

膀胱癌診断における尿中サイトケラチン8・ サイトケラチン18総量の臨床的有用性

Clinical evaluation of total amount of Urinary cytokeratin 8 and cytokeratin 18 measurement for detection of transitional cell carcinoma of the bladder.

あら い きょう こほん だ みき ひこ よし だ けんいちろう
新井京子：本田幹彦：吉田謙一郎
Kyoko ARAI Mikihiko HONDA Ken-Ichiro YOSHIDA

はじめに

1. 膀胱癌とは

膀胱の尿路上皮より発生する悪性腫瘍であり、その約95%は移行上皮癌 (transitional cell carcinoma : TCC) である^{1,2)}。原因の明らかな膀胱癌は少なく、またその発生機序についてはまだ十分にはわかっていないが、最近遺伝子レベルでの変化が明らかにされてきている。危険因子として喫煙があげられ、喫煙者は非喫煙者に比べて4倍程度発生率が高いことが報告されている。また芳香族アミンなどの染料と膀胱癌との関係も深く、このような化学物質を扱う職業の人に好発することがある。男性は女性の2～3倍の発癌リスクを有し、好発年齢は50歳以後である。

初期症状として多くみられるのは血尿である^{1,2)}。肉眼で確認できる血尿 (肉眼的血尿) のこともあれば、顕微鏡ではじめて確認できる程度の血尿 (顕微鏡的血尿) のこともある。血尿は痛みなどを伴わない場合が多く、初期では突然出現し、自然に消失する。腫瘍が進行してくると、頻尿・排尿痛・残尿感といったもののほか、尿路感染・尿管口の閉塞による腎機能の低下なども起きてくる。

膀胱癌の診断は尿路造影検査・尿細胞診・膀胱鏡検査等が通常行われている。しかし、尿路造影検査では小さな腫瘍を見落とす可能性があり、尿細胞診は分化度の低い膀胱癌に対する感受性が低く、また膀胱鏡検査は痛みを伴い侵襲性が高い。

膀胱癌の治療方針は、癌の深達度と癌細胞の異型度および患者の年齢や合併症の有無と程度により決

められる。特に、癌の深達度は最も重要な予後規定因子であり、正確なステージ診断が要求される。一般に、表在性膀胱癌と筋層浸潤癌とに分けて、治療方針が検討される。表在性膀胱癌の場合は一般に経尿道的腫瘍切除術 (TUR-BT : transurethral resection of bladder tumor) にて腫瘍を除去し、膀胱は温存される。しかし、膀胱癌は同時性、異時性に多発しやすく^{1,2)}、また再発しやすい特徴を有し¹⁻³⁾、経尿道的膀胱腫瘍切除術後5年間の再発率は80%近く高率であり、膀胱内の腫瘍再発が問題となっている。また、浸潤癌では、高率に転移をきたすため、転移に関する検索が重要である。これらのことより、早期診断および治療方針の決定に有用な高感度で非侵襲性の腫瘍マーカーの開発が望まれている。さらに、治療後の経過観察にも有用なマーカーの開発も必須とされている。

I. サイトケラチンと膀胱癌

1. サイトケラチンとは

サイトケラチン (Cytokeratin ; CK) は上皮性細胞の細胞骨格を成す中間径 (直径8～11nmほど) フィラメントである。単一のものではなく複数の遺伝子に支配される分子量40～68kDの蛋白群の総称である。分子量や生化学的分析によって20～30種類の異なる蛋白に分類され、分子量の小さいtype I (酸性ケラチン : CK9～20) と大きいtype II (中性/塩基性ケラチン : CK1～8) に大別される。これらは通常一対で発現しており、酸性と塩基性分子の各一つずつが組み合わさったヘテロ二量体で網状のフィラメントを構成している。CK組織内分布

についてCK 8、18、19は上皮細胞に豊富であることが報告され、また、CK 5、14は基底細胞に、CK 2、6、10、11は基底上皮組織に局在していることが報告されている^{4,5)}。

