

《ノート》

IRMA 法に基づく CA 130 キットの有用性

Usefulness of CA 130 Kit Based on IRMA

藤井 崇* 木村 良子* 阿多まり子** 宮川 直子*
飯尾 篤** 濱本 研*

Takashi FUJII*, Yoshiko KIMURA*, Mariko ATA**,
Naoko MIYAGAWA*, Atsushi IIO** and Ken HAMAMOTO*

*Department of Radiology, Faculty of Medicine, Ehime University

**Central Radiology Division, Ehime University Hospital, Faculty of Medicine, Ehime University

I. はじめに

近年、モノクローナル抗体の手法により、さまざまな腫瘍マーカーが開発されている。最近、ヒト肺腺癌細胞株 PC-9 を免疫原として得られたモノクローナル抗体 130-22、および 145-9 を用いる新しい腫瘍マーカー測定キットが開発された¹⁾。CA 130 は、これらの抗体によって認識される糖蛋白質である。

今回、これら 2 つのモノクローナル抗体を用いた 1 ステップサンドイッチ法による CA 130 測定キット D-7111 キット(第一ラジオアイソトープ研究所)を使用する機会を得、CA 130 キットの有用性につき検討した。

II. 方法と対象

1. 測定原理と測定方法

CA 130 キット測定原理は、¹²⁵I 標識 130-22 抗体とビーズ固相化 145-9 抗体による 1 step im-

munoradiometric assay である。測定方法の概略は以下のとおりである。

- 1) 標準液または検体 50 μ l, ¹²⁵I 標識抗体 (130-22) 100 μ l, 145-9 抗体ビーズ 1 個を試験管に入れる。
- 2) 室温で 4 時間、ローテートする。
- 3) 反応液を除去し、蒸留水 2 ml にて 2 回洗浄する。
- 4) ビーズへの結合放射能を測定し、標準曲線より、検体中の CA 130 濃度を測定する。

CA 125 濃度は、エルザ CA 125 キット(ミドリ十字)で測定した。特異性はアッセイ系に CA 125(ミドリ十字), α -fetoprotein (AFP)(ダイナボット), フェリチン(第一ラジオアイソトープ研究所), TPA(第一ラジオアイソトープ研究所), CA 19-9(ミドリ十字)の標準液を添加して交叉反応を検討した。

2. 臨床的検討

健常人 752 例(男性 193 例、女性 559 例)、診断の確定した悪性腫瘍症例 227 例、良性疾患症例 93 例の計 1,072 例につき測定を行った。健常人の年齢分布および年齢中央値は、それぞれ男性 22 歳~64 歳、36 歳、女性 19 歳~61 歳、29 歳であった。悪性腫瘍症例の内訳は肺癌 95 例(扁平上皮癌 37

* 愛媛大学医学部放射線科

** 同 附属病院中央放射線部

受付: 63 年 5 月 13 日

最終稿受付: 63 年 7 月 28 日

別刷請求先: 愛媛県温泉郡重信町大字志津川

(番号 791-02)

愛媛大学医学部放射線科

藤井 崇

Key words: CA 130, CA 125, IRMA, Tumor marker.

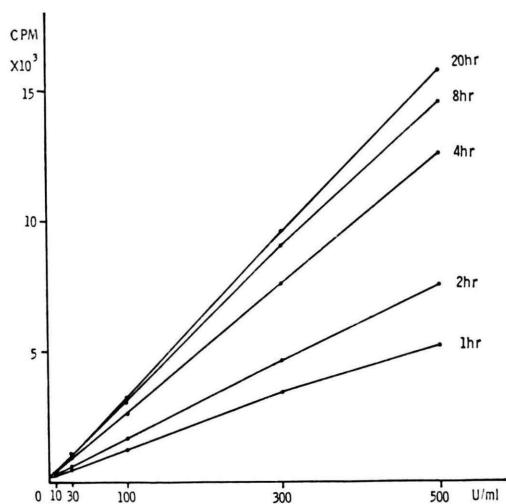


Fig. 1a Effect of incubation time on the standard curve.

