

# 肺癌の骨転移診断における尿中 Type I Collagen N-Terminal Telopeptide (NTx) の有用性

Usefulness of Type I Collagen N-Terminal Telopeptide (NTx) in the Diagnosis of Bone Metastasis from Lung Cancer

中村博幸・橋本俊夫\*・柳生久永・更級 元・土田文宏  
足立秀喜・岸 厚次・大石修司・松岡 健・柏原光介\*\*

**要旨**：肺癌骨転移の診断には骨シンチグラムが一般的に用いられている。しかし偽陽性、経費、限られた施設でしか実施できないという点、さらにフレア現象および治療に対する骨転移巣の反応性の評価が困難であるなどの問題がある。近年、新しい骨代謝マーカーの開発が著しい。今回 I 型コラーゲンの代謝産物である NTx の肺癌骨転移に対する有用性を検討した。NTx は骨転移のある肺癌症例で  $112.7 \pm 83.9$  nM BCE/mM Cr であり骨転移のない肺癌症例に比較して有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。経過の追えた症例では骨転移の進行に伴い有意に上昇した ( $p = 0.008$ )。また経過中に初めて骨転移が出現した症例では NTx は骨転移出現時に初診時と比較して有意に高値であった ( $p = 0.028$ )。NTx は骨転移の補助診断に有用であり、骨転移に対しある程度定量性をもたせることも可能である。また骨転移の進行を評価する補助因子になると考えられる。

[肺癌 40(3): 179~184, 2000, JJLC 40: 179~184, 2000]

**Key words** : Lung cancer, Bone metastasis, Type I collagen C-terminal telopeptide (ICTP) Type I collagen N-terminal telopeptide (NTx)

## はじめに

肺癌の骨転移の診断、評価には骨シンチグラムが一般的に用いられている。しかし骨シンチグラムはコストがかかり、またどの施設でも簡単に施行できる検査ではない。このため正確で感度の高い簡便な生化学的検査との総合評価が必要と考えられる。近年種々の骨代謝マーカーが開発されているが、特に I 型コラーゲンの代謝産物は骨吸収を良く反映するため注目されている。この中で I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (以下 NTx) は低分子量でヒトの骨に特異的な I 型コラーゲン由来の物質である。NTx は骨 Paget 病や閉経女性のエストロゲン分泌低下などの骨吸収の亢進により高値となり、さらにそれらに対する bisphosphonate 療法により低下するため治療効果の測定にも有用であることが報告されている<sup>1)-4)</sup>。また転移性骨腫瘍の診断および骨転移のグレードの判断に有用であることも報告されている<sup>5)</sup>。しかし NTx の原発性肺癌での報告は少ないため骨転移の診断および治療のモニタリングに対する有用性を検討した。

## 対象および方法

当院で診断された 129 例の原発性肺腺癌症例である。

対象を肺腺癌に限定した理由は肺癌の中で腺癌の割合が多いこと、また CEA は腺癌で上昇することが多く、腺癌の進行により上昇することが多い。このため骨転移の経過により NTx と CEA がどういう動きをするか検討するためである。腎機能障害例、肝機能障害例、高カルシウム血症を呈した症例、原発性副甲状腺機能亢進症 (以下 PPH) および Paget 病など著明な代謝性骨疾患を有する症例は除外した。また全例で Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) を測定し、腫瘍による PTHrP 産生による高カルシウム血症 (HHM) の影響を除くため基準値以上の症例は除外した。経過中、化学療法が施行された症例では骨代謝に影響を与える副腎皮質ステロイド剤、カルシトニン製剤は使用されなかった。骨シンチグラムは<sup>99m</sup>Tc-MDP を用いてルチーンの方法で施行した。骨 X-P, CT, MRI などの総合評価で集積数を算定した。NTx は第 2 尿を用いオステオマーク (OSTEX, Seattle, NTx 測定試薬 (MOS-19 持田製薬)) を用い ELISA 法で測定した。同時に尿中クレアチニン値を測定し、濃度で補正した NTx/Cr 値を測定値とした。血清 I 型コラーゲン C 端テロペプチド (以下 ICTP), CEA, PTHrP はそれぞれ RIA 法で測定した。統計処理は Mann-Whitney U test, Wilcoxon 符号付順位検定により行い、いずれも危険率 5% 未満をもって統計学的に有意差ありと判定した。相関関係の検定は Spearman 法を用いた。