2. 膀胱癌とCK 8・CK 18

CKが上皮組織由来の悪性腫瘍において多量に発現していることが報告され、また正常細胞と腫瘍細胞において発現するCKが異なることが報告されている⁴⁾。

Mollらは健常人の尿路上皮組織中にCK 8、18および19が発現していることを報告している。また、4種類の膀胱癌由来細胞株を用いた研究でCK 8およびCK 18が各細胞株に共通して発現が認められたと報告している⁵⁾。近年、膀胱癌の早期に患者の尿中にCK 8およびCK 18が健常者と比較して有意に増加していることも報告され、これらを検出することは膀胱癌の有用な腫瘍マーカーとなることが推測される⁶⁾。そこで、1997年にスウェーデンのT. Stigbrandらが中心となりISOBM TD-5 Workshopが開催された⁷⁾。そこでは、大学および各種機関より提供された30種類のcloneの異なる抗ヒトCK抗体に、178から206および231のISOBM-codeをつけ、その認識性についての検討が行われた。また、BIAcore technologyを用い、それらの抗体の認識するepitop mapが作成された。表1にCK 8とCK 18に対する抗体の認識性を示すが、code番号206のclone：6D7抗体がCK 8を、code番号181のclone：3F3抗体がCK 18を特異的に認識することが確認された。また、この2種類の抗体が腎癌において上昇されると報告されているCK 19については認識しないことより、膀胱癌特異的な検出系の構築が期待された。

表1 ISOBM TD-5 workshopにおいて確認された抗体の認識性

	6D7	3F3
Cytokeratin 8	+	-
Cytokeratin 18	-	+
Cytokeratin 19	-	-

+: positive reaction -: negative reaction

Code番号206 (Clone: 6D7) 抗体はCK 8に特異的に反応
Code番号181 (Clone: 3F3) 抗体はCK 18に特異的に反応

II. 尿中CK 8・CK 18総量測定法

1. 尿中CK 8・CK 18総量測定法の開発

前述のようにCK 8とCK 18に特異的な抗ヒトCK抗体が確立されたことより、IDL Biotech AB社 (sweden)は1999年に尿中CK 8・CK 18総量をUBC (Urinary Bladder Cancer Antigen; 尿中膀胱癌抗原)として測定するUBCキットEIA法を開発し報告した⁴⁻⁶⁾。原理を図1に示すが、ヒトCK 8に特異的なマウスモノクローナル抗体(6D7)とヒトCK 18に特異的なマウスモノクローナル抗体(3F3)をマイクロプレートに固層化し、尿検体中のCK 8およびCK 18と反応させ非動化する。二次抗体としてヒトCK 8とCK 18をともに認識するHRP標識ポリクローナル抗体を用い、サンドイッチ法にて検出する測定法である^{17,18)}。

2. 多施設研究による尿中CK 8・CK 18総量測定法の臨床的有用性の検討

日本において、上記のUBCキットEIA法の膀胱癌検出におけるカットオフ値およびその臨床的有用性を検討するため、1999年より2001年において獨協医科大学を含む3施設において臨床研究を実施した¹⁷⁾。その検討結果において臨床的有用性が確認されたことより、2009年6月に新たな膀胱移行上皮癌診断マーカーとして体外診断用医薬品“CK 8・CK 18総量測定キット：UBCキット「ヤマサ」EIA (ヤマサ醤油株式会社)”が保険適用となった^{17,18)}。この測定法は従来の定性法として開発されたUBC Rapid法に免疫学的測定手法を取り入れ改良された方法である^{4,5,8)}。特異性の高い2種類のモノクローナル抗体(6D7、3F3)を用い、さらに、二次抗体としてCK 8と18の共通構造であるhelix構造rich部分を認識するポリクローナル抗体を用いることによ

