

《ノート》

モノクローナル抗体を用いた SCC RIABEAD の 基礎的検討と臨床的評価

Fundamental Study and Clinical Evaluation on SCC RIABEAD
Using Monoclonal Antibody

那須 浩二* 羽渕 洋子* 下里 節子* 大谷 雅美*
山口 晴司* 才木 康彦* 伊藤 秀臣* 日野 恵*
池窪 勝治* 星野 達二** 池内 正憲** 高島 英世**
山本 悅生*** 岩崎 博信****

Koji NASU*, Yoko HABUCHI*, Setsuko SHIMOSATO*, Masami OHTANI*,
Haruji YAMAGUCHI*, Yasuhiko SAIKI*, Hidetomi ITO*, Megumu HINO*,
Katsuji IKEKUBO*, Tatsuji HOSHINO**, Masanori IKEUCHI**,
Eise TAKASHIMA**, Etsuo YAMAMOTO*** and Hironobu IWASAKI****

*Department of Nuclear Medicine, **Department of Gynecology, ***Department of Otolaryngology,
****Department of Respiratory Disease,
Kobe City General Hospital

I. はじめに

扁平上皮癌関連抗原 (Squamous Cell Carcino-ma related antigen, SCC) は、子宮頸部扁平上皮癌患者の肝転移巣組織より抽出、精製された癌抗原で分子量約 45,000 の蛋白質である。

著者らは、すでに 2 抗体法による SCC 抗原測定用 RIA kit (ダイナボット社) の検討を行い、その臨床的有用性につき報告¹⁾した。

最近同社より、モノクローナル抗体を用いた SCC 抗原測定用キット SCC RIABEAD が開発され、同キットを使用する機会を得たので、基礎的ならびに臨床的検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

* 神戸市立中央市民病院核医学科

** 同 婦人科

*** 同 耳鼻咽喉科

**** 同 呼吸器内科

受付：63年2月8日

最終稿受付：63年8月9日

別刷請求先：神戸市中央区港島中町4-6 (650)

神戸市立中央市民病院核医学科

池窪 勝治

II. 測定方法および対象

1) 測定方法

本キットはビーズ固相法を用いた One step サンドイッチ RIA である。Fig. 1 に示すように、被検血清または標準 SCC 溶液 (0.1~150 ng/ml) 50 µl に ¹²⁵I 標識 SCC 抗体 100 µl および抗体固相化ビーズ 1 個を加え、室温で 90 分間、シェーカーを用いて振盪しながらインキュベートする。反応液を吸引除去後、生理食塩水で 3 回洗浄し、ビーズの放射能を測定する。

2) 基礎的検討

最小検出濃度、標準曲線へのインキュベーション時間および温度の影響、測定値の精度・再現性、回収試験、および希釈試験について検討した。

3) 臨床的検討

本院勤務者である健康成人 63 例 (男性 42 例、女性 21 例) と、確定診断の得られた腫瘍を主とする

Key words: SCC RIABEAD Kit, Squamous cell carcinoma, Monoclonal antibody, Tumor marker.

る未治療の婦人科疾患97例、耳鼻科疾患52例、および各種肺癌27例(扁平上皮癌18例、腺癌7例、大細胞癌2例)を対象として、血中 SCC 濃度を測定した。子宮頸部癌54例については、国際臨床進行期分類(FIGO)により分類し、血中 SCC 値を比較した。

悪性腫瘍の治療による血中 SCC 値の変化をみ

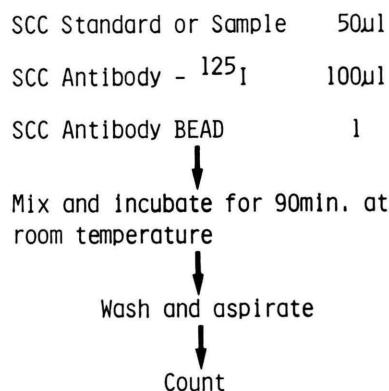


Fig. 1 Assay procedure of SCC RIABEAD kit.

