

《ノート》

膵癌胎児抗原 (Pancreatic Oncofetal Antigen) の Immunoradiometric Assay 法による測定

Measurement of Pancreatic Oncofetal Antigen by Immunoradiometric Assay Method

大浪 俊平* 膳所富士男** 黒田 環* 中田 肇***

Shumpei OHNAMI*, Fujio ZEZE**, Tamaki KURODA*
and Hajime NAKATA***

*.***Department of Radiology, **First Department of Surgery,
School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health

I. はじめに

Pancreatic oncofetal antigen (POA) は, Banwo¹⁾により始めて報告されたヒト胎児膵より抽出, 精製された胎児性蛋白である. 近年, POA 定量測定法がわが国においても開発され^{2,3)}, 各種悪性疾患, とくに膵癌患者で血清 POA 値が上昇することから, その臨床的応用が大いに期待されている.

しかしながら, おおのこの測定法に用いている POA の抗原性, 抗体の特異性あるいは測定法が研究者間で異なるため, 血清 POA 測定値およびその臨床成績もかなりの相違が認められている⁴⁾.

今回われわれはサンドイッチ固相法による血中 POA 測定キット (SD-8708, シオノギ製薬社製) を使用する機会を得て, 各種悪性腫瘍患者, 良性疾患患者および健常人の血中 POA 値を測定し, その臨床的有用性について検討したので報告する.

II. 対象および方法

1. 対 象

対象は, 昭和60年4月から62年5月までの本院外来および入院患者のうち診断の確定した各種疾患患者 350 例である.

悪性疾患患者の内訳は, 食道癌19例, 肺癌31例, 乳癌13例, 胃癌37例, 肝細胞癌55例, 胆道癌20例, 膵癌16例, 結腸直腸癌29例, 子宮癌28例, 卵巣癌17例で, これらは全て入院患者であった.

良性疾患患者の内訳は, 慢性膵炎12例, 慢性肝炎21例, 肝硬変15例, 胃潰瘍7例, 十二指腸潰瘍3例, 慢性腎不全27例であった.

対照として 137 例の健常人ボランティア (男性 97例, 女性40例, 年齢18~43歳) より得られた血清を正常コントロールとした. いずれも採血後, 血清を分離し, 測定まで -20°C にて凍結保存した.

2. 測定方法

本法はビーズに固相化されたヒト POA に対するポリクローナル抗体と, ^{125}I で標識された他の POA に対するモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ法による Immunoradiometric assay

Key words: POA, Immunoradiometric assay, Pancreatic cancer, Tumor marker.

* 産業医科大学放射線部
** 同 第一外科
*** 同 放射線科

受付: 62年7月20日

最終稿受付: 62年10月19日

別刷請求先: 北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1 (☎ 807)

産業医科大学放射線部

大 浪 俊 平

(IRMA)である。すなわち測定チューブに、キット添付の標準 POA 溶液 (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 U/ml) 300 μ l または被検血清 10 μ l と緩衝液 300 μ l および抗 POA 抗体結合ビーズを 1 個ずつ入れ、常温 (15~30°C) で 2 時間インキュベーションし、反応液を吸引除去後 2 ml の洗浄液によりビーズを洗浄し、洗液を除去する。この操作をさらに 2 回繰り返した後、200 μ l の 125 I-抗 POA モノクローナル抗体溶液を加え室温で 2 時間インキュベーションし、上記操作により洗浄後、ビーズの放射能を測定する。標準曲線から POA 値を読み取り、その値を 31 倍して被検血清中の濃度を求める。

