頭頸部癌患者における CYFRA21-1 の意義

小川 晃弘・西崎 和則・赤木 博文・鶴迫 裕一
西岡 慶子*・小田 一成*・木村 宣彦*

CYFRA21-1 as a Tumor Marker in Patients with Malignant Head and Neck Tumor

Teruhiro Ogawa, Kazunori Nishizaki, Hirohumi Akagi and Hirokazu Tsurusako
(Okayama University Medical School)

Keiko Nishioka, Kazunari Oda and Nobuhiko Kimura
(Hiroshima City Hospital)

It is well known that cytokeratin 19 is particularly abundant in squamous cell carcinoma of the lung. CYFRA21-1 was developed to detect soluble cytokeratin 19 fragment in serum using two specific monoclonal antibodies.

We investigated the usefulness of this new marker compared with that of carcinoembryonic antigen (CEA), and squamous cell carcinoma antigen (SCC) using 52 serum samples from patients with head and neck malignancies.

Of 50 cases of head and neck carcinomas, CYFRA21-1 was positive (>2.0 ng/ml) in 21 cases (42.0%) while SCC was found in 9 cases and CEA in 8 cases. Therefore CYFRA21-1 was proven to be a more useful tumor marker than SCC or CEA.

We analyzed the results statistically, and found that age and site of lesion (larynx) were factors affecting CYFRA21-1 concentration. The serum CYFRA21-1 level was also demonstrated to be independent of the other two markers. However, we could not determine the cut-off level of serum CYFRA21-1.

Key words : CYFRA21-1, CEA, SCC, tumor marker, head and neck malignancies

はじめに

腫瘍患者の治療経過を追跡する際に各種の腫瘍マーカーは部位特異性を持ち、潜在癌の検出や治療効果の判定あるいは治療後の再発や転移を検知する上で、また予後の判定に重要な役割を持っている。しかるに頭頸部領域では、肝、肺、膵、前立腺におけるような有用で優れたマーカーがいまだ存在しない。このたび我々は肺癌で優れたマーカーとして脚光を浴びている CYFRA21-1 (シフラ)が、頭頸部癌の腫瘍マーカーとして臨床上有用

であるかどうかを、さらには CYFRA21-1 値に影響する因子を重回帰分析にて検討した。

対象および方法

症例は平成6年9月から12月まで、広島市民病院耳鼻咽喉科における外来および入院の頭頸部癌患者の中から、無作為に50症例を選びこれを悪性群とし、従来から腫瘍マーカーとして用いていた血清 SCC および CEA に CYFRA21-1 を加えその濃度を測定した。

次に年齢, 性, 部位, 組織型, 分化度, 病期, 喫煙, 飲酒, 現状等の背景因子を調査し, 各因子の CYFRA21-1 値に対する影響をまず単変量解析として各因子別に有意差を検定した. また多変量解析として重回帰分析を行い, 各マーカー間の相関を調べることにより統計的に分析した.

また正常成人116人につき, 各1回血清 CYFRA21-1 を測定しこれをコントロール群とした. そしてあらかじめカットオフ値を 2.0 ng/ml として, CYFRA21-1 の陽性頻度について悪性群と有意差があるかどうかを検定した. またこのカットオフ値が頭頸部癌の診断についての妥当な基準であるかどうかを統計的に検討した.

頭頸部患者については期間中基本的に月1回各マーカーの測定を行い, 極端な測定値を示すものは除いて原則的に初回の測定値で検討した. 各マーカーのカットオフ値は CYFRA21-1 については 2.0 ng/ml, SCC は 1.5 ng/ml, CEA は 2.5 ng/ml とした. 測定は CYFRA21-1 は EIA 法, SCC および CEA は RIA 固相法によった.

これらの結果についての分析は SAS 統計解析ソフトにより行った.

結 果

悪性群の内訳は部位でみると舌・口腔10例, 中咽頭5例, 下咽頭7例, 喉頭19例, その他9例で, 組織型は扁平上皮癌44例, 腺癌6例で, 比較検討のために扁桃悪性リンパ腫と上咽頭形質細胞腫の各1症例も測定した.

悪性群の50症例における CYFRA21-1, SCC, CEA の各平均値(標準偏差)は, 3.42 ng/ml (10.17), 1.17 ng/ml (1.48), 1.64 ng/ml (1.15) であった.

