

Basic Study of Elecsys[®] SCC and a Comparison with ARCHITECT[®] SCC

Yasuhiro TANAKA¹⁾, Takeshi MITSUI¹⁾, Miyako MATSUMOTO¹⁾,
Sayaka FUJINAMI¹⁾, Megumi YANO¹⁾, Tomoe MATSUZAKI¹⁾,
Hirofumi SHIMADA¹⁾, Akira MATSUNAGA^{1), 2)}

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Fukuoka University Hospital

²⁾ Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

Abstract

We conducted a basic study in preparation for the in-hospital introduction of the Elecsys[®] SCC (electro chemiluminescence immunoassay : ECLIA method) manufactured by Roche Diagnostics K. K. and the Elecsys[®] SCC was compared with the current ARCHITECT[®] SCC (chemiluminescence immunoassay : CLIA method) manufactured by Abbott Japan Co., Ltd. The basic performance was good for simultaneous reproducibility, daily reproducibility, the limit of quantification, and the effects of interfering substances of the Elecsys[®] SCC. The correlation between the Elecsys[®] SCC and the ARCHITECT[®] SCC was relatively good, but some specimens did not match positive / negative results. The concordance rate was 80%. In addition, one discrepancy sample was observed. A gel filtration analysis suggested the possibility of a high molecular weight SCC antigen playing a role in the discrepancy sample.

Key words : SCC, Elecsys, ARCHITECT, ECLIA, CLIA

エクルーシス試薬 SCC の基礎的検討と アーキテクト SCC・アボット試薬との比較

田中 康宏¹⁾ 光井 健¹⁾ 松元美弥子¹⁾
藤波 清香¹⁾ 矢野めぐみ¹⁾ 松崎 友絵¹⁾
嶋田 裕史¹⁾ 松永 彰^{1), 2)}

¹⁾ 福岡大学病院臨床検査部

²⁾ 福岡大学医学部臨床検査医学

要旨：今回、我々は、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社製のエクルーシス試薬 SCC（電気化学発光免疫測定法：ECLIA 法）の院内導入を考慮し基礎的検討を行い、さらに、現行のアボット ジャパン株式会社製のアーキテクト SCC・アボット（化学発光免疫測定法：CLIA 法）との比較検討も行った。エクルーシス試薬 SCC の同時再現性、日差再現性、定量下限、干渉物質の影響について、基礎的性能は良好であった。アーキテクト SCC・アボットとの相関も良好であったが、陽性・陰性判定が一致しない検体も認め、一致率は80%であった。また、乖離検体 1 例は、ゲル濾過分析にて高分子化 SCC 抗原の可能性が示唆された。

キーワード：SCC, エクルーシス, アーキテクト, ECLIA, CLIA

はじめに

扁平上皮癌関連抗原 (squamous cell carcinoma antigen: SCC 抗原) は, ヒト子宮頸部扁平上皮癌組織から抽出, 精製された分子量約 45kDa の糖蛋白である¹⁾. 癌のみならず, 正常扁平上皮にも発現を認めるが, SCC 抗原は子宮頸癌, 頭頸部癌, 食道癌, 肺癌などの扁平上皮癌で高値が認められる^{2)~5)}. 血清中の SCC 抗原測定は扁平上皮癌の補助診断に用いられる. SCC 抗原は SCCA-1 抗原と SCCA-2 抗原という 2 種類の蛋白質から構成されており, SCCA-2 抗原は, SCCA-1 抗原に比べ扁平上皮癌細胞でより高い発現性を示す事が知られており^{6) 7)}, 両方の抗原を測定する事が, 癌診療において重要と考えられている. 現在, SCC 抗原測定法には化学発光免疫測定法 (CLIA 法), 電気化学発光免疫測定法⁸⁾ (ECLIA 法) などが使用されている. また, 測定法によって抗原に対する反応性の違いがあることが知られている. 今回, 院内導入を目的に2017年に開発されたエクルーシス試薬 SCC (以下エクルーシス SCC) の基礎的検討を行い, さらに測定法の違う現行試薬のアーキテクト SCC・アボット試薬 (以下アーキテクト SCC) との比較検討を実施したので報告する.

