大腸癌における血清 CEA 上昇因子の分析—組織 CEA 濃度 ならびに CEA の局在との関係

京都府立医科大学第1外科学教室

小島 治 藤田 佳宏 栗本 貴志
谷奥 卓郎 王 昭崇 北川 直樹
上原 泰夫 間島 孝 池田 栄人
西岡 文三 間島 進

STUDIES ON PLASMA CEA CONCENTRATION IN COLORECTAL CANCER PATIENTS.

—IN SPECIAL REFERENCE TO CORRERATION WITH TISSUE CEA CONCENTRATION AND CEA LOCALIZATION

Osamu KOJIMA, Yoshihiro FUJITA, Takashi KURIMOTO

Takuo TANIOKU, Akimune OH, Naoki KITAGAWA

Yasuo UEHARA, Takashi MAJIMA, Eito IKEDA

Bunzo NISHIOKA and Susumu MAJIMA

The 1st Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

血清 CEA は腫瘍マーカーとして優れたものであり、わが国でも広く利用している。しかし、最も陽性率の高い大腸癌でもその診断的価値は余り高くない。よって本論文では大腸癌の血清 CEA 上昇因子の分析をおこなった。

方法：① 50例の大腸癌患者の血清 CEA 値と癌組織 CEA 濃度をロシュ法にて定量した。② 酵素抗体法で癌組織内 CEA の局在を検討し、血清 CEA 値と比較した。

結果：① 血清 CEA 値は腫瘍量の増大と共に上昇したが、組織 CEA 濃度は共に上昇しなかった。② 血清 CEA 値と組織 CEA 濃度は共に左半結腸癌で最高であった。③ 癌の病期を考慮すると血清 CEA 陽性率と組織 CEA 濃度陽性率および組織 CEA の局在型式との間に相関が認められた。

索引用語：大腸癌血清 CEA 上昇因子、大腸癌組織 CEA 濃度、癌組織内の CEA の局在

I はじめに

血清 Carcinoembryonic antigen (CEA と略す) は数少ない腫瘍マーカーの一つとして、消化器癌の診断あるいは治療効果の判定指標としてほとんどルチンに検査されている。はじめ CEA は大腸癌に特異的な抗原とされたが、その特異性は否定され、大腸癌であっても必ずしも高値を示さず、進行例であっても低値であることがままあるとされている。すなわち、大腸癌における血清 CEA の診断的価値は比較的 low、スクリーニングとしての価値しかあり得ないとされている。本論文では血清 CEA 上昇因子を分析するために大腸癌患者の血清 CEA 値と同一患者の癌組織 CEA

濃度を種々の面より比較検討した。さらに、一部の症例で癌組織 CEA 局在様式と血清 CEA との関係についても検討した。

II 検索対象ならびに検索方法

1. 検索対象

過去2年間、京都府立医大第1外科で手術された直腸癌15例(平均年齢60.4歳, 25~79歳)と結腸癌35例(平均年齢63.6歳, 42~80歳)の計50例の大腸癌が検索対象とされた。

2. 検索方法

1) Radioimmunoassay (R.I.) 法による組織

CEA 濃度および血清 CEA 値の測定：癌組織は粘

膜面より採取され、その際壊死組織は除かれ、腫瘍部のみ採取するようにつとめられた。R.I.法による組織CEA濃度は切除直後に、組織を約1g採取し、 -25°C のフリーザー内で凍結保存し、測定時融解細切してpH 7.2ボタシウムバッファ-10ml中にてホモジナイズし、3,000rpm・30分間遠沈後に上澄液をロシュキット(Hoffmann-La Roche, Basel)を用いて測定した。ロシュキットによるCEA測定は最初間接法で測定され、20ng/ml以上の検体は直接法で測定された。

2) 酵素抗体法による組織CEA局在の検索法: 組織標本作成にはすべて10%ホルマリン固定標本のパラフィン切片が用いられた。厚さ4 μ の連続切片2枚が採取され、各々にCEA染色が行われた。