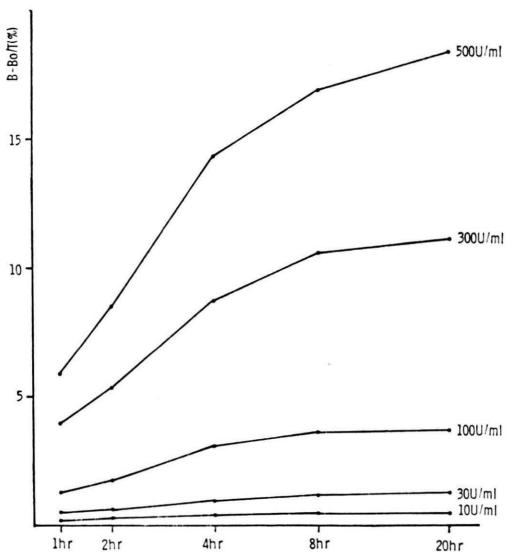


Fig. 1b Effect of incubation time on the binding of radioactivity to beads.

例、腺癌 35 例、小細胞癌 15 例、大細胞癌 8 例)、卵巣癌 25 例、子宮頸癌 16 例、子宮体癌 12 例、食道癌 10 例、胃癌 13 例、膵癌 15 例、肝細胞癌 11 例、大腸癌 30 例であり、良性疾患症例の内訳は、肺良性疾患 41 例(肺結核 9 例、サルコイドーシス 10 例、間質性肺炎および肺線維症 8 例、気

Table 1 Reproducibility

Intra-assay

n	Mean (U/ml)	S.D. (U/ml)	C.V. (%)
10	20.7	0.91	4.4
10	56.5	1.01	1.8
10	130.4	3.49	2.7

Inter-assay

n	Mean (U/ml)	S.D. (U/ml)	C.V. (%)
10	21.7	1.54	7.1
10	126.8	2.98	2.4
10	61.5	1.51	2.5

管支拡張症 3 例、肺炎および肺膿瘍 4 例、慢性閉塞性肺疾患 6 例、ウェジナー肉芽腫 1 例)、卵巣良性腫瘍 9 例、子宮筋腫 4 例、慢性膵炎 12 例、肝硬変 14 例、慢性腎不全 13 例であった。

III. 結 果

1. 基礎的検討

1) インキュベーション時間

標準 CA 130 (10, 30, 100, 300, 500 U/ml) を用いて、1, 2, 4, 8, 20 時間のインキュベーションで、それぞれの結合放射能を測定した。各インキュベーション時間での標準曲線は、ほぼ直線を示したが、2 時間以下では結合率が低く勾配が緩やかであり、4 時間以上のインキュベーションが必要と考えられた (Fig. 1a)。8 時間で、各濃度の試薬の反応はほぼプラトーに達しており (Fig. 1b)、4~8 時間のインキュベーションが適当と考えられた。以下、CA 130 濃度の測定は、キットの説明書どおり 4 時間で施行した。

2) 再現性 (Table 1)

同一アッセイ内、異なるロット間のアッセイでの精度再現性を検討した。各 10 回の測定において、それぞれの変動係数は、1.8%~4.4%, 2.4%~7.1% と良好な精度再現性を示した。

3) 希釈試験 (Fig. 2)

96 U/ml~281 U/ml までの異なる患者血清を用いて行った希釈試験では、いずれの血清も原点を

通る直線よりは高い値をとり、上に凸のなだらかな曲線を示した。

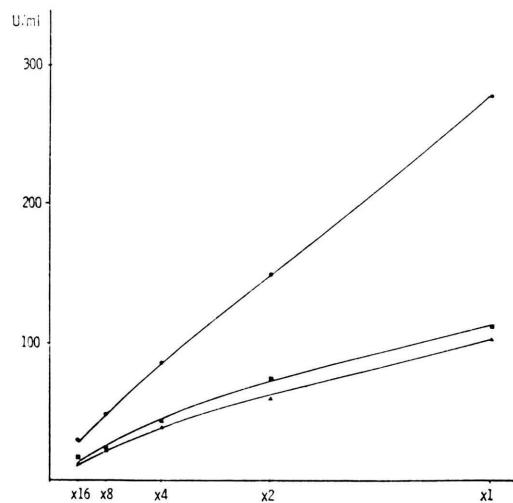


Fig. 2 Dilution test.

