

# 卵巣癌診断におけるGATの有用性

Clinical Significance of Galactosyltransferase Associated with Tumor in Ovarian Cancer

植 嶋 孝 夫\*

Uejima, Takao

GAT is a tumor marker which was newly developed by Konica and was approved as a clinical use by the Ministry of Public Welfare. The GAT-EIA kit quantifies the GAT level in serum specifically by using monoclonal antibodies MAb8513 and MAb8628. Moreover, this EIA kit can be used safely and easily. Endometriosis, which is a benign gynecological disease most frequently encountered clinically, is often difficult to distinguish from ovarian cancers. GAT is a useful marker for the discrimination between ovarian cancer and endometriosis.

## 1 はじめに

GAT (Galactosyltransferase Associated with Tumor : 癌関連ガラクトース転移酵素) は、コニカが糖転移酵素関連マーカーとしては世界で初めてその開発に成功した腫瘍マーカーである。従来より、GATは卵巣腫瘍の良・悪性の鑑別診断において有用なマーカーとなり得ることが報告されており<sup>1-3)</sup>、この8月に厚生省から医薬品としての製造承認を受けた。

今回は、GATの生化学的背景、測定キットの基本性能、ならびに製造承認において決め手となった、「内膜症性嚢胞の症例に潜在する卵巣癌の診断におけるGATの有用性」に関して解説したい。

## 2 GATとは

GATは正常のガラクトース転移酵素（以下GalTと略す）とは異なり、自己会合しやすい性質を持つことを特徴とした癌関連酵素である。GATの分子構造はそのcDNAを用いた解析より明らかにされている。すなわち、GATは正常のGalTと同一の遺伝子産物ではあるが、細胞内GalTが可溶性GalTとして体液中に放出される過程において、なんらかの癌性変化に伴い通常とは異なった部位で切断を受け、正常のGalTより長いN末端を残したまま体液中に放出されたものがGATであると考えられている<sup>4)</sup> (Fig. 1)。モノクローナル抗体MAb8513はこのN末端のより長い部分（GATに特徴的に存在する部位：Fig. 1の斜線部）を認識し、またモノクローナル抗体MAb8628は正常のGalTにも存在する部位を認識している。

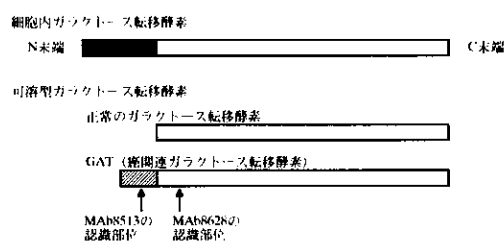


Fig. 1 GATとβ(1-4)ガラクトース転移酵素との分子構造の違いと抗GATモノクローナル抗体の認識部位

## 3 GAT測定キットについて

### 3.1 測定原理

血清中のGAT測定キットは、同一分子上の異なる2つのエピトープに対するモノクローナル抗体MAb8513、MAb8628を用いることにより、GATを選択的に測定することを可能としており<sup>5)</sup>、またEIA法（酵素免疫測定法）を用いることにより、安全かつ汎用性の高い測定キットとなっている。

### 3.2 キットの仕様

Table 1にキットの構成を示す。

Table 1 GAT-EIAキットの構成試薬

	名 称	主 な 成 分	数 量
1	抗体結合ビーズ	MAb8513固相化ビーズ	1個
2	緩衝液	リン酸緩衝液	1個
3	酵素標識抗体液	MAb8628-HRP溶液	1個
4	発色剤（凍結乾燥剤）	オルトフェニレンジアミン二塩酸塩	2個
5	基質液	過酸化水素	2個
6	反応停止液	硫酸	1個
7	標準品1~4（凍結乾燥剤）	ヒト初乳	各1個

付属品：添付文書、ピンセット

血清中のGAT値の測定方法を以下に記す。

- ① 検体50 μlに200 μlの緩衝液及び抗体結合ビーズを加え、45℃で2時間反応させる。
- ② 抗体結合ビーズを3回洗浄後、250 μlの酵素標識

\* 第2開発センター

抗体液を加え、20℃で1時間反応させる。

③ 抗体結合ビーズを4回洗浄後、300μlの発色液を加え、15～30℃で30分発色させる。

④ 1mlの反応停止液を加え反応を停止させた後、波長492nmの吸光度を求める。

標準液1～4を上記①～④と同様に操作し吸光度を求め、これと検体の吸光度とを比較しGAT濃度を算出する。単位はU/ml。

### 3.3 キットの性能

キットの基礎的検討では、標準曲線の安定性 (Fig. 2)、測定内及び測定間再現性、添加回収試験、希釈直線性ともに良好な結果を示し、実用上十分な性能を備えた測定系であることが確認されている<sup>6)</sup>。

