

胃癌患者の血清 acid soluble glycoproteins (ASP) に 関する臨床的検討

東海大学第2外科

生越 喬二 近藤 泰理 中崎 久雄
田島 知郎 三富 利夫

SERUM ACID SOLUBLE GLYCOPROTEINS (ASP) IN THE PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Kyoji OGOSHI, Yasumasa KONDOH, Hisao NAKASAKI,
Tomoo TAJIMA and Toshio MITOMI

Department of Surgery, School of Medicine, Tokai University

過塩素酸に可溶性を示す血清ムコ蛋白 (acid soluble glycoproteins: ASP) を胃癌82例で測定し、48例では、細胞性免疫能、 α_1 -アンチキモトリプシン (α_1 -ACT), immunosuppressive acidic glycoprotein (IAP), immunosuppressive substance (IS 物質), sialic acid とともにその臨床的意義を検討した。血清 ASP 値は組織学的進行程度 stage 2 でもっとも低値を示し、臨床病期の進行とともに高値を示した。組織型別では、印環細胞癌がもっとも低値を示し、stage 4 では中等度分化型管状腺癌との間で有意の差が認められた。血清 ASP 値と、血清 IAP, IS 物質, α_1 -ACT, sialic acid 値との相関で臨床病期によっては、相関関係の逆転、喪失が認められ、癌の病態により少しずつ異なる分子量の蛋白の合成などが考えられた。

索引用語: acid soluble glycoproteins (ASP), 胃癌の病態生理, acute phase reactant proteins

はじめに

ヒト癌のマーカーとしては、Carcinoembryonic antigen (CEA), Alphafetoprotein (AFP) が腫瘍特異性蛋白として認識されている。一方 acute phase reactant proteins は、急性、慢性炎症時ならびに癌患者血清中に増加することが認められており、1948年、Winzler¹⁾により過塩素酸やズルホサリチル酸に可溶性の蛋白である血清ムコ蛋白 (seromucoid) が癌患者で著明に増加することが報告されて以来数多くの研究報告がなされてきている²⁾³⁾。今回は過塩素酸に可溶性を示す血清ムコ蛋白 (Acid Soluble Glycoproteins: ASP) の定量を目的に開発された ASPRO-GP 法により、胃癌患者血清中のムコ蛋白を測定し、その臨床的意義を、細胞性免疫能およびほかの acute phase reactant proteins との対比、術後の補助免疫化学療法による影響につき検討を行った。

対象と方法

対象症例は健常者61例、未治療状態の胃癌患者82例

であり、胃癌症例の病理組織学的検討は胃癌研究会の胃癌取り扱い規約⁴⁾により分類した。組織学的進行程度 stage 1, 31例, stage 2, 8例, stage 3, 22例, 非切除例を含めた stage 4, 21例であり、そのうちで、ASP, α_1 -antichymotripsin (α_1 -ACT), immunosuppressive acidic glycoprotein (IAP), immunosuppressive substance (IS 物質), シアール酸, および細胞性免疫能のすべての項目を測定しえた症例は48例である。術後の補助免疫化学療法を MMC+Tegafur (MF) 群 7例, MF+免疫賦活剤併用群 (PSK, 6例, OK-432, 1例) 7例に行い、術前、術後1カ月, 3カ月, 6カ月, 9カ月, 12カ月に採血し、同一検体で上記項目を測定した。

血清 ASP 値の測定には ASPRO-GP キットを使用した。すなわち、血清サンプル0.1ml に0.6M 過塩素酸 (PCA) を加え可溶性の血清ムコ蛋白を呈色試薬 (Coomassive Brilliant Blue G-250酸性溶液) と反応させ、O.D. 590nm で比色測定を行い、検量線より、血