Table 2 Recovery test

Serum	CA 130 added (U/ml)	Measured (U/ml)	Recovered (U/ml)	Recovery (%)
1	+ 0	8.7		
	+ 15	23.8	15.1	100.7
	+ 50	55.0	46.3	92.6
	+ 150	146.4	137.7	91.8
	+ 250	233.7	225.0	90.0
2	+ 0	11.5		
	+ 15	26.7	15.2	101.3
	+ 50	59.9	48.4	96.8
	+ 150	154.1	142.6	95.1
	+ 250	241.1	229.6	91.8
3	+ 0	35.7		
	+ 15	47.7	12.0	80.0
	+ 50	84.4	48.7	97.4
	+ 150	173.7	138.0	92.0
	+ 250	271.2	235.5	94.2
4	+ 0	63.4		
	+ 15	84.1	20.7	138.0
	+ 50	113.7	50.3	100.6
	+ 150	204.9	141.5	94.3
	+ 250	287.7	224.3	89.7

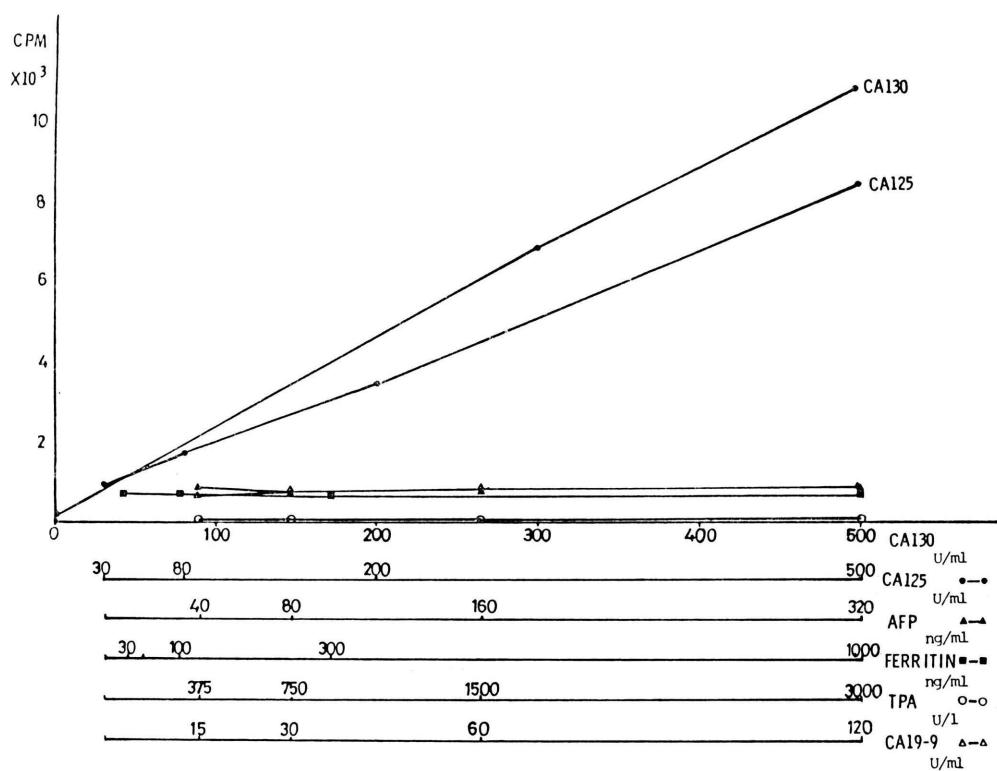


Fig. 3 Cross-reactivity with CA 125, AFP, Ferritin, TPA, and CA 19-9.

