日消外会誌　16（1）：17～22，1482年

# 胃癌の血清学的診断
## —総シアル酸，CEAおよびHexoseによる判別分析を用いて—

京都府立医科大学第1外科教室
上原　泰夫　　小島　　治　　栗本　貴志
谷奥　卓郎　　西岡　文三　　藤田　佳宏
間島　　進
社会保健神戸中央病院外科
王　　昭　崇
国立福知山病院外科
北　川　　直　樹

# SEROLOGICAL DIAGNOSIS IN GASTRIC CANCER PATIENTS: DISCRIMINANT ANALYSIS USING TOTAL SIALIC ACID, HEXOSE AND CEA

**Yasuo UEHARA, Osamu KOJIMA, Takashi KURIMOTO, Takuo TANIOKU**
**Bunzo NISHIOKA, Yoshihiro FUJITA and Susumu MAJIMA**
The 1st Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine
**Akimune OH**
The Department of Surgery, Kobe Chuoh Hospital
**Naoki KITAGAWA**
The Department of Surgery, National Fukuchiyama Hospital

胃癌患者45例において血清総シアル酸濃度，Hexose濃度およびCEA濃度が測定され，血清学的診断が試みられた．診断方法としては，上記3物質の血清濃度を変数とした判別分析が用いられた．血清総シアル酸濃度およびHexose濃度は胃癌患者で健常人に比べ有意に高値であった．上記3変数を単独で用いた場合の陽性率は総シアル酸56%，Hexose 84%，CEA 29%であったが，3変数併用した判別分析では78%が陽性となった．またstage Ⅰの胃癌でも69%の陽性率が得られた．血清総シアル酸とCEAについては病期進行とともに上昇する傾向がうかがわれた．

**索引用語**：総シアル酸，CEA, Hexose, 癌血清学的診断

### 1．はじめに

消化器癌のみならず悪性腫瘍一般において血清CEAはよく測定されている．しかし，CEAは悪性腫瘍患者の血清学的診断には当初期待されたほど有用ではなく，術後の経過観察あるいは化学療法の効果判定などに利用されているのが現状である．

従来より，悪性腫瘍患者では血中のAcute phase reactant proteins（APRP）が上昇することが知られている[1)~3)]．しかし，APRPは各種炎症性疾患においても上昇することが観察されており，腫瘍マーカーとしての意義は少ないと考えられている．

今回，われわれは胃癌術前患者の血清中のCEAおよびAPRPの構成成分であるシアル酸とHexoseを測定し，これらの物質による血清学的診断および術前胃癌進行度の評価が可能か否かについて検討を加えた．さらに一部症例では腫瘍組織内CEAおよびシアル酸濃度をも測定し，血清内濃度との比較検討をも行った．

### 2．検索対象および検索方法

京都府立医科大学第1外科および関連病院にて手術された胃癌患者45例（男27例，女18例：平均年齢56.2歳）が検索対象として，また対照健常人として当教室

員およびvolunteer 24例（男17例，女7例：平均年齢38.8歳）が用いられた．

シアル酸およびHexose用の試料は，術前，平熱，空腹時に静脈採血し，10分間遠心分離（2,000rpm）後血清を採取した．本血清は−80℃にて凍結保存された．遊離シアル酸（N-アセチルノイラミン酸）はWarrenらのThiobarbituric acid method[4]に準じて測定された．すなわち9M燐酸溶液に溶解された0.2Mメタ過ヨウ素酸ナトリウム溶液0.1mlを血清0.2mlと混じて撹拌し，20分間室温中に放置した．次に，本反応液に0.5M硫酸ナトリウムを含む0.1N硫酸溶液に溶解された10%亜ヒ酸ナトリウム溶液を1ml加えて撹拌し，さらに0.5M硫酸ナトリウム溶液に溶解された0.6%チオバルビツール酸を3ml加えて沸騰湯浴中にて15分間加熱した．加熱後冷却し，シクロヘキサノンを4.3ml加えて撹拌後10分間遠心分離し（2,000rpm），その赤色上層部を分光光度計（島津UV 200ダブルビーム）を用いて549nmおよび532nmで比色定量した．

