

尿中 hCG β -core fragment の子宮頸癌における 腫瘍マーカーとしての臨床的有用性

兵庫県立成人病センター産婦人科

衣笠 万里 西村隆一郎 長谷川和男 岡村 昌幸
木村あずさ 大津 文子 武内久仁生

Assessment of Urinary β -core Fragment of hCG as a Tumor Marker of Cervical Cancer

Masato KINUGASA, Ryuichiro NISHIMURA, Kazuo HASEGAWA,
Masayuki OKAMURA, Azusa KIMURA, Fumiko OHTSU
and Kunio TAKEUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Hyogo Medical Center for Adults, Hyogo

概要 ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) の関連分子種である尿中 β -core fragment (β -CF) の子宮頸癌における腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。健常婦人における検討から、尿中 β -CF の cut off 値を 0.2ng/ml に設定し、子宮頸癌患者における陽性率を調べた。その結果、検討した 128 症例中、57 例 (45%) が陽性となり、臨床期別にみると 0 期 0% (0/9), I 期 32% (23/73), II 期 78% (21/27), III 期 60% (6/10), IV 期 100% (2/2), 再発例 71% (5/7) であった。これらの結果は、同時に測定した血清中の SCC, CEA, CA19-9, CA125 の陽性率と比べ、同等あるいはそれらより高率となつた。しかし、臨床進行期と β -CF の上昇レベルとの間には有意の相関が認められなかつた。また、組織型別の検討では、扁平上皮癌と腺癌との間で β -CF 陽性率に差はみられなかつた。治療前に β -CF が高値であつた症例の多くは、治療後低下傾向を示したが、なかには一過性に上昇した後に正常域に移行する症例も認められた。また治療後 β -CF の再上昇が認められた後に再発が確認された症例が 2 例みられた。抗 hCG β 抗体による免疫組織化学的検索では、術前に β -CF が高値であつた一部の症例において病巣内に hCG β の局在が確認された。

以上の成績より、尿中 β -CF が子宮頸癌の補助診断や治療後の follow-up において新しい腫瘍マーカーとなり得る可能性が示唆された。

Synopsis β -core fragment (β -CF), a fragment of the hCG β -subunit missing its carboxyterminal peptide, can be detected in the urine of women throughout pregnancy or in trophoblastic disease. It is also found in the urine of patients with nontrophoblastic cancers. We examined the β -CF level in urine samples from patients with cervical cancer and assessed its value as a tumor marker. β -CF was measured by an enzyme immunoassay with hCG β -core directed monoclonal antibody No. 229. Based on the cut-off value (0.2ng/ml) from control subjects, the overall positivity rate for urinary β -CF in the cervical cancer group was 45% (57 of 128 patients), increasing from 32% (23 of 73) in stage I to 100% (2 of 2) in stage IV.

These positivity rates exceeded or equaled those of the other markers, SCC, CEA, CA19-9 and CA125, simultaneously measured in the patients' serum. There was no significant difference between the positivity rates for the two histological types of cancer, squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. Serial determination in 28 patients with increased urinary β -CF prior to therapy showed that 24 patients had a decreased concentration after successful treatment, but 2 of 4 patients with still increased urinary β -CF during or after treatment subsequently relapsed. The determination of urinary β -CF may provide a useful tool in monitoring the response to treatment in patients with cervical cancer.

Key words: Cervical cancer • Urine hCG β -core fragment • Tumor marker

緒 言

妊婦尿中にはヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG)

やその遊離型 β -subunit (free hCG β) に加えて、強い hCG β 免疫活性を示す低分子量物質が大量

に含まれている⁶⁾。この物質は hCG β の core 部分に対する抗体に認識されるが、カルボキシ末端部分に対する抗体には結合しないという特性から β -core fragment (β -CF) と名付けられた²⁾。最近、 β -CF が非絨毛細胞性の悪性腫瘍患者の尿中にもしばしば出現することが明らかとなり、腫瘍マーカーとしても注目され始めた⁹⁾¹⁰⁾。既に我々は抗 β -core モノクローナル抗体を sandwich 法エンザイムイムノアッセイ (EIA) に導入して尿中 β -CF の測定系を確立し、血清中にはほとんど hCG β 免疫活性が認められない非絨毛細胞性の癌患者においても、その尿中には高濃度の β -CF が含まれている場合があることを報告した¹⁾。今回は子宮頸癌における β -CF の腫瘍マーカーとしての臨床的有用性について、他のマーカーとの比較も含めて検討したので報告する。