東京医科大学内科学第 5 講座

\*水戸済生会総合病院呼吸器内科

\*\*球磨郡公立多良木病院呼吸器科

**Table 1.** Levels for bone metabolic markers in lung cancer

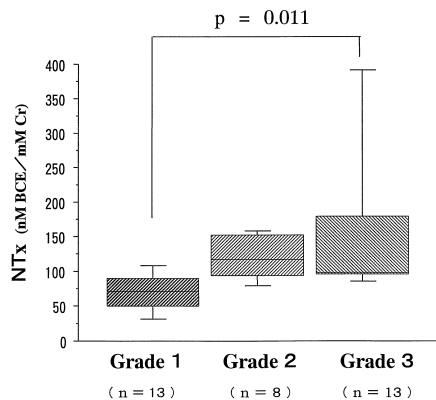
	urinary NTx (nM BCE/mM Cr)	serum ICTP (ng/ml)
lung cancer	(n = 129)	
stage I	(n = 29) 40.7 ± 16.8	3.6 ± 1.0
stage II	(n = 8) 55.3 ± 28.7	5.0 ± 1.8
stage III A	(n = 18) 48.4 ± 20.7	5.3 ± 1.7
stage III B	(n = 15) 45.3 ± 22.5	6.9 ± 4.1
stage IV	(n = 59) 82.9 ± 68.5	9.7 ± 8.0
without bone metastasis	(n = 29) 52.1 ± 22.1	7.4 ± 4.6
with bone metastasis	(n = 30) 112.7 ± 83.9 *	11.9 ± 9.9 **

Data are expressed as mean ± SD.

\* Significantly elevated as compared to lung cancer without bone metastasis ( $p < 0.001$ ).

\*\* Significantly elevated as compared to lung cancer without bone metastasis ( $p < 0.005$ ).

**Fig. 1.** Levels of urinary NTx in lung cancer patients are elevated along with the increase of bone metastatic burden as shown below. Grade 1 ; solitary lesion, Grade 2 ; two to five lesions, Grade 3 ; six or more lesions.