酵素抗体法による組織CEAの染色は、既報¹⁾のごとく、unlabelled antibody enzyme techniqueにて行われ、1次血清にはDAKO製抗ヒトCEAウサギ血清の100倍希釈が、2次血清には富士臓器製抗ウサギIgGヤギ血清の40倍希釈が、Peroxidase-antiperoxidase (PAP)にはDAKO製のものが用いられた。なお、抗CEA血清より顆粒球抗原 Non-specific cross-reacting antigen (NCA と略す) をとるため、あらかじめ心疾患々者の脾より作製したアセトンパウダーによる吸収操作が行われた。すなわち、アセトンパウダー-100mgと抗CEA血清1mlを反応させた。4-chloro-1-Naphthol+ H_2O_2 による発色時間はすべて20分間とした。また、染色の際には対照として大腸癌の組織CEA濃度の多い標本を加えて染色可否の指標とした。

さらに本実験に用いられた抗ヒトCEAウサギ血清がCEA抗原と反応するかを調べる目的で、過剰のロシュキットのCEA抗原(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)50倍量にて抗血清を吸収させると、対照で濃染した癌組織でも、抗原にて吸収を行った抗CEA血清では全く染色されなかった。

表1 CEAと癌進行度

	血清CEA値 ($\text{M}\pm\text{SE}$ ng/ml)	組織CEA濃度 ($\text{M}\pm\text{SE}$ $\mu\text{g}/\text{g}$)
stage I・II 25例	$8.0\pm 1.9^{1)}$	78.7 ± 28.9
stage III・IV 21例	$11.1\pm 3.0^{2)}$	148.5 ± 63.6
stage V 4例	$37.3\pm 11.3^{1), 2)}$	54.2 ± 17.0

1) $p < 0.02$ 2) $p < 0.05$

III 成 績

1. CEAと大腸癌進行度(表1)

大腸癌進行度は大腸癌取り扱い規約²⁾に従って分類された。癌進行度別の血清CEA値は、表1のごとく、stage I・II群25例では $8.0\pm 1.9\text{ng}/\text{ml}$, stage III・IV群21例では $11.1\pm 3.0\text{ng}/\text{ml}$, stage V群4例では $37.3\pm 11.3\text{ng}/\text{ml}$ であり、癌の進行とともに有意に上昇し、stage I・II群とstage III・IV群の血清CEA値とstage V群のそれとの間に有意の差が認められた($p < 0.02$, $p < 0.05$)。一方、組織CEA濃度はstage I・II群で $78.7\pm 28.9\mu\text{g}/\text{g}$, stage III・IV群で $148.5\pm 63.6\mu\text{g}/\text{g}$, stage V群で $54.2\pm 17.0\mu\text{g}/\text{g}$ であり、癌の進行と組織CEA濃度間に相関は見出せなかった。

2. CEAと腫瘍の大きさ(表2)

腫瘍の大きさは縦径 $\times$ 横径(cm^2)で表わされ、10 cm^2 未満、10 cm^2 以上で30 cm^2 未満、30 cm^2 以上の3群に分けられた。表2のごとく、血清CEAはそれぞれの群で $3.9\pm 0.8\text{ng}/\text{ml}$ ・ $9.8\pm 2.1\text{ng}/\text{ml}$ ・ $22.3\pm 6.3\text{ng}/\text{ml}$ と腫瘍が大きくなるにつれて血清CEA値も高くなり、30 cm^2 以上群および10 cm^2 以上30 cm^2 未満群と10 cm^2 未満群の血清CEA間に有意の差が認められた。しかし、組織CEA濃度と腫瘍の大きさとの間には相関は認められなかった。

3. CEAとリンパ節転移(表3)

血清CEA値はリンパ節転移陽性群で $16.4\pm 3.9\text{ng}/\text{ml}$ であり、これに対してリンパ節転移陰性群では $7.6\pm 1.8\text{ng}/\text{ml}$ であり、転移陽性の方が高かった。さ

表2 腫瘍面積とCEA

	血清CEA値 ($\text{M}\pm\text{SE}$, ng/ml)	組織CEA濃度 ($\text{M}\pm\text{SE}$, $\mu\text{g}/\text{g}$)
~ 10 cm^2 12例	$3.9\pm 0.8^{1), 2)}$	104.6 ± 58.7
10 ~ 30 cm^2 25例	$9.8\pm 2.1^{1)}$	115.0 ± 51.8
30 cm^2 ~ 13例	$22.3\pm 6.3^{2)}$	90.0 ± 36.1

