膀胱腫瘍における尿中 β -core fragment の腫瘍マーカーとしての意義

神鋼病院泌尿器科(医長: 山中 望)

山中 望 川端 岳 森末 浩一

淀川キリスト教病院(医長: 羽間 稔)

羽 間 稔

兵庫県立成人病臨床研究所(総長: 馬場茂明)

西 村 隆 一 郎

URINARY HCG β -CORE FRAGMENT AS A TUMOR MARKER FOR BLADDER CANCER

Nozomu Yamanaka, Gaku Kawabata and Kouich Morisue

Department of Urology, Shinko Hospital

(Chief: N. Yamanaka, M.D.)

Minoru Hazama

Department of Urology, Yodogawa Christian Hospital

(Chief: M. Hazama, M.D.)

Ryuichiro Nishimura

Hyogo Institute of Clinical Research

(President: S. Baba, M.D.)

Human chorionic gonadotropin (hCG) is a highly specific tumor marker for trophoblastic neoplasmas. Also in patients with non-trophoblastic tumors, hCG β -related material has been frequently demonstrated in their urine. This material was termed β -core fragment (β -CF) since it is recognized by hCG β -core directed antisera but not by hCG β -carboxyterminal peptide (CTP) directed antisera.

We measured the concentration of β -CF in the urinary samples from patients with urothelial tumors and studied its clinical usefulness as a tumor marker. The concentration of β -CF was expressed as ng/mg of creatinine in the urine and the cut-off value was 0.1 ng/mg·Cr. Thirty (61.2%) of 49 patients with bladder carcinoma had raised β -CF levels and the positive rates were dependent upon pathological grade (25.0, 33.3 and 82.8% at G1, G2 and G3, respectively). The elevated urinary β -CF were also detected in 5 of 7 patients with upper urinary tract carcinoma. However, there was no elevated urinary β -CF level in prostate carcinoma. Serial determination in 13 patients with elevated β -CF level prior to therapy showed that 12 patients had decreased concentrations after successful treatment, but 1 patient with persistently elevated urinary β -CF level after treatment subsequently relapsed.

The determination of urinary β -CF may provide a useful tool in identifying and monitoring the response to treatment in patients with carcinomas of the bladder and the upper urinary tract.

Key words: bladder cancer, hCG β -core fragment, tumor marker

要旨: 膀胱腫瘍患者尿中に含まれる hCG β -core fragment (β -CF) を測定し, その腫瘍マーカーとしての意義を検討した。Cut off 値を0.1ng/mg・Cr とすると61.2% (30/49例) が陽性であった。異型度別に検討した陽性率は G1=25.0% (2/8例), G2=33.3% (4/12例), G3=82.8% (24/29例) と異型度が高いほど高率であった。しかも, 尿中 β -CF 濃度も異型度に伴って高くなる傾向がうかがわれた。また, 遠隔転移を有する症例では100% (3/3例) の陽性率を示した。腎盂尿管腫瘍では71.4% (5/7例) の陽性率であった。また, 根治術後の変化を検討し得た13例では, 腫瘍の再発を来した1例を除きすべて陰性

化した。一方、前立腺癌および良性疾患群ではすべて陰性であり、尿中 β -CF は膀胱腫瘍および腎盂尿管腫瘍の腫瘍マーカーとして有用と考えられた。

キーワード：膀胱腫瘍, hCG β -core fragment, 腫瘍マーカー

緒 言

図 1 対象患者の背景

1972年, Civantos ら¹⁾がhCG β 免疫活性(IR-hCG β)を異所性に分泌する膀胱未分化癌の1例を報告して以来、膀胱腫瘍における異所性 IR-hCG β 産生の意義が注目を集めた。しかし、従来のhCG 測定法で血清中にIR-hCG β を検出することはきわめて稀であるため、これを腫瘍マーカーとして実用化するには至ってはいない。