研究方法

1. 測定対象

1989年5月から1990年11月の間に当センターで治療を行った子宮頸癌患者128名を対象として、その治療前後の尿中 β -CF 値を測定した。対照群として健常婦人112名、及び子宮筋腫72名、子宮内膜症20名、卵巢囊腫19名、計111名の良性疾患患者の尿中 β -CF 値を測定した。

2. 尿中 β -CF の測定

測定材料には早朝尿を用いて、既報¹⁾のごとく hCG β -subunit の core 部分を認識する MoAb229、及び抗 hCG β ポリクローナル抗体を用いた sandwich 法 EIA により β -CF 濃度の測定を行った。本測定法では β -CF と同時に free hCG β -subunit も検出されることになるが、患者尿の Sephadex G-100によるゲル濾過溶出プロフィールから本法で検出される尿中 hCG β 様免疫活性の主体は β -CF であると考えられる¹⁾。健常婦人における平均値+2S.D.を参考にして cut off 値を定め、各疾患における陽性率を求めた。

3. 他の血清腫瘍マーカーとの比較

子宮頸癌及び良性疾患症例において同時期に血清中の SCC, CEA, CA19-9及びCA125などのマーカーを測定し、尿中 β -CF と比較した。SCC の測定にはダイナボット社製 SCC-RIA ビーズ

キット (cut off 値: 1.5ng/ml), CEA はペーリンガーマンハイム社製 CEA-EIA キット (cut off 値: 5.0ng/ml), CA19-9及びCA125はいずれもセントコア社製 RIA キットを使用し、cut off 値はそれぞれ37及び35U/ml とした。

4. 腫瘍組織内 hCG β の局在

β -CF が高値であつた症例の手術材料を用いて、免疫組織化学 (ABC 法) により hCG β の腫瘍内局在に関する検討を行った。一次抗体として抗 hCG β -CTP モノクローナル抗体である MoAb207を使用した。免疫染色には DAKO 社の LSAB キットを使用した。

研究成績

1. 尿中 β -CF の腫瘍マーカーとしての cut off 値の検討

112名の健常婦人尿中 β -CF 値の平均値及び標準偏差は、 0.08 ± 0.054 ng/ml であつた。平均値 + 2S.D. から 0.2 ng/ml を cut off 値とすると、6名 (5%) の健常婦人が陽性となり、うち4例は40~50歳台の閉経前後の婦人であつた。しかし、陽性例の β -CF のレベルはいずれも 0.3 ng/ml 以下と低値であり (図1), SCC, CEA, CA19-9, CA125などでは、健常者の陽性率が一般に10%以下であることから、 0.2 ng/ml という β -CF の cut off 値は適当と考えられた。

2. 婦人科疾患における尿中 β -CF 値の分布及び陽性率

cut off 値を 0.2 ng/ml とした子宮筋腫、子宮内膜症、卵巢囊腫などの良性疾患における尿中 β -

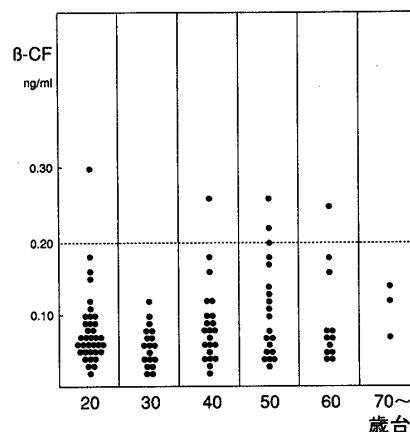


図1 健常女性の年齢別尿中 β -CF 値の分布

CF の陽性率は、それぞれ 8 %, 10 %, 21 % であり、平均値はいずれも 0.12 ng/ml 以下であった。一方、子宮頸癌における陽性率は 45 % であり、その平均値は 0.49 ng/ml であった (図 2)。

