

《原 著》

血中癌胎児性抗原(CEA)の新しい測定法の検討

— CEA キット「第一」の基礎的検討とその臨床応用 —

松岡 雄治* 黒木 政秀* 古賀 芳子* 王丸 明子**
宮内 貞一** 小野 庸**

要旨 今回、第一ラジオアイソトープ研究所で作られた新しい血中 CEA 測定キットにつき、基礎的事項を検討した。

- 1) 測定系は固相抗体 sandwich 法で、 $50 \mu\text{l}$ の血清を用い、抽出も遠心操作も必要としない簡単な直接法で、測定範囲は $1\sim300 \text{ ng/ml}$ である。
- 2) 精度、再現性、希釈試験、回収試験の結果は良好で、臨床検査法として十分使用に耐える。正常成人血清の平均値は $2.5 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$ 。
- 3) Roche 社、Dainabot 社および本法の 3 者による臨床例の測定値を比較したところ、Roche の値が最も高く、Dainabot はその $1/10$ 以下で本法の値は両者のほぼ中間 (Roche の $1/3$ 強) に位置し、両者のいずれともよく相関していた。
- 4) 上記 3 法により臨床経過を観察した例では、本法の値は Roche の値と平行した変化を示したが、Dainabot の値は低く変動が把握しにくい。以上の結果に基づいて現行 CEA 測定法の問題点を考察した。

I. 緒 言

1965年、Gold および Freedman^{1,2)} により見出された癌胎児性抗原 carcinoembryonic antigen (以下 CEA と略す) は、現在最も重視されている腫瘍マーカーの 1 つである。CEA そのものの癌特異性に関しては今なお論議の絶えないところで、当初 Gold らが主張したほど消化器癌特異的なものではなく、いろいろな臓器の腫瘍や正常組織にも見出される一種の癌関連抗原と考えられている。しかし、その臨床的な有用性についての評価はほぼ定着し、ことに外科手術後の経過観察や化学療法、放射線療法などの効果判定においてははなは

だ重要な指標たりうると評価されている。このことは、CEA 濃度の測定件数の急激な増加となって現われ、最近では悪性疾患ないしはその疑いのある患者の多くについて血中 CEA 濃度の測定が行われている。

CEA の血中濃度測定法については、これまで多くの方法が報告されている。主なものは、硫酸沈殿による Farr の方法³⁾、Z ゲル法⁴⁾、二抗体法^{5~7)} および固相抗体法⁸⁾ などであり、最近はさらに改良した方法もいくつか報告されている^{9~12)}。

われわれは、1973年、松岡ら¹³⁾ により正常成人糞便中に CEA 関連抗原として nomal fecal antigen (NFA) が発見されて以来、CEA の癌特異性やその抗原構造についての基礎的検討を続けてきたが^{14~17)}、このたび、プラスチックビーズを用いた固相抗体法により、新しい血中 CEA 測定法を開発した¹⁸⁾。この方法では、日常検査法としてははなはだ煩わしい抽出操作や遠心操作を一切必

* 福岡大学医学部第一生化学

** 同 放射線科

受付：57年3月16日

最終稿受付：57年6月18日

別刷請求先：福岡市城南区七隈 34 (番号 814-01)

福岡大学医学部第一生化学

松岡 雄治

要とせず、またごく微量の試料で CEA 値が測定可能である。この方法をもとにして、新しい血中 CEA 測定用キットが第一ラジオアイソトープ研究所により作られたが、本報では、この測定用キットに関する 2~3 の基本的事項を検討し、本キットにより得られた測定値と、現在、国際的に最も広く用いられている Hoffmann-La Roche 社の Z ゲル法による値、および現在わが国で最も広く用いられている Dainabot 社の抗体ディスク法による値とを比較検討した結果につき報告し、あわせて血中 CEA 測定法の問題点に言及したい。

II. 材料と方法

1. 検体

被検者血液を 0.5~1 ml 採血し、得られた血清は測定時まで -20°C に保存した。Z ゲル法と同一検体を測定する際は血漿を用いたが、得られた値は血清を用いた場合と差異を認めなかった。

2. 測定法

本法は、固相に吸着させた抗体によるいわゆる sandwich 法を用いたもので、その概略は次の通りである。

a) 固相一次抗体：硫酸40%飽和で分画したヤギ抗 CEA 血清を約 4,000 倍に希釈し、直径約 6 mm のポリスチレンビーズ (Precision Plastic Ball Co., Chicago, USA) を Catt らの方法¹⁹⁾ に準じて処理し、固相一次抗体を作製した。

b) ¹²⁵I 標識二次抗体：一次抗体の作製に用いた CEA 標品とは別の CEA 標品を二次抗体作製用免疫抗原として用いた。得られたヤギ抗 CEA 抗体を抗原(CEA)吸着剤を用いて特異的に精製したのち、クロラミン-T 法²⁰⁾ にてヨード化した。この ¹²⁵I-標識二次抗体には、多くの抗 CEA 抗体標品の中から特に CEA との親和力の強い標品を選択し、nonspecific cross-reacting antigen (NCA) 吸着剤カラムを通して十分に吸収したもの用いた¹⁸⁾。

