日消外会誌　21（10）：2406～2410，1988年

腫瘍マーカーKM01-EIAの測定経験
KM01-RPHAおよびCA19-9との比較

近畿大学医学部第1外科
森　亘平　犬房　春彦　相澤真澄夫
中野　敬次　中村　洋介　中村　哲彦
浜田　宏　相良　憲幸　安富　正幸

EXPERIENCES IN MEASUREMENT OF TUMOR MARKER KM01-EIA, A COMPERATIVE STUDY WITH KM01-RPHA AND CA19-9

Nobuhira MORI, Haruhiko INUFUSA, Masao AIZAWA, Keiji NAKANO, Yousuke NAKAMURA, Tetuhiko NAKAMURA, Hirosi HAMADA, Noriyuki SAGARA and Masayuki YASUTOMI
1st Department of Surgery, Kinki University School of Medicine

KM01はヒト結腸癌細胞に対するモノクローナル抗体KM01-antibodyにより認識される．われわれは消化器疾患を中心に279例のKM01をEIA法およびRPHA法により測定値するとともにCA19-9との関連性について検討した．KM01-EIAでは膵癌66.7%（4/6），胃癌32.0(16/50)，大腸癌32.0%（16/50）と消化器癌において高い陽性率を示したが乳癌8.7%（6/46），肺癌8.3%（1/12）と低い陽性率を示した．また大腸癌，胃癌では再発時にもおのおの50.0%（3/6），90.0%（10/11）と高い陽性率を示した．KM01とCA19-9は免疫学的交差が認められておりKM01-EIAとCA19-9は統計学的にも相関係数0.96と高い相関性をしめし各臓器癌でもほぼ同じ陽性率を示した．

索引用語：腫瘍マーカー，KM01-EIA法，carbohydrate antigen 19-9

はじめに

腫瘍マーカーは癌のスクリーニング，治療効果や進行度の判定，術後の経過観察などに用いられ特異性や感度の高い腫瘍マーカーの開発が進められている．KM01[1]は大柳らにより開発された新しい腫瘍マーカーで，ヒト結腸癌細胞に対するモノクローナル抗体KM01-antibodyで認識される新しい腫瘍マーカーである．KM01は半定量的なreversed passive hemagglutination（以下，RPHAと略す）で測定されているが，今回われわれは，新しく開発されたenzyme immunoassay法（以下，EIAと略す）で定量的に測定する機会を得，同時に測定したKM01-RPHA，carbohydrate antigen 19-9（以下CA19-9と略す）と比較検討した．

＜1988年6月8日受理＞別刷請求先：森　亘平
〒589　大阪狭山市大野東377－2　近畿大学医学部第1外科

方法ならびに材料

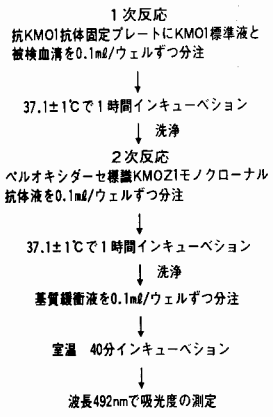
1．KM01-EIA法

2ステップサンドウィチ法でKM01抗体を結合させたマイクロプレートウェル（固相）に検体を添加し，37±1℃で1時間インキュベートし，固定抗体に結合させ洗浄後，ペルオキシダーゼ標識KM01抗体を添加，再び37±1℃で1時間インキュベートし，固相抗体—KM01—酵素標識抗体のサンドウィチ結合物を形成させ，基質緩衝液を加え室温で40分インキュベートした後，呈色反応停止後，吸光度の測定を行った．これらはKM01-EIAキット（ミドリ十字社）を用いた（図1）．

2．KM01-RPHA

逆受身赤血球凝集反応はKM01-RPHAキット（ミドリ十字社）を用い血球凝集価の測定はmicrotitra-

図1　KMO1-EIAの測定法（2ステップサンドウィチ法）



tion法により行ない，対照血清に対して血球凝集価が2管以上の減少をみた検体を陽性とした．定量は対照血清との凝集価の差で示した．

3．CA19-9

Centocor社製のキットを用いた，判定は37U/ml以上を陽性とした．

4．測定対象

近畿大学第1外科に入院した膵癌6例，胃癌50例，大腸癌50例，乳癌46例，肺癌12例，その他の悪性腫瘍20例，良性疾患66例および健常者29例の計279例を対象とした．悪性腫瘍は全て組織学的に診断されたもので再発例を除いてすべて術前に採血した．