総シアル酸については，血清0.1mlに0.1N硫酸1.9mlを加えて80℃にて1時間加水分解後，その水解溶液0.2mlを採取し，上記のWarrenらの方法にて測定した．

Hexose測定には血清0.2mlを用い，0.75M過塩素酸にて蛋白分画を抽出し，エチルアルコールで洗浄後1N水酸化ナトリウムにて37℃で18時間加水分解し，この水解物1mlを用いてクロモトロプ酸・硫酸法[5]にて測定した．すなわち，この水解物1mlに，15M硫酸に溶解された0.2%クロモトロプ酸溶液を5ml混じ，沸騰湯浴中で30分間加熱し，冷却後9M硫酸で10mlとし，570nmで吸光度を測定した．

なお，CEAはRoche kitにより測定された．

腫瘍組織は胃癌胃切除直後に採取され，Phosphate Buffer Saline（PBS: pH7.2）中にて凍結保存された．組織内の総シアル酸およびCEAは，凍結組織を融解後ホモジェナイズしてその上清を用い，血清と同様の手技にて測定された．なお，正常組織には腫瘍組織より充分はなれた胃粘膜が採取されて測定に用いられた．

各データの有意差検定にはt検定およびカイ二乗検定が用いられた．さらに，多変量解析法の一種である判別分析にはSPSS統計パッケージ[6]が用いられた．単一変数の場合はF-to-enterを3，三変数の場合はF-to-enterを1として，それぞれ判別関数を求め，この関数により個々の症例のグループ分けを行った．なお，三変数の場合の変数選択はstepwise methodとした．

表1　健常人および胃癌患者の血清中シアル酸おのびHexose濃度

| | 健常人 | 胃癌患者 |
|---|---|---|
| 遊離シアル酸 (nmol/ml) | 4.10±1.39 (n=17) | 4.73±0.77 (n=33) |
| 総シアル酸 (μmol/ml) | 1)1.74±0.04 (n=45) | 1)2.18±0.11 (n=45) |
| Hexose (mg/ml) | 2)1.08±0.05 (n=45) | 2)1.58±0.06 (n=45) |

(mean±S.E.) 1),2)：p<0.001

表2　血清総シアル酸，HexoseおよびCEAを用いた胃癌患者の判別分析による血清学的診断陽性率

| 総シアル酸 | Hexose | CEA |
|---|---|---|
| 56%（25/45） | 84%（38/45） | 29%（13/45） |

(a) 単一変数によるグループ分け

| 胃癌患者 | 健常人 |
|---|---|
| 78%（35/45） | 13%（3/24） |

(b) 三変数によるグループ分け

| stage Ⅰ | stage Ⅱ・Ⅲ | stage Ⅳ |
|---|---|---|
| 69%（11/16） | 87%（13/15） | 79%（11/14） |

(c) stage別にみた判別分析

### 3. 検索成績

1）胃癌患者の血清中総シアル酸，HexoseおよびCEA濃度と血清学的診断

a）健常人および胃癌患者の血清中シアル酸およびHexose濃度（**表1**）

血清中遊離シアル酸は，健常人（17例）と胃癌患者（33例）でそれぞれ4.10±1.39nmol/ml，4.73±0.77nmol/mlであり，両者間に有意差は認められなかった．また，血清中総シアル酸およびHeoseは，健常人でそれぞれ1.74±0.04μmol/ml，1.08±0.05mg/ml，胃癌患者でそれぞれ2.18±0.11μmol/ml，1.58±0.06mg/mlであり，健常人に比べて胃癌患者では有意に高値であった．よって，以後の検討では，シアル酸については総シアル酸のみが測定された．

b）血清総シアル酸，HexoseおよびCEAを用いた胃癌患者の判別分析（**表2**）

血清の総シアル酸濃度，Hexose濃度およびCEA濃度を変数として用いて判別分析を行った．すなわち，これらの変数から判別関数を求め，この関数から個々の症例を正常群と胃癌群にグループ分けを行った．ここで胃癌群にグループ分けされる場合を血清診断陽性，正常群にグループ分けされる場合を血清診断陰性とした．単一変数を用いた場合の陽性率は，総シアル

