— 原 著 —

原発性肺癌患者における各種腫瘍マーカーの臨床的検討

島袋 全哲

日本医科大学臨床病理学教室 (主任: 仁井谷久暢教授)

A clinical evaluation of the versatility of various tumor markers in
diagnosing the primary carcinoma of the lung

Zentetsu Shimabukuro

Department of Clinical Pathology, Nippon Medical School

In this study, the author has evaluated the diagnostic versatility of the neuron specific enolase (NSE), carcinoembryonic antigen (CEA), tissue polypeptide antigen (TPA), and serum antigens (KA 32, KA 93) which are detected by anti-human lung carcinoma monoclonal antibodies (KM 32, KM 93) in patients before initiating any treatment. The positive rates of the serum NSE, CEA, TPA, KA 32 and KA 93 in all patients suffering from lung carcinoma were 31.4% (32/102), 52.8% (56/106), 63.3% (62/98), 52% (13/25) and 20% (24/120) respectively. Serum NSE was positive in 80.8% (21/26) of patients suffering from small cell type lung carcinoma (SCLC) and the mean value (32.7 ± 25.4 ng/ml) was significantly higher than those of other varieties of lung carcinoma. The positive rate of serum CEA in adenocarcinoma (70.2%) was significantly higher than those of squamous cell carcinoma (22.2%). There was no significant statistical difference in positive rates of TPA in various histological types of lung carcinoma. The NSE and CEA were 44.0% (22/50) and 70.6% (36/51) in the stage IV disease and they appeared to reflect the progress and extent of the disease. The TPA tended to show a positive rate even at the initial stage of the disease, but, it was noteworthy that this disclosed a relatively high false positive rate of 54.2% (13/24). Moreover, determination of the serum NSE was performed chronologically. A lowered serum NSE value was confirmed in all cases which responded to the therapeutic attempts and unchanged values or even elevated values were noted in cases which showed no favourable response or rapid progression of the disease.

It was also noteworthy that the serum NSE elevation was found 2-6 weeks prior to the clinical confirmation of the recurrence of the tumor in three patients suffering from SCLC. Based on these observations, it is suggested that the serum NSE may serve as a versatile tumor marker in monitoring the stage of disease, effectiveness of the therapeutic attempts and prediction of the possibility of the recurrence in SCLC. However, in view of the fact that some of the cases that obviously demonstrated clinical evidence of tumor recurrence failed to show elevation of the NSE, caution should be exercised in evaluating the alteration of the positive rates. The monoclonal antibody that works against human lung squamous cell carcinoma (KM 32) and antibody that works against human lung adenocarcinoma (KM 93) were isolated and purified. The sandwich ELISA method, using these antibodies for diagnosing lung carcinoma has been attempted.

The positive rate of the serum KA 32 was 50% (4/8) in squamous cell carcinoma, 31.3% (5/16) in non-malignant respiratory disease and 11.1% (2/18) in normal condition. The positive rate of the serum KA 93 was detected as 39.7% (23/58) in adenocarcinoma of the lung, and 4.8% (1/21) in small cell carcinoma of the lung. However, no positive rate was confirmed in other sub-types of lung carcinoma, non-malignant respiratory disease or in normal subjects. KA 32 and KA 93 tended to be positive with the progression of the clinical course, but they failed to show any close interrelationship with the positive rate of the serum CEA. Furthermore, the results may indicate a possibility that KA 32 and KA 93 could serve as versatile newly developed tumor markers for serum diagnosis of lung carcinoma.

Key words: lung cancer, tumor marker, neuron specific enolase, diagnosis and monitoring treatment, monoclonal antibodies

緒 言

最近、悪性腫瘍の診断、治療効果の判定、再発、増悪の予知、予後の判定などを把握する指標として、多くの腫瘍マーカーが臨床に応用されるとともに、さらに適格なマーカーを追求する研究が展開されている。

現在、比較的臓器特異性の高い腫瘍マーカーとして、肝癌に対する α -fetoprotein (AFP)、膵癌、胆管癌に対する carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9)、大腸癌に対する carcinoembryonic antigen (CEA)、絨毛組織に由来する腫瘍に対する human chorionic gonadotropin (HCG) などがあげられ、それぞれの腫瘍の診断、経過に伴う病態把握の指標として、臨床的に広く用いられている。

肺癌に関しては、組織型、病期、治療効果、再発、予後と関連して CEA が特に広く検討されている。しかしその陽性率は 40~60%にとどまり、臨床的意義は限られている。

一方、2-phosphoglyceric acid と 2-phosphopyruvic acid の代謝過程を触媒する、解糖系酵素 enolase の isoenzyme である neuron specific enolase (NSE) が、グルカゴノーマ、インスリノーマ、神経芽細胞腫、褐色細胞腫、甲状腺髄様癌など、神経内分泌細胞に由来する腫瘍で高値を示すことが報告されている^{1,2)}。最近では、同じ神経内分泌細胞由来と考えられる肺小細胞癌についても、高い陽性率を示すことで注目されている³⁾。

殊に肺小細胞癌は、きわめて早い増殖、進展、転移をきたすことで、他の組織型の肺癌に比較して悪性度の高い腫瘍として知られている。しかし、放射線療法、各種の抗癌剤に対して高い感受性を示し、これらの治療によって完全寛解 (complete response) となった症例には、明らかな延命が認められている。したがって、完全寛解をきたした症例を、さらに治癒に至らしめるためには、早期に再発、増悪を予知し、適切な治療を早期に開始することが肝要である。