るため、耳鼻科悪性腫瘍患者4例の、手術または放射線治療前後における SCC 値を測定した。

各種疾患186例について本法と SCC 2 抗体法(RIA kit)により血中 SCC 値を測定し、両測定値の関係について検討した。また、各種未治療の良性および悪性疾患123例については、同一血清を用いて本法と RIA kit による SCC 値を測定し、その陽性率を比較した。

III. 結 果

1. 基礎的検討

標準 SCC 溶液としては、キット添付の標準溶液とその最小濃度(1 ng/ml)溶液をキット添付の0濃度標準溶液(SCC free 溶液)で2倍に希釈し、0.5~150 ng/ml の濃度を使用した。

(1) インキュベーション温度と時間の検討

インキュベーション時間を90分と一定にして、温度を4°C, 25°C(室温), 37°Cと変化させた場合の標準曲線をFig. 2に示す。25°Cで最もcpmが高く、良好な標準曲線が得られた。また、インキ

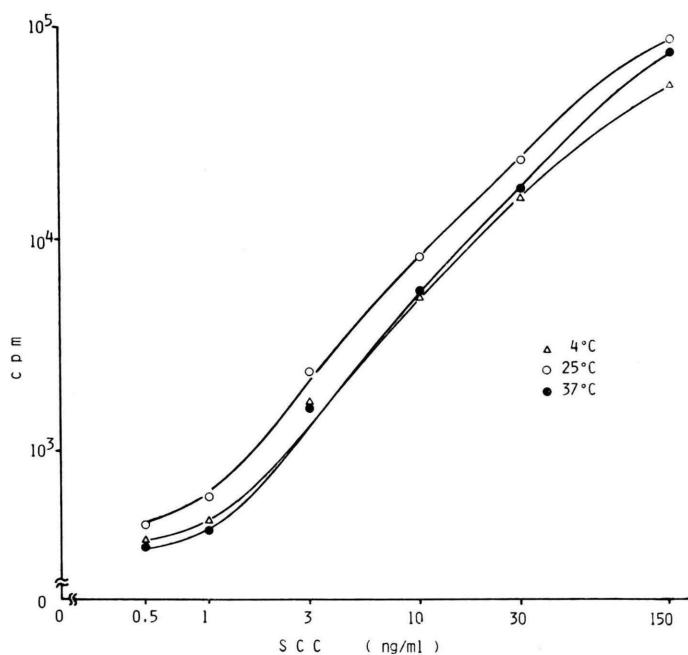


Fig. 2 Effect of incubation temperature on standard curve.

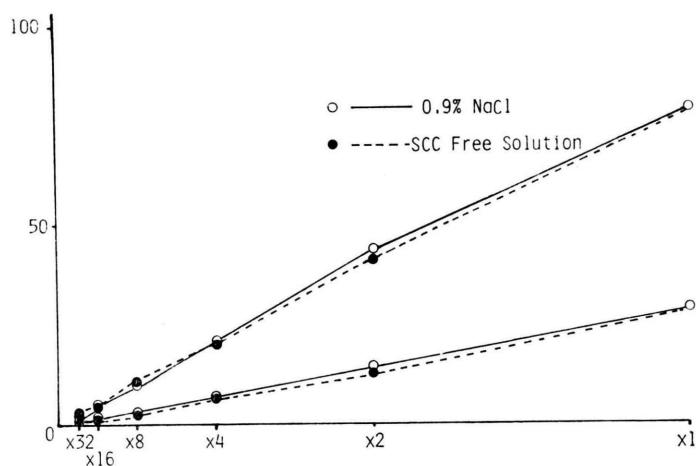


Fig. 3 Dilution test.