各項目毎のマーカー陽性率は表1のようになる. CYFRA21-1 では年齢的に高齢になるほど陽性率が高くなる傾向があり, 性差は殆どない点で, SCC や CEA とは異なる. また部位による陽性率の差異は SCC や CEA に比して小さいが, 喉頭癌ではやや陽性率が低いことがわかる. すべてのマーカーで病期の進行と陽性率の変化に明らかな傾向は認めない. 組織型では CEA と同様扁平上皮癌と腺癌とで差異がなく, SCC が扁平上皮癌で陽性率が高いのと対照的である. 扁平上皮癌でみた分化度と陽性率の関連はいずれのマーカーとも明らかなものはなかった. 喫煙や飲酒との関連はすべてのマーカーとも認めていない. 今回比較のため測定した悪性リンパ腫と形質細胞腫の各1例(組織型『その他』の欄)は

いずれも3つのマーカーとも陰性であった.

一方コントロール群116人の内訳は男性66人, 女性50人で平均年齢31.4歳(標準偏差6.8), CYFRA21-1 は平均値(標準偏差)は, 1.77 ng/ml (0.57) で, 陽性者は33例(22.0%)であった.

統計解析

1. 悪性群について

(1) 有意差検定

予後因子が分類変数の場合は水準間比較として 1-way ANOVA 法, 予後因子が連続変数の場合(年齢)は, Pearson 積率相関係数で比較した. なお喫煙指数(BI), 酒指数についてはそれぞれ400と10をカットオフ値とし, 2値データとして検討した. 結果はいずれも p 値で評価した.

結果は表2のごとく年齢については CYFRA21-1 との間に正の関連性が認められたが, 他の因子とは有意の相関を認めなかった.

(2) 各マーカー測定値間の相関

極端な高値を呈する2症例を除外して, 48例の頭頸部癌患者の各マーカー間の Pearson 積率相関係数を求めたところ, 図1のごとく CYFRA21-1 と CEA および SCC との相関は認めなかった.

(3) 重回帰分析

前述の単変量解析に加えて重回帰分析も行った. すなわち年齢, 性, 部位, 組織型, 分化度, 病期, 喫煙(Brinkman 指数), 飲酒(酒指数)および現状(担癌か非担癌か)を説明変数, CYFRA21-1 濃度を目的変数とする重回帰分析を行い, さらに逐次選択法により影響を及ぼしている因子の探索を試みた. この中で変数のうち, 年齢, 病期以外はすべて表3の如くダミー化した変数を用いたモデルを作成した. 逐次選択法は変数増減法, および変数減少法により選択した. 変数出し入れ時の有意水準は共に0.20とした. 変数選択に先立ちデータ診断を実施し, 全説明変数の測定値の漏れの無い症例の中で極端に高値を示す4症例を除外し, 37例につき検討を加えた.

これにより『年齢』『部位が喉頭か否か』の2つの説明変数が有効な変数として選択され, 偏回帰係数は前者が+0.623, 後者が, -0.460でありそれぞれ順方向と逆方向に寄与すると考えられた. p 値は0.0052でかなり良いモデルと言え, R-square は0.2661 となり, このモデルで CYFRA21-1 の示す変動の約27%を説明できると

表 1 頭頸部癌患者の各項目毎のマーカー陽性数, 陽性率

	分 類	例数	CYFRA 21-1	SCC	CEA
年 齢	～59	16	6 (37.5%)	3 (18.8%)	2 (12.5%)
	60～70	18	5 (27.8%)	0 (0.0%)	2 (11.1%)
	70～79	13	6 (46.1%)	5 (38.5%)	4 (30.8%)
	80～	5	4 (80.0%)	1 (20.0%)	0 (0.0%)
	全症例	52	21 (40.4%)	9 (17.3%)	8 (15.4%)
性 別	男 性	42	17 (40.5%)	9 (21.4%)	8 (19.0%)
	女 性	10	4 (40.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
部 位	喉 頭	19	6 (31.6%)	4 (21.1%)	1 (5.2%)
	下咽頭	7	3 (42.9%)	1 (14.3%)	1 (14.3%)
	舌・口腔	10	5 (50.0%)	2 (20.0%)	2 (20.0%)
	中咽頭	6	3 (50.0%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)
	その他	10	5 (50.0%)	1 (10.0%)	3 (30.0%)
病 期	stage I	9	4 (44.4%)	1 (11.1%)	1 (11.1%)
	stage II	9	4 (44.4%)	2 (22.2%)	2 (22.2%)
	stage III	25	12 (48.0%)	4 (16.0%)	4 (16.0%)
	stage IV	4	1 (25.0%)	1 (25.0%)	0 (0.0%)
	全症例	47	21 (44.7%)	8 (17.0%)	7 (14.9%)
組織型	扁平上皮癌	43	18 (41.9%)	9 (20.9%)	7 (16.3%)
	腺 癌	7	3 (42.9%)	0 (0.0%)	1 (14.3%)
	その他	2	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	全症例	52	21 (40.4%)	9 (17.3%)	8 (15.4%)
分化度	高分化型	18	7 (38.9%)	2 (11.1%)	3 (16.7%)
	中分化型	15	7 (46.7%)	2 (13.3%)	2 (13.3%)
	低分化型	0	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
喫 煙 (BI)	非喫煙	15	6 (40.0%)	0 (0.0%)	1 (6.7%)
	～ 600	7	4 (57.1%)	1 (14.3%)	3 (42.9%)
	600～1200	17	5 (29.4%)	5 (29.4%)	2 (11.8%)
	1200～	13	6 (46.2%)	2 (15.4%)	2 (15.4%)
飲 酒 (酒指数)	非飲酒	35	15 (42.9%)	5 (14.3%)	6 (17.1%)
	60未満	11	3 (27.3%)	2 (18.2%)	1 (9.1%)
	60以上	6	3 (50.0%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)