1) $p < 0.02$ 2) $p < 0.01$

表3 リンパ節転移の有無とCEA

	血清CEA値 ($\text{M}\pm\text{SE}$, ng/ml)	組織CEA濃度 ($\text{M}\pm\text{SE}$, $\mu\text{g}/\text{g}$)
リンパ節転移 陰性 27例	$7.6\pm 1.8^{1)}$	$75.4\pm 26.9^{2)}$
リンパ節転移 陽性 23例	$16.4\pm 3.9^{1)}$	$142.3\pm 58.3^{2)}$

1) $P < 0.05$ 2) $P : \text{NS}$

らに組織 CEA 濃度もリンパ節転移陽性群で $142.3 \pm 58.3 \mu\text{g/g}$ 、転移陰性群で $75.4 \pm 26.9 \mu\text{g/g}$ と血清 CEA と同様に転移陽性群の組織 CEA 濃度の方が転移陰性群のそれに比べ高かったが、有意の差は認められなかった。

4. CEA と大腸癌の占居部位 (表 4)

大腸癌を右半結腸癌 (盲腸癌・上行結腸癌・右半横行結腸)、左半結腸癌 (左半横行結腸癌・下行結腸癌・S 状結腸癌) と直腸癌の 3 群に分けて CEA との関係を検討した。

表 4 のごとく、血清 CEA 値と組織 CEA 濃度とともに左半結腸癌>直腸癌>右半結腸癌の順であった。stage V を除いた検討でも同様の傾向を示した。

5. 同一大腸癌患者における血清 CEA 値と組織 CEA 濃度の関係 (図 1)

表 4 CEA と大腸癌の占居部位

	血清 CEA 値 ($M \pm SE$)	組織 CEA 濃度 ($M \pm SE$)
右半結腸癌 9 例	$7.9 \pm 2.7 \text{ ng/ml}$	$57.8 \pm 11.3 \mu\text{g/g}$
左半結腸癌 21 例 (18 例)	$14.5 \pm 4.1 \text{ ng/ml}$ ($11.1 \pm 3.4 \text{ ng/ml}$)	$167.9 \pm 68.1 \mu\text{g/g}$ ($183.9 \pm 78.9 \mu\text{g/g}$)
直 腸 癌 20 例 (19 例)	$10.3 \pm 2.8 \text{ ng/ml}$ ($8.5 \pm 2.3 \text{ ng/ml}$)	$62.9 \pm 21.5 \mu\text{g/g}$ ($66.2 \pm 22.4 \mu\text{g/g}$)

() は stage V を除いた例 p: NS

図 1 大腸癌患者の血清 CEA と組織 CEA

図 1 のごとく、血清 CEA 値と組織 CEA 濃度との間の相関係数 r は 0.23 で、両者の間には相関関係は認められなかった。しかし、血清 CEA 値 5 ng/ml と組織 CEA 濃度 $50 \mu\text{g/g}$ を境界にして分析すると、両者の間に相関が認められたので、以下の検討が加えられた。

6. 癌進行度別に見た血清 CEA 陽性率と組織 CEA 陽性率 (表 5)

癌進行度別に組織 CEA 陽性群 (組織 CEA $> 50 \mu\text{g/g}$) と同陰性群 (組織 CEA $< 50 \mu\text{g/g}$) の 2 群における血清 CEA 陽性率 (血清 CEA 値 $\geq 5.1 \text{ ng/ml}$) は表 5 のごとく、stage I・II 群と stage III・IV 群とも組織 CEA 陽性群の方に血清 CEA 陽性例が多く、stage I・II と stage III・IV 群では組織 CEA 陽性群の方に同陰性群に比べて、有意に血清 CEA の陽性率が高かった。

7. 組織 CEA の局在 (特に癌腺腔内 CEA 陽性物質の存在) と血清 CEA の陽性率 (写真 1, 表 6)

写真 1 では大腸癌腺腔内に CEA 陽性物質の貯留を示している。なお、腺腔に並んでいる癌細胞は CEA 陽性であり、腺構造が保たれていた。組織上、癌腺腔

表 5 血清 CEA 陽性率と組織 CEA 濃度

	組織 CEA $50 \mu\text{g/g}$ 以上 (血清 CEA 陽性例数 / 症例数)	組織 CEA $50 \mu\text{g/g}$ 未満 (血清 CEA 陽性例数 / 症例数)
stag I・II 25 例	75 % ¹⁾ (8 / 8)	24 % ¹⁾ (4 / 17)
stag III・IV 21 例	64 % ²⁾ (7 / 11)	10 % ²⁾ (1 / 10)
stage V 4 例	100 % (3 / 3)	100 % (1 / 1)

