

《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

(☎ 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.

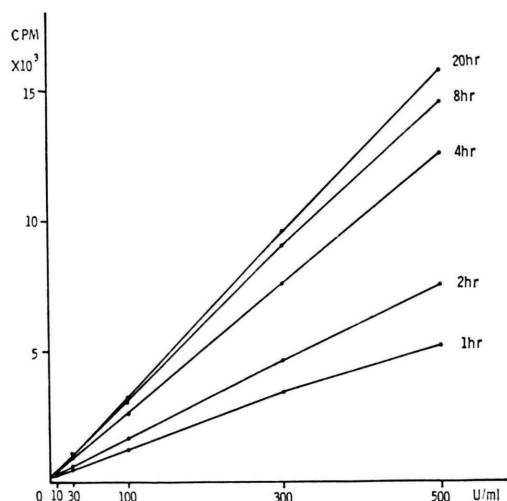


Fig. 1a Effect of incubation time on the standard curve.

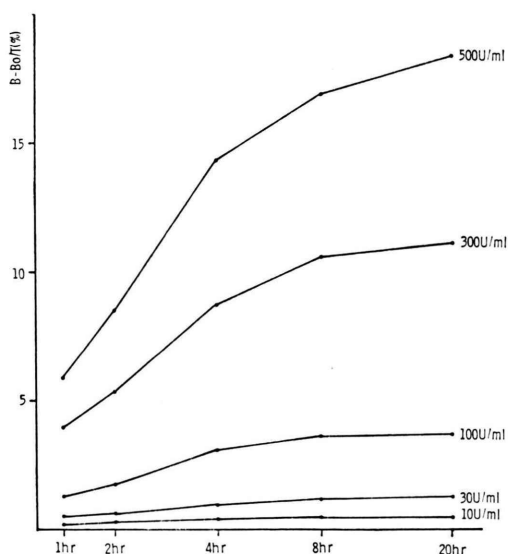


Fig. 1b Effect of incubation time on the binding of radioactivity to beads.

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, 膀胱癌 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, 慢性肝炎 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。

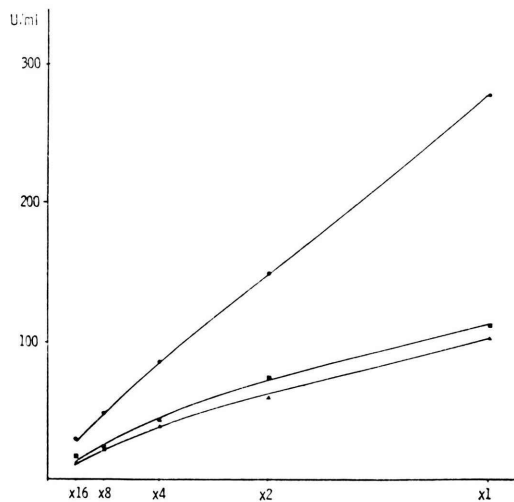


Fig. 2 Dilution test.