表 3　胃癌進行度と血清総シアル酸，Hexose および CEA 濃度

| | stage Ⅰ (n = 16) | stage Ⅱ・Ⅲ (n = 15) | stage Ⅳ (n = 14) |
|---|---|---|---|
| 総シアル酸 (μmol/ml) | *1.89 ± 0.13 | 2.14 ± 0.14 | *2.58 ± 0.23 |
| Hexose (mg/ml) | 1.63 ± 0.11 | 1.64 ± 0.07 | 1.46 ± 0.10 |
| CEA (ng/ml) | 3.58 ± 0.63 | 7.83 ± 3.28 | 7.25 ± 2.34 |

(mean ± S.E.)　　*P＜0.02

酸で56%，Hexose で84%，CEA で29%であった．一方，三変数を併用した場合の陽性率は78%と，CEA 単独の場合よりも有意に(P＜0.005)陽性率は上昇した．また，健常人の13%に比べても有意に高値であった(P＜0.005)．さらに，stage 別に陽性率をみると，stage Ⅰで69%，stage Ⅱ・Ⅲで87%，stage Ⅳで79%であり，早期の癌でも陽性率は比較的高かった．

2）血清総シアル酸，Hexose および CEA 濃度と胃癌進行状況

a）胃癌進行度と血清の総シアル酸濃度，Hexose 濃度および CEA 濃度（**表 3**）

胃癌進行度と血清総シアル酸濃度，Hexose 濃度および CEA 濃度の関係をみると，総シアル酸は stage Ⅰで1.89±0.13μmol/ml, stage Ⅱ・Ⅲで2.14±0.14μmol/ml, stage Ⅳで2.58±0.23μmol/ml, Hexose は stage Ⅰで1.63±0.11mg/ml, stage Ⅱ・Ⅲで1.64±0.07mg/ml, stage Ⅳで1.46±0.10mg/ml, CEA は stage Ⅰで3.58±0.63ng/ml, stage Ⅱ・Ⅲで7.83±3.28ng/ml, stage Ⅳで7.25±2.34ng/ml といずれも癌進行とともにやや増加する傾向がみられたが，総シアル酸でのみ stage Ⅰと stage Ⅳの間に有意差が認められた．

b）治癒手術と血清総シアル酸濃度，Hexose 濃度および CEA 濃度（**表 4**）

治癒手術施行群と非治癒手術施行群で，血清総シアル酸，Hexose および CEA 濃度をみると，それぞれ総シアル酸で2.18±0.13μmol/ml・2.20±0.18μmol/ml, Hexose で1.63±0.07mg/ml・1.46±0.11mg/ml, CEA で4.19±0.80ng/ml・10.94±3.98ng/ml と，いずれにおいても有意差は認められなかった．

3）胃癌組織内総シアル酸濃度および CEA 濃度

胃切除胃標本より得られた胃癌組織（30例）および正常胃粘膜（16例）内総シアル酸および CEA 濃度が測定された．

表 4　治癒手術と総シアル酸，Hexose および CEA 濃度

| | 治癒手術群 (n = 32) | 非治癒手術群 (n = 13) |
|---|---|---|
| 総シアル酸 (μmol/ml) | 2.18 ± 0.13 | 2.20 ± 0.18 |
| Hexose (mg/ml) | 1.63 ± 0.07 | 1.46 ± 0.11 |
| CEA (ng/ml) | 4.19 ± 0.80 | 10.94 ± 3.98 |

mean ± S.E.
p : n.s.

