

Enzymeimmunoassay 法による 前立腺性酸性フォスファターゼの検討

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 島崎 淳教授)

榊 鏡 年 清
安 藤 研
島 崎 淳

PROSTATIC ACID PHOSPHATASE BY ENZYMEIMMUNOASSAY

Toshikiyo MASUKAGAMI, Ken ANDO and Jun SHIMAZAKI

From the Department of Urology, Chiba University School of Medicine

(Director: Prof. J. Shimazaki)

We measured prostatic acid phosphatase levels by enzymeimmunoassay (PAP-EIA). Intra-assay reproducibility of PAP-EIA was markedly good. In thirty normal males, PAP-EIA levels ranged from 0.24 ng/ml to 3.3 ng/ml, mean and S.D. being 0.94 ng/ml, 0.50 ng/ml, respectively.

We made the upper limit of PAP-EIA for the normal range, 1.94 ng/ml (Mean + 2 S.D.). Of 40 patients with untreated prostatic cancer, 34 patients (85%) gave positive results (1/3 33% of stage A, 3/4 75% B, 10/11 90% C, 20/22 90% D). One out of 12 patients with BPH, and one out of 11 with prostatitis gave positive results. The false positive rate was 9%.

PAP levels of 324 samples from 111 patients with prostatic cancer were measured by EIA and radioimmunoassay (RIA)

A significant correlation was noted between EIA and RIA ($r=0.997$ $p<0.001$).

Key words: Prostatic acid phosphatase, Enzymeimmunoassay, Prostatic cancer

進行性前立腺癌の血中に酸性フォスファターゼが異常高値をみることが知られてから、本酵素が前立腺癌の診断や経過観察に利用されてきた¹⁾。血中酸性フォスファターゼ活性の測定は、この酵素が肝、腎、脾、骨などに広く分布し、また赤血球、白血球、血小板からも遊離することから、やや特異性におとるところがあった。前立腺由来の本酵素がL (+) 酒石酸により阻害を受け、赤血球由来のものは阻害を受けないことから、前立腺性酸性フォスファターゼとして測定されてきた。しかし本阻害は血小板、腎、肝、脾由来のものにもおこるため特異的とはいえなかった²⁾。近年前立腺組織や精液を材料として酸性フォスファターゼが精製され、この抗血清を用いた radioimmunoassay 法 (RIA) が開発されてから、酸性フォスファターゼが特異的かつ感度よく測定されるようになった。RIA による酸性フォスファターゼ測定 (PAP-RIA) は、

診断や治療効果判定にすぐれた有用性を示し、臨床におおいに利用されることとなった。RIA は、測定方法としては良い方法であるが、放射能測定装置を必要とし、かつ測定に2日間を要する。

近年、RIA でみられる高感度、特異性を持ち、測定時間の短い enzymeimmunoassay 法 (EIA) が開発された。われわれは前立腺性酸性フォスファターゼを EIA 法で測定し (PAP-EIA) 検討したので報告する。

対象および実験方法

対象1982年9月から83年12月までに千葉大学医学部附属病院にて加療した前立腺癌111例 (未治療40, 治療中71例) の血清を用いた。これらはすべて組織学的に前立腺癌と診断されたものである。治療は内分泌療法が大部分のものに実施された。方法は、去勢と同

時に4週間のエストロゲン大量療法(ホンバン 250~500mg 連日投与), 以後維持量としてヘキスロン1日30mgを投与する。

同期間に, 非癌対象として, 前立腺肥大症12例(手術により組織学的に確認), 前立腺炎11例, 正常男子30例(24~52歳, 平均32歳, 主として医師そのほかの従業員)の血清を用いた。

採血後すぐ分離された血清は-80°Cにて保存した。あらかじめ予備実験により約半年の保存では酵素活性に変化がないことがわかっていたので, 測定はこの保存期間内におこなった。

PAP-EIA ダイナボット社製の PAP-EIA キットを用いて測定した。操作を Table 1 に示す。本キットは2抗体を用いたサンドウィッチ法であり, 添付された標準血清による標準曲線から PAP を定量した。また栄研の PAP-RIA キットを用いて同じ血清中の PAP を測定した。

