

## 《ノート》

## PAP「栄研」の基礎的および臨床的検討

## Fundamental and Clinical Study of PAP 'Eiken'

樋口 義典\* 木田 利之\*

Yoshisuke HIGUCHI and Toshiyuki KIDA

Fukushima Medical College, Department of Radiology

## I. はじめに

酸性ホスファターゼは、赤血球・肝・脾・腎・骨髓など広く分布しているが、特に前立腺組織とその分泌中に多量に含まれる。L(+) 酒石酸が血清中の本酵素のうち前立腺分画を抑制することを利用して、総酸性ホスファターゼと前立腺分画とを分けて測定する方法 (Fishman-Lerner 法)<sup>1)</sup>が、前立腺癌の診断に広く利用されているが、特異性については問題がある。また、腫瘍マーカーとして有用な CEA は、前立腺癌でも上昇する<sup>2)</sup>が、false negative も多く確実な方法とは言えない。

近年、radioimmunoassay 法による前立腺酸ホスファターゼ (Prostatic acid phosphatase ; PAP) 測定法<sup>3-5)</sup>が開発されたが、今回、われわれは栄研イムノケミカル株式会社の開発した RIA キット (PAP「栄研」)<sup>6)</sup>を使用する機会を得て、その基礎的および臨床的検討を行ったので報告する。

## II. PAP の測定

PAP の測定には、「PAP」栄研を用いた。栄研チューブに 0.05 M-Phosphate buffer (pH 7.2) にて調整した各濃度の標準溶液 (0, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0,

20.0, 40.0, 80.0  $\mu\text{g/ml}$ ) または被検血清 100  $\mu\text{l}$  を入れ、これに PAP 抗血清を加え充分攪拌し、室温で3時間インキュベートする (3時間のインキュベーションを約20時間にすると、高感度測定法になる)。<sup>125</sup>I-標識 PAP 溶液 200  $\mu\text{l}$  を加え、攪拌後、室温で約20時間インキュベートする。Bound と Free の分離は、第2抗体 200  $\mu\text{l}$  を加え、攪拌後、室温にて30分間放置する。その後、3000 rpm で30分間遠心分離し、上清を吸引除去し、沈殿を測定する (Fig. 1)。

検体は、採血後速やかに血清分離し、測定まで $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。

なお、現在では、標準溶液の各濃度は 500  $\mu\text{l}$  ずつ小分けして、キットに添付されている。

## III. 基礎的検討

## 1) standard curve

通常法と高感度測定法との違い、また、インキュベーション温度を通常法により、 $4^{\circ}\text{C}$ 、室温、 $37^{\circ}\text{C}$ に変えたときの影響を検討した。

## 2) precision

between-assay error は、値の異なる2種類の検体を7回測定し、また、within-assay error は、値の異なる3種類の検体を10回測定し、平均値と標準偏差値を計算し、その変動係数 (C.V., %) を検討した。

**Key words:** radioimmunoassay, prostatic acid phosphatase, prostatic hypertrophy, prostatic cancer

\* 福島県立医科大学附属病院放射線科

受付: 56年1月28日

最終稿受付: 56年4月10日

別刷請求先: 福島市杉妻町4-45 (☎960)

福島県立医科大学附属病院放射線科

樋口 義典

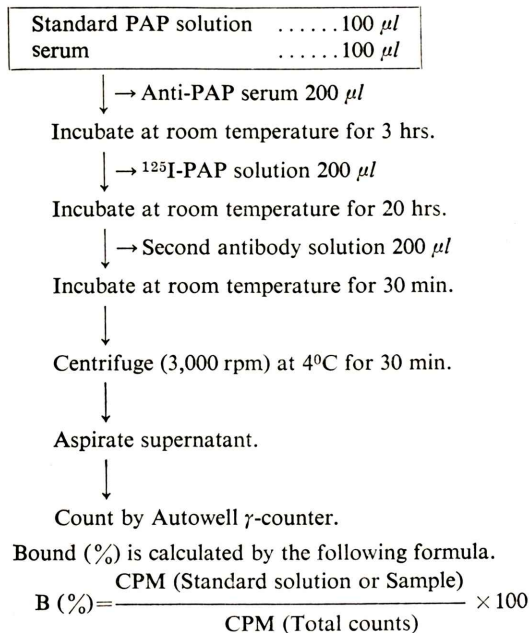


Fig. 1 Assay procedure.