判断された. すなわち重回帰分析の結果下記の計算式が最も CYFRA21-1 値を良く表現していることになる.

$$\text{CYFRA21-1} = -1.39 + 0.60 \times (\text{年齢}) - 1.0 \times (\text{部位}^*)$$

* 喉頭; 1 喉頭以外; 0

2. 悪性群とコントロール群との比較

(1) 有意差検定

コントロール群にみられた CYFRA21-1 の測定値 < 1.0 ng/ml の 14 症例を 0.50 として t-検定と Wilcoxon 2 標本検定を, また同症例を除外して別個に t-検定を行

った. 一方カットオフ値 2.0 を用いて 2 値化した後, その出現頻度について χ^2 検定を行ったが, いずれも有意差を認めなかった.

(2) カットオフ値の妥当性について

悪性群とコントロール群について, CYFRA21-1 の分布を調べるために Box-Whisker plot を作成した. すると悪性群とコントロール群で CYFRA21-1 の分布は殆ど重なってしまうことがわかった. すなわちこのデータからはカットオフ値のデータの妥当性を論ずるには無理があることが分かる. そしてこのことは上述の χ^2 検定

表 2 有意差検定結果

1-way ANOVA による検定

分類変数	p 値	判 定
性	0.7779	有意差なし
部 位	0.9859	有意差なし
組織型	0.7199	有意差なし
分化度	0.7812	有意差なし
担 癌	0.4122	有意差なし
BI	0.4768	有意差なし
酒指数	0.6340	有意差なし

Pearson 積率相関係数による検定

連続変数	p 値	判 定
年 齢	0.0083*	有意差あり

相関係数 ; 0.37657 *P<0.01

(上段;Pearson積率相関係数 下段;p値)

図 1 各マーカー間の相関係数

表 3 各変数の数値化(ダミー化)

性	男性	: 1	女性	: 0
部 位	部位 1 (中咽頭)	: 1	その他	: 0
	部位 2 (下咽頭)	: 1	その他	: 0
	部位 3 (喉 頭)	: 1	その他	: 0
	部位 4 (上咽頭)	: 1	その他	: 0
組織型	型 1 (腺 癌)	: 1	その他	: 0
分化度	度 1 高分化	: 1	その他	: 0
	度 2 中分化	: 1	その他	: 0
現 状	担癌	: 1	非担癌	: 0
BI	400以上	: 1	400未満	: 0
酒指数	10以上	: 1	10未満	: 0

※ 年齢, 病期はそのままの数値を用いた。

で, p 値が約0.6と大きい値を取っていることともよく一致している. そこでカットオフ値を1.62から3.00まで段階的に変化させた時の ROC 解析を追加し, これにより CYFRA21-1 値 2.10 ng/ml がこの範囲内で最も妥当なカットオフ値との結果が得られた.

考 察

腫瘍マーカーとして肺扁平上皮癌では CYFRA21-1, 肺小細胞癌では NSE (neuron specific enolase), 肝癌では AFP (α -fetoprotein), 膵・胆道癌では CA19-9, 前立腺癌では PSA (prostate-specific antigen) が汎用されているが, 頭頸部ではこのような有用なマーカーはいまだ存在しない. 従来 SCC や CEA をルーチン検査として, 原疾患の局所再発やリンパ節あるいは遠隔転移, また重複癌発生の監視などの目的で用いてはきたが, その陽性率の低さから重要視されることはなかった.