対象と方法

対象

福岡大学病院臨床検査部に SCC 抗原の測定依頼があった血清検体のうち, 残余検体の研究利用に同意が得られた50検体 (男性: 26歳~88歳の30検体, 女性: 21歳~91歳の20検体, 肺癌11検体, 子宮頸癌 5 検体, 食道癌 12検体, 咽頭癌 1 検体, 下顎癌 1 名, その他20検体 (肺炎, 骨折, 卵巣腫瘍, 膀胱腫瘍, 胃癌, 腎症, 食道アカシア, 原発不明癌など) を用いた.

なお, 本研究は福岡大学医に関する倫理委員会による承認を受け実施した (承認番号: 09-8-04).

測定機器, 試薬

測定機器は, 生化学・免疫統合型分析装置 cobas® 8000 e802 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) と全自動化学発光免疫測定装置 ARCHITECT® アナライザー i2000SR (アボットジャパン株式会社) を用いた.

試薬は, エクルーシス SCC (電気化学発光免疫測定法: ECLIA 法), カットオフ値はメーカー添付文書より 2.5ng/mL 以下 (健常者の95.6%タイル値), アーキテクト SCC (化学発光免疫測定法: CLIA 法), カットオフ値はメーカー添付文書より 1.5ng/mL 以下 (健常者の95.6%タイル値) を使用した.

同時再現性, 日差再現性, 干渉物質の影響についての SCC 抗原は, エクルーシス プレチコントロール LC (低濃度 LC1, 高濃度 LC2) を使用, 干渉物質は, 干渉チェック A プラス・干渉チェック RF プラス (シスメックス株式会社) を用いた.

ゲル濾過分析には, G3000SWXL カラム (東ソー) を使用した. 流速 0.5mL/min にて 0.25mL のフラクションを行った. 溶出液には, pH7.0 では 50mM Phosphate, 150mM NaCl を, pH3.0 では 200mM Glycine を用いた.

統計解析

統計ソフト PRISM を用い, ピアソンの積率相関係数・無相関検定を実施した.

定量下限については, 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会の評価法を用いた⁹⁾.

結 果

1 同時再現性

エクルーシス プレチコントロール LC 2 濃度 (LC1, LC2) を20回同時測定し, 平均値および標準偏差から変動係数 (CV) をもとめた. CV は LC1 が1.05%, LC2 は0.73%であった (表1).

2 日差再現性

LC1, LC2 を34日間のうち20日測定し, 平均値および標準偏差から CV を求めた. CV は LC1 が1.50%, LC2 は1.33%であった (表2).

3 エクルーシス SCC の定量下限

5 濃度の低濃度検体を用いて各濃度 5 日間 2 重測定を実施し, その各平均値と CV から, 累乗近似式を求めた. その累乗近似式より CV が 7%・10%・20% の定量下限 (LoQ) を求め, 試薬添付文書記載の LoQ (0.6ng/mL) を満たしているかを確認した. 求めた LoQ は CV 7% で 0.360ng/mL, CV10% で 0.273ng/mL, CV20% で 0.159ng/mL であった (図1).

4 エクルーシス SCC への干渉物質の影響

67.5%へ希釈された LC1, LC2 (RF は LC2 のみ) に干渉チェック A プラス・干渉チェック RF プラス (シスメックス株式会社) を添加, SCC 抗原を 2 重測定し影響を確認した. その結果, ビリルビン F 18.0mg/dL, ビリルビン C 18.8mg/dL, 乳び 1590FTU, ヘモグロビン 470mg/dL, RF 500IU/mL の各濃度までエクルーシス SCC 測定値に影響は見られなかった (図2).