c) 測定操作：測定は、本キット添付の説明書に従ったが、その概略は以下の通りである。

血清 50 μl を正確に測定用試験管(栄研チューブ

No. 1) に分注する。0.5% ウシ血清アルブミン (BSA) を含む 0.1 M 酢酸緩衝液 pH 6.0 を 200 μl 加えて希釈し、抗 CEA 抗体を coat したビーズ 1 個を入れ、室温にて回転しながら 4 時間反応させる。反応終了後、検体を吸引除去し、0.9% NaCl 溶液 1 ml にて 1 回洗浄したのち、200 μl の標識二次抗体溶液 (約 125 nCi の放射活性をもつ約 25 ng の抗体を含む) を加え、16~20 時間回転させながら反応させる。反応終了後、標識抗体溶液を吸引除去し、0.9% NaCl 溶液 1 ml にて 2 回洗浄したのちビーズの放射活性をガンマカウンターにて計測する。

d) 標準 CEA 標品および検量線の作製：標準 CEA 標品として、凍結乾燥しバイアルに封入した精製 CEA 1.0, 3.0, 10.0, 50.0 および 300.0 ng を各 1 ml の 0 ng 溶液 (1.2% ウシγ-グロブリン、0.5% BSA を含む 0.1 M 酢酸緩衝液 pH 6.0) にて溶かし、その 50 μl を正確に測定用試験管にとり、検体血清と同様に酢酸緩衝液 200 μl を加えて希釈した。以後、検体同様に測定操作を行い、放射活性を測定した。検量線は、得られた放射活性 (B) から 0 ng の放射活性 (Bo) を差し引いた net cpm を縦軸に、CEA 量 (ng/ml) を横軸に両対数グラフを用いてプロットした。

3. Reference CEA および NCA 標品

比較検討のため十分に精製した 2 つの CEA 標品および WHO Standard CEA 標品²¹⁾ を用いた。後者は、London の National Institute for Biological Standards and Control より分与されたものであり、Laurence ら²¹⁾ の記載から 1 アンプル中の 100 units の CEA が 11.1 μg に相当するものとして用いた。NCA との反応性を検討するために正常肺より精製した NCA 標品を用いた。CEA および NCA の精製法は前報^{14,16)} に準じた。

4. 他の CEA 測定法

測定値を比較検討するために Hoffmann-La Roche 社の Z ゲル法および Dainabot 社の抗体ディスク法を用いた。Z ゲル法は、ゲル濾過により過塩素酸を除去する改良性によったが、測定値が 20 ng/ml 以上を示した例では、抽出操作を行わな

い直接法により測定した。いずれの測定法もキットに添付された説明書に従い測定した。

III. 結 果

1. 検量曲線と、精製 CEA および NCA との反応性

標準 CEA を用いた検量線と WHO Standard CEA を含む reference CEA および NCA の反応性を Fig. 1 に示した。本法の測定範囲は 1 ng/ml から 300 ng/ml であるが、この範囲においては標準 CEA と WHO CEA とは同じ反応を示し、他の CEA 標品は、検量線の slope は変わらないが、CEA の重量あたりでみると反応性に明らかな差異が認められた。本法に用いた ^{125}I 標識二次抗体は、十分 NCA で吸収してあるので、NCA との反応性は無視し得る程度であった。

標準 CEA 標品の固相抗体との結合は 1 次反応の時間を 2 時間にしたときわずかに低下するが、3.5 時間から 6 時間の間ではほとんど差異は認められなかった(2 次反応はいずれも 20 時間)。2 次反応は 6 時間では標識抗体の結合の低下が認められるが、16 時間から 24 時間では全く差異ではなく、さらに 48 時間にするとわずかに反応の増強が認められた(1 次反応はいずれも 4 時間)。1 次および 2 次反応を通じての反応温度の影響を Fig. 2 に示した。4°C では明らかな反応の低下が見られるが、22°C および 37°C の間にはほとんど差異は認められなかった。本法では、反応条件を一定にするために、1 次反応 4 時間、2 次反応 16~20 時間、いずれも室温で測定を行った。

2. 本測定法の精度および再現性

a) 測定内および測定間変動：2 ng/ml 前後から 110 ng/ml 程度までのいろいろな CEA 濃度の 8 検体を各検体につき 10 回行った intra-assay variation は、平均値 1.7 ng/ml のごく低濃度の検体 No. 1 が変動係数(C.V.) 12.9% を示した以外すべて C.V. 値は 10% 以下であった(Table 1)。CEA 濃度が約 3, 5, 30 ng/ml の 3 つの検体について、1 週間から 2 週間の間隔をおいて 6 回繰り返し測定した際の inter-assay variation は、いずれの検体に

