技術報告

新しい CEA リアキットの検討†

金森勇雄, 中野 哲, 矢橋俊丈, 松尾定雄, 川瀬明子,
柳瀬みき子, 服部由美子, 樋口ちづ子
大垣市民病院放射線科
503 大垣市南瀬町 4-86
1983年10月6日 受理

Key Words: carcinoembryonic antigen, radioimmunoassay

1. はじめに

種々の悪性腫瘍において、血清がん胎児性抗原 (CEA)、血清 α -フェトプロテイン (AFP)、血清フェリチン、血清 β_2 -マイクログロブリンなどが増量することが知られ、われわれもそれらにつき報告してきた^{1)~4)}。

このようにヒトの悪性腫瘍の免疫学的方法を用いて診断に供する、いわゆる腫瘍マーカーといわれるものは現在のところ十数種類考えられているが、実際にラジオイムノアッセイ (RIA) で臨床的に用いられているものは比較的少なく、このうちでも RIA で繁用されているものは CEA であり、測定に供されるリアキットの改良開発も多くなされてきている^{5)~8)}。

今回われわれは、新たにビーズ法によるリアキット (ダイナボット社製) を入手する機会を得たので、そのキットについて若干の基礎的および臨床的検討を行ったので報告する。

2. 対象および方法

大垣市民病院を受診した患者血清と当院職員の血清を用いた。採血は肘静脈よりとし、血清は可及的速やかに分離し-20°C で保存、測定時に室温にもどし二重測定した。

† Fundamental Studies of RIA Kit for Serum CEA. Isao KANAMORI, Satoshi NAKANO, Toshitake YABASHI, Sadao MATSUO, Akiko KAWASE, Mikiko YANASE, Yumiko HATTORI and Chizuko HIGUCHI: Dept. of Radionuclear Medicine, Ohgaki Municipal Hospital, 4-86, Minaminokawamachi, Ohgaki-shi 503.

Fig. 1 Assay procedure of CEA.

対象は健常者122例 (男66例, 女56例), 非がん患者41例 (胃腸炎4例, 胃潰瘍5例, 胆嚢結石10例, 急性肝炎7例, 慢性肝炎10例, 肝硬変5例), 悪性腫瘍患者124例 (肺がん21例, 胃がん41例, 肝細胞がん19例, 膵がん17例, 大腸がん26例) を対象とした。

測定方法は Fig. 1 に示すように、2回のインキュベーションは共に2~3時間で終了することができ、1日の作業時間内に測定結果を得ることが可能である。

検討項目は、標準曲線の再現性、インキュベーション時間、同時および日差再現性、回収率、希釈試験、本法と他のリアキットとの相関、および正常域と各種疾患の血中 CEA 値である。

Fig. 2 Standard curve.

Fig. 3 Incubation time.

3. 結 果

3.1 標準曲線

Fig. 2 に示すように、各 CEA 濃度における $B-B_0/T$ (%) の $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ は 1.0 ng/ml で 0.062 ± 0.008 (%), 500 ng/ml で 33.02 ± 1.316 (%) となり、良好な勾配が認められた。また、各測定濃度における変動係数 (C.V.) は $4.0 \sim 12.9$ % の間にあった。

3.2 インキュベーション時間

Fig. 3 に示すように、第 1 回および第 2 回インキュベーションはともに 30 分～2 時間の間で $B-B_0/T$ (%) の上昇が認められ、以後 8 時間まではほぼ安定したプラトー状態を示している。

Table 1 Reproducibility

Intraassay variance

Tube No.	New CEA (ng/ml)		
	Sample A	Sample B	Sample C
1	1.3	31.6	101.7
2	1.5	31.5	88.2
3	1.4	32.4	83.7
4	1.3	33.3	90.2
5	1.3	30.2	91.0
6	1.4	29.3	93.2
7	1.2	33.5	100.9
8	1.5	33.7	100.0
9	1.1	32.3	92.7
10	1.3	32.5	92.2
Mean	1.3	32.0	93.4
S.D.	0.1	1.4	5.8
C.V.(%)	7.7	4.4	6.2