表 5　組織内総シアル酸および CEA 濃度

| | 総シアル酸 (μmol/g) | CEA (μg/g) |
|---|---|---|
| 正常胃粘膜 (n = 16) | 1) 0.93 ± 0.12 | 2) 2.84 ± 0.65 |
| 胃癌組織 (n = 30) | 1) 1.73 ± 0.37 | 2) 27.85 ± 12.09 |

1), 2) : p＜0.05

a）組織内総シアル酸濃度および CEA 濃度（**表 5**）

総シアル酸は正常胃粘膜で0.93±0.12μmol/g, 胃癌組織で1.73±0.37μmol/g, CEA は正常胃粘膜で2.84±0.65μg/g, 胃癌組織で27.85±12.09μg/g と両者とも胃癌組織内濃度が正常胃粘膜内濃度に比べ有意に高値であった．

b）腫瘍分化度と組織内総シアル酸濃度および CEA 濃度（**表 6**）

胃癌取扱い規約[12]により，病理組織型が pap, $tub_1$, $tub_2$ および muc であるものを高分化癌，por および sig であるものを低分化癌とし，両者での組織内総シアル酸および CEA 濃度を比較した．総シアル酸は，低分化癌で1.55±0.28μmol/g, 高分化癌で2.03±0.65μmol/g, CEA は低分化癌で7.02±1.88μg/g, 高分化癌で48.65±22.17μg/g であり，CEA は高分化癌でやや組織内濃度が大きい傾向がみられた．

c）同一組織内の総シアル酸濃度および CEA 濃度の比較（**図 1**）

同一組織内総シアル酸濃度および CEA 濃度の相関

表 6　腫瘍分化度別にみた組織内総シアル酸および CEA 濃度

| | 総シアル酸 (μmol/g) | CEA (μg/g) |
|---|---|---|
| 低分化癌 (n = 8) | 1) 1.55 ± 0.28 | 2) 7.02 ± 1.88 |
| 高分化癌 (n = 16) | 1) 2.03 ± 0.65 | 2) 48.65 ± 22.17 |

1) p : n.s.　2) 0.05＜p＜0.1

図 1　胃癌組織内総シアル酸およびCEA濃度

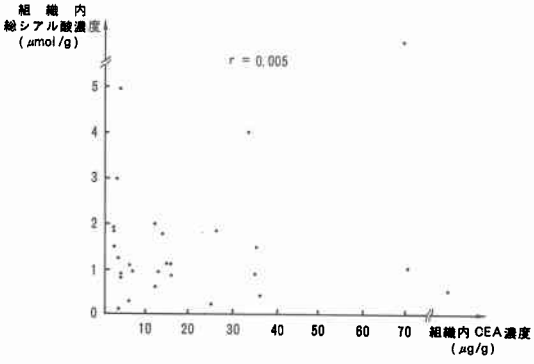



表 7　腫瘍面積と血清総シアル酸およびCEA濃度

| 血清濃度＼腫瘍面積 | T＜10 | 10≦T＜25 | 25≦T＜50 | 50≦T |
|---|---|---|---|---|
| 総シアル酸 (μmol/ml) | 1.86 ± 0.25 | 2.60 ± 0.42 | 2.53 ± 0.29 | 2.36 ± 0.32 |
| CEA (ng/ml) | 4.50 ± 0.14 | 3.38 ± 0.73 | 7.70 ± 2.77 | 2.56 ± 0.21 |

係数を求めたところ，相関係数r＝0.005であり，有意な相関関係は認められなかった．

4）血清の総シアル酸濃度，CEA濃度と組織内総シアル酸濃度，CEA濃度の比較

a）腫瘍面積別にみた血清総シアル酸濃度およびCEA濃度（**表7**）

腫瘍面積により検索対象を大きく4つの群に分け，それぞれの群での血清の総シアル酸およびCEA濃度について検討を加えた．総シアル酸およびCEAともに，腫瘍面積増大とともに血清濃度が上昇するという傾向は認められなかった．（相関係数：総シアル酸r＝0.005, CEA r＝0.047）