III. 結果

1. 基礎的検討

1) 再現性

濃度の異なる 3 種類の血清を 5 回同時測定した場合の測定内変動係数は Table 1 に示すごとく、2.2%~3.9% で、5 回の異なる測定を行った場合

Table 1 Reproducibility

Intraassay variation			
No.	Serum A (U/ml)	Serum B (U/ml)	Serum C (U/ml)
1	6.8	16.7	23.3
2	6.5	15.2	22.3
3	6.5	15.8	22.6
4	6.2	16.4	23.3
5	6.5	15.5	22.3
Mean	6.5	15.9	22.8
S.D.	0.21	0.62	0.51
C.V. (%)	3.2	3.9	2.2
Interassay variation			
No.	Serum A (U/ml)	Serum B (U/ml)	Serum C (U/ml)
1	6.2	16.1	22.9
2	7.1	18.9	25.1
3	6.8	15.8	24.2
4	6.2	18.0	22.6
5	5.9	15.8	22.6
Mean	6.4	16.9	23.5
S.D.	0.49	1.44	1.12
C.V. (%)	7.7	8.5	4.8

の測定間変動係数は 4.8%~8.5% と良好な結果を得た。

2) 回収率

濃度の異なる 2 種類の血清に、0.2 U/ml, 0.4 U/ml, 0.8 U/ml の POA 標準液を添加して測定した際の理論値に対する実測値で求めた平均回収率は Table 2 に示すごとく、それぞれ 95.6%, 97.3% と良好であった。

3) 希釈試験

濃度の異なる 4 種類の血清をキット添付の緩衝

Table 2 Recovery test

	Added (U/ml)	Measured (U/ml)	Recovery (%)
Serum A	0	0.28	
	0.2	0.47	97.9
	0.4	0.65	95.5
	0.8	1.01	93.5
	Mean		95.6
Serum B	0	0.51	
	0.2	0.74	104.2
	0.4	0.84	92.3
	0.8	1.25	95.4
	Mean		97.3

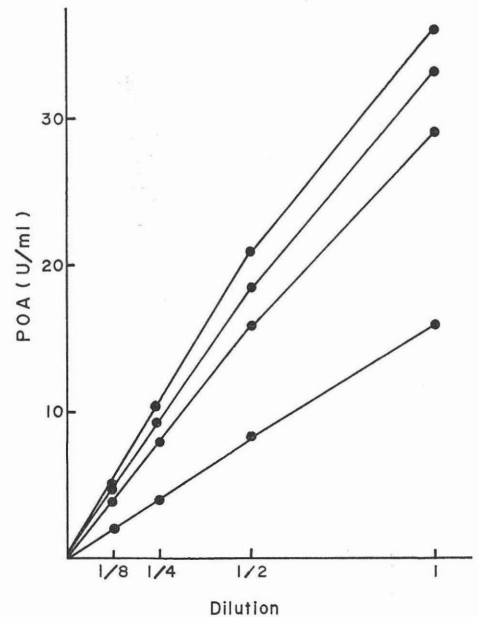


Fig. 1 Dilution test.

液で2~8倍に希釈して得た希釈曲線は Fig. 1 に示すごとく、ほぼ良好な直線を示した。

2. 臨床的検討

1) 健常人における血清 POA 値

健常人 137 例のうち男性97例、女性40例の血清 POA 値は 3.4~23.2 U/ml の間に分布し、その平均値はおおの 9.8±3.1 U/ml, 8.6±3.5 U/ml であり、その 95% は 18.0 U/ml 以下に、98% は 20.0 U/ml 以下に分布した。これらの結果より、健常人の 95% が分布する 18 U/ml を POA のカットオフ値とした (Fig. 2)。

2) 各種疾患患者における血清 POA 値

良性疾患患者における血清 POA 値は、Fig. 2 に示すごとく 85 例中 38 例 (44.7%) に陽性を認め、その陽性率は、それぞれ慢性膵炎 16.7% (2/12)、慢性肝炎 28.6% (6/21)、肝硬変 80.0% (12/15)、胃潰瘍 42.9% (3/7)、十二指腸潰瘍 100% (3/3)、

慢性腎不全 44.4% (12/27) であった。

一方、悪性腫瘍における POA の陽性率は、Fig. 3 に示すごとく、それぞれ食道癌 47.4% (9/19)、肺癌 32.3% (10/31)、乳癌 38.5% (5/13)、胃癌 27.0% (10/37)、肝細胞癌 63.6% (35/55)、胆道癌 45.0% (9/20)、膵癌 75.0% (12/16)、結腸直腸癌 41.4% (12/29)、子宮癌 14.3% (4/28)、卵巣癌 35.3% (6/17) であった。