実験結果

キット内再現性

PAP-RIA が, 高度上昇, 中等度上昇, および正常の値を示す3種の血清を用いて, それぞれ10回の PAP-EIA の測定をおこなった (Table 2)。どの血清でも変動係数がきわめて少なく, したがって良い再現

性を示した。

正常値

正常男子30例の PAP-EIA は, 0.24~3.3 ng/ml の

Table 2. Intra-assay reproducibility of PAP-EIA kit

血清No.	1	2	3	
測定回数	1	24.2 ^{ng/ml}	8.7 ^{ng/ml}	1.6 ^{ng/ml}
	2	20.4	9.0	1.5
	3	23.9	8.9	1.7
	4	24.3	9.1	1.6
	5	23.1	9.4	1.6
	6	23.8	9.2	1.6
	7	26.9	9.0	1.8
	8	23.9	9.1	1.6
	9	23.3	9.3	1.7
	10	23.9	9.3	1.5
MEAN	23.8	9.1	1.6	
S.D.	1.5	0.2	0.2	
C.V.	6.6	2.4	7.5	

Table 1. Assay procedure of PAP-EIA

ASSAY PROCEDURE (PAP-EIA)

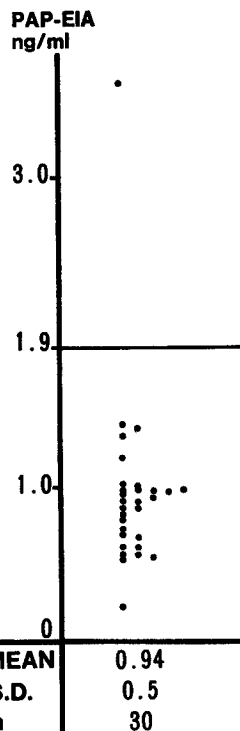
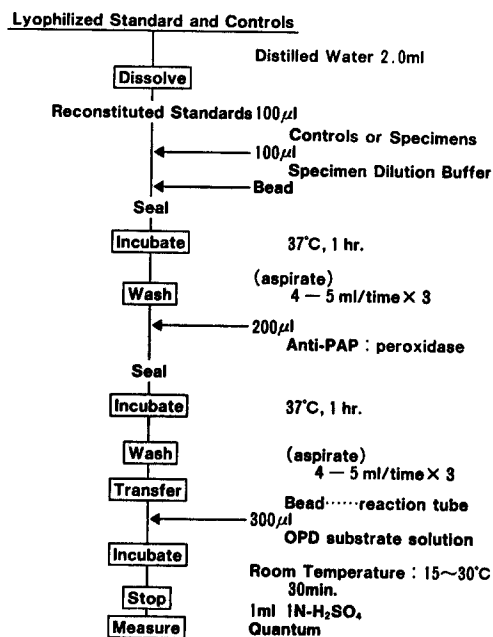


Fig. 1. 正常男子の PAP-EIA 分布

中に分布し、平均値、標準偏差はそれぞれ 0.94, 0.50 ng/ml であった (Fig. 1). 平均値に 2 倍の標準偏差を加えた 1.94 ng/ml を、正常上限値ときめた。この上限値よりも高い値を示したものは、30 例中 1 例であったが、これは前立腺癌が否定された。

前立腺癌の PAP-EIA

末治療 前立腺癌 40 例 (stage A 3, B 4, C 11, D 22 例) について PAP-EIA を測定した (Fig. 2). stage 別にみると、A は正常上限値以下に平均値があるが、B, C, D ではそれより高値となり、かつ全体としてみると stage が進行するにしたがい平均値の上昇をみた。stage 別で正常上限値以上の値を示した例の頻度は、A 33%, B 75%, C 90%, D 90%, 全体では 85% であった。

内分泌療法実施前と実施後 4 週目の PAP-EIA の変化を Fig. 3 に示す。治療前高値であった 17 例中 8 例 (47%) が正常値以下まで低下し、まだ高値であったものも全例が治療前に比べて低下していた。なおこれらの症例はすべて、治療により局所所見、排尿状態、疼痛など自覚、他覚所見の改善をみており、したがって PAP-EIA の変動は臨床的経過とほぼ比例し