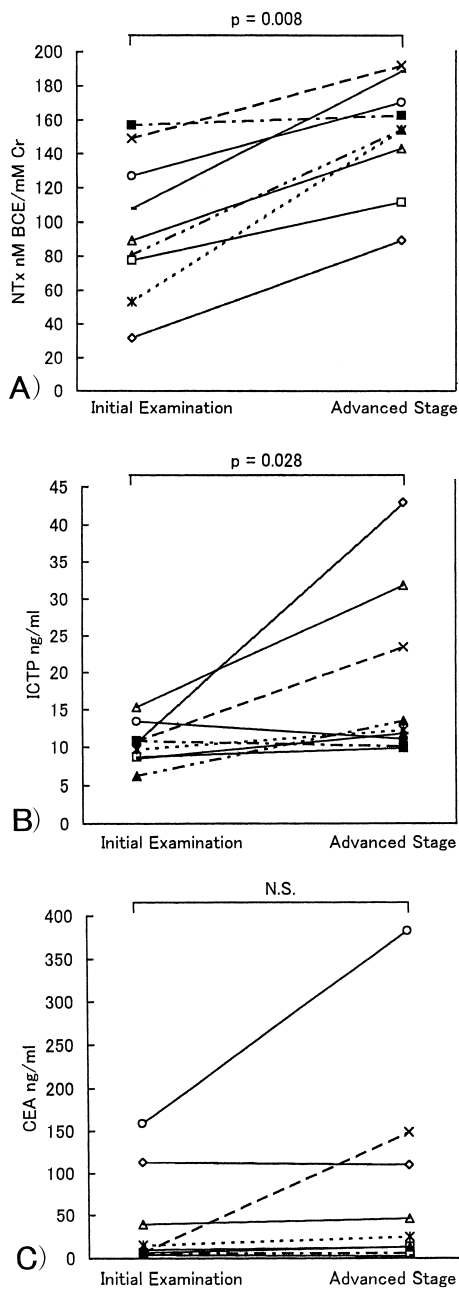
## 結果

全例の NTx および ICTP の測定値を示す (Table 1) . 初診時骨転移は 30 例にみられた . なお骨転移以外の転移巣として肺 , 脳の順に多かった . NTx は骨転移のある肺癌症例では  $112.7 \pm 83.9$  nM BCE/mM Cr (平均 ± S. D. 以下同様) であり骨転移のない肺癌症例に比較して有意に高値であった ( $p < 0.001$ ) . また IV 期症例を骨転移の有無で検討すると NTx は骨転移のある症例は骨転移のない症例  $52.1 \pm 22.1$  nM BCE/mM Cr に比較して有意に高値であった ( $p < 0.001$ ) . しかし骨転移のない肺癌症例を病期別にかけて検討したところ病期別では有意差はなかった . ICTP も NTx と同様 , 骨転移のある肺癌症例で骨転移のない肺癌症例に比較して有意に高値であった ( $p < 0.005$ ) . 次に骨転移巣の個数により 3 群に分類した . すなわち , 1 群 ; 骨転移巣 1 ケ , 2 群 ; 骨転移巣 2 ~ 5 ケ , 3 群 ; 骨転移巣 6 ケ以上である . NTx は 1 群で  $72.8 \pm 34.0$  nM BCE/mM Cr , 2 群で  $120.4 \pm 32.7$  nM BCE/mM Cr , 3 群で  $163.4 \pm 131.6$  nM BCE/mM Cr であり 3 群は 1 群に比較して有意に高値であった ( $p = 0.011$  ) (Fig. 1) . なお

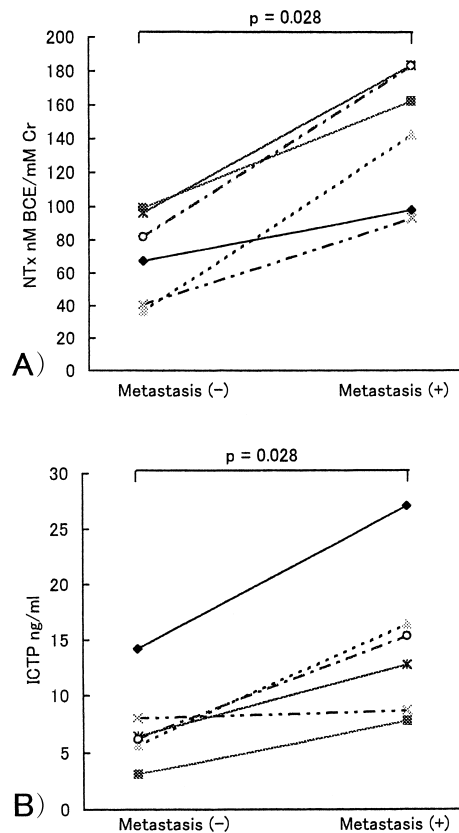
ICTP も NTx と同様 , 3 群は 1 群に比較して有意に高値であった ( $p = 0.002$ ) . ところで初診時に骨転移が認められた 30 症例のうち半年以上の経過が追えたのは 9 症例であった . しかし全例化学療法に効果なく原疾患の進展および骨転移の進行により 1 年以上の生存は得られなかった . 9 症例の初診時および進行時の NTx , ICTP および CEA の測定値を示す (Fig. 2) . 9 症例において NTx は進行時では  $152.1 \pm 33.6$  nM BCE/mM Cr であり初診時  $97.0 \pm 42.1$  nM BCE/mM Cr より有意に高値であった ( $p = 0.008$ ) . ICTP も進行時 , 初診時に比較して有意に高値であった ( $p = 0.028$ ) . しかし CEA は進行時と初診時において有意差はなかった . 次に初診時骨転移がなく経過中骨転移が出現した 6 例での NTx および ICTP の測定値を示す (Fig. 3) . 6 症例の検討では NTx は骨転移診断時  $143.8 \pm 40.5$  nM BCE/mM Cr であり , 骨転移がなかった初診時  $70.4 \pm 27.0$  nM BCE/mM Cr と比較して有意に高値であった ( $p = 0.028$ ) . ICTP も NTx と同様 , 骨転移出現時に有意に高値であった ( $p = 0.028$ ) . なお CEA は骨転移診断時と初診時において有意差はみられなかった . これに対し臨床病期 IIIB 以上で半年以上の生存が得られ経過中 , 肺癌の進行はあっても骨転移が出現しなかった 17 症例の検討では NTx , ICTP は経過中および初診時で有意な変動はみられなかった (Fig. 4) . なお NTx と ICTP との間には高い相関がみられた ( $p < 0.001$  ) (Fig. 5) .