Interassay variance

Assay day	New CEA (ng/ml)		
	Sample A	Sample B	Sample C
1	1.3	33.0	84.3
2	1.2	31.5	91.0
3	1.2	31.7	94.5
4	1.5	28.4	84.7
5	1.4	32.9	91.7
6	1.4	31.7	93.3
Mean	1.3	31.5	89.9
S.D.	0.1	1.7	4.4
C.V.(%)	7.7	5.4	4.9

3.3 再現性

Table 1 に示すように、同時再現性の C.V. はおのおのの試料血清で 7.7% , 4.4% , 6.2% であった。また、測定日を変えての日差再現性は 7.7% , 5.4% , 4.9% であり、両者とも良好な値であった。

3.4 回収率

試料血清 3 種 (D, E, F) の回収率はおのおの $93.5 \sim 107.4\%$, $84.6 \sim 113.0\%$, $85.7 \sim 105.8\%$ の間にあり、平均値は 99.7% , 98.4% , 96.2% であり、ほぼ満足すべき値であった。

3.5 希釈試験

標準 CEA 溶液 0 ng/ml を希釈液にした希釈試験を

Fig. 4 Dilution test.

Fig. 4 に示す。血清、胸水、腹水はともにほぼ原点に集束する満足すべき直線性が得られたが、胆汁は4倍希釈まで希釈効果が認められず、4~16倍の間ではほぼ満足すべき直線性が認められた。

3・6 本法と他の CEA リアキットとの相関

3・6・1 本法と従来法(ダイナボット社製)との相関

両者間の相関係数は $r=0.839$ ($p<0.01$, $n=86$) であり、推計学的に有意な正の相関が認められた (Fig. 5)。

3・6・2 本法と他のビーズ法(第1 RI 社製)との相関

両者間の相関係数は $r=0.934$ ($p<0.01$, $n=156$) であり、推計学的に有意な正の相関が認められた (Fig. 6)。

3・6・3 本法と二抗体法(栄研社製)との相関

両者間の相関係数は $r=0.760$ ($p<0.01$, $n=55$) であり、推計学的に有意な正の相関が認められた (Fig. 7)。

Fig. 5 Correlation between two methods.

Fig. 6 Correlation between two methods.

Fig. 7 Correlation between two methods.

3・7 正常域および各種疾患の血中 CEA 値

Fig. 8 に示すように、健常者と思われる当院職員の早朝空腹時の血中 CEA 値は $0.4 \sim 4.2$ ng/ml の間に分布し、 $\text{mean} \pm 2 \text{ S.D.}$ は 1.54 ± 1.48 ng/ml ($n=122$) であった。

正常域を 2 S.D. の上限 3.02 ng/ml とすると、非がん患者で正常域を超えるものは胃腸炎で4例中1例 (25%)、胃潰瘍5例中1例 (20%)、胆嚢結石10例中2例 (20%)、急性肝炎7例中4例 (57%)、慢性肝炎10例中4例 (40%)、肝硬変5例中2例 (40%) であり、全体では41例中14例 (34%) であった。しかし、 10 ng/ml 以上を示す症例は認めなかった。

悪性腫瘍患者で 3.02 ng/ml 以上を示した症例は124例中70例 (56.4%) であり、 10 ng/ml 以下を示す症例は124例中30例 (24%) であった。各疾患で正常域を超える割合は結腸がんの26例中19例 (73%) が最も多く、ついで肺癌17例中11例 (64%)、肝細胞がん19例中10例 (53%)、肺がん21例中11例 (52%)、胃がん41例中19例 (46%) の順であった。

4. 考 察

CEA は幅広い悪性腫瘍の検索に代表的な腫瘍マーカーとして臨床面に供されてきている^{1)~4)}。

この CEA の定量的測定には RIA が最も多く用いられており、測定に供するリアキットも数多く市販され、漸次改良がなされつつある。

測定時間も24時間^{5),7)}を要するのが一般的であるに比し、本法では1日の作業時間中に測定結果が得られ、操作も簡便化していると考えられる。また、測定に要する血清も 0.5 ml ⁶⁾、 0.1 ml ⁷⁾ が一般的であるに比し本法では 0.05 ml で測定可能である。このことは他の腫瘍マーカーの同時測定による診断率の向上が提唱されている今日^{2)~4)}、測定に供する血清量の微量化に寄与している。

Fig. 8 Serum CEA in the various benign and malignant diseases.