ついても C.V. 値は 10% 以下であった。

b) 回収試験および希釈試験：既知量の標準 CEA 標品をいろいろな血清に加え、回収率を検討した。Table 3 に見られるごとく、加えた CEA

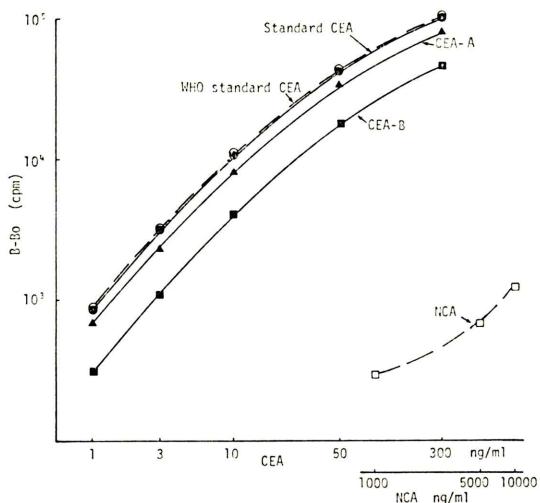


Fig. 1 Calibration curve for CEA estimation, and antigenic reactivity of other CEA preparations and a NCA preparation.

●—●, standard CEA; ○—○, WHO standard CEA; ▲—▲, reference CEA-A; ■—■, reference CEA-B; □—□, NCA.

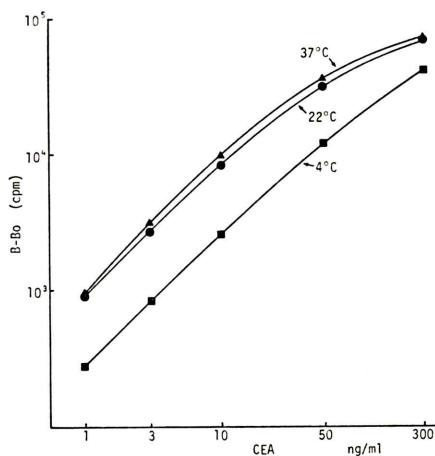


Fig. 2 Effect of incubation temperature on the reaction of standard CEA. 1st and 2nd incubations were performed at 37°C, ▲—▲, at 22°C, ●—●, or at 4°C, ■—■.

Table 1 Intra-assay Variation

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8
CEA (mg/ml serum)	1.7	5.4	3.9	4.3	30	74	92	115
	1.7	5.6	3.9	5.0	30	88	96	110
	1.8	5.4	3.9	4.5	35	80	90	105
	1.8	5.8	4.3	4.9	33	84	98	100
	1.5	5.9	4.3	5.1	34	84	84	105
	2.0	4.7	4.3	5.2	32	80	92	115
	1.4	5.0	4.5	4.5	33	82	96	115
	2.0	5.1	3.8	4.7	33	84	96	120
	1.4	5.8	4.0	4.9	—	—	—	115
	1.7	6.0	4.0	4.9	—	—	—	110
Mean	1.7	5.5	4.1	4.8	33	82	93	111
S.D.	0.22	0.43	0.24	0.30	1.77	4.14	4.54	6.20
C.V. (%)	12.9	7.8	5.8	6.1	5.4	5.0	4.9	5.5

Table 2 Inter-assay Variation

Assay No.	Sample No.		
	9	10	11
CEA (mg/ml serum)	1	2.6	5.0
	2	3.2	5.1
	3	3.0	5.1
	4	3.2	4.6
	5	2.7	4.5
	6	2.7	5.2
	Mean	2.90	4.92
	S.D.	0.24	0.27
	C.V. (%)	8.3	5.5
			6.8

が 30 ng 程度まではいずれの血清においてもほぼ 90~100% の回収率が得られたが、 100 ng 前後を加えた例において、 80% 以下の回収率しか得られない例があった。

種々の濃度の CEA 値を示す検体を、 pool した正常血清で希釈し、 得られた結果を Fig. 3 に示した。 正常血清はあらかじめ抗 CEA 抗体吸着剤にて処理し、 少量含まれるであろう抗原物質を除去したもの用いた。 原血清で 270 ng/ml と高い CEA 値を示した例でやや直線性からのずれがみられたが、 他は良好な直線性を示した。 0 ng 溶液で希釈してもほぼ同じ結果が得られたが、 0.5 % BSA のみを含む酢酸緩衝液での希釈では直線性が得られず、 希釈による見かけ上の CEA 値の増加が認められた。

3. 正常値および臨床例測定値とそれらの他測定法による値との相関

年齢20歳から40歳までの正常成人血清約50例の平均値は、 本法 2.5 ± 1.0 ng/ml (検体数48), Roche 社 Z ゲル法 2.7 ± 1.4 ng/ml (検体数44), Dainabot 社抗体ディスク法 1.4 ± 0.7 ng/ml (検体数44) であり、 抗体ディスク法がやや低値を示したが、 3 法の正常値は、 ほぼ近似した。

福岡大学病院の外来および入院患者から得られた血清につき上記 3 法にて CEA 値を測定し、 その相関を検討した結果を Fig. 4-A, B, C に示した。 お互いの間に求めた回帰式、 相関係数 (r) および検体数 (n) は図中に示した通りであった。 一般的に Roche の値が最も高い。 Dainabot による値は最も低く、 Roche の 1/10 以下、 本法の約 1/5 であり、 本法による値は両者のほぼ中間で、 Roche の 1/3 強であった。 また、 本法の値は、 他の 2 法による値のいずれともよく相関していた。

