尿中血球成分が Bladder チェック NMP22 の結果に与える影響

上田　康生[1]，川口　理作[2]，滝内　秀和[3]，古倉　浩次[4]
善本　哲郎[5]，三井　要造[6]，鈴木　　透[1]，邱　　君[1]
樋口　喜英[1]，丸山　琢雄[1]，近藤　宣幸[1]，野島　道生[1]
山本　新吾[1]，島　　博基[1]
[1]兵庫医科大学泌尿器科学教室，[2]千船病院泌尿器科，[3]西宮市立中央病院泌尿器科
[4]宝塚市立病院泌尿器科，[5]市立川西病院泌尿器科，[6]島根大学医学部泌尿器科学教室

INFLUENCE OF BLOOD CELLS IN URINE SAMPLES ON RESULTS OF SCREENING FOR UROTHELIAL CARCINOMA WITH NMP22 BLADDER CHEK

Yasuo Ueda[1], Risaku Kawaguchi[2], Hidekazu Takiuchi[3], Kouji Kokura[4], Tetsuro Yoshimoto[5], Yozo Mitsui[6], Toru Suzuki[1], Qiu Jun[1], Yoshihide Higuchi[1], Takuo Maruyama[1], Nobuyuki Kondoh[1], Michio Nozima[1], Shingo Yamamoto[1] and Hiroki Shima[1]
[1]*The Department of Urology, Hyogo College of Medicine*
[2]*The Department of Urology, Chibune Hospital*
[3]*The Department of Urology, Nishinomiya Municipal Central Hospital*
[4]*The Department of Urology, Takarazuka City Hospital*
[5]*The Department of Urology, Kawanishi City Hospital*
[6]*The Department of Urology, Shimane Univercity*

We compared the sensitivity of Bladder Chek NMP22 with that of urine cytology in bladder cancer patients. Further, we evaluated the usefulness of Bladder Chek NMP22 in patients with benign diseases such as cystitis, urolithiasis, and benign prostate hyperplasia (BPH) and examined how blood cells in urine samples affect the results of Bladder Chek NMP22. Patients with macroscopic hematuria were excluded from this study. Of 77 bladder cancer patients, Bladder Chek NMP22 showed positive in 46.8%, while urine cytology in 33.8% ($p=0.16$). Bladder Chek NMP22 and urine cytology showed positive in 31.8 and 0.0% in G1 ($p=0.004$), 51.2 and 46.3% in G2 ($p=0.66$) and 57.1 and 50% in G3 ($p=0.71$); 44.4 and 88.9% in Tis ($p=0.052$), 25.6 and 15.4% in Ta ($p=0.27$), 72.2 and 33.3% in T1 ($p=0.02$) and 81.8 and 54.5% in T2 or higher ($p=0.18$), respectively. In bladder cancer patients with microscopic hematuria or pyuria, the positive rates of Bladder Chek NMP22 were 82.1 and 73.1%, respectively, whereas they were 26.5% ($p<0.001$) and 33.3% ($p=0.002$), respectively, in those without hematuria or pyuria. In 36 cystitis, 20 urolithiasis, and 19 BPH patients, the positive rates of Bladder Chek NMP22 were 58.3, 25.0 and 5.5%, respectively. Bladder Chek NMP22 showed higher sensitivity for detection of bladder cancer, especially in low-grade and low-stage cancers than urine cytology, but the result was likely affected by blood cells in urine samples. Thus, although Bladder Chek NMP22 may be less useful as the first device for screening of urothelial cancer in patients with hematuria or pyuria, it may show results of high quality when used in patients with negative urine cytology after excluding benign diseases.

