみると、治療開始後白血球数が減少した場合には、多くは幼若白血球百分率が低下しているが、その有無にかかわらず S-LDH 活性は12時間目までは一過性に上昇し、24時間後、遅くとも48時間後には治療開始前の活性値よりも低値となる。その際 AML の2例では白血球数は正常範囲内での減少でありながら活性値の変動は可成大であるのに反し、ALLの1例では白血球数は5万から3万に減少しながら S-LDH 活性は正常範囲内でごくわずかに変動したにすぎなかった。ML の1例では白血球数 S-LDH 活性共に大きく変動した。尿酸は ML の1例を除いて白血球数と平行して増減したが S-LDH 活性とは必ずしも平行せず、ALL の1例、AML の2例では S-LDH 活性低下に伴って尿酸値も低下する傾向があるが、ML の1例では S-LDH 活性上昇に際し尿酸値は低下し、逆に前者低下に際し後者が上昇し、AML の2例でも治療開始後24時間まではわずかにその様な傾向が認められた。

第4章 総括並びに考案

白血病の S-LDH に関しては Wróblewski²⁾ が急性白血病及び慢性骨髄性白血病で活性上昇を認めると報告して以来実験白血病¹⁵⁾ あるいは白血病患者についての報告が多数みられる。

Bierman⁹⁾ は上昇率を骨髄性100%, リンパ性87%と述べており Blanchaer⁷⁾ は骨髄性、単球性及び急性リンパ性白血病で上昇するが慢性リンパ性白血病では上昇率が低いとし、White¹⁰⁾ は急性白血病及び単球性白血病で上昇を認めている。Magill⁶⁾ らも急性白血病では小児、成人ともに77~70%の上昇率を示し、慢性リンパ性白血病では60%であるが、骨髄性では94%で最も上昇率が高いことをみている。又教室の浅野¹¹⁾ らは急性骨髄性白血病86%, 慢性骨髄性白血病61%, 急性リンパ性白血病60%, 慢性リンパ性白血病0%といい、Zimmerman⁸⁾ は骨髄性白血病100%, リンパ性30%と報告している。報告者により病型別の上昇率に多少の差はみられるが、従来の

報告を総括すると骨髓性がリンパ性より高く、又同一病型については急性が慢性より高いといえる。

私の測定した29例では急性白血病及び慢性骨髓性白血病100%, 慢性リンパ性白血病50%で諸家の報告と大体一致する。この様な病型による相違は、骨髓性白血病では enzyme level の高い白血病性好中球の崩壊によつて高くなり、リンパ性白血病では白血病性リンパ球の life span が白血病性好中球に比して長く、かつ enzyme level が低いために上昇が少いということに基因すると考えられている¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。しかしながら白血病患者における S-LDH 活性の臨床診断的意義の判定には、本実験における29例の症例において27例に経過と活性との間に平行関係が認められたごとく、測定の時期によつて病型別の上昇率は大きな変動を来す可能性があり慎重を要するものと考えられる。

白血病の S-LDH isozymepattern については、Wróblewski²⁾ は LD₄ が増加すると述べ、Yakulis⁶⁾ らは骨髓性白血病で LD₄ が増し、慢性リンパ性白血病で normal pattern を呈すると述べている。又教室の浅野¹¹⁾ は、白血病では LD₃ の増加を特徴的な所見とし、更に慢性骨髓性白血病では LD₃ の他 LD₂, LD₁ も増加すると報告している。私の測定した29例の白血病では25例 (86%) で LD₃ の百分率 (% LD₃) が明らかに増加した。更に統計的にみて全病型において % LD₃, LD₂, LD₁ の増加及び % LD₅ の減少が認められ、そのうちでも % LD₃ の増加, % LD₅ の低下は特徴的な所見といえる。尚各病型を特徴づける所見は認められなかった。

白血病患者の S-LDH 活性と病勢との関係については浅野¹¹⁾ は白血球数との間に急性白血病でわずかに相関々係を認めるのみで、慢性白血病では全く相関せず、幼若白血球百分率とは急性白血病で比較的良好に相関することを認めている。私の得た成績では S-LDH 活性と白血球数との間には何ら相関々係は認められず、幼若白血球百分率との間に急性白血病でやや相関々係が認められたにすぎない。又 % LD₃ と白血球数との間には慢性リンパ性白血病で、幼若白血球百分率との間には、急性白血病でやや相関々係が認められた。そして個々の症例における病勢の変動と S-LDH 活性及び % LD₃ のそれとの関係については、34%において明らかな相関々係が認められ、病型別では CML, AML, ついで ALL の順にその頻度が高かった。この点については既に Bierman⁹⁾ は、活性は幼若白血球百分率と比較的良好に相