結　果

1．KM01-EIA値について

健常者（29例）の平均値は103U/mlであり最高値は459U/mlであった，良性疾患の平均値（315U/ml）が健常者の平均値（103U/ml）と比較して高いが，これは胆石症の平均値が420U/mlと高く良性疾患の陽性例（13例）のうち胆石症が9例とほぼ半数をしめたためである．

KM01-EIAの膵癌（6例）の平均値は4,850U/mlと最も高く，大腸癌（50例）1,130U/ml，胃癌（50例）750U/mlと高値を示した．しかし乳癌（46例）260U/ml，肺癌（12例）149U/mlと低くKM01は消化器癌のスクリーニングに有用と思われた（**表1**）．

2．KM01-EIAとKM01-RPHAとの比較

EIA法とRPHA法の各臓器癌での陽性率を比較すると膵癌では66.7%（4/6）と同率であるが，EIAでは胃癌32.0%（16/50），大腸癌32.0%（16/50），乳癌13.0%（6/46），その他の悪性腫瘍20.0%（6/20）であったのに対しRPHAでは胃癌38.0%(19/50)，大腸癌42.0%（21/50），乳癌23.9%（11/46），その他の悪性腫瘍30.0%（6/20）とEIAはRPHAと比較して陽性率が低い．しかし良性疾患での陽性率はEIAで19.9%(13/66)，RPHAで18.2%(12/66)とほぼ同率となった健常者はいずれの方法によっても陰性であった（**表2**）．

相関性については相関係数0.84とEIAとRPHAとは非常に高い相関性を示した．またRPHAで偽陽性となったものはEIAではほとんど陰性となった（**図2**）．

3．KM01-EIAとCA19-9の比較

膵癌でKM01-EIAは66.7%（4/6），CA19-9で60.0%（3/5）といずれも高い陽性率であった．

表1　各疾患別KMO1-EIA値の平均値

疾患	症例数	平均値（U/ml）
膵癌	6	4850
胃癌	50	750
大腸癌	50	1130
乳癌	46	260
肺癌	12	149
その他の悪性腫瘍	20	1160
良性疾患	66	315
健常者	29	103
全症例	279	680

表2　各疾患別KMO1-RPHA，KMO1-EIA，CA19-9の陽性率

疾患	KM01-RPHA	KM01-EIA	CA19-9
膵癌	4/6 (66.7)	4/6 (66.7)	3/5 (60.0)
胃癌	19/50 (38.0)	16/50 (32.0)	15/50 (30.0)
大腸癌	21/50 (42.0)	16/50 (32.0)	15/50 (30.0)
乳癌	11/46 (23.9)	6/46 (13.0)	4/46 (8.7)
肺癌	0/12 (0)	1/12 (8.3)	1/9 (11.1)
その他の悪性腫瘍	6/20 (30.0)	4/20 (20.0)	4/20 (20.0)
良性疾患	12/66 (18.2)	13/66 (19.7)	5/66 (7.6)
健常者	0/29 (0)	0/29 (0)	0/29 (0)

（　）：%

図2　KMO1-RPHA と KMO1-EIA の相関

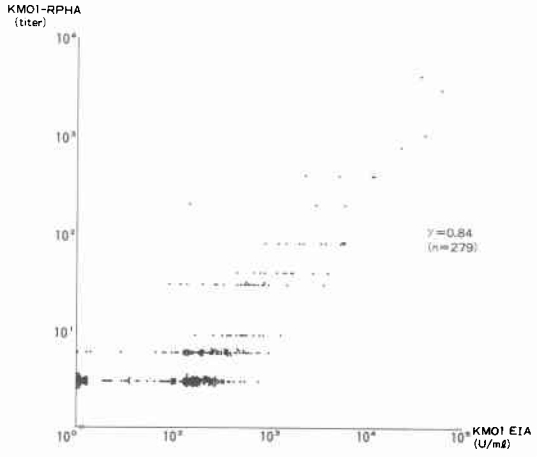
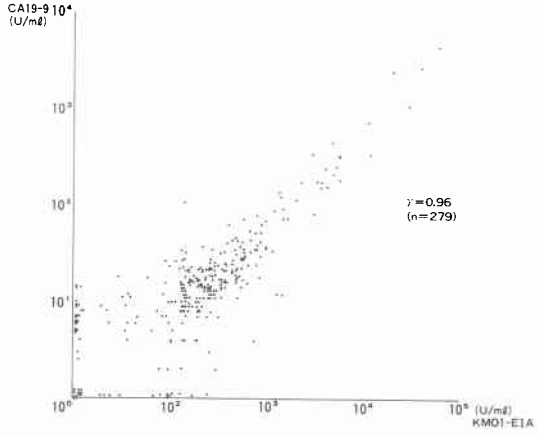