表 1 同時再現性 (ng/mL)

	PC LC1	PC LC2
1	2.00	18.60
2	1.99	18.60
3	1.96	18.70
4	1.96	18.60
5	1.98	18.60
6	1.99	18.40
7	2.01	18.40
8	1.98	18.60
9	1.96	18.70
10	1.96	18.70
11	1.97	18.90
12	1.95	18.60
13	1.98	18.90
14	1.95	18.50
15	1.98	18.70
16	1.99	18.80
17	1.96	18.60
18	1.98	18.60
19	1.96	18.80
20	2.03	18.60
n	20	20
Mean	1.98	18.65
SD	0.021	0.136
CV (%)	1.05	0.73
Min	1.95	18.40
Max	2.03	18.90
Range	0.08	0.50

表 2 日差再現性 (ng/mL)

Day	PC LC1	PC LC2
1	1.95	18.50
6	2.03	19.40
7	2.00	19.20
11	2.03	19.40
12	2.01	19.30
13	2.03	19.10
14	2.00	19.20
15	1.96	18.80
16	2.00	18.70
18	2.00	19.00
19	1.99	19.00
20	2.01	19.10
21	1.99	19.00
22	1.97	19.00
25	1.97	18.60
26	2.00	18.70
27	2.07	19.00
28	2.04	19.00
29	2.04	18.80
34	1.98	18.80
n	20	20
Mean	2.00	18.98
SD	0.030	0.253
CV (%)	1.50	1.33
Min	1.95	18.50
Max	2.07	19.40
Range	0.12	0.90

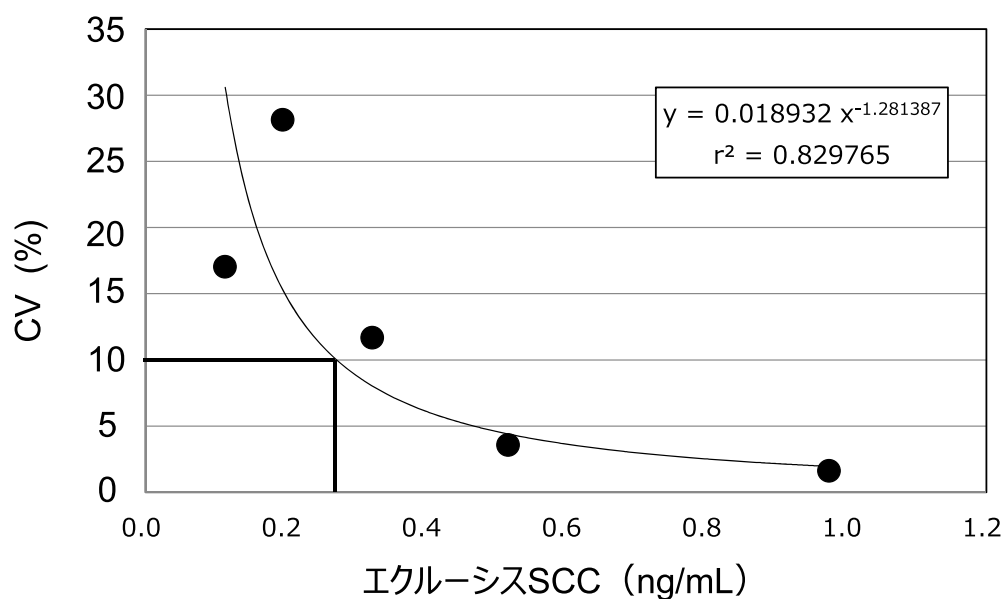


図 1 エクレーシス SCC の定量下限

5 濃度の低濃度検体を用いて各濃度 5 日間 2 重測定を実施し、その各平均値と変動係数 (CV) から累乗近似式を求めた、その累乗近似式より CV が 10% の定量下限 (LoQ) 0.273ng/mL を求めた。

