

免疫酵素測定法 (TZR-516) による前立腺 酸性フォスファターゼの臨床的検討

東京慈恵会医科大学泌尿器科学教室 (主任: 町田豊平教授)

池本 庸, 町田 豊平, 大石 幸彦

大西 哲郎, 白井 尚, 今中啓一郎

CLINICAL EVALUATION OF SERUM PROSTATIC ACID PHOSPHATASE ASSAY BASED ON THE IMMUNOENZYMATIC METHOD (TZR-516)

Isao IKEMOTO, Toyohei MACHIDA, Yukihiro OISHI,
Tetsuro ONISHI, Takashi SHIRAI and Keiichiro IMANAKA
From the Department of Urology, Jikei University School of Medicine

The usefulness of a newly developed prostatic acid phosphatase assay based on the immuno-enzymatic method (PAP-IEA) was studied. Serum samples were obtained from 22 untreated prostatic carcinoma patients, 34 benign prostatic hyperplasia patients, 32 prostatic disease-free patients and 27 normal volunteers. Mean \pm S.D. of PAP-IEA in prostatic disease-free group and normal volunteer group was 0.46 ± 0.27 ng/ml. So, the upper limit of PAP-IEA for clinical normal range was set to 1 ng/ml (\approx Mean + 2S.D.). Thus, the false positive rate of benign prostatic hyperplasia was estimated at 9% and false negative rate of untreated prostatic carcinoma at 27%. Meanwhile, PAP-IEA values measured in this study were correlated well to PAP-RIA values measured in the same samples ($r=0.994$).

(Acta Urol. 35: 1639-1642, 1989)

Key words: Prostatic acid phosphatase, Prostatic carcinoma, Immunoenzymatic assay

緒 言

血中の酸性フォスファターゼ測定は、前立腺癌の腫瘍マーカーとして古くから広く用いられている。近年前立腺組織や精漿を材料として前立腺酸性フォスファターゼ (PAP) が精製され、この抗体を用い、radioimmunoassay (RIA) が開発され、PAP は特異的にかつ高感度で測定できるようになった¹⁾。しかし PAP の免疫放射能測定法 (PAP-RIA) は放射能測定装置を必要とし、かつ測定に 2 日間を必要とする。そこで RIA にみられる高感度と特異性を有し測定時間の短い免疫酵素測定法が開発され、本邦でも使用され始めている。今回は簡便性、特異性に優れ、測定操作がより簡便となった PAP の免疫酵素測定法 TZR-516 (PAP テスト テイゾー) の臨床診断上の有用性を検討した。

対象および方法

対象は 1988 年 4 月から 12 月までに慈恵医大病院泌尿器科を受診した未治療前立腺癌症例 22 例 (stage A 3 例, B 3 例, C 4 例, D 12 例; 平均年齢 73 ± 8 歳), 前立腺肥大症症例 34 例 (71 ± 7 歳), 前立腺以外の泌尿器科疾患男性 32 例 (68 ± 9 歳) で、健常人も 27 例 (男性 22 例; 32 ± 5 歳, 女性 5 例; 27 ± 3 歳) を対象とした。採血にあたっては前立腺への理学的影響を避けるため、前立腺触診、膀胱鏡検査、前立腺手術後などの例は全て除外した。得られた血液は血清分離後、 -20°C に保存し、検査時に解凍使用した。本法で使用する抗 PAP モノクローナル抗体はヒト精漿より分離精製した PAP を免疫して得られたもので、その測定原理は Fig. 1 のように抗 PAP モノクローナル抗体コーティングチューブに検体を加え PAP を捕捉、他の成分は洗浄除去後この PAP を基質と直接反応させ、基質分解物を呈色剤により発色させ測定す

る²⁾ものである。いわゆる酸フォスファターゼの加水分解作用という酵素反応を直接測定原理に応用したものである。そうした意味で、本法は従来の免疫酵素測定法 PAP-EIA とは若干異なり、以下 PAP-IEA (immunoenzymatic assay) と呼ぶこととする。実際の測定操作 (Fig. 2) は従来の PAP-EIA より1段階操作が省かれ、より簡便となり、全操作が約3時間で終了するものである。