最近、生体中のhCG β 免疫活性は単一分子ではなく、複数の異なる分子腫が関与することが明らかとなった。すなわちIR-hCG β には α および β -subunitのダイマーであるwhole hCG(W-hCG)のみならず、free hCG β およびその代謝産物と推定される β -core fragment(β -CF)の三者が関与することが判明した²⁾。我々は、それぞれに特異的なサンドイッチ法エンザイムイムノアッセイを開発し³⁾、妊娠や絨毛性疾患による正所性IR-hCGと非絨毛性細胞による異所性IR-hCG β とを比較検討したところ、両者間には質的に大きな差異のあることが分かった。すなわち、前者においてはホルモン活性を有するW-hCGが主因となることは周知の事実であるが、後者において分泌されるIR-hCG β の主因はfree hCG β であり、W-hCGが検出されることはむしろ稀な現象である。また、いずれの場合においても β -CFは血清中には検出不能でもっぱら尿中のみ検出される⁴⁾。

我々は、このような観点から膀胱腫瘍により異所性に産生されるIR-hCG β についても同様な分析を行った。その結果、血清中IR-hCG β の主因はfree hCG β であったが、尿中では β -CFであり、W-hCGは血清中、尿中ともに検出されなかった。また、同一患者でもその尿中には血清中の数倍から数十倍の濃度で β -CFによるIR-hCG β が検出されることを明らかにした⁵⁾。さらに、膀胱腫瘍患者尿中 β -CFが予想以上にしばしば検出されたことから、膀胱腫瘍の腫瘍マーカーとして利用できる可能性を見いだした⁶⁾。

今回、膀胱腫瘍患者尿中の β -CFの腫瘍マーカーとしての意義について検討し、興味ある結果が得られたので報告する。

対 象

対象は1990年10月より1992年2月までに、神鋼病院

	膀 胱 腫 瘍	腎盂尿管腫瘍
症例数	49	7
年齢(平均)	24~99(67.4)	42~72(62.7)
性別(男性:女性)	37:12	3:4
組織分類	移行上皮癌	移行上皮癌
組織学的深達度		
pTis	2	1
pTa	4	0
pT1	12	0
pT2	10	3
pT3	5	1
pT4	13	2
pTx	3	0
組織学的異型度		
G-1	8	0
G-2	12	3
G-3	29	4

及び淀川キリスト教病院を訪れた組織診断の明らかな膀胱腫瘍患者49例および腎盂尿管腫瘍7例である。対象患者の背景を図1に示す。また、Stage D2前立腺癌17例(年齢52~87歳、平均74.2歳)についても検討した。

コントロールとして、尿路感染症、前立腺肥大症、尿路結石症などの良性疾患30例を無作為に抽出し検討した。

方 法

hCG β 関連分子種(W-hCG, free hCG β 及び β -CF)は既報のサンドイッチ法エンザイムイムノアッセイ(表1)により分別測定が可能である。これらの内、EIA-IIIは β -CFに特異的な測定系であり、これを用い

表 1 hCG β 関連分子種の分別測定のためのサンドイッチ法エンザイムイムノアッセイ

測定系	エビトープ		特 異 性
	一次抗体	二次抗体	
EIA-I	β -CTP	α -subunit	whole hCG
EIA-II	β -subunit	β -core	free hCG β
EIA-III	β -core	β -core	β -CF

表2 β -CF アッセイの手順

て上記患者の尿中 β -CF を測定した。実際の測定方法の概略を表2に示す。なお、EIA-IIIは free hCG β に対しても交差反応を示すため、直接測定に際しては、その実測値から free hCG β の交差量を差し引いて β -CF 値を求めた⁷⁾。また、検体の採取方法は、原則的に早朝尿とし、腎機能の影響を可及的に除外するため測定値をクレアチニン値により補正した。これらの β -CF 値を膀胱癌取扱規約(第1版)にもとづき病理組織学的異型度、深達度および原発巣の腫瘍の数と大きさ別にそれぞれ検討した。