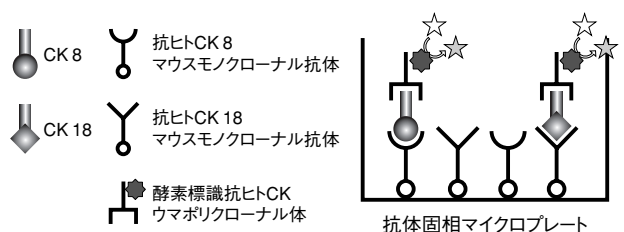


図1 測定法の原理

り方法を簡略化し、感度および特異度が高い方法に改良されている。

3. 尿中CK 8・CK 18 総量測定方法

UBCキット「ヤマサ」EIA法は、マイクロプレート固相法を用いた酵素免疫学的測定法である。測定の概略を図2に示した^{17,18)}。1次抗体として2種類の抗ヒトCK抗体(6D7、3F3)を固相化したプレートに、希釈尿検体、標準液(1・2・5・10・15ng/ml)、コントロール1・IIを各100 μ l分注する。HRP標識抗ヒトCKポリクローナル抗体を100 μ l添加し、室温(24℃)にて2時間振とうする。この操作により、尿中のCK 8および18由来の成分は2種類の一次抗体と抗原抗体複合体を形成しプレート上に非動化され、さらに二次抗体と反応することにより標識される。洗浄液で洗浄し、次に其質液(3, 3', 5, 5'-tetramethyl benzidine)を200 μ l加え室温で15分間静置する。反応停止液を100 μ l加え、速やかに(30分以内)吸光光度計にて450nmの吸光度を測定する。測定に要する時間は約3時間である。

尿中CK 8・CK 18総量濃度の算出方法は、横軸に各標準液の濃度を、縦軸に吸光度をとり標準曲線を作成し、各検体の吸光度から希釈検体中のCK 8・CK 18総量を求める。希釈係数を掛け尿中CK 8・CK 18総量(ng/ml)を算出した。

4. 尿中クレアチニンによる補正:補正CK 8・CK 18 総量

本測定法は尿中のCK 8・CK 18総量を検出する測定法であるため、尿量により測定値が変動する可能

性がある。検討を行うにあたり、健常人20例について随時尿にて1日数回測定を行うと日内変動が認められた。そこで、CK 8・CK 18総量測定と同時に尿中クレアチニン(Cr)値を測定し補正すると日内変動を抑えることができた(data not shown)^{6,17,18)}。したがって、測定時には検体採取時の尿排泄量の変動を補正するために同一サンプル中の尿中CK 8・CK 18総量と尿中Crを測定し、得られた尿中CrでCK 8・CK 18総量を割り補正CK 8・CK 18総量(CK 8・CK 18/Cr; ng/mgCr)を算出する。この際、高度の腎障害により尿中Cr値が異常高値を示す場合があるので注意が必要である。

5. 補正CK 8・CK 18総量のカットオフ値

膀胱癌: 82例および健常人: 101例の補正CK 8・CK 18総量を用いた。ROC解析を行い補正CK 8・CK 18総量のカットオフ値を、有病正診率(感度)と無病正診率(特異度)の和が最大となる16ng/mgCrに設定した。補正UBCのカットオフ値を16ng/mgCrとした時の感度: 85.6%、特異度: 83.4%、正診率: 87.3%となり、感度および特異度ともに高い検出マーカーであることが確認された^{6,17)}。