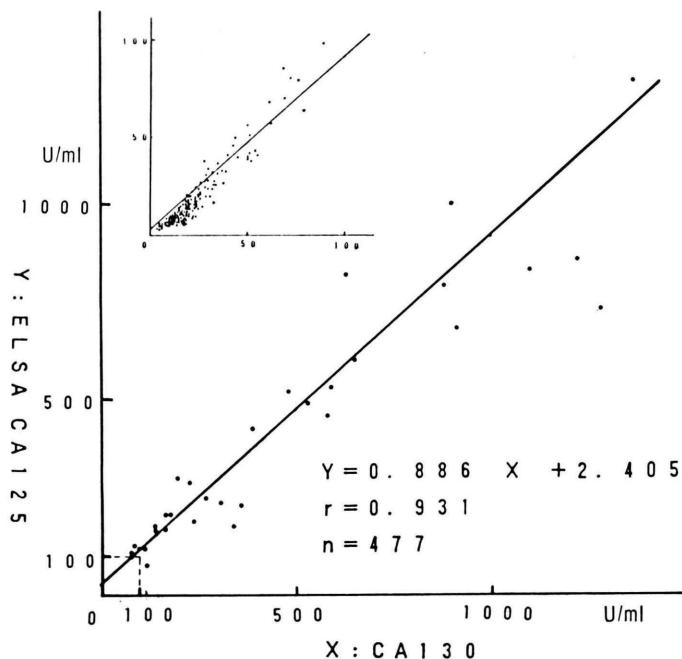


Fig. 4 Correlation between CA 130 and CA 125.

4) 回収試験 (Table 2)

4種類の患者血清について、キット添付の標準CA 130を等量混合して回収率を検討した。回収率は80.0%~138.0%の間に分布し、その平均値は96.6%であった。

5) 特異性 (Fig. 3)

AFP、フェリチン、TPA、CA 19-9標準液とは、まったく交叉反応を示さなかったが、CA 125標準液とは、強い交叉反応を示した。

6) エルザ CA 125キットとの相関 (Fig. 4)

477例の血清について、本キットとエルザ CA 125キットと同時測定を行った。前者をX、後者をYとすると回帰直線は、 $Y=0.886X+2.405$ で相関係数は0.931であった。

2. 臨床的検討

1) 健常人におけるCA 130 (Table 3)

健常人の血中CA 130濃度の平均値±標準偏差は、男性 9.6 ± 5.1 U/ml、女性 17.3 ± 10.5 U/mlで、女性は男性より高値を示した($p<0.01$)。年齢別にみると、男性では加齢に伴い低値になる傾向が

Table 3 Serum CA 130 in normal subjects

	Age	n	Mean (U/ml)	S.D. (U/ml)	Range (U/ml)
Male	20-29	46	10.0	3.5	5.4-20.4
	30-39	76	9.7	3.4	3.8-25.0
	40-49	29	9.4	6.0	2.9-35.7
	50-59	32	8.5	3.7	3.5-15.5
	60-	7	5.8	2.3	2.7-8.8
		193	9.6	5.1	2.7-35.7
Female	-19	7	20.0	15.6	5.5-52.2
	20-29	283	18.6	10.4	4.8-65.4
	30-39	134	17.9	9.5	5.3-62.4
	40-49	87	17.4	15.5	4.5-87.6
	50-59	44	10.0	5.3	2.8-35.8
	60-	4	12.3	4.9	6.4-17.7
		559	17.3	10.5	2.9-87.6
Total		752	15.3	9.9	2.7-87.6

