イムノクロマトグラフィ法による乳頭分泌液中 CEA 測定

西 敏夫^{1,2)} 弥生 恵司²⁾ 古妻 嘉一²⁾ 綿谷 正弘²⁾
 藤本 幹夫²⁾ 中谷 守一²⁾ 上池 渉²⁾ 野村 孝²⁾
 川崎 勝弘²⁾

市立貝塚病院外科¹⁾

乳頭分泌液中 CEA 研究会²⁾

乳頭異常分泌は腫瘍非触知乳癌の唯一の症状であることがあり、その分泌液中の CEA 測定は重要なスクリーニング法の 1 つである。われわれは、簡便で迅速な immuno-chromatographic assay (ICGA) 法による CEA 測定キットを開発し、従来よりの CEA 測定キットであるマンモテックと ICGA 法を比較検討した。南大阪地区の近隣 14 施設を受診した乳癌疾患患者 94 症例の乳頭分泌液 115 検体で比較検討をおこなった結果、カットオフ値を 400 ng/ml とすると、陽性一致率 86.2%、陰性一致率 100%、全体一致率は 96.5% であった。

Key words : 乳頭分泌液中 CEA, 腫瘍非触知乳癌, イムノクロマトグラフィ

はじめに

乳頭異常分泌は諸家の報告では一般乳癌外来患者の 4～9%¹⁾とされており、予想外に多い。この中には乳頭分泌が唯一の症状である腫瘍非触知乳癌も含まれる²⁾。そしてその分泌液中の CEA 測定は、腫瘍非触知乳癌診断の重要なスクリーニング法の 1 つとして日常外来診療によく用いられている³⁾。われわれは従来の方法より、より簡便で迅速な immuno-chromatographic assay (以下、ICGA) 法による CEA 測定キットを開発した。そして RIA 法による CEA 定量と比較して、ICGA 法は RIA 法での定量による測定値ときわめてよく相関したことを報告した⁴⁾。

今回、市販されている酵素抗体法を用いた分泌液中の CEA 測定キットのマンモテックと ICGA

法を比較検討したので報告する。

1. 対 象

1998年5月から2001年9月までの間に、乳頭異常分泌を主訴に南大阪地区の近隣 14 施設を受診した乳癌疾患患者 94 症例の乳頭分泌液 115 検体である。検体の採取時期が異なる 1 症例 2 検体が 15 症例、1 症例 3 検体が 3 症例あった。全例女性で、25歳から81歳までで、平均年齢 48.1 歳であった。94 症例のうち、手術や細胞診などで確定診断のついていたのは 47 例であった。内訳は乳癌 19 例、乳頭腫 12 例、乳腺症 10 例、その他の良性疾患 6 例である。

2. ICGA 法の原理および方法(図 1)

金コロイドでラベルした monoclonal 抗 CEA 抗体を含んだ pad (S-ゾーン) および polyclonal 抗 CEA 抗体をその一部分にライン状に固定したニトロセルロースメンブレン (T-ゾーン) などから構成される幅 5 mm、長さ 80 mm のイムノクロマトデバイスを用いる。乳頭分泌液 5 μ l をキャ

別冊請求先：〒597-0015 大阪府貝塚市堀 3 丁 10-20
 市立貝塚病院外科 西 敏夫

E-mail address: t.nishi@hosp.kaizuka.osaka.jp

S: monoclonal anti-CEA antibody labeled with colloidal gold
T: immobilized polyclonal anti-CEA antibody

図 1. イムノクロマトグラフィの原理と方法

ピラリーチューブで採取し、その先端をSゾーンに押しつけて乳頭分泌液を吸収させる。乳頭分泌液中のCEAは金コロイドで標識されたmonoclonal抗CEA抗体と反応して、免疫複合体を形成する。Sゾーンの上流より緩衝液を滴下することにより、免疫複合体はニトロセルロースメンブレン中をクロマトし、メンブレンに固定されているpolyclonal抗CEA抗体に捕捉されて、赤紫色のラインとして目視できるようになる。判定はクロマト開始から15分以降可能で、あらかじめ測定した標準CEA溶液(0, 200, 400, 1,000 ng/

ml)の色調と比較して半定量的に測定できる。マンモテックは持田製薬株式会社の市販されているキットを用い、半定量的に測定した。

3. 結果

1)乳頭分泌液中のCEA濃度のICGA法とマンモテックでの測定(表1)