Ⅲ. 尿中膀胱癌マーカーとしての臨床的有用性

1. 膀胱癌およびその他の泌尿器疾患群における補正CK 8・CK 18総量

3施設を受診し同意を得た617例を対象とし補正

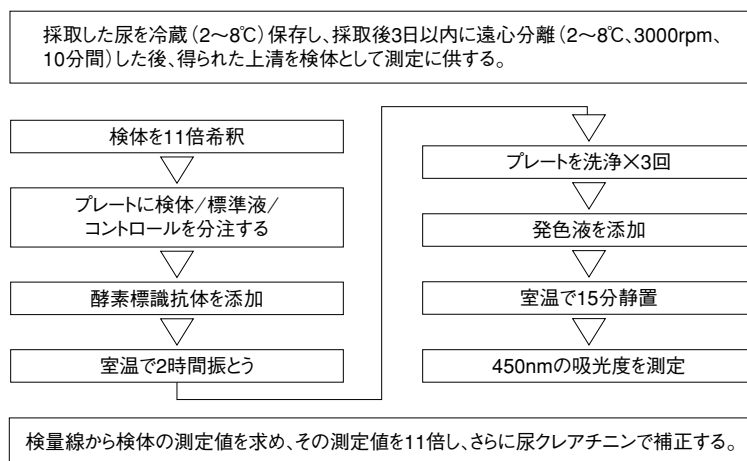


図2 測定法の概略

CK8・CK18 総量の臨床的有用性を検討した¹⁷⁾。表2に各対象群の年齢、性別、尿中Cr値を示した。

表3に各対象群の補正CK8・CK18総量測定値を示した。病理組織学的に移行上皮癌と診断された膀胱移行上皮癌群 (group 1) の補正CK8・CK18総量はその他の泌尿器疾患、血尿およびcontrol群に比較して数十倍から数百倍の有意に高値を示した。膀胱癌の症状としては無症候性肉眼的血尿が最も多く、顕微鏡的血尿や膀胱刺激症状を呈する場合もある¹⁾。膀胱癌群の補正CK8・CK18総量がcontrol群に比して有意に高く、また血尿や膀胱刺激症状を呈する尿路結石および尿路感染症群に比しても有意に高く、さらに刺激症状や血尿を呈しない他の泌尿器疾患群に比しても有意に高値を示した¹⁷⁾。これらのことより、補正CK8・CK18総量は膀胱癌特異的な診断マーカーとなりうると考えられた。

判定における留意点としては、その他の泌尿器疾患群はcontrol群に比して高値を示した事である。本検討におけるこれらの疾患群とcontrol群間には年齢において有意差が認められたことより加齢によ

る変化が推測され、年齢別のUBC基準値を設定する必要があると考えられた。

また、尿路結石および尿路感染症においては病的変化や炎症性的変化等により尿路上皮細胞あるいは尿路組織の破壊が生じることがある。これらの変化による上皮組織由来のCK fragmentの尿中へのreleaseも生じるため高値を示すことがあり、自覚症状を確認した上での判定が必要となる¹⁷⁾。

Follow-up中の膀胱癌群の補正CK8・CK18総量は膀胱癌群に比較すると低いが、control群より有意に高い値を示した。Follow-upの36例はBTの診断のもと術後経過観察中であるが、膀胱鏡検査あるいは尿細胞診において再発が認められない再発の可能性も推測され、補正CK8・CK18測定を定期的に行うことは膀胱癌の経過観察マーカーとして有用なのではと考えられた。

2. 他の尿中膀胱癌マーカーとの感度・特異度の比較

尿中NMP22を「コニカ Matritech UNMP22 キット」(コニカ)を用いて測定した(表3)。さらに「パー

表2 対象症例

Group	対 象	例数	年齢 (range)	男性：女性	尿中Cr (mg/dl)
1	膀胱移行上皮癌	82	71 (44-91) ^a	62:20	86.7 ± 65.1
2	膀胱移行上皮癌 (Follow-up)	36	70 (37-84) ^a	30:6	98.6 ± 58.9
3	その他の泌尿器疾患				
	a. 腎癌	29	65.5 (50-83) ^a	21:8	105 ± 63.8
	b. 前立腺癌	56	73 (51-89) ^a	56:0	120 ± 63.0
	c. 前立腺肥大症	151	69 (53-85) ^a	151:0	122 ± 91.2
	d. 腎嚢胞	18	61.5 (19-77) ^a	11:7	96.1 ± 56.7
	e. 尿路結石	96	52 (23-77) ^a	70:26	129 ± 76.8
	f. 尿路感染症	35	60 (17-85) ^a	15:20	123 ± 95.4
4	原因不明の血尿	13	57 (16-69) ^a	5:8	158 ± 118
5	健常人 (control)	101	44 (23-67)	85:16	168 ± 79.4
	Total	617	64.5 (16-91)	506:111	129 ± 82.8