Table 1 Intraassay and Interassay variabilities of SCC RIABEAD

Intraassay

Sample No.	n	mean \pm SD (ng/ml)	CV (%)
1	10	1.45 \pm 0.13	9.0
2	10	13.9 \pm 0.57	4.1
3	10	115 \pm 13.2	11.5

Interassay

Sample No.	n	mean \pm SD (ng/ml)	CV (%)
1	7	1.38 \pm 0.24	17.4
2	7	10.6 \pm 1.04	9.8
3	7	87.3 \pm 4.07	4.7

ュベーション温度を 25°C (室温) と一定にし、時間を 30 分、90 分、180 分、24 時間と変化させた場合の標準曲線の比較では、30 分では cpm が低いが、90 分以上ではいずれも cpm の高い良好な標準曲線が得られた。

(2) 精度および再現性

SCC 値が低、中および高濃度の 3 種類の血清について、同一アッセイ内および異なるアッセイ間での SCC 値の平均と CV を Table 1 に示す。同一アッセイ内の CV は 4.1~11.5% と良好であった。また、異なるアッセイ間では、低濃度で CV が 17.4% とやや大きいものの、中および高濃度では、10% 以下の良好な成績が得られた。

Table 2 Recovery test

	Added SCC (ng/ml)	Mean of recovery 112.4 \pm 6.0 (SD) %		
		1.5	5.0	25.0
0.77 ng/ml	measured	2.58	5.89	28.66
	recovered	1.81	5.12	27.89
	recovery (%)	120.7	102.4	111.6
3.34 ng/ml	measured	5.00	9.03	32.07
	recovered	1.66	5.69	28.73
	recovery (%)	110.7	113.8	114.9

(3) 回収試験

SCC 濃度の異なる 2 種類の被検血清に、SCC free 溶液または各種濃度 (1.5, 5.0, 25.0 ng/ml) のキット標準 SCC 溶液を等量加え SCC 値を測定し、各濃度の測定値から SCC free 溶液添加時の測定値を減じた値を添加量で除して求めた回収率を Table 2 に示す。回収率は 102.4~120.7% に分布し、平均回収率は 112.4 \pm 6.0 (SD) % であった。なお、原血清に等量の SCC free 溶液を添加しても SCC の絶対値には差異を認めなかった。

(4) 希釈試験

SCC 高値の 2 血清を生理食塩水とキット添付の SCC free 溶液で 32 倍まで倍々希釈して測定した SCC 値を Fig. 3 に示す。いずれも原点に向かう直線性を示した。

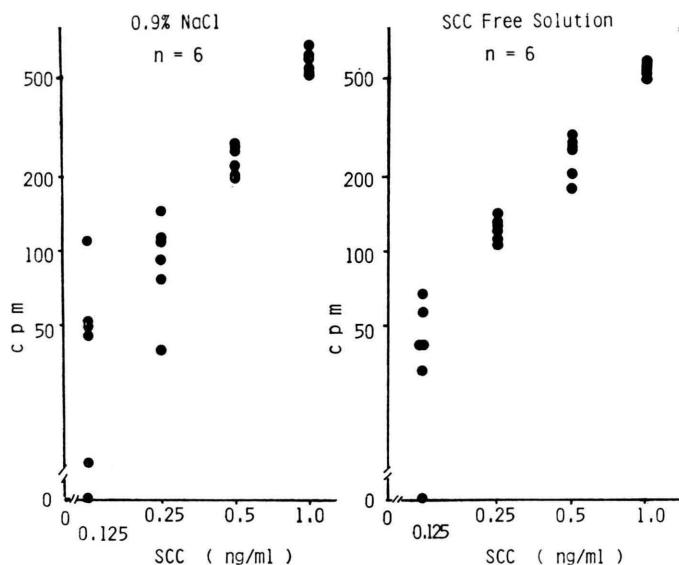


Fig. 4 Dilution results of standard SCC preparation by SCC free solution and 0.9% NaCl.