¹⁾ $p < 0.05$ ²⁾ $p < 0.05$

写真 1 大腸癌組織の CEA 染色

A: 癌腺腔内に濃染した CEA 陽性物質

B: 濃染した大腸癌腺構造にある CEA 陽性物質

表6 血清 CEA と癌腺腔内 CEA 陽性(酵素抗体法による)

	血清 CEA陽性例/ 症例数	血清 CEA陽性率
腺腔内 CEA 陰性	1/ 14	7 %
腺腔内 CEA 陽性	8/ 13	62 %

* $p < 0.005$

表7 癌腺腔内 CEA 陽性と同一組織 CEA 濃度

	組織 CEA 濃度
癌腺腔内 CEA 陽性例 (13 例)	101.6 ± 43.7 μ g/g
癌腺腔内 CEA 陰性例 (14 例)	60.5 ± 11.7 μ g/g
	p : NS

内に CEA 陽性物質が広汎に認められる例を“癌腺腔内 CEA 陽性”とし、ごくわずかに認められるか、まったく認められない例を“陰性”とした。その結果は表6のごとくで、“癌腺腔内 CEA 陽性”13例では血清 CEA が 5.1ng/ml 以上の血清 CEA 陽性例 8 例 62% に存在したのに対し、“癌腺腔内 CEA 陰性”14例では血清 CEA 陽性例はわずか 1 例にすぎず、“癌腺腔内 CEA 陽性”例と“同陰性”例との血清 CEA 陽性率の間に有意の差が認められた。

また、“癌腺腔内 CEA 陽性”例と“同陰性”間の組織 CEA 濃度差は表7のごとくであった。“癌腺腔内 CEA 陽性”例の組織 CEA 濃度は“同陰性”例のそれに比べ高かったが、有意の差は認められなかった。

IV 考 察

血清 CEA 上昇因子には、(1) 癌の進行、すなわち腫瘍量、(2) 癌組織内 CEA 濃度、(3) 腸管の閉塞程度、(4) CEA の血中への移行の難易度などがあげられる。腫瘍量と血清 CEA および組織 CEA 濃度の関係をみるために、1) 大腸癌取り扱い規約による癌進行度、2) 腫瘍の大きさ、3) リンパ転移の有無により腫瘍量をあらわした。癌の進行とともに血清 CEA が上昇するとされているが、今回のデータでも同様であった。ただ、進行群の組織 CEA 濃度はかならずしも高くはないことが注目された。原発腫瘍の大きさと血清 CEA との関係を検討した報告^{3)~5)}ではこれらが相関するものとするものと、これを否定するものの2者に分れる。本検索では原発腫瘍の大きさとともにやはり血清 CEA 値は上昇したが、組織 CEA 濃度の上昇は認められなかった。

次に、リンパ節転移も血清 CEA 上昇因子となりうるということが認められた。とくにここで注目されたのは、リンパ節転移陽性大腸癌の組織 CEA 濃度が陰性のそれに比べて高かった事である。組織 CEA 濃度の高い大腸癌ではリンパ節転移がおりやすいとは速断しえないが、今後の検討課題と思われる。

組織 CEA 濃度と血清 CEA 値との関係について、両者の間に関係がないという報告⁶⁾がある。今回のデータでも癌の病期を考慮しないと血清 CEA 値と組織 CEA 濃度の相関は認められなかった。従来の報告では血清 CEA 値と組織 CEA 濃度をみる時に癌の病期は考慮されていない。癌の病期を考慮して比較すると、血清 CEA の陽性率と組織 CEA の陽性率に有意の相関が認められた(stage I・II 群と stage III・IV 群) Wagener⁷⁾ らによると組織 CEA の陽性は 30 μ g/g 以上とし、血清 CEA の陽性に相関すると述べ、今回の著者のデータとよく一致していた。

