

《原 著》

Carcinoembryonic Antigen (CEA, Gold) の Radioimmunoassay に関する研究

—CEA RIA Kit (DAINABOT) についての基礎的検討とその臨床応用—

川原田 信* 荒木 明夫* 谷内 昭* 和田 武雄*

I. はじめに

Gold ら¹⁾により発見された Carcinoembryonic Antigen (CEA) は、Thomson ら²⁾によりその Radioimmunoassay (RIA) が開発され、血中濃度の測定が可能になり、その結腸癌特異性が注目されたが、Thomson 法を用いた Moore ら³⁾の追試および Hansen ら⁴⁾による Z-gel 法、Egan ら⁵⁾の二抗体法等種々の RIA 法が工夫されるに伴い、CE A は結腸癌のみならずその他各種の癌や非腫瘍性疾患においてもその血中増量が検出されるようになり、その特異性について再吟味が必要となってきた。もちろん、このことには、RIA の方法の相違はもとより、用いる抗 CEA 血清の特異性と¹²⁵I 標識 CEA の性格による影響が関係あるものと考えられる。

このたび、北大第一生化学において開発され、DAINABOT 社において kit 化された sandwich 法による CEA RIA kit の配布を受け、使用する機会を得たので、2, 3 の基礎的検討を行い、各種疾患時における血中 CEA 値を測定した知見について報告する。

II. 測定対象および方法

1. 対象: 正常対照、癌および非腫瘍性疾患の 3 群に分けたが、正常対照は 20~50 才の若年令群 29 例、60~90 才の高年令群 29 例の計 58 例となり、両群とも理学的検査および血清の生化学的検査により全く異常を認めないものを選んだ。癌群は、胃癌 36 例、結腸癌 13 例、脾癌 4 例、食道癌 2 例、原発性肝癌 2 例、胆道癌 2 例、肺癌 22 例、膀胱癌 4 例の計 85 例である。また、非腫瘍性疾患は急性肝炎 11 例、慢性肝炎 12 例、肝硬変 10 例、結腸および胃ポリポーラス 各々 2 例を含む計 37 例であり、今回の対象は総計 180 例である。

2. 測定方法: 「CEA・リアキット使用説明書」に従った。特に規定されていない使用器具類および反応条件のうち、今回用いたものについて述べると、計測用および熱処理用試験管はシオノギチューブを使用、シェーカーは、TAIYO Laboratory Mini Shake II を high level (100 往復/分) で用いた。scintillation counter は LKB 社製 Wallac 80,000 Gamma Sample Counter で 2 分間計測した。検体は、すべて duplicate で測定し、その平均値を求めた。また、測定時期はすべての kit につき assay date から 1 週間以内とした。

3. NCA, NCA-2 の単離法: CEA と交叉反応性を示すことが知られている類縁抗原 NCA (von Kleist)⁶⁾、および NCA-2 (Burstin, et al)⁷⁾について、

*札幌医大第一内科

受付: 51 年 4 月 23 日

別刷請求先: 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目 (〒060)

札幌医大第一内科

川原田 信

本kitにおけるそれらの交叉反応活性をみる目的で、原法^{6,7)}に従いNCAは正常肺組織より、また、NCA-2は胎便(NCA-2(#1)と仮称)および胃癌組織(NCA-2(#2))より単離した。これらの類縁抗原は既報⁸⁾のようにSDS-polyacrylamide電気泳動により单一bandを示し、抗原的にも单一であり、分子量はNCA42,000、NCA-2は110,000である。

III. 成績

1. 基礎的検討

1) 標準曲線

Fig.1に示すように使用した6kitすべてにおいて1~20 ng/mlで直線を示し、20~100 ng/mlでゆるやかな曲線を示し、1~100 ng/mlの範囲で十分測定可能である。なお、標準曲線の妥当性はkitに添付のrecovery用血清(CEA 3~4 ng/ml標示)により確かめたが、平均 3.7 ± 0.4 ng/mlと良好なrecoveryを示した。

