前立腺癌マーカーの臨床的研究

—PAP, γ -Sm, PA について—

岡山大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 大森弘之教授)

大橋 輝久 赤木 隆文 入江 伸 小浜 常昭
那須 保友 東條 俊司 武田 克治 吉本 純
松村 陽右 大森 弘之

CLINICAL STUDY ON PAP, γ -SM AND PA AS TUMOR MARKERS IN PROSTATIC CANCER PATIENTS

Teruhisa Ohashi, Takafumi Akagi, Shin Irie, Tsuneaki Obama,
Yasutomo Nasu, Shunji Tohjoh, Katsuji Takeda, Jun Yoshimoto,
Yosuke Matsumura and Hiroyuki Ohmori

Department of Urology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan
(Director: Prof. H. Ohmori)

Prostatic acid phosphatase (PAP), γ -seminoprotein (γ -Sm) and prostatic specific antigen (PA) were determined by double antibody radioimmunoassay and enzyme immunoassay in 97 patients with prostatic cancer (the untreated: 35, the treated: 62), 316 with prostatic hypertrophy, 41 with bladder cancer and 138 with other benign urological diseases to assess the clinical usefulness as a tumor marker.

Positive rates of PAP, γ -Sm and PA levels were 74.3%, 73.1% and 79.4%, respectively, in patients with untreated prostatic cancer, while those were 2.8%, 12.5% and 12.3%, respectively, in patients with prostatic hypertrophy. Although the highest sensitivity was found in PA levels, the highest specificity was shown by PAP levels.

A slight correlation was found between PAP and PA, but no significant correlation was present with γ -Sm.

The positive rate in untreated prostatic cancer patients increased by the combination assay of these three markers, and moreover, different variations of these markers were noted with various therapies in prostatic cancer patients. These data suggested that the combination assay of these markers was useful for diagnosis and monitoring of prostatic cancer patients.

要旨: 前立腺癌97例 (未治療例: 35例, 既治療例: 62例), 前立腺肥大症316例, 膀胱癌41例, その他の泌尿器科良性疾患138例の計592例について, prostatic acid phosphatase (PAP), γ -seminoprotein (γ -Sm), prostatic specific antigen (PA) の前立腺癌マーカーとしての有用性を検討した。

前立腺癌未治療例における陽性率は PAP 74.3%, γ -Sm 73.1%, PA 79.4%であり, 一方, 前立腺肥大症例では各々2.8%, 12.5%, 12.3%であった。以上より検出率は PA が, また特異性は PAP が最も優れていた。

PAP と PA との間には $r=0.57$ と軽度の相関がみられたが, PAP と γ -Sm および PA と γ -Sm の間には密接な関連性は認められなかった。

三種のマーカーの combination assay により前立腺癌未治療例の陽性率が向上し, さらに治療により各々異なった変動パターンを示すことより, combination assay が前立腺癌の診断およびモニタリングに有用であることが示唆された。

結 言

欧米と同様, 本邦においても前立腺癌の頻度が高く

なり, 早期診断法および内分泌療法以外の治療法の確立が望まれる現況にある。

癌転移の早期診断および治療効果のモニタリングの生化学的方法として、従来より前立腺性酸性フォスターゼ (prostatic acid phosphatase, PAP) が用いられている。最近、前立腺に特異的な糖蛋白である γ -seminoprotein (γ -Sn), 前立腺特異抗原 (prostatic specific antigen, PA) の精製および抗体の作製がなされ、測定法が確立されるに至った。さらに臨床的意義についての報告がみられるようになったが、PAP, γ -Sm, PA 三者における詳細な検討は報告されていない。

今回、著者らは三者における有用性の比較、関連性および combination assay について検討したので報告する。

対象並びに方法

A. 対象

対象は前立腺癌未治療例35例 (stage A: 3例, B: 6例, C: 11例, D: 15例), 既治療例62例, 前立腺肥大症316例, 膀胱癌41例, その他の泌尿器科良性疾患138例の計592例である。

B. 測定方法

1) 前立腺性酸性フォスファターゼ (PAP)