こうした観点から、著者は原発性肺癌患者を対象に、血清 NSE、CEA、tissue polypeptide antigen (TPA) を測定し、腫瘍マーカーとしての意義を検討するとともに、殊に肺小細胞癌に高い陽性率を示す血清 NSE の臨床的意義と、その有用性について検討を加えた。さらに、新たにハイブリドーマ技法で得られた、肺癌に高い特異性を有するモノクローナル抗体である、KM 32、KM 93 について、その臨床的有用性を検討した。

研究対象および方法

血清 NSE の測定対象は、未治療の原発性肺癌患者 102 例で、その内訳は男性 82 例、女性 20 例、平均年齢 63.8 歳 (37~88 歳) である。健常者 20 名 (尿、血液検査等で異常を認めなかった者) の内訳は男性 10 名、女性 10 名、平均年齢 50.3 歳 (35~62 歳) である。非腫瘍性疾患患者 50 例 (呼吸器疾患 8 例、胃潰瘍 11 例、肝炎 12 例、胆道疾患 4 例、心疾患 4 例、腸疾患 5 例、その他 6 例) の内訳は男性 35 例、女性 15 例、平均年齢 61.3 歳 (47~76 歳) である。

原発性肺癌患者を日本肺癌学会病期分類にしたがって分類すると、I 期 2 例、II 期 10 例、III 期 40 例、IV 期 50 例である。組織型別では、腺癌 44 例、扁平上皮癌 24 例、小細胞癌 26 例、大細胞癌 8 例である。

血清 CEA の測定対象は、未治療の原発性肺癌患者 106 例で、その内訳は男性 86 例、女性 20 例、平均年齢 64.1 歳 (37~88 歳) である。病期分類では、I 期 2 例、II 期 10 例、III 期 43 例、IV 期 51 例である。組織型別では、腺癌 47 例、扁平上皮癌 27 例、小細胞癌 24 例、大細胞癌 8 例である。

血清 TPA の測定対象は、未治療の原発性肺癌患者 98 例で、その内訳は男性 90 例、女性 8 例、平均年齢 62.3 歳 (37~85 歳) である。健常者 50 名の内訳は、男性 25 名、女性 25 名、平均年齢 52.4 歳 (41~66 歳) である。非腫瘍性疾患患者 24 例 (呼吸器疾患 9 例、肝炎 10 例、肝硬変 5 例) の内訳は、男性 17 例、女性 7 例、平均年齢 52.8 歳 (32~79 歳) である。

肺癌患者の病期分類では、I 期 2 例、II 期 10 例、III 期 42 例、IV 期 44 例で、組織型別では、腺癌 43 例、扁平上皮癌 25 例、小細胞癌 23 例、大細胞癌 7 例である。

なお、同一検体で血清 NSE と CEA を測定した肺癌症例は 95 例、血清 NSE と TPA を測定した肺癌症例は 90 例で、血清 NSE、CEA、TPA の三者を測定した肺癌症例は 90 例である。

ヒト肺扁平上皮癌に対するモノクローナル抗体 KM 32 によって検出される血清中の抗原 KA 32 の測定対象は、未治療の原発性肺癌患者 35 例で、その内訳は男性 26 例、女性 9 例、平均年齢 63.2 歳 (37~85 歳) である。健常者 18 名の内訳は男性 10 名、女性 8 名、平均年齢 60.3 歳 (38~75 歳) である。非腫瘍性呼吸器疾患患者 16 例の内訳は、男性 11 例、女性 5 例、平均年齢 64 歳 (46~74 歳) である。

肺癌の病期分類では、I 期 2 例、II 期 2 例、III 期 15

例, IV期 16 例で, 組織型別では, 腺癌 17 例, 扁平上皮癌 8 例, 小細胞癌 6 例, 大細胞癌 4 例である。

ヒト肺腺癌に対するモノクローナル抗体 KM 93 によって検出される血清中の抗原 KA 93 の測定対象は, 未治療の原発性肺癌患者 120 例で, その内訳は男性 93 例, 女性 27 例, 平均年齢 65.3 歳 (35~85 歳) である。健常者 26 名の内訳は, 男性 16 名, 女性 10 名, 平均年齢 60.4 歳 (40~72 歳) である。非腫瘍性呼吸器疾患患者 16 例の内訳は, 男性 11 例, 女性 5 例, 平均年齢 64 歳 (46~74 歳) である。

肺癌の病期分類では, I 期 3 例, II 期 10 例, III 期 50 例, IV 期 57 例で, 組織型別では, 腺癌 58 例, 扁平上皮癌 32 例, 小細胞癌 21 例, 大細胞癌 9 例である。

被検血清は, 1985 年 1 月~同年 8 月までに当院および関連病院に入院した患者から得た。採血後, すみやかに遠心分離後, -70°C にて凍結保存した。

(1) 血清 NSE の測定法

栄研イムノケミカル研究所で開発された, 2 抗体法による radioimmunoassay (RIA) キットで測定した。精製および標準 NSE は, ウシ脳より分離したものであり, 抗 NSE ウサギ血清 (第 1 抗体) は, 精製ウシ NSE を抗原としてウサギを免疫して得たものである。