図3　CA19-9と KMO1-EIA の相関



KM01-EIA で胃癌，大腸癌でともに32.0%(16/50)を示したが，乳癌および肺癌の陽性率はそれぞれ13.0%（6/46)，8.3%（1/12)と低くなった．CA19-9では胃癌，大腸癌でともに30.0%（15/50)，乳癌8.7%（4/46)，肺癌11.1%（1/9）とほぼ同率であり同様の傾向を示した．良性疾患の陽性率は KM01-EIA で19.9%(13/66)，CA19-9で7.6%（5/66）となり KM01-EIA は CA19-9の約2倍と高くなった（**表2**）．

相関性については，相関係数0.96と非常に高い相関性を示した（図3）．

4．胃癌，大腸癌における進行度別陽性率

KM01，CA19-9とも胃癌，大腸癌で進行症例に陽性率が高くなった．胃癌では KM01および CA19-9とも Stage I, II において陽性例はなかった．KM01は Stage III で30.0%（3/10)，Stage IV で50.0%（10/20）と進行するにしたがって陽性率が高くなった．CA19-9においても同様な傾向を示した．大腸癌においては KM01，CA19-9ともに Stage I，II，III でおのおの1例のみ陽性となり Stage IV, V で KM01で30.0%(3/10)，CA19-9で38.5%（5/13）と進行するにしたがい陽性率は高くなった（**表3**）．

表3　胃癌と大腸癌の進行度（Stage）別陽性率

Stage	胃癌		大腸癌	
	KM01-EIA	CA19-9	KM01-EIA	CA19-9
I	0/9 (0)	0/9 (0)	1/10 (1.0)	1/10 (1.0)
II	0/5 (0)	0/5 (0)	1/7 (14.3)	1/7 (14.3)
III	3/10 (30.0)	2/10 (20.0)	1/9 (11.1)	1/9 (11.1)
IV（V）	10/20 (50.0)	9/20 (45.0)	3/10 (30.0)	5/13 (38.5)

（ ）：%

表4　胃癌と大腸癌の再発時の KMO1-EIA, CA19-9 の陽性率

疾患	KMO1-EIA	CA19-9
胃癌	3/6 (50.0)	4/6 (66.7)
大腸癌	10/11(90.9)	7/11 (63.6)

（ ）：%

5．胃癌，大腸癌における再発症例の陽性率

KM01では胃癌50.0%（3/6），大腸癌90.9%（10/11)，CA19-9では胃癌66.7%（4/6），大腸癌66.7%（7/11)となった．KM01では特に大腸癌において再発時において高い陽性率となった（**表4**）．

考　察

KM01は大柳ら[1]により開発された新しい腫瘍マーカーであり，ヒト結腸癌細胞（COLO201）の細胞成分によって感作されたマウス脾細胞とマウスミエローマ細胞を細胞融合し，この hybridoma の産生するモノクロナール抗体によって認識される抗原である．それに対して CA19-9は Koprowski ら[2]により見つけ出されたヒト結腸癌株化細胞（SW1116）由来細胞膜糖鎖抗原で広く臨床的に応用されている．KM01は CA19-9と相互に免疫学的交差が認められてる糖鎖抗原であり，ほぼ同一の抗原決定基の存在が推定されている．しかし KM01は糖と蛋白からなる glycoprotein であり

CA19-9は糖と脂質からなるmonosialoganglioside であるからこれらの抗原は異なったものであるとされている[1]．KM01は半定量的にRPHAにより測定されており膵癌，胆嚢癌，胆管癌に特異性が高いとされている[3]．今回，われわれは新しく開発されたEIA法で定量的に測定を試みた．