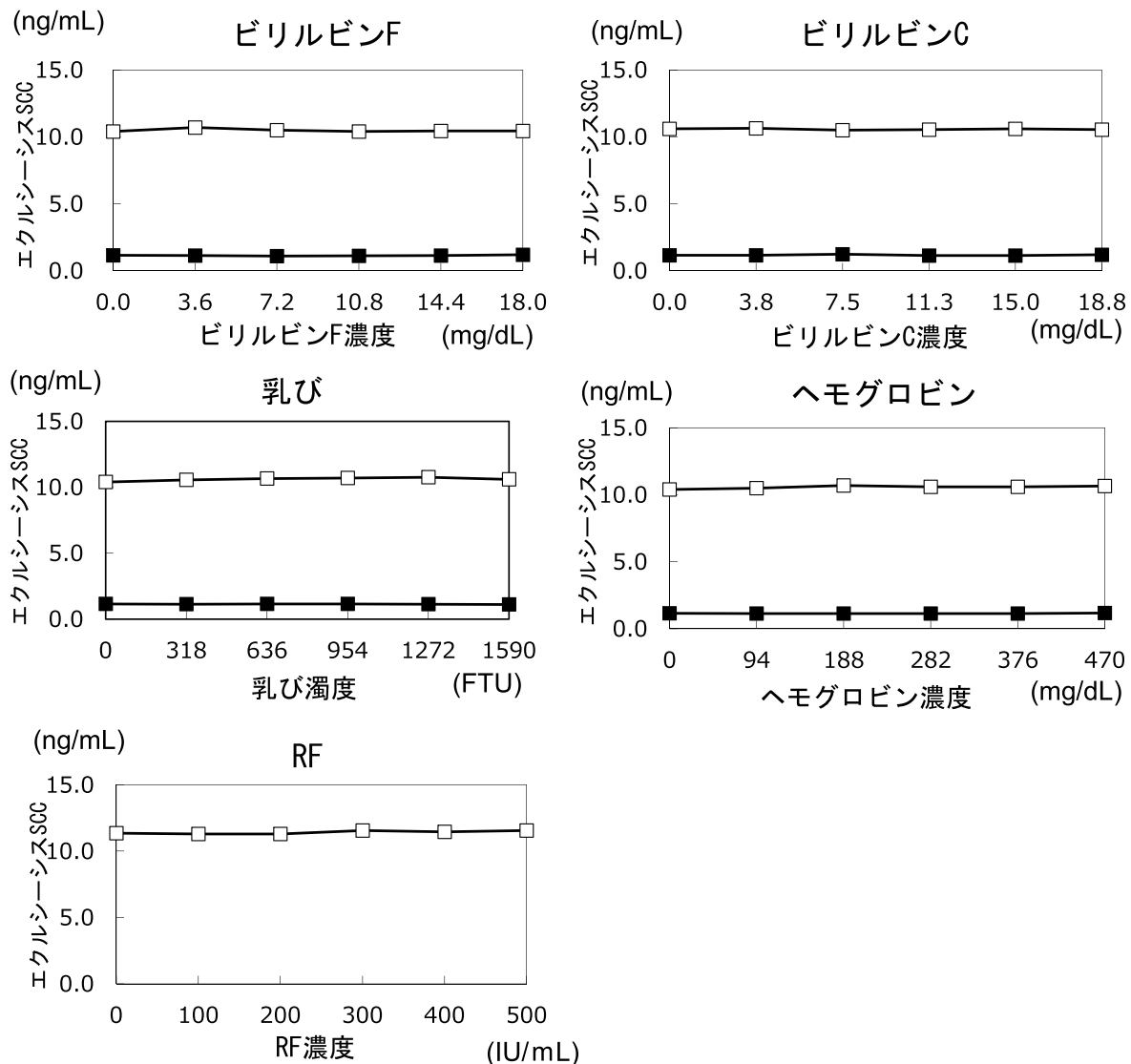


図2 エクルーシス SCC への干渉物質の影響 (ビリルビン F, ビリルビン C, 乳び, ヘモグロビン, RF)
 ■—■ : LC1 □—□ : LC2 LC1, LC2 は67.5%に希釈