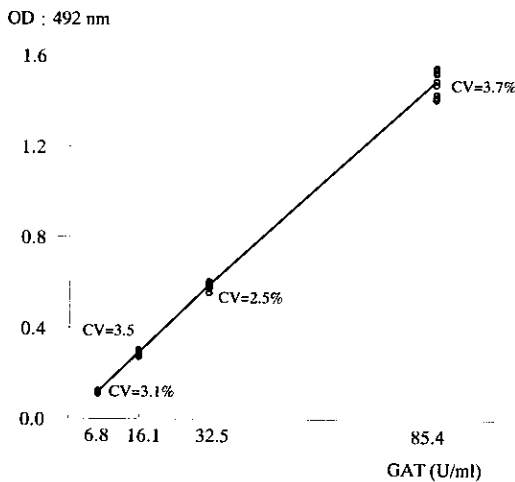


Fig. 2 GATの標準曲線  
各標準液の測定値とその平均値 (n=10) を示す。標準曲線は直線を示し、また各点の変動係数 (CV) も4%以下と安定した標準曲線である。

また、ビリルビンやリピッドの共存、および検体の凍結融解の影響は認められなかった。しかし、高濃度のヘモグロビンの共存下においてGAT値に正誤差を生じたため、高度に溶血した検体の測定には注意が必要である。

## 4 卵巣癌診断における問題点

### 4.1 初診時に良性腫瘍と診断された卵巣癌の頻度

産婦人科において初診時に良性卵巣腫瘍と診断されたものの、その後の精密検査や経過観察を経て治療され、卵巣癌と判明した症例の頻度を調べた。平成1～5年の間の卵巣癌106例中、7例；6.6%が初診時に良性腫瘍と診断された卵巣癌であった。

この卵巣癌、7例の内訳をTable 2に示す。初回エコー診断で、内膜症性嚢胞と診断された症例が、7例中3例と最も高い割合を占めていた。この3例は、術前のエコーにおいてもなお内膜症性嚢胞と判断されていた。また、発見された卵巣癌には、進行癌も少なからず含まれていた。さらに、腫瘍マーカーの上昇が認められたのは5例中わずか1例のみであった。

Table 2 初診時に良性卵巣腫瘍と診断された卵巣癌症例

(平成1～5年：7例)

エコー診断		臨床 進行期	期間	マー カー の変動
初 回	術 前			
内膜症性嚢胞：3例	内膜症性嚢胞：3例	I：3例	8ヶ月 ～ 5年	有：1例  無：4例
成熟嚢胞性 奇形腫：2例	悪性卵巣腫瘍：3例 (充実部混在)	II：2例		
良性卵巣嚢腫：1例	成熟嚢胞性 奇形腫：1例	III：1例		
その他：1例		IV：1例		

### 4.2 卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別の必要性

内膜症性嚢胞の診断においては、外来での双合診やエコー診断だけでフォローアップに至らざるをえない、いわゆる「臨床的子宮内膜症」が多く存在するために、臨床医は常に、悪性かもしれないという不安感にとらわれている。しかも、フォローアップ中におけるルティーンの診断法、即ちエコーや既存の腫瘍マーカー<sup>7)</sup>だけでは、卵巣癌と内膜症性嚢胞との判別にしばしば苦慮することから、卵巣癌を想定した精密検査を繰り返すこともある (Fig. 3)。

