

前立腺癌骨転移の指標としての 尿中ヒドロキシプロリンの有用性 (1)

群馬大学医学部泌尿器科学教室 (主任：山中英寿教授)

黒 川 公 平
今 井 強 一
山 中 英 寿

桐生厚生総合病院泌尿器科 (部長：北浦宏一)

登 丸 行 雄
北 浦 宏 一

USE OF URINARY HYDROXYPROLINE EXCRETION AS A MARKER OF BONE METASTASES IN PROSTATIC CANCER (1)

Kohei KUROKAWA, Kyoichi IMAI and Hidetoshi YAMANAKA

From the Department of Urology, School of Medicine, Gunma University

(Director: Prof. H. Yamanaka)

Yukio TOMARU and Koichi KITaura

From the Department of Urology, Kiryu Kosei Sogo Hospital

(Chief: Dr. K. Kitaura)

Twenty-four hour urinary hydroxyproline and urinary hydroxyproline creatinine ratio was measured without prior dietary restriction in 24 patients with prostatic cancer and 16 patients with benign prostatic hypertrophy. Both were elevated in patients with prostatic cancer with active bone metastases compared to the values of prostatic cancer without bone metastasis and benign prostatic hypertrophy. In these cases, the values of urinary hydroxyproline creatinine ratio were more reliable. The results show that urinary hydroxyproline creatinine ratio is a very sensitive indicator of active bone metastases of prostatic cancer without dietary restriction.

Key words: Hydroxyproline, Prostatic cancer, Bone metastasis

緒 言

Hydroxyproline (以下 HP と略す) は、体内のコラーゲンに由来するアミノ酸である。コラーゲンの2/3 は骨に存在し、その代謝にともない約10%が尿中に排泄される¹⁾。したがって悪性腫瘍の骨転移などのように骨代謝が亢進した状態では、尿中 HP は増加する^{2,3)}。この報告以後、乳癌^{4,5)}さらには前立腺癌^{6,7)}など骨転移をきたしやすい悪性腫瘍での報告が相ついで出された。しかし、これらの多くは、尿中 HP 量

が食事の影響をうけるとされるため⁸⁾ 厳重な食事制限下でなされており、日常の臨床応用にはあまりにも煩雑であり困難がともなう。Mundy らの非食事制限下での報告⁹⁾以後、欧米¹⁰⁾ばかりではなく本邦においても、ゆるやかな食事制限下¹¹⁾あるいは食事制限なし¹²⁾での報告が散見される。今回われわれは、前立腺検診・外来診療への応用の前段階として、非食事制限下での尿中 HP 量を測定し、骨転移の有無の判定における有用性を検討した。

測定対象と方法

1. 対象

1983年10月より1984年11月までに、群馬大学付属病院あるいは桐生厚生総合病院に入院し、組織学的に証明された前立腺肥大症患者16名、前立腺癌患者24名を対象とした。後者のうち10名には骨転移を認めず、また11名は未治療または治療に抵抗する骨転移を有する症例で、残り3名は治療が奏効し安定した状態の骨転移をともなう症例である。骨転移の有無は全例骨シンチで診断した。

2. 方法

採尿法：

連続3日以上（最長10日間、平均4.5日）24時間蓄尿よりサンプルを採取し、ただちに -20°C のフリーザーに保存し測定に供した。一部を HP 測定用に、残りはクレアチニン（以下 Cr と略す）測定に用いた。

