

DELFLA PSA を用いた血清 PSA 測定の臨床的意義

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 河田幸道教授)

栗山 学, 江崎 奈々, 山田伸一郎, 伊藤 慎一

岡野 学, 高橋 義人, 篠田 育男, 河田 幸道

兵庫県成人病センター検査部¹⁾・泌尿器科²⁾

大川 二郎¹⁾, 宮脇 章¹⁾, 清見千代子¹⁾, 戸田 景三¹⁾

藤中 早代¹⁾, 西山ひとみ¹⁾, 藤井 昭男²⁾

MEASUREMENT OF SERUM PSA VALUES BY DELFLA PSA AND ITS CLINICAL SIGNIFICANCE ON DIAGNOSIS AND FOLLOW-UP OF PROSTATE CANCER PATIENTS

Manabu Kuriyama, Nana Esaki, Shin-Ichiro Yamada,
Shin-ichi Ito, Manabu Okano, Yoshito Takahashi,
Ikuo Shinoda and Yukimichi Kawada

From the Department of Urology, Gifu University School of Medicine

Jiro Ohkawa¹⁾, Akira Miyawaki¹⁾, Chiyoko Kiyomi¹⁾,
Keizo Toda¹⁾, Sayo Fujinaka¹⁾, Hitomi Nishiyama¹⁾ and Akio Fujii²⁾

From the Departments of Pathology¹⁾ and Urology²⁾, Hyogo Medical Center for Adults Disease

Serum prostate specific antigen (PSA) values detected by DELFLA PSA were evaluated for usefulness in the diagnosis and follow-up of patients with prostate cancer. The system is time-resolved fluoroimmunoassay using europium as a tracer, which has a detectable range of 0.10~500 ng/ml with a small sample volume (25 μ l) and reliable quality control data. Furthermore, serum PSA values detected by the assay were equivocal to those detected by Tandem-R PSA. From the mean+3 S.D. of serum PSA values obtained on 227 normal males, 1.98 ng/ml was decided as an upper normal level. Serum PSA values in benign prostatic hyperplasia (BPH) (n=69) and prostate cancer (n=86) patients were statistically higher than those in normal males. However, when 1.98 ng/ml was used as a cut-off value, the false positive rate in BPH cases elevated up to 80%. Therefore, in the differential diagnosis of prostate cancer and BPH, we recommend 11.7 ng/ml (mean+S.D. in BPH cases) as a cut-off value, in which sensitivity is 72.1%, 88.4% are true negative in BPH, and efficacy is 79.4%. Serially determined serum PSA values in following up the patients with prostate cancer were confirmed to be highly effective for diagnosing recurrence and evaluating treatment responses. These findings suggest that DELFLA PSA is a useful tool for determination of serum PSA values.

(Acta Urol. Jpn. 38: 425-431, 1992)

Key words: Prostate specific antigen, Prostate cancer, Tumor marker, DELFLA PSA

緒 言

前立腺癌の診断と患者フォローアップにおいて、腫瘍マーカーの利用は必須となっており、prostatic acid phosphatase (PAP), prostate specific antigen (PSA), γ -seminoprotein (γ -Sm) が臨床的に用いら

れている。このうちでも、PSA の優位性については、著者らをはじめ、種々の報告があるところである¹⁻³⁾。

わが国における PSA の測定は、enzyme immuno assay (EIA) の MARKIT F-PA⁴⁾ と、radio-immunoassay (RIA) の EIKEN PA⁵⁾ の 2 種が汎用されているが、昨年来新たなキットの認可が行わ

れている^{3,6)}。今回、新規に開発されたファルマシア バイオシステム社の DELFIA PSA の臨床評価を、2施設の共同研究で行ったので報告する。

対象と方法

検討期間は、1991年2月から6月であり、岐阜大学医学部附属病院泌尿器科と兵庫県成人病センターにおいて、この間に受診したかストックされていた血清を用いた。前立腺癌診断における有用性を検討するために用いた治療前血清は、440症例の由来であり、その内訳は健常男性227例、非前立腺尿路悪性腫瘍58例、良性前立腺肥大症 (BPH) 69例、前立腺癌86例であった。このほかに、1991年5月に施行した岐阜県某村における住民検診時にえられた無症候の男性343症例の血清も同時に測定した。なお、前立腺癌の病期・分化度については、前立腺癌取り扱い規約⁷⁾に準じた。