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

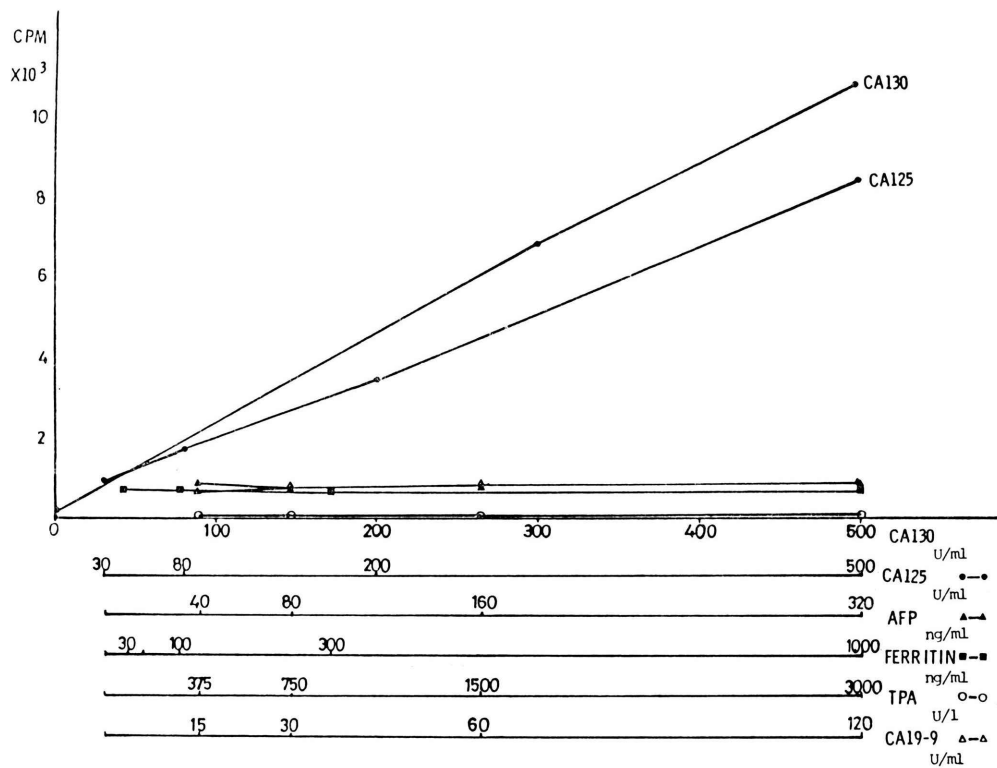


Fig. 3 Cross-reactivity with CA 125, AFP, Ferritin, TPA, and CA 19-9.

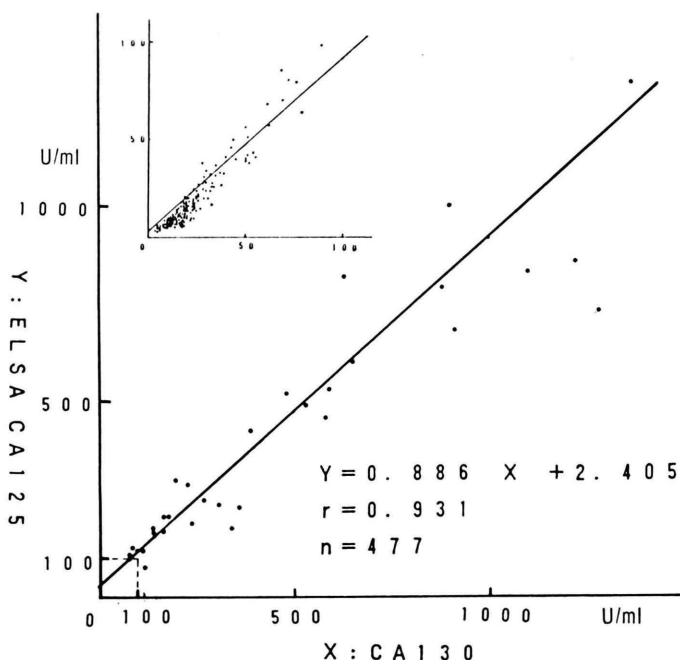


Fig. 4 Correlation between CA 130 and CA 125.