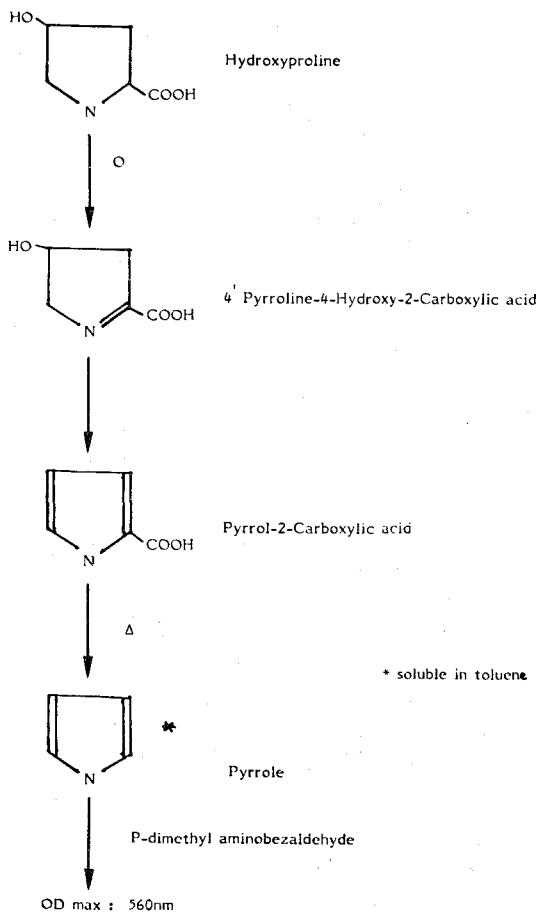


Fig. 1. Assay of urinary hydroxyproline

尿中 HP 測定法：

Prockop らの方法^{13,14}に準拠し測定した。検体尿を塩酸にて加水分解後、沸騰水浴中で蒸発乾固し、これに一定量の蒸留水を加え攪拌遠心した。つぎに一定量の上清を採取し、クロラミンTにより HP を酸化

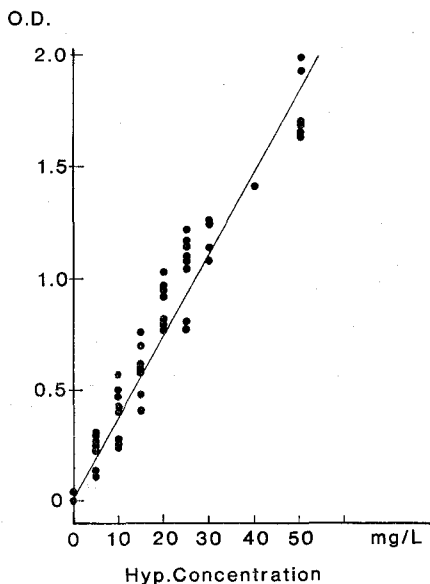
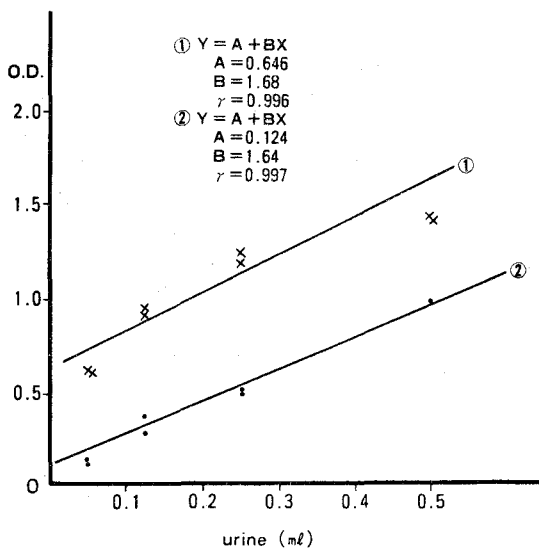
Fig. 2. Standard curve $Y=0.0354X+0.0830$, $r=0.971$ 

Fig. 3. Recovery curve. ①: Urine O.D. curve involving 15 μg of hydroxyproline as an inner standard reagent. ②: Urine O.D. curve. ① and ② are almost parallel and difference between ① and ② is 0.484 (O.D.), (13.5 μg) of hydroxyproline.