(2) 血清 CEA の測定法

「第一」CEA キットを用いた。固相一次抗体と標識二次抗体を用いる two site immunoradiometric assay 法にて測定した。

(3) 血清 TPA の測定法

第一ラジオアイソトープ研究所の 2 抗体法による radioimmunoassay (RIA) キットで測定した。TPA 抗血清は, Hela 細胞をウマに感作して得た抗血清である。

(4) 抗ヒト肺癌モノクローナル抗体 KM 32, KM 93

による血清中の抗原 KA 32, KA 93 の検出

協和発酵東京研究所 (町田市旭町 3-6-6) の好田肇博士らによって開発された, ヒト肺扁平上皮癌細胞の膜成分に対するモノクローナル抗体 KM 32, およびヒト肺腺癌細胞膜成分に対するモノクローナル抗体 KM 93 を用いた^{3,4)}。

1) サンドウィッチ ELISA 法

KM 32 は, 血液型関連糖鎖抗原のうち, A 型関連糖鎖を認識すると思われたので, その欠点を解決する目的で, ウサギを用いて作製した。ヒト A 型赤血球で吸収した抗ヒト肺扁平上皮癌株化細胞 PC-10 細胞抗体 (IgG 分画) を EIA 用プレートのコーティングに用い

た。コーティングした 96 穴 EIA 用プレートの各穴に 10 倍希釈した被検血清 $50\mu\text{l}$ を加え, 1 晩 4°C で反応させた。洗浄後, KM 32 ($10\mu\text{g/ml}$) $50\mu\text{l}$ を加え, $2\sim 3$ 時間反応させ, ペルオキシダーゼ標識抗マウス免疫グロブリン抗体溶液 $50\mu\text{l}$ を加え, 反応後, 酵素活性を測定した。KM 32 によって検出される血清中の抗原 KA 32 量は, ゲルクロマトグラフィーで患者血清から精製した標準抗原溶液を用いて下記の式より求めた。

$$\text{KA 32 (U/ml)} = \frac{\text{OD test} - \text{OD blank}}{\text{OD standard} - \text{OD blank}} \times 100$$

KM 93 によって検出される血中抗原 KA 93 の検出も, KM 93 およびビオチン化 KM 93 を用いたサンドウィッチ ELISA 法で行った。

結 果

1. 肺癌の組織型と各種マーカー

健常者 20 名について血清 NSE を測定した結果, その平均値は $5.2 \pm 0.9 \text{ ng/ml}$ (range 4.2~6.9) であった。Fig. 1 に示すごとく, 10 ng/ml を cut off 値とすると, 健常者では 10 ng/ml 以上を示す陽性例は認められなかった。

非腫瘍性疾患患者 50 例における血清 NSE の平均値は $4.2 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$ (range 2.1~6.9) で, 健常者と同様に陽性例は認められなかった。

肺癌患者全体における血清 NSE 陽性率は 31.4% で, これを組織型別にみると, 小細胞癌において 80.8% と高い陽性率を示し, その平均値も $32.7 \pm 25.4 \text{ ng/ml}$ で, 他の組織型の平均値との比較では, 腺癌 ($6.3 \pm 3.0 \text{ ng/ml}$), 扁平上皮癌 ($7.8 \pm 6.9 \text{ ng/ml}$) とは $p < 0.001$ (t 検定) で, また大細胞癌 ($10.1 \pm 5.0 \text{ ng/ml}$) とは $p < 0.02$ (t 検定) と有意に高値を示した (Fig. 1)。

肺癌患者全体の血清 CEA 陽性率は 52.8% で, 組織型別検討では, 腺癌は 70.2% を示し, 扁平上皮癌の陽性率 22.2% とは χ^2 検定で $p < 0.01$ と有意差を認めた。しかし, 平均値の検討では, いずれの組織型間でも有意差は認めなかった (Fig. 2)。

健常者 50 名について血清 TPA を測定した結果, その平均値は $86.9 \pm 18.4 \text{ U/l}$ (range 48.2~117.8) であった。平均値 $\pm 2 \text{ SD}$ の上限から, cut off 値を 125 U/l とすると, 健常者では陽性例は認められなかった。

非腫瘍性疾患患者 24 例における血清 TPA の平均値は $157.0 \pm 96.1 \text{ U/l}$ (range 60~441) を示し, その

Fig. 1 Ranges of serum NSE levels in controls and patients with benign disease or carcinoma of the lung
NSE: neuron specific enolase, Ca.: carcinoma
*p<0.001, **p<0.02

陽性率は 54.2%であった。偽陽性は急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変、肺炎、肺線維症、結核、閉塞性肺疾患等に認められ、殊に、炎症性疾患に偽陽性傾向を認めた。肺癌患者全体の血清 TPA 陽性率は 63.3%を示した。組織型別にみると、いずれの組織型でも高い陽性率を示し、有意差は認めなかった (Fig. 3)。

健常者における KA 32 の平均値+1 SD である 44 U/ml を cut off 値とすると、KA 32 陽性率は、健常者では 11.1% (2/18)、非腫瘍性呼吸器疾患患者では 31.3% (5/16) であった。

肺癌の組織型別 KA 32 陽性率は、腺癌 29.4% (5/17)、扁平上皮癌 50% (4/8)、小細胞癌 33.3% (2/6)、大細胞癌 50% (2/4) であった (Fig. 4)。

健常者における KA 93 の平均値+2 SD (0.33) を cut off 値とすると、KA 93 陽性率は、健常者では 0% (0/26)、非腫瘍性呼吸器疾患患者 0% (0/16) であった。