Values are expressed as mean ± SD. a; p<0.05 vs group5

表3 補正CK8・CK18総量と尿中NMP22測定値

Group	対 象	例数	CK8・CK18/Cr (ng/mgCr)	NMP22 (U/ml)
1	膀胱移行上皮癌	82	419.4 ± 586.5 ^b	47.1 ± 117.7 ^b
2	膀胱移行上皮癌 (Follow-up)	36	15.0 ± 38.0 ^{a,b}	11.9 ± 27.6 ^a
3	その他の泌尿器疾患			
	a. 腎癌	29	22.7 ± 36.8 ^{a,b}	14.2 ± 31.8 ^a
	b. 前立腺癌	56	11.2 ± 10.6 ^{a,b}	4.53 ± 10.7 ^a
	c. 前立腺肥大症	151	11.3 ± 10.3 ^{a,b}	2.92 ± 8.88 ^a
	d. 腎嚢胞	18	9.4 ± 10.0 ^{a,b}	3.66 ± 9.28 ^a
	e. 尿路結石	96	24.2 ± 45.8 ^{a,b}	10.0 ± 23.0 ^a
	f. 尿路感染症	35	20.7 ± 19.5 ^{a,b}	43.3 ± 79.2 ^b
4	原因不明の血尿	13	23.8 ± 50.3 ^{a,b}	9.98 ± 22.0 ^a
5	健常人 (control)	101	4.41 ± 5.13 ^a	7.75 ± 13.3 ^a

Values are expressed as mean ± SD. a; p<0.05 vs group1, b; p<0.05 vs group5.

表4 尿中膀胱癌マーカーの診断効率の比較

Marker	sensitivity (%)	specificity (%)	accuracy (%)
UBC (ng/mgCr)	85.6	83.4	87.3
NMP22 (U/ml)	72.8	60.8	71.1
BTA (qualitative)	52.6	89.3	84.8

ド BTA」(メディコン)を用いて、尿中 BTA を定性的に測定した^{8-14,17)}。

カットオフ値を補正 CK 8・CK 18 総量は 16ng/mgCr、NMP22 は 12U/ml と設定し、各測定法の感度 (sensitivity)、特異度 (specificity) および正診率 (accuracy) を検討した。BTA については定性法であるため陽性および陰性の判定を使用し検討した (表 4)。補正 CK 8・CK 18 総量の感度は 85.6%、特異度 83.4%、正診率 87.3%といずれも高い結果が得られた。尿中 NMP22 の感度は 72.8%、特異度 60.8%、正診率 71.1%であった。尿中 BTA は感度 52.6%、特異度 89.3%、正診率 84.8%となり、感度は低いの特異度は高い結果が得られた¹⁷⁾。

3. 他の尿中膀胱癌マーカーとの偽陽性率の比較

尿中マーカーの偽陽性率を検討すると、NMP22 では健常人を含むすべての群において 18~37%の偽陽性を呈し、特に尿路感染症では 91.4%と非常に高い偽陽性率を示した (表 5)。NMP22 測定は細胞死により尿中に排泄される nuclear matrix protein 22 を検出する測定法である^{8,10-14)}。そのため、炎症を伴う尿路感染症では尿路系の圧迫や炎症性の変化等による尿路上皮組織の破壊に起因する fragment を測定してしまうため高値を示すことがあり、判定に注意が必要である。

尿中 BTA の偽陽性率は尿路感染症で 40%を示す

ものの他の泌尿器疾患では低い結果が得られた (表 5)。BTA 測定は膀胱癌細胞より切断された基底膜断片に由来する尿中基底膜 fragment 複合体を検出する測定系とされている¹⁵⁾。そのため、より深部の膀胱癌細胞由来の fragment を検出するため感度は低いの特異性は高いのではないかと推測された¹⁶⁾。血尿においても 36.7%と高い偽陽性率を示した。これは BTA 測定法が定性法であり、赤色のラインの有無により陽性、陰性を判定する方法である。そのため血液由来の赤色が偽陽性の要因となることが推測され、血尿の場合には特に注意が必要と考えられた。

4. 膀胱癌の診断における補正 CK 8・CK 18 総量と尿細胞診との有用性の比較

膀胱癌の治療方針は、癌の深達度と癌細胞の異型度および患者の年齢や合併症の有無と程度により決められる¹⁻³⁾。そこで尿中補正 CK 8・CK 18 総量測定と尿細胞診検査を同時に実施し得た膀胱癌群を腫瘍の大きさ、多発性の有無、grade、stage により分け検出感度を検討した (表 6)。尿細胞診は Papanicolaou 分類により I から V に分類し、IV および V を悪性とした。膀胱癌の早期に CK 8 および CK 18 が対で発現することが確認され、さらに異型度の低い膀胱癌においても高率に発現していることが報告されている^{4,5)}。検討により、早期の病期である pTa および pT1 および異型度の低い Grade I および II において補正 CK 8・CK 18 総量が尿細胞診よりも有意に感度が高い結果が得られた¹⁷⁾。また補正 CK 8・CK 18 総量と尿細胞診を組み合わせると判定した場合の感度を求めると、早期および低異型度の膀胱癌に対する検出感度が明らかに増加した。これらのことより、従来より行われている尿細胞診に補正 CK 8・CK 18 総