さらに、16例の前立腺癌 stage D2 症例を用いて、経時的に血清 PSA 値を測定し、フォローアップにおける有用性を検討した。腫瘍マーカーと臨床経過との一致率・スコア化の基準は、既報³⁾に準じて行った。なお、初期治療効果は、11例が no change 以上の有効例、5例が無効であり、さらに有効例中6例が検討期間中に再燃を生じた。

DELFLA PSA kit は、time-resolved fluoro-immunoassay^{8,9)}であり、mouse 由来の2種の単クローン抗体を用いた solid phase・sandwich type の測定法である。Tracer は、europium (Eu) である。固相の ant-PSA IgG と試料中の PSA を反応させた後、Eu-labelled anti-PSA IgG を加えて再度 incubation し、enhancement 後に Eu の fluorescence を測定するものである。検体必要量は 25 μ l であり、測定範囲は 0.10~500 ng/ml である。なお、自動システムを用いることによって、50検体の測定は約3時間で可能である。

結 果

まず、本 kit の性能検討を行った。Table 1 は、within, between assay おおの10, 16回の結果である。PSA 値の多寡にかかわらず、C.V. は5%以下であった。また、希釈試験 (Fig. 1) では、いずれの検体も原点を通る直線性を維持していた。さらに、添付の 1 μ g/ml の標準量を用いた希釈試験によって32倍希釈の 0.031 ng/ml まで、直線性がえられた。Fig. 2 に、標準的なスタンダードカーブを示した。

健常男性例227例の血清 PSA 値は、<0.10~2.88 ng/ml に分布しており、平均 $\pm$ S.D. 値は 0.630 $\pm$

Table 1. Quality control data in DELFIA PSA

Within assay (n=10)					
Mean (ng/ml)	3.2	5.3	28.4	31.6	97.7
S.D. (ng/ml)	0.09	0.18	0.66	0.63	2.34
C.V. (%)	2.85	3.31	2.33	1.99	2.40
Between assays (n=16)					
Mean (ng/ml)	0.99	5.0	9.8	100.4	497.3
S.D. (ng/ml)	0.043	0.23	0.29	2.77	13.8
C.V. (%)	4.34	4.60	2.96	2.76	2.77

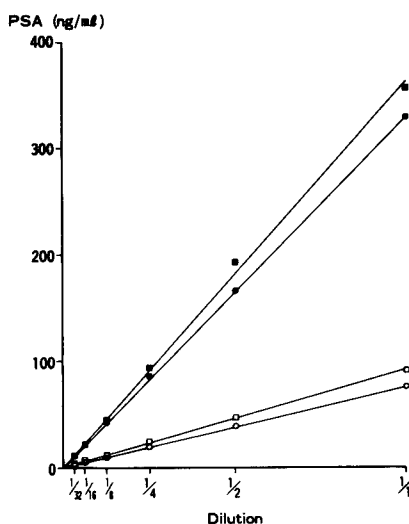


Fig. 1. Dilution tests of DELFIA PSA system in 4 sera

0.448 ng/ml であった。このため、健常群の血清 PSA 値の平均+3 S.D. 値である 1.98 ng/ml を正常上限値とした。健常者を、年代別に検討すると、49歳未満の若年層の方が有意に高値であった (Table 2)。

男性尿路疾患における血清 PSA 値の分布は、Table 3 と Fig. 3 に示した。検診受診者は、健常者よりやや高めの血清 PSA 値であり、腎細胞癌・膀胱腫瘍症例も、有意に高値であった。BPH 症例の血清 PSA 値は、26.2 ng/ml まで分布しており、平均 $\pm$ S.D. 値は 5.781 $\pm$ 5.917 ng/ml であった。正常値を越す異常高値例は、80%の症例に認められた。また、BPH 症例の摘出前立腺重量 (Y) と血清 PSA 値 (X) の間には、 $r=0.7764$ と有意な正の相関が認められ、回帰式: $Y=2.977X+3.482$ がえられた。一方、前立腺癌症例では、病期の進展とともに高値となり、stage D2 症例の最高値は 711 ng/ml であった。また、前立腺癌全体の陽性率は、85%であった。