3) 膵癌進行程度と POA 値との関係

膵癌における、血清 POA 値と病期との関係を検討した。Fig. 4 に示すごとく、stage I の症例は 1 例もなく、stage II で 3 例中 2 例に陽性を認めたが、その POA 値はいずれもカットオフ値付近の値であった。stage III の 5 例中 4 例、stage IV の 8 例中 6 例が陽性を示し、stage の進行に伴って血清 POA 値の上昇する傾向が認められた。また、膵頭部癌と膵体尾部癌の POA 値の間に特別

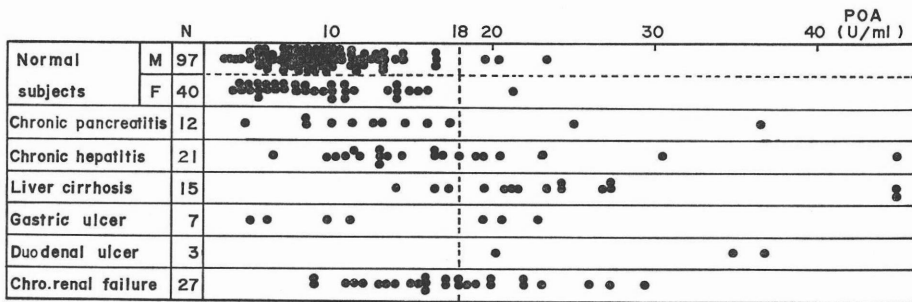


Fig. 2 Serum POA levels in patients with benign diseases and in normal subjects.

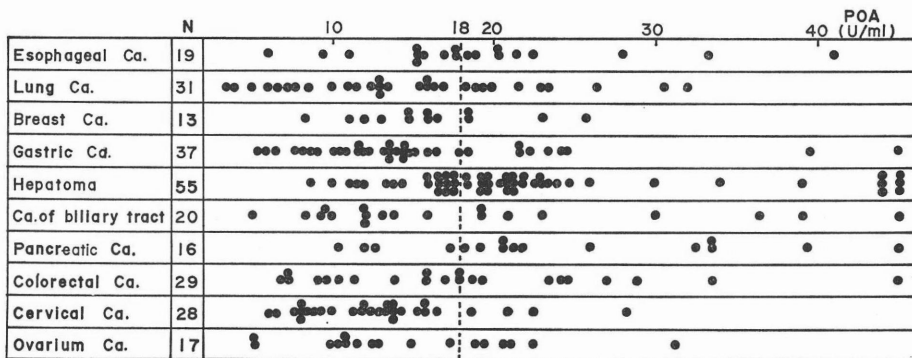


Fig. 3 Serum POA levels in patients with malignant diseases.

な関係は認められなかった。

4) CA 19-9, CEA との相関

膵癌患者の血清 POA と CA 19-9 との相関を Fig. 5 に、CEA との相関を Fig. 6 に示す。CA 19-9 はセントコア社の CA 19-9 リアキット、CEA はロッシュ社の Z ゲル法を用いて行った。相関係数はそれぞれ CA 19-9 と $r = -0.103$, CEA と $r = 0.308$ で、いずれの腫瘍マーカー間にも明らかな相関は認められなかった。

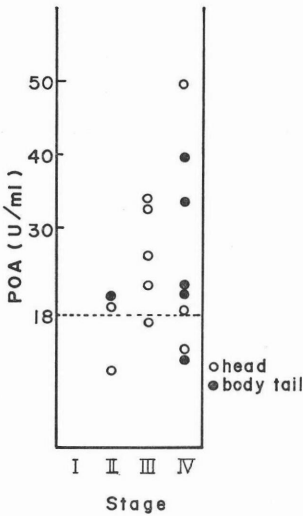


Fig. 4 Serum POA levels and the stage of pancreatic cancer.