4. 臨床例の血中 CEA 値の変動

福岡大学病院における患者で、 本法、 Roche 社および Dainabot 社の 3 法で CEA 値の推移を観察できた症例のうち代表的結果を Fig. 5-A, B, C に示した。

症例 1 (Fig. 5-A) : 64 歳女性の肺癌患者で、 昭和55年4月に右下葉切除手術を受けたが、 その後肺門部リンパ節転移のため5月から7月まで約

Table 3 Recovery Test

Experiment I				Experiment II				Experiment III			
Serum	CEA added	Observed ng/ml	Recovered ng/ml %	Serum	CEA added	Observed ng/ml	Recovered ng/ml %	Serum	CEA added	Observed ng/ml	Recovered ng/ml %
A	0	1.6	—	—	0	6.5	—	—	0	2.8	—
	4	6.0	4.4	110.0	3	9.9	3.4	113.3	4.2	7.0	4.2
	12	14.0	12.4	103.3	E	10	16.1	9.6	H	12.5	14.0
	40	42.0	40.4	101.0		30	33.8	27.3	91.0	45.0	42.0
	130	130.0	128.4	98.8		93	88.7	82.2	88.4	120.0	108.0
B	0	3.0	—	—	0	6.1	—	—	0	1.9	—
	4	8.5	5.5	137.5	3	8.8	2.7	90.0	4.2	6.0	4.1
	12	15.5	12.5	104.1	F	10	15.4	9.3	93.0	I	12.5
	40	41.0	38.0	95.0		30	33.8	27.7	92.3	45.0	46.0
	130	127.0	124.0	95.0		93	82.7	76.6	82.4	120.0	115.0
C	0	8.0	—	—	0	2.3	—	—	0	4.2	—
	4	12.2	4.2	105.0	3	4.7	2.4	80.0	J	4.2	8.4
	12	20.0	12.0	100.0	G	10	11.2	8.9	89.0	12.5	15.5
	40	49.0	41.0	102.5		30	28.1	25.8	86.0	45.0	39.0
	130	132.0	124.0	95.4		93	73.3	71.0	76.3	120.0	96.0
D	0	10.0	—	—	—	—	—	—	0	21.5	—
	4	14.5	4.5	112.5	—	—	—	—	K	4.2	26.0
	12	21.0	11.0	91.7	—	—	—	—	12.5	34.0	12.5
	40	45.0	35.0	87.5	—	—	—	—	45.0	59.0	37.5
	130	130.0	120.0	92.3	—	—	—	—	120.0	135.0	113.5

5,000 γ の放射線療法を受けた。昭和56年5月、骨、脳および肝への転移を認め、図に示した期間はビシバニールおよび5 FU の授与を受けたが、9月8日死亡した。死亡直前にCEA値の急増が認められた。

症例2 (Fig. 5-B)：50歳男性の患者で、昭和50

年10月に直腸癌の切除術を受け、53年10月に肺転移を発見され、フルラフル 600 mg の投与を受けた。昭和56年4月に急激な黄疸の出現で再入院し、9月19日死亡したが、図に示した期間は、疼痛および感染症に対する対症療法以外の治療は受けていない。この間3つの測定法によるCEA値のすべてに大きな変動が見られたが、これに伴う腫瘍の消長が確認されたわけではない。特に本法による測定値がRoche社の値より高値を示したまれな例である。

症例3 (Fig. 5-C)：61歳女性で、昭和54年10月に直腸癌のMiles operationを受けたが、翌55年局所再発、10月に再手術を行った。56年1月中旬から2月下旬にかけ約5,000 γ の放射線療法と、フルラフルおよびビシバニールの投与を受けた。3月上旬に血中CEA値の急激な上昇があり、3月29日腸閉塞のため約1.2 m の小腸切除術を受けた後には、血中CEA値は低下していた。その後は、疼痛および感染症に対する対症療法以外の治療は受けていないが、7月頃よりCEA値が徐々に上昇し始め、57年1月28日死亡した。

これら3例のいずれにおいても本法とRoche社の値は、その変動がほぼ平行して認められた。Dainabot社の値は、2法に比べ測定値が低く、その変動も狭い範囲であった。特に症例3において、その傾向が顕著であった。

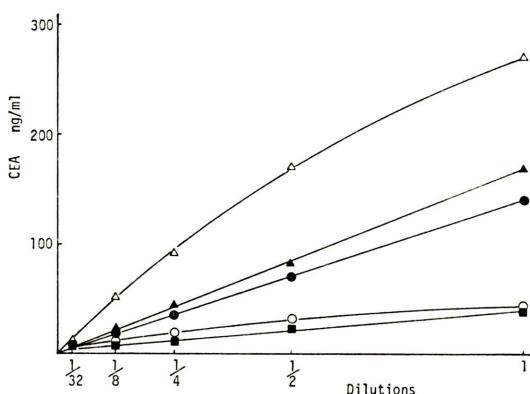
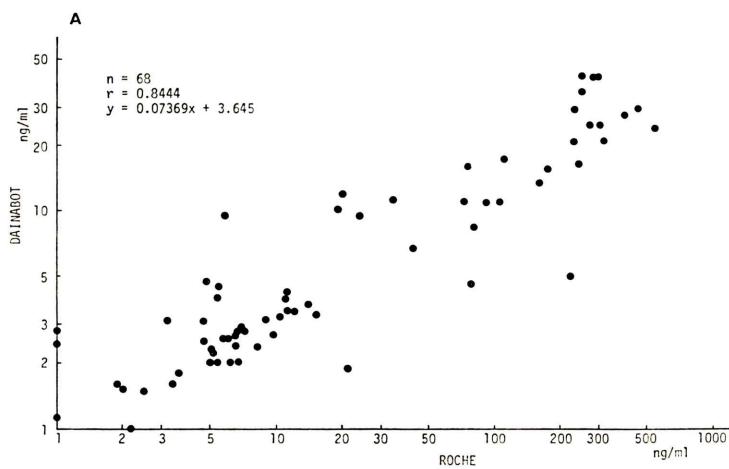