(Hinyokika Kiyo **55**: 71-74, 2009)

Key words: Bladder cancer, NMP22

緒　　言

尿路上皮癌，特に膀胱癌の診断と経過観察には，従来膀胱鏡検査や尿細胞診が用いられてきた．膀胱鏡検査は膀胱癌の診断に有用な検査ではあるが，侵襲度が高く血尿を主訴に来院した症例の初期スクリーニングに用いるのは適切ではない．また，尿細胞診は異型度の高い膀胱癌において40～50％の感度を示すが，低異型度や低深達度腫瘍における感度は20～30％に低下する[1,2]．

Nuclear matrix protein 22（NMP22）は nuclear mitotic apparatus complex として知られる核蛋白の一種であ

り，尿路上皮癌細胞には正常尿路上皮細胞の約25倍存在するとされている[3]．そのため，膀胱癌患者の尿中に高濃度に存在することが知られており，尿路上皮癌の特異的マーカーとしてその臨床応用が期待されてきた[4]．最近，イムノクロマト法によって尿中 NMP22 を簡便に測定する試薬 Bladder チェック NMP22 が使用可能となり，その臨床的簡便性と有用性についての論文が散見される[5~7]．しかしその一方，尿中血球成分が Bladder チェック NMP22 に影響するため，良性疾患においても偽陽性を呈しやすいことも知られている[8,9]．

われわれは，膀胱癌と診断された患者における Bladder チェック NMP22 と尿細胞診の陽性率を比較するとともに，悪性疾患を伴わない膀胱炎，尿路結石，前立腺肥大症および過活動膀胱患者の尿を検体として Bladder チェック NMP22 を測定し，その結果と尿沈渣所見との関連についても検討したので報告する．

対象と方法

2006年2月から2007年3月までに当院および関連施設の外来において，膀胱鏡検査などによって臨床的に膀胱癌と診断された症例の肉眼的血尿が認められない尿検体を使ってBladder チェック NMP22 と尿細胞診を施行した．その後，入院において施行された TURBT 標本にて病理学的に膀胱癌と確定診断された77例を解析対象とした．尿細胞診は Papanicolaou 分類の class Ⅳ・Ⅴ を陽性と判定した．対照群として，同時期に急性単純性膀胱炎36例，尿路結石20例，前立腺肥大症および過活動膀胱19例から採取された尿検体を用いて Bladder チェック NMP22 を施行した．Bladder チェック NMP22 の施行に際しては，全症例において当院の倫理委員会に承認された文書を使用してインフォームドコンセントを行い，試験の参加についての同意を得た．

いずれの患者群においても，肉眼的血尿，TURBT 施行後1カ月以内，膀胱癌以外の悪性疾患，放射線膀胱炎，間質性膀胱炎，出血性膀胱炎，腎不全，過激な運動直後，全身化学療法施行中またはその直後，尿路カテーテル留置中，膀胱鏡検査施行後またはカテーテル留置後5日以内の尿検体は本研究から除外した．尿沈渣所見における尿中赤血球および白血球数が ＜4/hpf の場合を陰性，≧5/hpf の場合を陽性とした．

統計学的検討は χ^2 検定および Mann-Whitney U test を用い，$p<0.05$ で有意差ありと判断した．

結　　果

膀胱癌77例の平均年齢は70.3±10.7歳，性別は男性63例，女性14例，初発43例，再発34例で，組織型は全例尿路上皮癌であり，扁平上皮癌，腺癌の混在がそれぞれ1例ずつ認められた．

膀胱癌患者77例における陽性率は Bladder チェック NMP22 で46.8%，細胞診で33.8%であり，有意差を認めなかった．Grade 別ではそれぞれ G1 で31.8%と0.0%（$p=0.004$），G2 で51.2%と46.3%（$p=0.66$），G3 では57.1%と50.0%（$p=0.71$）であった．浸潤度別では Tis で44.4%と88.9%（$p=0.052$）で，Ta で25.6%と15.4%（$p=0.27$），T1 で72.2%と33.3%（$p=0.02$），T2 以上で81.8%と54.5%（$p=0.18$）であった（Table 1）．また high grade や高浸潤度な症例の割合に差がないにもかかわらず，膀胱癌患者のうち尿潜血，膿尿を伴う症例における Bladder チェック NMP22 の陽性率は，それぞれ82.1%，73.1%であったのに対し，尿潜血，膿尿を伴わない症例における陽

