

《技術報告》

ICMA (Immunochemical luminescent assay) による CEA の測定

——特に低 CEA 値域を IRMA (Immunoradiometric assay) と比較して——

間中友季子* 渡辺 道子* 安久津 徹* 駒谷 昭夫*

山口 昂一*

要旨 全自動化学発光免疫測定装置ケミルミアナライザ ACS180 を用いて血清 CEA 値を測定した。また、IRMA である CEA キット「第一」II による測定結果と比較した。ACS180 による測定では同時再現性は 1.97 ng/ml で C.V.=4.06%，17.3 ng/ml で 1.62%，81.3 ng/ml で 2.28% であった。また、日差再現性は 1.99 ng/ml で C.V.=4.02%，16.5 ng/ml で 1.21%，79.4 ng/ml で 3.44% であった。最小検出感度はプレシジョンプロフィールによる実効値で 0.4 ng/ml であった。CEA 値が 0.4 ng/ml 以上 100 ng/ml 以下 (ACS180 の測定範囲とした) の検体 164 例の IRMA との相関は $R=0.984$, $y=1.07x+0.09$ ($p<0.05$) であった。健常人 53 名および悪性疾患患者 132 名のうちカットオフ値 2.5 ng/ml を超えるものはそれぞれ 7 名 (13.2%) および 45 名 (34.1%) であった。悪性疾患の患者 82 例のうち手術後 65 例が下降した。ACS180 による CEA 測定は、検査所要時間が従来のラジオイムノアッセイに比べて短時間であるにもかかわらず、感度、精度ともに満足のいくものであり、低測定値の検体が多数をしめる当項目において 0.4 ng/ml まで信頼できる値を得ることができた。患者検体の測定値も IRMA におけるものと高い相関を示した。

(核医学 32: 1029-1035, 1995)

I. はじめに

ラジオイムノアッセイ検査室において CEA (carcinoembryonic antigen) は多数の検体が提出される項目である。CEA 測定用キットは多数が開発され、また、それらについてのたくさんの報告もなされている。CEA の腫瘍マーカーとしての臨床的意義もすでに確立されているものの、当院での実際の測定にあたっては測定レンジ内での高 CEA 値を示す検体の割合は他の報告¹⁾に比べて少

ないという印象があった。悪性疾患の患者の血清もその多くは測定レンジの低測定値域に集中するため、CEA 測定用キットの測定感度について今一度検討したいと思っていた。今回、non-RIA である全自動化学発光免疫装置ケミルミアナライザ ACS180 (以下 ACS180 と約す) (チバ・コーニング・ダイアグノスティックス社) で CEA を測定する機会を得たので、ACS180 の基礎的検討を行うとともに、患者血清についても測定した。同時に、ラジオイムノアッセイキットである CEA キット「第一」II (第一ラジオアイソトープ研究所) でも測定、比較し、最小検出感度～カットオフ値付近の測定値の信頼性を検討した。

II. 対象および方法

対象は当院の職員を対象とした健常人 53 例、

* 山形大学医学部附属病院放射線部

受付：7年1月26日

最終稿受付：7年6月29日

別刷請求先：山形市飯田西2-2-2 (〒990-23)

山形大学医学部放射線科

間 中 友 季 子

および当院に入院、手術を施行し、診断の確定した138例の計191例である。術前検体138例の内訳は、良性疾患6例、悪性腫瘍患者132例(食道癌6例、胃癌61例、結腸癌17例、直腸癌17例、肺腺癌4例、胆道・胆管癌10例、胆嚢癌3例、肝細胞癌3例、その他12例)、また、術後検体は悪性腫瘍患者82例(食道癌1例、胃癌46例、結腸癌10例、直腸癌10例、肺腺癌2例、胆道・胆管癌15例、胆嚢癌32例、肝細胞癌32例、その他4例)である。なお、術後検体は同一患者の術前検体が対象のなかに必ず存在する。なお、検体は通常の院内検査終了後、直ちに凍結保存し、今回の検討の際、溶解して一度に測定した。これらの検体について、ACS180とCEAキット「第一」IIにてCEA濃度を測定した。