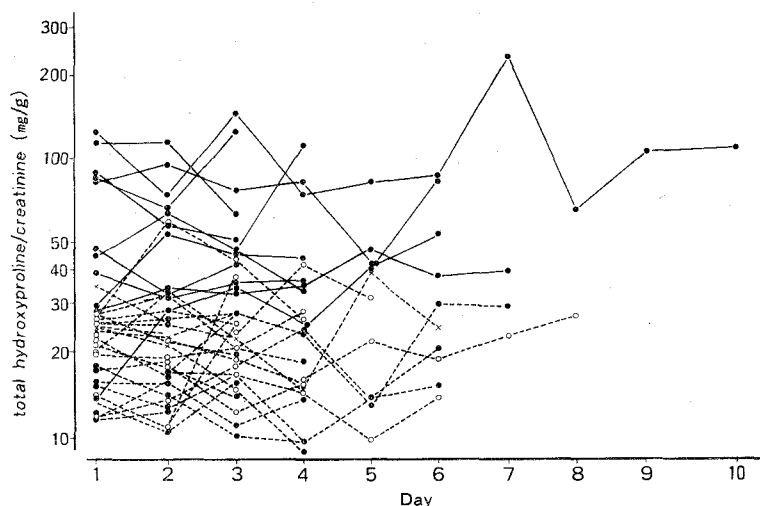


Fig. 4. Day to day variation of hydroxyproline/creatinine.
 ●—●: Prostatic cancer with active bone metastases
 (not treated or resistant to hormone therapy)
 ○---○: Other groups

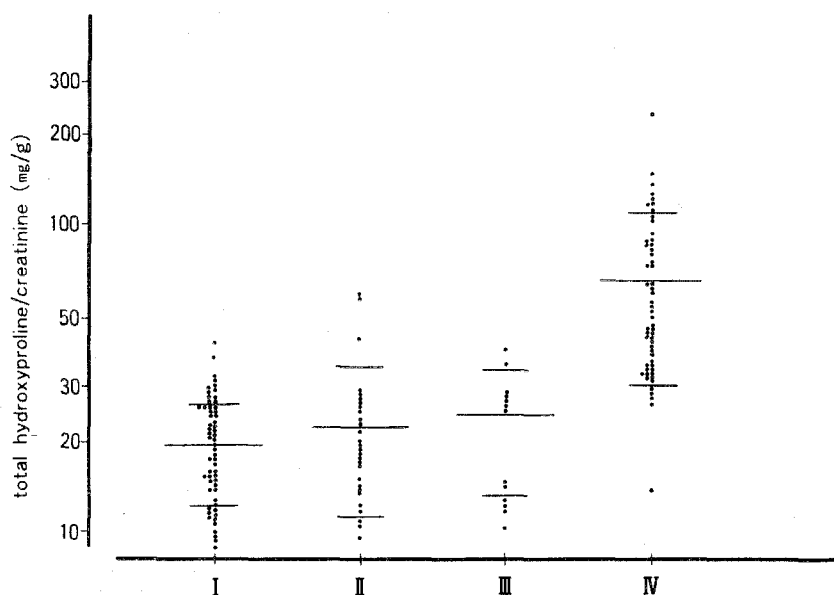


Fig. 5. Hydroxyproline/creatinine are plotted in four different groups. Group I: Benign prostatic hypertrophy as control. Group II: Prostatic cancer without bone metastasis. Group III: Prostatic cancer with controlled bone metastases. Group IV: Prostatic cancer with active bone metastases. (not treated or resistant to hormone therapy)

し、産生したピロールをトルエンで抽出後 Ehrlich 試薬により発色させ比色した (Fig. 1)。

尿中 Cr 測定法:

Beckman-Japan 社製 Astra 8-autoanalyser を用いて、Jaffe 反応による比色法 (Folin-Wo 法) によ

り Cr を測定した。

結 果

1. 標準曲線の検討

Fig. 2 に示すごとく本測定法による HP の標準

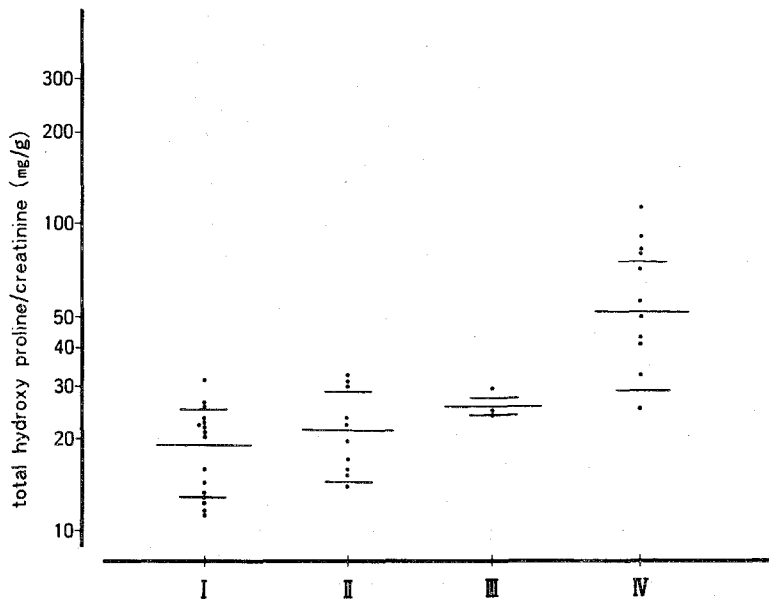


Fig. 6. Hydroxyproline/creatinine are also plotted. Average data of each patient are shown. Long bar lines: mean of values. Short bar: $\pm$ S.D.

曲線は直線性を示した。尿中に HP を内部標準液として加えた場合の標準曲線も Fig. 3 に示すごとく、元の標準曲線に対しほぼ内部標準液量だけ上方に平行移動した。同一測定内での再現性については、信頼度係数0.88であった。

2. 前立腺疾患の尿中 HP 値

測定値は、諸家の報告にならい以下の4群に分けて検討した。第1群：対照群として前立腺肥大症患者16名(以下肥大症と略す)、第2群：骨転移をともしない前立腺癌患者10名(以下骨病巣なし群と略す)、第3群：治療が奏効し安定した状態の骨転移をともしない前立腺癌患者3名(以下骨病巣安定群と略す)、第4群：骨転移を有する未治療または治療に抵抗する骨転移を有する前立腺癌患者11名(以下骨病巣活動群と略す)。測定値の処理は Mann-whitney の U 検定によった。

HP/Cr について：

われわれの測定は非食事制限下でなされているため、日差変動を考慮することがまず必要と思われた。そこで、もっとも鋭敏な指標とされている1日 HP 量と1日 Cr 量の比を縦軸にとり日差変動を示すグラフを作成した (Fig. 4)。縦軸は対数目盛としている。骨病巣活動群は、かなり大きな幅で変動するが他の3群と重なり合う部分は少ない。Fig. 5 では各個人の一日一日の測定値を独立の数値として4群に分けてプロットした。mean $\pm$ SD は、肥大症 19.3 $\pm$ 7.0

mg/g 骨病巣なし群 21.8 $\pm$ 7.1 mg/g、骨病巣安定群 24.9 $\pm$ 6.7 mg/g、骨病巣活動群 68.2 $\pm$ 39.2 mg/g となる。骨病巣活動群は、肥大症・骨病巣なし群に対して $P < 0.01$ で有意に高値となった。各個人の数日間の測定値の平均をひとつの数値としてプロットしたものが Fig. 6 である。mean $\pm$ SD は、肥大症 19.3 $\pm$ 6.0 mg/g、骨病巣なし群 21.8 $\pm$ 7.2 mg/g、骨病巣安定群 26.1 $\pm$ 3.0 mg/g、骨病巣活動群 53.2 $\pm$ 23.8 mg/g となった。やはり、骨病巣活動群は、肥大症・骨病巣なし群に対して有意に高値となった ($p < 0.01$)。骨病巣安定群は、以上2つの検討において低値群に入る傾向がみられた。