5 エクルーシス SCC とアーキテクト SCC の相関

SCC 抗原測定依頼のあった50例を用いてエクルーシス SCC とアーキテクト SCC との相関性を検討した。このうち1例はエクルーシス SCC で 8.35ng/mL, アーキテクト SCC で 70.0ng/mL 以上と乖離検体であった。乖離検体を除外した49例では、回帰式 $y=0.9149x+0.7642$, 相関係数 $r=0.9931$ ($P<0.05$) で、良好な相関関係が認められた (図3 A, B)。図3 BはAの拡大で陽性判定付近を示している。また、メーカーの参考基準範囲 (エクルーシス SCC : ≤ 2.5 ng/mL, アーキテクト SCC : ≤ 1.5 ng/mL) を指標とした陽性・陰性判定一致率を表3に示す。判定一致率は80%であった ((25+15)/50)。また、陽性・陰性判定が一致しなかった検体10例の測定値と患者の状況を示した。陽性・陰性判定が一致しなかった10例中9例はアーキテクト SCC が陽性、エ

クルーシス SCC が陰性であった (表4)。

6 乖離検体分析

1) 乖離検体の希釈直線性試験

エクルーシス SCC にて低値、アーキテクト SCC にて高値を示した乖離1検体について、メーカー指定の希釈液を用いて段階希釈し、アーキテクト SCC による希釈直線性を確認した。32倍までの5濃度の段階希釈で良好な直線性が得られた (表5)。

2) ゲル濾過分析

G3000SWXL カラムを用いたゲル濾過分析で、乖離検体の検討を行った。なお、本測定はアボットジャパン株式会社に依頼した。

pH7.0 でゲル濾過後、各フラクションを、アーキテクト SCC で測定した結果、アーキテクト SCC コントロー

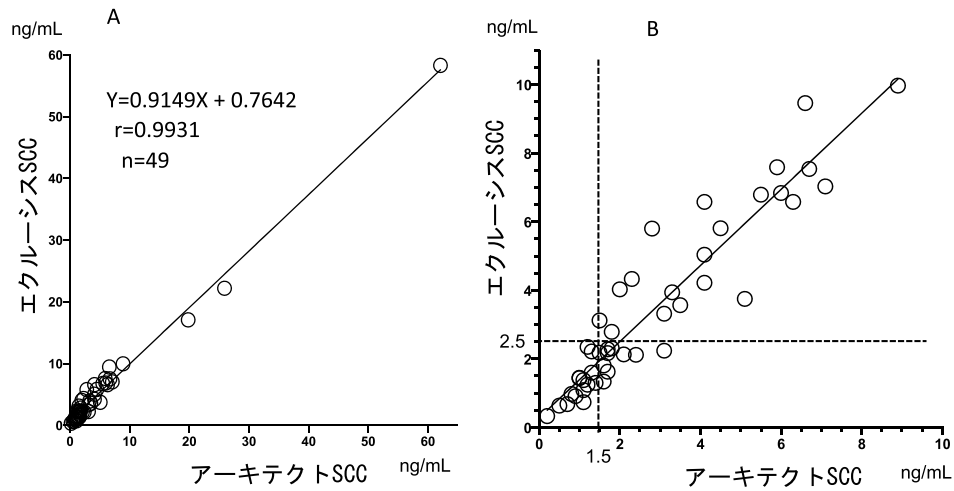


図3 エクルーシス SCC とアーキテクト SCC の相関性
A：49検体全体，B：各 SCC 抗原濃度が 10ng/mL 以下の部分の拡大）

表3 各々のカットオフ値で分類した陽性・陰性数
～エクルーシス SCC とアーキテクト SCC の比較～

		アーキテクト SCC (>1.5ng/mL)		合計
		陽性	陰性	
エクルーシス SCC (>2.5ng/mL)	陽性	25	1	26
	陰性	9	15	24
合計		34	16	50

