原 著

乳癌における腫瘍マーカーBCA 225の血清および免疫組織学的検討

国立病院四国がんセンター外科

土井原 博 義 高 嶋 成 光 横 山 伸 二
曾 我 浩 之 栗 田 啓 多幾山 渉

乳癌における腫瘍マーカーBCA 225について血清学的および免疫組織学的に検討した。その結果、陽性率は原発性乳癌では10.2%、再発乳癌では62.1%となっており、再発乳癌で有意に高かった。またBCA 225とCEA, CA15-3によるcombination assayでは原発性乳癌の陽性率21.9%、再発乳癌82.8%となっており、原発性乳癌においてその有用性は乏しいが、再発乳癌では早期診断および治療効果のモニタリングに有用であろう。

モノクローナル抗体CU18, CU46による免疫染色ではそれぞれ84.8%, 81.8%の陽性例がみられたが、血清値との相関はみられなかった。また陽性例では細胞質のほうが細胞膜より陽性を示す例が多かった。組織型、病期との相関はみられなかったが、免疫染色も乳癌の診断の1つの方法として有用であろう。

今後、術後再発のモニタリング、治療効果の判定の指標としての検討が必要である。

索引用語：乳癌, BCA 225, モノクローナル抗体CU18およびCU46

緒 言

乳癌における腫瘍マーカーはCA15-3, CEA, NCC-ST-439などが代表的であるが、原発性乳癌に対する陽性率は低く、超音波、マンモグラフィーなどの補助診断に比し、その有用性は乏しい。しかし再発、進行乳癌における陽性率は高く、治療のモニタリングには簡便で非侵襲的な検査法である。

今回われわれは、1983年 Mesa-Tejada ら¹⁾によって開発された2種類のモノクローナル抗体CU18, CU46よりなる腫瘍マーカーBCA 225の血清濃度を原発性乳癌、再発乳癌、乳腺良性疾病、消化器悪性腫瘍について測定し、その臨床的意義を検討するとともに免疫組織染色を行い、血清値と比較検討した。また、原発性乳癌、再発乳癌において従来より使用されているCEA, CA15-3も同時に測定し、BCA 225と比較検討したので報告する。

対象および方法

対象は原発性乳癌128例、再発乳癌29例、乳癌術後で外来 follow up 中の無再発185例、生検にて病理診断の明らかな乳腺良性疾病29例（乳腺症23例、線維腺腫3

例、乳管内乳頭腫3例）および消化器癌72例（胃癌44例、大腸癌10例、食道癌10例、肝癌6例、膵癌2例）である。

BCA 225（中外製薬提供）の測定はCU18およびCU46の2種のモノクローナル抗体を用いたワンステップサンドイッチenzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) 法により、CA15-3はradio immunoassay (RIA) 法、CEAはenzyme immunoassay (EIA) 法にて行った。BCA 225のcut off 値は石ら²⁾の報告により160.0U/mlとし、CA15-3は25.0U/ml、CEAは5.0ng/mlとした。また原発性乳癌において血清BCA 225陽性13例と陰性20例についてはモノクローナル抗体CU18およびCU46を一次抗体としたabidin-biotin peroxidase complex method (ABC法)にて免疫染色を行った。判定は癌細胞の細胞膜および細胞質のいずれも染色されていないものを陰性、全体の癌細胞数の50%未満が染色されているものを弱陽性、50%以上を強陽性とした。

なお臨床病理学的因子は乳癌取扱規約（第11版）の通りに、また統計的解析の方法は陽性症例数について χ^2 検定を用い、 $p < 0.05$ の時に有意差ありと判定した。

1993年2月10日受付 1993年6月15日採用

表 1 疾患別にみた BCA 225 の平均値と陽性率

	平均値±S.D. U/ml (最小値～最大値)	陽性例 (%)
原発性乳癌 (N=128)	72.9±55.0 (21.2～323.0)	13 (10.2)
再発乳癌 (N=29)	430.6±653.1 (19.1～2694.4)	18 (62.1)
乳癌術後無再発 (N=185)	63.6±46.6 (18.2～372.2)	10 (5.4)
乳腺良性疾患 (N=29)	71.0±49.4 (18.5～203.0)	3 (10.3)
乳腺症 23		3
線維腺腫 3		0
乳頭腫 3		0
消化器癌 (N=72)	60.0±53.3 (11.8～329.9)	3 (4.2)
胃癌 44		1
大腸癌 10		0
食道癌 10		0
肝癌 6		1
肺癌 2		1