次に NTx と ICTP の肺癌骨転移に対する感度 , 特異度 , 正確度および診断効率について検討した (Fig. 6A, B) . 正確度から見た場合 NTx はカットオフ値 90 nM BCE/mM Cr で感度 57% , 特異度 96% の時 , 正確度は 87% で最大となる . 同様に ICTP はカットオフ値 10 ng/ml で感度 43% , 特異度 92% の時 , 正確度は 81% で最大となる . 次に診断効率から見た場合 NTx はカットオフ値 70 nM BCE/mM Cr で感度 80% , 特異度 84% の時 , 診断効率は 67% で最大となる . 同様に ICTP はカットオフ値 6 ng/ml で感度 83% , 特異度 72% の時 , 診断効率は 60% で最大となる . さらに NTx と ICTP の分布から ROC 曲線を作

**Fig. 2.** Changes in urinary NTx and serum ICTP, CEA levels on initial examination versus advanced stage in patients with lung cancer with bone metastasis. Each symbol represents the same case in all three panels. A ) NTx levels. All nine cases which developed advanced stage disease showed increases in urinary NTx (  $p=0.008$  ) B ) ICTP levels. All nine cases which developed to an advanced stage showed increases in serum ICTP (  $p=0.028$  ). C ) CEA levels. No significant increases in serum levels were observed (  $p=0.051$  )



**Fig. 3.** Changes in urinary NTx and serum ICTP levels before and after development of bone metastasis in patients with lung cancer. Each symbol represents the same case in two panels. A ) NTx levels. All six cases in which bone metastasis manifested showed increased urinary NTx levels (  $p=0.028$  ) B ) ICTP levels. All six cases in which bone metastasis manifested showed increased serum ICTP levels (  $p=0.028$  )