表5 尿中膀胱癌マーカーの偽陽性率の比較

Group	対 象	例数	偽陽性率 (%)		
			CK 8・CK 18/Cr (ng/mgCr)	NMP22 (U/ml)	BTA
2	膀胱移行上皮癌 (Follow-up)	36	16.7	33.3	22.2
3	その他の泌尿器疾患				
	a. 腎癌	29	13.8	27.6	10.3
	b. 前立腺癌	56	16.1	23.2	3.6
	c. 前立腺肥大症	151	13.2	18.5	4.0
	d. 腎嚢胞	18	16.7	22.2	0.0
	e. 尿路結石	96	35.4	37.5	8.3
	f. 尿路感染症	35	31.4	91.4	40.0
4	原因不明の血尿	13	7.7	30.8	36.7
5	健常人 (control)	101	1.1	18.8	10.9
	Total	535	16.6	29.2	12.2

表6 膀胱移行上皮癌診断における補正 CK8・CK18と尿細胞診の検出感度の比較

	例数	偽陽性率 (%)		
		CK8・CK18/Cr (ng/mgCr)	Cytology	CK8・CK18/Cr +Cytology
大きさ:				
small (<3cm)	62	76.1	42.1	80.3
Large (≥3cm)	20	96.1	94.1	95
多発性:				
single	40	84.3	54.1	89.7
multiple	42	86.2	54.1	78.6
Grade:				
I	15	64.6	25	77.3
II	37	85.7	42.9	82.9
III	30	95.3	81.5	94.4
Stage:				
pTa-1	50	78.4	33.3	73.5
T2,3,4	32	97.3	85.2	100
膀胱移行上皮癌:				
初発例	36	86.2	50	82.4
再発例	46	85.1	58.5	84
Total	82	85.6	54.7	84.1

量測定を加えることで、過度の負担をすることなく、より確実な診断が可能となると推察された。

5. 膀胱癌の follow-up マーカーとしての有用性

膀胱癌の術後経過観察は3カ月ごとの膀胱鏡検査によって行われるが、侵襲性が大きくまた検査費用も高額であるという問題がある¹⁻³⁾。そのため、簡便でかつ高い感度を有する検査法の開発が必要とされていた。尿細胞診との検出感度の比較において、補正 CK8・CK18 総量は再発例でも高い検出感度を示した(表6)。また、前記の各種泌尿器疾患群の検討において、follow-up 中の膀胱癌群は control 群より高値を示した¹⁶⁾(表3)。膀胱癌は同時性、異時性に多発しやすく^{1,2)}、また再発しやすい特徴を有している¹⁻³⁾。一方、follow-up 中の例では膀胱鏡検査あるいは尿細胞診では検出し得ない再発の可能性もある。CK8・CK18 総量が初発時のみではなく再発時においても高い感度を示し、また、follow-up 中の再発が疑われる例においても高値を示したことより、膀胱癌の経過観察マーカーとして有用性なのはと考えられた。

おわりに

補正 CK8・CK18 総量測定は感度および特異度ともに高い膀胱癌の診断マーカーであることが確認された。また、術後経過観察における有用なマーカーとなりうることも示唆された。しかし、添付書類に

も記載されているが、尿中の膀胱移行上皮癌由来の CK8・CK18 を検出しようとする方法であるが、尿路に炎症症状がある場合や尿路結石、TUR-BT 施行後等は高値を呈する場合があるので注意が必要である。また尿道カテーテル留置例でも高値を示す場合があり、臨床症状や他の検査結果と合わせての判断が必要である。