サイトケラチン (cytokeratin) は, 細胞骨格をなす蛋白質の 1 種で, 上皮細胞あるいは上皮由来の腫瘍細胞に特異的にみられる. Broers ら¹⁾は肺癌におけるサイトケラチンの亜分画を研究し, 染色性が組織型, 分化度に依存することを示唆し, 19の亜分画の内サイトケラチン 19は扁平上皮癌や腺癌でしばしば認め, 一方小細胞癌では稀であるとした. また分化度の低い細胞に高頻度に存在することを示した. さらに Stieber ら²⁾はサイトケラチン 19に対する複数のモノクローナル抗体を用いて測定法を開発し血中サイトケラチン 19フラグメントの測定を可能にした.

我々は初回例, 再発例また治療前あるいは治療後の症例を含めて52例の腫瘍患者について3つのマーカーすなわち CEA, SCC と CYFRA21-1 を加えて検討した. もともと SCC は扁平上皮癌に特異的とされ, CEA は腺癌に特異的といわれていたが, その頭頸部での有用性は少ない. また CYFRA21-1 は肺扁平上皮癌に特異的なマーカーとして重視され, 食道癌や子宮癌でも高値を示すことが報告されているが, いまだ頭頸部領域では汎用されていない^{3,4)}. 今回の検索により, 頭頸部領域においては肺扁平上皮癌における85.0%といった高い陽性率は得られなかったが, 従来のマーカーに比べより高い陽性率が得られた^{3,5)}. また再現性が高く測定値が安定しており極端な変動を示した症例はなかった.

CYFRA21-1 値の背景因子に対する多変量解析結果より, 年齢が高くなると陽性率が高くなるが, これは加齢

による肺の器質的变化などが関与しているかも知れない。また部位については喉頭では陽性率が低くなることがわかり、これは喉頭癌の腫瘍量が他の部位に比して少ないことが関与していると予想される。肺癌では年齢に影響されないとされている点で異なる⁵⁾。

つぎに病期ごとの分類では、進行に従い陽性率が高くなることはなかったが、これは頭頸部全般にみられる特殊性によるものと考えている。すなわち1つには、この領域は腫瘍量が少ないことに起因していることが推測される。また肺扁平上皮癌と食道扁平上皮癌でかなり陽性率が異なるように、同じ扁平上皮癌でも頭頸部には多様な部位を包含しており、部位によって CYFRA21-1 陽性率に差異が生じることが予想される。実際喉頭では32%程度の陽性率だが、舌・口腔、中咽頭では50%と高くなっている。これが単に腫瘍量の反映なのか、部位における質的差異の反映なのかは、今後の検討課題と思われる。

カットオフ値を2.0 ng/ml とした場合 CYFRA21-1 は頭頸部癌では42%と陽性率は高いが、SCC および CEA との組み合わせで、さらに診断効率が高まることが期待できる。またいったん CYFRA21-1 陽性を示した症例は、その後安定しており、陰性例とは臨床経過が異なっている。実際 stage I でかなりの陽性例がみられるが、stage IV でも陰性例がみられる。よって CYFRA21-1 の陽性症例と陰性症例の差異は何に起因するかを臨床的あるいは病理組織学的に検討、検索していくことも今後の課題である。

頭頸部領域でのカットオフ値の設定について、今回正岡ら⁶⁾の推奨する2.0 ng/ml を用いたが、他科では3.0 ng/ml あるいは3.5 ng/ml とする報告もあるが⁷⁾、診断効率に大きく影響することであり特に重要な問題である。我々の50症例の ROC 解析からは、2.10 ng/ml が最も至適と判断されたことからこの領域でもカットオフ値2.0 ng/ml として大きな問題はないと判断された。

頭頸部領域では肺癌に比して全般に低い値を示し、どうしてもカットオフ値を低く設定しないと偽陰性が増加する。しかしカットオフ値を低く設定すれば一方で偽陽性が増えてくる事になり矛盾をはらんでいる。2.0 ng/ml をカットオフ値とすると15~25%の偽陽性症例が出てくるといわれており⁶⁾、我々のコントロール群でも33例(22.0%)の偽陽性が出た。今後さらに症例が増えれば、頭頸部独自のあるいはさらに細かい部位別の特異