### 3) accuracy

(1) recovery test: 2種類の異なる検体に種々の濃度の PAP 標準溶液を加え、その濃度を測定し、回収率を検討した。

(2) dilution test: PAP 高値の3種類の検体を、キット添付の phosphate buffer にて種々の濃度に希釈し検討した。

## IV. 臨床的検討

### 1) PAP 測定対象

25~53歳(平均 $\pm$ S.D.=36.55 $\pm$ 8.41)の正常者20例, 前立腺肥大症29例(69.45 $\pm$ 8.75歳), 前立腺癌28例(70.37 $\pm$ 10.49歳), その他の疾患44例(57.42 $\pm$ 16.04歳)の計121例の血清を用いた。

### 2) Ac-P (Acid phosphatase: 酵素活性法) 測定

PAP 測定者の一部(前立腺肥大症15例, 前立腺癌9例, その他の疾患31例)は総酸性ホスファターゼ(total Ac-P)も測定し, PAP との相関をみた。

### 3) CEA (Carcino embryonic antigen) 測定

PAP 測定者の一部(前立腺肥大症18例, 前立

腺癌12例, その他の疾患12例)は, CEA も測定し, PAP との相関をみた。

### 4) 治療経過と PAP 値

PAP 高値を示した3例については, 治療に伴う PAP 値変動の経過を観察した。

## V. 結果

### 1) 基礎的検討の成績

#### (1) Standard curve

Fig. 2 は, 通常法および高感度測定法による PAP の代表的な標準曲線を示す。縦軸は B/T $\times$ 100 (%)を, 横軸は PAP 濃度を示す。PAP 0 ng/ml の Bo/T と 1.25 ng/ml における B/T とは統計学的に有意に異なるので, 1.25 ng/ml を最小検出感度とした。

通常法による 4°C 下, 室温下, 37°C 下における各標準曲線を示したのが Fig. 3 である。室温下における標準曲線がもっとも急峻な勾配を示したので, インキュベーションの温度は規定の室温下が適していると考えられた。

#### (2) precision

between-assay error の変動係数は, 低い濃度では14.7%, 高い濃度では6.5%であり, within-assay error の変動係数は, 低い濃度では2.3%, 中濃度では2.7%, 高い濃度では2.4%であった (Table 1, 2).

#### 3) accuracy

(1) recovery test: 回収率は, 低濃度では平均91.2%, 高濃度では平均103.1%と良好な成績が得られた (Table 3).

(2) dilution test: 希釈試験での結果は, 変動係数でそれぞれ, 7.9, 6.2, 10.4%であった (Fig. 4).

### 2) 臨床成績

#### (1) 正常血中 PAP 値

正常者20例の血中 PAP 値は, 平均 $\pm$ S.D.=1.26 $\pm$ 0.80 ng/ml を示し, 2.75 ng/ml 以下の範囲に分布した。このことから正常範囲は 3.0 ng/ml 以下とした (Fig. 5).