ACS180はアクリジニウム・エステルを標識体とした化学発光免疫測定法²⁾で全自動測定を行う機械であり、CEA測定については最初の検体の測定報告までに15分、1時間に90検体(他項目では180テスト/時も可能)の処理が可能である。測定にはアクリジニウムエステル標識抗CEA抗体と抗CEA抗体結合鉄微粒子からなるケミルミアナライザーACS180専用試薬ケミルミACS-CEAキットを用い、測定レンジは0~100ng/mlである。血清検体の測定はシングルで行ったが再現性や感度試験では多重測定が必要なので、一重、二重、三重測定のうちから必要項目を選択した。

CEAキット「第一」IIは、血清検体に緩衝試薬を加えCEA抗体ビーズを投入後、室温にて2時間ローテートした後洗浄し、ヨウ化CEA抗体試薬を添加し、さらに2時間ローテートして洗浄しビーズの計数率を測定する2ステップ法にて行った。なお、計数時には、ビーズを新たな試験管に移しかえた。測定レンジは2ステップ法では1~500ng/mlであり、二重測定を原則として測定した。

測定値は両測定法とも0ng/mlまで算出し、測定感度を超えるものについて検討した。

1. 再現性

濃度の異なる3種類の患者血清を用いて、同時

再現性ではそれぞれ12重測定、日差再現性では日を変えて5日間測定した。

2. 希釈直線性

3種類の患者血清をケミルミACS-CEA添付の検体希釈液を用いて希釈し、それぞれ2重測定を行い、その希釈直線性を検討した。

3. 最小検出感度

低濃度血清58検体を3重測定して、各々の平均値とC.V.を求めプレシジョンプロフィールを作成し、C.V.が10%以下となる最小濃度を実効最小検出感度とした。また、CEAキット「第一」

Table 1 Intra-assay reproducibility (ng/ml)

No.	Serum L	Serum M	Serum H
1	1.84	16.7	79.3
2	2.09	17.3	84.1
3	1.99	17.3	81.2
4	1.90	17.4	79.7
5	2.12	17.4	82.0
6	1.98	17.2	84.1
7	1.95	17.6	81.0
8	1.92	17.1	78.3
9	1.97	17.8	85.2
10	1.93	17.2	81.4
11	1.89	17.5	80.5
12	2.04	17.1	78.2
Mean	1.97	17.3	81.3
S.D.	0.08	0.28	2.28
C.V.(%)	4.06	1.62	2.8

Table 2 Inter-assay reproducibility (ng/ml)

No.	Serum L	Serum M	Serum H
1	2.01	16.2	74.7
2	2.11	16.6	79.6
3	1.96	16.4	81.5
4	1.98	16.7	80.8
5	1.90	16.6	80.5
Mean	1.99	16.5	79.4
S.D.	0.08	0.20	2.73
C.V.(%)	4.02	1.21	3.44

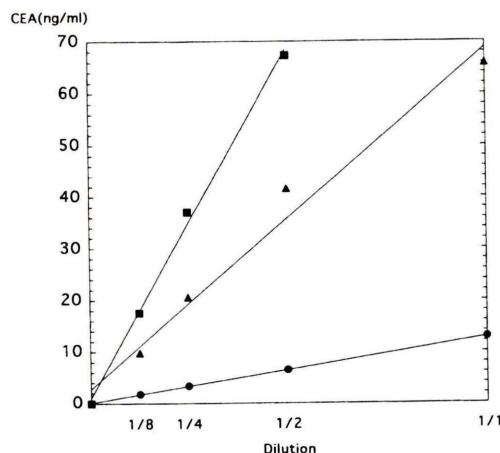


Fig. 1 Dilution test. Each serum of three patients was diluted with diluent of ACS-CEA kit.

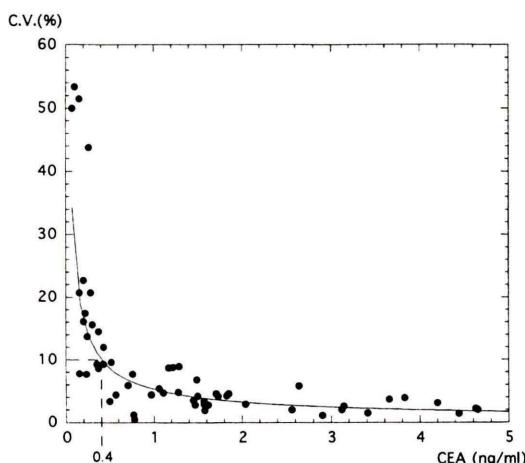


Fig. 2 Precision profile of ACS180 assay for CEA. Each sample ($n=58$) was measured by triplicate.