(5) 最小検出濃度

最小検出濃度の検討のため、標準 SCC 溶液を SCC free 溶液および生理食塩水で 0.125 ng/ml まで倍々希釈し、キット規定の測定条件(室温、90分のインキュベーション)で測定した成績を Fig. 4 に示す。

SCC free 溶液では 1.0 から 0.125 ng/ml まで重なりのない cpm の減少がみられ、それぞれの間にいずれも統計学的有意差 ($p < 0.01$) を認めた。一方、生理食塩水では 0.25 ng/ml 以下でバラツキがみられた。また、free 溶液で希釈した 0.5 ng/ml の同一アッセイ内 (cpm)、および異なるアッセイ間 (B/B_0) の CV はそれぞれ 7.7%，10.7% であった。以上の成績から、SCC free 溶液の希釈により 0.5 ng/ml の SCC 濃度は十分測定可能であると思われ、本キットの検討は、全て 0.5 ng/ml の最小濃度を作成して行った。

2. 臨床的検討

(1) 健常者および各種疾患患者の血中 SCC 濃度

健常者および未治療の各種疾患患者の血中 SCC 値を Fig. 5 に示す。以下に記載する SCC の

平均値は、0.5 ng/ml 以下は全て 0.5 ng/ml として算出した。健常者 63 例の SCC 値は、全て 1.7 ng/ml 以下に分布し、男性 42 例の平均は 0.70 ± 0.30 ng/ml、女性 21 例の平均は 0.62 ± 0.17 ng/ml で、若干女性が低値であるが、統計学的な有意差は認めなかった。健常者全例の平均は 0.67 ± 0.27 ng/ml であった。健常者の 95% が含まれる 1.3 ng/ml を正常上限とした。

耳鼻科領域の扁平上皮癌は 52% (24/46) が陽性であった。その内訳は、咽頭癌は 50% (10/20) が陽性で、4 例が 5 ng/ml 以上の異常高値であった。口腔癌 40% (2/5)、喉頭癌 30% (3/10)、舌癌は 67% (4/6) が陽性。上頸癌では 4 例中全例が陽性であった。一方、良性疾患 6 例は全例陰性であった。

婦人科疾患では子宮頸部扁平上皮癌では 0.5 ng/ml 以下から 130 ng/ml まで広範囲に分布し、平均 7.72 ng/ml と高値で陽性率は 48% (27/56) であった。子宮体部癌では 29% (2/7) が陽性、卵巣癌の 2 例は陰性、子宮体部の肉腫の 1 例で陽性を示した。