子宮頸癌における尿中 β -CF の陽性率を臨床進行期別に比較したところ、0 期 0 %, I 期 32 %, II 期 78 %, III 期 60 %, IV 期 100 % であり、II 期以上の進行癌で高い陽性率が得られた。一方、その平

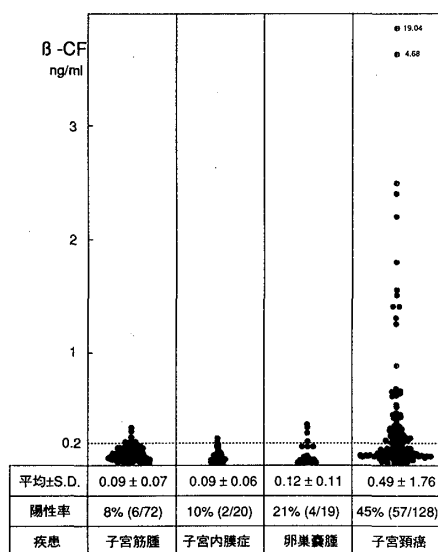


図2 婦人科良性疾患及び子宮頸癌における尿中 β -CF 値の分布

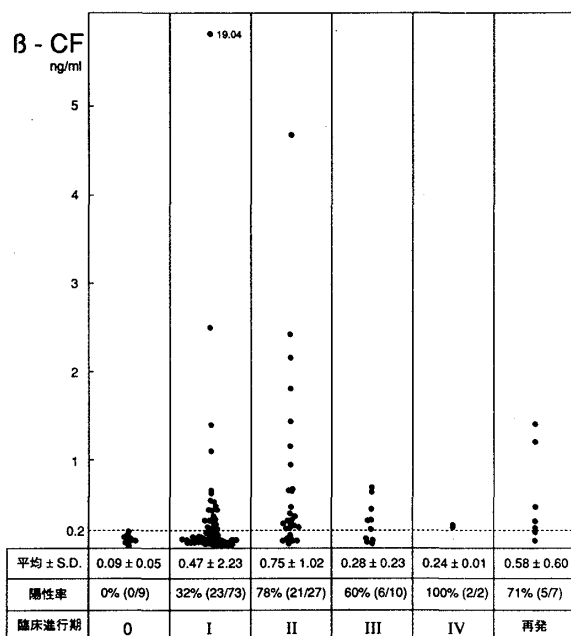


図3 子宮頸癌における尿中 β -CF 値の臨床進行期別分布

均値はII期において最も高く 0.75 ng/ml であり、III 期及びIV 期ではそれぞれ 0.29 及び 0.24 ng/ml とむしろ低い数値であった。再発症例の陽性率は 71 % であり、平均値は 0.58 ng/ml であった (図 3)。I 期以上の子宮頸癌の組織型別に β -CF の陽性率を比較したところ、扁平上皮癌全体では 61 %, 腺癌全体では 56 % であった。一方、平均値はそれぞれ 0.77 ng/ml 及び 0.29 ng/ml であり、扁平上皮癌において高い数値となつたが、扁平上皮癌症例では β -CF レベルの症例ごとのばらつきが大きいため、有意差としては認められなかつた。また組織型の亜分類における比較でも特に差はみられなかつた (図 4)。

3. β -CF と他のマーカーとの比較

良性疾患における陽性率を比較すると、 β -CF の陽性率は全体で 11 % であり、SCC と CEA でそれぞれ 1 % 及び 5 % であったのに比べ高い値となつたが、CA19-9 や CA125 で 20 % 以上であったのに比べると低率であった (表 1)。

ついで子宮頸癌における陽性率を比較したところ、 β -CF は全体で 45 % であったのに比して他のマーカーは、SCC : 31 %, CEA : 21 %, CA19-9 : 26 %, CA125 : 13 % であり、 β -CF が最も高い陽性率を示した。臨床進行期別に比較しても、0 期で