みられたが、特に有意差は認められなかった。女性においても、加齢とともに低値になる傾向がみられ、50歳以下と50歳以上の間に有意差を認めた($p<0.01$)。

LH, FSHの測定より性周期を推定し得た83例

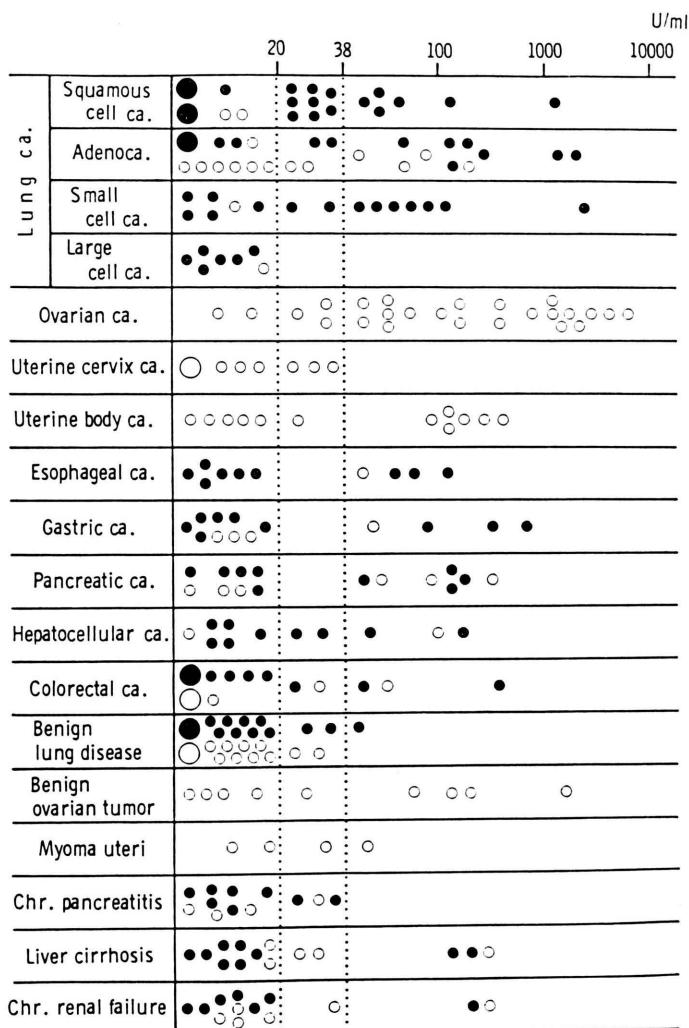


Fig. 5 Serum CA 130 levels in patients with various malignant and benign diseases. A small circle and a large circle represent one and ten subjects, respectively. Closed circle; male. Open circle; female.

Table 4 Serum CA 130 in the different sexual cycle

	n	Mean (U/ml)	S.D. (U/ml)	Range (U/ml)
Estrogenic phase	20	16.8	5.9	8.1-30.4
Ovulatory phase	9	10.9	2.4	8.2-14.9
Luteal phase	22	16.2	5.6	9.5-34.0
Menstrual phase	16	24.2	9.0	13.3-50.9
Menopause	16	12.1	3.4	6.9-18.0

について、性周期での変動を検討すると、Table 4 のごとく、月経期で 24.2 ± 9.0 U/ml (平均値 \pm 標準偏差) と有意に高く ($p < 0.01$)、排卵期および閉経期では、それぞれ 10.9 ± 2.4 U/ml, 12.1 ± 3.4 U/ml と有意に低値であった ($p < 0.01$)。

以上、健常人における検討結果より、平均値 \pm 標準偏差、すなわち男性 20 U/ml、女性 38 U/ml をカットオフ値とした。

2) 各種疾患における CA 130 陽性率

各疾患別の血清 CA 130 の分布を Fig. 5 に示す。悪性疾患の陽性率は、肺癌 38.9% (扁平上皮癌 37.8%, 腺癌 40.0%, 小細胞癌 60.0%, 大細胞

癌 0%) 卵巣癌 80.0%, 子宮頸癌 0%, 子宮体癌 50.0%, 食道癌 40.0%, 胃癌 30.8%, 肺癌 46.7%, 肝細胞癌 36.4%, 大腸癌 13.3% であった。肺癌症例では、胸水貯留のみられた 11 例中 9 例が陽性であった。癌性腹膜炎を伴った大腸癌では、CA 130 濃度 481 U/ml と高値を示し、胃癌、肝細胞癌でも腹水を伴うものに高値例がみられた。一方、良性疾患では、肺良性疾患 7.3%, 卵巣良性腫瘍 44.4%, 子宮筋腫 25.0%, 慢性膀胱炎 16.7%, 肝硬変 21.4%, 慢性腎不全 15.4% であった。肝硬変および慢性腎不全の陽性例のすべてに、顕著な腹水がみられた。卵巣良性腫瘍では、胸水、腹水を伴った卵巣線維腫が、1,540 U/ml と高値を示し、漿液性囊胞腺腫、およびムチン性囊胞腺腫にも陽性例がみられた。

3) 治療経過と血清 CA 130 濃度

術前 CA 130 高値を示した子宮体癌 4 例につき、術後の変化をみた (Fig. 6)。根治手術後 2~8 週間後、CA 130 はすべて正常値となった。

次に、CA 130 が臨床経過をよく反映した症例を示す (Fig. 7)。症例は、67 歳女性で卵巣漿液性囊胞腺癌 III 期であった。術前 1,026 U/ml と

