

子宮頸癌の生化学的診断法

第1編 血清 β -Glucuronidase

昭和34年11月30日 受付

信州大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 岩井正二教授)

相 沢 英 三

Biochemical Diagnosis of Uterine Cervix Cancer

Part 1. β -Glucuronidase in Sera

Eizo Aizawa

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. S. Iwai)

緒 言

近年 Fishman (1947)^①は癌組織中に β -Glucuronidase (以下 β -G と略記) が増加することを発見して以来癌診断への応用が考えられ、子宮頸癌の診断に腔内容または血清中の β -G 値を測定する方法が試みられている。血清中の β -G 測定の診断的価値については、岡田ら (1952)^②、森脇 (1957)^③、盛田 (1953)^④、貴島 (1953)^⑤、星川 (1955)^⑥、は価値を認めているが、山田・早川 (1954)^⑦、石原 (1955)^⑧、はこれに反対し、研究者によつて見解を異にしている。 β -G の子宮頸癌診断への応用は、従来主として患者腔内容を被検材料として行われたが、除蛋白操作の実施により血清中の β -G 測定法は著しく改善された結果、血清をもつてする証明法もまた癌診断に応用されている。しかし、その成因については、 β -G が Estrogen 代謝と密接な関係があるため、子宮頸癌患者の Estrogen 代謝亢進にもとづくものか、或は腫瘍中に増量した β -G の血液内移行にもとづくものであるかは、なお明らかにされていない。腔内容は被検物として極めて不安定であり、且つ採取が困難な場合もあるので、著者は血清を用いその β -G 値を非癌 (健康者・正常妊婦・良性腫瘍)、癌 (子宮頸癌・その他の悪性腫瘍) 症例につき測定し、また手術、Co⁶⁰ 照射など治療後の消長を検索して本法の臨床的意義を検索した。

第1章 β -G の測定方法Fishman-Springer 法^⑨により次の如く測定した。

(1) 2本の小試験管中に0.1mlの血清をとり、夫々にpH 4.5の0.1M 醋酸緩衝液0.8ml及び0.01M Glucuron 化 Phenolphthalein (Phenolphthalein-Mono- β -Glucuronide 日本薬化学を使用) 0.1mlをいれ、3本目の試験管には被検血清と緩衝液とをいれて対照とする。

(2) 38°Cに20時間放置後1mlの5%三塩化醋酸を加えて除蛋白 (Odell 法^⑩)を行い10分間遠沈する。

(3) 予め2.5mlのAlkali-Glycin (pH 10.45, 0.4 M Glycin 緩衝液200+0.5N NaOH 50)を入れた6ml目盛付比色試験管に綿栓付ガラスポートを通して注ぐ。

(4) 上清を注いだ残りの沈澱物に1mlの蒸留水を加え、遠沈後上清を同じく濾過して試験管内に注ぎ、濾液が総量6.0mlになるまでこの操作を行う。

(5) この6.0mlの液を充分混ぜた後に535m μ のFilterを使ってLeitz光電比色計 (当初は伊藤式540m μ)を使って判定し、その値を予め作製したPhenolphthalein 測定曲線におきかえる。

(6) 計算は次式による。

$$\text{遊離せる Ph. } \mu\text{g 数} \times \frac{1}{\text{保置時間}} \times \frac{100}{\text{検液の ml 数}} = \text{被検液 100ml に対する単位 (Fishman 単位)}$$

第2章 非癌及び悪性腫瘍患者における測定成績

第1節 非癌例

健康者14例、妊婦55例及び良性腫瘍13例について血清 β -G 値を測定した。成績は夫々表1, 2, 3に示すごとくで、先づ健康者の血清 β -G 値は50~250を示し、その平均値は110.8となり、いずれも閉経前の婦人であるが年齢差との関係はないようである。正常妊婦の血清 β -G 値はいずれも健康者の平均値を上廻り、殊に妊娠月数の増加と共に増大する傾向がみられ、妊娠前半期28例の平均値は204.1であるに対して、妊娠後半期27例のそれは348.2を示し、その間に有意の差が認められる。次に良性腫瘍患者 (子宮筋腫6例、卵巣嚢腫7例) 血清の β -G 値は50~163, 平均99.2で健康者との間にほとんど差異はみられず、