Fig. 2 Serum CEA levels in patients with carcinoma of the lung in relation to histological classification
CEA: carcinoembryonic antigen, Ca.: carcinoma

肺癌の組織型別 KA 93 陽性率は、腺癌 39.7% (23/58)、扁平上皮癌 0% (0/32)、小細胞癌 4.8% (1/21)、大細胞癌 0% (0/9) であった (Fig. 5)。

2. 肺癌の病期と各種マーカー

血清 NSE 陽性例は、I 期、II 期においては認められず、III 期、IV 期において、それぞれ 25、44%の陽性率を示し、病変の進展をよく反映していた (Fig. 6)。

血清 CEA 陽性率は、III 期 41.9%、IV 期 70.6%を示した。I 期 0.7 ± 0.1 ng/ml、II 期 5.3 ± 10.8 ng/ml、III 期 3.9 ± 4.4 ng/ml を合わせた平均値と IV 期 14.2 ± 30.3 ng/ml の平均値とでは、t 検定で $p < 0.05$ と有意差を認めた (Fig. 7)。

血清 TPA 陽性率は、I 期 50%、II 期 60%、III 期 58.5%、IV 期 70.5%を示し、各々の病期の間では特に有意差は認められず、I 期、II 期においても高い陽性率を示した (Fig. 8)。

KA 32 と病期との関係では、いずれの組織型においても III 期または IV 期の症例において高値を示す傾向が

Fig. 3 Ranges of serum TPA values in controls and patients with benign disease or carcinoma of the lung

TPA: tissue polypeptide antigen, Ca.: carcinoma

* $p < 0.001$

認められた (Fig. 9). また, KA 32 と既存の腫瘍マーカーである CEA, AFP との相関係数は, それぞれ 0.06, 0.05 で相関は認めなかった.

KA 93 と病期との関係でも, 病期の進展とともに高値を示す傾向が認められた (Fig. 10).

3. 小細胞癌患者の病期分類と血清 NSE

血清 NSE 陽性率は, III期 55.6%, IV期 94.1%で, χ^2 検定によって $p < 0.05$ と有意差が認められた. 血清 NSE 平均値は, III期, IV期の間に有意差は認められなかったが, IV期の症例において高い傾向が認められた (Fig. 11).

4. 小細胞癌患者の治療効果と血清 NSE

Fig. 12 に初回化学療法によって, partial response (PR) 以上の治療効果を示した有効例の経時的 NSE の変化を示す. 12 例全例において, 血清 NSE は 10 ng/ml 以下の正常範囲まで低下したが, 再発によって再び血清 NSE の増加が認められた. しかしながら, 1 例においては脳転移巣の再発にもかかわらず, 血清

Fig. 4 Ranges of KA 32 by ELISA in sera from controls and patients with benign disease or carcinoma of the lung

KA 32: serum antigen which recognized by monoclonal antibody, KM 32 which had been produced from the mouse immunized with human lung squamous cell carcinoma tissue.

Fig. 5 Ranges of KA 93 by ELISA in sera from controls and patients with benign disease or carcinoma of the lung

KA 93: serum antigen which recognized by monoclonal antibody, KM 93 which had been produced from the mouse immunized with human lung adenocarcinoma tissue.

Fig. 6 Serum NSE levels in patients with carcinoma of the lung in relation to the stage of disease

● : small cell carcinoma, ○ : non small cell carcinoma

NSE の増加は認められなかった。

Fig. 13 に治療効果を示さなかった無効例または増悪例における血清 NSE の変化を示す。全例において、血清 NSE は不変または増加を示していた。

5. 小細胞癌患者の再発と血清 NSE

経時的に血清 NSE を測定した症例の臨床経過を示す。Fig. 14, 15 に示す症例は、いずれも臨床的に画像診断によって再発が確認される 2～6 週間前に、血清 NSE の上昇を認めた。なお、経過とともに血清 NSE を経時的に測定した 6 例のうち、この 2 例を含む 3 例は、臨床的に再発を確認する前から血清 NSE の上昇が認められたが、他の 3 例は、再発が明らかにされた時点においても血清 NSE の上昇は認められなかった。

6. 血清 NSE と CEA, TPA との相関関係

Fig. 16 に血清 NSE と CEA を同時に測定した肺癌患者 95 例の相関を示す。r = -0.01 で相関は認められなかった。Fig. 17 に血清 NSE と TPA を同時に測

Fig. 7 Serum CEA levels in patients with carcinoma of the lung in relation to the stage of disease

*p<0.05

定した肺癌患者 90 例の相関を示す。r = 0.17 で相関は認められなかった。

考 察

原発性肺癌における血清 NSE の上昇は、特に小細胞癌において著しく、その陽性率もこれまでの報告⁵⁻¹²⁾では、64～75%といわれている。今回の検討では、小細胞癌の NSE 陽性率は 80.8%であり、これまでの報告より高い陽性率であった。非小細胞癌の血清 NSE 陽性率は、8～29%と報告^{6,9-12)}されており、著者の検討では 14.5%であった。組織型別検討では、腺癌 11.4%、扁平上皮癌 12.5%、大細胞癌 37.5%で、非小細胞癌の中では、大細胞癌において血清 NSE 陽性率が高い傾向であった (Fig. 1)。この成績は、有吉らの報告¹³⁾とほぼ一致した。非小細胞癌における組織型別、血清 NSE 陽性率は、発表者によってバラツキがみられるが、その原因としては、症例数、対象とした肺癌患者の病態の差、測定法が enzyme immunoassay (EIA) か radioimmunoassay (RIA) かの相違、キットに使用されている抗原、抗血清の特異性の違いなど