#### (2) 各種疾患者の血中 PAP 値

前立腺肥大症29例の PAP 値は 1.72 $\pm$ 1.25 ng/ml であり, 4例を除きすべて 3.0 ng/ml 以下であっ

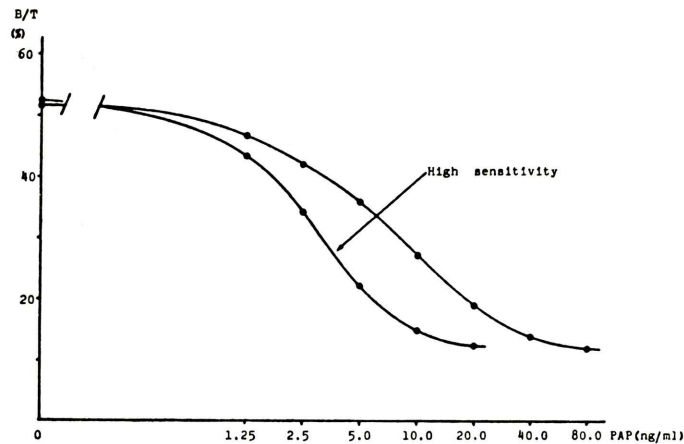


Fig. 2 Standard curves.

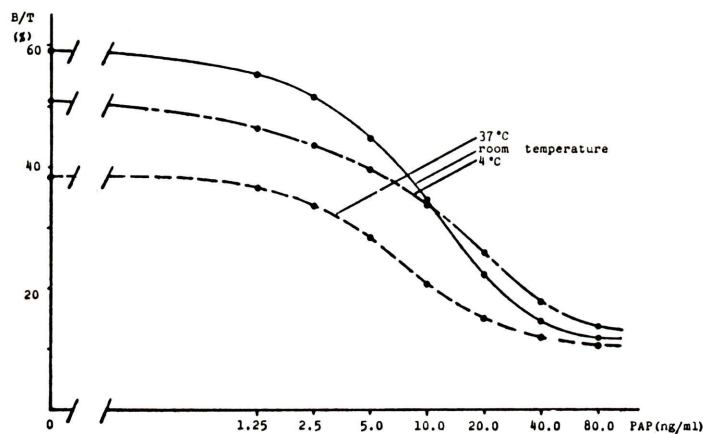


Fig. 3 Effect of incubation temperature.

Table 1 Between—assay error

	A	B
PAP (ng/ml)	16.7	49
	26.0	50
	17.8	50
	22.0	48
	21.4	42
	20.6	52
	20.1	48
Mean value	20.65	48.4
S.D.	3.03	3.15
C.V.	14.7	6.5

た。

前立腺癌28例の PAP 値は  $52.13 \pm 187.15$  (ng/ml) であり, 0 から 992 ng/ml の範囲に分布した. このうち 3.0 ng/ml 以下であったのは17例 (61%) であり, そのほとんどは治療期間が長く良くコントロールされている例か, stage C 以下の例であった. 一方, 治療群でも, 治療を開始したばかりの5例では 3.0 ng/ml 以上を示した. 未治療群 (9例) では, 平均  $130.20 \pm 324.11$  ng/ml であった.

その他の疾患45例の PAP 値は  $1.26 \pm 1.64$  ng/ml であり, 3.0 ng/ml 以上であったのは2例であった.

Table 2 Within-assay error

	A	B	C
Counts (cpm)	10068	4053	2069
	9737	4349	2068
	10020	4167	2157
	9723	4388	2001
	9777	4043	1998
	9757	4176	2081
	9583	4229	2103
	9586	4138	2006
	9344	4285	2030
	10065	4295	2014
Mean value	9766	4211.4	2052.7
S.D.	221.8	113.1	49.6
C.V.	2.3	2.7	2.4

Table 3 Recovery test

Serum value (ng)	Added PAP (ng)	Assay result (ng)	Calculated value (ng)	Recovery (%)
A 1.23	2.5	3.3	3.73	82.8
	5.0	6.2	6.23	99.4
	10.0	10.7	11.23	94.7
	20.0	18.8	21.23	87.85
Mean				91.19
B 5.9	2.5	9.0	8.4	124
	5.0	11.0	10.9	102
	10.0	15.5	15.9	96
	20.0	24.0	25.9	90.5
Mean				103.13