清 ASP 濃度を算出した。対比する acute phase reactant proteins として、 α_1 -ACT はわれわれが単離し作製した抗 α_1 -ACT 抗体を用いた single radial immunodiffusion (SRID)法によるプレート法⁵⁾、IAP はアイビープレート(科薬抗生物質研究所)、IS 物質は呉羽化学研究所が作製した抗 IS 抗体を用いた SRID 法によるプレート法、シアール酸は極東シアール酸テスト⁶⁾(極東製薬工業 K.K.)にて測定した。細胞性免疫能として、T, B, IgG・FcR⁺・T 細胞を、それぞれ、E ロゼット法、表面免疫グロブリン検出法、二重ロゼット法を用いて測定し、リンパ球幼者化は、PHA による全血微量培養法により測定した。術後補助免疫化学療法として、封筒法により、手術当日 MMC 20mg, 翌日 10mg iv, 2 週目より Tegafur 600mg/日 内服、免疫賦活剤として、PSK 3.0g/日 内服を術後 2 週目より開始、OK-432 は漸増法として手術当日 0.5KE, 術後 3 日目 1KE, 術後 5 日目 2KE, 術後 1 週目 5KE, 以後 3 週間は毎週 5KE を投与し、その後 2 週間に 1 回 5KE を皮内投与し、術後 1 年間まで経過観察を行った。

結果

I. 術前血清 ASP 値の検討

1. 臨床病期との関係

健常者 61 例の血清 ASP 濃度は 46.4~155.6mg/dl で、平均(Mean±SD), 103.2±22.4mg/dl であり、正常値上限を 148.0mg/dl とすると、陽性例 1 例、1.6% であった。胃癌症例の組織学的進行程度 stage 1 は 34.0~318.0mg/dl で平均 115.3±63.4mg/dl で 148.0

mg/dl 未満の陰性例は、12 例、38.7% であった。stage 2 は 59~166.0mg/dl で平均 108.3±36.8mg/dl で陰性例 7 例、87.5%、stage 3 は 93.0~319.0mg/dl で、平均 178.0±72.6mg/dl で陰性例 8 例、36.4%、stage 4 は 58.0~601.0mg/dl で、平均 254.1±133.5mg/dl、陰性例 2 例、9.5% であった(図 1)。

2. 病理組織学的検討

高分化型管状腺癌 19 例の血清 ASP 濃度は平均 158.7±72.9mg/dl、中等度分化型管状腺癌 20 例は 193.4±134.9mg/dl、低分化型腺癌 19 例は 186.6±120.2mg/dl、印環細胞癌 22 例は 139.0±75.5mg/dl であった。組織学的進行程度と対比すると、図 2 に示すごとく、すべての組織型において、病期の進行に伴い、血清 ASP 濃度の増量が認められ、stage 4 では中等度分化型管状腺癌と印環細胞癌との間で有意の差が認められた。組織学的進行程度を深達度およびリンパ節転