Table 1. Results of Bladder Chek NMP22 and urine cytology in bladder cancer patients

	n	No pos (%)		p
		Bladder Chek NMP22	Urine cytology	
Total	77	36 (46.8)	26 (33.8)	0.16
Grade				
G1	22	7 (31.8)	0 (0　)	0.004
G2	41	21 (51.2)	19 (46.3)	0.66
G3	14	8 (57.1)	7 (50.0)	0.71
T stage				
Tis	9	4 (44.4)	8 (88.9)	0.052
Ta	39	10 (25.6)	6 (15.4)	0.27
T1	18	13 (72.2)	6 (33.3)	0.02
≧T2	11	9 (81.8)	6 (54.5)	0.18

Table 2. Results of Bladder Chek NMP22 in bladder cancer patients with/eithout microscopic hematuria or pyuria

	n	No pos (%)	p	G3 %	p	≧T1 %	p
Hematuria							
Yes	28	23 (82.1)	＜0.001	26.1	0.46	65.2	0.51
No	49	13 (26.5)		15.4		53.8	
Pyuria							
Yes	26	19 (73.1)	0.002	26.3	0.54	52.2	0.79
No	51	17 (33.3)		17.6		58.8	

Table 3. Results of Bladder Chek NMP22 in benign disease patients with microscopic hematuria or pyuria

	n	No pos (%)	*p*
Cystitis*	36	21 (58.3)	—
Urolithiasis	20	5 (25.0)	—
Hematuria			
Yes	6	2 (33.3)	0.58
No	14	3 (21.4)	
BPH and OAB**	18	1 (5.5)	—

* All cases had pyuria.　** All cases had neither microscopic hematuria nor pyuria.

性率は，それぞれ26.5%（$p<0.001$），33.3%（$p=0.002$）と有意に低かった（Table 2）.

膀胱炎36例の平均年齢は61.5±20.2歳，男性1例，女性35例で，全例膿尿を伴っており，Bladder チェック NMP22 の陽性率は58.3%であった．尿路結石20例の平均年齢は53.8±11.7歳，性別は男性12例，女性8例，結石の部位は腎結石8例，尿管結石12例で，全症例における Bladder チェック NMP22 の陽性率は25%，顕微鏡的血尿の有無における陽性率はそれぞれ33.3%，21.4%であった．前立腺肥大症患者または過活動膀胱患者19例の平均年齢は72.6±6.6歳，性別は男性17例，女性2例で，すべて尿沈渣は正常，Bladder チェック NMP22 の陽性率は判定不能の1例を除いて，5.5%であった（Table 3）.

考　　察

膀胱癌の診断には膀胱鏡検査が広く用いられているが侵襲的であり，スクリーニング検査としては不適当である．また尿細胞診は非侵襲的ではあるがその陽性率は30%前後と低く，また結果まで数日を要する．

Bladder チェック NMP22 は新鮮尿を検体とし30分以内で判定できるという迅速簡便性が利点である．従来の NMP22 定量法での感度は48～100%，特異度は70～100%と細胞診に較べて高い感度が報告されている[10~13]．一方，定性法である Bladder チェック NMP22 での報告では感度が62.5～90%，特異度は65～87.5%であり，定量法との有意差はなくむしろ感度は高いとの報告もある[14]．今回のわれわれの検討において，Bladderチェック NMP22 陽性率は46.8%であり，諸家の報告よりやや低値で，尿細胞診の陽性率33.8%との有意差は認めなかった．しかし Bladder チェック NMP22 と尿細胞診の少なくとも一方が陽性を示す症例は59.7%であり，尿細胞診単独と比較すると有意に高く（$p=0.001$），両者を併用することによる診断能の向上が示唆された．