### (3) Ac-P 値との相関

前立腺肥大症15例の Ac-P 値は  $2.89 \pm 1.17$  K.A-u (平均 $\pm$ S.D.) であり, PAP とは相関はなかつ

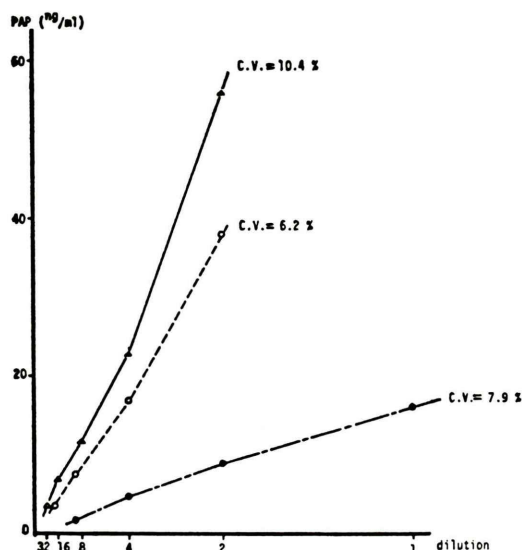


Fig. 4 Dilution test.

た ( $r = -0.118$ ). その他の疾患31例の Ac-P 値は,  $2.34 \pm 0.77$  K.A-u であり, PAP とは相関はなかつた ( $r = 0.292$ ) (Fig. 6). 前立腺癌9例の Ac-P 値は  $10.61 \pm 21.30$  K.A-u であり, PAP とは弱い相関が認められた ( $y = 12.62 + 1.53x$ ,  $r = 0.635$ ) (Fig. 7).

(4) CEA 値との相関: 前立腺肥大症18例の CEA 値は  $6.41 \pm 13.22$  ng/ml であり, PAP との相関はなかつた ( $r = -0.058$ ). その他の疾患12例の CEA 値は  $6.48 \pm 11.51$  ng/ml であり, PAP との相関はなかつた ( $r = -0.172$ ) (Fig. 8). 一方, 前立腺癌12例の CEA 値は,  $14.78 \pm 27.40$  ng/ml

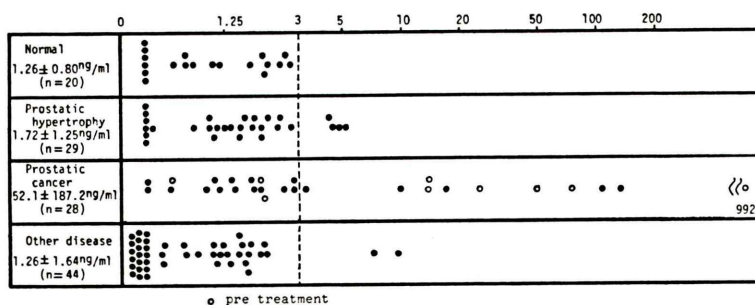


Fig. 5 Serum prostatic acid phosphatase levels.

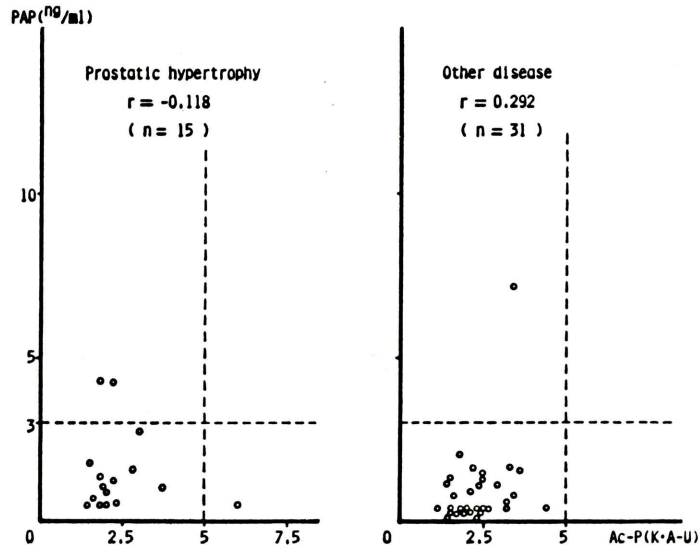


Fig. 6 Correlation between PAP and Ac-P.