癌占居部位と血清 CEA の検討では諸家の報告も^{3)~5)} 著者らと同様に左半結腸癌が右半結腸癌より血清 CEA が高い傾向を示している。また、直腸癌の血清 CEA であるが、S 状結腸癌と直腸癌の血清 CEA 間には差はなく、直腸癌の方がやや低かったとの報告⁵⁾もある。著者らは人工肛門作製のみにより血清 CEA が低下した大腸癌症例を経験した。したがって狭窄症状がより強くでる肛門側に近い大腸癌症例において血清 CEA が高くなるのではないかと推察される。さらに血清 CEA が最高であった左半結腸癌の組織 CEA 濃度は最高であったこと最低の血清 CEA 値を示した右半結腸癌の組織 CEA 濃度が最低であったことより、癌占居部位間の血清 CEA の差には組織 CEA 濃度が関与していると考えられた。

“癌腺腔内 CEA 陽性”大腸癌患者の血清 CEA が“癌腺腔内 CEA 陰性”大腸癌患者の血清 CEA より有意に高かった今回の成績は、Wagener らの報告とよく一致していた。“癌腺腔内 CEA 陽性”と血清 CEA の陽性とがよく一致する条件としては、(1) “癌腺腔内 CEA 陽性”組織の CEA 濃度は“癌腺腔内 CEA 陰性”組織の CEA 濃度に比べ高いこと、(2) “癌腺腔内 CEA 陽性”は CEA が血中に移行しやすい局在様式であること、(3) “癌腺腔内 CEA 陽性”物質は NCA を含んでおり、NCA が血清 CEA を上昇させること、以上3つの条件が考えられる。Wagener らは(1)の理由、“癌腺腔内 CEA 陽性”を示す大腸癌の組織 CEA 濃度が高いによると述べた。しかし、著者の検討では Wagener ら

ほど CEA 濃度に差は認められなかった。(2)については仮説のみで、今回の検討では断定しえなかった。(3)については用いた抗血清より NCA を除いていることより可能性は少いと考えられる。

V おわりに

大腸癌患者の血清 CEA 上昇因子を分析するために大腸癌50例を対象にして血清 CEA 値と組織 CEA 濃度を同時に測定し、次の結論を得た。

1. 血清 CEA 値は腫瘍量の増大とともに上昇した。組織 CEA 濃度はリンパ節転移とのみ、ともに上昇した。

2. 血清 CEA 値と組織 CEA 濃度ともに左半結腸癌では最高、右半結腸癌では最低であった。

3. 癌の病期別の血清 CEA 陽性率と組織 CEA 陽性率はよく相関した。組織 CEA 濃度が $50\mu\text{g/g}$ 以上になると血清 CEA が陽性を示すことが多かった。

4. “癌腺腔内 CEA 陽性”を示す大腸癌患者の血清 CEA 陽性率は“癌腺腔内 CEA 陰性”大腸癌患者のそれに比べ、有意に高かった。

本文の要旨は、第82回日本外科学会総会(於：千葉、1982年)において発表した。

文 献

- 1) 小島 治, 北川直樹, 栗本貴志ほか: 各種大腸疾患における組織 CEA の臨床的意義—酵素抗体法ならびに R.I.法による検討. 医のあゆみ 116: 997—999, 1981
- 2) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 東京, 1977
- 3) 佐々木喬故, 丸山雅一, 舟田 彰ほか: 大腸癌血漿 CEA 値. 胃と腸 12: 253—261, 1977
- 4) Martin EW, Kibbey WE, DiVecchia L, et al: Carcinoembryonic antigen-clinical and historical aspects. Cancer 37: 62—81, 1976
- 5) Livingstone AS, Hampson LG, Shuster J, et al: Carcinoembryonic antigen in the diagnosis and management of colorectal carcinoma. Arch Surg 109: 259—264, 1974
- 6) 宮崎 勝, 藤本 茂, 橋川征夫ほか: 胃癌患者における組織内 Carcinoembryonic antigen (CEA) 値の検討—とくに血中の CEA 値および腫瘍組織像との関連について. 癌の臨 25: 1469—1474, 1979
- 7) Wagener C, Müller-Wallraf R, Nisson S, et al: Localization and concentration of carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal tumors: Correlation with CEA levels in plasma. J Natl Cancer Inst 62: 539—541, 1981