2) NCAおよびNCA-2の交叉反応活性

NCAおよびNCA-2(#1)は1~100 ng/mlまでの間で、Fig.1に示すごとく交叉反応性は全くなく、実測にほとんど影響を与えないものと考えられた。しかし、NCA-2(#2)は、すでに5 ng/mlから影響が出始め、反応曲線がCEAの標準曲線とほぼ平行して上昇し、約 4×10^3 counts/2 minでplateauに達し、交叉反応性を認めた。これらの抗原の交叉反応性を1,000 countsを示す抗原

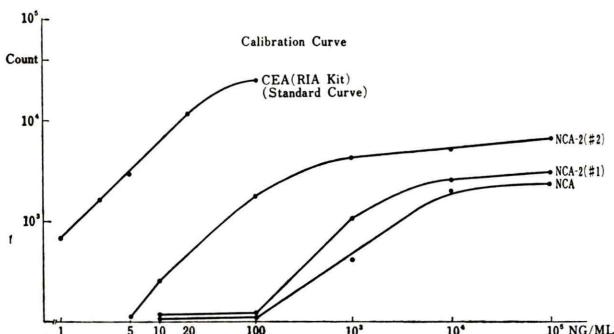


Fig. 1 Antigenic cross reactivity between CEA and the related antigens (NCA and NCA-2)

量としてCEAと比較すると、CEA=1.5 ng/ml、NCA-2(#2)=46 ng/ml、NCA-2(#1)=900 ng/ml、NCA=3,000 ng/mlであり、これらの比はCEA:NCA-2(#2):NCA-2(#1):NCA=1:30:600:2,000となり、NCA-2(#2)の交叉反応性はNCA-2(#1)およびNCAに比較してそれぞれ20倍および60倍強いことが示された。

3) Z-gel法(Roche)との相関

胃癌7例、結腸癌2例、肺癌3例、子宮癌1例の計14例につき、本kitとZ-gel法の両法でCEAを測定した。その結果、有意の相関($r=0.78, p < 0.01$)を認め、回帰直線を求めるとき $y=0.39x+0.91$ であり、本kitによる測定値はZ-gel法に比較して、低値を示した。

2. 臨床的知見

今回の測定成績を一括してTable 1に示した。

1) 正常対照血清のCEA値

20~50才の若年令群では29例全例が2.5 ng/ml未満を示した。60~90才の高年令群では29例中19例(66%)が2.5 ng/ml未満、残る10例のうち8例(27%)は2.5以上5.0 ng/ml未満、2例(7%)は5.0以上10 ng/ml未満を示した。このことより若年令群では2.5 ng/ml未満を正常値としてよいが、高年令群の場合には正常上界を約5.0 ng/mlにとるのが良いと思われる。ただし、今回は2.5 ng/ml以上を陽性として集計処理した。

2) 各種癌における血清CEA値

癌の陽性例は胃癌36例中18例(18/36)、結腸癌9/13、肺癌3/4、食道癌1/2、胆道癌2/2、肺癌16/22、膀胱癌1/4、であり原発性肝癌2例は陰性であった。

CEAが最高値を示したのは広汎な転移を伴った結腸癌の1例で27.0 ng/mlを示した。またCEA陰性の結腸癌4例中3例は根治手術後8週をへた症例である。

胃癌については、早期癌4例は全例が陰性であった。陽性18例は進行癌であった。また肺癌においても比較的高値をとる例を認めた。

CEA値が5 ng/ml以上を示す例は癌全体

Table 1 Serum CEA levels in patients with various diseases and normal subjects

	No.	0-2.5	2.5-5	5-10	10-20	20≤	2.5≤
Control	20-50 yr.	29	29 (100)%	0	0	0	0 %
	60-90 yr.	29	19 (66)	8	2	0	10 (34)
Gastric Ca.		36	18 (50)	10	5	2	18 (50)
Colon Ca.		13	4	4	2	2	9 (70)
Pancreas Ca.		4	1	1	2	0	3
Esophagus Ca.		2	1	1	0	0	1
Extrahepatic							
bile duct Ca.		2	0	0	2	0	2
Primary Hepatoma		2	2	0	0	0	0
Urinary bladder Ca		4	3	1	0	0	1
Lung Ca.		22	6 (27)	7	5	4	16 (72)
Acute hepatitis		11	10 (91)	1	0	0	1
Chronic hepatitis		12	10 (83)	2	0	0	2
Liver cirrhosis		10	7 (70)	2	1	0	3
Colon polyposis		2	1	1	0	0	1
Gastric polyposis		2	1	1	0	0	1