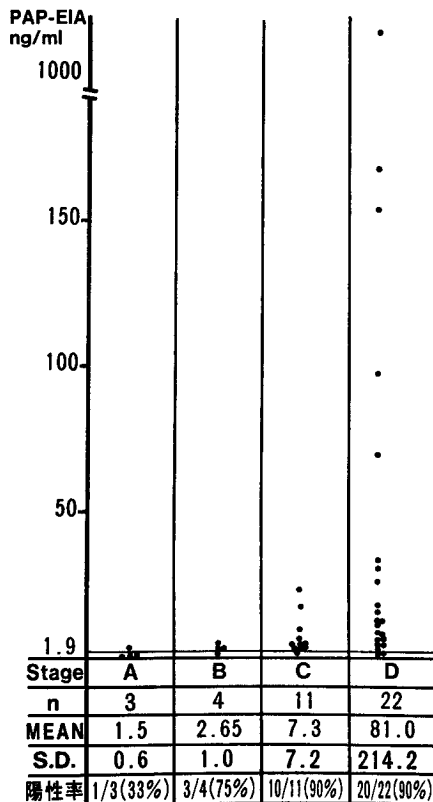


Fig. 2. 末治療前立腺癌の PAP-EIA

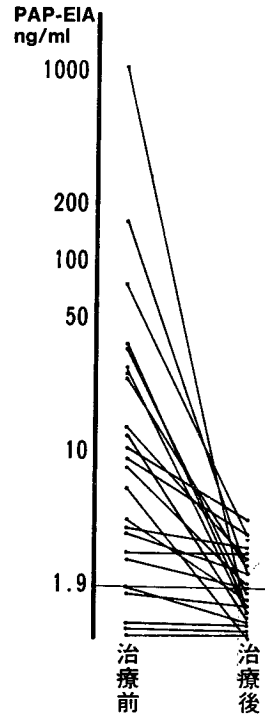


Fig. 3. 治療に対する PAP-EIA の変化 (治療開始 4 週目の値を用いた)

ていた。

非癌疾患の PAP-EIA

前立腺肥大症および前立腺炎の PAP-EIA 分布を Fig. 4 に示す。両疾患とも PAP の平均値は、正常上限値以下であり、また両疾患ともに未治療前立腺癌の PAP-EIA と比較すると有意に低値を示した ($p < 0.01$). 正常上限値以上を示したものは、両疾患ともに 1 例あり、その値はそれぞれ 3.8, 3.6 ng/ml であった。なおこの 2 例はともにその後の検査および経過観察で前立腺癌を否定している。False positive は 9% であった。

PAP-EIA と PAP-RIA との比較

未治療例および治療中の前立腺癌 111 例から採血時期を異にして得られた被検血清 324 検体につき PAP-EIA と PAP-RIA を比較した (Fig. 5). 相関係数は 0.997 ときわめて高く、両者が有意に一致することがわかった。また全測定値中、正常と高値に分けたときの両者の不一致率は 5% と少なく、両測定法の互換性を裏づけた。

考 察

enzymeimmunoassay 法のうちサンドウィッチ法

は測定の再現性や感度のすぐれたものであり、RIAとの相関がよく、RIAにおとるものではないとされ

ている³⁾。今回の PAP のためのキットの検討でも、再現性が良好で RIA の値とよく相関することがわかった。したがって PAP を測定するには、EIA によっても RIA によっても、ほぼ同じ値が得られるであろう⁴⁾。

PAP-RIA の正常値は従来報告されたものでは 0~10 ng/ml と範囲がきわめて広がった。しかしその後抗原の精製がすすみ、他臓器由来の酸性フォスファターゼとの交叉反応のないものができてきてから、正常値は低くなり、現在では solid-phase 法でも 2 抗体法でも、3 ng/ml 以下とされている^{5,6)}。

今回の検討で正常平均値に 2 倍の標準偏差を加えた 1.94 ng/ml を正常上限値とした。本キットはモノクローナル抗体を使用しているため従来の正常値よりも低い値となった可能性も考えられるが、今後多くの施設からの成績の累計によってさらに普遍性のある上限値が用いられることを希望する。