異常値を示した症例の内、TUR あるいは膀胱全摘除術により根治的に腫瘍を摘除し得たと判断された症例(膀胱腫瘍11例、腎尿管腫瘍2例)については術後1ヵ月後の変化を検討した。

結 果

1. 膀胱腫瘍における尿中 β -CF の陽性率

Cut off 値を0.1ng/mg・Creatinine とすると61.2% (30/49例) が陽性となった。また、異型度別に陽性例を見ると G1では25.0% (2/8例) にすぎなかったが、G2では33.3% (4/12例)、G3では82.8% (24/29例) と異型度が高いほど高率に検出された。しかも、尿中 β -CF 濃度は異型度にもなって高くなる傾向がうかがわれた。さらに、遠隔転移を有する症例では100% (3/3例) の陽性率を示した(図2)。Cut off 値を0.2ng/mg・Creatinine とすると陽性率は40.8%となり、G1では12.5% (1/8例)、G2では8.3% (2/12例)、G3では58.6% (17/29例) であった。遠隔転移例ではこの場合も100%の陽性率を示した。

組織学的深達度別の β -CF 値の分布を図3に示した。Cut off 値を0.1ng/mg・Creatinine とすると pTis では2例いずれも陰性、pTa では4例中1例のみが陽性であった。pT1、pT2ではそれぞれ50%(pT1: 6/12例、pT2: 5/10例)の陽性率でありほぼ同様の分布を示したが、いずれの症例も0.3ng/mg・Cr 以下と比較的低濃度であった。pT3およびpT4ではそれぞれ80% (4/5例)、100% (13/13例) と高率でありしかもほとんどの症例において高濃度で検出された。

一方、原発巣の腫瘍の数と大きさ別の β -CF 値の分布を見ると(図4)、単発例と多発例では分布様式にさほど差異はないが、最大径が3cm 以上の腫瘍では単

図2 膀胱腫瘍病理組織学的悪性度別尿中 β -CF の陽性率と分布(Cut off 値: 0.1ng/mg・Cr)

図5 疾患別尿中 β -CFの陽性率と分布 (Cut off 値: 0.1ng/mg・Cr)

図6 根治術後の尿中 β -CFの変化

カ月後には尿中 β -CFの速やかな陰性化が確認された。腎盂腫瘍の1例は、術後も β -CFが0.32ng/mg・Crと依然として異常値が持続したが、その後の観察にて傍大動脈周囲のリンパ節再発が確認された。

考 察

膀胱腫瘍は泌尿器科領域において最も頻度の高い悪性腫瘍の一つであるが、現在も臨床上有用な腫瘍マーカーは確立されていない。現在まで、CEA⁸⁾、BFP⁹⁾、ポリアミン¹⁰⁾などの既成のマーカーや種々のモノクローナル抗体¹¹⁾¹²⁾についての検討がなされているが、陽性率が低いことや特異性にかけること、あるいは尿路感染症の影響を受けることなどの難点があって、その有用性は十分に確立されるに至っていない。唯一、尿細胞診のみが腫瘍マーカーに準じた臨床的意義を有

するが、尿路外の転移や再発症例においては無力であり、なんらかの新しい腫瘍マーカーの開発が望まれている。

hCGは絨毛性疾患の理想的な腫瘍マーカーとして知られているが、非絨毛細胞性の悪性腫瘍による異所性hCG産生もよく認識されてきた。しかし、膀胱腫瘍によりhCGが異所性に分泌されることは最近まできわめて稀な現象ととらえられていた。ところが、1985年以降Rodenburg¹³⁾、Shah¹⁴⁾、Martinら¹⁵⁾は膀胱腫瘍組織におけるhCGの免疫組織化学的検討を行い、その陽性率がそれぞれ38%、12%、29%と報告したことから、膀胱腫瘍によりhCGが異所性に分泌されることは従来考えられていたほど稀ではないのではないかと推察されるようになった。さらに、Dexusら¹⁶⁾は浸潤性膀胱腫瘍92例中28例(30%)に血清「 β hCG」の上昇が見られたとし、Ilesら¹⁷⁾も臨床的に転移を有する症例においては21例中16例(76%)が陽性であったと報告した。