で 25/85 (31%) であり、うち、胃癌 8 例、結腸癌 5 例、膵癌 2 例、胆道癌 2 例および肺癌 9 例であった。

CEA 値が 10 ng/ml 以上を示した胃癌 3 例、結腸癌 3 例、肺癌 4 例中 2 例は肝および原発巣周囲への転移および浸潤の著しい例であった。

3) 非腫瘍性疾患における血清 CEA 値

Table 1 のように急性肝炎 1/11、慢性肝炎 2/12、肝硬変 3/10、結腸および胃ポリポーシス それぞれ 2 例中 1 例が陽性であった。

IV. 考 察

まず本 kit の基礎的検討の成績より考察する。標準曲線は本 kit に添付の標準 CEA から作製すると感度は 1 ng/ml であるが 1~20 ng/ml で直線性であり、さらに感度をあげることが可能のようである。

本 kit の CEA 特異性を検討するために、NCA、NCA-2 による交叉反応性をみたが、NCA, NCA-2 (#1) は本 kit の標準 CEA に比較してそれぞれ 1/2000, 1/600、と交叉反応性が低く、CEA の実測に際してはこれらの影響はほとんど無視できよう。一方、NCA-2 (#2) は CEA に比較し 1/30 の交叉活性を有するため、本 kit で CEA が 5 ng/ml 以

上を示す場合にはその影響を考慮に入れる必要がある。このように origin の異なる NCA-2 が本 kit の抗 CEA 血清に対し異なる交叉反応性を示したことは、NCA-2 が Ouchterlony 法のレベルでは互いに、同一の沈降線を形成するにもかかわらず、RIA のレベルではその抗原活性にかなりの不均一性があるものと推測された。したがって、本 kit はこのような類縁抗原間の比較検討にも応用することができよう。

本 kit とは方法が異なる Roche 社製 RIA kit について比較すると、両者による測定値間には相関を認めるが本 kit では一般に低値を示した。これには反応系および諸条件の相違によるものであろう。

次に臨床的応用成績について考察する。今回高年令群では若年対照に比較して CEA がやや高値を示した点は、正常域の設定にさいして考慮する必要があろう。同様の成績は、教室における二抗体法による測定においても示され、すでに報告⁹⁾したところに一致する。一応今回は 2.5 ng/ml を正常上界として集計した。

癌群では 2.5 ng/ml 以上を呈したのは 85 例中 50 例 (59 %) であるが胃癌では 36 例中 18 例 (50 %)、結腸癌では 13 例中 9 例 (70 %) が陽性であ

った。今回の対象には早期胃癌4例を含んでおり、これはすべて陰性であった。これは Lo Gerfo¹⁰, Kleinman¹¹ らの報告に一致する。また結腸癌で陰性例3例が根治手術後のものであった。Thomson², Dhar¹² および Laurence¹³ も根治手術後 CEA 値が低下することを認めており、monitor としての意義を認めている。

今回の成績においては胃および結腸癌で陽性率が比較的高かったが、陽性例は、肺癌、食道癌、胆道癌、膀胱癌にもみられ、また肺癌では陽性率が比較的高いことが注目された。

また、5 ng/ml 以上を呈した例をみると、癌では85例中26例であり、非腫瘍性疾患では37例中1例のみであり、一応このレベル以上を呈した場合には診断上癌の可能性が高いものと考えられた。さらに10 ng/ml 以上を呈する場合には肝転移等、広汎な癌の進展を有する可能性が高く、診断的意義を認める。

以上の成績より、本 kit による CEA 測定は臨床的に癌の診断、予後追跡上有用であると考えられる。

V. まとめ

1. 本 kit の標準曲線は1~100 ng/ml で測定可能である。

2. 本 kit に対する NCA の交叉反応性はほとんど無視できるものと考えられる。しかし、NCA-2 の種類によっては、比較的強い交叉反応性を示すことがある。