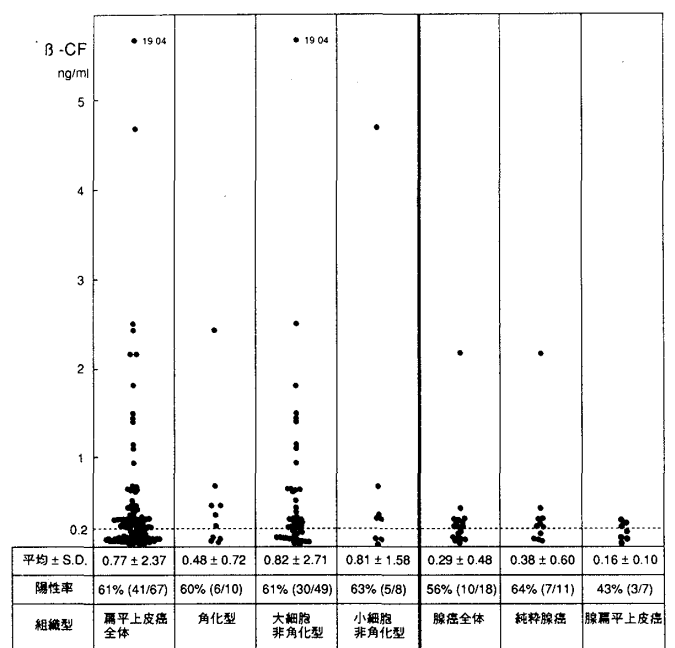


図4 子宮頸癌における尿中 β -CF 値の組織型別分布

表1 婦人科良性疾患における各種マーカーの陽性率

	β -CF	SCC	CEA	CA19-9	CA125
cut off 値	0.2 ng/ml	1.5 ng/ml	5.0 ng/ml	37 U/ml	35 U/ml
子宮筋腫	8%(6/72)	1%(1/72)	4%(3/72)	19%(14/72)	18%(13/72)
子宮内膜症	10%(2/20)	0%(0/20)	0%(0/20)	40%(8/20)	50%(10/20)
卵巣嚢腫	21%(4/19)	0%(0/19)	11%(2/19)	37%(7/19)	26%(5/19)
計	11%(12/111)	1%(1/111)	5%(5/111)	26%(29/111)	25%(28/111)

表2 子宮頸癌における各種マーカーの陽性率（臨床進行期別比較）

	β -CF	SCC	CEA	CA19-9	CA125
cut off 値	0.2 ng/ml	1.5 ng/ml	5.0 ng/ml	37 U/ml	35 U/ml
0 期	0%(0/9)	11%(1/9)	0%(0/9)	33%(3/9)	0%(0/9)
I 期	32%(23/73)	11%(8/73)	15%(11/73)	16%(12/73)	15%(11/73)
II期	78%(21/27)	67%(18/27)	33%(9/27)	41%(11/27)	7%(2/27)
III期	60%(6/10)	70%(7/10)	40%(4/10)	40%(4/10)	10%(1/10)
IV期	100%(2/2)	50%(1/2)	0%(0/2)	50%(1/2)	100%(2/2)
再発	71%(5/7)	71%(5/7)	43%(3/7)	29%(2/7)	14%(1/7)
全体	45%(57/128)	31%(40/128)	21%(27/128)	26%(33/128)	13%(17/128)

表3 子宮頸癌における各種マーカーの陽性率（組織型別比較：I 期以上）

	β -CF	SCC	CEA	CA19-9	CA125
扁平上皮癌（全体）	61%(41/67)	52%(35/67)	28%(19/67)	27%(18/67)	12%(8/67)
角化型	60%(6/10)	60%(6/10)	30%(3/10)	30%(3/10)	20%(2/10)
大細胞非角化型	61%(30/49)	53%(26/49)	24%(12/49)	27%(13/49)	10%(5/49)
小細胞非角化型	63%(5/8)	38%(3/8)	50%(4/8)	25%(2/8)	13%(1/8)
腺癌（全体）	56%(10/18)	22%(4/18)	33%(6/18)	39%(7/18)	22%(4/18)
純粋腺癌	64%(7/11)	18%(2/11)	27%(3/11)	36%(4/11)	9%(1/11)
腺扁平上皮癌	43%(3/7)	29%(2/7)	43%(3/7)	43%(3/7)	43%(3/7)