表4 陽性・陰性判定が一致しなかった10検体の測定値と患者状況

	アーキテクト SCC (ng/mL)	エクルーシス SCC (ng/mL)	病名・状況
1	3.1*	2.2	食道癌治療後
2	2.4*	2.1	頸部食道癌
3	2.1*	2.1	左上葉肺癌
4	1.8*	2.3	悪性リンパ腫
5	1.7*	2.3	卵巣成熟奇形腫
6	1.7*	2.1	食道癌治療後
7	1.7*	1.6	肺炎，仙骨翼部不全骨折
8	1.6*	1.8	右上葉肺癌
9	1.6*	1.3	左卵巣腫瘍
10	1.5	3.1*	胸部下部食道癌

＊，陽性

表5 乖離検体の希釈直線性試験

希釈倍率	測定値 (ng/mL)	換算値 (ng/mL)	vs 希釈検体 (%)
2	50.4262	100.8524	100.0
4	24.6444	98.5776	97.7
8	13.1265	105.0120	104.1
16	6.8654	109.8460	108.9
32	3.6553	116.9696	116.0
希釈直線性平均値：			106.7

ルの分画領域より高分子側の分画領域に活性のピークが確認された(図4 A, B)。また、自己抗体を分離させるため pH3.0 でも同様にゲル濾過分析を実施した結果、アーキテクト SCC コントロールと同じ分画領域に活性のピークが確認された(図4 C, D)。

考 察

SCC 抗原には、SCCA-1 抗原と SCCA-2 抗原の2種類のアイソフォームが存在する。アーキテクト SCC とエクレーシス SCC に用いられる抗 SCC 抗体の違い(エクレーシス SCC: リコンビナント抗原を免疫原としたマウスモノクローナル抗体, アーキテクト SCC: 子宮頸癌組織を免疫原としたマウスモノクローナル抗体)による SCCA-1 抗原と SCCA-2 抗原に対する異なる反応性が測定値に影響すると考えられている。また、酸性分画の SCCA-2 抗原は正常組織中にも多く含まれる SCCA-1 抗原よりも癌組織中で増加すると考えられている。

今回、院内導入を考慮しエクレーシス SCC の基礎的検討を行ったところ、同時再現性、日差再現性、定量下限、干渉物質の影響試験において良好な結果が得られた。

2つの SCC 測定試薬、エクレーシス SCC とアーキテクト SCC との相関性の試験では、両測定法の相関は、回帰式 $y=0.9149x+0.7642$, 相関係数 $r=0.9931$ ($P<0.05$) と良好であった。測定値 10ng/mL 以上の癌患者3例(右肺門部扁平上皮癌, 胸部食道癌, 左上葉肺癌)で、エクレーシス SCC よりもアーキテクト SCC のほうが高値となった。また、図3 B, 表3, 表4で示した、陽性・陰性判定が一致しなかった10例中9例についてはアーキテクト SCC が陽性となっていた。他施設の不一致報告例でもアーキテクト SCC 陽性・エクレーシス SCC 陰性のパターンのものが報告されている⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾。メーカーの参考基準範囲やカットオフ値の違い(アーキテクト SCC は $>1.5\text{ng/mL}$ が陽性, エクレーシス SCC は $>2.5\text{ng/mL}$ が陽性), および使用抗体の違いによる各疾患による含有量の異なる SCCA-1 抗原と SCCA-2 抗