図 1 胃癌症例における血清 ASP 値

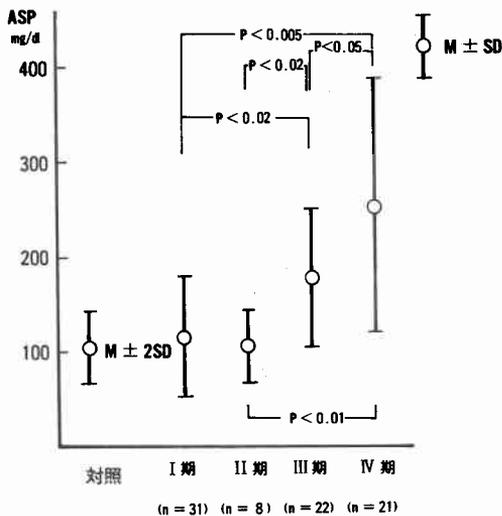


図 2 組織型別、臨床病期別血清 ASP 値

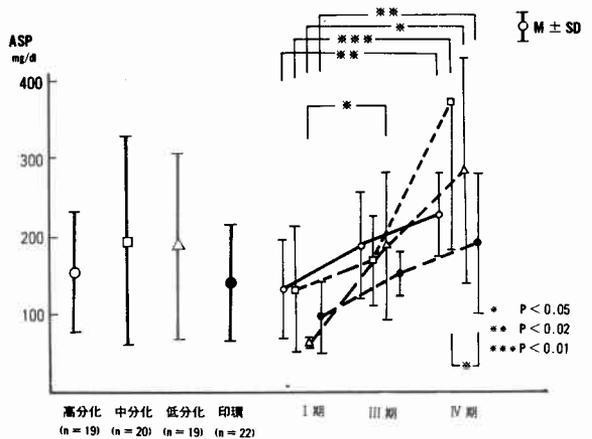
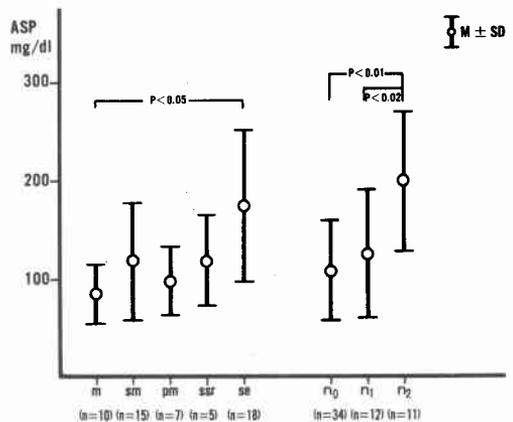


図 3 深達度およびリンパ節転移と血清 ASP 値



移でみると図3に示すごとく、深達度 m (n₀, 9例, n₁, 1例) は平均86.7±27.2mg/dl, sm (すべて n₀), 119.9±60.0mg/dl, pm, 99.3±34.6mg/dl, ssγ, 118.4±47.5mg/dl, se, 174.3±79.2mg/dl と, m と se の間で有意の差が認められた。リンパ節転移 n₀ は平均 108.9±51.5mg/dl, n₁ は124.7±67.4mg/dl, n₂ は 199.6±70.4mg/dl と, リンパ節転移の進行に伴い血清 ASP 濃度は増加し, n₀, n₁ と n₂ との間で有意の差が認められた。図4のごとく深達度 se 癌のみで検討を行うと, リンパ節転移 n₀ は平均135.0±63.4mg/dl, n₁, 159.2±92.2mg/dl, n₂, 202.2±76.8mg/dl であった。非治癒症例を, リンパ節転移 n₃, n₄ 症例を N 型, 肝転移

図4 治癒(深達度 se), 非治癒症例の血清 ASP 値

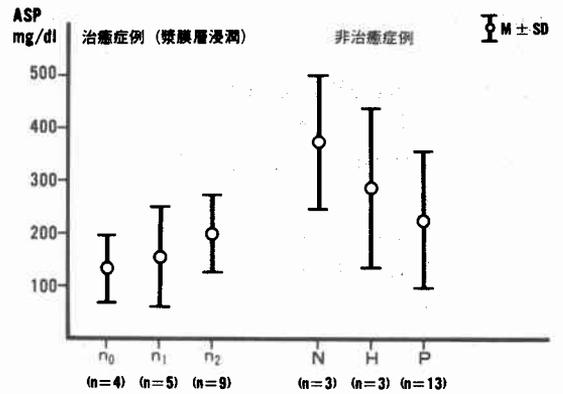


表1 血清 ASP 値と細胞性免疫能

	ASP(mg/dl)	T(%)	B(%)	PHA·S·I.	IgG·FcR ⁺ ·T(%)	WBC	ly(%)	ly count
Stage 1 (n=17)	114.4 +49.6	66.2 +8.5	32.6 +9.3	154.4 +55.7	5.3 +3.6	7.7 +3.6	30.8 +7.8	2341 +819
Stage 2 (n=6)	94.0 +29.3	66.7 +7.4	29.2 +11.9	186.7 +54.2	9.2 +5.0	6.6 +2.3	34.7 +8.1	2260 +953
Stage 3 (n=14)	170.0 +75.3	69.1 +10.7	29.7 +11.5	159.4 +59.4	5.8 +4.5	6.1 +1.6	32.7 +8.5	1998 +716
Stage 4 (n=11)	232.6 +65.8 ^{e, h, i}	65.5 +12.7	33.1 +13.3	236.5 +76.8 ^{d, g, j}	9.3 +4.3 ^c	5.9 +2.1 ^b	30.4 +7.4	1827 +888

