

《ノート》

固相法による CEA 測定用キット (SD-8546) の基礎的・臨床的検討

**Basic and Clinical Evaluation of CEA-RIA Kit "SD-8546"
by Solid Phase Method**

石根 正博 萬家 千春 阿多まり子 望月 輝一
八木 完 河村 正 飯尾 篤 浜本 研

Masahiro ISHINE, Chiharu YOROZUYA, Mariko ATA, Teruhito MOCHIZUKI,
Kan YAGI, Masashi KAWAMURA, Atsushi IIO and Ken HAMAMOTO

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Ehime University

I. はじめに

近年、癌胎児性抗原 Carcinoembryonic Antigen (以下 CEA と略す) の測定は、癌の補助的診断法として独自の立場を占め、各臨床施設で広く行われている。特に血中 CEA の変動は各種癌疾患の病勢とよく相關することから、治療効果の判定、経過観察の指標として威力を発揮している^{1,2)}。

本来、CEA は1965年、Gold および Freedman^{3,4)}によって、ヒトの大腸癌組織中より見出された抗原で、1969年 Thomson ら⁵⁾により、radioimmunoassay による測定法が開発されて以来、Hansen ら⁶⁾の Z-gel 法、Egan⁷⁾ らの二抗体法、平井ら⁸⁾の Sandwich 法などが開発され、それぞれ Kit 化されて臨床に供されている。

今回われわれは、Pharmacia 社の開発した、固相法による測定用 Kit を試用する機会を得、基礎的、臨床的に検討を加えたので、その結果を報告する。

本 Kit は、検作の前処置が不要で、CEA 抗体ペ

ーパーディスクを用いるため、操作が簡便で、B-F 分離も容易である。なお、以前に提供された本 Kit は標準 CEA 試薬中に CEA 分解酵素を含んでおり、測定値がかなり高値に出る傾向がみられたが、今回はこの点を改善された。新しい Kit にて検討を行ったものである。

II. 測定方法および対象

1) Kit の内容

Pharmacia CEA 測定用 (SD-8546)

(1) ヨウ化 CEA 抗体 (¹²⁵I) 試薬 7 μCi/vial

(2) 標準 CEA 試薬 0.5, 1.5, 5, 15, 50 μg/l

(3) 希釀剤試薬 (1.5 mg EDTA/ml を含む豚血清)

(4) ツイーン溶液

(5) ペーパーディスクカセット (CEA 抗体ディスク)

ヨウ化 CEA 抗体 (¹²⁵I) 試薬は凍結乾燥品であり、これにツイーン溶液 5 ml を加えて溶解し、そのうち 50 μl を各測定に使用する。標準 CEA 試薬は、1 ml の再蒸留水を加えて溶解し、100 μl を測定に使用する。希釀剤、CEA 抗体ディスクは即調製で、そのまま使用できる。また、検体の

Key words: Carcinoembryonic Antigen (CEA), Radioimmunoassay (RIA), Solid Phase Method

愛媛大学医学部放射線科

受付：56年9月24日

最終稿受付：56年11月24日

別刷請求先：愛媛県温泉郡重信町大字志津川(〒791-02)

愛媛大学医学部放射線科

石根正博

調製には、通常は備え付けの希釈剤による5倍希釈が勧められているが、今回は希釈せずに測定を行った。

2) 測定方法

Fig. 1に測定方法の概略を示す。

CEA抗体ディスクに検体100 μl を加え、室温で3時間インキュベートし、上清を吸引除去し、生食で3回洗浄する。さらに、¹²⁵I標識CEA抗体50 μl を加え、室温で16~20時間インキュベートし、吸引洗浄した後、放射能量を測定する。その結合率を求め、標準曲線を作成し、CEA濃度を読みとる。なお、測定はすべて二重測定で行った。

3) 対象

消化器癌をはじめとする各種悪性腫瘍患者94名(大腸癌14名、胃癌12名、肝癌12名、肺癌18名、喉頭癌11名、膀胱癌13名、前立腺癌4名、悪性リンパ腫10名)および、非腫瘍性疾患患者16名(胃潰瘍8名、肝硬変症8名)合計110名の血中CEAを測定し、検討の対象とした。また、健常人としては消化器疾患のない35名につき、血中CEAの測定を行った。