未治療前立腺癌の stage 別高値出現率を、RIA の成績で見ると、A では 8~50%、B で 21~100%、C で 30~86%、D で 86~100% であり⁷⁻¹⁰⁾、以前千葉大学症例を栄研キットをおもに使用した測定では、A 0% B 20%、C 67%、D 98% であった^{11,12)}。今回の EIA による高値出現率は A、B、C、D でそれぞれ 33、75、90、90% であり、ほぼ従来の報告と一致していた。旧来の酵素法では stage D となつてはじめて上昇していたのに比べ EIA 法は RIA 法と同じく stage C 以上ではほぼ全例高値を示しており、数段階鋭敏な方法

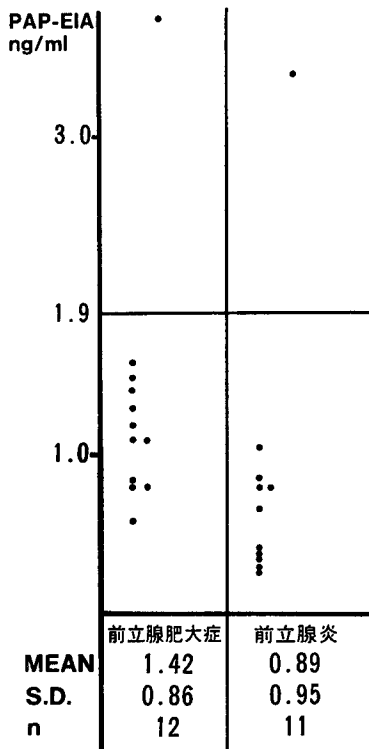


Fig. 4. 前立腺肥大症と前立腺炎の PAP-EIA の分布

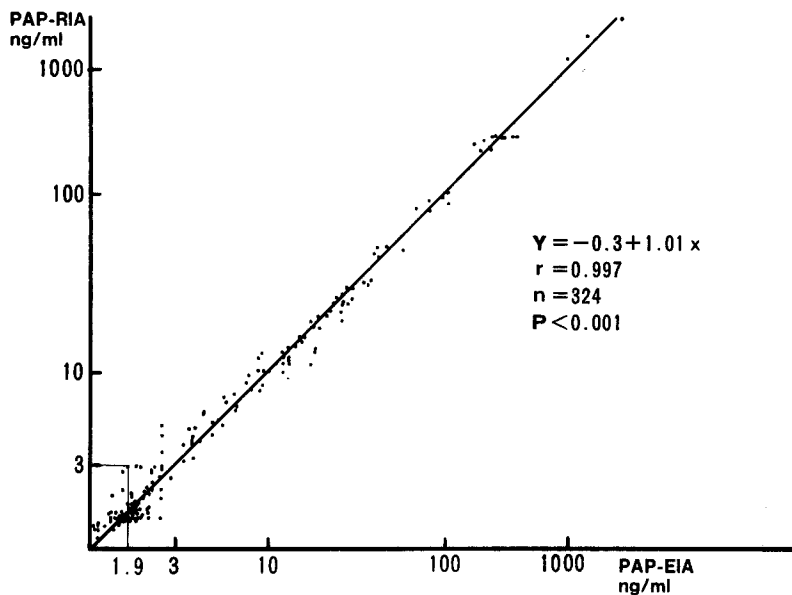


Fig. 5. PAP-EIA と PAP-RIA の比較

であった。stage D で PAP が正常のものは、おそらく酸性フォスファターゼを合成していない癌と考えられ、このようなものは今回の実験を含めてどの報告にもみられていない。これらに対して PAP 以外の前立腺癌のマーカーの発見が待たれるところである。

内分泌療法により制癌された状態と PAP の下降さらには正常化とは良く相関する^{13,14)}。今回の症例は全例が治療に反応しそれともなって PAP-EIA の低下、正常化がみられた。再燃癌では多くの場合 PAP の再上昇がみられるので、この定期的測定は患者の状態を把握するのにきわめて有用である¹⁵⁾。PAP-RIA について前立腺癌以外で高値となるものは、前立腺肥大症が多いが、そのほか false positive は 6～11%あるとするものがある¹⁶⁾。今回の検討で、非癌対象とした前立腺肥大症、前立腺炎では 9%にみられた。