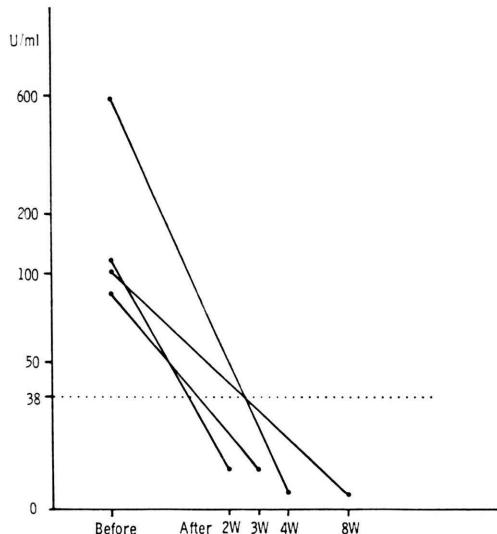


Fig. 6 Serum CA 130 levels before and after operation in patients with carcinoma of the uterine body.

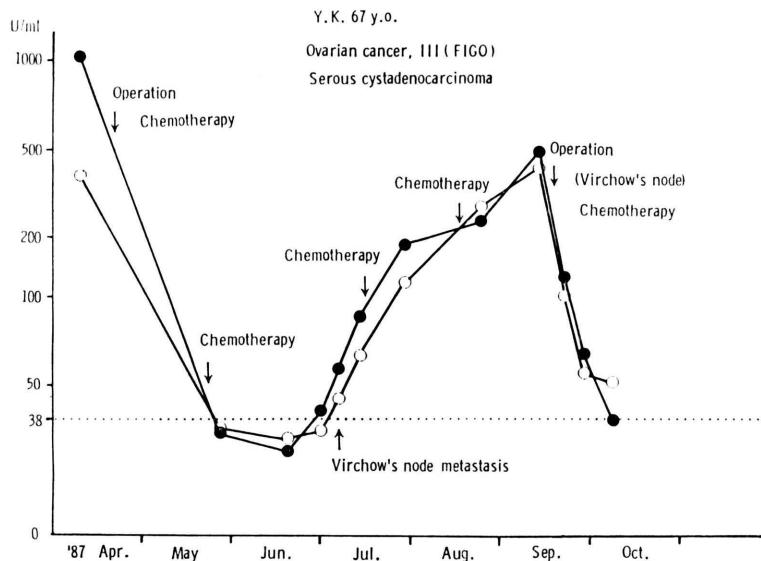


Fig. 7 Serum CA 130 and CA 125 levels in the patient with ovarian cancer.
Closed circle; CA 130. Open circle; CA 125.

高値を示した CA 130 濃度は、術後 28 U/ml までに低下したが、再上昇傾向がみられて、まもなく小さな左鎖骨上窓リンパ節を触知されるようになった。その後、リンパ節の増大に伴い CA 130 濃度も上昇をつづけ、498 U/ml にまで上昇した。左鎖骨上窓リンパ節摘出術が施行され、臨床症状の軽快とともに CA 130 濃度は 38 U/ml と低下がみられ退院した。この症例において、CA 130 濃度は同時に測定した CA 125 濃度と同様に臨床経過を良く反映していた。

IV. 考 案

CA 130 は、肺腺癌細胞を免疫原として作製されたモノクローナル抗体 130-22, 145-9 により認識される糖蛋白質抗原であるが⁵、その後の検討より、卵巣癌に高率に発現される CA 125 と同一の抗原であり、130-22, 145-9 は Bast ら²⁾により作製されたモノクローナル抗体 OC 125 とは異なる抗原決定基を認識していることが明らかになった³⁾。これまでの免疫組織学的研究により CA 125 は体腔上皮関連抗原と考えられており、上皮性卵巣腫瘍のみならず、腹膜、胸膜、心膜、子宮内膜などに存在するとの報告がある⁴⁾。OC 125 を用いた CA 125 キットに関する報告はこれまでに多くあり⁵⁻⁷⁾、特に卵巣腫瘍マーカーとしての CA 125 の有用性は周知のところである。従来の CA 125 キットは OC 125 をトレーサーとキャッチャーとして用いるものであるが、本キットでは 130-22, 145-9 を用いる。immunoradiometric assay では異なる抗原決定基を認識する 2 つのモノクローナル抗体を用いると感度および特異性が向上するといわれており^{3,8)}、中島らは、145-9 を固相化し、130-22 をトレーサーとして 2 種類の抗体を用いるアッセイ系において、抗原濃度の低い領域での感度が良かったと報告している¹⁾。