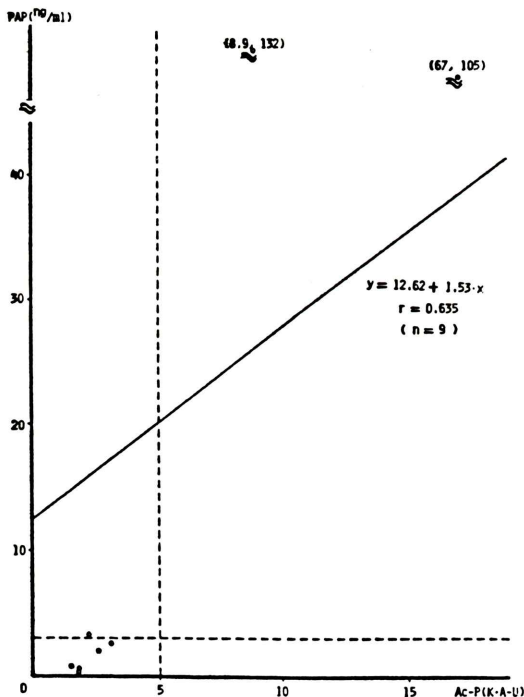


Fig. 7 Correlation between PAP and Ac-P of prostatic cancer.

であり、PAPとの相関が認められた ( $y=9.18+1.48x$ ,  $r=0.885$ ). また、PAP 値が陽性であったの

は 5/12 例であったのに対し、CEA 陽性 (10 ng/ml 以上) は 2/12 例であった (Fig. 9).

#### (5) 治療経過と PAP 値

PAP 値の高かった未治療の 3 例のうち 2 例は、治療 (除睾術と抗男性ホルモン) 開始と共に良好な経過を示し、正常値まで低下した。しかし、治療予後の良くない 1 例では著明な低下は認められなかった (Fig. 10).

## VI. 考 案

酸性ホスファターゼ活性は、前立腺癌特に骨転移患者の一指標として用いられてきたが、測定手技上問題があった。すなわち、室温放置により活性が低下するため、血清分離までの時間、保存条件、測定までの時間等の問題、それに加えて溶血血清は測定には不適であることなどである。

今回われわれの使用した PAP「栄研」の特徴としては、前立腺肥大症患者の前立腺組織から抽出した PAP を用いた測定系であること<sup>6)</sup>、測定手技が簡単で全操作が 2 日で終了すること (通常法)、B・F 分離は抗家兔 IgG ヤギ血清を用いた二抗体法であること、また、高感度測定法により、3.0 ng/ml 以下の検体をより正確に再現性よく測

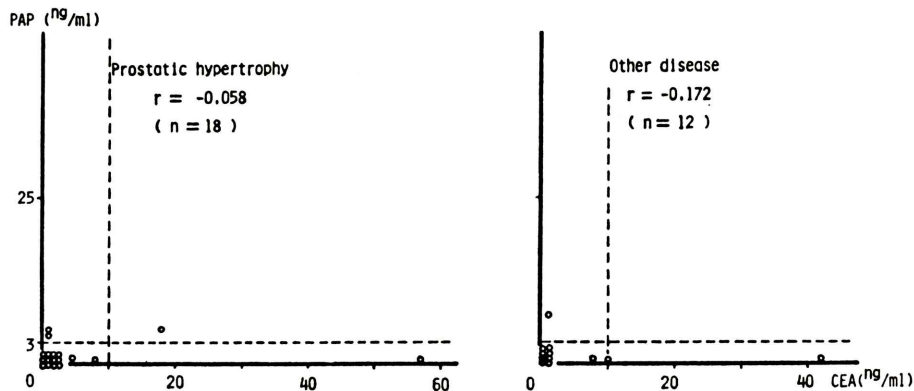


Fig. 8 Correlation between PAP and CEA.