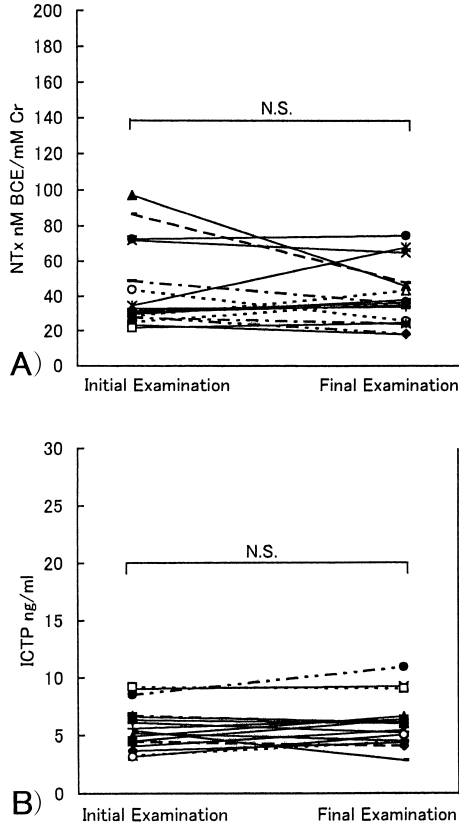


**考 察**

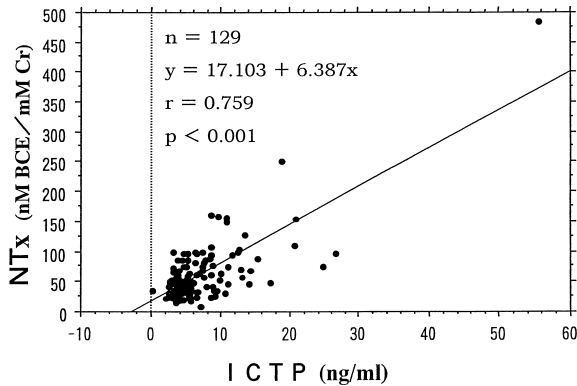
肺癌の骨転移の診断，評価には骨シンチグラムが一般的に用いられている．骨シンチグラムは sensitivity が高く，骨の破壊と再生があれば転移でなくとも集積を示す．このため骨シンチグラムで骨転移が疑われた場合，CT，造影MRIで診断するのが一般的である．さらに良性，悪性の鑑別に対し<sup>201</sup>Tl SPECTが併用されている．しかし骨シンチグラムは骨形成を反映しており，圧倒的に骨吸収が多い肺癌の骨転移に対しては骨吸収を評価するほうが有効である．またフレア現象，偽陽性などの問題が指摘されている<sup>6)</sup>．さらに骨転移巣は治療過程がゆっくりであり，溶骨性病変が硬化を示すには治療開始後3～6ヵ月もかかり治療に対する骨転移巣の反応性の評価が困難である<sup>7)</sup>．このため他の臓器への転移と異なり骨転移症例では Complete Response (CR) や Partial Response (PR) が少ないことも指摘されている<sup>8)</sup>．さらにコストがかかり，どこの施設でも容易にできる検査ではない．また微妙な集積像に対する判定が読影者の主観によるため客観

成した ( Fig. 7 ) . ROC 曲線上で NTx は左上方に位置し，ROC 面積は NTx の方が大であった．

**Fig. 4.** Changes in urinary NTx and serum ICTP levels in patients with lung cancer who showed no skeletal metastasis. Each symbol represents the identical case in two panels. A ) NTx levels. Essentially no changes in urinary NTx levels were observed (  $p=0.586$  ). B ) ICTP levels. Essentially no changes in serum ICTP levels were observed (  $p=0.314$  )