115検体のCEA濃度をICGA法とマンモテックにて測定した。マンモテックでは標準液が200, 400, 1,000 ng/mlであるために、ICGA法の測定値も200 ng/ml未満, 200以上400 ng/ml未満,

表 1. ICGA 法とマンモテックにより測定された乳頭分泌液中の CEA 値の相関

		マンモテック				計
		CEA<200	200≤CEA<400	400≤CEA<1,000	1,000≤CEA	
ICGA	CEA<200	61	4	0	0	65
	200<CEA<400	4	17	4	0	25
	400≤CEA<1,000	0	0	11	0	11
	1,000≤CEA	0	0	0	14	14
計		65	21	15	14	115

CEA 濃度単位: ng/ml

400以上1,000 ng/ml 未満, 1,000 ng/ml 以上に区切って比較した。全体の一致率は89.6%であった。400 ng/ml をカットオフ値として陽性と陰性に判別した場合, マンモテックの判定結果に対して, 陽性一致率は86.2%, 陰性一致率は100%, 全体一致率は96.5%であった。

2) 各疾患別の ICGA 法による乳頭異常分泌液中 CEA 測定値(図 2)と正診率(表 2)

確定診断のついた47例中乳癌は19例あり, ICGA 法で CEA 値が 0 ~ 400 ng/ml 未満は 6 例, 400 ~ 1,000 ng/ml 未満は 4 例, 1,000 ng/ml 以上は 9 例であった。乳管内乳頭腫は12例あったが, 全例 400 ng/ml 未満であった。乳腺症では 1 例が 400 ng/ml であった以外は 400 ng/ml 未満であった。カットオフ値を 400 ng/ml とすると, 診断能は ICGA 法で sensitivity 68%, specificity 96%, accuracy 85%であった。一方, マンモテックではそれぞれ79%, 93%, 87%であった。

4. 考 察

乳頭異常分泌とは妊娠・授乳期以外にみられる

乳頭からの分泌と定義され, その原因としては, 乳腺の器質的変化を伴わない機能的なものと器質的変化を伴うものがある。頻度としては後者が圧倒的に多く, 乳管内乳頭腫, 乳腺症, 乳管拡張症など乳腺の良性疾患が大部分を占めているが, 乳癌も全体の 5%にみられる²⁾。この中には乳頭分泌が唯一の症状である腫瘍非触知乳癌も含まれ, 慎重に対処しなければならない症状といえる^{1,3)}。

この分泌液に対するスクリーニング的な検査法としては, 従来より潜血反応と細胞診があるが, 細胞診は感度の点において十分な成績ではない^{5,6)}。乳管造影や乳管内視鏡は乳管内の病変の存在診断に必要な不可欠な検査ではあるが, 検査に時間を要することより, 分泌液中の潜血反応のある症例すべてに行うことはできないのが現状であると思われる⁷⁾。乳頭分泌液中の CEA 測定は, 細胞診の低い感度を補い, さらに乳管内乳頭腫や乳癌などの鑑別診断の検査法として広く臨床に用いられている^{2,5)}。しかし, 従来の酵素免疫法を用いた半定量法であるマンモテックでは測定時間に 2 時間以上必要であり⁸⁾, 手技もやや煩雑である。そこでより簡便で測定時間の短い ICGA 法を利用し

図 2. 各疾患別の ICGA 法による乳頭異常分泌液中 CEA 測定値 (ng/ml)

表 2. ICGA 法とマンモテックの正診率

	sensitivity	specificity	accuracy
ICGA 法	68% (13/19)	96% (27/28)	85% (40/47)
マンモテック	79% (15/19)	93% (26/28)	87% (41/47)

たキットを開発した。手技としては乳頭分泌液 5 μ l を採取し、イムノクロマトデバイスの S-ゾーンに押しつけて乳頭分泌液を吸収させる。つぎに上流より緩衝液を滴下するだけである。反応時間は15分で終了であり、外来時間中に結果が判明するので、次のステップへの方針を検討でき、非常に有用である。