血清 PSA 値の分布を student's t test で検定す

ると、健常群と尿路疾患すべての間で有意な差となり、BPH 症例との比較では、前立腺癌 stage C 以降が有意な差となった。前立腺癌症例において、分化度別に血清 PSA 値を比較すると、おのおのの血清 PSA

Table 2. Serum PSA values in normal male controls according to age

Age	No. of examined	Serum PSA (ng/ml)	Student's t test	
		mean $\pm$ S.D.	vs 40~49	vs ≥ 50
≤ 39	39	0.819 $\pm$ 0.518	N.S.	p < 0.01
40~49	53	0.764 $\pm$ 0.427		p < 0.001
≥ 50	135	0.523 $\pm$ 0.404		
Total	227	0.630 $\pm$ 0.448		

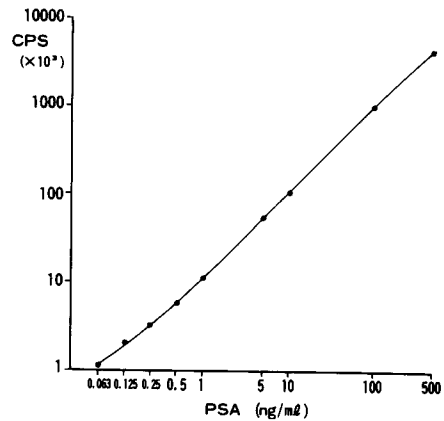


Fig. 2. A typical standard curve for detection of serum PSA by DELFIA PSA

Table 3. Serum PSA values in various urological diseases in males

Disease	No. of examined	Serum PSA values (ng/ml)		Student's t test	
		range	mean $\pm$ S.D.	vs NHS	vs BPH
Normal controls	227	<0.10~ 2.88	0.630 $\pm$ 0.448		
Health examinee	343	<0.10~ 10.31	1.235 $\pm$ 1.260		
Renal cell carcinoma	23	0.10~ 7.73	1.966 $\pm$ 2.007	p < 0.01	
Bladder tumor	35	<0.10~ 17.6	2.643 $\pm$ 3.873	p < 0.01	
BPH	69	<0.10~ 26.2	5.781 $\pm$ 5.917	p < 0.001	
Prostate cancer	86	<0.10~ 711	136.6 $\pm$ 183.4	p < 0.001	p < 0.001
Stage A	12	0.16~ 92.8	16.15 $\pm$ 27.05	p < 0.10	N.S.
Stage B	10	1.48~ 85.2	20.82 $\pm$ 31.56	p < 0.10	N.S.
Stage C	17	<0.10~ 555	150.0 $\pm$ 187.94	p < 0.01	p < 0.01
Stage D	47	0.18~ 711	184.2 $\pm$ 200.2	p < 0.001	p < 0.001

値は、高分化型腺癌 (n=15): 119.2 $\pm$ 174.5, 中分化型 (n=17): 92.47 $\pm$ 137.3, 低分化型 (n=19): 186.9 $\pm$ 199.6 ng/ml と、低分化型腺癌でやや高値となる傾向であったが、有意な差ではなかった。

Cut-off 値の候補値として、健常群の平均 + 2 S.D. (1.53 ng/ml), + 3 S.D. (1.98 ng/ml, 正常値), BPH 群の平均 (5.8 ng/ml), + S.D. (11.7 ng/ml), + 2 S.D. (17.7 ng/ml) 値の 5 点を選択して、各候補値毎に陽性率を検討し、前立腺癌診断における有用性を検討した。健常群は、正常値までに 99% が収束するのに対し、検診者はこの値では 91% のみであり、5.8 ng/ml までで、98% の症例が納まっていた。また、BPH 症例は、正常値だと 20%, 5.8 ng/ml で 70% が、これらの値以下であり、11.7 ng/ml では 88% の症例が収束していた。一方、前立腺癌症例は、すべての stage で広範囲に分布しており、17.7 ng/ml 以上の症例も 67% に認められた。しかし、根治術可能な stage B までの症例では、5.8 ng/ml 以上に 45%, 11.7 ng/ml