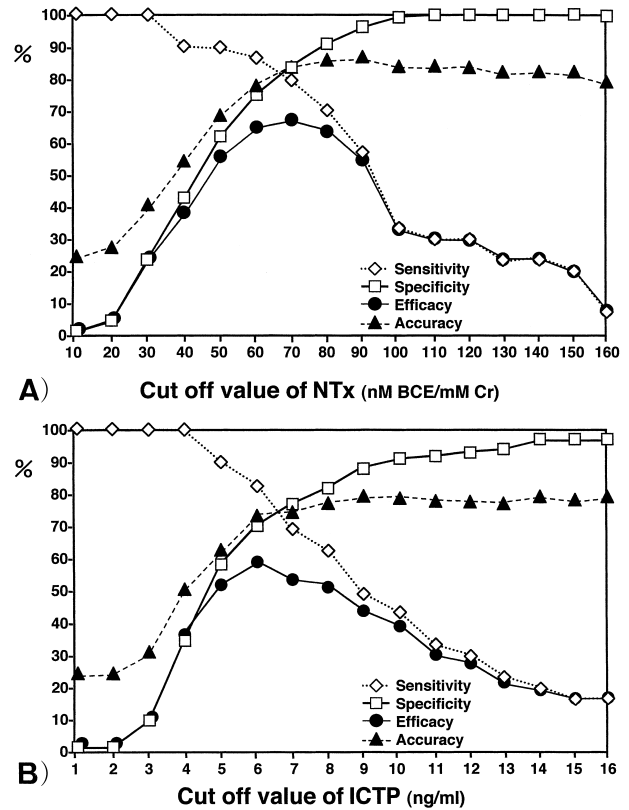


**Fig. 5.** Relationship between NTx levels and ICTP levels in patients with lung cancer.

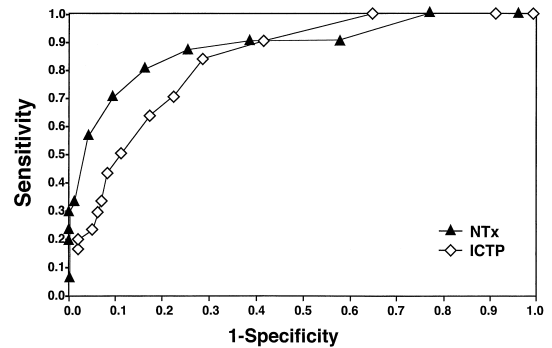


性に欠けるなどの問題点もある．骨転移巣の治療に対する評価は通常、CT、造影 MRI での病巣の変化をみる事がゴールドスタンダードであるが他の方法も確立することが重要である．このため正確で感度の高い生化学検査

**Fig. 6.** Specificity, sensitivity, efficacy and accuracy of NTx levels A ) and ICTP levels B ) in patients with lung cancer.



**Fig. 7.** ROC curve for NTx and ICTP in patients with lung cancer. Specificity : lung cancer without bone metastasis (  $n=99$  ). Sensitivity : lung cancer with bone metastasis (  $n=30$  )



との総合評価が必要となる．ところで近年新しい骨代謝マーカーの開発が著しい．なかでも I 型コラーゲン C 末端および N 末端のピリジノリン (PYD)、デオキシピリジノリン (DPD) に架橋された代謝産物の測定は、骨の吸収を敏感に反映するとされている．この中で ICTP、I 型プロコラーゲン架橋 C ペプチド (以下 PICP) および NTx は注目を集めている．とくに NTx は分子量約 1,700 のマーカーであり骨吸収をよく反映すると報告されてい

る . このため PPH の手術適応の決定や手術後の治療効果判定に対する有用性が確立されている<sup>13)~14)</sup> . また転移性骨腫瘍の診断および骨転移のグレードの判断に有用と報告されている<sup>5)</sup> . さらに Laurence らは悪性腫瘍症例における NTx , ICTP , PYD , DPD および骨型アルカリフォスファターゼの比較検討を行い NTx が骨転移の予測に最も優れていると報告している<sup>9)</sup> . 前立腺癌の骨転移の検討から NTx は数カ月後のエックス線学的反応とよく相関し , さらに骨転移による疼痛の変化に相関するとする報告もある<sup>10)</sup> . ところで骨代謝マーカーの中で DPD は NTx とよく相関すると報告されている<sup>5) , 11)</sup> . しかし DPD の測定は PYD の測定と同様 , 高速液体クロマトグラフィを用いるため操作が複雑であるなど測定のルーチン化が困難であり臨床応用には不利である . これに対し NTx は尿 pH5.0 ~ 8.0 での凍結および常温保存下 4 日間は測定値に変化なく , 尿中できわめて安定している . また 1molBCE は 1mol の骨コラーゲンが吸収されて尿中に排泄された場合の NTx の量を示すため NTx の測定結果が実際に減少した骨コラーゲンの量を示し , 骨の代謝を直接把握できると報告されている . 測定範囲も幅広く設定されているため検体に対する希釈などの煩雑な操作も不要である . NTx の測定には随意尿が用いられるが , その排泄は夜間に高く午後に低値を示すため , 今回の検討では早朝第 2 尿を用いた<sup>12)</sup> . なお NTx の測定精度に関しては同時再現性の変動係数は 3.5 ~ 4.4% , 日差再現性の変動係数は 2.9 ~ 4.8% と報告されている<sup>13)</sup> . このため NTx の定量性の信頼度は ICTP とほぼ同等程度と判断される<sup>14)</sup> . 今回の検討から NTx は骨転移を有する肺癌症例は骨転移のない肺癌症例に対し有意に高値であった . また NTx は初診時骨転移のみられた症例で骨転移の進行に伴い上昇した . さらに初診時骨転移がなく経過中に骨転移が出現した症例では NTx は骨転移出現時に有意に高値となっており骨転移診断の有効性が示唆され