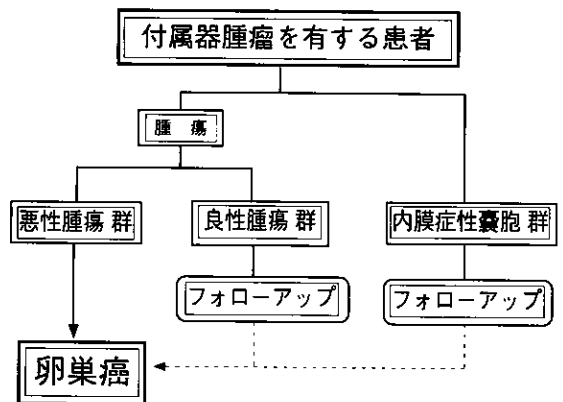


Fig. 3 卵巣癌診断のフローチャート  
卵巣癌診断の流れを示す。内膜症性嚢胞 (良性) と診断された症例に潜在する卵巣癌診断法が必要である。

基礎調査の結果 (Table 2) はこのような現状を如実に示しており、初診時に内膜症性嚢胞と診断された症例からは、その後の精密検査や経過観察を経て卵巣癌が発見される可能性を無視できない。従って、卵巣癌の疑いが拭えない内膜症性嚢胞の症例に潜在する卵巣癌の診断に適した新たな腫瘍マーカーが必要とされている。

## 5 GATの臨床的有用性

### 5.1 GATを用いた卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別

卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別を、卵巣癌143例、内膜症性嚢胞110例を対象としたROC (receiver operating characteristic: 受信者動作特性) 解析を用いて比較

検討した。対照マーカーとしてコア蛋白関連抗原のCA 602、CA 125、母核糖鎖関連抗原のCA 546、CA 72-4、STN、基幹糖鎖関連抗原のSLXを用いた。図4に示すように、GATはAUC (area under curve : ROC曲線下の面積で、マーカーの能力の指標) 値が81.3と他のマーカーに比べ有意に高い値を示し、また他のマーカーのROC曲線との交差もみられなかった。従って、GATはそのカットオフ値の設定に関わらず、卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別に適したマーカーと考えられた。陽性率 + (1 - 偽陽性率) が最大値を示すカットオフ値である「最区分点」は13.6 U/mlを示したことから、本目的のカットオフ値としては13.6 U/mlが適していると考えられた。

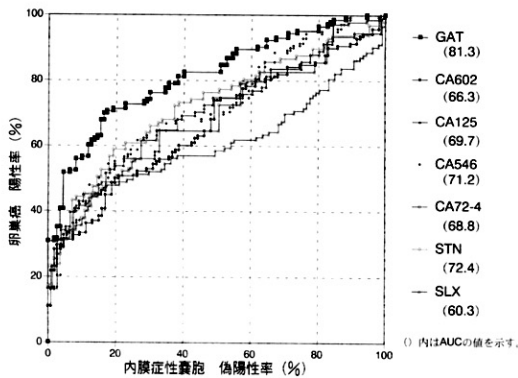


Fig. 4 卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別における各マーカーのROC曲線  
横軸は内膜症性嚢胞における偽陽性率を、縦軸は卵巣癌の陽性率を示し、グラフが左上に近づいている程、鑑別に優れていたマーカーである。

このカットオフ値13.6 U/mlを用いた場合、図5に示すようにGATの卵巣癌での陽性率は70.6%を示し、コア蛋白関連抗原(現在、最も汎用されている腫瘍マーカー)であるCA 602の75.4%、CA 125での75.8%に匹敵するものであった。また、卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別における診断効率(陽性率 × (1 - 偽陽性率): マーカーの性能を示す指標の一つ)は、GATでは0.584と、CA 546の0.437に比べても特に高率を示した。

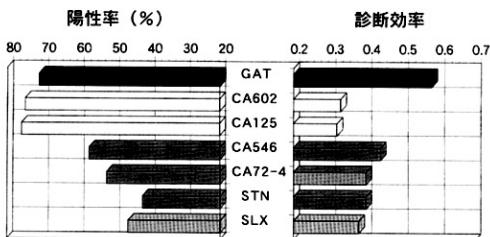


Fig. 5 各種マーカーの卵巣癌陽性率および内膜症性嚢胞との鑑別における診断効率。GATのカットオフ値は、13.6 U/mlを用いた。

以上より、GATは、初診時に内膜症性嚢胞と診断された症例の中に潜在する卵巣癌の発見に有用なマーカーであると考えられた。

次に、両疾患の鑑別を卵巣癌の進行期別に解析した。

Fig. 6に示すように、I期癌と内膜症性嚢胞との鑑別では、有意差は認められないものの、GATが最も高いAUC値を示した。基礎調査の結果(Table 2)では、初診時に良性腫瘍と診断された卵巣癌には、進行癌も多数含まれていたが、進行癌においてもGATは最も高いAUC値を示した。