表1 健常者の血清β-G値

番号	姓	年令	β-G値
1	塩	○ 21	50
2	彦	○ 21	50
3	窪	○ 21	100
4	安	○ 21	113
5	小	○ 21	163
6	井	○ 23	175
7	森	24	50
8	高	○ 24	175
9	土	○ 26	250
10	西	○ 34	100
11	松	○ 47	125
12	藤	○ 53	75
13	吉	○ 55	50
14	武	○ 55	75
平均			110.8

表2 正常妊婦の血清β-G値

妊月	娠数	例数	β-G値	平均
妊2	5例	100 ~ 150	120.0	28例平均 値 204.1
妊3	8例	100 ~ 220	163.5	
妊4	6例	150 ~ 300	225.0	
妊5	9例	150 ~ 556	272.9	
妊6	8例	150 ~ 625	339.6	27例平均 値 348.2
妊7	3例	175 ~ 525	333.7	
妊8	3例	250 ~ 475	341.7	
妊9	5例	125 ~ 375	285.0	
妊10	8例	225 ~ 659	404.3	

表3 良性腫瘍の血清β-G値

番号	姓	年令	診断	β-G値
1	今	○ 24	卵 囊	100
2	九	○ 27	〃	50
3	横	○ 35	〃	50
4	矢	○ 37	〃	88
5	長	○ 川 40	筋 腫	125
6	寺	○ 41	〃	50
7	武	○ 41	〃	100
8	永	○ 42	〃	75
9	土	○ 46	卵 囊	125
10	小	○ 53	筋 腫	125
11	藤	○ 53	〃	163
12	福	○ 41	卵 囊	113
13	中	○ 37	〃	125
平均				99.2

また子宮筋腫と卵巣腫瘍との間にもほとんど差異は認められない。

要するに、非癌例において、血清中β-Gは妊婦では従来いわれているように高値を示すが、健常成熟婦人及び良性腫瘍では比較的lowく、吾々の測定方法では50~250、平均100前後と考えてよいであろう。

第2節 子宮頸癌及びその他悪性腫瘍例

表4 子宮頸癌患者の血清β-G値

進行期	番号	姓	年令	β-G値	
I期	1	寺	○ 42	125	3例 平均値 108.3
	2	中	○ 46	150	
	3	新	○ 49	50	
II期	4	滝	○ 36	50	11例 平均値 111.6
	5	矢	○ 42	225	
	6	藤	○ 43	100	
	7	伊	○ 46	75	
	8	小	○ 49	158	
	9	井	○ 51	50	
	10	細	○ 52	125	
	11	寺	○ 57	125	
	12	浅	○ 57	125	
	13	望	○ 63	125	
	14	原	76	75	
III期	15	米	○ 40	100	11例 平均値 96.6
	16	忠	○ 45	150	
	17	手	○ 50	150	
	18	飯	○ 52	50	
	19	高	○ 52	50	
	20	金	○ 53	88	
	21	伊	○ 54	50	
	22	渡	○ 56	125	
	23	鈴	○ 57	75	
	24	横	○ 65	75	
	25	五	○ 井 66	150	
IV期	26	百	○ 47	100	3例 平均値 121.0
	27	柳	○ 61	113	
	28	鎌	○ 67	150	
平均				106.4	

子宮頸癌 28例及び子宮頸癌以外の悪性腫瘍 11例について血清のβ-G値を測定した。

第1項 子宮頸癌

子宮頸癌 I期3例、II期11例、III期11例、IV期3例の成績は表4の如くである。すなわち、血清β-G値はI期では50~150、平均108.3、II期では50~

225, 平均 111.6, III 期では 50~150, 平均 96.6, IV 期では 100~150, 平均 121.0 で進行期との関係は認められず, また全体の平均値 106.4 は健常者における平均値 110.8 をむしろ下回り, 非癌例との間に著差を認めることはできず, 血清 β -G 値によつて子宮頸癌を診断することは不可能であるといわざるを得ない。

第 2 項 子宮頸癌以外の悪性腫瘍

子宮体癌, 絨毛上皮腫, 断端肉腫, 卵巣癌, クルーケンベルグ腫瘍, 卵巣血管肉腫及び原発性卵管癌等子宮頸癌以外の悪性腫瘍 11 例について測定した成績は表 5 の通りで, 血清 β -G 値は 50~200, 平均 90.6 で健常婦人よりはもちろん, 子宮頸癌患者よりむしろ低い値が示されている。