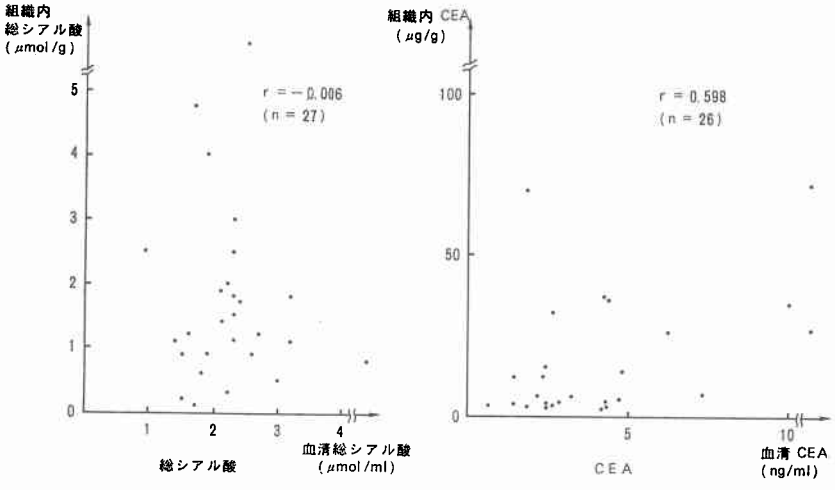
b）血清の総シアル酸濃度，CEA濃度と組織内総シアル酸濃度，CEA濃度との比較（**図2**）

血清総シアル酸濃度，CEA濃度と組織内総シアル酸濃度，CEA濃度を比較するために相関係数を求めた．総シアル酸では相関係数はr＝－0.006，一方，CEAでは相関係数r＝0.598であり，CEAでは血清濃度と組織内濃度との間に有意な正の相関関係が認められた（$P<0.005$）．

## 5. 考　察

さまざまな悪性腫瘍患者でAcute phase reactant proteins（APRP）が増加し，これらAPRPはある程度担癌状態を反映するものと考えられている．シアル酸，HexoseおよびHexosamineなどはAPRPを構成する糖蛋白の糖鎖部を占める主要物質である．シアル酸は1936年Blixにより初めて報告され，生体内のさまざまな組織，器管，体液あるいは分泌液中に存在している．さらにシアル酸は細胞膜表層に存在し，膜に負電荷を与えており，この電荷が細胞間の結合性にも影響を及ぼすものと考えられている．また，悪性腫瘍の増殖・浸潤などにもシアル酸の影響が論じられているが，一方組織破壊の際にもシアル酸の上昇することが知られている．さらに悪性腫瘍患者においてSialyltransferase活性が上昇する[3]ことを考えあわせると，シアル酸の上昇は悪性細胞における代謝面の変

図 2　血清濃度と組織内濃度の比較



化を反映するものと考えられている.

Hexoseは生理的に重要な六炭糖であり，glucose, fructose, galactose, mannoseなどがある.これらの糖質はシアル酸と同様，糖蛋白や糖脂質の糖鎖の構成成分であり，膜受容体の構成にもあずかっている.一方，glucoseやgalactoseは遊離分子の状態で，血中濃度が増加する病態が知られている（糖尿病，ガラクトース血症など).

CEAは1965年Gold, Freedmanらにより報告された癌胎児性蛋白（onco-fetal protein）で，主に胎児腸管組織中に存在する糖蛋白であるが，細胞あるいは組織の悪性変化に伴なっても生成され，現在さまざまな悪性疾患で上昇することが知られている.

これらシアル酸, HexoseおよびCEAを悪性腫瘍の血清学的診断に応用した場合, CEA単独では全悪性腫瘍で43%[14]，大腸癌で35%[9]，乳癌で37%[8]，われわれの検討では胃癌で29%といずれにおいても同程度の陽性率と考えられた.一方，シアル酸単独では，乳癌で55%[8]，われわれの検討では胃癌で56%とCEAに比べやや陽性率が高いと考えられた.さらに，CEAとシアル酸あるいはHexoseを共に用いた場合，全悪性腫瘍で65%[7]，大腸癌で81%[9]，われわれの検討では胃癌で78%と陽性率が向上した.

以上の結果より，胃癌においてもスクリーニングとしてCEAとともにシアル酸, Hexose等を同時に測定することが有用であり，比較的早期の胃癌でも陽性になることより，診断的価値は高いと考えられる.しかし，術前に治癒手術が可能か否かの判定に，これら3物質による診断があまり有用でないのは，上記のごとく切除可能症例でも陽性になるためと考えられた.