1日総 HP 量について：

まず、各個人の一日一日の総 HP 量を独立した数値と考えたプロットを Fig. 7 に示す。mean $\pm$ SD は肥大症 15.2 $\pm$ 7.3 mg、骨病巣なし群 18.4 $\pm$ 10.7 mg、骨病巣安定群 20.3 $\pm$ 9.4 mg、骨病巣活動群 35.5 $\pm$ 20.5 mg であった。骨病巣活動群は、肥大症・骨病巣なし群に対して $P < 0.01$ で有意に高値となった。Fig. 8 は各個人の数日間の測定値の平均をひとつの数値としてプロットした場合のプロットである。mean $\pm$ SD は、肥大症 15.6 $\pm$ 6.5 mg、骨病巣なし群 19.5 $\pm$ 9.7 mg、骨病巣安定群 20.8 $\pm$ 6.21 mg、骨病巣活動群 33.7 $\pm$ 15.9 mg となった。この場合、骨病巣活動群は、肥大症に対して有意に高値となった。

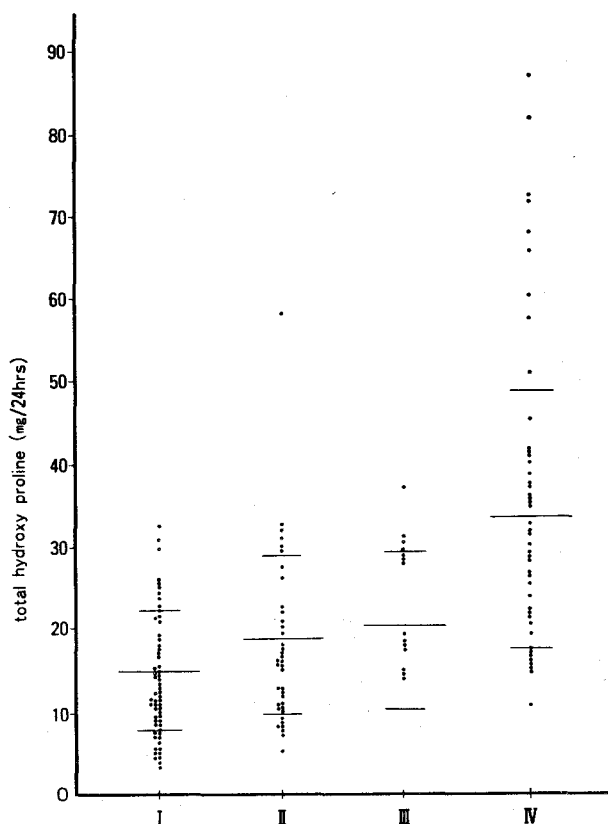


Fig. 7. 24-hour hydroxyproline excretion is plotted. Data of each patient are treated independently. Long bar: mean of values, Short bar lines: $\pm$ S.D.

骨病巣なし群は、低値になる傾向がみられた。以上2つの検討において骨病巣安定群は、低値に入る傾向がみられた。

考 察

前立腺癌は、骨に転移をきたす悪性腫瘍としてもっとも頻度の高いものである¹⁵⁾。また、初診時約25%に転移があり、この約90%は骨転移である¹⁶⁾。骨転移は、おもに骨単純撮影および骨シンテグラフィーで診断される。

前者は、ある程度の骨基質が腫瘍に置き変わるまでは病変が示されない欠点をもっており、後者はさらに鋭敏な検査だが施設・コストの問題があり頻繁におこなえる検査ではない。尿中 HP は、Platt ら²⁾により初めて報告されて以来、骨転移のマーカーとしての有用性が注目されている。しかし、食事による外因性コラーゲンの問題があり、collagen-free diet^{6,7)}、gelatin-free diet¹¹⁾での測定では良好な結果が得ら