第 3 項 子宮頸癌治療後の血清 β -G の消長

個々の症例における血清 β -G の測定値は上記の如くであるが, 同一患者における β -G 値の経過をみるため, 子宮頸癌患者に対する根治手術後の血清 β -G 及び非手術例の Co^{60} 照射治療後の血清 β -G 値の消

長を観察した。成績は夫々表 6 及び表 7 の如くで, Co^{60} 照射例では推移は不定で明らかでないが, 根治

表 5 子宮頸癌以外の悪性腫瘍患者の血清 β -G 値

番号	姓	年齢	診 断	β -G 値
1	手 ○	51	卵巣血管肉腫	75
2	横 ○	33	子宮体癌	50
3	酒 ○	34	絨毛腫	75
4	富 ○ 見	35	卵巣癌	125
5	波 ○	36	クルーケンベルグ	100
6	中 ○	43	卵巣癌	150
7	中 ○	46	子宮体癌	150
8	山 ○	47	断端肉腫	122
9	一 ○	50	クルーケンベルグ	75
10	石 ○	51	卵管癌	75
11	長 ○	56	クルーケンベルグ	200
平 均				90.6

表 6 子宮頸癌患者血清 β -G の術後の消長

番号	姓	術前	術 後							その後の経過	予後	
			1 日	3 日	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週			
1	寺 ○	125	125		100	175	200		125	術後 4 ヶ月 75・10 ヶ月 100	良	
2	矢 ○	225						150	50	50	術後 5 ヶ月 50・10 ヶ月 50	良
3	五 ○ 井	150		163	214	150	200			125	術後 3 ヶ月 125・4 ヶ月 125	死
4	浅 ○	125	125	75	50	50	50	75	50			良
5	青 ○	100	200	125	125	50	100	100	100			良
6	滝 ○	50	100		75	75	75		75			良

表 7 子宮頸癌患者血清 β -G の Co^{60} 照射後の消長

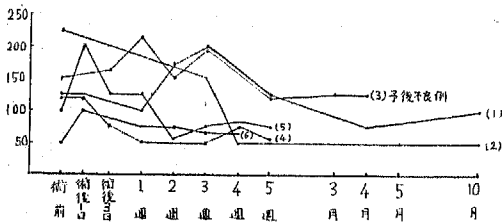
番号	姓	照射前	照射中	照 射 終 了 後					その後の経過	予 後
				1 日	1 週	2 週	3 週	4 週		
1	百 ○	100		100	150	50		150	照射終了後 2 ヶ月 150・4 ヶ月 75・1 年 150	死
2	望 ○	125	125	125	50	100	125		照射終了後 1 ヶ月 150・2 ヶ月 50・4 ヶ月 113	良
3	横 ○	75		100		50	75	100	照射終了後 1 ヶ月 125・2 ヶ月 50・4 ヶ月 50	死
4	鈴 ○	75	75	75	75	50			照射終了後 3 ヶ月 125	死
5	忠 ○	150	50	75	50	75		100	照射終了後 1 ヶ月 163	死
6	奥 ○	150	75	100	75					良

手術例では予後の良いものの血清 β -G 値は術後漸次低下し大体 100 以下に推移する傾向がみられ, 術後 2~4 週間で 100 以下となるものが多いが決定的なことはいえない (図)。

第 3 章 総括並に考按

1947 年 Fishman^① は癌組織中に β -G 値が高単位

にあらわれることを発見し, 以来 β -G 測定の癌診断への応用が考えられてきた。Odell (1949)^② によれば, 頸癌と正常頸部組織の β -G 値には大差があり, 潰瘍型より増殖型に高単位に出現し, また頸部組織は隣接非癌組織より活性度が高いことを認めたが, 体癌と正常内膜の間には著差を認めなかつた。Larinza