以上では 36% の症例が含まれるのみであった (Table 4)。この結果をもとに、前立腺癌診断の感度、特異性、有用度を、BPH 症例をコントロールとして検討すると Table 5 のようになり、有用度は正常値を cut-off 値とした場合の 56.1% から、cut-off 値の上昇とともに、17.7 ng/ml の場合の 80.0% へと改善した。

DELFA PSA によって測定された血清 PSA 値を、他社の PSA 測定キットによる PSA 値、 γ -Sm, PAP との相関性について検討すると、BPH 症例では、PAP を除き相関係数 0.55 以上となり、有意の相関であった。一方、前立腺癌症例では、 γ -SM 以外と有意な相関性を示した。Fig. 4 と 5 において、わが国において汎用されている MARKIT F-PA と EIKEN PA との相関性を、BPH・前立腺癌症例別に示した。また、本法は CIS の ball ELSA PSA とは、もっとも高い相関係数を示し、回帰曲線も両疾患とも Y = X とほとんど同一データとなった。

16例に19回観察された臨床効果別に、血清 PSA 値

の変動と経過の一致度を観察した。13回の responder のうち、スコア4が7例、3が6例と全例でフォローアップが可能であった。また、non-responder 6回でも、すべての臨床経過と一致した変動であった。さらに、各反応毎の平均スコアは、3.42であった (Table 6)。一方、再燃症例6例でも、血清 PSA は、臨床的に再燃と診断時にすべて異常高値を示していた。

考 察

前立腺癌診断とフォローアップにおける血清 PSA 値の臨床的意義は、多数の検討の結果ほぼ一定の評価を受けている¹⁻⁶⁾。すなわち、本抗原は前立腺組織特異蛋白であるため、診断時にもっとも問題となる BPH 症例においても、血清レベルが上昇すること、その原因は前立腺組織重量と関係があること、このため早期診断においては制約のあることなどであり、患者フォローアップにおける他の前立腺癌腫瘍マーカーと比しての優れた価値^{2,3,10-12)}と対照的である。しかし、米国では直腸診や超音波断層法など他の補助的手段と併用して、前立腺癌スクリーニングに応用する試みが行われはじめている¹⁾。

血清 PSA 値測定用キットとして現在入手可能なものは、従来から用いられてきた MARKIT FPA, EIKENPA のほか、PA-テストワコー (EIA, 和光純薬)⁶⁾、PROS-CHECK PSA (RIA, Yang Laboratory-富士薬品工業)⁹⁾、Ball ELSA PSA (RIA, CIS Diagnostic), E Test Toso II PA (EIA, 東ソー) が認可されている。今回検討した DELFIA PSA は、time-resolved fluoroimmunoassay⁸⁾ であり、EIA における酵素の代わりに europium を tracer として用いている。本方法では、広範囲の測定が可能であり⁷⁾、PSA 測定でも0.10から 500 ng/ml と 3.5

log という広い測定レンジを有していた。この範囲は従来の検討の結果、血清 PSA 値をほとんどカバーできることが判明しており、希釈による測定エラーを減少することが期待される。また、性能試験の結果でも述べたように、優れた quality control data であり、信頼できる測定系といえる。なお、この系で測定された血清 PSA 値は、米国においてももっとも汎用されている Tandem R-PSA (RIA, Hybritech) と対応するよう改良されている⁹⁾。

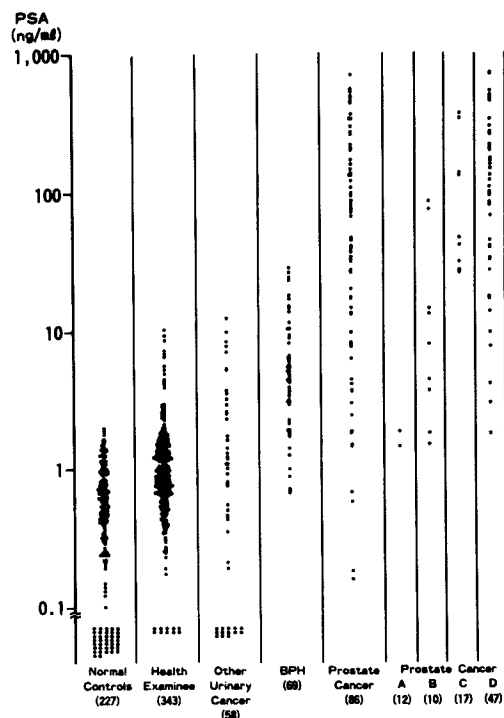


Fig. 3. Distribution of serum PSA values in various diseases

Table 4. Positive rates in serum PSA determination according to various cut-off values