れているが、非食事制限下での報告は数少ない^{9,12)}。制限が少なければ、より広い応用が可能であるという判断から、今回の測定も非食事制限下でなされた。この測定でもっとも考慮されねばならない点は、おもに外因性コラーゲンの影響によるとされる尿中 HP の日差変動であると思われた。まず、もっとも鋭敏とされる HP/Cr¹⁰⁻¹²⁾の日差変動を検討した。肥大症・骨病巣なし群と骨病巣安定群では、低値で小さな幅をもって変動し、骨病巣活動群では、高値で大きな幅をもって変動するのが観察された。変動幅=外因性コラーゲン(ほぼ食事性)とするなら、低値群と高値群の変動幅はほぼ等しくならなければならないから、この大きな変動幅を外因性コラーゲンのみで説明するのは不都合である。Fig. 1において、実線10日間の観察例は、多発骨転移をとまない治療に抵抗する末期の症例である。この症例から、転移巣におけるコラーゲン代謝は、一定の割合で亢進しているのではなくつねに変動し、逆にこの変動こそ活動性の反映なのではない

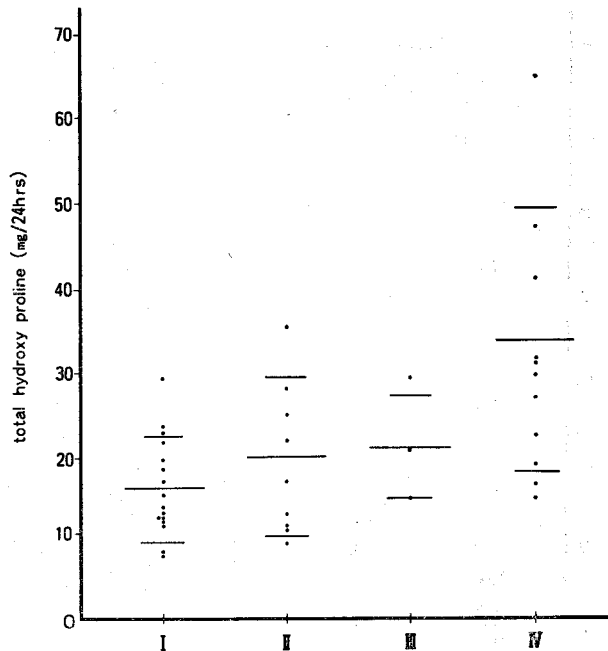


Fig. 8. 24-hour hydroxyproline excretion is plotted. Average data of each patient are shown. Long bar: mean of values. Short bar: $\pm$ S.D.

かという印象をうける。これはさらに症例を重ね検討する予定である。しかしながら、大きな変動幅にもかかわらず、骨病巣活動群は、肥大型・骨病巣なし群に対して有意に高値となった。このことから、病院食というやや制限された状態ではあるが、HP/Cr が食事制限なしでも骨転移の有用な指標であるといえる。骨病巣安定群は、予想されたとおり低値群に入る傾向がみられたが、例数が少なく有意差はない。Moopan ら¹⁰によれば HP/Cr の日差変動はいずれの場合も少ないとしており、われわれの結果とは異なっている。

1日総 HP 量については、つぎのようであった。各個人の一日一日の測定値を独立の数値として扱った場合、骨病巣活動群は、肥大型・骨病巣なし群に対し有意に高値となった。しかし数日間の平均値では、骨病巣活動群と肥大型に有意差がみられるのみであった。さらに、高値群と低値群の平均値の幅がより小さくなっており、そのわりに標準偏差が小さくないことなどを考慮すれば、指標としての有用性はより劣ると考えられる。Allison⁷⁾によれば、1日 HP 量と Cr 量の比をとると、体表面積で補正したことになり、正常値の範囲が狭くなると述べている。また Moopan ら¹⁰⁾林正¹¹⁾そして長田ら¹²⁾によれば、1日総 HP 量よりも HP/Cr のほうが有用であるとして

いる。今回の測定でも、1日総 Hp 量よりも HP/Cr のほうが、正常値の範囲が狭くなる傾向がみられ、かつ、HP/Cr のほうがより有用であるという結果が得られた。