悪性黒色腫[11]，乳癌[8]，大腸癌[9]および胃癌[10]などの悪性腫瘍において病期進行とともに血清シアル酸濃度が上昇する傾向があり，われわれも胃癌において同様の結果を得ている.さらに八木[10]は胃癌で主腫瘍の大きいものほど血清シアル酸濃度が高値となると述べている.われわれの検討では血清シアル酸濃度高値となるのは，病期の進行しているものであるが，腫瘍組織内濃度と相関がみられないこと，腫瘍面積の血清濃度に及ぼす影響が少ないことから，乳癌の場合と同様，血清シアル酸濃度の上昇は腫瘍リンパ節転移を反映している可能性を示唆するものと考えられた.

他方，血清CEAは病期進行とともに高値を示し，特に肝転移の存在下では高値を示すことはよく知られている.われわれの検討では血清CEA濃度と組織内CEA濃度との間に相関が認められたものの，腫瘍面積の血清CEA濃度への影響は少ないと考えられた.しかしながら，胃癌においては，CEA産生腫瘍と非産生腫瘍のあること，谷奥らの組織学的検討[12]では高分化癌においてCEAの染色性が高い傾向にあることと考えあわせて，血清CEAの上昇機序の解析にはより詳細な検討が必要と考えられた.

## 5. 結　語

1）従来より悪性腫瘍患者において血清CEAはよく測定されている.胃癌患者において，Acute phase reactant proteins（APRP）の構成成分であるシアル酸およびHexoseをCEAとともに測定することにより血清学的診断陽性率の向上することが確認され，これら3物質を同時に測定し，スクリーニングとして用いることは有用と考えられた.

2）血清総シアル酸濃度およびCEA濃度は，病期進行とともに上昇する傾向にあり，総シアル酸濃度ではstage Ⅰとstage Ⅳの間に有意差が認められた.

3）血清濃度と組織内濃度の比較では，CEAで正の相関が認められたが，総シアル酸では相関は認められなかった.また腫瘍面積と両者の血清濃度との間には相関は認められなかった.

## 文　献


1) Macbeth RAL, Bekesi JR: Plasma glycoproteins in various disease states including carcinoma. Cancer Res **22**: 1170—1176, 1962
2) Harvey HA, Lipton A, White D et al.: Glycoproteins and human cancer. Cancer **47**: 324—327, 1981
3) Silver HKB, Karim KA, Archibald EL et al.: Serum sialic acid and sialyltransferase as monitors of tumor burden in malignant melamoma patients. Cancer Res **39**: 5036—5042, 1979
4) Warren L: The thiobarbituric acid assay of silaic acids. J Biol Chem **234**: 1971—1975, 1959
5) 大熊誠一：糖質の化学（下），日本生化学会編．生化学実験講座(4)．東京，東京化学同人，1976, p372
6) 三宅一郎，山本嘉一郎：SPSS統計パッケージ．解析編，東京，東洋経済新報社，1981, p84—86
7) Bradley WP, Blusco AP, Weiss JF et al.: Correlations among serum protein-bound carbohydrates, serum glycoproteins, lynphocyte reactivity, and tumor burden in cancer patients. Cancer **40**: 2264—2272, 1977
8) Hogan-Ryan A, Fennelly JJ, Jones M et al.: Serum sialic acid and CEA concentrations in human breast cancer. Br J Cancer **41**: 587—592, 1980

9) Walker C, Gray BN, Barnard R: Serum glycoproteins in diagnosis and monitoring of patients with large-bowel cancer Dis Col & Rect **24**: 171—175, 1981
10) 八木淳一郎：胃癌患者の血清シアール酸に関する臨床的研究．日外会誌 **80**：248—260, 1979
11) Silver HKB, Karim KA, Salinas FA: Relationship of total serum sialic acid to sialylglycoprotein acute-phase reactants in malignant melanoma. Br J Cancer **41**: 745—750, 1980
12) 谷奥卓郎，小島 治，上原泰夫ほか：胃の良性・悪性境界病変．日消外会誌 **15**：302, 1982
13) 胃癌取扱い規約：胃癌研究会編，東京，金原出版，1979, p36—86
14) 平井秀松：CEA-測定法とその臨床的検討一．日臨 **34**：164—169, 1976