た . しかし経過中骨転移が出現しなかった症例では NTx の有意な変動はなかった . また NTx は骨転移率の増加により有意に上昇し骨転移のグレードの判断にも有用であった . ところで閉経後女性はエストロゲン分泌低下により骨吸収が亢進する . このため閉経後女性の悪性腫瘍症例に対しての NTx 値の解釈には注意が必要である<sup>15) , 16)</sup> . これに対し男性は年齢による変動は少ない<sup>17)</sup> . また NTx は分子量が小さく腎臓で濾過されるため慢性腎不全 , 透析患者などの腎機能障害例では正確な骨吸収を反映しないと報告されている<sup>18)</sup> . さらに肝不全症例でも ICTP および NTx の上昇がみられ , しかも肝機能の値との間に相関がないため肝機能障害時の NTx 高値時には注意が必要である<sup>19)</sup> . 以上の点から NTx の測定値のみでの骨転移の有無の判断は困難であり , また NTx が高値であっても転移部位診断には骨シンチグラムは欠かせない . このため骨転移診断には骨シンチグラムを中心とした画像診断との総合的評価が必要である . しかし NTx は骨シンチグラム施行の目安となり , さらに骨シンチグラムの異常集積の判断の判定にも有効と考えられた . われわれは肺癌の骨転移の診断および治療のモニタリングに対する ICTP の有用性を報告した<sup>20)</sup> . しかし最近 ICTP は骨転移がない悪性腫瘍でも高値を示すことより骨以外のコラーゲンからの代謝が推察されている . さらに悪性腫瘍の治療や , 骨粗鬆症の治療における骨吸収の変化では変動が少ないことから NTx に比較して骨特異性が低いと考えられている<sup>14) , 21) , 22)</sup> . 今回の検討から NTx は ICTP と比較して正確度および診断効率ともに優れていた . さらに ROC 曲線上で NTx は左上方に位置し , ROC 面積は NTx の方が大であり , NTx は ICTP より診断性能が優れていると判断された . このため NTx は測定範囲が広く骨転移に対するより鋭敏なマーカーになるものと考えられる .

## 文 献

- 1) Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, et al : A specific immunoassay for monitoring human bone resorption : Quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res* 7 : 1251 - 1258, 1992.
- 2) Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, et al : Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res* 9 : 135 - 142, 1994.
- 3) Chesnut CH, Bell NH, Clark GS, et al : Hormone replacement therapy in postmenopausal women : Urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *Am J Med* 102 : 29 - 37, 1997.
- 4) Clemens JD, Herrick MV, Singer FR, et al : Evidence that serum NTx ( collagen-type I N-telopeptides ) can act as an immunochemical marker of bone resorption. *Clinical Chemistry* 43 : 2058 - 2063, 1997.
- 5) 山本逸雄, 森田陸司, 小西淳二, 他 : 新しい骨吸収マーカー NTx の転移性骨腫瘍マーカーとしての臨床的有用性の検討 . 骨シンチグラフィ , および他の骨代謝マーカーとの比較試験 . *核医学* 32 : 501 - 510, 1995.
- 6) Galasko CSB : Diagnosis of skeletal metastases and assessment of response to treatment, In : Diel IJ, Kaufmann M and Bastert G eds. *Metastatic Bone Disease*, Springer Verlag, Heidelberg, pp 93 - 107, 1994.
- 7) Coleman RE : Monitoring of bone metastases. *Eur J Cancer* 34 : 252 - 259, 1999.
- 8) Coleman RE, Rubens RD : Bone metastases and breast cancer. *Cancer Treat Rev* 12 : 251 - 270, 1985.
- 9) Laurence MD, Luis Z, Vernon MC, et al : Biochemical markers of bone turnover in patients with metastatic bone