関しつつ変動すると述べ、Blanchaer⁷⁾ は、活性は殆んどの場合、白血球数と平行して変動すると述べ、更に寛解あるいは増悪を活性から予知出来る場合のあることを指摘している。

一方 Magill¹⁶⁾ は、骨髓像、末梢血液像及び一般状態と活性とは平行して変動することは殆んどなく、ただ慢性骨髓性白血病で67%において平行関係が認められるにすぎないと述べている。要するに S-LDH 活性の上昇と % LD₃ の増加は白血球数の多少に関係なく幼若白血球の増加する場合に認められ、このことは、白血病自体の重症度が白血球数とは関係なく、幼若白血球百分率と相関していることと考えあわせるとき、白血病の病期、治療効果、あるいは予後判定に S-LDH 活性及び isozyme の測定が大きな意義をもつことを示している。

酵素活性の変動の機序については、多くの研究者によつて種々議論がなされている。変動の程度に関係する因子として、細胞構造の破壊を伴う細胞壊死、細胞膜透過性の変化、透過機序の変化、酵素の細胞構成部分との結合状態、酵素の合成速度、細胞内又は血中にある前駆物質の活性化あるいは又不活性化、血中からの移出速度等々の問題が考えられている²⁾ 19)20)21)22)23)24)。

白血病における S-LDH 活性上昇の機序については Blanchaer⁷⁾ は、血管内での白血球の崩壊、血管内容血及び他の LDH 活性の高い組織からの血中移行がその原因であるといい、Bierman²⁵⁾ 及び Hill²⁶⁾ は赤血球の崩壊が原因であるとしたが、Magill¹⁶⁾ はこれに反対して fragile cell からの漏出によるのであろうと述べた。又 Jacobson²⁷⁾ は実験白血病を用いて leukemic tumor cell の分泌亢進又は崩壊により S-LDH 活性上昇が起ると述べたが、これに対し Friend²⁸⁾ その他²⁹⁾³⁰⁾ はマウス腹腔内に白血病細胞を移植すると、腹腔以外に tumor cell が証明される以前に血中及び組織中の LDH 活性が上昇することを報告している。私はこの点に関し、白血病治療薬による治療開始後、白血球数、幼若白血球百分率、S-LDH 活性、isozymepattern 及びプリン代謝の最終産物であり、白血病、悪性腫瘍で増加するといわれている尿酸³¹⁾ の血中濃度を遂時的に測定し、次の様な考察を行つた。

白血病の特徴は白血球の増多ではなくその成熟障害で、白血病細胞は有糸分裂を続けて immortal であるといわれている³²⁾。従つて治療を始めた場合、それが発効する機転として白血病細胞の破壊と、異常

増殖の抑制並びにそれに伴う細胞の死が考えられる。治療に使用した ACTH, steroidhormone³³⁾では後者が、6MP³⁴⁾, Endoxan³⁴⁾では核酸代謝阻害が主なものであるといわれている。私の成績では治療が奏効し難かつた単球性白血病の1例で増悪とともに白血球数、S-LDH活性が最高値を示した時尿酸が最低値を示しており、白血病におけるS-LDH活性上昇は白血球破壊に基くというよりはむしろ主として白血病細胞における酵素合成速度の増大及び細胞からの遊出の亢進によるものと考えられる。治療が奏効して白血球数が減少した場合にはS-LDH活性も平行して低下したが、その際活性は治療開始後12時間目迄は一過性に増加し、一方尿酸は一過性に増加することなく減少するか又は不変であつた。従つて治療後の活性低下は、白血病細胞の数の減少とそれに伴う酵素産生の減少並びに個々の細胞内での酵素合成速度の低下ないし遊出の低下によるものと考えられる。又治療には、全例で副腎皮質ホルモンを使用しているので、尿酸値にはその生体全体に対する異化作用亢進の影響が及んでいると思われるが、その値の変動の中よりみてこれは上記の推論を阻げるものとは考えられない。

一方 S-LDH isozymepattern の変動の機序については、心筋梗塞、急性肝炎については LDH isozyme の臓器特異性を反映することより、組織 LDH の逸脱によるものであることが確められているが、白血病を含む悪性腫瘍についての研究は未だ少い。白血病の場合に心筋梗塞、急性肝炎の場合と同様に白血病細胞に特異的な isozymepattern が存在し、これが血清中にも反映されるものであれば、変動の機序は臓器特異性を反映したものとして極めて容易に理解出来る。