以上の結果から、PAP-EIA は PAP-RIA と同じく感度、特異性ともに高いものであり、かつ短時間で測定でき、放射能汚染の問題のないことから、今後実施されるべき価値のある方法と考える。

文 献

- 1) Catalona WJ and Scott WW: Carcinoma of the prostate. Campbell's Urology 4th ed. Harrison JH Giffes, RF Perlmutter, AD Stamey, TA Walsh PC (eds). Vol. 2. W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1979. p. 1085～1124
- 2) 島崎 淳・丸岡正幸：前立腺由来酸性フォスファターゼ“腫瘍マーカー”：服部 信 (ed). 臨床検査 Mook, 印刷中
- 3) 石川栄治, Enzyme Immunoassay: ホルモン測定法内分泌負荷試験：内科セミナー END 8, 永井書店, 大阪, 1979 p.90～109
- 4) Chu TM Wang MC Lee CL, Killian GS, Valenzuela LA, Wajsman Z, Slack N and Murphy GP: Enzyme markers for prostate cancer. Cancer Detection Prevention 2: 693～706, 1979
- 5) 若林克己・杉山裕子・高橋悦子・志田圭三：ヒト前立腺性酸性フォスファターゼのラジオイムノアッセイキット 核医学 19: 467～475, 1982
- 6) 丸岡正幸・鈴木茂夫・佐藤恵子・野積邦義・安田耕作・伊藤晴夫・島崎 淳：前立腺性酸性フォスファターゼ (PAP) の radioimmunoassay (RIA) 測定キットによる基礎的および臨床的検討. 核医学 18: 1523～1529, 1981
- 7) 町田豊平・三木 誠・大石幸彦・上田正山・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
- 8) 塚本泰司・熊本悦明・梅原次男・黒畑敏江：Radioimmunoassay 用 3 社キットによる前立腺性酸性フォスファターゼの臨床的検討. 泌尿紀要 28: 13～36, 1982
- 9) Cooper JF, Foti A, Herschman HH and Finkle W: A solid phase radioimmunoassay for prostatic acid phosphatase. J Urol 119: 388～391, 1978
- 10) Foti AG Cooper JF, Herschman H and Malvaez RR: Detection of prostatic cancer by solid-phase radioimmunoassay of serum prostatic acid phosphatase. New Engl J Med. 297: 1357～1361, 1977
- 11) 丸岡正幸：Radioimmunoassay による前立腺性酸性フォスファターゼの研究. 日泌尿会誌 74: 311～320, 1983
- 12) 丸岡正幸・野積邦義・伊藤晴夫・島崎 淳・村上信乃：前立腺性酸性フォスファターゼ：Enzymatic Assay, Counter Immunoelectrophoresis (CIEP), および Radioimmunoassay (RIA) 法による比較. 西日泌尿 42: 1159～1164, 1980
- 13) 丸岡正幸・安藤 研・野積邦義・島崎 淳・松寄理：前立腺癌の経過と前立腺性酸性フォスファターゼ. 西日泌尿 44: 1391～1396, 1982
- 14) 丸岡正幸・安藤 研・野積邦義・安田耕作・伊藤晴夫・島崎 淳・松寄 理・村上信乃：前立腺癌の内分泌療法. 日泌尿会誌 73: 432～437, 1982
- 15) 志田圭三・松本恵一・島崎 淳・西村隆一・竹内弘幸・瀬戸輝一：前立腺癌における抗癌剤の臨床効果判定基準の提唱. 西日泌尿 40: 869～877, 1978
- 16) Prellwitz W and Ehrenthal W: Serum and bone marrow acid phosphatase as a diagnostic marker in prostatic carcinoma patients. Prostate Cancer, Jacobi GH, Hohenfellner R (eds). Williams and Wilkins, Baltimore, p.129～162, 1982

(1984年6月8日迅速掲載受付)