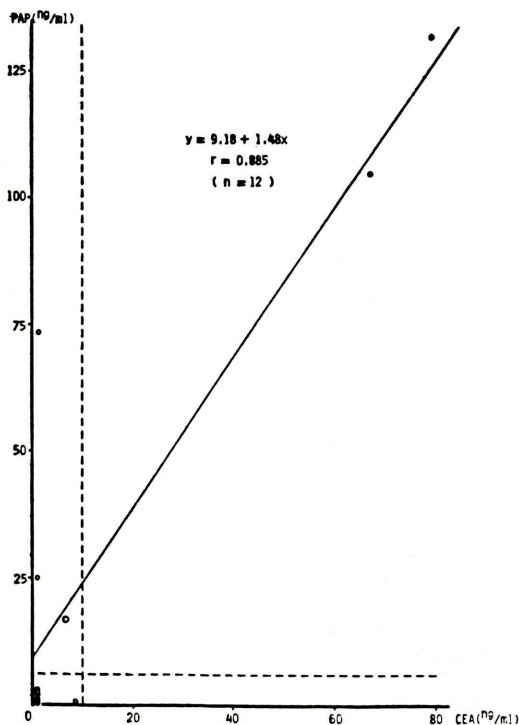


Fig. 9 Correlation between PAP and CEA of prostatic cancer.

定可能なこと<sup>7)</sup>, 酵素活性法で問題となっている分離・保存・溶血なども臨床検査上考慮しなくても済むこと<sup>8)</sup>が挙げられる。

Between-assay, within-assay error とも満足する結果であり, 回収率も 100% 前後の良好な成績で

あった。稀釈試験でもほぼ満足すべき成績が得られ, 高 PAP 血清では稀釈後測定を行えばよいことが認められた。

本キットで測定した血清 PAP 値は, 正常者で平均  $1.26 \pm 0.80$  ng/ml, 前立腺肥大症で  $1.72 \pm 1.25$  ng/ml, 前立腺癌で  $52.13 \pm 187.15$  ng/ml, その他の疾患で  $1.26 \pm 1.64$  ng/ml であった。これは諸家の報告<sup>9-11)</sup>とほぼ一致する。特に, 骨転移のある前立腺癌 3 例は高値を示したが, 除睾術後抗男性ホルモン療法に反応した 2 例では正常値まで低下した。しかし, 反応のなかった例では PAP の低下は認められなかった。また, 前立腺癌で PAP が 3.2 ng/ml であった例が, 約 11 か月後に再測定したところ 105 ng/ml と高値を示し, Bone scintigraphy 上でも骨転移を認めた経験がある。このように治療後のあるいは癌の再燃のモニターとしても用いることが可能であると考えられる。