われわれの症例ではKM01の陽性率が膵癌で66.8%（4/6），CA19-9で60.0%（3/5）であった．大柳らの報告[11]ではKM01で73.3%（22/30），CA19-9で73.3%（22/30）であり今回の測定では低かったが，これは症例数が少ないためと思われる．しかし膵癌（6例）の平均値は4,850U/mlと大腸癌，胃癌と比べて非常に高く，また胆管癌の1例でも55,770U/mlと全症例中で最高値を示した．これはKM01が膵癌，胆管癌に特異性が高いとされていることと一致する．またKM01-EIAの陽性率は大腸癌および胃癌で32.0%（16/50）であり大腸癌，胃癌などの消化器癌のスクリーニングにも使用可能である．EIAとRPHAは統計的に相関係数0.84と高い相関性を示したが，胃癌，大腸癌，乳癌においてはEIAよりRPHAのほうが陽性率が高かった．大柳によればEIA，RPHAとも再現性は良好であり陽性率にも差は認めていない．cut off値を530U/mlからmean±2SDの470U/mlにすれば各臓器での陽性率が高まりRPHAとEIAの差は小さくなる．

一般にcut off値を低くとれば，感度は上がるが特異性は低下する．癌を見つけだす癌のスクリーニングを主な目的とすればcut off値はmean±2SDの470U/mlが良いと思われる．しかしcut off値を470U/mlとすれば胃癌38.0%（19/50），大腸癌36.0%（18/50）と各臓器癌での陽性率は上がるが良性疾患の陽性率が21.2%（14/66）と高くなる．良性疾患と鑑別し膵癌の存在診断が主な目的とすれば偽陽性率を小さくする必要がありこの場合たとえばcut off値をmean±3SDの620U/mlと高くもってくる必要がある．この値での良性疾患での陽性率は13.6%（9/66）と低下する（**表5**）．

この様に腫瘍マーカーのsensitivityとspecifityはcut off値により変動することから腫瘍マーカーの診断能の評価にはpredictive value[4]，diagnostic accuracy[5]，efficacyなどを用いるべきであると考えられた．ここで全症例（279例）のdiagnostic accuracyを比較するとKM01-RPHAで51.6%，KM01-EIAで46.2%，CA19-9で47.3%となり，満足すべき値と思われた（**表6**）．良性疾患における陽性率は，一般にCA19-9で1.5～5.3%[6)7)]でありわれわれの症例でも5.3%（5/66）となり，正中頸嚢胞（1例），胆石症（4例）に陽性となった．KM01-EIAにおいて良性疾患の陽性率は19.7%（13/66）と高くなり正中頸嚢胞，結核性リンパ節炎，脾腫，S状結腸憩室，脂肪腫，および胆管炎それぞれ1例，胆石症9例となり，胆石症のしめる割合が高かった．そこで胆石症において炎症所見，閉塞性黄疸，症状の有無について検討してみた．

炎症所見は血沈25mm以上，CRP陽性，白血球8,000以上のいずれかを認めたものを陽性とした．閉塞性黄疸は総ビリルビン値1.5ml/dl以上を陽性とした．症状はKM01-EIA陽性例の9例中8例が腹痛を認め，炎症所見は9例中5例に陽性となった．閉塞性黄疸を認めた4例中3例にKM01-EIAが陽性となった．また

表5　各cut off値におけるKM01-EIA陽性率

疾患	cut off値		
	470U/ml	530U/ml	620U/ml
膵癌	4/6 (66.7)	4/6 (66.7)	4/6 (66.7)
胃癌	19/50 (38.0)	16/50 (32.0)	15/50 (30.0)
大腸癌	18/50 (36.0)	16/50 (32.0)	15/50 (30.0)
乳癌	17/46 (15.2)	6/46 (13.0)	3/46 (6.5)
肺癌	1/12 (8.3)	1/12 (8.3)	0/12 (0)
その他の悪性腫瘍	6/12 (30.0)	4/20 (20.0)	4/20 (20.0)
良性疾患	14/66 (21.2)	13/66 (19.9)	9/66 (13.6)
健常者	0/29 (0)	0/29 (0)	0/29 (0)

（　）：%

表6　各腫瘍マーカーのdiagnostic accuracy

腫瘍マーカー	diagnostic accuracy
KM01-EIA	46.2%
KM01-RPHA	51.6%
CA19-9	47.3%

（n=279）

$$\text{Diagnostic accuracy} = \frac{\text{癌患者の陽性者数＋良性疾患（＋健常者）の陰性者数}}{\text{癌患者数＋良性疾患（＋健常者）の患者数}} \times 100$$