II でも同様の検討をした。

4. 相 関

健常人検体53例および術前検体138例の計191例について ACS180 と CEA キット「第一」II による CEA 値を比較した。

5. 臨床的検討

当院における術前患者の CEA 測定値の分布を検討した。また、手術前の検体とそれに対応する手術後検体の測定値の変化(82例)も比較した。

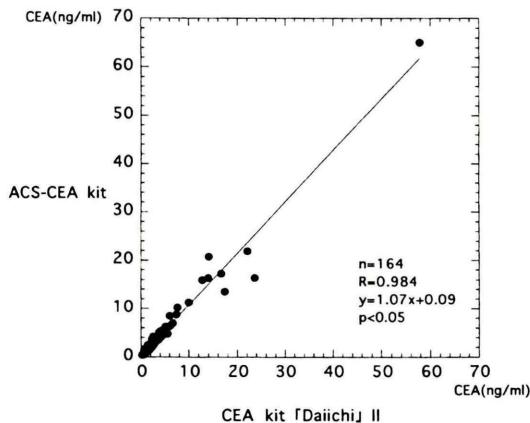


Fig. 3 Correlation of CEA values between ACS-CEA kit and CEA kit "Daiichi" II.

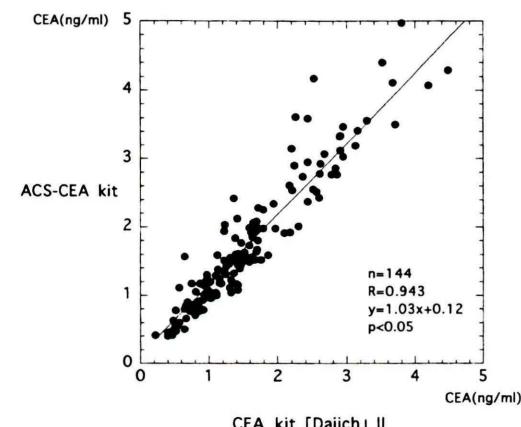


Fig. 4 Correlation of CEA values below 5 ng/ml between ACS-CEA kit and CEA kit "Daiichi" II.

III. 結 果

1. 再 現 性

同時再現性は Table 1 に示すように、C.V.=1.62~4.06%と良好であった。また、日差再現性も Table 2 のごとく、C.V.=1.21~4.02%と良好な結果を得た。