さらに病理組織学的所見による比較では，核異型度 G1～G3 のすべてにおいて，その陽性率は Bladder チェック NMP22 が尿細胞診を上回った．特に G1 においては尿細胞診では陽性症例を認めなかったのに対し31.8%と有意に高く，これは諸家の報告（20～41.2%）[15~17] と同様の結果であり，Bladder チェック NMP22 が低異型度の膀胱癌を検出する能力が高いことが示された．

浸潤度でみると，従来の報告どおり Tis では，細胞診の陽性率は88.9%と Bladder チェック NMP22 より高い結果であったが，それ以外の Ta，T1，T2 以上では Bladder チェック NMP22 の方が陽性率は高く，特に T1 では有意差を認めたことより，細胞診に較べて低浸潤度腫瘍の検出にも優れていると考えられる．

さらに今回の検討では，尿沈渣所見が Bladder チェック NMP22 の結果に与える影響を検討した．膀胱癌患者群において，尿中赤血球および白血球陽性症例での陽性率はそれぞれの陰性症例に対し有意に高く，また，膿尿を伴う急性膀胱炎患者群での偽陽性率は58.3%，顕微鏡的血尿を伴う尿路結石患者群での偽陽性率は33.3%であった．これらより，尿中血球成分が Bladder チェック NMP22 の結果に大きな影響を与えていることが示唆された．さらに，尿沈渣所見が正常である尿路結石患者群14例においても3例（21.4%）で偽陽性が認めたことも重要な所見であると考えられる．

尿中血球成分の存在が Bladder チェック NMP22 の結果に影響を与える理由として，

1）白血球は大きな核を有しこの核内の NMP22 抗原が影響する．また赤血球は核を持たないが，血球の膜蛋白が影響する．

2）尿中に破壊された血球の NMP22 抗原が流出する．

3）尿路感染や尿路結石による炎症反応や機械刺激により尿路上皮細胞が破壊され，NMP22 抗原が尿中へと流出する．

などが考えられている[18,19]．

諸家のこれまでの報告には，偽陽性が増えるとの理由により肉眼的血尿症例や強い膿尿を呈する症例は除外されているが，潜血や軽度の膿尿症例は含まれており，検査結果にもこれらの尿中血球成分の影響が除外されているとは考え難い．関田ら[20]は，肉眼的血尿症例での検討を行い，尿中赤血球数100個以上/HPF または尿中白血球数5個以上/HPF での偽陽性率が40%を超えたと報告している．今回のわれわれの研究において，Bladder チェック NMP22 の陽性率が諸家の報告と比較してやや低かったが，これは尿中に血球成分含まない症例の割合が多かったことが一因とも考えられる．肉眼的血尿を伴わない症例において尿中血球成分がどの程度 Bladder チェック NMP22 の結果に影響するか臨床的に検討した報告は，われわれが知る

限り見当たらない.

以上より，膀胱癌のスクリーニング検査として，Bladder チェック NMP22 は尿細胞診に比較し，特に低異型度，低浸潤度での陽性率が高いものの，尿中の赤血球や白血球の影響を受けやすく，血尿を主訴として来院した患者の初期スクリーニングとしては有用性が低い．そのため，Bladder チェック NMP22 を最も有効に使用するには，膀胱炎や尿路結石などが除外され，かつ尿細胞診が陰性の患者に対して使用することが望ましいと考えられた.

結　　語

膀胱癌と診断された患者における尿中血球成分が，Bladder チェック NMP22 の結果に与える影響について検討した．Bladder チェック NMP22 を有効に使用するには，膀胱炎や尿路結石などの疾患を除外すること，また尿中血球成分が認められる場合には，偽陽性の可能性を十分に踏まえて判断することが必要であると考えられた.