3. 本 kit と Z-gel 法 (Roche) の測定値は相關するが、前者は後者に比較し一般に低値である。

4. 正常域上界は正常成人では2.5 ng/ml と考えて良いが、60才以上の高令者では5 ng/ml と考えたい。

5. CEA 陽性例は結腸癌のみならず胃癌、肺癌、食道癌、胆道癌、肺癌および膀胱癌にも認められ、癌全体の陽性率は85例中50例(59%) であった。

6. 胃癌症例の約50% が陽性であったが、早期癌は全例陰性であり、早期診断上の意義は乏しいようである。

7. 結腸癌例の70% が陽性であり、根治手術後、CEA 値は陰性を示したが、手術による患者のモニターリングに役立つことを示唆する。

8. 今回の症例数は少ないが、一応5 ng/ml 以上を示すときは、癌の可能性が強い。また10 ng/ml 以上の場合は、癌の肝転移等、広汎な進展、浸潤が予想される。

文 献

- Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumor specific antigen in human colonic acrinomata by immunological and absorption technique. *J exp Med* **121**: 439-459, 1965
- Thomson DMP, Krupey J, Freedman SO, et al: The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc Nat Acad Sci* **64**: 161-167, 1969
- Moore TL, Kupchik HZ, Marcon N, et al: Carcinoembryonic antigen assay in cancer of the colon and pancreas and other digestive tract disorders. *Am J Dig Dis* **16**: 1-7, 1971
- Lo Gerfo P, Krupey J, Hansen HJ: Demonstration of an antigen common to several varieties of neoplasia. *New Engl J Med* **285**: 138-141, 1971
- Egan ML, Lautenschleger JT, Coligan JE, et al: Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen. *Immunochemistry* **9**: 289-299, 1972
- Von Kleist S, Chavanel G, Burtin P: Identification of an antigen from normal human tissue that crossreacts with the carcinoembryonic antigen. *Proc Nat Acad Sci Wash* **69**: 2492-2494, 1972
- Burtin P, Chavanel G, Hirsch-Marie H: Characterization of a second antigen that cross reacts with CEA. *J Immunol* **111**: 1926-1928, 1973
- 荒木明夫ほか：日本消化器病学会誌投稿中
- 和田武雄、他：癌胎兒抗原(CEA) の Radioimmunoassay とその増量をめぐる免疫学的背景、日本癌学会総会記事。第33回総会(仙台) p. 133, 1974
- Lo Gerfo P, Lo Gerfo F, Herter F, et al: Tumor-associated antigen in patients with carcinoma of the colon. *Amer J Surg* **123**: 127-131, 1972
- Kleinman MS, Turner MD: Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in serum of normal subjects and patients with colonic carcinoma. *Gut* **13**: 390-394, 1974
- Dhar P: CEA in colonic cancer. *JAMA* **221**: 31-35, 1972
- Laurence DJR, Neville AM: Fetal antigens and their role in the diagnosis and clinical management of human neoplasms: A review. *26*: 335-355, 1972

Summary

Studies on the Radioimmunoassay of Carcinoembryonic Antigen (CEA, Gold)

— Some fundamental studies on CEA RIA kit (DAINABOT) and its clinical application —

Makoto KAWAHARADA, Akio ARAKI

Akira YAUCHI and Takeo WADA

The First Department of Internal Medicine Sapporo Medical University

Studies on the radioimmunoassay (RIA) of carcinoembryonic antigen (CEA, Gold) using CEA RIA kit (DAINABOT) were carried out and the following results were obtained.

1. The specificity of this RIA system was examined from the view point of crossreactivity to nonspecific crossreacting antigens, NCA and NCA-2. The effect of NCA on this RIA was negligible. Some lots of isolated NCA 2 showed a slight cross-reactivity on the system.
2. There was a significant correlation between CEA values determined by this method and by the Roche's kit.
3. It was considered that normal upper limits

of serum CEA concentration were 2.5 ng/ml for young age group and 5.0 ng/ml for aged group of control subjects, respectively.

4. Increased levels of serum CEA were observed in 50 of 80 overall cancer patients tested, in 9 of 13 (70%) cases with colon carcinoma and in 18 of 36 (50%) cases with gastric carcinoma. The patients after successful operation showed normal values.

From the results obtained, determinations of cancer CEA levels using the CEA RIA kit were valuable for monitoring clinical conditions of cancer patients.