PAP は Mallinckrodt 社製の二抗体法による RIA 法¹⁾により測定し, cut off 値を3.0ng/ml に設定した。

2) γ -seminoprotein (γ -Sm)

γ -Sm は中外製薬製 EIA キットにより測定し, cut off 値を3.125ng/ml に設定した²⁾。

3) 前立腺特異抗原 (PA)

PA は栄研イムノケミカル製の二抗体法による RIA 法にて測定し, cut off 値については既報³⁾において設定した7.0ng/ml とした。

成 績

A. 各種泌尿器科疾患における PAP, γ -Sm, PA 値 (Fig. 1~3)

各種泌尿器科疾患における血清 PAP, γ -Sm, PA 値を Fig. 1~3 に示した。なお本論文中の、前立腺癌既治療例の well control 群とは治療により臨床的に効果がある状態を、また ill control 群とは治療によっても無反応があるいは増悪状態を示している場合を意味する。

陽性率に関しては、前立腺癌未治療例で PAP 74.3% (26/35例), γ -Sm 73.1% (19/26例), PA 79.4% (27/34例), 既治療例 well control 群で PAP 11.9% (5/42例), γ -Sm 17.1% (7/41例), PA 32.4% (11/34例), ill control 群で PAP 75.0% (15/20例), γ -Sm

Fig. 1 Distribution of serum PAP levels in various genitourinary diseases

Fig. 2 Distribution of serum γ -Sm levels in various genitourinary diseases

Fig. 3 Distribution of serum PA levels in various genitourinary diseases

Table 1 Positive rates of combination assay

Markers Diseases	γ-Sm	PA	PAP	γ-Sm PA PAP	γ-Sm PA	γ-Sm PAP	PA PAP
Untreated PC	19/26 (73.1%)	27/34 (79.4%)	26/35 (74.3%)	15/25 (60%)	16/25 (64%)	17/26 (65.4%)	23/34 (67.6%)
BPH	15/120 (12.5%)	35/285 (12.3%)	9/316 (2.9%)	1/81 (1.2%)	6/81 (7.4%)	1/120 (0.8%)	5/277 (1.8%)
Other benign diseases	2/54 (3.7%)	4/129 (3.1%)	2/138 (1.5%)	0/38 (0%)	1/39 (2.6%)	0/53 (0%)	0/123 (0%)

78.9% (15/19例), PA 85.7% (12/14例)であった。

一方, 前立腺肥大症では PAP 2.8% (9/316例), γ-Sm 12.5% (15/120例), PA 12.3% (35/285例)であり, また前立腺以外の疾患の陽性率は, 膀胱癌で PAP 2.4%(1/41例), γ-Sm 6.7%(1/15例), PA 10.8% (4/37例), その他の良性疾患で PAP 1.5%(2/138例), γ-Sm 3.7% (2/54例), PA 3.1% (4/129例)であった。

以上の如く, 前立腺癌未治療例においては, 三者の内, PA がやや高い陽性率を示したが, 前立腺肥大症では PAP が有意に低い陽性率を示し, 特異性が高いことが判明した。

B. PAP, γ-Sm, PA の相関性について

三種のマーカーにおける相関性について, 値が測定感度以下であるものを除いた症例で検討したが, PAP と PA との間には相関係数 $r=0.57$ ($N=70$), PAP と γ-Sm との間には $r=0.05$ ($N=47$), γ-Sm と PA との間には $r=0.12$ ($N=67$) と PAP および PA 間に軽度の相関が認められ, この二者が比較的關係性のあるマーカーであることが判明した。

C. PAP, γ-Sm, PA の combination assay について (Table 1, 2)

各マーカー単独の陽性率は前述した如くであるが, 三者がすべて陽性のものは前立腺癌未治療例で60.0% (15/25例)と低下するが, 前立腺肥大症における陽性率が Table 1 の如く1.2% (1/81例)と著明に低下し, 非常に特異性の高いものとなる。また前立腺癌未治療例で二者が陽性のものは約65%であり, このことは前立腺癌においても個々の症例で陽性となるマーカーが異なることが示唆され, さらに前立腺肥大症における陽性率は, PAP を組み合わせることにより著明に低下することが判明した。