白血病細胞の LDH isozymepattern については、Yakulis⁵⁾等は LD₃, LD₁ が多いと述べ、福留³⁶⁾は

LD₁, LD₂, LD₃ が増加することを報告している。従つて白血病細胞より LDH が血中に逸脱する際 isozyme の各分画については、LD₁, LD₂, LD₃ の増加を来し、その結果として白血病患者に特異的な isozyme pattern を呈するに至るものと考えられる。

第5章 結 語

1. 29例の白血病患者で S-LDH 活性及び isozyme pattern を測定した。活性上昇率は、急性白血病、慢性骨髄性白血病で 100%, 慢性リンパ性白血病で 50%であつた。isozymepattern については、全病型共通して LD₃, LD₂, LD₁ の増加, LD₅ の減少が認められ、このうち最も特徴的と考えられる LD₃ の増加, LD₅ の減少は29例中25例 (86%) において認められた。

2. S-LDH 活性上昇の程度は、急性リンパ性白血病で最も高く、慢性リンパ性白血病で最も低かつた。LD₃ の増加の程度と病型とは無関係であつた。

3. 病勢との関係については、S-LDH 活性及び LD₃ は幼若白血球百分率と相関し、白血球数とは相関しなかつた。

4. 個々の症例における病勢の変動と S-LDH 活性及び LD₃ のそれとの間に29例中10例で明らかな平行関係が認められた。13例においても比較的明らかな相関々係が認められた。

5. 白血病における S-LDH 上昇は、主として白血病細胞内での合成促進及び細胞からの遊出の亢進によるものと考えられる。

稿を終えるに当り御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師平木潔教授並びに日夜御指導を頂いた浅野健夫講師に深甚なる謝意を表します。

(尚本論文の要旨は第23回日本癌学会総会において発表した。)

参 考 文 献

- 1) Hill, B. R. & Levi, C. : Elevation of a serum component in neoplastic disease. *Cancer Res.*, 14 : 513—515, 1954.
- 2) Wróblewski, F. & La Due, J. S. : Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 90 : 210—213, 1955.
- 3) Vesell, E. S. & Bearn, A. G. : Localization of lactic acid dehydrogenase activity in serum fractions. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 94 : 96—99, 1957.
- 4) Markert, C. L. & Møller, F. : Multiple forms of enzymes. Tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S.*, 45 : 753—763, 1959.
- 5) Yakulis, V. J. et al : Agar gel electrophoresis for the determination of isozymes of lactic and malic dehydrogenase. *Am. J. Clin. Path.*, 38 : 378—382, 1962.