CA19-9が33%の陽性率を示したことを除けば、いずれの臨床進行期においても β -CFの陽性率は他のマーカーとほぼ同等かそれらより高率となつた（表2）。

組織型別に比較すると、 β -CFは前述のごとく、扁平上皮癌及び腺癌の両者において60%前後の陽性率を示したが、SCCは扁平上皮癌では52%であつたのに比して腺癌では22%と低率であつた。CEAやCA19-9の場合には逆に腺癌で比較的高率であり、CA125はいずれにおいても低い陽性率であつた（表3）。そこで扁平上皮癌に特異性の高いSCCと β -CFとの組み合わせによる陽性率を求め

たところ、浸潤癌85例中、両者のうち少なくとも一方が陽性となつた症例は55例（65%）であつた。またその場合の良性疾患の陽性率は12%であつた。

4. 治療経過に伴う尿中 β -CF値の変動

手術症例における術前後の β -CF値の推移をみると、術前に β -CF陽性であつた26症例のうち、23例は腫瘍の摘出とともに β -CF値が低下したが、3例は術後一過性に増加し、その後低下傾向を示した。また、術後1週間以内に正常化した症例もみられたが、8週間経ても、なおcut off値以上の症例もみられた。術後6週以後に β -CFの再上昇

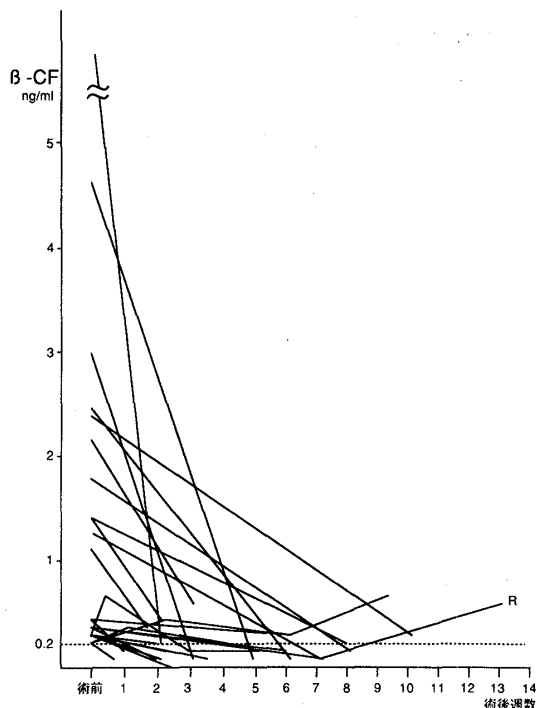


図5 治療前後の尿中 β -CF値の推移(手術症例)
R: 再発症例

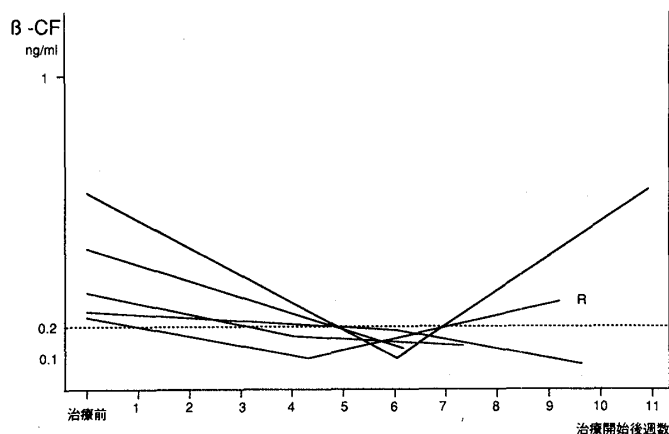


図6 治療前後の尿中 β -CF値の推移(放射線療法, 化学療法症例) R: 再発症例

が認められた2例のうち1例にその後再発が確認された(図5)。

放射線療法あるいは化学療法を行った症例のうち、治療前に β -CF陽性でその後もfollow-upされていた症例は5例あり、いずれも治療開始後に β -CFは正常域に低下したが、2例はその後再上昇を来し、うち1例には再発が確認された(図6)。