本キットを用いた PAP 測定の有用性は上記患者に対する PAP 測定と同時に同一血清を用いて PAP-RIA (栄研) も測定し、その値を比較検討した。

結 果

本キットによる健常人27例の PAP-IEA 値は 0.39 ± 0.16 ng/ml (M±S.D.) で、今回の検討では 1 ng/ml を越えた例は1例もなかった。また非前立腺疾患患者32例の PAP-IEA 値は 0.52 ± 0.32 ng/ml (M±S.D.)、対照群全体 (59例) では 0.46 ± 0.27 ng/ml (M±S.D.) であった。よって M+2S.D. をその正常上限とすると 0.99 ng/ml がその正常上限となった。男性対照群の年代別の PAP-IEA 値 (Fig. 3) は、多くの例でその平均値 0.46 ng/ml 以下であったが、40歳代を越えると 0.46 ng/ml を越える例が増加し、正常上限値と設定した 0.99 ng/ml を越える例は40歳代、70歳代の3例であった。したがって、臨床的正常

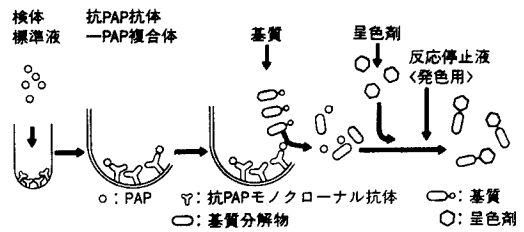


Fig. 1. 測定原理

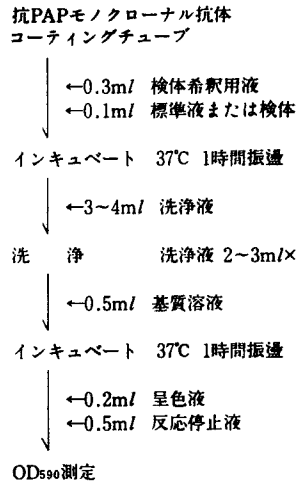


Fig. 2. 操作手順

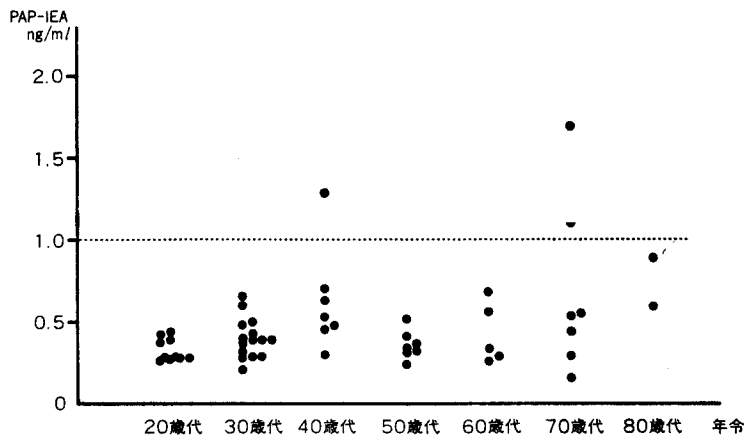


Fig. 3. 男性対照群の PAP-IEA 値の年齢別分布

上限値は 1 ng/ml としたい。

前立腺肥大症例34例の PAP-IEA 値の M±S.D. は 0.47 ± 0.29 ng/ml (Fig. 4) で、正常上限の 1 ng/ml 以上の症例が3例認められ、false positive は9%となったが、その値は 1.15, 1.27, 1.28 ng/ml とい

ずれも 2 ng/ml 以下で、対照群とおおむね同様の分布の範囲であった。未治療前立腺癌例22例の PAP-IEA 分布 (Fig. 5) は、stage 別に検討すると、stage A (3例) はいずれも 1 ng/ml 以下で陰性、stage Bで3例中1例、stage C では4例中3例、stage D