III. 結果および考案

1. 基礎的検討

1) 標準曲線

標準曲線は各測定ごとに作成したが、その1例をFig. 2に示す。CEA値は、0.5 ng/mlから50 ng/mlまで測定可能な曲線が得られた。

2) インキュベーション温度の影響

¹²⁵I-CEA抗体を加えた後に行った2回目のインキュベーション温度の影響を調べた成績が、

Fig. 3である。4°C、25°C、37°Cとインキュベーション温度を変えて測定を行い、それぞれの標準曲線を求めた。

4°Cでは若干、曲線の傾きが緩やかとなつていて、25°C、37°Cではほとんど差がみられず、良好な標準曲線と考えられた。したがつて、通常の室温であれば、多少の温度変化があつても測定値には影響しないものと思われた。

3) インキュベーション時間の影響

第2回目のインキュベーション時間を、1時間、3時間、5時間、19時間、48時間と変えて、それぞれの標準曲線を調べた。

結果をFig. 4に示すが、インキュベーション時間が長い程、曲線が急峻になつた。しかし、19時間以上あれば、測定上問題のない標準曲線と思われた。

4) 再現性

同時再現性は、異なるCEA濃度を示す3種類のサンプルにつき、同一Kitで10回ずつ測定して検討を行つた。Table 1上段に示す様に、高濃度血清(H)で変動係数12.9%とやや高いが、全体的には良好な結果となつた。

同じ血清を用いて異なる8回の測定により、日差再現性を検討した。Table 1下段にその結果を示すが、変動係数16.8%，11.6%，15.4%とやや不良であった。

5) 回収率

2種の血清A(13.8 ng/ml)およびB(7.5 ng/ml)に、0.5 ng/ml, 1.5 ng/ml, 5 ng/mlの3種の標準CEA血清を加えて回収率を求めた。Table 2に示す様に、90%~122%と多少のバラツキがみられ

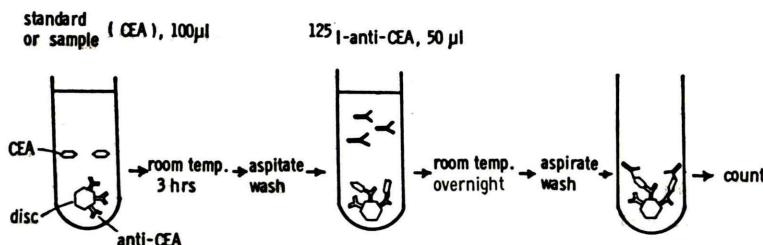


Fig. 1 Principle and Procedure.

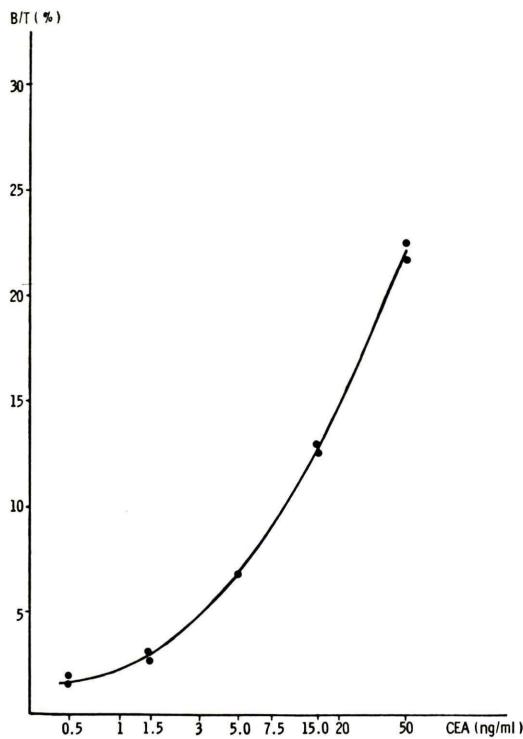


Fig. 2 Standard curve.

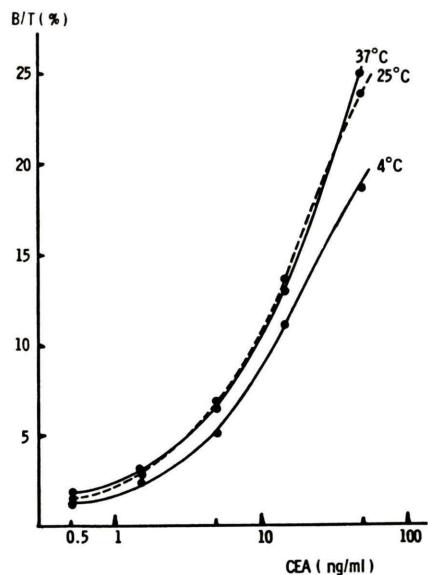


Fig. 3 Effect of incubation temperature on standard curve.