文 献

- 1) Malmstrom P U, Busch C and Norlen B J : Recurrence, progression and survival in bladder cancer. A retrospective analysis of 232 patients with greater than or equal to 5-year follow up. *Scand J Urol Nephrol*, **21** : 185-191, 1987.
- 2) Herr H W : Natural history and implications for urothelial cancer prevention. *J Cell Biol Chem* **16** : 112-119, 1992.
- 3) Heney N M, et al.: Superficial bladder cancer : Progression and recurrence. *J Urology* **130** : 1083-1086, 1983.
- 4) Moll R, et al.: The catalog of Human Cytokeratins : Patterns of Expression in Normal Epithelia, Tumors and Cultured Cells. *Cell* **31** : 11-24, 1982.
- 5) Moll R, et al.: Cytokeratins in Normal and Malignant Transitional Epithelium : Maintenance of Expression of Urothelial Differentiation Features in Transitional Cell Carcinomas and Bladder Carcinoma Cell Culture Lines. *Amer J Pathology* **132** : 123-144, 1988.
- 6) Sumi S, et al.: Preliminary Report of the Clinical Performance of a New Urinary Bladder Cancer Antigen Test : Comparison to Voided Urine Cytology in the Detection of Transitional Cell Carcinoma of the Bladder. *Clin Chim Acta* **296** : 111-120, 2000.
- 7) Stigbrand T, et al.: Epitope specificity of 30 monoclonal antibodies against cytokeratin antigens ; The ISOBM

- TD5-1 workshop. *Tumor Biol* **19** : 132-152, 1998.
- 8) Hakenberg O W, et al.: Qualitative and Quantitative assessment of urinary cytokeratin 8 and 18 fragments compared with voided urine cytology in diagnosis of bladder carcinoma. *Urology* **64** : 1121-1126, 2004.
 - 9) Sanchez-Carbayo M, et al.: Comparative Sensitivity of Urinary Cyfra 21-1, Urinary Bladder Cancer Antigen, Tissue Polypeptide Antigen and NMP22 to Detect Bladder Cancer. *J Urology* **162** : 1951-1956, 1999.
 - 10) Heicappell R, et al.: Evaluation of Urinary Bladder Cancer Antigen as a Marker for Diagnosis of Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. *Scand J Clin Lab Invest* **60** : 275-282, 2000.
 - 11) Mian C. et al.: Comparison of the Monoclonal UBC-ELISA Test and the NMP22 ELISA Test for the Detection of Urothelial Cell Carcinoma of the Bladder. *Urology* **55** : 223-226, 2000.
 - 12) Dicarlo A, et al.: Role of cytokeratins, nuclear matrix proteins, Lewis antigen and epidermal growth factor receptor in human bladder tumors. *Int J Oncol* **23**, 757-762, 2003.
 - 13) Sanchez-Carbayo M, et al.: Initial Evaluation of the Diagnostic performance of the New Urinary Bladder Cancer Antigen Test as a Tumor Marker for Transitional Cell Carcinoma of the Bladder. *J Urology* **161** : 1110-1115, 1999.
 - 14) Mostofi F K, Sobin L H and Torloni H : Histological typing of urinary bladder tumors. In : WHO International Histological Classification of Tumors, World Health Organization. 9-35, 1973.
 - 15) Soloway M S, et al.: Use of a new tumor marker, urinary NMP22, in the detection of occult or rapidly recurring transitional cell carcinoma of the urinary tract following surgical treatment. *J Urol* **156** : 363-368, 1996.
 - 16) Pode D, et al.: noninvasive detection of bladder cancer with BTA stat test. *J Urol* **161** : 443-446, 1999.
 - 17) 新井京子、増田総雅、福田武彦、他：膀胱癌診断における尿中 UBC 測定値の腫瘍マーカーとしての有用性の検討－尿中 NMP22, BTA および尿細胞診との有用性の比較－. *泌尿器外科* **22** (4): 567-574, 2009.
 - 18) ダミコ イルバ、富樫和美、新井京子、他：移行上皮膀胱癌マーカー測定法“UBC キット「ヤマサ」EIA”の基礎的検討. *医学と薬学* **61** (5): 747-754, 2009.