筆者らはこのキットを用いて、RIA 法での定量による測定値と比較検討し、きわめてよく相関したことを以前に報告した⁴⁾。今回は市販されているマンモテックとの比較検討を行った。乳頭分泌液中 CEA のカットオフ値を 400 ng/ml とすると、陰性一致率、陽性一致率、全体一致率とも 0.8 以上であり、ICGA 法とマンモテックでの測定は、非常によく一致していることが明らかになった。陽性、陰性の一致しなかった 4 例はマンモテックで 400 ng/ml 陽性、ICGA 法で 300 ng/ml 陰性と判定された症例であった。両測定法とも半定量法であり、限界であろうと考えられた。確定診断のついた 47 例で、ICGA 法の診断能は sensitivity 68%, specificity 96%, accuracy 85% で、マンモテックとほぼ同等であり、満足できる結果であった。ただし、CEA 非産生性腫瘍の場合には当然のこととして偽陰性となるので^{9,10)}、細胞診など他の検査の結果も参考にして治療方針を決定するべきである。

結 語

1) 乳頭異常分泌を主訴に南大阪地区の近隣 14 施設を受診した乳腺疾患患者 94 例の乳頭分泌液 115

検体を ICGA 法とマンモテックで半定量的に測定した。

2) ICGA 法とマンモテックの測定結果はよく一致していた。

3) ICGA 法は必要な検体量も 5 μ l と少なく、検査法も簡便で 15 分で結果が判明するという非常に有用性の高い測定法である。

【文 献】

- 1) 難波 清, 霞富士雄, 渡辺 進, 他: 異常乳頭分泌の鑑別診断. 外科治療, 61: 131-140, 1989
- 2) 弥生恵司: 乳頭分泌液中 CEA とその臨床応用. 乳癌の臨床, 7: 366-374, 1992
- 3) 弥生恵司, 稲治英生, 森 武貞, 他: 乳頭異常分泌と無腫瘍性乳癌. 乳癌の臨床, 3: 141-146, 1988
- 4) 西 敏夫, 弥生恵司, 古妻嘉一, 他: 乳頭分泌液中 CEA 測定の新しい immuno-chromatographic assay 法の検討. 乳癌の臨床, 16: 542-543, 2001
- 5) 西口隆偉, 菱本恒温, 船橋修之, 他: 乳癌診断における乳頭分泌液中 CEA 測定の有用性. 臨床病理, 40: 67-72, 1992
- 6) 山下純一, 小川道雄: 非触知乳癌の診断. 臨床と研究, 74: 805-809, 1997
- 7) 中村祐子: 無腫瘍性乳管内病変の鑑別診断における乳頭分泌液中 CEA の測定意義. 東医大誌, 57: 385-397, 1999
- 8) マンモテック説明書(持田製薬株式会社)
- 9) 森 武貞, 稲治英生, 弥生恵司, 他: 乳頭分泌液中 CEA 測定用簡易キット (MS-1002) による乳癌診断能の検討. 乳癌の臨床, 4: 99-103, 1989
- 10) 稲治英生, 小山博記: 腫瘍マーカー—私の経験—乳癌の検診. 癌と化療, 18: 313-317, 1991

Measurement of CEA in Nipple Discharge Based on Immunochromatographic Assay

Toshio Nishi^{1,2)}, Eiji Yayoi²⁾, Yoshikazu Kotsuma²⁾, Masahiro Watatani²⁾,
Mikio Fujimoto²⁾, Morikazu Nakatani²⁾, Wataru Kamiike²⁾,
Takashi Nomura²⁾, Katsuhiko Kawasaki²⁾

Department of Surgery, Kaizuka Municipal Hospital¹⁾
Research Association for CEA in Nipple Discharge²⁾

Measurement of CEA in nipple discharge is one of the important screening methods for detecting non-palpable breast cancer, since there are some cases where abnormal nipple discharge is the only symptom. We have developed a convenient and rapid test kit for measuring CEA in nipple discharge. Our kit is based on the principle of the immunochromatographic assay (ICGA). Its performance was compared with a commercially available kit, MAMMOTEC, by measuring 115 nipple discharge specimens obtained from 94 patients with mammary gland disease who underwent medical examinations at 14 hospitals in the South Osaka area. The diagnostic concordance rates between our kit and MAMMOTEC were 86.2% for the positive specimens determined by MAMMOTEC, 100% for the negative specimens determined by MAMMOTEC, and 96.5% for all tested specimens, when the cut-off value was set at 400 ng/ml for each kit.

Key words : CEA in nipple discharge, non-palpable breast cancer, immunochromatographic assay