高感度測定法についても更に症例数を増加せるとともに, 今回 3.0 ng/ml 以下とした正常値についても同様に検討したい。

以上, 本キットで測定した PAP 値が前立腺癌の状態をよく反映することを示しており, 臨床上有用な情報を提供することが示された。

## VII. 結 論

1) PAP「栄研」キットは感度, 精度, 回収率, 稀釈試験とも, ほぼ満足できる結果が得られた。

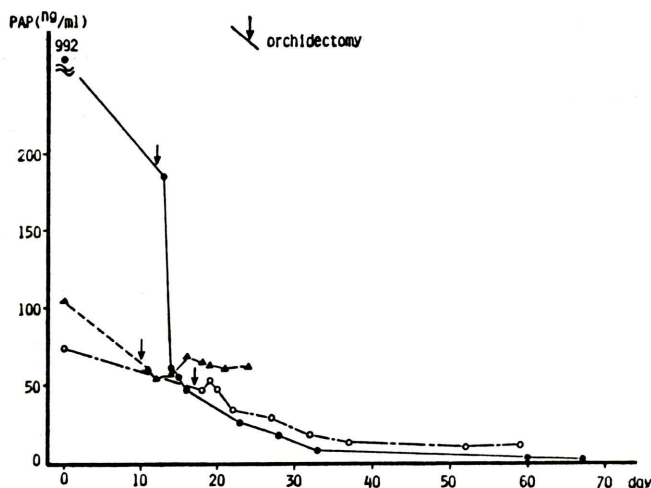


Fig. 10 Effect of surgical manipulation on serum radioimmunoassay levels of prostatic acid phosphatase.

- 2) 正常者はすべて 3.0 ng/ml 以下であった。
- 3) 前立腺肥大症では29例中 25 例が 3.0 ng/ml 以下であった。前立腺癌では28例中11例に 3.0ng/ml 以上が認められ、それ以下であったのは治療期間が長く良くコントロールされているか、stage C以下の例であった。
- 4) PAP 測定は、治療効果の判定に有用であった。
- 5) 以上のことから、本キットは前立腺癌の状態を把握するのに有用な情報を与えてくれる。

本論文の要旨は第20回日本核医学会総会において報告した。

PAP「栄研」キットを提供下さいました、栄研イムノケミカル研究所に深謝致します。

## 文 献

- 1) Fishman WH and Lerner F: A Method for Estimating Serum Acid Phosphatase of Prostatic Origin. *J Biol Chem* **200**: 89-97, 1953
- 2) 木戸 晃, 町田豊平, 三木 誠, 他: 泌尿器科領域の悪性腫瘍における CEA の検討. *日本泌尿器科学会雑誌*, **68**: 751-757, 1977
- 3) Vihko P, Sajanti E, Jänne, O, et al: Serum Prostate-Specific Acid Phosphatase: Development and Validation of a Specific Radioimmunoassay. *Clin Chem* **24**: 1915-1917, 1978
- 4) Foti A G, Herschman H and Cooper JF: A Solid-Phase Radioimmunoassay for Human Prostatic Acid Phosphatase. *Cancer research* **35**: 2446-2452, 1975
- 5) Belville WD, Cox HD, Mahan DE et al: Prostatic Acid Phosphatase by Radioimmunoassay Tumor Marker in Bone marrow. *J Urology* **121**: 442-446, 1979
- 6) 森ツ惇二, 中村雅行, 森 一泰, 他: ラジオイムノアッセイによるヒト前立腺酸性ホスファターゼの定量法の開発. *Radioisotopes* **29**: 175-180, 1980
- 7) 栄研イムノケミカル研究所: PAP「栄研」(パンフレット) 1980
- 8) 吉井正雄, 高坂唯子, 森田陸司, 他: 栄研 Prostatic Acid Phosphatase (PAP) RIA キットによる血中 PAP 値測定の基礎的検討. 第1回 PAP 研究会抄録集 (栄研 ICL), 27-30, 1980
- 9) 森ツ惇二, 森 一泰, 大沢劉三郎: 前立腺酸性ホスファターゼ (PAP) RIA キットによる臨床データ——PAP 研究会全国集計成績より. *核医学*, **17**(9): 1190, 1980
- 10) 木戸 晃, 三木 誠, 町田豊平, 他: 前立腺癌の Tumor marker としての PAP の測定. 第6回尿路悪性腫瘍研究会記録, 35-36, 1980
- 11) 濱見 学, 島谷 昇, 杉本正行, 他: RIA 法による前立腺性酸ホスファターゼの臨床的意義. 第6回尿路悪性腫瘍研究会記録, 40-41, 1980