これら POA, CA 19-9, CEA の単独測定での陽性率は、それぞれ 75.0%, 87.5%, 68.8% であるのに対し、おのおの 2 種の combination assay による陽性率は POA と CA 19-9 で 100%, POA と CEA で 93.8%, CA 19-9 と CEA で 100% であった。

IV. 考 察

腫瘍マーカーの測定は、癌の進行度の判定、治療効果や経過観察の指標として有用とされている⁵⁾。しかし癌の診断としての早期発見にはまだ十分活用できるまでには至っていない。近年、細胞融合法によるモノクローナル抗体作成技術の進歩によって臓器特異性や鋭敏度にすぐれた腫瘍マーカーが発見されつつある。とくに Koprowski ら⁶⁾ によって見いだされた大腸癌に対するモノクローナル抗体、CA 19-9 は膵癌などの血清診断に有用であるといわれている⁷⁻⁹⁾。

一方、POA はヒト胎児膵から抽出、精製されたので膵癌患者において臨床検討がなされ、その有用性が確認されているが、各研究者により用いている POA の生化学的および免疫学的性状が異なるため、血清 POA の成績もかなりの相違が認められている。その意味で、今回検討した POA 測定キットは施設間での互いの成績を無理なく比

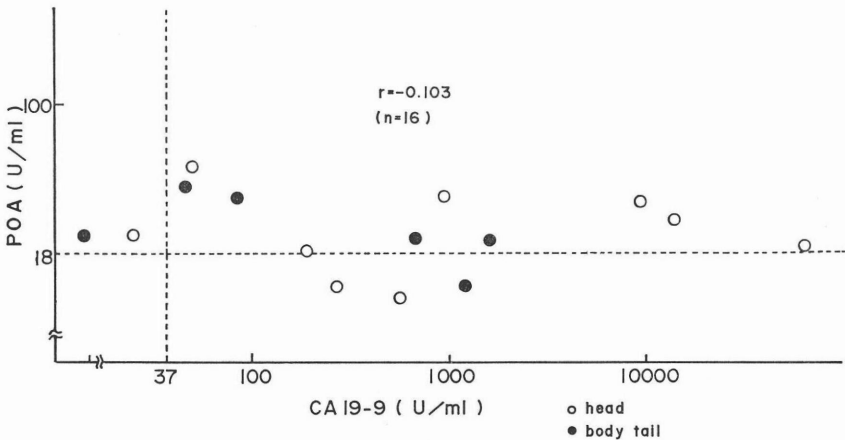


Fig. 5 Correlation between the serum levels of POA and CA 19-9 in patients with pancreatic cancer.

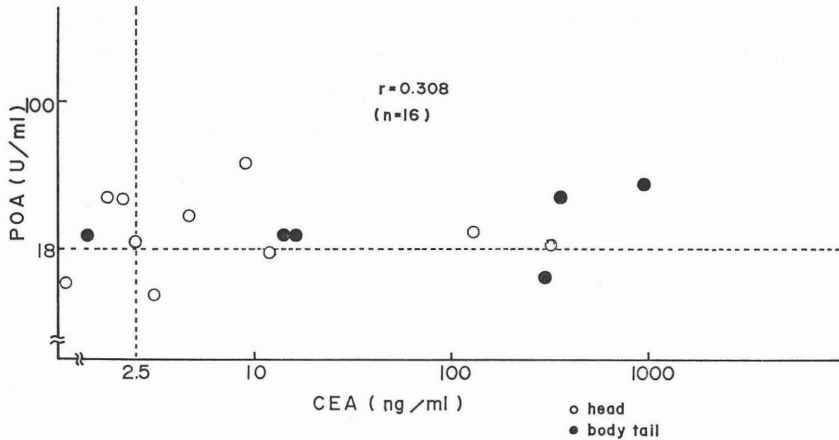


Fig. 6 Correlation between the serum levels of POA and CEA in patients with pancreatic cancer.