Fig. 8 Serum TPA levels in patients with carcinoma of the lung in relation to the stage of disease

によることが考えられる。いずれにしても、非小細胞癌にも血清 NSE 陽性例が存在することは、小細胞癌が神経内分泌細胞由来と考えられることより、肺癌の組織発生を考える上で興味深いことである。

肺癌の病期と血清 NSE に関して、著者の検討では、I 期、II 期に陽性例はみられず、III 期、IV 期の血清 NSE 陽性率は、それぞれ 25、44% で病変の広がりをよく反映していた (Fig. 6)。さらに、腫瘍が一側胸郭と縦隔、同側鎖骨上リンパ節に局限した limited disease (LD) と、腫瘍がこの範囲を超えた extensive disease (ED) とにおける血清 NSE の平均値は、LD 例に比較して ED 例で有意に高いとする報告^{5,7,11,12)}が多いが、著者の検討でも、ED 例に相当する IV 期例の陽性率が III 期例のそれに比較して高く、やはり病変の広がりとの間に密接な相関が認められている。

血清 NSE の経時的測定は、小細胞癌の治療効果のモニタリングに有用であると報告⁵⁻⁸⁾されている。著者の検討でも、初回化学療法前後に血清 NSE の測定を行った 20 例のうち、complete response (CR) または

Fig. 9 Serum KA 32 levels in patients with carcinoma of the lung in relation to the stage of disease

partial response (PR) の治療効果を示した 12 例全例において、血清 NSE は 10 ng/ml 以下の正常値にまで低下した (Fig. 12) が、治療効果を示さなかった no change (NC) または progressive disease (PD) 例においては、全例血清 NSE の低下を認めないか、上昇を認めた (Fig. 13)。

この成績から、血清 NSE の変動は、化学療法効果に伴う病態の推移を非常によく反映していることが示唆された。

Johnson ら⁷⁾は、臨床的に再発が認められる以前から頻回に血清 NSE を測定した 23 例において、15 例 (65%) では、臨床的再発より 2～12 週前に血清 NSE の上昇を認めたと報告している。著者の検討した症例においても、臨床経過を追って血清 NSE の経時的測定を行えた小細胞癌 6 例のうち 3 例において、臨床的に画像診断で再発が確認される 2～6 週前に血清 NSE の上昇が認められた。化学療法、放射線療法が有効な治療法とされる小細胞癌の臨床において、再発、増悪の早期発見は、再治療を早期に開始するうえで非常に重要である。したがって、血清 NSE の経時的測定は、再発、増悪の指標として臨床的に有用であることを示している。

Fig. 10 Serum KA 93 levels in patients with carcinoma of the lung in relation to the stage of disease

しかしながら、治療前の血清 NSE が高値であっても再発時に上昇を示さない例もあり、腫瘍細胞の heterogeneity を考慮すれば、血清 NSE 値の正常化のみにとらわれることなく、臨床的観察、検査が必要であることを銘記したい。

Gold and Freedman¹⁴⁾により見出された CEA は、大腸癌ばかりでなく、他の悪性消化器癌や肺癌の腫瘍マーカーとして有用であることはすでに多くの報告がある。

肺癌患者の血清 CEA については、Lo Gerfo ら¹⁵⁾の報告以来、数多くの報告がみられ、その中でも、特に各組織型における血清 CEA 陽性率については、おのおの成績に大きな差異がみられる。すなわち、血清 CEA 陽性率は、組織型の間で差はみられなかったとする成績は欧米の報告¹⁶⁻¹⁸⁾に多くみられ、腺癌の陽性率が高く、扁平上皮癌では低いとする成績は、本邦の報告¹⁹⁻²¹⁾に多くみられる。著者の成績では、腺癌の陽性率は 70.2% であり、扁平上皮癌の陽性率は 22.2% と、推計学的に腺癌のほうが高く ($p < 0.01$)、小細胞癌 58.3%、大細胞癌 37.5% とは有意差を認めなかった

Fig. 11 Serum NSE levels in patients with SCLC in relation to the stage of disease
SCLC: small cell lung carcinoma
* $p < 0.05$

(Fig. 2).

宮本ら²²⁾は、進行肺癌患者(病期 III, IV)の血清 CEA について、治療前の値を 2.5 ng/ml 以下、2.6~5.0 ng/ml および 5.1 ng/ml 以上に分類し、それぞれを CEA 非産生型、低産生型、および高産生型とし、CEA の推移を観察すると、低産生型は扁平上皮癌に多く、死亡時まで 20 ng/ml 以上となる例は少ないという。著者の成績を宮本らの方法で分析すると、CEA 陽性率は、腺癌 42.6%、扁平上皮癌 3.7%、小細胞癌 33.3%、大細胞癌 12.5% で、2.6 ng/ml 以上を陽性とした成績 (Fig. 2) とほぼ同じ傾向を示した。

一方、Sun ら²³⁾は、免疫組織化学的な手法を用いて検索した結果、他の組織型に比較して、腺癌組織に高い割合で CEA が存在することを認めており、このことは、腺癌が高率に CEA を産生している証拠であると報告している。