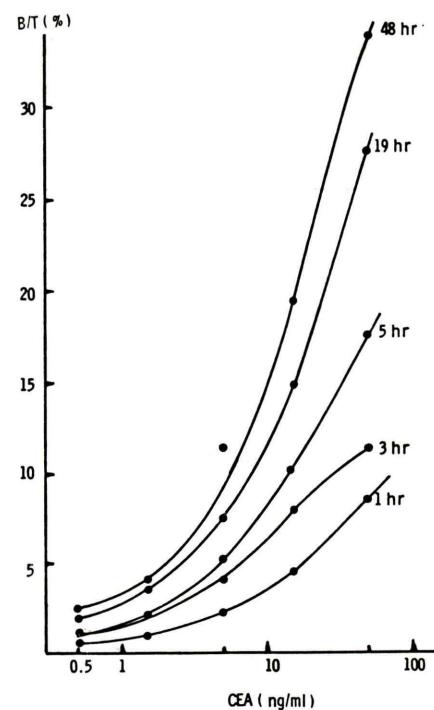


Fig. 4 Effect of incubation time on standard curve.

Table 1 Reproducibility

Intra-assay				
Control serum	Number of assay	Mean (ng/ml)	S.D.* (ng/ml)	C.V.** (%)
L	10	1.99	0.12	6.03
M	10	9.87	0.39	3.95
H	10	28.06	3.61	12.9
Inter-assay				
L	8	2.08	0.35	16.8
M	8	11.91	1.38	11.6
H	8	28.96	4.46	15.4

* S.D.: standard deviation

** C.V.: coefficient of variance

L: a sample of low CEA value

M: a sample of intermediate CEA value

H: a sample of high CEA value

るもの、ほぼ満足すべき結果であった。

6) 希釈試験

Fig. 5 に CEA 高値を示す肺癌患者の血清を用いた希釈試験の結果を示す。希釈剤は本 Kit に備えられているものを用い (1.5 mg EDTA/ml を含

む豚血清), 2~20倍希釈まで測定した。いずれもほぼ直線性を示しているものの、2倍希釈, 5倍希釈で理論値よりもやや高値に出る傾向が認められた。

Table 2 Recovery Test

	Added serum (ng/ml)	Calculated value (ng/ml)	Measured value (ng/ml)	Recovery (%)
Serum A 13.8 ng/ml	0.5	7.2	8.6	119
	1.5	7.7	9.4	122
	5.0	9.4	10.1	107
Serum B 7.5 ng/ml	0.5	4.0	4.1	103
	1.5	4.5	4.4	98
	5.0	6.3	5.7	90

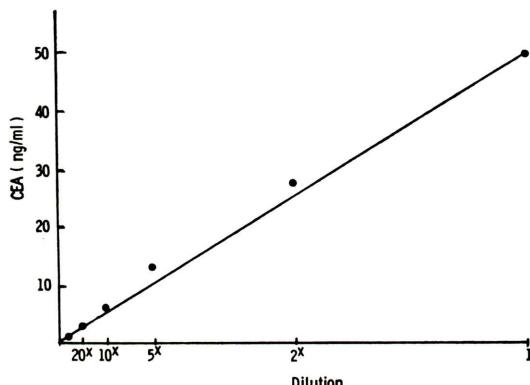


Fig. 5 Dilution test.