Fig. 3 Effect of sample dilution on CEA estimation.
 ●—●, standard CEA (140 ng/ml, added to the diluent pooled normal serum); △—△, patient serum-1 (270 ng/ml); ▲—▲, patient serum-2 (170 ng/ml); ○—○, patient serum-3 (45 ng/ml); ■—■, patient serum-4 (40 ng/ml). All specimens were diluted with a CEA-depleted pooled normal serum. In parentheses, are given CEA concentrations in original sera.



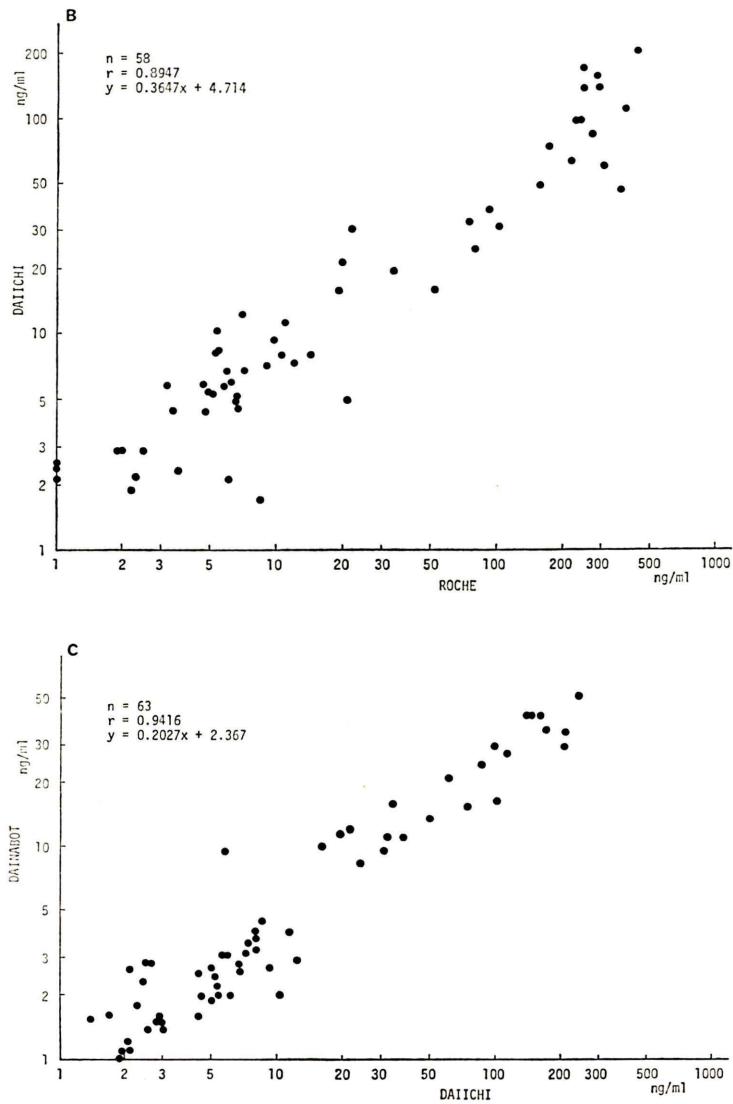


Fig. 4 Correlation of CEA values between Dainabot and Roche kits (A), Daiichi and Roche kits (B), and Dainabot and Daiichi kits (C). For each combination, sample number (n), correlation coefficient (r) and regression equation are shown.