6カ月間にわたって尿中 β -CFを測定した子宮頸部腺癌の再発症例を図7に示した。本症例の術

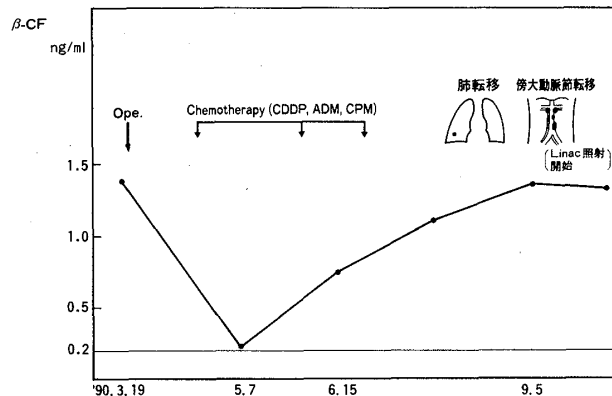


図7 子宮頸部腺癌再発症例における尿中 β -CF値の推移

前 β -CF値は1.39ng/mlであり、術後は0.24ng/mlまで低下した。摘出標本で領域リンパ節転移が確認されたため、CAPによる化学療法を追加したが、 β -CF値の再上昇が認められ、その数カ月後に肺転移及び傍大動脈リンパ節転移が確認された。

5. 子宮頸部病巣におけるhCG β の局在

尿中 β -CF値が0.5ng/ml以上の高値を示した18症例中9例においてその病巣中にhCG β の局在が確認された。写真1は扁平上皮癌の4症例で、術前の尿中 β -CF値はそれぞれ1.14ng/ml(症例1)、1.8ng/ml(症例2)、19.04ng/ml(症例3)及び4.68ng/ml(症例4)であつた。hCG β の陽性像は癌胞巣の辺縁部分の癌細胞に局限して認められた。

考 案

今回の検討で子宮頸癌患者の尿中で β -CFが高率に検出され、これが腫瘍マーカーとして臨床応用され得る可能性が示唆された。 β -CFは他のマーカーが10%台の陽性率しか示さないI期においても32%と比較的高い陽性率を示し、更に進行癌においても他のマーカーと同等、あるいはそれ以上の陽性率を示したことから、その特徴としてまず腫瘍検出感度が比較的高いことが挙げられる。また β -CFは特定の病理組織型との関連性が認められず、この点で扁平上皮癌に特異性の高いSCC⁽⁴⁾⁽⁵⁾とは対照的であり、両者のコンビネーションアッセイにより、子宮頸部浸潤癌全体の陽性率は65%に高められた。特に β -CFは、近年増加傾向にあるといわれるが適当な腫瘍マーカーがなかつ