結 語

尿中 HP 量を、非食事制限下で測定し次の結果を得た。

1. HP/Cr について日差変動を検討すると、骨病巣活動群では、非常に変動幅が大きい。肥大型・骨病巣なし群に比べ有意に高値となった ($p < 0.01$)。HP/Cr の値は、肥大型 19.3 ± 7.0 mg/g, 骨病巣なし群 21.8 ± 7.2 mg/g, 骨病巣活動群 68.2 ± 39.2 mg/g となった。

2. 1日総 HP 量では、肥大型 15.2 ± 7.3 mg/day, 骨病巣なし群 19.5 ± 9.7 mg/day, 骨病巣活動群 33.7 ± 15.9 mg/day となった。この場合は、骨病巣活動群は、他2群に比べ有意に高値となった ($P < 0.01$)。しかし、各個人の数日間の平均値の検討も加味すれば、指標としての有用性はより劣る。

3. 骨病巣安定群は、予想どおり低値群に入る傾向がみられたが、例数が少なく有意差はない。

本論文の要旨は、第431回日本泌尿器科学会東京地方会に

において発表した。

文 献

- 1) Neuman RE and Logan MD: Determination of collagen and elastin in tissues. *J Bio Chem* **186**: 549~561, 1950
- 2) Platt WD, Doolittle LH and Hartshon JWS: Urinary hydroxyproline excretion in metastatic cancer of bone. *New Engl J Med* **271**: 287~290, 1964
- 3) Guzzo CE, Pachas WN, Pinals RS and Krant MJ: Urinary hydroxyproline excretion in patients with cancer. *Cancer* **24**: 382~387, 1969
- 4) Guscheri A: Urinary hydroxyproline excretion in early and advanced breast cancer. A sequential study. *Br J Surg* **60**: 800~803, 1973
- 5) Gielen F, Dequeker J, Drouchemans A, Wildiers J and Merlevede M: Relevance of hydroxyproline excretion to bone metastasis in breast cancer. *Br J Cancer* **34**: 279~285, 1976
- 6) Kontturi MJ, Sontaniemi EA and Larmi TKI: Hydroxyproline in the early diagnosis of bone metastases in prostatic cancer. *Scand J Urol Nephrol* **8**: 91~95, 1974
- 7) Bishop MS and Fellows GJ: Urine hydroxyproline excretion. A marker of bone metastases in prostatic carcinoma. *Br J Urol* **49**: 711~716, 1977
- 8) 坪倉篤雄・島 未明：尿中総 Hydroxyproline 測定の基礎的諸条件について。 *広島医学* **25**: 1314~1318, 1972
- 9) Mundy AR: Urinary hydroxyproline excretion in carcinoma of prostate. A comparison of 4 different modes of assesment and its role as a maker. *Br J Urol* **51**: 570~574, 1979
- 10) Moopan MMU, Wax SH, Kim H, Wary JC and Tobin MS: Urinary hydroxyproline excretion as a marker of osseous metastasis in carcinoma of the prostate. *J Urol* **123**: 694~696, 1980
- 11) 林正健二：前立腺癌骨転移の指標としての尿中ハイドロキシプロリンの検討(1)。 *日泌尿会誌* **74**: 76~80, 1983
- 12) 長田尚夫・井上武夫・工藤 治・黒子幸一・吉尾正治：前立腺癌の尿中 hydroxyproline の検討。 *泌尿紀要* **28**: 261~268, 1982
- 13) Juva K and Dawin JP: Modified procedure for the assay of H-or C-labeled hydroxyproline. *Analyt Bio* **15**: 77~83, 1966
- 14) Kiviriko KI, Laitinen D and prokop DJ: Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine. *Analyt Bio* **19**: 245~255, 1967
- 15) Abram HL: Metastases in carcinoma. Analysis of 1000 cases autopsied cases. *Cancer* **3**: 74~85, 1950
- 16) 落合京一郎：日本における前立腺癌の調査。 *新臨床泌尿器科全書*, 7 B, 金原出版, 1984
- 17) Allison DJ, Walker A and Smith QT: Urinary hydroxyproline: creatinine ratio of normal humans at various ages. *Clin Chim Acta* **14**: 729~734, 1966

(1985年3月28日受付)