stage 1 vs stage 3 a: p<0.02
 stage 1 vs stage 4 b: p<0.05, c: p<0.02, d: p<0.005, e: p<0.001
 stage 2 vs stage 3 f: p<0.05
 stage 2 vs stage 4 g: p<0.05, h: p<0.01, i: p<0.001
 stage 3 vs stage 4 j: p<0.01

表2 ステージ別血清 ASP 値と細胞性免疫能測定値との相関係数の比較

	T(%)	B(%)	PHA.S.I.	IgG·FcR ⁺ ·T(%)	WBC	ly(%)	ly count
Stage 1 (n=17)	0.079	0.104	0.516*	0.166	-0.118	0.054	-0.052
Stage 2 (n=6)	0.669	-0.294	0.720	0.551	0.465	-0.488	0.475
Stage 3 (n=14)	-0.256	0.176	-0.382	0.0179	0.486	0.215	0.480
Stage 4 (n=11)	-0.382	0.337	-0.217	-0.152	0.212	-0.662*	-0.195
Total (n=48)	-0.146	0.156	0.218	0.161	-0.054	-0.108	-0.095

*p < 0.05

例をH型、腹膜播腫例（N型2例、非切除例4例を含む）をP型として検討すると、N型 $375.7 \pm 129.3 \text{mg/dl}$ 、H型 $287.0 \pm 152.1 \text{mg/dl}$ 、P型 $225.5 \pm 133.3 \text{mg/dl}$ であった。

3. 細胞性免疫能との関係

細胞性免疫能を測定しえた48例の症例で、組織学的進行程度別に検討すると、表1に示すごとく、有意の差が認められ、細胞性免疫能は臨床病期の進行に伴い低下傾向を示したが、PHA stimulation index (PHA.S.I.) では逆に stage 4 で高値を示した。血清 ASP 濃度と細胞性免疫能との相関関係を検討すると、表2のごとく、48症例全体では低い相関係数が認められたが、臨床病期によっては逆の相関関係が認められている。統計学的に有意差が認められたのは stage 1 で、PHA.S.I. との間で相関係数 $r = 0.516$ 、stage 4 でリンパ球 (%) との間で相関係数 $r = -0.662$ であった。

4. 血清 ASP 濃度と、血清 IAP, IS 物質, α_1 -ACT, シアール酸濃度との関係

血清 ASP 濃度は血清 IAP 濃度と相関係数 $r = 0.519$ 、血清 IS 物質濃度と相関係数 $r = 0.760$ 、血清 α_1 -ACT 濃度と相関係数 $r = 0.593$ 、血清シアール酸濃度と相関係数 $r = 0.424$ とともに有意な強い相関関係が認められた。しかし、表3に示すごとく、臨床病期毎に検討すると、相関関係の逆転、または喪失が認められた。