基礎的検討の結果、インキュベーション時間は説明書にある 4 時間で十分であり、エルザ CA 125 キットの 16~24 時間に比べ、大幅な時間の短縮が可能となった。また、1 ステップペーズ固相法であるため、洗浄等の操作は簡便である。再現性、

回収試験ともにほぼ良好な結果が得られたが、希釈試験は満足すべき結果が得られなかった。同様の結果はエルザ CA 125 キットやその他の 1 ステップ法の immunoradiometric assay においての希釈試験でみられており、IRMA 法の欠点と考えられる。エルザ CA 125 キットとは、相関係数 0.931 と良い相関がみられた。今回の検討では、CA 130 値と CA 125 値の顕著な解離を示す例は認められず、CA 130 と CA 125 は、ほぼ同一の意味を持つと考えられる。

本キットによる健常人の測定値には有意な性差がみられ、平均値+2 標準偏差は、男性 20 U/ml、女性 38 U/ml でこの値をカットオフ値とした。また、性周期によっても変動がみられ、特に月経期に高い傾向がみられた。これらの変動は CA 125 においても同様の傾向が報告されており⁹⁾、加齢により低値になることと共に、CA 125 が子宮内膜に存在することと関連するものと考えられる。

疾患別にみると卵巣癌、子宮体癌、肺癌、卵巣良性腫瘍で高い陽性率が得られた。悪性疾患では、各疾患ともに進行例に陽性率が高く、胸水、腹水貯留例では高値を示すことが多かった。良性群、悪性群ともに、胸腹水貯留例では、胸水、腹水中の CA 125 および血中 CA 125 が高値であるという報告があり¹⁰⁾、高値例においては胸腹水の有無に注意を要する。

V. 結 語

本キットは従来の CA 125 測定キットの改良型と考えられ、インキュベーション時間が短縮され、操作も簡便である。再現性、CA 125 キットとの相関も良好であり、臨床的に有用であると考えられる。

文 献

- 1) 中島鉄夫、遠藤啓吾、松岡洋一郎、他：モノクローナル抗体(130-22, 145-9)を用いる新しい腫瘍マーカー；卵巣癌での有用性。第 6 回腫瘍マーカー研究会, pp. 113-115, 1986
- 2) Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H, et al: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. J Clin Invest 68: 1331-1337, 1981

- 3) Matsuoka Y, Nakashima T, Endo K, et al: Recognition of ovarian cancer antigen CA 125 by murine monoclonal antibody produced by immunization of lung cancer cells. *Cancer Res* **47**: 6335-6340, 1987
- 4) Kabawat SE, Bast RC Jr, Bhan AK, et al: Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC 125. *Int J Gynecol Pathol* **2**: 275-285, 1983
- 5) 阪原晴海, 遠藤啓吾, 中島言子, 他: 卵巣癌に対するモノクローナル抗体を用いたエルザ CA 125 RIA キットの基礎的ならびに臨床的検討. *核医学* **22**: 1391-1397, 1985
- 6) Bast RC Jr, Klug TL, St John E, et al: A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* **309**: 883-887, 1983
- 7) Klug TL, Bast RC Jr, Niloff JM, et al: Monoclonal antibody immunoradiometric assay for an antigenic determinant (CA 125) associated with human epithelial ovarian carcinomas. *Cancer Res* **44**: 1048-1053, 1984
- 8) Herlyn M, Blaszczyk M, Bennicelli J, et al: Selection of monoclonal antibodies detecting serodiagnostic human tumor markers. *J Immunol Methods* **80**: 107-116, 1985
- 9) 有吉 寛, 葛谷和夫, 桑原正喜: CA 125. *日本臨床* **43**: 438-440, 1985
- 10) 地曳和子, 出村黎子, 阿部裕司, 他: 血中, 腹水, 胸水中の CA 125 測定の臨床的意義. *癌の臨床* **33**: 1756-1762, 1987