Shinkai ら²⁴⁾は、血清 CEA が 20 ng/ml 以上を示す症例は、腺癌患者の 43% にみられ、小細胞癌 24%、扁平上皮癌 7% との間に有意差を認めたと報告している。今回検討した症例でも血清 CEA が 20 ng/ml 以上

Fig. 12 Serum NSE levels in SCLC patients before treatment, initial clinical response, and at relapse from cytotoxic therapy

○ : no relapse

を示したのは、腺癌に多く、全症例の80%は腺癌で、やはり Sun らの報告を支持する結果が得られている。

臨床病期と血清 CEA との関連では、堂坂ら²⁵⁾は、I 期および II 期症例の陽性率 (23.5, 18.1%) と III 期お

Fig. 13 Serum NSE levels in SCLC patients whom no responded to cytotoxic therapy

よび IV 期症例の陽性率 (48, 68%) との間に有意差を認めたと報告しており、また Dent ら²⁶⁾は、extensive disease と limited disease の間で、血清 CEA の平均値に有意差があったと報告している。著者の検討した症例においても Fig. 7 に示すごとく、I, II, III 期と IV 期の血清 CEA の平均値の間には t 検定で有意差を

Fig. 14 Serial NSE and CEA levels in SCLC patient
NSE level falls at initial clinical response and then begins to rise 6 weeks prior to relapse.

● : NSE, ○ : CEA, PR : partial response

Fig. 15 Serial NSE and CEA levels in SCLC patient
NSE level falls at initial clinical response and then begins to rise 1 week prior to relapse.
●: NSE, ○: CEA, PR: partial response

Fig. 16 Correlation between serum levels of NSE and CEA in carcinoma of the lung

認めている ($p < 0.05$).

これらのことより、血清 CEA も病変の進展を反映するマーカーと考えられた。

TPA は 1957 年、Björklund ら²⁷⁾ によって発見された分子量約 22,000~25,000 の single chain polypeptide であり、癌細胞の原形質膜や小胞体に多く存在するといわれている。最近、腫瘍マーカーとして、臨床的意義が論議されている²⁸⁾。

肺癌における、血清 TPA 陽性率は、46.7~80%と報告^{29~36)}されており、著者の検討では、血清 TPA 陽性率

は 63.3%で、ほぼ同様の結果であった。

組織型別での血清 TPA 陽性率は、腺癌 65.1%、扁平上皮癌 56%、小細胞癌 65.2%、大細胞癌 71.4%と、各組織型とも高い陽性率を示し、各組織型間で有意差は認めなかった (Fig. 3)。

村木ら³⁶⁾は、肺癌の早期から高い血清 TPA 陽性率を示したと報告しており、著者の病期別検討でも cut off 値を 125 U/l とした場合、早期から高い陽性率を示し、肺癌における早期発見のスクリーニングマーカーとして有用であることを示唆している。

Fig. 17 Correlation between serum levels of NSE and TPA in carcinoma of the lung

一方、血清 TPA 値は、炎症性疾患でも高率に陽性を示すことが知られており、著者の非腫瘍性疾患患者における検討でも、血清 TPA 陽性率は 54.2%と偽陽性が多いように思われた (Fig. 3)。

桑原³³⁾は、炎症性疾患の血清 TPA 値の平均値 $\pm$ 2 SD の上限から、得られた 200 U/l を cut off 値とすることが、腫瘍マーカーとして妥当であると述べている。しかし、偽陽性例が多いとはいえ 200 U/l を cut off 値とすると、著者の成績では、I、II 期症例の陽性率が低下し、早期発見のスクリーニングとしての有用性が低下するので、cut off 値の設定は今後の課題と思われる。

近年、悪性腫瘍診断の一つの方法として、モノクローナル抗体を用いて血清中の癌抗原を検出する試みがなされている。検出された抗原は、CA 19-9、CA 125、CA 50、Ca-1 シアル SSEA-1、DU-PAN-2、CSLEX 1 など多くの報告がある。これらのうちの多くは、癌細胞表面の糖鎖抗原をモノクローナル抗体が認識するために検出可能となった。

ヒト肺腺癌細胞膜成分に対するモノクローナル抗体 KM 93 は、cell binding ELISA で一部の胃癌、白血細胞株等と反応し、また免疫組織化学的検討で、肺気管支上皮、気管支腺、膵管上皮、腸管上皮、尿管管上皮等の正常組織とも反応すると報告⁴⁾されている。しかし、cut off 値の設定により肺腺癌に高い特異性を認めた。

KM 93 によって認識される抗原 KA 93 は、CEA、

AFP、 β_2 マイクログロブリン、CA 19-9、DU-PAN-2 と異なり、肺癌患者の胸水から分離されたものは、分子量 100 万以上の高分子として存在するシアル酸を含む糖鎖抗原である⁴⁾。

今回の成績から、KM 93 は肺腺癌に対する特異性が高く、健常者、非腫瘍性呼吸器疾患患者血清で偽陽性率が低く、肺癌血清診断への応用上、有用なマーカーであることが示唆された。

結 論

1) 原発性肺癌患者全体における血清 NSE、CEA、TPA の陽性率は、それぞれ 31.4、52.8、63.3%であった。

2) 組織型別検討では、血清 NSE 陽性率は小細胞癌患者で 80.8%を示し、また平均値 (32.7 ± 25.4 ng/ml) も他の組織型に比較して有意に高値であった。血清 CEA 陽性率は腺癌患者で 70.2%を示し、扁平上皮癌患者の陽性率より有意に高かった。血清 TPA 陽性率は、各組織型間で有意差を認めなかった。