*: p<0.01

疾患別にみた BCA 225 の平均値は原発性乳癌では 72.9U/ml, 再発乳癌 430.6U/ml, 乳癌術後無再発 63.6 U/ml, 乳腺良性疾患 71.0U/ml, 消化器癌 60.0U/ml となっており, 再発乳癌において明らかに高値を示した。また陽性率は再発乳癌 62.1% で原発性乳癌 10.2%, 乳癌術後無再発 5.4% より有意に高くなっていたが, 原発性乳癌と術後無再発の間には差はみられなかった。なお乳腺症において 23 例中 3 例に陽性例がみられ, 消化器癌では胃癌, 肝癌, 肺癌にそれぞれ 1 例ずつ陽性例がみられた (表 1)。

原発性乳癌において臨床病理学的因子と BCA 225 の平均値および陽性率についてみると腫瘍径 (T) では T が大きくなるにつれて平均値も高くなっており, T4 症例で 7 例中 2 例 (28.6%) が陽性となっていたが, 有意差はみられなかった。

組織学的リンパ節転移 (n) でも同様に転移が高度になるにつれて平均値は高くなっており, n2 症例で 15 例中 4 例 (26.7%) が陽性となっていたが, 有意差はみられなかった。

臨床病期では病期 III の平均値が 103.7U/ml と最も高く, 陽性率はそれぞれ病期 I 5.7%, 病期 II 9.9%, 病期 III 15.8% と病期が進むにつれ, 陽性率が高くなっていたが, 有意差はみられなかった。

表 2 原発性乳癌における臨床病理学的因子と BCA 225 の平均値および陽性率

	平均値±S.D. U/ml (最小値～最大値)	陽性例 (%)
Tis	91.9±103.2 (31.0～211.0)	1/3 (33.3)
T 1	54.7±36.9 (21.5～185.0)	2/35 (5.7)
T 2	72.7±51.3 (21.2～237.0)	7/71 (9.9)
T 3	102.0±82.5 (27.9～323.0)	1/12 (8.3)
T 4	106.6±67.2 (26.6～207.3)	2/7 (28.6)
n 0	64.8±47.8 (21.2～211.0)	6/70 (8.6)
n 1 α	72.6±48.6 (21.5～193.8)	2/31 (6.5)
n 1 β	76.0±58.3 (34.9～237.0)	1/12 (8.3)
n 2	108.7±82.8 (37.1～323.0)	4/15 (26.7)
病期 I	54.7±36.9 (21.5～185.0)	2/35 (5.7)
病期 II	72.3±51.3 (21.2～237.0)	7/71 (9.9)
病期 III	103.7±75.3 (26.6～323.0)	3/19 (15.8)
乳頭腺管癌	68.3±46.6 (21.2～211.0)	2/29 (6.9)
充実腺管癌	60.0±37.3 (22.7～172.2)	1/25 (4.0)
硬癌	81.9±64.9 (26.2～323.0)	9/55 (16.4)
粘液癌	41.1±6.9 (34.9～50.5)	0/6 (0.0)
髄様癌	68.8±50.1 (22.7～157.0)	0/10 (0.0)
小葉癌	47.5 (47.5)	0/1 (0.0)
扁平上皮癌	179.7±39.1 (152.0～207.3)	1/2 (50.0)

組織型では乳頭腺管癌の平均値が 68.3U/ml, 充実腺管癌 60.0U/ml, 硬癌 81.9U/ml, また陽性率は乳頭腺管癌 6.9%, 充実腺管癌 4.0%, 硬癌 16.4% となっており, 硬癌でやや高い陽性率を示したが, 有意差はみられなかった (表 2)。

原発性乳癌, 再発乳癌について各種腫瘍マーカーの陽性率をみるとまず原発性乳癌では BCA 225 10.2%, CA15-3 11.7%, CEA 8.6% で差はなく, また 2 種の combination assay では BCA 225+CA 15-3 が 17.2% と最も高く, 3 種では 21.9% となっていた。再発乳癌では BCA 225 62.1%, CA 15-3 75.9%, CEA 58.6% となっており, CA15-3 が最も高値を示したが, 有意差はなかった。2 種の combination assay では BCA 225+CA 15-3 が 82.8% で最も高く, 3 種によるものと同じ値を示した (表 3)。