図 頸癌手術後の血清 β -G 値の推移

(1951)^⑫もまた頸癌の β -G 値 (2062 ~ 14900 単位) は正常頸部のそれ (82 ~ 120 単位) より高く、体癌の β -G 値 (2820 ~ 5820 単位) は正常内臓 (2871 ~ 5000 単位) とほとんど差がないとし、体癌と正常内臓との間に差がないことは、いずれも旺盛な細胞成長、増殖を営む組織であり、内臓と癌の細胞核分裂の特異性によるものであろうとした。而して癌組織中の β -G の高単位出現の理由として、Fishman^⑬ は Estrogen またはその類似物質の出現に対する代謝的反應であろうと推測している。いうまでもなく β -G は、生体において estriol, diethylstilbestrol, pregnandiol 等とグルクロン酸と結合した Glucuronide を加水分解する作用をもっており、この作用はまた試験管内でも証明される^{⑭~⑯}。従つて β -G は Estrogen 代謝と密接な関係をもつ点では Fishman の代謝的結合の仮説を思わせるが、一方 Kerr 氏 (1919)^⑰ は癌組織に β -G が増加する理由として細胞分裂との関係を重視しており、その当否はなお未解決の状態にある。また腫瘍の発育と Estrogen との関係も現在未決定で、頸癌患者の Estrogen 代謝状況について、血液・尿中 Estrogen 量から Estrogen 活性の増強を認めるもの (Ayre 1947^⑱ Bainbrough 1951^⑲ 古賀 1956^⑳) もあれば Estrogen 活性度は正常婦人と有意差はなく、むしろ低いとするもの (中山 1956)^㉑ もあつて、頸癌における β -G 増加の原因はなお明らかでない。

β -G は上述のように頸癌組織中に高単位に出現するが、患者腔内容にも増量し、また血液中の β -G も増加するといわれ、これらの材料が癌診断に応用される。腔内容では、Larinz (1951)^㉒ は非癌患者で 300 単位以上は 20% だが癌患者ではすべて 300 単位以上であつたとし、また β -G は腔内容の遺沈上清には少く、細胞崩壊物中に多く証明されるところから、 β -G は主として白血球等の細胞内にあり、細胞の破壊によつて腔内容の β -G 活性が賦与されると云う。しかし Fishman 氏 (1951)^㉓ の研究では 0 ~ 300 単位では白血球数が関係するが、300 単位以上では白血球数は β -G 活性度にそれほど重要な要素とはならないよう

である。いずれにしても腔内容の β -G は正常婦人であつても癌年齢に増加するため診断には慎重を要するし、材料が不安定で且つ採取困難な場合があり、治療効果の判定や予後の診断には必ずしも好適な材料とはいえない。一方血液中の β -G 測定は除蛋白操作の実施によつて大いに改善され、人血液中の大部分は白血球及びリンパ球を主とする細胞成分中に存在するが血清中にも含まれ、患者血清中の β -G 活性度をもつて癌の診断を試みた報告は少くない^㉔。すなわち、岡田氏 (1952)^㉕ は癌 23 例、非癌 26 例について血清中の β -G 値を測定した結果診断的価値のあることを認め、一応 100 ~ 150 単位の間境界線を引き得るとし予後の推察にも役立つと述べ、森脇^㉖ は頸癌 33 例について測定し、 β -G 平均値は 0 期 424 単位、I 期 480 単位、II 期 474 単位、III 期 399 単位、IV 期 560 単位で、各個についてみるときは低値を示すものもあるが一般に特異的高値を示し血清中 β -G の測定は補助診断法として役立つと述べ、盛田 (1953)^㉗ は除蛋白は行わず 6 単位 (Odeil 単位) 以上を陽性とすべきことを主張し、これにより 52 例中癌の陽性率 91.6%、陰性率 8.4%、非癌の陰性率 85.7%、陽性率 7.25% を得、癌の初期のものに対する診断的価値は疑問であるが病変とはほぼ平行し、従つて転移の有無、病変の進行程度、予後判定、術後経過観察により全治または再発等の判定に役立つと述べている。そのほか、婦人科以外の領域において、貴島、星川の両氏とも血清 β -G は癌の補助診断法として価値あることを認めている。また森脇はレ線療法により一般に血清 β -G は減少をきたし、リンパ節転移ある時には上昇するものが多い傾向を示し、Ra, Co⁶⁰ 療法では上昇例なくレ線の場合より強い減少を示した。また血清 β -G は Nitromin により全例に減少をきたし、Azan では早晩死亡せる例とリンパ節転移例に上昇傾向が認められたという。これら癌の補助診断的価値を認めるものがある一方、これに疑義をもつものもあり、例えば山田・早川 (1954)^㉘ は頸癌患者に血清 β -G の活性を認めることはできないと云い、石原 (1954)^㉙ も正常婦人より低い値を示し、血清 β -G に関して子宮頸癌患者における活性化は認め難いと述べており、本法の診断的実用化には未解決の点が多いようである。