一方、良性疾患では子宮筋腫の 17 例は全例が陰性、卵巣のう腫で 43% (3/7) が陽性であった。

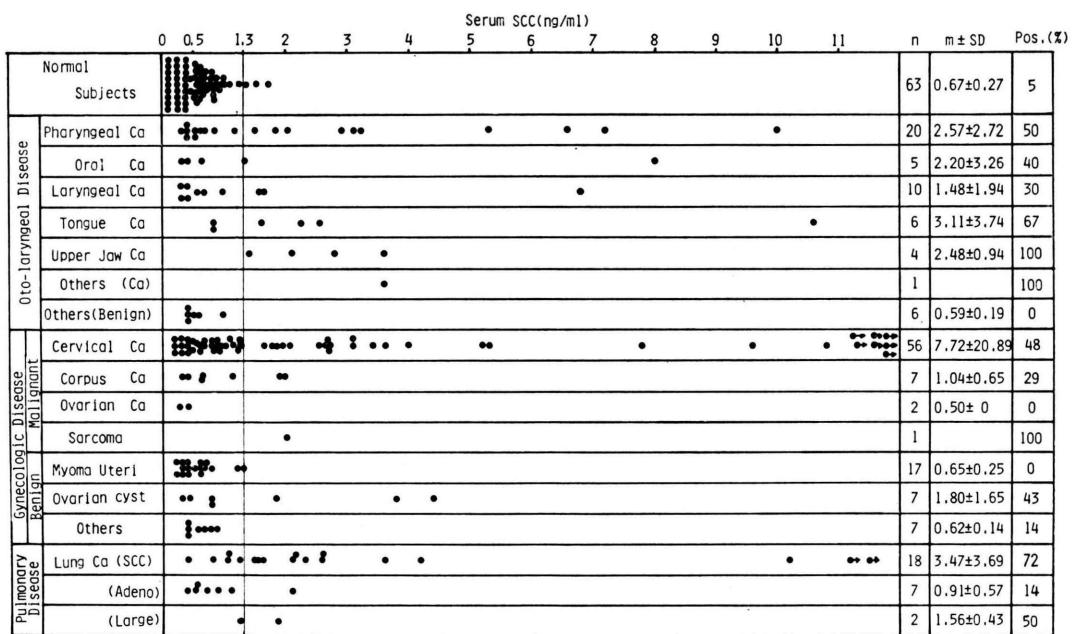


Fig. 5 Serum SCC levels in normal subjects and patients with malignant disease and benign disease.

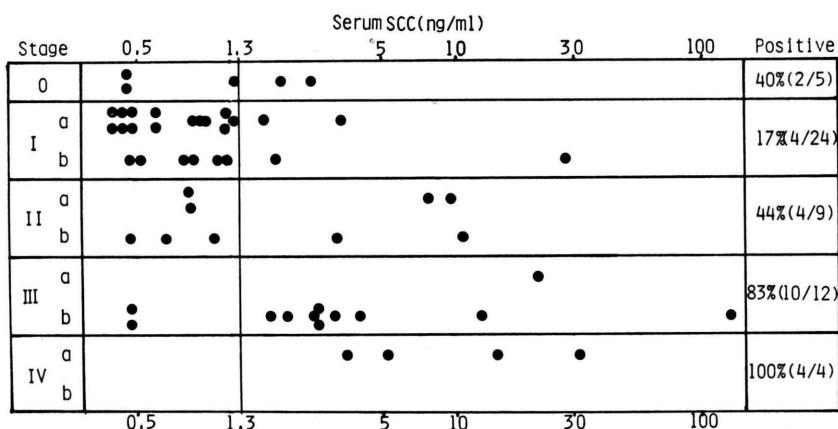


Fig. 6 Serum SCC levels in various stages of cervical squamous cell carcinoma.

肺癌では、扁平上皮癌が 72% (13/18) と高い陽性率を示したが、腺癌では 14% (1/7) と低率であり、大細胞癌では 2 例中 1 例が陽性であった。

(2) 子宮頸部癌の臨床進行期別における血中 SCC 値

子宮頸部扁平上皮癌の臨床進行期別にみた血中 SCC 値を Fig. 6 に示す。0 期の SCC 陽性率は

40%とI期の17%に比べむしろ陽性率は高いが、0期のSCC値の平均は 1.32 ± 0.90 (SD) ng/mlでI期の 2.10 ± 5.55 ng/mlに比べて低値であった。II期、III期およびIV期のSCC値の平均は 3.90 ± 4.26 ng/ml, 16.30 ± 36.95 ng/ml, および 13.83 ± 13.03 ng/mlと進行順に高値となり、かつ陽性率も44%, 83%および100%と高くなかった。