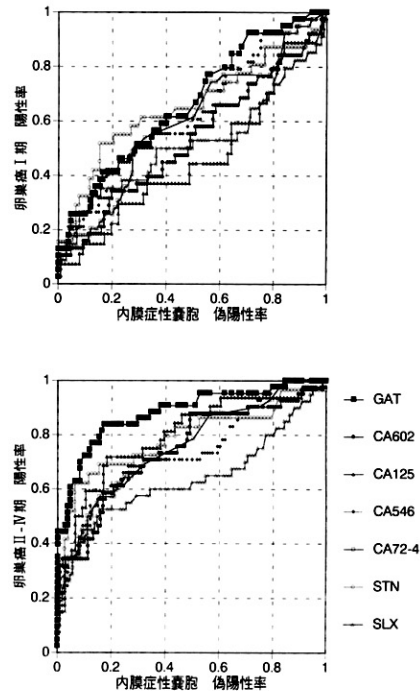


Fig. 6 卵巣癌の進行期別のROC解析  
卵巣の初期癌: I期(上図)または進行癌: II-IV期(下図)と内膜症性嚢胞との鑑別をROC解析で示した。

従って、GATは卵巣癌の進行期に関らず内膜症性嚢胞との鑑別に優れたマーカーであると考えられた。

また、エコーで判定が困難であった症例、すなわち検査のコメントが「卵巣癌を疑う」あるいは「卵巣癌の疑いを除外できない」とされた良性腫瘍および卵巣癌症例をピックアップして行ったROC解析においても、GATは他のマーカーに比べ高いAUC値を示した(Fig. 7)。

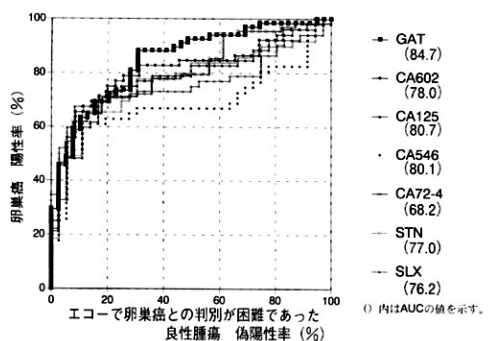


Fig. 7 エコーで判定が困難であった症例におけるROC解析  
横軸はエコーで卵巣癌との判別が困難であった良性腫瘍における偽陽性率を、縦軸は同様にピックアップされた卵巣癌の陽性率を示す。

エコーの限界が、卵巣癌診断を困難なものにしているという事実を考慮すると、この結果は、GATが初診時に内膜症性嚢胞と診断された卵巣癌の発見において一助を成し得る可能性を示している。

これらの結果から、GATは卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別に優れ、内膜症性嚢胞と診断された症例の中に潜在的卵巣癌の診断に有用であると考えられた。

## 5.2 卵巣癌の治療モニタリングにおける

### GATの有用性

現在腫瘍マーカーは癌治療のモニタリングへの適用において最も有用であると考えられており、事実、マーカー値の上昇により他の検査法に先駆けて腫瘍の再発・再燃を発見し得た例も少なくない。そこで、GATが卵巣癌の治療モニタリングに適用し得るか否かについて検討した。

卵巣癌の治療モニタリングの検討では、腫瘍の切除に伴いGAT値は下降し、参考カットオフ値以下を推移するが、再発に伴い値は上昇する (Fig. 8)。従って、GAT値の動きは腫瘍の有無、あるいは縮小・増大を反映していると言え、卵巣癌の治療モニタリングに適用可能であると考えられる。