較することができる点で有意義である。

今回用いた POA 測定法はビーズ固相法を用いたサンドイッチ法で、反応時間が短くて、操作法が非常に簡便である。基礎的検討でも再現性、回収率、希釈試験ともに良好な成績が得られ、臨床的応用に十分に供するものと考えられた。

健常人 137 例の血清 POA 値は、3.4~23.2 U/ml の間に分布し、健常人の 95% が分布する 18.0 U/ml を血清 POA のカットオフ値とするのが適当と考えられた。菱沼ら¹⁰⁾は正常人 70 例のカットオフ値を 7.0 U/ml としており、本間ら³⁾は 400 U/ml (n=250) としているが、これらの成績はいずれも独自に開発した Enzyme immunoassay (EIA) の測定系での成績である。Gelder ら¹¹⁾はロケット電気泳動法 (RIEP) によるカットオフ値を 14.0 U/ml としており、われわれの IRMA による成績とおおよそ一致している。なお、本測定法に用いられている POA および抗 POA 血清は菱沼らと同じもので、Gelder らにより膵癌患者血清より調製されたものである。一方、本間らのそれは、膵癌患者腹水より抽出精製したもので Gelder らのものとは異なることが判明している。したがってカットオフ値の決定は各施設における測定法とも関連し、測定結果や臨床経験から設定すべきであると考えられる。

今日まで検討されている各疾患別の陽性率をみ

ると、菱沼ら¹⁰⁾は膵癌患者 25 例中 15 例 (60%) で血清 POA の上昇をみたとし、肝細胞癌では 47.8%、上部胆管癌では 42.9% の陽性率を認め、膵癌では病期の進行とともに POA の陽性率は高くなると報告している。また、本間ら³⁾は膵癌 72 例中 54 例 (75%) が POA 陽性で、他の悪性疾患の陽性率は 18~48% であり、膵癌に高い陽性率を認めるも、まだ十分な膵癌特異的なものではないと述べている。

著者らの今回の結果では、食道癌 47.4%、肺癌 32.3%、乳癌 38.5%、胃癌 27.0%、肝細胞癌 63.6%、胆道癌 45.0%、膵癌 75.0%、結腸直腸癌 41.4%、子宮癌 14.3%、卵巣癌 35.3% の陽性率であり、膵癌および肝細胞癌における POA の陽性率は他癌に比較して高率であった。一方、良性疾患では慢性膵炎の 16.7%、慢性肝炎 28.6%、肝硬変 80.0%、胃潰瘍 42.9%、十二指腸潰瘍 100%、慢性腎不全 44.4% に陽性例が認められた。これらの結果は、従来^{2,3)}のおおよそ合致するものであるが、肝細胞癌では膵癌と同程度の陽性率が検出された。これは、肝細胞癌では合併する肝硬変などの肝機能障害による POA の代謝障害のために血清 POA 値が上昇したと考えられている¹⁰⁾。また、肝硬変で 80.0% の陽性率を認めたことによって、この考えが支持されよう。したがって POA による腫瘍マーカーの解折にあたっては、肝疾患や腎疾患の有無を念頭において対処することが重要である。

POA は膵癌のみならず他の消化器癌においても陽性率が高く膵癌特異的なものとはいえ、また良性疾患で平均 44.7% と false positive を示す結果が比較的多く、良性、悪性の鑑別が困難であった。しかしながら、鑑別すべき慢性膵炎での陽性率が低いことから POA は膵癌に対する補助的診断法として有用と思われた。

膵癌の病期分類では、病期の進行に伴って血清 POA 値が上昇する傾向が認められ、また II 期での陽性例が認められたことは早期診断上の有用性が期待されるが、これらの血清 POA 値が比較的低値であること、また症例数も少ないので今後さらに検討すべきであろう。

POA と CA 19-9 あるいは CEA とは相関性を認めないことから、これらの腫瘍マーカーはそれぞれ互いに独立したマーカーであると考えられるので combination assay を行うことは有用と思われる。今回の著者らの検討でも、膵癌患者の同一血清における陽性率は POA では 75.0%、CA 19-9 では 87.5%、CEA では 68.8% であるのに対し、POA と CA 19-9 との combination assay では、その陽性率は 100%、POA と CEA では 93.8% と上昇し、これらの腫瘍マーカーの combination assay が膵癌診断能の向上に結びつくと考えられた。ただし、今回対象とした症例 (Fig. 4) は比較的進行程度の高い患者である。