	No. of examined	Cut-off values (ng/ml) : Positive case (%)				
		1.53	1.98	5.8	11.7	17.7
Normal controls	227	8 (3.5)	2 (0.9)	0	0	0
Health examinee	343	67 (19.5)	31 (9.0)	7 (2.0)	0	0
Renal cell carcinoma	23	7 (30)	7 (30)	2 (9)	0	0
Bladder tumor	35	13 (37)	12 (34)	4 (11)	2 (6)	0
BPH	69	62 (90)	55 (80)	21 (30)	8 (12)	3 (4)
Prostate cancer	86	76 (88)	73 (85)	67 (78)	62 (72)	58 (67)
Stage A	12	8 (67)	7 (58)	5 (42)	4 (33)	4 (33)
Stage B	10	8 (80)	7 (70)	5 (50)	4 (40)	2 (20)
Stage C	17	15 (88)	15 (88)	15 (88)	14 (82)	14 (82)
Stage D	47	45 (96)	44 (94)	42 (89)	40 (85)	38 (81)

1.53 ng/ml; mean + 2 S.D. in NHS, 1.98 ng/ml; mean + 3 S.D. in NHS, 5.8 ng/ml; mean in BPH, 11.7 ng/ml; mean + S.D. in BPH and 17.7 ng/ml; mean + 2 S.D. in BPH

Table 5. Sensitivity, specificity and efficacy in sero-diagnosis of prostate cancer according to various cut-off values

	Cut-off value (ng/ml)				
	NHS		BPH		
	mean+2 S.D. 1.53	mean+3 S.D. 1.98	mean 5.8	mean+S.D. 11.7	mean+2 S.D. 17.7
Sensitivity	88.4%	84.9	77.9	72.1	67.4
Specificity	10.1	20.3	69.6	88.4	95.7
Efficacy	53.5%	56.1	74.2	79.4	80.0

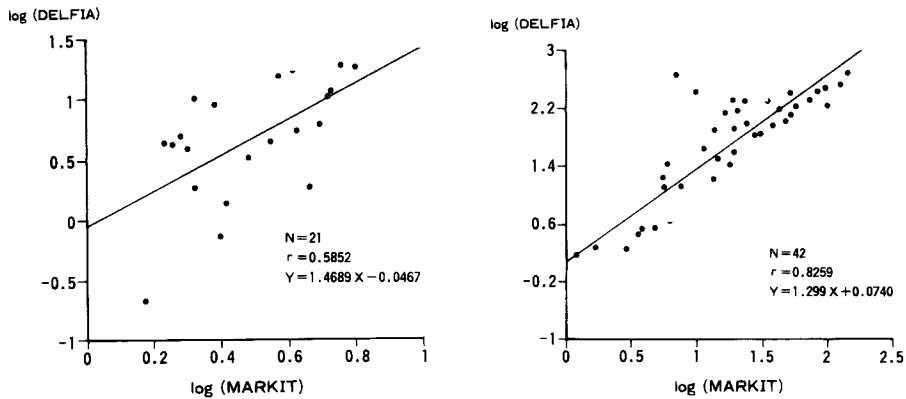
 Efficacy=true pos. in PC+true neg. in BPH/cases in PC and BPH $\times 100$


Fig. 4. Correlation between serum PSA values detected by DELFIA PSA and MARKIT-PA. Left is for BPH cases and right is for patients with prostate cancer