しかし、これらの研究におけるいわゆる「 β hCG」免疫活性の質的分析は行われておらず、その実態は不明である。前述のごとく、生体のIR-hCG β にはW-hCG、free hCG β 、 β -CFなどの異なる抗原性を示す分子種が関与することが明らかとなっている。従って、用いる抗体の種類により得られる測定値もまた異なって来る。hCG β に特異的とされる抗体は以下の3群に大別される。まず第一はSB6(米国NIH)に代表されるN末端より38~56残基付近の構造(β -core)を認識する抗 β -core抗体であり、第二はC末端部分(β -CTP)を認識する抗 β -CTP抗体、そして第三はW-hCGの状

態では、 α -subunit との会合により被覆されているが、free hCG β の状態で露出される β -subunit 上のエピトープを認識する抗 free hCG β 抗体である。例えば、W-hCG は抗 β -core 抗体と抗 β -CTP 抗体の両者に認識されるが、free hCG β は抗 free hCG β 抗体に主に認識される。そして、 β -CF は抗 β -core 抗体に強く反応するが、抗 β -CTP 抗体には全く認識されない。このような観点から前述の一連の報告を見ると用いられている抗体の種類はまちまちであり、しかもそれらのエピトープが明らかでない場合がほとんどであることから、「 β hCG」と表現されている免疫活性の意味するものは必ずしも同一ではないと考えられる。最近我々は3例の膀胱腫瘍患者で認められた血清中、尿中の IR-hCG β を質的に分析した。その結果、血清中 IR-hCG β の主因が W-hCG ではなく free hCG β であることと同時に、尿中では血清中の約10倍もの高濃度の IR-hCG β が存在し、それが β -CF に起因するものであることを明らかにした⁵⁾。このような成績を背景にすれば、Iles ら¹⁷⁾の観察した血清中と尿中の「 β hCG」免疫活性の解離現象も尿中にのみ大量に含まれる β -CF によるものと解釈できる。

β -CF は最近発見された hCG β 関連分子種の一つで、W-hCG あるいは free hCG β を前駆物質とする代謝産物と考えられ¹⁸⁾、分子量は W-hCG のおよそ3分の1 (約15,000ダルトン) である。W-hCG と異なりホルモン活性を発揮することはないが、hCG β としての強い免疫活性を有し、血清中では検出されずもっぱら尿中でのみ検出されるという特徴がある^{21,18)}。尿中 β -CF は膀胱腫瘍においては free hCG β を前駆物質とするものと推定され、尿中に腫瘍から直接放出されたものである可能性はない⁵⁾。今回の検討により、膀胱腫瘍患者尿中に検出される β -CF は Cut off 値を 0.1ng/mg $\cdot$ Cr とすると49例中、30例 (61.2%) が陽性であった。また、異型度別に陽性例を見ると G1では25.0% (2/8) にすぎないが、G2では33.3% (4/12)、G3では82.8% (24/29) と異型度が高いほど高率に検出され、しかも高濃度に検出される傾向がうかがわれた。また、組織学的深達度と別にみると、pT3以上の浸潤性腫瘍においては94.4% (17/18例) に陽性となり、高濃度に検出される症例が多かった。さらに、腫瘍体積との関連性も示唆されたが、後述のごとく膀胱腫瘍による hCG 異所性産生のメカニズムからも尿中 β -CF は腫瘍の異型度と深い関わりがあるのではないかと考えている。Cut off 値については婦人科領域において、正常婦人に