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

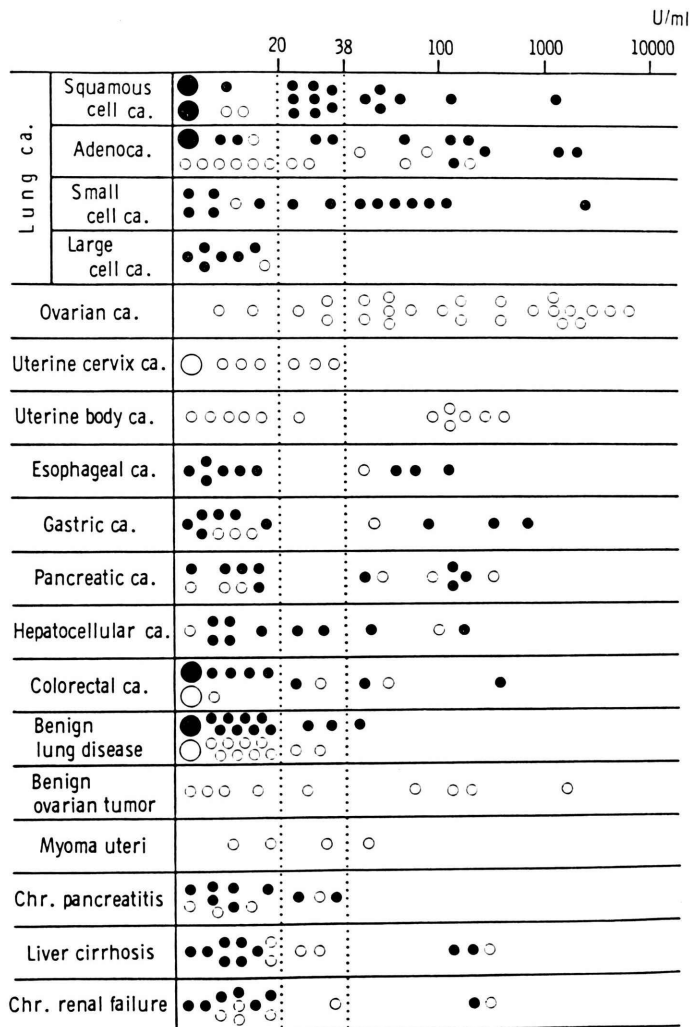


Fig. 5 Serum CA 130 levels in patients with various malignant and benign diseases. A small circle and a large circle represent one and ten subjects, respectively. Closed circle; male. Open circle; female.

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 $+2$ 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

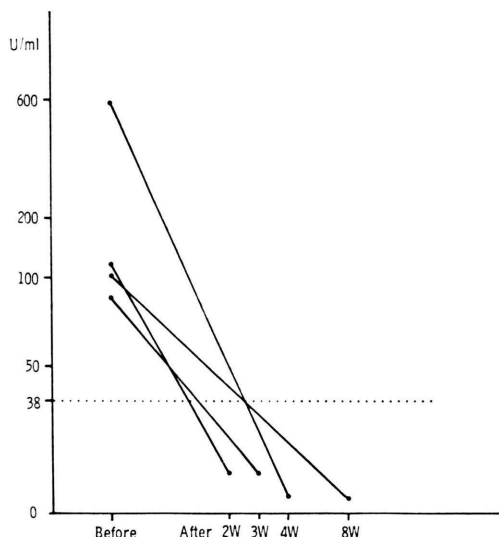


Fig. 6 Serum CA 130 levels before and after operation in patients with carcinoma of the uterine body.

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%, 肝癌 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%, 慢性肝炎 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, 漿液性嚢胞腺腫, およびムチン性嚢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呈示する (Fig. 7). 症例は, 67 歳女性で卵巣漿液性嚢胞腺癌 III 期であった. 術前 1,026 U/ml と

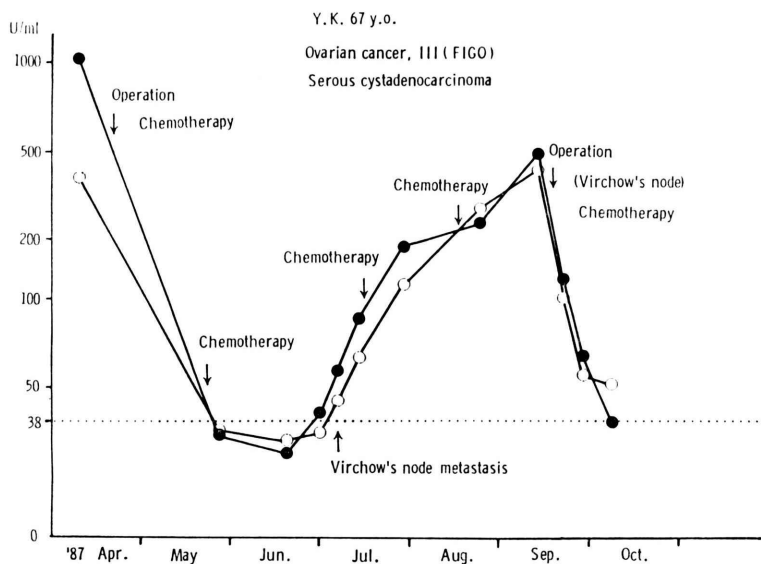


Fig. 7 Serum CA 130 and CA 125 levels in the patient with ovarian cancer. Closed circle; CA 130. Open circle; CA 125.

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窩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。左鎖骨上窩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、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 ステップビ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⁴⁾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、膀胱癌、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, Benniselli 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