3) 病期との関連では、血清 NSE、CEA 陽性率は、IV 期でそれぞれ 44、70.6%を示し、病変の進行をよく反映した。一方、血清 TPA 陽性率は、早期から高い傾向を認めたが、非腫瘍性疾患患者でも 54.2%の陽性を認め、特異性という点で問題があった。

4) 小細胞癌患者で高い陽性率を認めた血清 NSE の経時的測定は、病変の進行、治療効果、再発、増悪の予知など治療経過モニタリングに有用と思われた。

5) ヒト肺扁平上皮癌に対す、モノクローナル抗体 KM 32 によって検出される血清抗原 KA 32 は、扁平上皮癌患者で 50% の陽性率を認めたが、健常者、非腫瘍性呼吸器疾患患者でも、それぞれ 11.1, 31.3% の陽性率を示し、やや特異性に問題があった。

6) ヒト肺腺癌に対する、モノクローナル抗体 KM 93 によって検出される血清抗原 KA 93 は、腺癌患者で 39.7% の陽性率を認め、健常者、非腫瘍性呼吸器疾患患者では陽性者を認めず、腺癌患者において比較的特異性が高かった。

稿を終るにあたり、協和発酵東京研究所の好田肇博士に深謝致します。また、直接御指導、御校閲賜りました、青山昭徳講師、矢野侃助教授、ならびに教室員各位に感謝申し上げます。

なお、本論文の要旨は、第 26 回日本肺癌学会総会 (1985 年 10 月) ならびに第 44 回日本癌学会総会 (1985 年 10 月) において発表した。

文 献

- 1) Tapia, F.J., Polak, J.M., Barbosa, A.J.A., Bloom, S.R., Marangos, P.J., Dermody, C. and Pearse, A.G.E.: Neuron-specific enolase is produced by neuroendocrine tumours. *Lancet*, I(8224), 808~811, 1981.
- 2) Prinz, R.A. and Marangos, P.J.: Use of neuron specific enolase as a serum marker for neuroendocrine neoplasms. *Surgery*, 92, 887~889, 1982.
- 3) 花井陳雄, 好田肇: 抗ヒト肺癌モノクローナル抗体。(第 1 報) ヒト正常肺トレランスマウスを用いるヒト肺扁平上皮癌に対するモノクローナル抗体の作製。第 44 回日本癌学会総会記事, p. 130, 1985.
- 4) 設楽研也, 花井陳雄, 好田肇: 抗ヒト肺癌モノクローナル抗体。(第 2 報) ヒト正常肺トレランスマウスを用いる肺腺癌に対するモノクローナル抗体の作製。第 44 回日本癌学会総会記事, p. 130, 1985.
- 5) Canney, D.N., Marangos, P.J., Ihde, D.C., Bunn, P.A., Jr., Cohen, M.H., Minna, J.D. and Gazdar, A.F.: Serum neuron-specific enolase; A marker for disease extent and response to therapy of small-cell lung cancer. *Lancet*, I (8272), 583~585, 1982.
- 6) Ariyoshi, Y., Kato, K., Ishiguro, Y., Ota, K., Sato, T. and Suchi, T.: Evaluation of serum neuron specific enolase as a tumor marker for carcinoma of the lung. *Gann*, 74, 219~225, 1983.
- 7) Johnson, D.H., Marangos, P.J., Forbes, J.T., Hainsworth, J.D., Welth, R.V., Hande, K.R. and Greco, F.A.: Potential utility of serum neuron specific enolase levels in small cell carcinoma of the lung. *Cancer Res.*, 44, 5409~5414, 1984.
- 8) 有吉寛: 肺癌の新しい腫瘍マーカー: Neuron specific enolase の意義。癌の臨, 30, 569~573, 1984.
- 9) 藤沢武彦, 山口豊, 佐々木一義, 深沢敏男, 本郷弘昭, 小川利隆, 木村秀樹: 肺癌における血清 neuron specific enolase の腫瘍マーカーとしての意義。癌と化療, 12, 139~143, 1985.
- 10) 増岡忠道, 松枝由美, 大川日出夫, 渡辺古志朗, 三本重治: 原発性肺癌における neuron specific enolase (NSE) の測定について。医と薬学, 13, 573~577, 1985.
- 11) Akoun, G.M., Scarna, H.M., Milleron, B.J., Benichou, M. P. and Herman, D.P.: Serum neuron-specific enolase; A marker for disease extent and response to therapy for small cell lung cancer. *Chest*, 87, 39~43, 1985.
- 12) Esscher, T., Steinholtz, L., Bergh, J., Nöu, E., Nilsson, K. and Pahlman, S.: Neuron specific enolase; A useful diagnostic serum marker for small cell carcinoma of the lung. *Thorax*, 40, 85~90, 1985.
- 13) 有吉寛, 加藤兼房, 石黒土雄, 太田和男, 佐藤秋子, 須知泰山: Neuron specific enolase (NSE). 癌と化療, 10, 1744~1753, 1984.
- 14) Gold, P. and Freedman, S.O.: Demonstration of tumor specific antigen in human colonic carcinoma by immunological tolerances and absorption techniques. *J. Exp. Med.*, 121, 439~471, 1965.
- 15) Lo Gerfo, P., Krupey, J. and Hansen, H.J.: Demonstration of an antigen common to several varieties of neoplasia. *N. Engl. J. Med.*, 285, 138, 1971.
- 16) Gropp, C., Hanemann, K. and Lehmann, F.G.: Carcinoembryonic antigen and ferritin in patients with lung cancer before and during therapy. *Cancer*, 42, 2802~2808, 1978.
- 17) Concannon, J.P., Dalbow, M.H., Liehler, G.A., Blake, K. E., Werl, C.S. and Cooper, J.W.: The carcinoembryonic antigen assay in bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 34, 184~192, 1974.
- 18) Vincent, R.C., Chu, T.M., Fergen, T.B. and Ostrander, M.: Carcinoembryonic antigen in 228 patients with carcinoma of the lung. *Cancer*, 36, 2069~2076, 1975.
- 19) 松原義人, 池田貞雄, 今村正之: 肺癌患者における Carcinoembryonic antigen (CEA) 値の測定。日胸臨, 35, 587~591, 1976.
- 20) 井草秀樹: 肺癌における CEA および PHA 皮膚反応の臨床的検討。日胸疾患誌, 16, 765~772, 1978.
- 21) 白日高歩: 肺癌患者の血清 CEA 値の測定ならびにその臨床的意義。日胸外会誌, 27, 1295~1299, 1979.
- 22) 宮本宏, 井上勝一, 村尾誠, 橋本正人: 肺癌患者における血清中の Carcinoembryonic antigen (CEA) と免疫抑制酸性蛋白 (IAP) 測定の意義について。肺癌, 21, 553~564, 1981.
- 23) Sun, N.C.J., Edgington, T.D., Carpentier, C.L., McAfee, W., Terry, R. and Bateman, J.: Immunohistochemical localization of carcinoembryonic antigen (CEA), CEA-S, and nonspecific cross-reacting antigen (NCA) in carcinoma of lung. *Cancer*, 52, 1632~1641, 1983.
- 24) Shinkai, T., Saijo, N., Tominaga, K., Eguchi, K., Shimizu, E., Sasaki, Y., Fujita, J., Futami, H., Ohkura, H. and Suemasu, K.: Serial plasma carcinoembryonic antigen measurement for monitoring patients with advanced lung cancer during chemotherapy. *Cancer*, 57, 1318~1323, 1986.
- 25) 堂坂弘俊, 宮本宏, 井上勝一, 大崎饒, 村尾誠: 肺小細胞癌患者における血清中の carcinoembryonic antigen (CEA) 測定の意義。癌の臨, 28, 1119~1125, 1982.
- 26) Dent, P.B., Mcculloch, P.B., Wesley-James, O., Maclaren, R., Muirhead, W. and Dunnet, C.W.: Measurement of carcinoembryonic antigen in patients with bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 42, 1484~1491, 1978.
- 27) Björklund, B. and Björklund, V.: Antigenicity of pooled