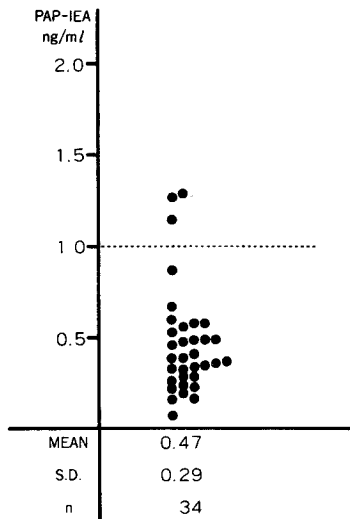


Fig. 4. 前立腺肥大症例の PAP-IEA 分布

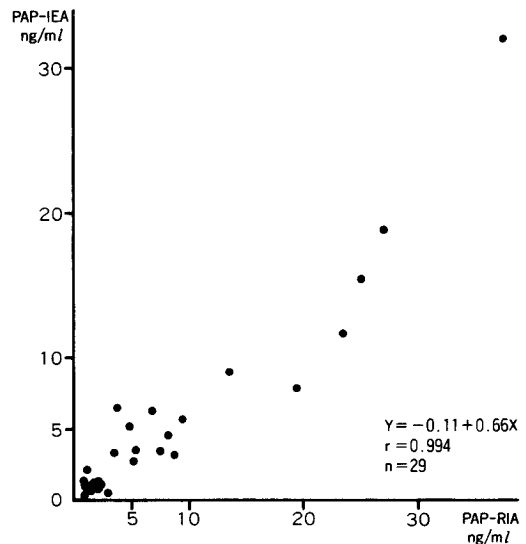


Fig. 6. PAP-IEA と PAP-RIA の相関

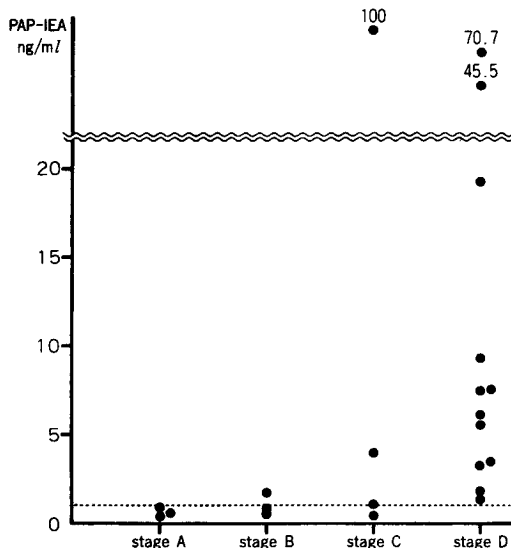


Fig. 5. 未治療前立腺癌症例の PAP-IEA 分布

では12例全例が 1 ng/ml 以上で陽性であった。したがって、stage A では陽性率 0% であるが、stage が進行するにつれて陽性率が高くなる傾向がみられた。

同一血清で測定した PAP-IEA と PAP-RIA の相関は Fig. 6 のように、X軸に PAP-RIA をY軸に PAP-IEA をとると、 $Y = -0.11 + 0.66X$ で $r = 0.994$ と極めて良く相関した。しかし本 PAP-IEA 値は PAP-RIA 値よりもいずれも2/3から1/2と低値であった。

考 察

現在 PAP の測定は PAP-RIA がよく用いられているが、その理由は ng/ml という単位の微量の検出を radioimmunoassay が可能としたこと、血清の保存に際し解凍、凍結を繰り返せることなどがあげられる。しかし、PAP の免疫酵素測定法の出現により本免疫酵素測定法 (PAP-EIA) は高感度、特異性を有する点で PAP-RIA に匹敵し、かつ放射能測定装置を必要としない、測定時間が短いという点で PAP-RIA よりはるかに簡便であることが明らかとなった。特に今回使用した TZR-516 は操作がより簡便となり、全操作が約3時間で終了し、医療経済的にも PAP-RIA よりはるかに経済的である。本測定法による再現性は笹本²⁾によれば同時再現性で変動係数 4.9~7.2%、日差再現性で 4.5~7.8% で回収率も極めて良好であったとしている。以上から本測定法の特徴をまとめると、

- 1) 免疫反応で特異的に捕捉した PAP の酵素活性を測定している。
- 2) 高感度でかつ定量域が広い。
- 3) 操作が簡便で、測定時間が短い。
- 4) モノクローナル抗体を使用しており、常に一定した特異性と良好な再現性が得られる。

今回得られた結果では健康人27例 (平均年齢 32 ± 5 歳) の PAP-IEA 値は 0.37 ± 0.16 ng/ml であるが、前立腺癌、前立腺肥大症の好発年齢と比較するとかなり若年であった。そのため32例の比較的高齢 (68 ± 9