IV. 考 察

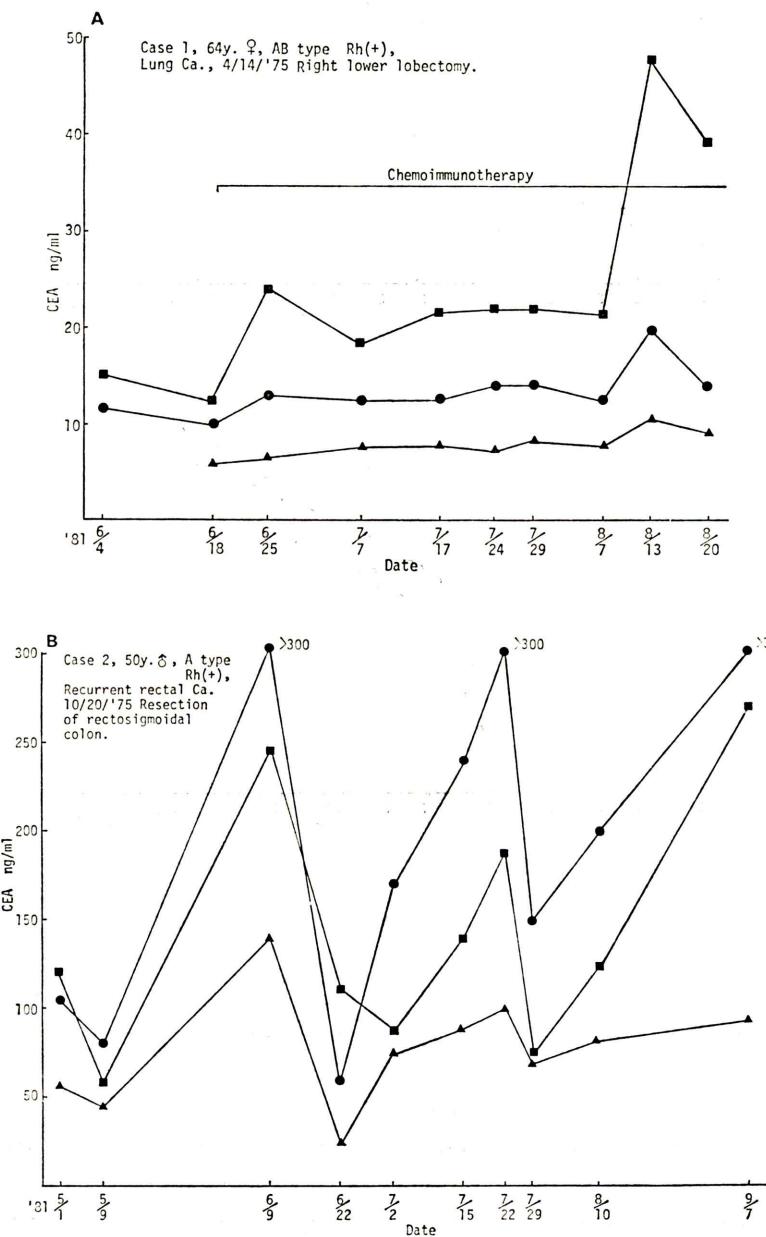
CEA がその分子上に癌特異的な抗原決定基を保持しているか否かについては論議のあるところである^{22,23)}。しかし、現在臨床的に測定されている CEA が、真に癌特異的な抗原活性に基づいて測定されていないことは明らかである。それは、

現在市販されている CEA 測定法のいずれもが松岡¹³⁾らにより正常成人糞便中に見出され、最近黒木¹⁶⁾らにより精製同定された NFA-2 と、癌組織より得られた CEA とを全く区別し得ないという事実²⁴⁾からも明らかであり、本法でも CEA と NFA-2 との区別は不可能である²⁴⁾。にもかかわらず、CEA は多くの癌組織で大量に産生され、ま

た多くの悪性疾患において、その血中濃度の増加が認められる重要な癌関連抗原ないしは腫瘍マーカーとして、その血中濃度の測定が、悪性疾患の臨床において日常的に応用されているのが現状である。

しかし、CEA の測定に関し、最近、いささか混

乱が認められるようになった。その第一の原因は、異なる方法で測定した同一検体の測定値が全く異なることである。本報にも示したように、例えば、Roche 社の Z ゲル法による値と Dainabot 社の抗体ディスク法による値の間には平均しても 10 倍以上の開きがあり、極端な例では Roche が 220



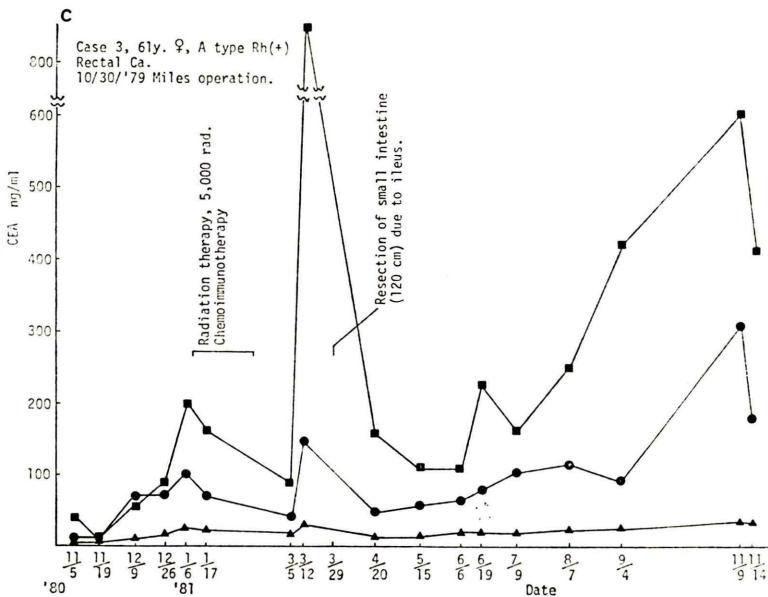


Fig. 5 Follow-up studies of three patients, Case 1 (A), Case 2 (B) and Case 3 (C).