- human malignant and normal tissues by cyto-immunological technique; Presence of an insoluble, heat-labile tumor antigen. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 10, 153~184, 1957.
- 28) Björklund, B.: On the nature and clinical use of tissue polypeptide antigen (TPA). *Tumor Diagnostik.*, 1, 9~20, 1980.
- 29) Björklund, B.: Tissue polypeptide antigen (TPA); Biology, biochemistry, improved assay methodology, clinical significance in cancer and other conditions, and future outlook. *Antibiot. Chemother.*, 22, 16~31, 1978.
- 30) Menendez-Botet, C.J., Oettgen, H.F., Pinsky, C.M. and Schwartz, M.K.: A preliminary evaluation of tissue polypeptide antigen in serum or urine (or both) of patients with cancer or benign neoplasms. *Clin. Chem.*, 24, 868~872, 1978.
- 31) Luthgens, M. and Schlegel, G.: Combined use of carcinoembryonic antigen in oncologic therapy and surveillance. *Cancer Detect. Prev.*, 6, 51~59, 1983.
- 32) 桜井武雄, 横井秀樹, 岡田一男, 岡田浪速, 鳥住和民, 太田久雄, 得津修一, 岡田多加志: 肺癌, 乳癌症例における新しい腫瘍マーカーTPAの意義. *医と薬学*, 10, 941~948, 1983.
- 33) 桑原正善, 松原義人, 二宮和子, 池修, 安田雄司, 中田徹, 青木稔, 宮本好博, 畠中陸郎, 船津武志, 池田貞雄: 肺癌患者における血清TPA. *最新医*, 39, 627~628, 1984.
- 34) 木谷恒, 米島学, 澤武紀雄, 北川浩文, 竹森康弘, 登谷大修, 小林健一, 服部信: 各種消化器癌における血清Tissue polypeptide antigen(TPA)の検討. *最新医*, 39, 633~634, 1984.
- 35) 長田篤雄, 田中豊秋, 山羽義貴, 伊藤進: Tissue polypeptide antigen (TPA) の radioimmunoassay kit の基礎的検討と臨床意義について. *核医*, 21, 177~190, 1984.
- 36) 村木憲子, 河内文雄, 長尾啓一, 渡辺昌平, 山岸文雄: 肺癌, 肺結核および慢性閉塞性肺疾患における血清中TPA値の検討. *日胸臨*, 44, 990~995, 1985.

(受付: 1988年10月19日)