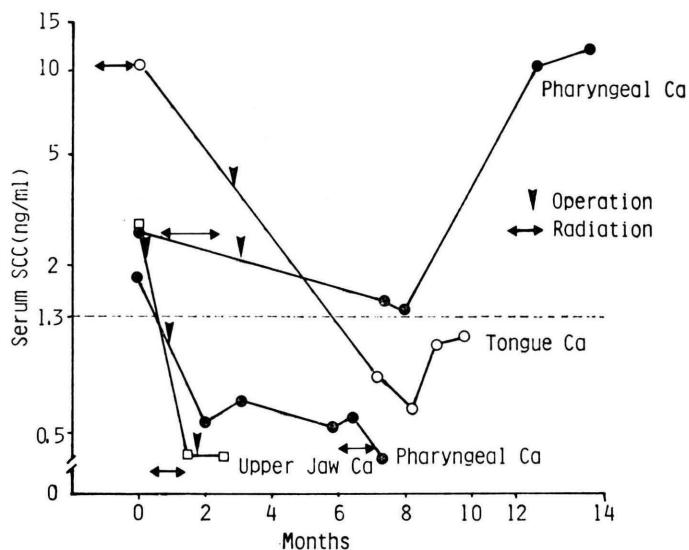


Fig. 7 Time course change of serum SCC levels after therapy.

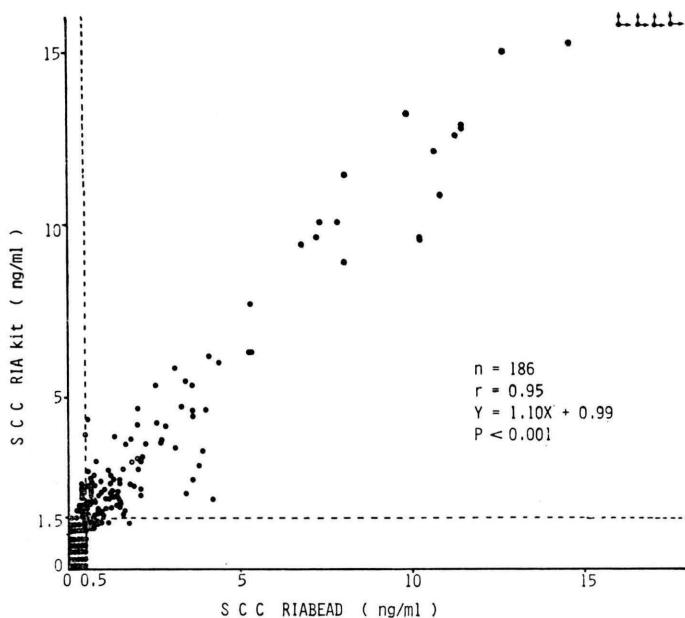


Fig. 8 Relation of serum SCC concentrations by RIABEAD and RIA kit in various diseases.

(3) 耳鼻科悪性腫瘍患者の治療前後の血中 SCC 値

Figure 7 に治療前に SCC 高値を示した 4 例の

手術および放射線治療による血中 SCC 値の変化を示す。上頸癌の 1 例は、摘出術により術前 2.80 ng/ml であった SCC 値は術後 3 週間で 0.5 ng/ml

Table 3 Comparison of positive ratio by RIABEAD and RIA kit in untreated various diseases

Disorders	No.	Positive (%)	
		RIABEAD	RIA kit
A. Malignant			
Pharyngeal Ca	(20)	50 (%)	50 (%)
Oral Ca	(2)	50 (%)	50 (%)
Laryngeal Ca	(8)	25 (%)	25 (%)
Tongue Ca	(6)	67 (%)	67 (%)
Upper Jaw Ca	(4)	100 (%)	75 (%)
Cervical Ca	(26)	62 (%)	58 (%)
Corpus Ca	(5)	20 (%)	40 (%)
Ovarian Ca	(1)	0 (%)	0 (%)
Lung Ca (SCC)	(12)	75 (%)	58 (%)
(Adeno)	(3)	0 (%)	0 (%)
(Large)	(1)	0 (%)	100 (%)
B. Benign			
Myoma Uteri	(16)	0 (%)	6 (%)
Ovarian Cyst	(6)	50 (%)	50 (%)
Others	(13)	0 (%)	0 (%)