●—●, CEA values estimated by Daiichi kit; ■—■, those by Roche kit; ▲—▲, those by Dainabot kit. For each case, are given its age, sex, blood type and clinical diagnosis. Main clinical events are also indicated.

ng/ml であるのに、Dinabot が 5 ng/ml といった例も認められた。正常値の設定も、Z ゲル法と抗体ディスク法がともに約 2.5 ng/ml 以下と同じであり、本法による値もほぼ同じであったが、Abbott 社の酵素抗体法による正常値は約 5 ng/ml 以下、CIS 社の二抗体法によるものが 10 ng/ml 以下と測定により異なっている。

このような事態は CEA-抗 CEA 系の複雑さによるものと思われる。ゲル内沈降反応のように比較的高濃度の CEA と抗 CEA 抗体を用いる反応で、いろいろな CEA 標品の抗原特異性や抗 CEA 標品の抗体特異性を検討してもほとんど差異は認められず、CEA-抗 CEA 系は均一の系のように見える。しかし、NFA との反応性からみると、抗 CEA 血清間に特異性の差が見出されることがあり^{13,14,16}、また CEA 分子も少なくとも 4 つの抗原部分より構成されることが明らかにされている^{16,22}。さらに ng/ml というはなはだ低濃度の抗原を測定する際、抗原と抗体の間の親和性の差が大きな要因となる。沈降反応で同じ特異性を示す

抗 CEA 抗体標品間にも親和性の大きな差異が認められており、その差が CEA 濃度の測定値に大きく影響することも示されている¹⁸。したがって、現行の各 CEA 測定系に用いられている抗 CEA 標品間にはおそらく各抗原決定基に向けられた抗体の量的割合の違いやその親和性の違いなどがあり、また、CEA 標品間にも沈降反応では現われない程度のごく微細な構造上の差異、例えば糖鎖構造の微細な変化があり、これらが 1 つの測定系における CEA 標品間の反応性の差異 (Fig. 1) や測定系間の反応性の差異 (Fig. 4) として現われるものと思われる。また、いずれの CEA 標品とも均等に反応する測定系を期待することは難しく、どの CEA 標品を用いて検量線を描くかによっても測定値が変化することになる。さらには標識抗原を用いた競合阻止法によるか、固相抗体を用いたサンドイッチ法によるか、あるいは検体の抽出操作を行うか否かなど測定方法の違いも測定値に影響すると考えられ、現状では用いる測定系により異なった値が得られることもやむを得ないと思

われる。

われわれがここで検討した CEA キット「第一」は、日常検査手技としてはなはだ煩わしい抽出や遠心操作を一切必要としない点測定法としてはなはだ簡単である。また、その精度や再現性においても問題はない。測定範囲も 1~300 ng/ml と現在市販のものの中では最も広く、低値例から高値例まで一貫した測定法で測定でき、Z ゲル法のごとく、途中で間接法から直接法へ切り替える必要もない。たまに回収試験で 80%以下の回収率を示した例があり、血清によっては CEA-抗 CEA 抗体の反応を阻害する物質の存在することも考えられ、今後詳しい検討が必要である。また、希釈試験では用いる緩衝液によっては直線性が得られないことがある、高値を示す例について経過観察する際注意すべき点の 1 つと思われる。

本法で測定された CEA 値は、Z ゲル法の 1/3 強で、抗体ディスク法の約 5 倍であり、臨床検査法として十分の感度を有している。しかも、Roche 社、Dainabot 社の両測定法のいずれとも十分な相関を有しており、臨床例の経時的測定においても本法による測定値の推移は、他の測定値、特に Z ゲル法によく平行した推移を示し、CEA 測定法としての本法の妥当性が示された。

本法によるより正確な正常値の設定とその喫煙習慣による影響の有無や悪性疾患における陽性率、さらには腫瘍の臓器別陽性率など今後の検討に待たねばならない。また、CEA で常に問題となるより癌特異的 CEA 測定系の確立も今後の検討課題である。しかし、本法が臨床経過判定資料としての血中 CEA 濃度の測定法として有力な手段であるばかりでなく、CEA 測定の普及にも有用であり、CEA の腫瘍マーカーとしての意義の明確化にも十分に役立ちうるものと思われる。