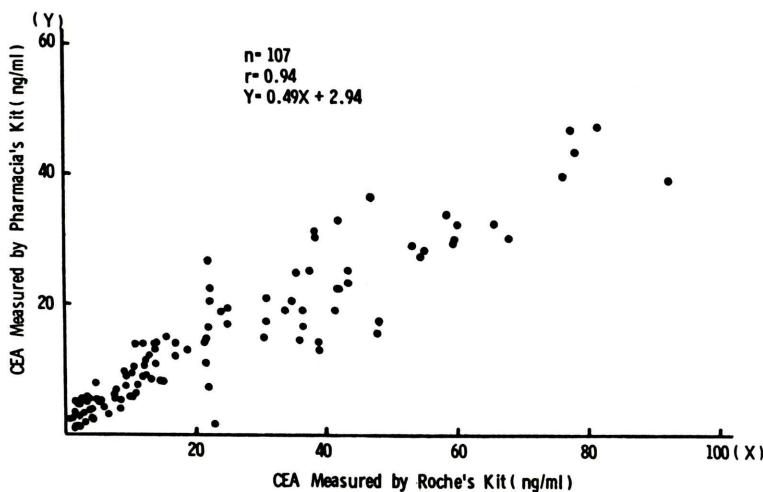


Fig. 6 Relationship between CEA values measured by Roche's Kit and Pharmacia's Kit.

られた。

7) 他社 Kit との相関関係

Fig. 6 は、同一症例 107 例につき、本 Kit と Z-gel 法による Roche Kit の測定値をプロットしたものである。本 Kit による測定値の方が 30~50% 低値を示す傾向がみられた。これは、使用されている CEA 自体の抗原性の違いや、抗血清の特異性の相違などのによるものと考えられるが、両者の相関は、相関係数 0.94、回帰直線式 $Y=0.49X+2.94$ となり、非常に良好な結果であった。

2. 臨床的検討

1) 健常人の CEA レベル

本 Kit による、健常人 35 名（男性 21 名、女性 14 名、平均年齢 41.5 歳）の血中 CEA 値の分布を Table 3 に示す。これでみると 4.1 ng/ml 以上を示した例はなく、1.1~2.0 ng/ml を示した例が 57.1% と最も多かった。さらに 3.0 ng/ml 以下の累計をみると 94.3% になった。一方、平均値土標準偏差値は $1.75 \pm 0.62 \text{ ng/ml}$ であり、平均値 + 2 標準偏差を採ると 3.0 ng/ml となり、われわれはこの値を正常上限値と設定した。

2) 各種疾患の CEA レベルと陽性率

Table 4 に、悪性腫瘍を主とする各種疾患の陽性率を示す。大腸癌 64% (9/14)、肺癌 61% (11/18)、胃癌 58% (7/12) などの陽性率が目立つ。肝癌では

Table 3 Distribution of serum CEA values of Healthy individuals (n=35)

	0-1.0	1.1-2.0	2.1-3.0	3.1-4.0	4.1-
No.	3	20	10	2	0
%	8.6	57.1	28.6	5.7	0
Mean±S.D.=1.75±0.62 ng/ml					

Table 4 Percentage of abnormally high CEA in various disorders

Disease	No.	Abnormality (%)
Colon cancer	14	64
Stomach cancer	12	58
Hepatoma	12	25
Lung cancer	18	61
Larynx cancer	11	46
Urinary bladder cancer	13	54
Prostate cancer	4	50
Malignant lymphoma	10	20
Gastric ulcer	8	38
Liver cirrhosis	8	63

25%(3/12)と低い陽性率であった。また、悪性リンパ腫は20%(2/10)で最も低く、非上皮性の悪性腫瘍ではCEA値の上昇は著明ではないものと考えられる。悪性腫瘍全体では48.9%の陽性率で

あった。

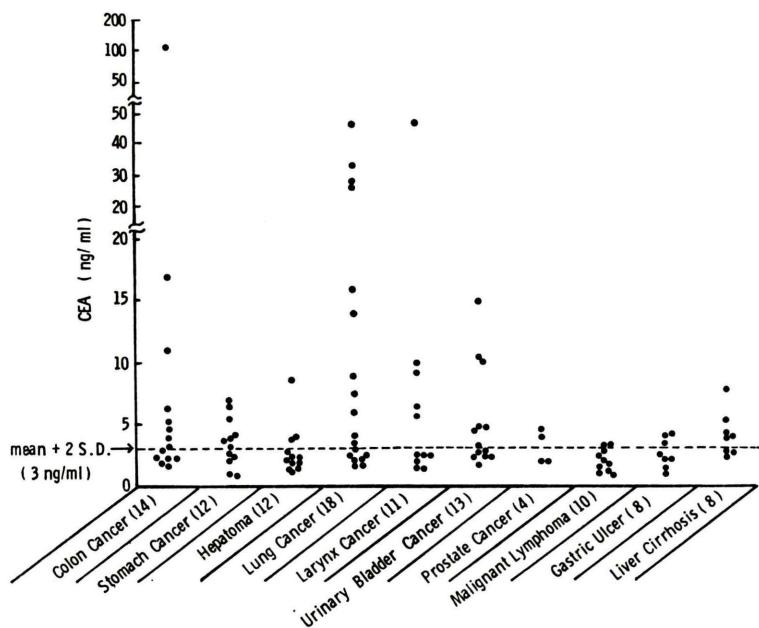
非腫瘍性疾患として、胃潰瘍、肝硬変症例について調べてみたが、陽性率はそれぞれ38%(3/8)63%(5/8)となった。肝硬変症例で高率となったのは、増岡ら^{9,10}の報告にもある様に肝でのCEAの代謝、排泄の低下によるものと考えられる。