2. 希釈曲線

3種類の患者血清ともほぼ原点を通る良好な直線性を示した(Fig. 1)。

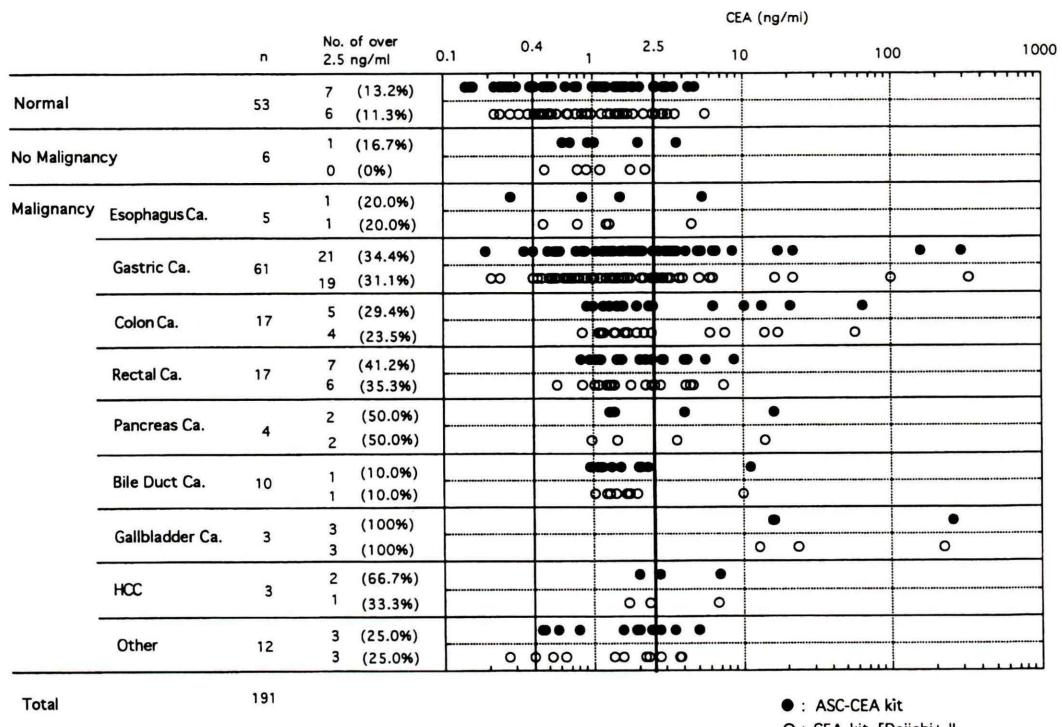


Fig. 5 Distribution of CEA levels in normal subjects and patients with various diseases.

3. 最小檢出感度

プレシジョンプロフィールから求めたACS-CEAキットの実効最小検出感度は0.4 ng/mlであった(Fig.2)。同様にして求めたCEAキット「第一」IIの最小検出感度は0.5 ng/mlであった。

4. 相 閣

Fig. 3 は健常人と患者術前検体の計 191 例のうち ACS-CEA キットの測定範囲とする 0.4~100 ng/ml (最小検出感度~希釈なしで測定可の範囲) に測定値の存在する 164 例 (191 例から 0.4 ng/ml 未満 24 例, 100 ng/ml を超えるもの 3 例を除いた) について, CEA キット「第一」II との相関を求めたものであるが, $R=0.984$, $y=1.07x+0.09$ ($p<0.05$) という高い相関が得られた. Fig. 4 は 164 例のうち測定値の 88% 以上が集まっている 5 ng/ml 以下の検体 144 例について相関を求めたものである.

5 臨床的檢討

1) 測定値の分布とカットオフ値

診断別の測定値の分布を Fig. 5 に示す。CEA の一般的なカットオフ値 2.5 ng/ml を用いるとき、悪性疾患の患者 132 例のうち、ACS-CEA キットで 45 例 (34.1%)、CEA キット「第一」II で 40 例 (30.3%) が陽性であった。また、健常人 53 例のうち ACS-CEA キットで 7 例 (13.2%)、CEA キット「第一」II で 6 例 (11.3%) がカットオフ値を超えるものであった。

2) 術前・術後の変化

同一患者 82 例の手術前と手術後 1~2 か月の検体を測定し比較した。ACS-CEA キットでは、82 例のうち 14 例が上昇、他のものは下降していた。カットオフ値以下の 49 例では 9 例を除く全例が下降していた。また、CEA キット「第一」II でも同様の検討をしたが、82 例のうち 15 例が上昇

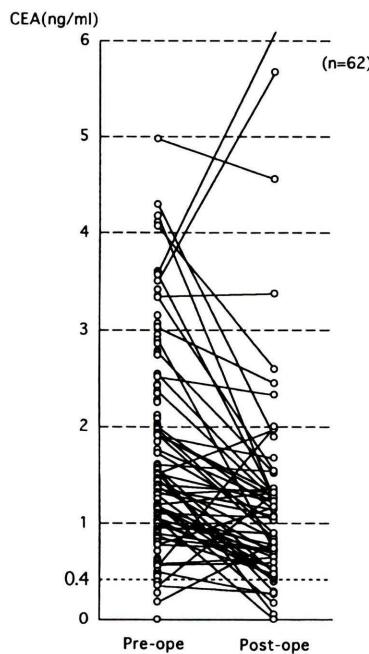


Fig. 6 Comparison of CEA values below 5 ng/ml (pre-ope) of patients with malignant diseases between pre-operation and post-operation with ACS180.