おける検討から、mean $\pm$ 2SD より 0.2ng/mg $\cdot$ Cr としすでに報告されているが⁴⁾、今回検討した良性疾患群30例および前立腺癌17例はすべて 0.1ng/mg $\cdot$ Cr 以下であることから、ここでは 0.1ng/mg $\cdot$ Cr を Cut off 値とした場合についても算出した。現在さらに症例を重ね Cut off 値の設定を検討中である。また、腎盂腫瘍7例では5例が尿中 β -CF 陽性であったことから、移行上皮癌に共通の現象と考えられる。なお、これらの異常値を示した症例の内、腫瘍が根治的に切除されたと判断された症例では、1例を除き尿中 β -CF の速やかな陰性化が確認されたことから治療効果のモニタリングとしても有用と考えられる。

非絨毛細胞性腫瘍における IR-hCG β の異所性産生のメカニズムとしては、癌化に伴う絨毛上皮化生により hCG β 遺伝子が再発現されるとの考え方が有力で、精巣や卵巣に発生する胚細胞性絨毛癌とは区別されている^{4,17)}。しかし、膀胱腫瘍においては病理学的に IR-hCG β 陽性の絨毛様巨細胞を認める場合と、膀胱移行上皮癌細胞そのものに IR-hCG β を認める場合があり^{5,19)}、今後解明されるべき課題と思われる。

一方、前立腺癌については免疫組織化学的に IR-hCG β を証明したとの報告^{20,21)}が散見されるが、今回すべて Stage D2に限って検討したにもかかわらず β -CF を検出し得なかった。

以上のごとく、尿中 β -CF は泌尿器科領域において、膀胱腫瘍および腎盂尿管腫瘍など移行上皮癌の腫瘍マーカーとしてきわめて有用と考えられるので、今後さらに症例を重ね検討する予定である。

結 語

膀胱腫瘍患者尿中の β -CF をエンザイムイムノアッセイによる特異的な系により測定し、以下の結果を得た。

1. Cut off 値を 0.2ng/mg $\cdot$ Cr とすると 40.8% (20/49例) が陽性であったが、0.1ng/mg $\cdot$ Cr とすると 61.2% (30/49例) が陽性であった。

2. 0.1ng/mg $\cdot$ Cr を Cut off 値として、異型度別に陽性例を見ると G1では25.0% (2/8例)、G2では33.3% (4/12例)、G3では82.8% (24/29例) と異型度が高いほど高率に検出され、しかも高濃度に検出される傾向がうかがわれた。また、組織学的深達度と別にみると、pT3以上の浸潤性腫瘍においては94.4% (17/18例) に陽性となり、遠隔転移を有する症例では100% (3/3例) の陽性率を示した。