Fig. 7に疾患別のCEA値の分布を示した。10 ng/ml以上の高値を示すものは、肺癌(6/18, 33%),大腸癌(3/14, 21%),膀胱癌(3/13, 23%),喉頭癌(2/11, 18%)などがあり、大腸癌で最高115 ng/mlのものがみられた。肺癌で比較的陽性率が高く、かつ高値のものが多かったのは、殆どがIII, IV期であり病期の進んだ症例が多かったためと思われる。また、非腫瘍性疾患では10 ng/ml以上のは認められなかった。

IV. 結 論

Pharmacia社の開発した固相法によるCEA測定Kit“SD-8546”を検討して以下の結果が得られた。

1) 再現性では、日差再現性にややバラツキが認められた。回収率、希釈試験は、ほぼ満足すべ

**Fig. 7** CEA values in various disorders.

き結果を得た。

- 2) 第2回目のインキュベーション温度は、室温であれば多少の温度変化があっても測定値には影響しないものと思われた。
- 3) 第2回目のインキュベーション時間は19時間以上が必要と考えられた。
- 4) 本KitとRoche KitとのCEA測定値には良好な相関が認められた。
- 5) 本Kitでの正常上限値は、3ng/mlとするのが適当と考えられた。
- 6) 各種悪性腫瘍患者94例の陽性率は48.9%であり、大腸癌、肺癌、胃癌などで高い陽性率を示した。
- 7) 非腫瘍性疾患者では、肝硬変症の陽性率が63%と高値を示したが、CEA値が10ng/ml以上の例は認められなかった。
- 以上、本Kitは血清の前処置が不要で、血清が100μlでよく、操作が比較的簡単であることから、日常検査に有用であると考えられる。

文 献

- 1) Holyoke ED, Cooper EH: CEA and Tumor Markers. Seminars in Oncology. Vol. 3, No. 4: 377-385, 1976
- 2) Wanebo HJ, Stearns M, Schwartz MK: Use of CEA as an Indicator of Early Recurrence and as a Guide to a Selected Second-look Procedure in Patients with Colorectal Cancer. Ann Surg 188: 481-493, 1978
- 3) Gold P, Freedman SO: Demonstration of Tumor-Specific Antigens in Human Colonic Carcinomata by Immunological Tolerance and Absorption Techniques. J Exp Med 121: 439-462, 1965
- 4) Gold P, Freedman SO: Specific Carcinoembryonic Antigens of the Human Digestive System. J Exp Med 122: 467-481, 1965
- 5) Thomson DMP, Krupey J, Freedman SO, et al: The Radioimmunoassay of Circulating Carcinoembryonic Antigens of the Human Digestive System. Proc Natl Acad Sci 64: 161-167, 1969
- 6) Hansen HT, Lance KP, Krupey J: Demonstration of an Iron Sensitive Antigenic Site on Carcinoembryonic Using Zirconylphosphate Gel. Clin Res 19: 143, 1971
- 7) Egan ML, Lautenschleger JT, Colligan JE, et al: Radioimmunoassay of Carcinoembryonic Antigen. Immunochemistry 9: 289-299, 1972
- 8) 平井秀松: CEA(そのI)—測定法とその臨床的検討. 日本臨床, 34(6): 1274-1278, 1976
- 9) 増岡忠道, 三木重治, 増岡由美: 2抗体法によるCEA(癌胎児性抗原)のRadioimmunoassay. 映像情報
- 10) 増岡忠道, 三木重治, 増岡由美: 肝機能検査と血中CEA(Carcinoembryonic Antigen)レベルの統計的考察. 映像情報, (M), 10: 881-884, 1978