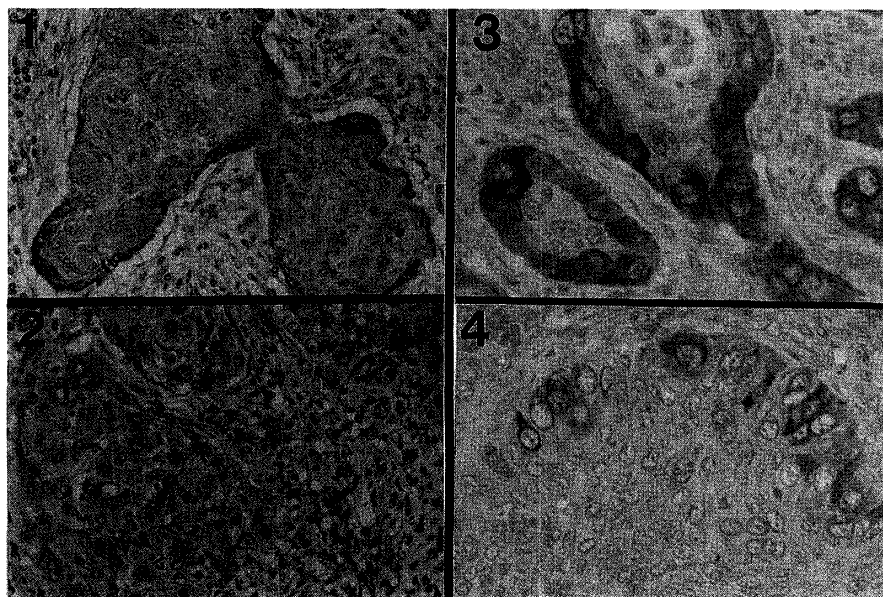


写真1 子宮頸癌(扁平上皮癌)におけるhCG β の局在. MoAb207(抗 β -CTP抗体)を使用. 4症例ともに, 癌胞巢の辺縁部分の癌細胞にhCG β の局在が認められる.

た頸部腺癌の補助診断への応用が期待できる.

腫瘍マーカーのレベルは必ずしも腫瘍の容積や進展の程度と直線的な相関を示すとは限らないことが知られているが, 今回の検討でも子宮頸癌III, IV期における β -CFの平均レベルはII期に比べてむしろ低い数字であつた. 免疫組織化学的検討の結果, すべての腫瘍細胞にhCG β の局在が観察されるわけではなく, 癌胞巢の辺縁部分に比較的限局したものであり, 腫瘍容積とhCG β 産生量が必ずしも相関しない可能性も窺われる. hCG β 産生が腫瘍細胞の生物学的特質や宿主とのinteractionなどの影響を受けている可能性も考えられ, 細胞周期などとの関連性を現在検討中である.

尿中マーカーであることから腎機能の影響を受けやすいことも考えられるが, 今回の症例の中には重症の腎不全患者は含まれておらず, 直接の関係はないものと思われる. ただし今回はIII, IV期合わせて12例と比較的少数であつたことから, 今後症例を重ねて検討を進める予定である.

治療経過に伴う尿中 β -CF値の推移から, これを治療経過や予後管理の指標としても臨床応用し得ることが示唆された. すなわち, 手術症例ではほとんどの症例で腫瘍の摘出とともにその低下が認められ, 放射線や化学療法を施行した症例でも

経過良好例では同様にその正常化が認められ, 治療効果をよく反映していた. しかし, そのなかで尿中 β -CF値が術後一過性に増加した症例が3例認められた. それらはその後正常域へと低下したが, 今後症例を重ね, 尿中 β -CFの減衰態度を検討する必要がある. また治療後数週間経てから再上昇を認めた4症例のうち2例には再発が臨床的に確認された. 残り2例には今のところ再発は確認されていないが, 厳重なfollow-upを行つている. 子宮頸癌再発においては β -CF陽性例は7例中5例(71%)であつた. 図7に示した頸部腺癌の症例では臨床的に再発が確認された時点よりも約2カ月先行して β -CFの再上昇が認められていることから, 再発の早期診断の一助となる可能性が示唆された. 再発の早期診断は腫瘍マーカーに寄せられる大きな期待の一つであり, Kato et al.⁴⁾⁵⁾は子宮頸癌の再発診断におけるSCCの“lead time”が平均2~3カ月であつたと報告している. 今後 β -CFについても治療後患者のデータを継続的に蓄積し, 再発の早期診断における有用性を検討する予定である.

β -CFの由来はいまだ明らかではないが, 尿中でのみ認められ, 血中では検出されないことや²⁾⁶⁾⁸⁾¹⁰⁾, その構造がhCGの β -subunitの一部

と全く同じである³⁾ことなどから、血中に分泌された hCG β を前駆体とした尿中代謝産物とする意見が有力である^{7,11)}。今回の検討でも、全症例の血清中で β -CF を検出できなかつたが、尿中 β -CF 値の高い症例では血清でも微量ながら free hCG β が検出された。更にここで示したように、尿中 β -CF 値が 0.5ng/ml 以上であつた症例の癌病巣では hCG β の局在がしばしば確認された。このことは β -CF の尿中代謝産物説を支持するものと考えられるが、しかしわずかな血中 hCG β 免疫活性が、尿中で相当量の β -CF として検出されるメカニズムはなお不明である。