II. 術後の血清 ASP 値の検討

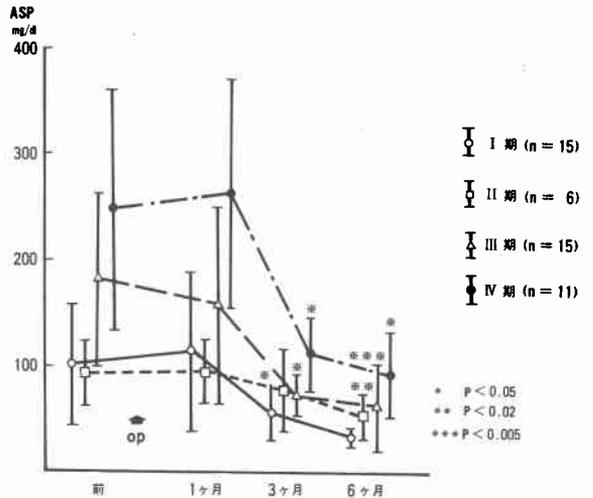
1. 臨床病期別による検討

表3 ステージ別血清 ASP 値と IAP, IS, α -ACT, sialic acid 値との相関係数の比較

	IAP	IS	α -ACT	sialic acid
Stage 1 (n=17)	0.471	0.530*	0.383	0.521*
Stage 2 (n=6)	-0.472	0.127	-0.374	0.041
Stage 3 (n=14)	0.488	0.810****	0.766****	0.490
Stage 4 (n=11)	0.585	0.744**	0.428	0.057
Total (n=48)	0.519****	0.760****	0.593****	0.424***

* $p < 0.05$
 ** $p < 0.01$
 *** $p < 0.005$
 **** $p < 0.001$

図5 臨床病期別血清 ASP 値の術後の推移



胃切除例における術後の変動を図5に示す。すべての組織学的進行程度 stage で、術後3カ月、6カ月で術前値に比べ有意な低下が認められた。

2. 免疫賦活剤の影響

図6 術後補助免疫化学療法時における T, B, IgG⁺ FcR⁺・T細胞の推移

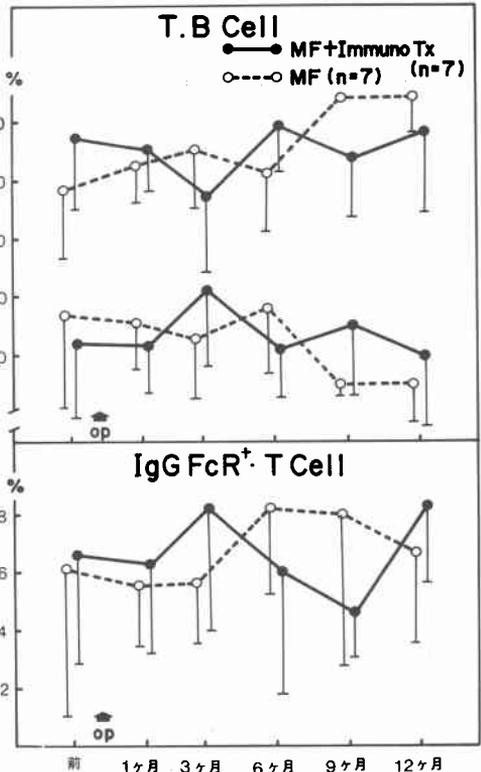
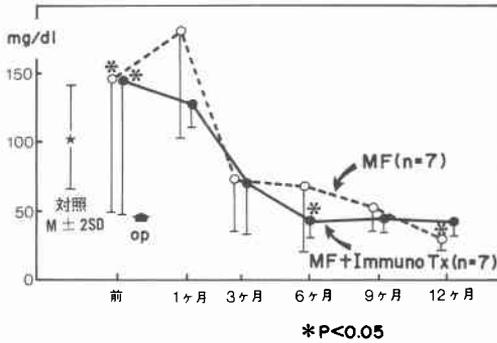


図7 術後補助免疫化学療法時における血清 ASP 値の推移



免疫賦活剤併用の有無による、T, B 細胞(%), IgG・FcR+・T 細胞 (%) の術後の変動を図6に示した。この2群間では、有意な差は認められなかったが、IgG・FcR+・T 細胞 (%) において、MF 群で認められた術後6カ月、9カ月の増加が、免疫賦活剤併用群では認められなかった。血清 ASP 値は免疫賦活剤併用群では、術後漸時減少傾向を示し、6カ月で術前値に比べ有意な低下を示したが、MF 群では術後1カ月では上昇し、その後漸時減少し、12カ月で術前値に比し有意な低下が認められた (図7)。