- 6) Magill, G. B., Wróblewski, F. & La Due, J. S. : Serum lactic dehydrogenase and serum transaminase in human leukemia. *Blood*, 14 : 870—881, 1959.
- 7) Blanchaer, M. C. et al : Plasma lactic dehydrogenase and phosphohexose isomerase in leukemia. *Blood*, 13 : 245—257, 1958.
- 8) Zimmerman, H. J. & Weinstein, B. S. : Lactic dehydrogenase activity in human serum. *J. Lab. & Clin. Med.*, 48 : 607—616, 1956.
- 9) Bierman, H. R. et al : Correlation of serum lactic dehydrogenase activity with the clinical status of patients with cancer, lymphomas, and leukemia. *Cancer Res.*, 17 : 660—667, 1957.
- 10) White, L. P. : Serum enzymes. II. Glycolytic enzymes in patients with cancer and other diseases. *J. Nat. Cancer Inst.*, 21 : 671—684, 1958.
- 11) 浅野健夫他 : 血液疾患における血清乳酸脱水素酵素とそのアイソザイムの臨床的意義について, *臨床血液*, 5 : 326—332, 1964.
- 12) Wróblewski, F. & Gregory, K. F. : Lactic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissues and plasma and in disease states. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 94 : 912—932, 1961.
- 13) Wieme, R. J. : An improved technique of agar-gel electrophoresis on microscope slides. *Cli. Chim. Acta*, 4 : 317—321, 1959.
- 14) Vander Helm, H. J. : A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isozymes in serum. *Clin. Chem. Acta*, 7 : 124—128, 1962.
- 15) 浅野健夫他 : 実験白血病ハツカネズミの血清乳酸脱水素酵素, *医学と生物学*, 68 : 79—83, 1964.
- 16) Osgood, E. E. et al : The relative rates of formation of new leukocytes in patients with acute and chronic leukemias. *Cancer*, 5 : 331—335, 1952.
- 17) Mc Call, M. S. et al : The tagging of leukemic leukocytes with radioactive chromium and measurement of the in vivo cell survival.
- 18) Beck, W. S. : A kinetic analysis of the glycolytic rate and certain glycolytic enzymes in normal and leukemic leukocytes. *J. Biol. Chem.*, 216 : 333, 1955.
- 19) Amelung, D. et al : Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Frage der Fermentelimination aus dem Serum. *Klin. Wschr.*, 963—970, 1958.
- 20) Bruns, F. H. et al : Studien über die Ursachen des Enzymverlustes der geschädigten Zelle. *Klin. Wschr.*, 342—346, 1961.
- 21) Hauss, W. H. et al : Über Schwankungen von Fermentaktivitäten in der Leber bei experimentellen Eingriffen und bei Infektionskrankheiten. *Klin. Wschr.*, 975—964, 1957.
- 22) Hauss, W. H. & Leppelmann, J. H. : Über Änderung von Fermentaktivitäten in der Leber als Ausdruck einer unspezifischer Reaktion des Organismus. *Klin. Wschr.*, 71—74, 1957.
- 23) Hauss, W. H. et al : Über die Pathogenese und die klinische Bedeutung der Hyperfermentämie. *Dtsch. Med. Wschr.*, 83 : 1310—1315, 1958.
- 24) Gerlach, U. : Enzymaktivität des Serums im akuten syndrom. *Med. Welt*, 16 : 880—884, 1961.
- 25) Bierman, H. R. et al : Correlation of serum lactic dehydrogenase activity with the clinical status of patients with neoplastic diseases. *Proc. Am. Assoc. Cancer Research*, 2 : 5, 1955.
- 26) Hill, B. R. : Some properties of serum lactic dehydrogenase. *Cancer Res.*, 16 : 460—466, 1956.
- 27) Jacobson, K. B. & Nishio, K. : Studies on plasma lactic dehydrogenase in mice with myeloid leukemia. II. On the site of production of the enzyme. *Cancer Res.*, 23 : 344—348, 1963.
- 28) Friend, C. H. & Wróblewski, F. : Lactic dehydrogenase activity of serum in mice with transplantable leukemia. *Science*, 124 : 173—174, 1956.
- 29) Hill, B. R. & Jordan, R. T. : Serum lactic dehydrogenase activity with transplantable leukemia. *Cancer Res.*, 17 : 144—147, 1957.
- 30) Hsleh, K. M. et al : Comparative study of serum lactic dehydrogenase activity in mice with transplantable and induced tumors. *Cancer Res.*, 16 : 237—239, 1956.
- 31) Sandberg, A. A. et al : Studies on leukemia. I. Uric acid excretion. *Blood*, 11 : 154—166, 1956.
- 32) Dameshek, W. & Gunz, F. : Leukemia. Second

- edition. 114—153.
- 33) Dameshek, W. & Gunz, F. : Leukemia. Second edition. 494—497, Cancer Res., 23 : 1574—1579, 1963.
- 34) Bennett, L. L. et al : The primary site of inhibition by 6-mercaptopurine on the purine biosynthetic pathway in some tumors in vivo. 35) Wheeler, G. P. : Studies related to the mechanisms of action of cytotoxic alkylating agents. Cancer Res., 22 : 651—673, 1962.
- 36) 福留 : (未発表)

Studies on Lactic Dehydrogenase Activity and Isozyme in Malignant Disease

Part I. Relationship Between the Serum Lactic Dehydrogenase and the Clinical course of Leukemia

By

Yukio Ōshima

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Kiyoshi Hiraki)

1. Serum lactic dehydrogenase (S-LDH) activity and isozyme were measured in 29 patients with leukemia. The elevated S-LDH levels were demonstrated in all cases of acute leukemias and chronic myelocytic leukemias and in a half of cases of chronic lymphocytic leukemias. The S-LDH isozyme can be identified five fractions by means of agar gel electrophoresis. The changes of pattern of S-LDH isozyme were observed in all types of leukemia. It was the increased third (LD₃), second (LD₂) and first (LD₁) fractions of LDH isozyme and the decreased fifth fraction (LD₅). The most significant fraction in leukemia was LD₃, and the increased LD₃ and decreased LD₅ were observed in 25 of 29 cases (86%).
2. The degree of S-LDH elevation appeared to be the greatest in the acute lymphatic and the smallest in the chronic lymphatic leukemia. The degree of increase of LD₃ was independent on the type of leukemia.
3. As to the correlation of S-LDH with clinical findings, the level of S-LDH and LD₃ well correlated with the percentage of circulating immature leukocytes, but not with the absolute number of leukocyte.
4. The serial S-LDH levels and LD₃ closely paralleled with the clinical courses in 10 cases of 29 patients with leukemia and relatively well paralleled in 13 cases.
5. In regard to possible mechanisms of S-LDH elevation in leukemia, acceleration of biosynthesis of LDH in the leukemic cells and liberation of the enzyme from the cells might be suggested.