以下に低下した。咽頭癌の2例中1例のSCC値は、手術により1.81 ng/mlから正常域に低下、6か月後の放射線照射により0.5 ng/ml以下に低下した。他の1例は、放射線照射と手術治療によりSCC値は2.55 ng/mlから1.40 ng/mlまで低下したが、正常域には復さず術後1年で再び上昇傾向を示し、10.6 ng/mlの異常高値を示した。この時期に、骨シンチグラフィにより、全身骨への転移が認められた。舌癌の1例では、手術前10.6 ng/mlと異常高値であったSCC値は、治療後8か月で0.62 ng/mlまで低下したが、その後は正常域ながら徐々に増加傾向を示していた。以後、SCC値は測定されていないが、やがてリンパ節への転移を認め、治療開始後14か月で死亡した。

(4) 各種疾患における本法とSCC RIA kitの陽性率の比較

Table 3に各種疾患123例における本法とRIA kitによる血中SCC値の陽性率の比較を示す。肺扁平上皮癌で本法が75%とRIA kitの58%に比べて高い陽性率を示したが、その他の疾患では、悪性良性疾患ともに両方での陽性率に明らかな差を認めなかった。

3. 本法とSCC RIA kitによるSCC測定値の関係

Figure 8に各種疾患186例における本法とSCC RIA kitによるSCC測定値の関係を示す。両測定値の相関係数は $r=0.95$ の良好な正相関を示し、本法は2抗体法に比べ若干低値となる傾向がみられた($y=1.10x+0.99$)。

IV. 考 案

従来の2抗体法(RIA kit)では、24時間のインキュベーションと遠沈操作を要するのに比べ、本法はインキュベーション時間が90分と短く、遠沈を必要としないため、簡便である。また本法での血清使用量は50 μ lとRIA kitの100 μ lに比べて少なくて済む利点がある。

本法の希釈および回収試験は良好であった。本キットの精度および再現性も満足できる成績であり、ルーチン検査に十分使用できると思われる。

本法とRIA kitの測定値の比較では、高い正相関($r=0.95$)が得られたが、0~150 ng/mlの測定域において本法の測定値の方が低値を示した。

著者らは、本法でのカットオフ値を1.3 ng/mlとした。この値はRIA kitのカットオフ値^{2~6)}2.0~2.5 ng/mlに比べて低値である。また、他のRIA BEADの報告^{7~10)}のカットオフ値1.5~2.0 ng/mlに比べて低値であった。

耳鼻科領域での扁平上皮癌の血中SCC値は、咽頭癌、舌癌および上頸癌ではいずれも50%以上の陽性率を示し、ことに咽頭癌では10 ng/mlと高値を示すものがみられた。一方、良性疾患での陽性例はみられず、本測定が耳鼻科領域の悪性腫瘍の診断に有用と思われる。

婦人科疾患中、子宮頸部扁平上皮癌の48%がSCC陽性で、なおかつ高値例が多くみられ、平均SCC値は7.7 ng/mlときわめて高値であった。臨床進行期別にみたSCC値は、0期においてもSCC値が軽度上昇するものがあり、I~III期と進むにつれて平均値は高値となる傾向がみられ、III期以上では83%以上が陽性かつ高値であった。一方、子宮体癌や卵巣癌の陽性率は低く、SCC

値は子宮頸部癌の診断に有用と思われる。

肺癌では、扁平上皮癌の陽性率は72%と腺癌の14%に比べて高率かつ高値例が多く、肺癌の診断には他の腫瘍マーカと組み合わせた測定を行えば、組織型の推測が可能であると思われ、有用性が高い。

本法とRIA kitの陽性率の比較では、本法での肺扁平上皮癌の陽性率が75%と後者の58%に比べて高い点ですぐれたが、他の良、悪性疾患の陽性率では著明な差を認めなかった。

治療後の観察においては臨床経過をよく反映しており、同一症例のfollow-upにおいては未治療時からのSCC値の観察が重要であり、SCC標準溶液として0.5ng/mlを新たに作成して低値を測定することを試みた。しかしながら、1.0ng/ml以下では標準曲線がゆるやかで、その数値に診断的意味は少ないが、著者らの若干例で示したごとく、同一症例での治療後のSCC値の変動の観察における有用性がうかがわれ、さらに症例を重ねて検討を要すると思われる。