考 察

炎症性疾患、悪性疾患患者で、血清ムコ蛋白の血中レベルが増加することが、Winzlerにより発表されて以来、数多くの報告が認められる^{11)~31)7)~9)}。一方、ほかの glycoproteins 同様、肝臓で合成、代謝されるためか、肝炎、肝硬変症では、一般的に減少していることが知られている。胃癌患者血清中の seromucoid 測定の意義は、斉藤らによれば、腫瘍の進行程度、再発、術後の補助化学療法などの治療効果のよい指標であると報告している⁸⁾。また Harshman らも、悪性疾患患者の外科手術術後に継続的に測定し、再発例では術後高値が認められることより、悪性疾患患者の臨床経過の indicator として役立つ可能性を示唆している⁹⁾。さらに大谷によれば、その構成成分が病態により異なり、その病態ごとの質的な差異を示唆しているが、いまだその命題に関しては一定の見解が得られていないと思われる。今回著者が用いた ASPRO-GP 法で測定されている PCA 除蛋白上清中には、中嶋らの報告によると、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により ASP は5つの分画に分離され、分子量約4万を示した分画は全体のほぼ60%を占め、 α_1 -acid glycoprotein であり、分子量約2万を示す最も小さい分画は約10%

に認められ、糖蛋白成分の分解産物であり、そのほかの分子量約6~7万および20万の糖蛋白は30%を占め、 α_1 -antitrypsin, 補体 C3, Albumin 等ではないかと推測し、ASPRO-GP 法の測定対象蛋白は、Winzler 法による seromucoid 測定対象蛋白とほぼ同じであると結論している¹¹⁾。著者らの検討でもほぼ同様な結果が得られ、免疫拡散法では α_1 -acid glycoprotein, α_1 -antichymotrypsin, Haptoglobin, Haemopexin, albumin に交差反応が認められた。しかしこの点については、今回ほかの単離されている glycoproteins との相関関係を検討する上でも非常に重要なポイントであり、今後さらに検討する必要があると考えられた。

0.6M 過塩素酸に可溶性を示す ASP としての臨床的意義に関する報告は、江藤の報告があるにすぎない¹²⁾¹³⁾。それによると、正常値が Mean \pm 2SD (n=28), 100.4 \pm 34.4 mg/dl であり、炎症性疾患では例外なく増加し、原発性肝癌を除いたほかの悪性腫瘍ではほとんど高値が認められ、肝炎、肝硬変では低値を示し、シアール酸、赤沈値、 α_1 -グロブリン、 α_1 -acid glycoprotein, α_1 -antitrypsin とよく相関し、血清 ASP 測定は、炎症性疾患、悪性腫瘍などの臨床経過を観察する上で最もよいマーカーとなり、簡便性、再現性の面でも、臨床上有意義であると報告している。著者らの検討でも、臨床病期に伴い血清 ASP 値が増加を示したが、腫瘍マーカーとしては陰性例が多く認められ、そのような役割は期待できないと思われた。しかし、ほかの glycoproteins と同様に印環細胞癌で低値を示し¹⁴⁾、また臨床病期により組織型で差が認められたことは、注目される所見と考えられた。一方、免疫抑制作用が認められている IAP など¹⁵⁾と強い相関関係が認められている ASP と細胞性免疫能との関係が注目されたが、全体では相関が認められなかった。しかし、臨床病期により、T 細胞 subset と ASP との相関関係に逆転現象が認められていることから、細胞性免疫能に対しても何らかの関与が示唆された。先述したごとく、血清 ASP 値は PCA 可溶性蛋白として総合的に測定されているので、ほかの単離測定されている glycoproteins との比較、とくに等電点、分子量がほぼ等しいといわれている IAP と IS 物質との間でさえ、臨床病期により差が認められていることは、癌の biological status により、少しずつことなる分子量の蛋白が生成されたり、結合したり、分解されたりして、それぞれの病態の免疫応答にも影響を与えていることが示唆され、この観点からみても、PCA 上清に存在し、

血清 ASP 値として測定されている蛋白の検討は今後さらに必要であると考えられた。少数例の検討でもあり、免疫賦活剤の影響に関しては解明されなかったが、宿主側の反応性に依りて、免疫賦活剤の有無、種類で変化する可能性が示唆された。