一方, 三種のマーカーを測定した前立腺癌未治療例25例で, combination assay における陽性率を Table 2 に示したが, 三者の内二者が陽性である場合, その診

Table 2 Positive rates of combination assay in untreated PC

3 markers positive	15 / 25 (60%)
2 markers positive	1) γ-Sm and PA 16 / 25 (64%) 2) γ-Sm and PAP 16 / 25 (64%) 3) PA and PAP 18 / 25 (72%) 1) or 2) or 3) 21 / 25 (84%)
1 marker positive	24 / 25 (96%)

断率が84%に向上し, combination assay の有用性が示唆された。

D. PAP, γ-Sm, PA の治療による変動 (Fig. 4~6)

前立腺癌15例において, PAP, PA またその内13例に γ-Sm の治療による変動を検討した。まず PAP については Fig. 5 に示す如く, 治療が奏効している例では全例下降傾向を示し, 4 カ月以内に正常化している。次に γ-Sm については, Fig. 6 に示す如く PAP と同様, 治療が奏効している例では下降傾向を示すも, 正常化に6 カ月以上要した症例もあった。また PA に関しては Fig. 7 の如く, 1年を経過しても正常上限近くにしか下降しない症例がある一方, 1 カ月以内に正常化する例も認められた。

以上より, 三者とも異なった変動パターンを示すものの, PAP と PA は治療に奏効しない例においてやや類似したパターンを認めた。

考 察

前立腺癌のマーカーとしては, 従来の酵素法による PAP が前立腺癌患者のモニタリングに使用されていたが, 測定法の開発とともに RIA^{2)4)~7)}あるいは EIA⁸⁾といった測定感度の良い方法が応用されるにいたり, 酵素法に比して診断率が向上した。即ち酵素法で正常上限付近の値が異常値として判定可能となった^{4)~6)}。しかしながら, 酵素法とこれら新測定法の間には高い相関が保持されており⁵⁾⁶⁾, さらには免疫学的活性を測定している点などにより, 酵素法による PAP 測定の有用性を著るしく凌駕するには至らず, 他の前立腺に

Fig. 4 Changes of serum PAP levels in 15 patients with prostatic cancer

Fig. 5 Changes of serum γ -Sm levels in 13 patients with prostatic cancer

Fig. 6 Changes of serum PA levels in 15 patients with prostatic cancer

特異的なマーカーの開発がなされるようになった。

その中で、原らにより精製された精漿由来の γ -Sm は、免疫組織学的に前立腺上皮に局在する分子量 23,000 の糖蛋白である⁹⁾。当初岡部ら¹⁰⁾により、二抗体

法を利用した RIA 法による臨床的検討がなされ、未治療前立腺癌 17 例全例に陽性であることが認められている。さらに γ -Sm に対するモノクローナル抗体を利用した EIA 法が確立され¹¹⁾、キット化がなされ¹²⁾、著者らの施設も加わった全国規模の検討がなされた¹³⁾。その結果、前立腺癌未治療例の陽性率 68.0%，前立腺肥大症のそれは 9.9% であり、また検出率、診断効率で PAP を上まわった。一方、cut off 値に関してであるが、3.125 ng/ml と設定した場合、前立腺肥大症例における特異性は 84.6% であり、4.0 ng/ml とした場合は 90.1% となるが、診断効率については有意の差を認めず、3.125~4.0 ng/ml で cut off 値を設定すればのいことになった。

著者らの以前の検討²⁾で、3.125 ng/ml を cut off 値とすると特異性が 89.1%，4.0 ng/ml としたときに 96.6% となったが、今回の検討では検出率を重要視して cut off 値を 3.125 ng/ml と設定した。しかし、今回は特異性が 87.5% と既報に比してやや低下したが、諸家の報告^{14)~16)}でも 96.0~75.0% と変動が認められ、概ね 95~75% の特異性を有しているものと考ええる。