V. 結論

1) 測定条件はキット規定どおり室温で90分間のインキュベーションが好適で、0.5~150ng/mlまでのSCCの測定が簡便に行える。

2) 回収率および希釈試験は良好であり、同一アッセイ内のCVは4.1~11.5%。アッセイ間のCVは4.7~17.4%と、満足できる再現性を示した。

3) 健常者63例の血中SCC値は平均0.67±0.27ng/mlであり、Cut off値は健常人95%が含まれる1.3ng/mlとした。

4) 各種疾患のSCC陽性率は、耳鼻科扁平上皮癌52%(24/46)、子宮頸部癌48%(27/56)、および肺扁平上皮癌72%(13/18)であった。

5) 子宮頸部扁平上皮癌のSCC値は、臨床進行期の進むにつれて高値で陽性率も高くなる傾向を示した。

6) 手術および放射線治療前後のSCC値は、治療効果をよく反映した。

7) 本法と2抗体法(RIA kit)の血中SCC値

の比較では、良好な正相関($r=0.95$)を認めた。また両法でのSCC値の陽性率の比較では、本法がRIA kitに比べて肺扁平上皮癌で高い陽性率を示した以外に、両法での陽性率に明らかな差を認めなかった。

以上より、本法によるSCC値の測定は簡便で、各種の扁平上皮癌の診断と治療効果の観察に有用と考えられる。

キットをご提供くださったダイナボット株式会社に深謝いたします。

また、本論文の要旨は、第27回日本核医学会総会において発表した。

文献

- 1) 羽淵洋子、濱崎利子、半田文子、他：SCC RIA Kitの基礎的ならびに臨床的検討。核医学 23: 967-972, 1986
- 2) 福永仁夫、大塚信昭、曾根照喜、他：扁平上皮癌における血中SCC(Squamous Cell Carcinoma Related Antigen)抗原測定の臨床的検討。癌の臨床 31: 1885-1888, 1985
- 3) 向田邦俊、中西敏夫、佐々木正博、他：原発性肺癌における扁平上皮癌関連抗原(SCC)の臨床的検討。広島医学 38: 1027-1033, 1985
- 4) 増岡忠道、松枝由美、大川日出夫、他：肺扁平上皮癌に対するSCC抗原測定の意義。癌の臨床 31: 914-918, 1985
- 5) 桂木 誠、一矢有一、桑原康雄、他：Squamous Cell Carcinoma Related Antigen(SCC) RIA Kitの基礎的ならびに臨床的検討。核医学 22: 1809-1814, 1985
- 6) 美濃直子、飯尾 篤、阿多まり子、他：肺扁平上皮癌における血清SCC抗原(Squamous Cell Carcinoma Related Antigen)測定の臨床的意義。核医学 24: 149-156, 1987
- 7) 小泉 満、遠藤啓吾、中島言子、他：イムノラジオメトリック法によるSCC抗原濃度測定用キット“SCC RIABEAD”的基礎的ならびに臨床的検討。核医学 24: 1693-1700, 1987
- 8) 大道和宏、中西敏夫、佐藤友保、他：原発性肺癌におけるSCC RIA BEADの臨床的検討。臨床と研究 64: 2975-2978, 1987
- 9) 福永仁夫、大塚信昭、古川高子、他：SCC RIA BEADによる血中扁平上皮癌関連抗原(SCC)濃度の測定。医学と薬学 18: 1059-1063, 1987
- 10) 松田裕之、大野真司、桑野博行、他：食道癌患者血中扁平上皮癌関連抗原(SCC抗原)の臨床的意義——二抗体法とビーズ固相法との比較検討——。日本消化器外科学会誌 20: 2802, 1987