V. 結 論

IRMA 法による POA 測定キットについて基礎的検討ならびに臨床的有用性について検討を行い、以下のごとき結論を得た。

- 1) 再現性、回収率、希釈試験などの基礎的検討はともに良好であり、臨床的に応用可能なキットであるものと考えられる。
- 2) 健常人 137 例の血清 POA 値は 3.4~23.2 U/ml の間に分布し、その 95% が分布する 18.0 U/ml を POA のカットオフ値とした。
- 3) 悪性腫瘍における POA の陽性率は、それぞれ食道癌 47.4% (9/19)、肺癌 32.3% (10/31)、乳癌 38.5% (5/13)、胃癌 27.0% (10/37)、肝細胞

癌 63.6% (35/55)、胆道癌 45.0% (9/20)、膵癌 75.0% (12/16)、結腸直腸癌 41.4% (12/29)、子宮癌 14.3% (4/28)、卵巣癌 35.3% (6/17) であった。

4) 肝硬変、十二指腸潰瘍、慢性腎不全などの良性疾患でも陽性率が高く、POA の測定のみでは良性、悪性の鑑別診断は困難であった。

5) 膵癌では病期の進行とともに、血清 POA 値は高値をとり、陽性率も上昇した。

謝辞：キットを提供していただいた塩野義製薬㈱に深謝いたします。

文 献

- 1) Banwo O, Versey J, Hobbs JR: New oncofetal antigen for human pancreas. *Lancet* **1**: 643-645, 1974
- 2) 西田康一, 福本圭志, 竹村周平, 他: 膵癌胎児抗原 (Pancreatic Oncofetal Antigen, POA) の酵素免疫測定法の開発. *日本消化器病学会雑誌* **78**: 909-913, 1981
- 3) 川 茂幸, 本間達二, 小口寿夫, 他: POA の酵素免疫測定法の開発とその臨床的検討. *消化器と免疫* **9**: 187-190, 1983
- 4) 島野高志, 柴田邦隆, 斎藤真文, 他: 膵癌胎児抗原 (POA) と膵癌関連抗原 (PCAA). *日本臨床 (秋季臨時増刊号)* **43**: 432-434, 1985
- 5) 服部 信: 腫瘍マーカー研究の現況. *臨床病理* **33**: 558-564, 1985
- 6) Koproval H, Steplewski Z, Mitchell K, et al: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Cell Genet* **5**: 957-972, 1979
- 7) 大倉久直, 板倉尚子, 向島 達, 他: 新しい消化管関連抗原 CA 19-9 のラジオイムノアッセイ. *消化器外科* **7**: 221-227, 1984
- 8) 小口寿夫, 本間達二, 長田敦夫, 他: モノクローナル抗体にて認識される新しい腫瘍マーカー CA 19-9 の臨床的意義の検討. *日本消化器病学会雑誌* **81**: 1430-1435, 1984
- 9) 有吉 寛, 桑原正喜, 須知泰山, 他: 糖鎖抗原 CA 19-9, 新しい腫瘍関連抗原——膵癌マーカーとしての可能性——. *医学のあゆみ* **125**: 918-920, 1983
- 10) 菱沼正一, 高見 博, 阿部令彦, 他: 膵癌胎児抗原 (POA) による膵癌症例の血清学的診断. *日本癌治療学会雑誌* **19**: 1432-1437, 1984
- 11) Gelder FB, Reese CJ, Moosa AR, et al: Purification partial characterization and clinical evaluation of a pancreatic oncofetal antigen. *Cancer Res* **38**: 313-324, 1978
- 12) 川 茂幸, 小口寿夫, 本間達二, 他: POA (pancreatic oncofetal antigen) および CA 19-9 による慢性膵炎と膵癌の鑑別. *胆と膵* **5**: 951-956, 1984