結 論

胃癌患者の術前術後に血清 ASP 濃度を測定し以下の結果を得た。

1) 胃癌患者血清 ASP 値は組織学的進行程度 stage 2 でもっとも低値が認められたが、臨床病期の進行に伴い高値が認められた。

2) 組織学的検討では印環細胞癌でもっとも低値が認められたが、深達度、リンパ節転移ではともに高度な症例で、高 ASP 値が認められた。

3) 細胞性免疫能との相関関係は stage 1 で、PHA. S.I. との正の相関関係、stage 4 でリンパ球 (%) と負の相関関係が認められた。

4) 血清 ASP 値は血清 IAP, IS 物質, α_1 -ACT, シアル酸値とともに強い相関関係が認められたが、臨床病期によっては相関関係の逆転、喪失が認められた。

5) 免疫賦活剤併用症例では、ASP 値は術後漸時下降を示した。

文 献

- 1) Winzler RJ, Smyth IM: Studies on the mucoprotein of human plasma. II. Plasma mucoprotein levels in cancer patients. *J Clin Invest* 27: 617-619, 1948
- 2) Greenspan EM: Survey of clinical significance of serum mucoprotein level. *AMA Arch Internal Med* 93: 863-874, 1954
- 3) Cameron E, Campbell A, Plenderleith W: Seromuroid in the diagnosis of cancer. *Scot Med J* 6: 301-307, 1961
- 4) 胃癌研究会編: 外科・病理。胃癌取扱い規約, 改訂第10版, 東京・大阪・京都, 金原出版, 1979

- 5) Tsuda M, Ohkubo T, Kamiguchi H et al: Purification, properties and identification of serum DNA binding protein (64DP) and its microheterogeneity. *Tokai J Exp Clin Med* 7: 201-211, 1982
- 6) 玄番昭夫, 川口昭恵, 植田 寛ほか: 血清シアル酸の簡易定量法とその臨床的意義. *交通医* 34: 54-59, 1980
- 7) 糸賀 敬, 岡 孫員: 白血病, 悪性腫瘍における血清糖蛋白の病態生理. *臨病理* 18: 169-174, 1970
- 8) 斉藤達雄, 涌井 昭, 横山正和ほか: 悪性腫瘍における Seromuroid の臨床的観察. *癌の臨* 17: 189-195, 1971
- 9) Harshman S, Patikas PT, Dayani K et al: Serum mucoid levels in patients with cancer and the effect of surgical treatment. *Cancer Res* 27: 1286-1295, 1967
- 10) 大谷英樹: Seromuroid の病態別変動とその不均一性に関する研究. *札幌医誌* 26: 25-40, 1964
- 11) 中嶋克行, 小平 司, 市岡 豊ほか: Coomassie Brilliant Blue G-250 を用いた血清ムコ蛋白の新しい測定法. *臨化* 11: 214-221, 1982
- 12) 江藤公喜: 新しい血清ムコタンパク (ASP) の定量法 (第1報) - 血清ムコタンパク値と他の急性期反応物質 (CRP, シアル酸, 赤沈値) との相関関係について - . *機器・試薬* 5: 795-800, 1982
- 13) 江藤公喜: 新しい血清ムコタンパク (ASP) の定量法. (第2報). - 血清ムコタンパク中の構成成分について - . *機器・試薬* 5: 801-808, 1982
- 14) 生越喬二, 近藤泰理, 中崎久雄ほか: 胃癌患者の acute phase reactants. *日癌治療会誌* 17: 289, 1982
- 15) 石田名香雄, 田村啓二, 柴田芳実: 免疫抑制酸性蛋白の性状と癌患者における検出意義. *医のあゆみ* 115: 423-433, 1980
- 16) 咲田雅一, 山根哲郎, 春日正己ほか: 血清 IAP 値と IS 物質値の異同についての臨床的検討. *癌と治療* 10: 1755-1764, 1982