し、他のものは下降していた。カットオフ値 2.5 ng/ml 以下の 49 例では 11 例を除く全例が下降した。ACS-CEA キットで下降しなかった 9 例は CEA キット「第一」II で下降しなかった 11 例の中に全例含まれていた。Fig. 6 は ACS-CEA キットによる手術前、手術後の測定で、術前 6 ng/ml 以下の 62 例を示したものである。

IV. 考 察

日常の検査において CEA は AFP や CA19-9 などの腫瘍マーカーに比べて測定レンジのかなり低値側に検体が集中するという印象がある。当院の悪性疾患とされている患者検体は実際にはどのような測定値の分布を示すか、また、カットオフ値以下の測定値は信頼できるのか、一度検討したいと思ったことが今回の実験の発端であった。当院では CEA の測定には今回使用したものとは異なるキット、すなわち、CEA・リアビーズ II(ダイ

ナボット社)を用いて行っているが、その際測定レンジは 1~500 ng/ml でカットオフ値は 2.5 ng/ml である。二重測定の C.V. をよくするために、計数時にビーズを新たな試験管に移しかえて標識抗体の吸着をおさえる方法をとっているものの、標準曲線の当検査室での cpm は、ランク (0 ng/ml) で約 100 cpm、最小濃度 (1 ng/ml) で 250 cpm 前後、カットオフ値に近い 2 ng/ml で約 400~500 cpm と、その差は十分に大きいとはいえない。そこで、他の方法で測定感度に満足のいくものは存在しないものかと、イムノアッセイではあるがアクリジニウム・エステルを標識体とした ICMA の基礎的検討ならびに患者検体の測定を行った。また、ラジオイムノアッセイと比較するために、同様の検討を CEA キット「第一」II を使用して行った。

ACS-CEA キットはカットオフ値 2.5 ng/ml や CEA・リアビーズ II あるいは CEA キット「第一」II の標準曲線の最小濃度 1 ng/ml のみならず、0.4 ng/ml まで信頼のおける測定ができることがわかった。また、CEA キット「第一」II でも、最小検出感度 0.5 ng/ml という満足できる結果を得た。図には示さなかったが CEA・リアビーズ II と今回使用した CEA キット「第一」II の各々 5 回の標準曲線を各濃度の cpm 値を試験管添加トレーサの cpm で割り百分率に換算して比較してみたところ、両者の標準曲線そのものはほぼ一致するものであった。当検査室において従来使用してきた CEA・リアビーズ II でも、最小検出感度を的確に検討する機会を得なかつたことは残念であった。

悪性疾患 132 例の検体のうち ACS-CEA キットで陽性であったものは 34.1%、CEA キット「第一」II では 30.3% と他の報告^{3~5)}より低めであった。しかし、すべての報告が病期による分類をされているわけではなく、また、治療の有無も分からぬ。病期により陽性率は異なるので^{6,7)} 再発例の検体の少ない今回の検査での陽性率 30 数 % は、日頃、高 CEA 値を示す検体が少ないと感じてきたことをうらづける結果となった。測定方法

の信頼性を検討した上での今回の測定結果は、当院の院内検査にあたっては CEA 測定値がカットオフ値を超えるような患者は従来の報告より稀であるのが現状であるという結果を得た。

ACS-CEA キットは CEA キット「第一」II と測定値に高い相関を示した。CEA は CEA 関連抗原の存在により、用いる測定系によりその結果が異なるという問題がある⁶⁾。CEA キット「第一」II は、NFCA 共通部分に対する抗体、NFA-1 共通部分に対する抗体、さらに CEA 特異部分に対する抗体を用いて開発されたものだが⁷⁾、ACS-CEA キットに使用されている抗体も前者の CEA 特異部分に対する抗体と似通ったものであるといわれている⁶⁾。今回の測定結果がよく相関するのは、これら二つの測定方法が互いに類似抗体を使用しているためであると思われる。また、カットオフ値 2.5 ng/ml を下回るような悪性疾患の患者検体もほとんどが手術後は手術前に比べて下降したが、二つの測定法でそれらの傾向はほとんど同じであった。最小検出感度を考慮して、これら CEA 値の変化は検出可能な範囲のものであるため、手術による何らかの影響が数値として測定できたと考えることができた。