CA19-9は陽性となった4例すべてに炎症所見を認め，1例に閉塞性黄疸を認めた．またCA19-9で陽性となったものは，すべてKM01で陽性となった．CA19-9値が胆石症においていかなる機序で上昇するか不明であるが，CA19-9は正常の胆管，胆のう，膵管上皮にわずかに分布しており[8]，胆のう炎を合併すると炎症反応のため胆のう，胆管上皮が障害され，抗原が血中に逸脱するためと推定されている[9]．KM01は正常では膵管上皮に認められているが[10]，それ以外の胆のう，胆管にも存在しCA19-9と同じメカニズムでKM01値が上昇すると考えられる．今後胆汁中のKM01-EIA値，胆嚢炎の改善後のKM01-EIA値の変化などの検討が必要である．

再発症例では胃癌，大腸癌でKM01-EIA，CA19-9ともに陽性率は高く再発時のマーカーとして有用であった．特にKM01-EIAは大腸癌において90.9%と11例中100例陽性となった．またKM01-EIA値とCA19-9値は胃癌，大腸癌ともに統計学的にも相関性は高く相関係数はおのおの0.83，0.94となった．

KM01はCA19-9と抗原そのものは，違うが抗KM01抗体と免疫学的交差を認め，臨床的にも腫瘍マーカーの性格は似ており，胃癌，大腸癌において両者の大きな差は認められなかった．しかしKM01-RPHAは簡便に測定可能であり，またKM01-EIAは酵素抗体法でありCA19-9の様に放射性物質を用いないためどの施設でも測定可能であり，KM01はCA19-9と同様に有用な腫瘍マーカーとなりうると思われた[11]．

結　語

1. KM01は膵癌に特異性が高く，消化器癌のスクリーニングに有用である．

2. KM01-EIAはKM01-RPHAと高い相関性を示しKM01-EIAにより定量可能となった．

3. KM01-EIAはCA19-9と高い相関性を示し，診断能もほぼ同じであった．

4. KM01は再発時に陽性率が高く術後の経過観察に有用と思われた．

文　献

1) 大柳治正，石田常之，上坂邦夫ほか：新しいモノクロナール抗体で検出される膵癌診断用のKM01の特異性について．日消病会誌　82：1572—1579，1985

2) Koprowski H, Steoplawski Z, Mitchell K et al: Colorectal carcinoma antigens detected hybridoma antibodies. Somat Cell Genet 5: 957—972, 1979

3) 斉藤洋一，大柳治正，小松作蔵ほか：新しい腫瘍マーカーKM01の臨床的検討．診断と治療　74：2447—2554，1986

4) Kuusela P, Jalaniko H, Roberts P et al: Comparison of CA19-9 and carcinoembryonic antigen (CEA) levels in the serum of patients with colorectal diseases. Br J Cancer 49: 135—139, 1984

5) Fabris C, Farini R, Del Favero G et al: Combinend evaluation of serum ribonuclease and feritin: Any advantages in pancreatic cancer daagnosis?. Oncology 41: 393—395, 1984

6) Del Villano BB, Brennan S, Brock P et al: Radioimmunometric assay for a monoclonal antibody-defined tumor marker. J Clin Chem 29: 549—552, 1984

7) 古川　信，小坂　進，櫛引　健ほか：新しい消化器関連抗原（CA19-9）の検討—CEA．IAPとの対比—．癌の臨　30：357—362，1984

8) Atkinson BF, Ernst CS, Herlyn M et al: Gastrointestinal cancer-associated antigen in immunoperoxidase assay. Cancer Res 42: 4820—4823, 1982

9) 布施好信，辻　俊三，谷脇雅史ほか：胆石症における血清CA19-9の臨床的意義について．日消病会誌　83：2196—2200，1986

10) 大柳治正，石田　常，上坂邦彦ほか：消化器癌診断用の新しいモノクロナール抗体（KM01-antibody, KM02-antibody）とその臨床応用．日消病会誌　82：1748—1755，1985

11) 大柳治正，斉藤洋一，奥村修一ほか：新しい消化器癌腫瘍マーカーKM01のEIA測定法の開発と応用．膵蔵　86：59—68，1986