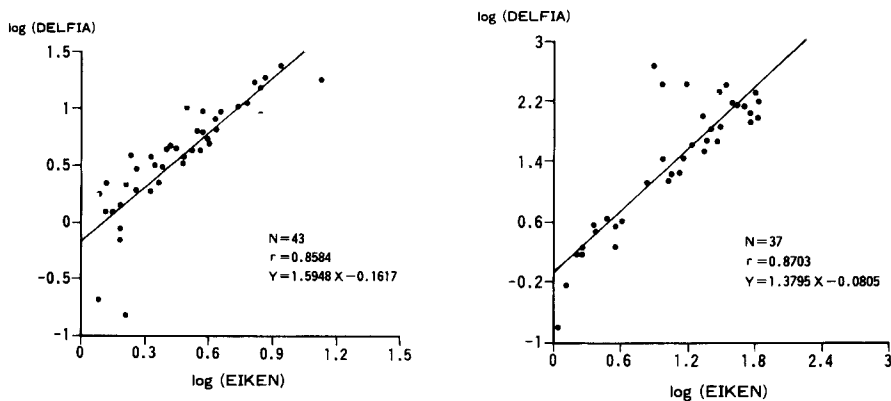


Fig. 5. Correlation between serum PSA values detected by DELFIA PSA and EIKEN PA. The graph on the left is for BPH cases and that on the right for patients with prostate cancer

臨床例での検討では、前立腺癌診断において、本法は、著者らが従来行ってきた他法の検討結果^{3,4)}と遜色のない結果がえられた。まず、健常男性例の血清 PSA 値の平均値+3 S.D. 値から、1.98 ng/ml を正常値と決定した。この健常者における血清 PSA 値の

分布は、76 名の健常フィンランド男性を用いた Vihko らの preliminary な報告⁹⁾ (分布; 0.2~2.88 ng/ml, 平均 $\pm$ S.D.; 0.96 ± 0.56 ng/ml) と、くしくもまったく一致した結果であった。しかし、彼らの症例の平均+3 S.D. 値から計算すると、正常値は 2.64 ng/

Table 6. Clinical usefulness of serially determined serum PSA values on follow up prostate cancer patients

Treatment response	No. of cases	No. of responses observed	Matching cases (%)		Matching rate (%)	Score by a case
			score 4	score 3		
Responder	11	13	7 (54)	6 (46)	100	3.54
Non-responder	5	6	1 (17)	5 (83)	100	3.17
Total	16	19	8 (42)	11 (58)	100	3.42

Scores were marked by the method of Kuriyama et al.³⁾

ml となり、若干異なった結果であった。さらに、今回の BPH 症例の血清 PSA 値は、Vihko の症例の平均値と分布（おのおの 6.75, 0.5~19.8 ng/ml）とも類似したデータであった。また、健常人に比し、BPH・前立腺癌症例は有意に高値を示すことが確認でき、前立腺癌症例では、stage C 以降で初めて BPH 症例と有意の差となることも従来の報告と同様であった。

日本人症例における正常値：1.98 ng/ml を用いると、BPH 症例の80%が陽性になり、前立腺癌診断用の cut-off 値として用いるには不適当と考えられたので、種々の値を候補者として有用性の検討を行った。この結果、cut-off 値を上昇させることによって有用性は向上し、BPH 症例の平均+2 S.D. 値である 17.7 ng/ml を用いると、感度：67.4%，特異性：95.7%，有用度：80.0%がえられた。この cut-off 値は、Tandem-R PSA における Guinan らの、cut-off 値を正常値の4倍の16 ng/ml とすることで、特異性が91%となった同様の検討結果¹³⁾と類似した値であった。しかし、特異性を高めて感度を低下させるのは、前立腺癌診断に必ずしも有利ではなく、感度：72.1%，特異性：88.4%，有用度：79.4%がえられた BPH 症例の平均+S.D. 値である 11.7 ng/ml が適当な cut-off 値ではないかと考えられた。なお、各点における有用度は、ほぼ同一の症例を用いた別の検討結果³⁾における他の PSA 測定法と比較して、同等かより優れた成績であった。

一方、前立腺癌症例のフォローアップにおける本法で測定した血清 PSA 値の変動は、再燃時における陽性率、臨床経過との一致率のいずれも、検討症例すべてで一致した結果であり有用性はきわめて高い結果であった。また、独自に考案したスコア化した検討³⁾でも、各症例の平均スコアも 3.42 と高値を示し、他の PSA 測定法と同等であった。