γ -Sm と同様、前立腺特異抗原であり前立腺上皮由来の PA に関してであるが、1979 年、米国で Wang, Chu ら¹⁷⁾により精製され、栗山ら¹⁸⁾¹⁹⁾が EIA を確立した。本邦でも Wang, Chu らの方法に準じて、PA を精製、二抗体法による RIA 法が確立された²⁰⁾。

PA の分子量は 34,000 と γ -Sm と比較しやや大きいといわれていたが、蒲池ら²¹⁾の二重免疫拡散法、RIA 法を含む新しい検討で、 γ -Sm と分子量、免疫学的性格も同一抗原であることが判明した。しかし、今回の著者らの検討で PA と γ -Sm は $r=0.12$ と密接な関連性は認められなかった。このことより PA と γ -Sm との間に微妙な差異があることが示唆される。さらに著者らの前立腺癌患者における治療による変動パターンをみてもそのことがうかがえる。

PA の cut off 値についてであるが、著者らの以前の検討³⁾で、正常男子 89 例の臨床参考範囲プログラム (CRRP)²²⁾で求めた mean $\pm$ S.D. は 3.0 ± 0.7 ng/ml、その内 50 歳以上の 32 例における mean $\pm$ S.D. は 2.94 ± 1.36 ng/ml であり、各々の mean + 3S.D. を cut off とすると 5.0 および 7.0 ng/ml となった。未治療前立腺癌 34 例、前立腺肥大症 285 例で、検出率および特異性を cut off 値 5.0, 6.0, 7.0 ng/ml の三段階で求めて検討すると、検出率は各々 85.3%, 82.4%, 79.4% と顕著な差はないが、特異性においては 71.9%, 81.7%,

87.7%と7.0ng/mlで良好な特異性が得られたため、PAのcut off値を7.0ng/mlと設定した。

一方、三木ら²³⁾は正常男子33例がすべて3.0ng/ml未満であったことより、cut off値を3.0ng/mlと設定したが、前立腺癌における検出率90.9%と高率な結果を得たものの、前立腺肥大症における特異性が32.3%と非常に低く、著者らが設定した7.0ng/mlが妥当ではないかと考える。

また栗山ら²⁴⁾はPAをEIA法により測定し、米国人と日本人における正常値の比較検討を行っているが、前者の方が後者より高値を示した。さらに著者らが検討した50歳以上の正常男子においては、meanに差はないが、S.D.が大きく、このことは栗山らが米国人では前立腺重量の差に加え、潜在性の肥大症、癌が多いのではないかと推察している如く、50歳以上になると、日本人についても同様なことがいえるのではないかと考える。

PAとPAPとの関連性について、著者らの検討では $r=0.57$ と軽度の相関を認め、また三木ら²³⁾も密接な関連性を、さらに布施ら²⁵⁾も別のキットで軽度の関連性を報告していることより、 γ -SmよりPAの方がPAPとの間に免疫学的活性において何らかの関連性があるのではないかと考える。

PAと γ -Smは前立腺組織に特異的であるが故に、必ずしも前立腺癌に特異的とはいえない面がある。なぜなら、PA、 γ -Smともに前立腺肥大症とかなりのクロスオーバーを認め、一方、PAPは前立腺癌における検出率が74.3%とPA、 γ -Smより劣ることはなく、さらに前立腺肥大症での特異性が97.1%と他の二者に比して、有意に高い結果を得た。このことは前立腺癌マーカーとしてはRIAあるいはEIAによるPAPのみでもよいというような印象を受けるが、PAPが陰性であってもPAあるいは γ -Smが陽性の症例もあり、さらに治療による変動も各々異なることより、三者を併用する方が前立腺癌の診断およびモニタリングがより向上する可能性が示唆される。即ち、 γ -Sm、PAは前立腺に特異的な抗原であり、PAPが正常化しても γ -Sm、PAが正常化しない場合は、原発巣が依然活動していることも考えられ、制癌状態を三者が正常範囲になった時点とすれば、より正確な制癌状態の把握が可能になると考える。また逆に、三者の内一つでも高値を示す傾向にあれば、再燃が示唆され、より早く予知できるのではないかと推察する。いずれにせよ、前立腺癌そのものに特異的なマーカーがない現況では、複