歳)の非前立腺疾患患者の PAP-IEA 値を検討したところ 0.46 ± 0.27 ng/ml という PAP-IEA 値が得られた。上記32例には前立腺の組織学的検討が行われていないためあるいは stage A 前立腺癌合併症例も含まれている危険はあるが、いずれも触診では前立腺部に異常を認めず、排尿障害などの自覚症状の認めない例である。したがって少なくとも clinical な前立腺癌は除外できていると思われる。そうした意味で正常上限値 1 ng/ml という数値は臨床の有用性にかなう数値と思われる。

これに対し前立腺肥大症例では 1 ng/ml 以上の症例が34例中3例(9%)みられた。これら34例は全例前立腺切除または摘出術を受け、組織学的に前立腺肥大症と診断された例である。前立腺肥大症における9%という false positive 出現率は他の測定法^{3,4)}と比較しても決して高いものではなく、また PAP が正常前立腺上皮内にも豊富に存在することを考慮すればやむをえない数値であろう。

未治療前立腺癌症例における PAP 陽性率は low stage では他法^{3,4)}同様低く、特に stage A では0%であった。stage D では全例で陽性であった。stage D 症例における100%の陽性率は諸家の報告⁴⁾より高率ではあった。しかし、症例がやや少ないため TZR-516 の前立腺癌例における PAP-IEA 法の有用性についてはさらに多数例の検討が必要であろう。

また、今回の数値は PAP-RIA で得られた数値と良好な相関を示したが、PAP-IEA 値はいずれも PAP-RIA 値よりも低値であった。PAP-EIA 法での PAP-RIA 値との比較検討ではともに同レベルを示すとの報告もあるが、本法による PAP-IEA は独自に開発精製したモノクローナル抗体²⁾を用いている点で、抗原認識の違いによるものかとも思われた。また今回の TZR-516 を用いた測定に関して異常高値のため再検を要した例が少なく、その定量域が極めて広いとの印象を受けた。ちなみに PAP-EIA 「アボット」の定量域は 30 ng/ml まで⁵⁾、同社の PAP リアキットは 50 ng/ml まで⁶⁾、今回比較検討した PAP-RIA 法の PAP '栄研' は 80 ng/ml まで⁷⁾とされて

いる。今回の TZR-516 はやはり 80 ng/ml までの定量域であり、したがってその測定値が他法より低くなるためその分定量域も広く、高値のため血清希釈による再検査の手間も少ないものと考えられる。

以上本法の臨床的有用性を検討したが、特にその特徴として安価、測定簡便性、広い定量域などがあげられる。さらにその正常値の設定として対照・非前立腺疾患対照群および前立腺肥大症群、未治療前立腺癌群での検討結果から 1 ng/ml が臨床的正常上限値と思われた。

本論文の要旨は第53回日本泌尿器科学会東部連合総会で報告した。稿を終るにあたり今回の測定試薬を提供頂いた帝國機器製薬株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 町田豊平, 三木 誠, 大石幸彦, 上田正山, 木戸晃, 柳沢宗利, 吉田正林: RIA による前立腺性酸性フォスファターゼ測定の価値. 日泌尿会誌 72: 416-422, 1981
- 2) 笹本英彦, 宮崎高一, 真仁田英明: 免疫酵素測定法によるヒト前立腺性酸性フォスファターゼの定量法の開発. 最新検査 6: 241-248, 1989
- 3) 布施秀樹, 座間秀一, 島崎 淳: 前立腺性酸性フォスファターゼの免疫酵素測定法. 泌尿紀要 31: 1957-1964, 1985
- 4) 榊鏡年清, 安藤 研, 島崎 淳: Enzymeimmunoassay 法による前立腺性酸性フォスファターゼの検討. 泌尿紀要 30: 1691-1695, 1984
- 5) 中村恵美子, 小泉文明, 石森 章, 星 宣次, 今井克忠, 松田尚太郎, 佐藤恒明: Enzyme immunoassay による Prostatic Acid Phosphatase の基礎的ならびに臨床的検討. 機器・試薬 VII: 644-650, 1984
- 6) 小堺加智夫, 丸山雄三, 高野政明, 須江直子, 沢村良勝, 黒沢 洋: 短時間法 PAP RIA Kit による検討. 臨床成人病 11: 1681-1686, 1981
- 7) 森川惇二, 中村雅行, 森 一泰, 大沢劉三郎, 三木 誠, 町田豊平: ラジオイムノアッセイによるヒト前立腺酸性ホスファターゼの測定法の開発. Radioisotopes 29: 175-180, 1980

(1989年4月17日迅速掲載受付)