リアキットの基礎的検討で最も重要な指標である標準曲線の C.V. は、一般的に10%以内^{5)~8)}であれば満足し得るものであると考えるが、本法もほぼこの範囲内にあり、問題なく測定し得るものと考えられる。

本法と同一方法であるプラスチックビーズ法による CEA キット⁸⁾が市販されているが、これは同時再現性 5.3~7.1%⁸⁾、日差再現性 4.2~10.5%⁸⁾、回収率 83.4~113.3%⁸⁾であり、本法とはほぼ同様な値が得られている。

希釈試験はキットのときの定量的に測定し得る無希釈操作での最高測定可能濃度を知るに適した方法であると考え、二抗体法は優れ⁷⁾、ペーパディスク法⁵⁾やビーズ法⁸⁾は一般的に劣る場合が多い。しかし、本法はビーズ法の欠点が大きく改善され、500 ng/ml までの血清 CEA 濃度であれば定量的に測定を可能にしている。ただ本法は他のリアキットに比しやや高値を呈する傾向があると思われる。

一方、正常域(基礎値)はリアキットにより異なるが、健常者の mean±2S.D. はディスク法 0.96±1.26 ng/ml⁵⁾、Z-Gel 法 2.95±2.22 ng/ml⁶⁾、二抗体法 1.83±1.34 ng/ml⁷⁾、プラスチックビーズ法 2.40±1.9 ng/ml⁸⁾である。また、血中 CEA 値は加齢とともに上昇する傾向⁹⁾や、喫煙者は非喫煙者に比し僅かではあるが高値を示す傾向⁹⁾があることから、正常域の判定にはこれらを合わせ考慮する必要があると考えられる。

非がん患者の陽性率は 32.3%¹⁾、60.7%⁷⁾、27.1%⁸⁾とわれわれは報告してきたが、今回も正常域を超える症例があり、前回の検討とまったく同様な傾向を示している。

ついで、悪性腫瘍患者全体での陽性率でもわれわれは、59.0%⁷⁾、50.3%⁸⁾と報告してきたが、今回はほぼ同様な傾向であった。このことは CEA についても false negative と false positive の存在を認識し、一つの腫瘍マーカーとして、病態の経過観察⁹⁾も含め、AFP、フェリチン、β₂-ミクログロブリン等の他の検査も加えることにより診断率向上に努めるべきであると考える。

5. まとめ

今回われわれは、新しく開発された CEA キット(ダイナボット社製)の検討を行い、つぎの結論を得た。

(1) 標準曲線の再現性(C.V.)は4.0~12.9%の間にあり、非常に良好であった。

(2) インキュベーション時間は2~3時間で非常に安定した状態を示した。

(3) 同時再現性(C.V.)は4.4~7.7%、日差再現性は4.9~7.7%、回収率の平均は96.2~99.7%の間にあり、ともに満足すべき値であった。

(4) 希釈試験は満足すべき直線性が得られた。

(5) 本法と他のリアキットとの相関係数は $r=0.839$ 、 $r=0.934$ 、 $r=0.760$ と有意な相関($p<0.01$)が認められた。

(6) 健常者の血中 CEA 値は 1.52 ± 1.48 ng/ml (mean±2S.D.)、良性および悪性患者全体での陽性率はおおの34%、56.4%であった。

以上のように、本法の再現性は良好であり、他のリアキットと同様に臨床に使用し得るものと考えられる。

文 献

- 1) 金森勇雄, 他: 日本放射線技師会誌, **26**, 10~15 (1979)
- 2) 中野 哲, 他: 臨床成人病, **10**, 171~78(1980)
- 3) 中野 哲, 他: 同上, **10**, 159~63 (1980)
- 4) 熊田 卓, 他: 日本消化器病誌, **78**, 2367~74 (1981)
- 5) 金森勇雄, 他: 日本放射線技師会誌, **26**, 9~13 (1979)
- 6) 松尾定雄, 他: 医科学と臨床検査, **5**, 579~87 (1981)
- 7) 金森勇雄, 他: 日本放射線技師会誌, **29**, 20~24 (1982)
- 8) 金森勇雄, 他: 医学と薬学, **9**, 1848~54 (1983)
- 9) 近藤 哲, 他: 日本消化器外科誌, **16**, 453 (1983)