文　　献

1) Sharma S, Zippe CD, Pandrangi L, et al.: Exclusion criteria enhance the specificity and positive predictive of NMP22 and BTA stat. J Urol **162**: 53-57, 1996
2) Miyanaga N, Akaza H, Ishikawa S, et al.: Clinical evaluation of nuclear matrix protein 22 (NMP22) in urine as novel marker for urothelial cancer. Eur Urol **31**: 163-168, 1997
3) Keesee SK, Briqqman JV, Thill G, et al.: Utilization of nuclear matrix proteins for cancer diagnosis. Crit Rev Eukaryot Gene Expr **6**: 189-214, 1996
4) Yang CH, Lambie EJ and Snyder M: NuMA: an unusually long and coiled-coil related protein in the mammalian nucleus. J Cell Biol **116**: 1303-1317, 1992
5) Moonen PM, Kiemeney LA and Witjes JA: Urinary NMP22 Bladder Chek test in the diagnosis of superficial bladder cancer. Eur Urol **48**: 951-956; discussion 956, 2005
6) Kumar A, Kumar R and Gupta NP: Comparison of NMP22 Bladder Chek test and urine cytology for the detection of recurrent bladder cancer. Jpn J Clin Oncol **36**: 172-175, 2006
7) Tritschler S, Scharf S, Karl A, et al.: Validation of the diagnostic value of NMP22 Bladder Chek test as a marker for bladder cancer by photodynamic diagnosis. Eur Urol **51**: 403-407; discussion 407-408, 2006
8) Atsu N, Ekici S, Oge O, et al.: False-positive results of the NMP22 test due to hematuria. J Urol **167**: 555-558, 2002
9) 吉川慎一，山本　豊，細田　悟，ほか：膀胱癌検出における尿中 NMP22（Nuclear Matrix Protein）Bladder chek の臨床的有用性の検討．泌尿紀要 **52**：167-172，2006
10) Lotan Y and Roehrborn CG: Sensitivity and specificity of commonly available bladder tumor markers versus cytology: results of a comprehensive literature review and meta-analyses. Urology **61**: 109-118, 2003
11) Grossman HB, Messing E, Soloway M, et al.: Detection of bladder cancer using a point-of-care proteomic assey. JAMA **293**: 810-816, 2005
12) Wiener HG, Mian C, Haitel A, et al.: Can urine bound diagnostic tests replace cystoscopy in the management of bladder cancer? J Urol **159**: 1876-1880, 1998
13) Zippe C, Pandrangi L, Agarwal A, et al.: NMP22 is a sensitive cost-effective test in patients at risk for bladder cancer. J Urol **62**: 161, 1999
14) 小林　裕，池田　仁，平塚裕一郎，ほか：膀胱癌における尿中 NMP22（Nuclear Matrix Protein）Bladder Chek の臨床的有用性―NMP22ELISA との比較．西日泌尿 **66**：690-695，2004
15) 横山　貴，小内友紀子，横田成司，ほか：Bladder チェック NMP22 の尿路上皮癌における臨床的有用性の検討．機器・試薬 **29**：61-63，2006
16) 皆川倫範，西澤秀治，上垣内崇行，ほか：NMP22 迅速定性法（Bladder チェック NMP22）による尿路上皮腫瘍診断．日泌尿会誌 **97**：20-26，2006
17) 鈴木　透，東郷容和，安田和生，ほか：低異型度，低深達度の尿路上皮癌診断における NMP22 迅速定性法の有用性の検討．臨泌 **62**：243-246，2008
18) Tolen MJ and Kaufman RE: 10th ed. Edited by Lee GR, Foerster J, Lulans J, et al. New York: Williams & Wilkins, vol 1: 196, 1998
19) Burtis CA: Analytical procedures and instrumentation. In: Fundamentals of clinical Chemistry, 3rd ed. Edited by Tietz NW. Philadelphia: WB Saunders: 46, 1987
20) 関田信之，西周裕晃，北風あゆみ，ほか：NMP22 Bladder Chek の尿沈渣所見のよる影響―肉眼的血尿症例における検討．臨泌 **61**：729-734，2007

(Received on June 25, 2008
Accepted on October 16, 2008)