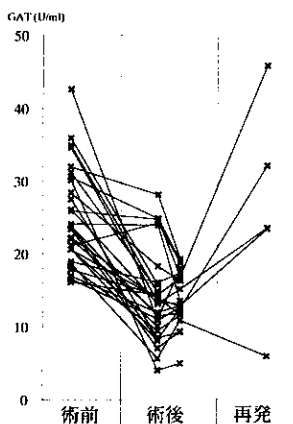


Fig. 8 術前・術後および再発時での GAT 値の推移

次に、卵巣未分化癌・Ⅲ期の症例を図9に示す。

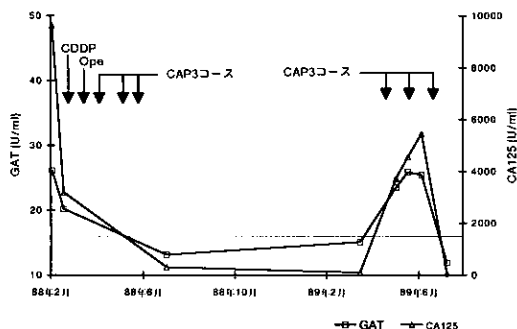


Fig. 9 GATを用いた卵巣癌の治療モニタリング  
卵巣未分化癌・Ⅲ期の症例。この症例では、GAT値が科学療法による腫瘍の縮小も反映していた。CAPおよびCDDPは化学療法を表す。

この症例では、初回採血時のGAT値は26.1 U/mlと高値を示したが、手術および術前・後の化学療法により、徐々にカットオフ値以下に低下した。再発時には値の上昇が見られたが、3コースのCAP療法により腫瘍の縮小とともにGAT値もカットオフ値以下に下がり、病勢をよく反映した。

以上より、GATは卵巣癌の治療モニタリングに適用できると考えられた。

## 6 まとめ

内膜症性嚢胞は良性疾患ではあるものの、不妊症との深い因果関係や卵巣癌への悪性変化、さらに近年特に増加傾向にあること等、注目を浴びつつある疾患である。我々は、内膜症性嚢胞が卵巣癌の診断を困難なものにしている事実に着目し、GATの有用性をここに見出すことができた。

GATは、内膜症性嚢胞と診断されたものの、卵巣癌の疑いが拭えない症例の鑑別診断に有用な腫瘍マーカーである。今後、内膜症性嚢胞の患者に対してGATを導入することで、その検査結果は、経過観察するかそれとも卵巣癌として取り扱っていくかどうかの判断基準となる。従って、不必要に繰り返し行われていた精密検査の数を減少させることが可能であり、医療費および患者の心理的・肉体的負担の軽減に寄与できるものと考えられる。

謝辞：本研究を進めるにあたり、GAT研究会の統括をはじめ、多大の御協力をいただいた慶応義塾大学医学部産婦人科学教室・野澤志朗教授、ならびに同・宇田川康博講師、青木大輔講師に感謝申し上げます。

### ●参考文献

- 1) 野澤志朗, 宇田川康博, 伊藤高太郎, ほか: 卵巣癌における癌関連ガラクトース転移酵素 (GAT) の基礎的、臨床的検討 (第二報) - GATの臨床的意義および各種マーカーとの比較検討 -, 癌と化学療法 20: 279-285, 1993.
- 2) 野澤志朗, 宇田川康博, 伊藤高太郎, ほか: 卵巣癌の新しい腫瘍マーカー、癌関連ガラクトース転移酵素 (GAT) の臨床的意義 - 卵巣癌と内膜症性嚢胞との鑑別における GATの有用性について -, 癌と化学療法 21: 507-516, 1994.
- 3) 宇田川康博, 野澤志朗, 西村治夫, ほか: 卵巣癌における GAT (癌関連ガラクトース転移酵素) の臨床的有用性の評価、腫瘍マーカー研究会誌 9: 231-233, 1994.
- 4) Uemura, M., Sakaguchi, T., Uejima, T., Nozawa, S. and Narimatsu, H. Mouse monoclonal antibodies which recognize a human ( $\beta$ -1-4) galactosyltransferase associated with tumor in body fluids. *Cancer Res.* 52: 6153-6157, 1992.
- 5) Uejima, T., Uemura, M., Nozawa, S. and Narimatsu, H. Complementary DNA cloning for galactosyltransferase associated with tumor and determination of antigenic epitopes recognized by specific monoclonal antibodies. *Cancer Res.* 52: 6158-6163, 1992.
- 6) 野澤志朗, 宇田川康博, 伊藤高太郎, 進 信幸, 佐々木宏輔, 青木大輔: 卵巣癌における癌関連ガラクトース転移酵素 (GAT) の基礎的、臨床的検討 (第一報) - GAT測定キットの基礎的検討ならびにその正常値の検討 -, 癌と化学療法 20: 271-277, 1993.
- 7) 宇田川康博, 伊藤高太郎, 野澤志朗: 腫瘍マーカーの現況と問題点 - 女性性器癌, 特に卵巣癌を中心として, 産婦人科治療 64: 415-422, 1992.