次に再発乳癌において主転移臓器と各種腫瘍マーカーの陽性率について検討した。軟部組織ではいずれの腫瘍マーカーも 3 例中 1 例にのみ陽性で陽性率は 33.3% であった。肺転移では CA 15-3 が 71.4% で最も高く, 続いて BCA 225 42.9%, CEA 57.1% となっており, CA 15-3 の陽性率が最も高値を示した。肝転移ではいずれの腫瘍マーカーも 100% 陽性となっており, 骨転移では CA 15-3 が 78.6% で最も高く, BCA 225 は 64.3% となっていた。BCA 225 は CA15-3 と同様に肝転移お

表3 原発性乳癌，再発乳癌における各腫瘍マーカーの陽性率

	BCA 225	CA 15-3	CEA	BCA 225 + CA 15-3	BCA 225 + CEA	CA 15-3 + CEA	BCA 225 +CA 15-3 +CEA
原発性乳癌 (N=128)	13 (10.2)	15 (11.7)	11 (8.6)	22 (17.2)	21 (16.4)	21 (16.4)	28 (21.9)
再発乳癌 (N=29)	18 (62.1)	22 (75.9)	17 (58.6)	24 (82.8)	23 (79.3)	22 (75.9)	24 (82.8)

(%)

表4 再発乳癌における主転移臓器別にみた各腫瘍マーカーの平均値と陽性率

	BCA 225	CA 15-3	CEA
	平均±S.D. U/ml 陽性例 (%)	平均±S.D. U/ml 陽性例 (%)	平均±S.D. ng/ml 陽性例 (%)
軟部組織 (N=3)	327.3±477.4 1 (33.3)	68.5±96.4 1 (33.3)	8.6±10.6 1 (33.3)
肺 (N=7)	133.1±45.6 3 (42.9)	46.6±25.9 5 (71.4)	8.1±7.6 4 (57.1)
肝 (N=3)	613.5±704.3 3 (100.0)	725.8±1047.4 3 (100.0)	48.5±63.8 3 (100.0)
骨 (N=14)	452.4±710.7 9 (64.3)	148.1±146.7 11 (78.6)	24.1±39.0 8 (57.1)
腹 膜 (N=1)	206.9 1 (100.0)	96.3 1 (100.0)	1.8 0 (0.0)
全 身 (N=1)	2193.5 1 (100.0)	1391.8 1 (100.0)	13.4 1 (100.0)

図1 モノクローナル抗体 CU18による免疫染色：癌細胞の細胞膜および細胞質が陽性像を示す (ABC法：×200)。

および骨転移で陽性率が高い傾向がみられた(表4)。なお測定時 complete response (CR) 症例は3例あり、今回の検討から除外しているが、いずれの腫瘍マーカーも陰性であった。

次に血清 BCA 225の濃度とモノクローナル抗体 CU 18および CU 46による免疫染色との相関を検討した。図1にモノクローナル抗体 CU 18にて行った免疫染色陽性例を示すが、大部分の癌細胞の胞体および細胞膜が染色されており、強陽性と判定した。まず血清 BCA 225陽性13例では CU18陽性は12例、92.3%、CU 46陽性は11例、84.6%となっていた。血清 BCA 225陰性20例では CU 18および CU 46いずれも陽性は16例、80.0%となっていた。血清 BCA 225陽性例の方がやや免疫染色においても陽性率が高かったが、血清濃度と組織における発現の間には明らかな相関はみられなかった。また免疫染色による細胞膜と細胞質の陽性率の比較では CU 18、CU 46いずれも血清濃度と関係なく、細胞質のほうが細胞膜より陽性率が高かった(表5)。

表5 モノクローナル抗体 CU 18, CU 46による免疫染色と血清濃度との相関

	CU 18			CU 46		
	陽性例	細胞膜 陽性例	細胞質 陽性例	陽性例	細胞膜 陽性例	細胞質 陽性例
血清 BCA 225 陽性例 (N=13)	12 (92.3)	7 (53.8)	11 (84.6)	11 (84.6)	5 (38.5)	11 (84.6)
血清 BCA 225 陰性例 (N=20)	16 (80.0)	9 (45.0)	13 (65.0)	16 (80.0)	11 (55.0)	15 (75.0)
計 (N=33)	28 (84.8)	16 (48.5)	24 (72.7)	27 (81.8)	16 (48.5)	26 (78.8)

(%)