- disease. Clin Chem 41 : 1489 1494, 1995.
- 10) Vinholes J, Coleman R, Lacombe D, et al : Assessment of bone response to systemic therapy in an EORTC trial : preliminary experience with the use of collagen cross-link excretion. Br J Cancer 80 : 221 228, 1999.
- 11) 高見 博, 三村 孝, 小原孝男, 他 : 原発性上皮小体機能亢進症における尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) 測定 of 臨床的意義 . ホルモンと臨床 44 : 83 88, 1996.
- 12) Blumsohn A, Herrington K, Hannon RA, et al : The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. J Clin Endocrinol Metab 79 : 730 735, 1994.
- 13) 馬場広太, 橋爪真理, 松浦 崇, 他 : 酵素免疫測定法による尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) 測定の基礎的検討 . 臨床検査 42 : 477 481, 1998.
- 14) Garnero P, Shin WJ, Gineys E, et al : Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. J Clin Endocrinol Metab 79 : 1693 1700, 1994.
- 15) Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, et al : Bone formation rate in older normal women : Concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics and biochemical markers. J Clin Endocrinol Metab 67 : 741 748, 1988.
- 16) Stephan JJ, Pospichal J, Presl J, et al : Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced post-menopausal women. Bone 8 : 279 284, 1987.
- 17) 福光延吉, 内山真幸, 森 豊, 他 : 前立腺癌患者における尿中 NTx と骨シンチグラフィの比較 . 核医学 36 : 333 339, 1999.
- 18) Franke S, Lehmann G, Abendroth K, et al : PICP as bone formation and NTx as bone resorption marker in patients with chronic renal failure. Eur J Med Res 3 : 81 88, 1998.
- 19) Henning WW, Martin P, Yuming LI, et al : Novel serum markers of bone resorption : Clinical assessment and comparison with established urinary indices. J Bone Miner Res 14 : 792 801, 1999.
- 20) 中村博幸, 柏原光介, 柳生久永, 他 : 骨吸収マーカーをもちいた肺癌骨転移の補助診断 . 肺癌 38 : 123 130, 1998.
- 21) 小泉 満 : 転移性骨病変とビスフォスフォネート . Osteoporosis Japan 6 : 15 18, 1998.
- 22) Demers LM, Costa L, Chinchilli VM, et al : Biochemical markers of bone turnover in patients with metastatic bone disease. Clin Chem 41 : 1489 1494, 1995.

(原稿受付 1999年12月20日/採択 2000年3月8日)

## Usefulness of Type I Collagen N-Terminal Telopeptide (NTx) in the Diagnosis of Bone Metastasis from Lung Cancer

*Hiroyuki Nakamura, Toshio Hashimoto\*, Hisanaga Yagyu, Gen Sarashina, Fumihiko Tsuchida, Hideki Adachi, Koji Kishi, Syuji Oishi, Ken Matsuoka and Kousuke Kashiwabara\*\**

Fifth Department of Internal Medicine, Tokyo Medical University

\*Respiratory Department, Mito Saiseikai Hospital

\*\*Respiratory Department, Taragi Municipal Hospital

**Objective :** Although bone metastasis from lung cancer is generally revealed by bone scintigraphy, this diagnostic method has many shortcomings, such as false positive results, high cost, limited availability to certain institutes, flare phenomenon, and difficulty in evaluating therapeutic responses of bone metastatic lesions. In recent years, development of new bone metabolic markers has dramatically advanced. In the present study, we evaluated the usefulness of Type I collagen N-terminal telopeptide (NTx) a metabolite of type I collagen, for the diagnosis of bone metastasis from lung cancer.

**Methods and Results :** The mean urinary NTx level was  $112.7 \pm 83.9$  nM BCE/mM Cr in lung cancer patients with bone metastasis, whereas lung cancer patients without bone metastasis had a significantly lower level ( $p < 0.001$ ). In patients who could be followed up, the urinary NTx levels significantly increased as bone metastasis progressed ( $p = 0.008$ ). The NTx levels at the time of detection of bone metastasis during follow up were significantly higher than those observed at initial examination ( $p = 0.028$ ).

**Conclusions :** NTx is useful for auxiliary diagnosis of bone metastasis, and can quantify bone metastasis with some accuracy. This marker is also thought to be an auxiliary parameter for the evaluation of progression of bone metastasis.

[JJLC 40 : 179 ~ 184, 2000]