数のマーカーのcombination assayが必要と考える。

結 語

前立腺癌マーカーとしてPAP、 γ -Sm、PAの検討を行い、検出率についてはPAが、また特異性についてはPAPが最も高い結果を得た。さらに治療による変動パターンが異なることより、三者のcombination assayにより前立腺癌の診断およびモニタリングが向上することが示唆された。

撰筆するにあたり、測定に御協力頂いた当教室湯川厚己技官ならびに本学附属病院核医学診療室田原葉子技官に感謝いたします。またキットの提供を受けた第1ラジオアイソトープ研究所、中外製薬、栄研イムノケミカルに感謝いたします。

なお本論文の要旨は第24回日本癌治療学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Huber, P.R., Scholer, A., Linder, E., Hagmaier, V., Vogt, H., Christen, P., Eppenberger, U. and Rutishauser, G.: Measurement of prostatic acid phosphatase in serum and bone marrow: Radioimmunoassay and enzymic measurement compared. Clin. Chem., 28, 2044—2050, 1982.
- 2) 大橋輝久, 武田克治, 東條俊司, 入江 伸, 小浜常昭, 赤木隆文, 那須保友, 松村陽右, 大森弘之: 前立腺癌マーカーとしての γ -Seminoprotein, 西日泌尿, 48, 1205—1208, 1986.
- 3) 大橋輝久, 赤木隆文, 林 俊秀, 小沢秀夫, 山田大介, 松村陽右, 大森弘之, 平木祥夫, 青野 要, 田原葉子, 広中孝作, 宮野秀明: 前立腺癌マーカーとしての血清前立腺特異抗原 (PA) の臨床的検討, 西日泌尿, 投稿中.
- 4) Klein, L.A. and Shapiro, P.: Role of acid phosphatase measurement in management of prostatic cancer. Urology, 17, 550—553, 1981.
- 5) 町田豊平, 三木 誠, 大石幸彦, 上田正山, 木戸晃, 柳沢宗利, 吉田正林: RIAによる前立腺性酸フォスファターゼ測定の価値, 日泌尿会誌, 72, 416—422, 1981.
- 6) 光畑直喜, 森岡政明, 大森弘之, 大橋輝久: Radioimmunoassayと酵素法によるProstatic Acid Phosphatase測定の意義について, 西日泌尿, 43, 901—905, 1981.
- 7) 大橋輝久, 東條俊司, 武田克治, 公文裕己, 森岡政明, 松村陽右, 大森弘之, 陶山文三, 広中孝作: 尿路悪性腫瘍患者における血清Ferritin, CEA, β_2 -MG, PAPに関する検討, 泌尿紀要, 29, 141—153, 1983.
- 8) 榊鏡年清, 安藤 研, 島崎 淳: Enzyme im-