本法は定量的測定法であるから、予後の追究のためには便利であると考え血清による本法の癌反応としての価値を再検討するため実験を行つたが、先ず非癌例で、妊婦殊に妊娠後半期には高く、健康成熟婦人及び良性腫瘍では個人差が相当ある (50 ~ 250 単位) が平均 100 ~ 110 単位であり、子宮頸癌では非癌例と同

様個人差が強く全体の平均値 (106.4 単位) は健常者における平均値 (110.8 単位) よりむしろ低く、非癌例との間に著差は認められず、また進行期との関係もみられなかつた。これは子宮頸癌以外の悪性腫瘍においても同様であつたが、ただ根治手術例で予後の良いものは術後血清 β -G 値は入院中にも多少低下する傾向を示すものがある。すなわち、子宮頸癌患者における血清 β -G の測定は、予後の判定に多少参考となし得る場合があると考えられるが、子宮頸癌の補助診断の価値には疑問を持たざるを得ない。

結 論

(1) 血清 β -G 値は、非癌例にて妊婦では非妊婦より有意に高く、殊に妊娠後半期により高い値を示すが、健常成熟婦人及び良性腫瘍では個人差は相当あるが比較的 lowく、50~250 平均 100 前後であつた。

(2) 子宮頸癌では、非癌例と同様個人差が強く、全体の平均値は健常者における平均値をむしろ下回り、非癌例との間に特に著差は認められず、また進行期との関係もみられなかつた。

(3) 子宮頸癌以外の悪性腫瘍においても子宮頸癌におけると同様血清 β -G は必ずしも高い値を示すとはいえない。

(4) しかし根治手術例で、予後の良いものは術後血清 β -G 値は漸次低下するか大体 100 以下に推移する傾向がみられる。

(5) 以上より、子宮頸癌患者における血清 β -G の測定は、予後の判定に多少参考とはなし得ると考えられるが、これを子宮頸癌の補助診断法として応用するには適当でないと思ふ。

欄筆するに当り、御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師岩井教授に衷心より感謝の意を表すると共に

御助言下さつた石井講師及び御協力下さつた本教室滝沢博士に深謝します。

文 献

- ① Fishman : J. Biol. Chem. 169 : 7, 1947. ③ 岡田・森本 : 産婦の世界 4 : 6, 446, 1952 (昭27)
 ③ 森脇 : 広島医学 10 : 4, 183, 193, 1957 (昭32)
 ④ 盛田 : 名市大医学会誌 4 : 163, 1953 (昭28) ⑥ 貴島 : 日本消化器病学会誌 52 : 7, 1955 (昭30) ⑥ 星川・加藤 : 日本消化器病学会誌 50 : 6, 1955 (昭30)
 ⑦ 山田・早川 : Nagoya J. of Med. Science 16 : 3, 203, 1953. ⑧ 石原 : 日産婦誌 7 : 6, 751, 1955 (昭30) ⑨ Fishman, Springer & Brunetti : J. Biol. Chem. 173 : 449, 1948. ⑩ Odell & Burt : J. A. M. A. 142 : 226, 1950. ⑪ Odell : Cancer Research 9 : 362, 1949. ⑫ Larinz, Novell, Googan & Odell : Am. J. Obst. & Gynec. 61 : 3, 527, 1951.
 ⑬ Fishman : J. Biol. Chem. 152 : 487, 1944.
 ⑭ 小池 : 日産婦誌 6 : 1, 13, 1954, (昭29) ⑮ Haris & Cohen : Endocrinology 50 : 1, 16, 1952.
 ⑯ Odell : Science 109 : 564, 1949. ⑰ Kerr : Biochem. J. 46 : 277, 1949 ; 44 : 487, 1950.
 ⑱ Ayre : Am. J. Obst. & Gynec. 54 : 303, 1947.
 ⑲ Bainbrough : Am. J. Obst. & Gynec. 61 : 2, 330, 1951. ⑳ 古賀・吉田・中島・秋元 : 産婦の世界 8 : 1, 14, 1956 (昭31) ㉑ 中山 : 日産婦誌 8 : 12, 1337, 1956 (昭31) ㉒ Bayly & Green : Am. J. Obst. & Gynec. 64 : 3, 660, 1952. ㉓ Fishman & Homburger : Am. J. Obst. & Gynec. 61 : 3, 1951. ㉔ 森山・小池 : 産婦の世界 4 : 2, 140, 1952 (昭27)