結 語

新しい non-isotopic な血清 PSA 測定法である

DELFLA PSA の臨床的検討を2施設の共同研究で行い、以下のような結論をえた。すなわち、本法は europium を tracer とした time-resolved fluoro-immunoassay であり、0.10~500 ng/ml という 3.5 log におよぶ広い測定範囲を有しており、検体必要量も 25 μ l と少量で済み、再現性にも優れ、さらに自動化も可能であった。また、本法は Tander-R PSA と同一の PSA 値となることも特色である。健常男性 227例の血清 PSA 値の平均+3 S.D. から、1.98 ng/ml を正常上限値と決定した。一方、前立腺癌と BPH を鑑別するもっとも効率的な cut-off 値として、BPH 症例の平均+S.D. 値である 11.7 ng/ml が優れていた。さらに、前立腺癌症例のフォローアップにおける有用性はきわめて高いことが確認できた。以上の結果から、本法は RIA によらない血清 PSA 測定法として、他法と同等以上の測定法であると考えられた。

文 献

- 1) Kuriyama M, Wang MC, Lee CL, et al.: Multiple marker evaluation in human prostate cancer with the use of tissue-specific antigen. J Natl Cancer Inst 68: 99-105, 1982
- 2) Oesterling JE: Prostate specific antigen: A critical assessment of the most useful tumor marker to adenocarcinoma of the prostate. J Urol 145: 907-923, 1991
- 3) 栗山 学, 篠田育男, 河田幸道, ほか: 前立腺癌における腫瘍マーカーの研究: 共同研声による PROSCHECK PSA の臨床的意義と他法との比較検討. 日癌治 26: 632-643, 1991
- 4) Kuriyama M, Shinoda I, Takeuchi T, et al. Clinical evaluation of prostate-specific antigen with an EIA: A co-operative study. Nishinohon J Urol 49: 1431-1438, 1987
- 5) 三木 誠, 町田豊平, 柳沢宗利, ほか: RIA による前立腺特異抗原 (PA) 測定の臨床的評価. 日泌尿会誌 75: 1982-1988, 1984
- 6) 荒井陽一, 吉貴達寛, 岡田謙一郎, ほか: 前立腺腫瘍マーカーとしての前立腺特異抗原の臨床的意義—三者同時測定をおこなった新鮮前立腺癌 113

- 例による γ -Seminoprotein および前立腺性酸性
フォスファターゼとの比較検討一. 泌尿紀要 **36**:
1519-1528, 1989
- 7) 日本泌尿器科学会, 日本病理学会編: 前立腺癌取
扱い規約, 第1版, 金原出版, 1985
 - 8) Lovgren T, Hemmila I, Pettersson K, et al.:
Time resolved fluorometry in immunoassay.
In: Alternative Immunoassay. Edited by
Collins WP, pp. 203-217, John Wiley &
Sons, New York 1985
 - 9) Vihko P, Kurkela R, Ramberg J, et al.:
Time-resolved immunofluorometric assay of
human prostate-specific antigen. Clin Chem
35: 92-95, 1990
 - 10) Kuriyama M, Wang MC, Lee CL, et al.:
Use of human prostate-specific antigen in
monitoring prostate cancer. Cancer Res **41**:
3874-3878, 1981
 - 11) Ercole CJ, Lange PH, Mathisen M, et al.:
Prostate specific antigen and prostatic acid
phosphatase in monitoring and staging of
patients with prostate cancer. J Urol **138**:
1181-1184, 1987
 - 12) 篠田育男: 前立腺癌患者の経過観察における腫瘍
マーカーの臨床的研究—prostate-specific anti-
gen (PA) と PAP・ γ -Sm についての検討—.
日癌治 **25**: 2627-2639, 1990
 - 13) Guinan P, Bhatti R and Ray P: An evalua-
tion of prostate specific antigen in prostate
cancer. J Urol **137**: 686-689, 1987
- (Received on October 21, 1991)
(Accepted on November 29, 1991)
(迅速掲載)