組織型および病期と免疫染色陽性率の関係は CU 18および CU 46いずれも硬癌が86.7%と最も陽性率が高く、続いて乳頭腺管癌85.7%、充実腺管癌71.4%となっていた。病期との関係では病期Ⅲで CU 18が100%となっていたが、他はいずれも80%前後の陽性率であり、病期と免疫染色陽性率の間には明らかな相関はみられ

表 6 組織型および病期とモノクローナル抗体 CU 18, CU 46 による免疫染色陽性例との相関

	CU 18	CU 46
乳頭腺管癌 (N = 7)	6 (85.7)	6 (85.7)
充実腺管癌 (N = 7)	5 (71.4)	5 (71.4)
硬 癌 (N = 15)	13 (86.7)	13 (86.7)
特 殊 型 (N = 4)	4 (100.0)	3 (75.0)
病期 I (N = 14)	12 (85.7)	11 (78.6)
病期 II (N = 14)	11 (78.6)	12 (85.7)
病期 III (N = 5)	5 (100.0)	4 (80.0)

なかった (表 6)。

考 察

乳癌における腫瘍マーカーは CA 15-3, CEA, NCC-ST-439 などが主に測定されているが、原発性乳癌における陽性率はそれぞれ 2.3~20.4%, 8.5~12.1%, 34.6~41.9% と報告されており³⁾⁻⁷⁾, マンモグラフィ, 超音波などの補助診断が正診率 80~90% であるのに比し, その診断的意義は低い。しかし再発乳癌症例における陽性率は 50~70% と報告されており³⁾⁻⁷⁾, 再発診断あるいは治療効果のモニタリングには有用であり, また非侵襲的で簡便な方法である。

BCA 225 はモノクローナル抗体 CU 18 および CU 46 からなる乳癌特有の腫瘍マーカーで, これらはヒト乳癌細胞株 T47D clone 培養上清を免疫源として作成されたマウスハイブリドーマから産生されるモノクローナル抗体で乳癌に特異的であるとして最近になってその報告が散見される。

BCA 225 の原発性乳癌における陽性率は 8.6%~20.0% と報告されているが⁷⁾⁻⁹⁾, われわれの検討でも 10.2% に陽性例がみられたのみで CA 15-3 および CEA との combination assay では陽性率 21.9% となっていた。特に病期 I あるいは組織学的リンパ節転移のない症例では, 陽性率が 10% 未満となっており, その診断における有用性は他の腫瘍マーカーと同様に乏しいものと思われる。一方, 再発乳癌では陽性率が

55.0%~70.0% と報告されており⁷⁾⁻¹⁰⁾, われわれの検討と同様であったが, CEA, CA15-3 との combination assay では 82.8% となっており, 再発診断および治療効果のモニタリングとしてその有用性がうかがえる。特に肝転移あるいは骨転移を有する症例では, 陽性例が多く, また高値を示した。

免疫組織学的には Loy ら¹¹⁾ がモノクローナル抗体 CU 18 を使って 446 例の腺癌症例について免疫染色を行っているが, 乳癌では 98% が陽性を示し, 腎癌 94%, 卵巣癌 80%, 肺癌 74% となっており, 腺癌細胞には特有であるが, 乳癌に対する特異性は低いと報告している。また Mesa-Tejada ら¹²⁾ は乳癌において 93.8% が陽性であったとし, 特に細胞内に局在を示すのが乳癌に特徴的であると報告している。われわれの検討でもモノクローナル抗体 CU 18 に対しては 84.8% が陽性, CU 46 に対しては 81.8% が陽性であった。正常乳管上皮においても apical surface がしばしば陽性に染色されていたが, 癌細胞における陽性例はいずれも細胞質のほうが細胞膜より陽性を示す例が多かった。また免疫染色による組織発現と血清 BCA 225 の濃度あるいは組織型, 病期との間には明らかな関連はみられなかった。組織での発現率が高いのに比し, 血清陽性率が低いのは腫瘍量が関係しており, 癌細胞のもつ BCA 225 の血中へ流出する量が少ないのが原因であろう。他臓器における組織染色を行っていないので BCA 225 の乳癌特異性は結論できないが, 免疫染色も診断の 1 つの方法として有用であると考ええる。

乳癌における腫瘍マーカーは BCA 225 を含め, 種々あるが, いずれも原発性乳癌に対する陽性率は低く, その有用性は乏しい。しかし再発乳癌に対する陽性率は高く, さらに combination assay で行えば陽性率の向上がみられ, より早期の再発診断, 治療が可能となるであろう。また今後は術後再発のモニタリング, 治療効果の判定の指標としての検討が必要であろう。