的な適正値が得られてくることが予想される。

悪性群とコントロール群との比較により CYFRA21-1 の頭頸部癌における診断的意義は少ないと判断された。しかし以前からいわれるように CYFRA21-1 の測定値が安定している⁸⁾⁹⁾、CYFRA21-1 陽性症例は以後の値の変動に注意して見ていく必要がある。また肺癌、食道癌、および子宮癌等の重複癌の早期発見にも意義があることが予想される。

頭頸部領域では腫瘍マーカーとして CYFRA21-1 単独では十分満足のいく結果を得られていないので、施行にやや困難は予想されるものの、非癌症例や良性疾患で検索を積み重ねて、また他の腫瘍マーカーとの併用すなわち combination assay によりさらに診断率を上げる努力をすべきである。医療経済の点からも既存する適切なマーカーの用い方についての検討をしていくべきであろう。経過中手術や化学療法によってどのように修飾されるかについても追求、検討していく必要がある。

さらに CYFRA21-1 は SCC や CEA と異なり喫煙に影響されることが少ないとされる一方、肺線維症や間質性肺炎や代謝異常を伴う糖尿病あるいは慢性肝疾患で CYFRA21-1 が高値になることが指摘されており、これらについても留意する必要がある。

結 論

1) 頭頸部癌50症例で、CYFRA21-1 はカットオフ値を2.0 ng/ml と設定した場合42%と、SCC の18%や CEA の16%に比して高い陽性率が得られた。

2) 病期別にみると早期から CYFRA21-1 の陽性率は高値を示したが、病期が進行しても陽性率は高くならなかった。

3) 組織型および分化度については、扁平上皮癌、腺癌いずれでも陽性率は高かったが、分化度との関連は明らかでなかった。

4) CYFRA21-1 値は、SCC や CEA 値との相関はなく独自の値を呈示している。

5) 多変量解析結果では、加齢と部位が CYFRA21-1 の値に影響を与える因子であることが示された事は興味深い。

6) CYFRA21-1 のカットオフ値にする評価は確定しなかったが、ROC 解析からは2.10 ng/ml が至適と判断された。

本論文の御校閲をいただいた岡山大学耳鼻咽喉科教授増田
游先生に深謝いたします。

また本研究に終始御協力をいただいた株式会社エスアールエ
ル諸氏に深謝いたします。

参考文献

- 1) Broers J, Ramaekers F, Klein RM, et al : Cytokeratin in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies. *Cancer Res* **48** : 3221~3229, 1988.
- 2) Stieber P, Bodenmuller H, Banauch D, et al : Cytokeratin 19 fragments; a new marker for non-small-cell lung cancer. *Clin Biochem* **26** : 301~304, 1993.
- 3) Doweck I, Barak M, Greenberg E, et al : Cyfra21-1; a new potential tumor marker for squamous cell carcinoma of head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **121** : 177~181, 1995.
- 4) Ferdeghini M, Gadducci A, Annicchiarico C, et al : Serum Cyfra21-1 assay in squamous cell carcinoma of the zcervix. *Anticancer Res* **13** : 1841~1844, 1993.
- 5) 佐藤浩昭, 柳生久永, 角 昌晃, 他 : 肺癌における血清 CYFRA. 癌と化学療法 **21** : 795~799, 1994.
- 6) 正岡 昭, 深井一郎, 有吉 寛, 他 : ヒトサイトケラチン19フラグメント (CYFRA21-1) の肺癌血清腫瘍マーカーとしての臨床的有用性. *肺癌* **34** : 209~221, 1994.
- 7) 河合 忠, 大久保昭行, 長谷川鎮雄, 他 : 新しいマーカーシフラの EIA 測定法による基準値, カットオフ値, 診断的特異度・感度の検討. *機器・試薬* **16** : 1232~1239, 1993.
- 8) Ebert W, Dienemann H, Moghadam AF, et al : Cytokeratin 19 fragment Cyfra21-1 compared with Carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen and neuron-specific enolase in lung cancer. *Eur J Biochem* **32** : 189~199, 1994.
- 9) 木村良子, 阿多まり子, 中村誠治, 他 : サイトケラチン測定キットとして新しく開発された “ボールエルザ CYFRA21-1” の有用性の検討. *核医学* **31** : 199~206, 1994.

(原稿受付 : 平成 7 年 6 月 27 日
原稿採択 : 平成 7 年 9 月 6 日
別刷請求先 : 小川晃弘
〒700 岡山市鹿田町2-5-1
岡山大学医学部耳鼻咽喉科学教室)