3. 腎盂尿管腫瘍では71.4% (5/7例) の陽性率であっ

た。

4. 根治術後の変化を検討し得た13例では、腫瘍の再発を来した1例を除きすべて陰性化した。

5. 前立腺癌および良性疾患群ではすべて陰性であり、尿中 β -CFは膀胱腫瘍および腎盂尿管腫瘍などの移行上皮癌の腫瘍マーカーとして有用と考えられた。

文 献

- 1) Civantos, F. and Rywlin, A.M.: Carcinomas with trophoblastic differentiation and secretion of chorionic gonadotropin. *Cancer*, 29, 789—797, 1972.
- 2) Papapetrou, P.D. and Nicopoulou, S.C.: The origin of human chorionic gonadotropin β -fragment in the urine of the patients with cancer. *Acta Endocrinol.*, 112, 415—422, 1986.
- 3) 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—148, 1990.
- 4) 西村隆一郎, 衣笠万里, 長谷川和男, 竹内久仁生: 絨毛性疾患におけるhCG測定値の解釈. *産婦人科の実践*, 13, 2219—2226, 1991.
- 5) 山中 望, 西村隆一郎: 膀胱腫瘍で産生されるhCG β 様免疫活性の質的分析とその局在. *日泌尿会誌*, 82, 1150—1156, 1991.
- 6) 山中 望, 森末浩一, 川端 岳, 羽間 稔, 西村隆一郎: 膀胱腫瘍におけるhCG-core fragmentの腫瘍マーカーとしての意義. 第1回泌尿器科細胞解析研究会抄録, 19, 1992.
- 7) 北島隆史, 望月真人, 西村隆一郎: 絨毛性疾患患者尿中hCGの分子多様性とその臨床的意義. *日産婦誌*, 43, 297—303, 1991.
- 8) Lattimer, J.K.: Carcinoembryonic antigen and bladder carcinoma. *J. Urol.*, 115, 46—50, 1976.
- 9) 辻井俊彦, 米施淳二, 児島真一, 田利清信, 石井勝, 清野祐子: 泌尿器悪性腫瘍の診断における尿Basic fetoprotein (BFP)の意義. *日泌尿会誌*, 81, 829—834, 1990.
- 10) Sanford, E.J., Dargo, J.R., Rohner, T.J., Kessler, G.F., Sheehan, L. and Lipton, A.: Preliminary evaluation of urinary polyamines in the genitourinary tract malignancy. *J. Urol.*, 113, 218—221, 1975.
- 11) Guirguis, R., Schiffmann, E., Liu, B., Birkbeck, D., Engel, J. and Liotta, L.: Detection of auto-crine motility factor in urine as a marker of bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 80, 1203—1211, 1988.
- 12) Eto, H., Saya, H., Nakata, M., Mizoguchi, A. and Kamidono, S.: Antigen common to several species, recognized by a rat monoclonal antibody raised against syngenic rat bladder tumor. *Int. J. Cancer*, 44, 454—459, 1989.
- 13) Rodenberg, C.J., Nieuwenhuyzen Kruseman, A. C., deMaaker, H.A., Fleuren, G.J. and van Oosterom, A.T.: Immunohistochemical localization and chromatographic characterization of human chorionic gonadotropin in a bladder carcinoma. *Arch. Path. Lab. Med.*, 109, 1046—1050, 1985.
- 14) Shah, V.M., Newman, J., Crocker, J., Chapple, C.R., Collard, M.J., O'Brien, J.M. and Considine, M.J.: Ectopic beta-human chorionic gonadotropin production by bladder urothelial neoplasia. *Arch. Path. Lab. Med.*, 110, 107—111, 1986.
- 15) Martin, J.J., Jenkins, B.J., Zuk, R.J., Oliver, R.T. D. and Baithum, S.I.: Human chorionic gonadotropin expression and histological findings as predictors of response to radiotherapy in carcinoma of the bladder. *Virch. Arch. Path. Anat.*, 414, 273—277, 1989.
- 16) Dexus, F., Logothetis, C., Hossan, E. and Samuels, M.L.: Carcinoembryonic antigen and beta-human chorionic gonadotropin as serum markers for advanced urothelial malignancies. *J. Urol.*, 136, 403—407, 1986.
- 17) Iles, R.K. and Chard, T.: Human chorionic gonadotropin expression by bladder cancers: Biology and clinical potential. *J. Urol.*, 145, 453—458, 1991.
- 18) Amr, S., Wehmann, R.E., Birken, S. and Canfield, R.E.: Characterization of a carboxy-terminal peptide fragment of the human chorionic gonadotropin β -subunit excreted in the urine of a woman with choriocarcinoma. *J. Clin. Invest.*, 71, 329—339, 1983.
- 19) Ishikawa, J., Nishimura, R., Maeda, S., Hamami, G., Sugiyama, T. and Kamidono, S.: Primary choriocarcinoma of the urinary tract. *Acta Pathol. Jpn.*, 38, 113—120, 1988.
- 20) Shah, V.M., Newman, J., Crocker, J., Antonakopoulos, G.N., Chapple, C.R. and Collard, M. J.: Production of beta-human chorionic gonadotropin by prostatic adenocarcinoma and transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 68, 871—883, 1987.
- 21) Fukutani, K., Libby, J.M., Panko, W.B. and Scardino, P.T.: Human chorionic gonadotropin detected in urinary concentrates from patients with malignant tumors of the testis, prostate, bladder, ureter and kidney. *J. Urol.*, 129, 74—79, 1983.

(1992年11月11日受理)