一方、 β -CF 測定の問題点として以下の諸点に留意が必要である。まず尿中物質であるため、日内変動や日差変動が起こりやすいであろうと考えられ、その影響を少なくするためにはサンプルとして早朝尿が適当と思われるが、同時測定した尿中クレアチニン値による補正による検討では随時尿との差異をほとんど認めなかつた。また妊婦尿中には大量に含まれているので、妊婦はもちろん、分娩後、流産後の女性は対象外となる。したがって β -CF 陽性例に対しては月経歴、妊娠歴に関する再確認が必要である。更に閉経前後の婦人でやや高値をとる傾向にあるので注意を要する。

以上の成績から、尿中 β -CF は子宮頸癌の新しい腫瘍マーカーとして今後の臨床応用が期待される。更に、他の婦人科悪性腫瘍、あるいは肺癌、消化器癌、泌尿器癌などの患者尿中においてもしばしば β -CF の増加が認められており、将来広範囲にわたるスクリーニングマーカーとして利用しうる可能性があり、目下検討中である。

本研究は平成2年度厚生省がん研究助成金(課題番号2-17)の補助を受けた。

文 献

1. 西村隆一郎, 小林 潔, 勝野 誠, 小林高久: 尿中 β -core fragment の存在様式に関する基礎的検討とその測定系の確立. 日産婦誌, 42 : 143, 1990.
2. Amr, S., Rosa, C., Wehman, R., Birken, S. and Nisula, B.: Unusual molecular forms of hCG

- in gestational trophoblastic neoplasia. Ann. Endocrinol. (Paris), 45 : 321, 1984.
3. Birken, S., Cole, L.A., Armstrong, E.G., Kolks, M.A.G., Agost, G.M., Krichevsky, A. and Canfield, R.E.: The structure of the human chorionic gonadotropin beta core fragment from pregnancy urine. Endocrinology, 123 : 572, 1988.
4. Kato, H.: Studies on the special tumor marker of cervical cancer of the uterus. Semin. Surg. Oncol., 3 : 55, 1987.
5. Kato, H., Tamai, K., Morioka, H., Nagai, M., Nagaya, T. and Torigoe, T.: Tumor antigen TA-4 in the detection of recurrence in cervical squamous cell carcinoma. Cancer, 54 : 1544, 1984.
6. Kato, Y. and Braunstein, G.D.: β -core fragment is a major form of immunoreactive urinary chorionic gonadotropin in human pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab., 66 : 1197, 1988.
7. Nishimura, R., Ide, K., Utsunomiya, T., Kitajima, T., Yuki, Y. and Mochizuki, M.: Fragmentation of the β -subunit of human chorionic gonadotropin produced by choriocarcinoma. Endocrinology, 123 : 420, 1988.
8. Nishimura, R., Kitajima, T., Hasegawa, K., Takeuchi, K. and Mochizuki, M.: Molecular forms of human chorionic gonadotropin in choriocarcinoma serum and urine. Jpn. J. Cancer Res., 80 : 968, 1989.
9. O'Connor, J.F., Schlatterer, J.P., Birken, S., Krichevsky, A., Armstrong, E.G., McMahon, D. and Canfield, R.E.: Development of highly sensitive immunoassays to measure human chorionic gonadotropin, its β -subunit, and β -core fragment in the urine: Application to Malignancies. Cancer Res., 48 : 1361, 1988.
10. Papapetrou, P.D., Sakarelou, N.P., Braouzi, H. and Fessas, P.H.: Ectopic production of human chorionic gonadotropin (hCG) by neoplasms. Cancer, 45 : 2583, 1980.
11. Puisieux, L., Bellet, D., Troalen, F., Razafindratsita, A., Lhomme, C., Bohuon, C. and Bidart, J.-M.: Occurrence of fragmentation of free and combined forms of the β -subunit of human chorionic gonadotropin. Endocrinology, 126 : 687, 1990.

(No. 7082 平3・10・7受付)