文 献

- 1) Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumor-specific antigens in human colon carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* **121**: 439~462, 1965
- 2) Gold P, Freedman SO: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med* **122**: 467~481, 1965
- 3) 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
- 4) Hansen HJ, Lance KP, Krupey J: Demonstration of an ion sensitive antigenic site on carcinoembryonic antigen using zirconyl phosphate gel. *Clin Res* **19**: 143, 1971
- 5) Martin F, Martin MS: Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in extracts of human colon and stomach. *Int J Cancer* **9**: 641~647, 1972
- 6) Egan ML, Lautensleger JT, Coligan JE, et al: Radioimmune assay of carcinoembryonic antigen. *Immunochemistry* **9**: 289~299, 1972
- 7) Laurence DJR, Stevens U, Betteheim R, et al: Role of plasma carcinoembryonic antigen in diagnosis of gastrointestinal, mammary, and bronchial carcinoma. *Br Med J* **9**: 605~609, 1972
- 8) Nishi S, Hirai H: A new radioimmunoassay of α -Fetoprotein and carcinoembryonic antigen. *Proteins Biol Fluids Proc Colloq* **23**: 303~307, 1975
- 9) Kim YD, Tomita JT, Schenck JR: A simplified solid-phase radioimmunoassay for carcinoembryonic antigen. *J Immunol Methods* **19**: 309~316, 1978
- 10) Zimmerman R: Improved performance of a double antibody radioimmunoassay for carcinoembryonic antigen. *J Immunol Methods* **25**: 311~321, 1979
- 11) Kollmann G, Brennan J: Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen (CEA) without extraction and dialysis using solid-phase antibody. *J Immunol Methods* **29**: 387~394, 1979
- 12) Fritsche HA, Tashima CK, Collinsworth WL, et al: A direct competitive binding radioimmunoassay for carcinoembryonic antigen. *J Immunol Methods* **35**: 115~128, 1980
- 13) Matsuoka Y, Hara M, Takatsu K, et al: Presence of antigen related to the carcinoembryonic antigen in feces of normal adults. *Gann* **64**: 203~206, 1973
- 14) Matsuoka Y, Tsuru E, Sawada H: Preparation and evaluation of antisera directed against cancer specific moiety of antigenic determinants on carcinoembryonic antigen. *Immunochemistry* **12**: 779~782, 1975
- 15) Matsuoka Y, Koga Y, Maruta H, et al: Proteolytic release of antigenic fragments corresponding to normal fecal antigen and non-specific cross-reacting antigen from carcinoembryonic antigen. *Int J Cancer* **21**: 604~610, 1978
- 16) Kuroki M, Koga Y, Matsuoka Y: Purification and characterization of carcinoembryonic antigen-related antigens in normal adult feces. *Cancer Res*

- 41: 713-720, 1981
- 17) Kuroki M, Shinoda T, Matsuoka Y, et al: Immunological characterization and structural studies of normal fecal antigen-1 related to carcinoembryonic antigen. *Mol Immunol* 19: 399-406, 1982
 - 18) Matsuoka Y, Kuroki M, Koga Y, et al: A new direct solid-phase radioimmunoassay for carcinoembryonic antigen without pretreatment of serum samples. *J Immunol Methods*, submitted.
 - 19) Catt K, Niall HD, Tregear GW: Solid-phase radioimmunoassay of human growth hormone. *Biochem J* 100: 31c, 1966
 - 20) Hunter WM, Greenwood FC: Preparation of Iodine-131 labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature* 194: 495-496, 1962
 - 21) Laurence DJR, Turberville C, Anderson SG, et al: First British Standard for carcinoembryonic antigen (CEA), *Br J Cancer* 32: 295-299, 1975
 - 22) 黒木政秀, 松岡雄治: 癌胎児性抗原の免疫化学的性状. *代謝* 18: 717-729, 1981
 - 23) Matsuoka Y, Kuroki M, Koga Y, et al: Immunological differences among carcinoembryonic antigen in tumor tissues and related antigens in meconium and adult feces. *Cancer Res* 42: 2012-2018, 1982
 - 24) Kuroki M, Yamaguchi A, Matsuoka Y, et al: Antigenic reactivities of purified preparations of carcinoembryonic antigen (CEA) and related normal antigens upon four different radioimmunoassay systems for CEA. *Molecular immunol.*, submitted.

Summary

Studies on a New Direct Solid-Phase Radioimmunoassay for Carcinoembryonic Antigen —Some Fundamental Studies on CEA kit “Daiichi” and its Clinical Application—

Yuji MATSUOKA*, Masahide KUROKI*, Yoshiko KOGA*, Akiko OHMARU**, Teiichi MIYAUCHI** and Yoh ONO**

*First Department of Biochemistry, **Department of Radiology,
School of Medicine, Fukuoka University

We evaluated a new radioimmunoassay kit for CEA (CEA kit “Daiichi”) established by Daiichi Radioisotope Laboratories, Ltd. (Tokyo).

1. The kit is based on a solid-phase sandwich method using antibody-coated plastic beads and needs neither pretreatment of serum or plasma samples nor centrifugation in all steps. Only 50 μ l of sample is enough for the determination, and the assay range is 1 to 300 ng/ml.

2. The accuracy, reproducibility, dilution and recovery tests proved the reliability of the kit. The mean value \pm S.D. for 48 healthy adults was 2.5 \pm 1.0 ng/ml.

3. We compared the results obtained by this kit for a group of pathological serum samples with

those by both Z-gel method (Hoffmann-La Roche) and antibody-coated paper disc method (Dainabot). The values obtained by Roche kit were generally the highest and those by Dainabot kit were the lowest. The values obtained by CEA kit “Daiichi” were found to be medium and correlated well with both values.

4. Follow-up studies of several patients indicated that the values by this kit fluctuated in parallel with those by Roche kit, but the Dainabot kit were less sensitive for the detailed analysis of the increase or decrease of CEA levels.

Key words: carcinoembryonic antigen (CEA), radioimmunoassay, direct method.