最近、普及してきている non-RIA 法の全自動の機械もメーカー側の基礎的データがその有用性をうらづけてはいるが、どうしても従来のラジオイムノアッセイとの比較は重要である。今回の ACS180 による CEA 測定では、良好な感度と再現性を示し、その測定結果がラジオイムノアッセイによる結果とよく相関した。また、その操作手

順ならびに短い測定時間を考え合せれば、非常に有用なものであることがわかった。

謝辞：ケミルミアナライザー ACS180 での測定にご尽力いただいたチバ・コーニング・ダイアグノスティックス社学術部ならびに CEA キット「第一」II キットの提供をいただいた第一ラジオアイソトープ研究所の方々に深く感謝します。

文 献

- 1) 鈴木輝雄、村井光幸、佐藤秀明、須賀俊博、村島義男：消化器疾患における CEA (RIA Bead) 測定の臨床的検討。医学と薬学 **11** (5): 1359-1365, 1984
- 2) 横口義典：アクリジニウム・エステル系。臨床検査 **38** (2): 204-208, 1994
- 3) 石田 充、重田恵子、飯塚満治：モノクローナル抗体を用いた新しい血中 CEA 測定法 CEA キット「第一」II。医学と薬学 **17** (4): 945-955, 1987
- 4) 長田篤雄、大久保次男、菰田二一：CEA 特異的測定法の基礎および臨床的検討。医学と薬学 **17** (2): 393-400, 1987
- 5) 船越顯博、有田好之、上山昭子、一矢有一：新しいアッセイ系による CEA の臨床的検討。臨床と研究 **65** (4): 259 (1293)-265 (1299), 1988
- 6) 山田 孝、佐藤篤彦、里 博文、佐藤雅樹、川島正裕、秋山仁一郎、他：肺癌および良性呼吸器疾患における血清 CEA 値の検討——3 種類のキットを比較して——。医学と薬学 **29** (5): 1201-1211, 1993
- 7) 桑原正喜、有吉 寛、須知泰山：性格付けされたモノクローナル抗体を用いた CEA 測定系の基礎的、臨床的検討。ホルモンと臨床 **35** (11): 83 (1277)-89 (1283), 1987
- 8) 松岡勇治：CEA 検査の問題点。臨床免疫 **18** (8): 742-751, 1986

Summary

Immunochemiluminometric Assay (Automated Chemiluminescence System ACS: 180) for CEA

Yukiko MANAKA, Michiko WATANABE, Toru AKUTSU,
Akio KOMATANI and Koichi YAMAGUCHI

Department of Radiology, Yamagata University School of Medicine

We examined Automated Chemiluminescence System ACS: 180 for CEA assay, especially about confidence of the functional sensitivity. Serum CEA levels of normal subjects and patients were measured not only with ACS: 180 but also with immunoradiometric assay (CEA kit 「Daiichi」 II). Using ACS: 180 assay for CEA, intra-assay coefficients of variation (C.V.s) were 4.06% at 1.97 ng/ml, 1.62% at 17.3 ng/ml, and 2.28% at 81.3 ng/ml. Interassay C.V.s were 4.02% at 1.99 ng/ml, 1.21% at 16.5 ng/ml, and 3.44% at 79.4 ng/ml. The detection limit (functional sensitivity) of ACS: 180 assay for CEA was 0.4 ng/ml by the precision profile. The coefficient of correlation of 164 sera, which CEA values were among 0.4–100 ng/ml (working range of ACS: 180), between with ACS: 180 and

with CEA kit 「Daiichi」 II was $R = 0.942$, $y = 1.07x + 0.09$ ($p < 0.05$). Seven (13.2%) normal subjects ($n = 53$) and 45 (34.1%) patients with malignant diseases ($n = 132$) had higher serum CEA levels than the cut off value (2.5 ng/ml). The sera of 82 malignant patients who had both pre- and post-operation sample were determined. Sixty-five patients of them were decrease after operation. These results of ACS: 180 resembled to that of CEA kit 「Daiichi」 II. We conclude that ACS: 180 for CEA assay was precise enough to measure below the cut off value, and had good performance of its speed (short incubation) and convenience.

Key words: CEA, Tumor marker, ICMA, IRMA, Sensitivity.