- munoassat 法による前立腺性酸性フォスファターゼの検討. 泌尿紀要, 30, 1691—1695, 1984.
- 9) 原 三郎: 体液の法医免疫学的研究. 日法医誌, 28, 164—176, 1974.
 - 10) 岡部 勉, 江藤耕作: 前立腺特異抗原 (γ -Seminoprotein, β -Microseminoprotein) に関する臨床的研究. 第2報. 前立腺癌患者血清中の γ -Seminoprotein および β -Microseminoprotein の測定. 日泌尿会誌, 74, 1320—1325, 1983.
 - 11) 津田亮一, 原 三郎, 佐川公矯: γ -seminoprotein に対するモノクローナル抗体 (GS-2抗体) 結合ビーズと酵素標識 γ -Sm 抗体とを用いた Sandwich ELISA による精液検査・体液・分泌の法医免疫学的研究(第23報)一. 日法医誌, 38, 83—87, 1984.
 - 12) 蒲池信一, 吉村忠司, 丸山智子, 吉村典子, 熊木健治, 若林清重, 小菅 忍, 佐川公矯, 横山三男, 津田亮一, 原 三郎: 酵素免疫測定法による血清中 γ -セミノプロテイン (γ -Sm) 濃度測定法の検討. 臨床検査, 28, 1755—1758, 1984.
 - 13) 江藤耕作, 河合 忠, 石合 忠, 石井 勝, 大倉久直, 大森弘之, 斉藤 泰, 島崎 淳, 園田孝夫, 土田正義, 断島端夫, 西浦常雄, 原 三郎, 町田豊平, 松本恵一, 山中英寿, 米瀬泰行: ガンマ・セミノプロテイン [γ -Seminoprotein(γ -sm)] 血清中濃度測定の前立腺癌診断への応用. 日泌尿会誌, 76, 1836—1842, 1985.
 - 14) 布施秀樹, 樹鏡年清, 片海善吾, 島崎 淳: 前立腺癌患者血清中 γ -セミノプロテイン. 泌尿紀要, 31, 81—85, 1985.
 - 15) 石川眞也, 戸塚一彦, 石山俊次, 後藤健太郎, 大場修司, 徳江章彦, 米瀬泰行, 蒲池信一, 櫻林郷之介, 河合 忠: 前立腺癌における血清 γ -Seminoprotein の意義. 泌尿紀要, 31, 961—967, 1985.
 - 16) 南 祐三, 小川繁晴, 斉藤 泰: 酵素免疫測定法による前立腺特異抗原 (γ -Seminoprotein) の臨床的検討. 西日泌尿, 47, 469—475, 1985.
 - 17) Wang, M.C., Valenzuela, L.A., Murphy, G.P. and Chu, T.M.: Purification of a human prostate specific antigen. Invest. Urol., 17, 159—163, 1979.
 - 18) Kuriyama, M., Wang, M.C., Papsidero, L.D., Killian, C.S., Shimano, T., Valenzuela, L.A., Nishiura, T., Murphy, G.P. and Chu, T.M.: Quantitation of prostate-specific antigen by sensitive enzyme immunoassay. Cancer Res., 40, 4658—4662, 1980.
 - 19) Kuriyama, M., Wang, M.C., Lee, C.L., Papsidero, L.D., Killian, C.S., Inaji, H., Slack, N.H., Nishiura, T., Murphy, G.P. and Chu, T.M.: Use of human prostate-specific antigen in monitoring prostate cancer. Cancer Res., 41, 3874—3876, 1981.
 - 20) 小川祐司, 森川惇二, 大沢劉三郎, 町田豊平, 三木誠, 柳沢宗利: 前立腺特異抗原 (Prostatic Specific Antigen) の精製とその測定. Radioisotopes, 33, 273—278, 1984.
 - 21) 蒲池信一, 熊木健治, 栗山 学, 原 三郎: 腫瘍マーカーとしての前立腺特異抗原 γ -Sm と PA の比較検討. 第43回日本癌学会総会記事, p. 417, 1984.
 - 22) 臼井俊明: 正常値一患者データから基準値設定へのコンピュータの応用. 河合 忠, 他編, 臨床検査とコンピュータ ('82-'83), p. 41—50, 医典社, 東京, 1982.
 - 23) 三木 誠, 町田豊平, 柳沢宗利, 吉田正林, 山崎春城, 近藤直弥, 東陽一郎, 高橋知宏, 倉内洋文: RIA による前立腺特異抗原 (PA) 測定の臨床的評価. 日泌尿会誌, 75, 1982—1988, 1984.
 - 24) 栗山 学, 竹内敏視, 岡野 学, 出田 隆, 藤本佳則, 藤広 茂, 坂 義人, 西浦常雄: 血清前立腺抗原値の本邦における正常値, および米国人との比較検討. 日泌尿会誌, 75, 802—806, 1984.
 - 25) 布施秀樹, 秋元 普, 島崎 淳: 前立腺性酸性フォスファターゼおよび前立腺特異抗原の免疫酵素測定法. 泌尿紀要, 32, 1813—1819, 1986.

(1987年2月12日受理)