結 語

乳癌における腫瘍マーカー BCA 225 について血清および免疫組織学的に検討した。原発性乳癌における陽性率は 10.2% で有用性に乏しいが, 再発乳癌では 62.1% で高値を示した。免疫組織学的には約 80% が陽性に染色されたが, 血清濃度との間には明らかな相関がみられなかった。

文 献

- 1) Mesa-Tejada R, Keydar I, Ramanarayanan M, et al: Detection in human breast carcinomas

- of an antigen immunologically related to a group-specific antigen of mouse mammary tumor virus. *Proc Natl Acad Sci* 75: 1529—1533, 1978
- 2) 石 和久, 川島 徹, 谷 尚志他: 新しい乳癌腫瘍マーカー-BCA 225 の臨床応用に関する検討 (第 2 報), —基礎的検討とカットオフ値の設定—, 基礎と臨 23: 445—453, 1989
 - 3) 妹尾亘明, 榎本耕治, 弥生恵司他: 各種腫瘍マーカーの乳癌診断・予後における評価, 乳癌の臨 2: 241—251, 1987
 - 4) 吉本賢隆, 渡辺 進, 霞 富士雄他: 乳癌関連抗原 CA15-3 の測定とその臨床的意義, 医と薬学 14: 677—681, 1985
 - 5) 成瀬隆吉, 小池明彦, 鈴木和義他: 乳癌における腫瘍マーカー-CEA と CA15-3 の検討, 日臨外医会誌 49: 774—778, 1988
 - 6) 大倉久直, 服部 信, 宮崎逸夫他: 各種癌・良性疾患患者血清による NCC-ST-439 EIA キットの臨床的検討 (1), 癌と化療 14: 1901—1906, 1987
 - 7) 杉山和義, 河端 誠, 射場敏明他: 乳癌における新しい腫瘍マーカー-BCA225 の有用性の検討, 日臨外医会誌 51: 1380—1388, 1990
 - 8) 八木義弘, 杉山和義, 谷 尚志他: 特集腫瘍マーカーの現状と問題点, BCA225, 乳癌の臨 7: 341—349, 1992
 - 9) 石 和久, 川島 徹, 谷 尚志他: 新しい乳癌腫瘍マーカー-BCA 225 の臨床応用に関する検討, 第 1 報—, 臨病理 37: 301—305, 1989
 - 10) 岩瀬弘敬, 小林俊三, 福岡秀樹他: 進行・再発乳癌の治療効果と再発予知に関する腫瘍マーカーを用いた血清学的評価, *J Jpn Soc Cancer Ther* 27: 1707—1712, 1992
 - 11) Loy TS, Chapman RK, Diaz-Arias AA, et al: Distribution of BCA-225 in adenocarcinomas, an immunohistochemical study of 446 cases. *Am J Clin Pathol* 96: 326—329, 1991
 - 12) Mesa-Tejada R, Palakodety RB, Leon JA, et al: Immunocytochemical distribution of a breast carcinoma associated glycoprotein identified by monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 130: 305—314, 1988

SEROLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE TUMOR MARKER BCA 225 IN BREAST CANCERS

Hiro Yoshi DOIHARA, Shigemitsu TAKASHIMA, Nobuji YOKOYAMA, Hiroyuki SOGA,
Akira KURITA and Wataru TAKIYAMA

Department of Surgery, Shikoku Cancer Center Hospital

To evaluate the utility of the tumor marker BCA 225, serological and immunohistochemical study was performed in breast cancers. In the serum study, the positive rate of recurrent breast cancers was 62.1%, and was significantly higher than that (10.2%) of primary breast cancers. In the combination assay of BCA 225, CA15-3 and CEA, the positive rates were 21.9% for primary breast cancers, and 82.8% for recurrent breast cancers. So the BCA 225 is a useful tumor marker not only for the early detecting recurrence but also monitoring the therapeutic effect.

In the immunohistochemical study using monoclonal antibodies (MoAb) CU18 and CU46, the positive rates in primary breast cancers were 84.8% for MoAb CU18, and 81.8% for MoAb CU46. These had no relationship with serum positive rates. The cases with positive stainings of cytoplasm were more than those of membrane. There was no correlation between immunohistochemical stainings and clinicopathological factors, but immunohistochemical study is useful for diagnosis of primary breast cancers.

Further examination of BCA 225 as an index monitoring postoperative recurrence or evaluating therapeutic effects is necessary.