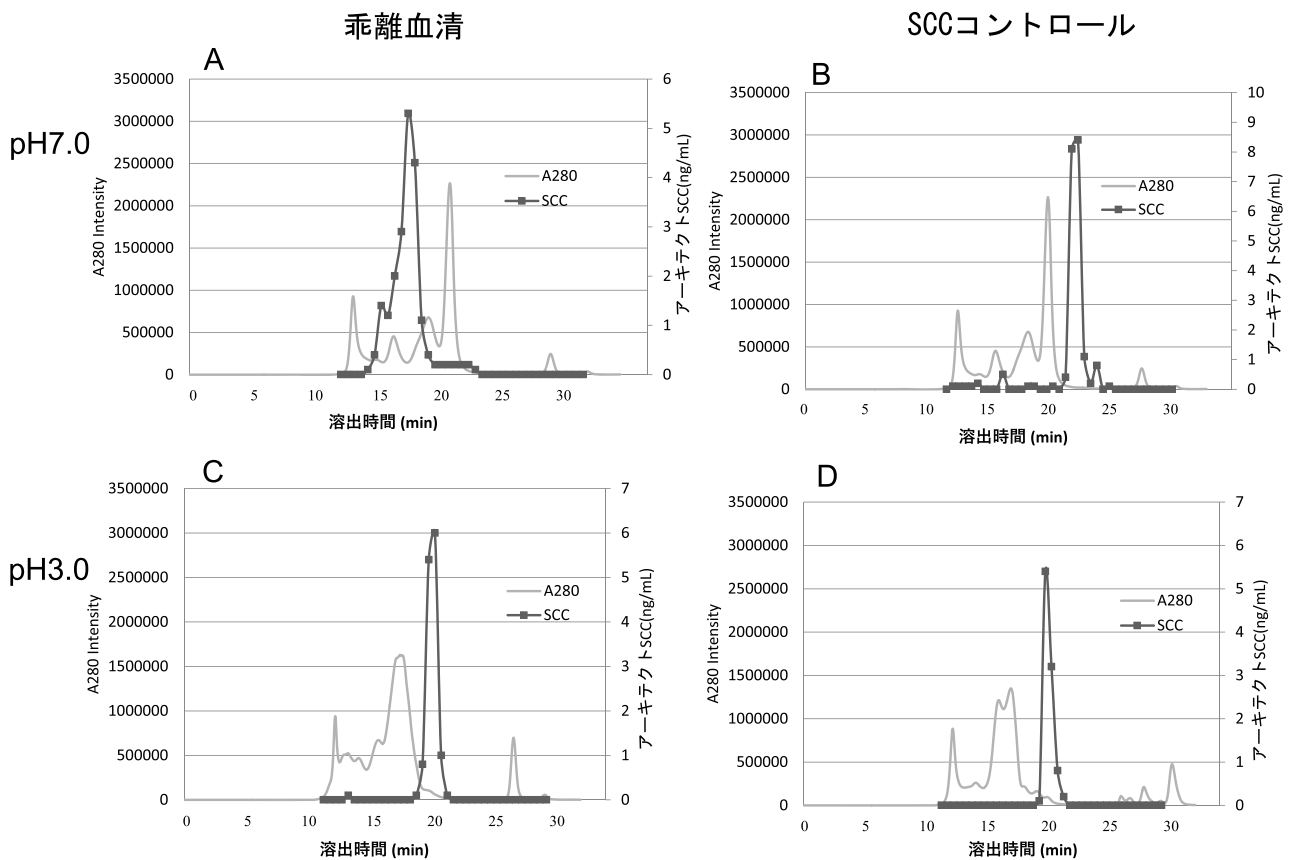


図4 乖離血清とアーキテクト SCC コントロールの免疫反応性ゲル濾過プロファイル (pH7.0 と pH3.0 の比較)

A: 乖離血清 pH7.0, B: コントロール SCC pH7.0, C: 乖離血清 pH3.0, D: コントロール SCC pH3.0

ゲル濾過は、G3000SWXL (東ソー) を用い、流速 0.5mL/min にて 0.25mL ずつのフラクションを集め分析を行った。溶出液には、pH7.0 では 50mM Phosphate, 150mM NaCl を、pH3.0 では 200mM Glycine を用いた。溶出時間確認のため蛋白質濃度を吸光度計で測定したものを A280 で表示した。

SCC: アーキテクト SCC 抗原濃度, A280 Intensity: 280nm での吸収強度

原との反応性の違いにより測定値や判定が異なると考えられた。

乖離検体 1 例に関しては、アーキテクト SCC において希釈直線性試験を実施し、段階希釈による直線性は確認された。ゲル濾過分析では、乖離検体でコントロールの分画領域より高分子側の分画領域に活性のピークが確認された。抗原抗体反応を乖離させる pH3.0 でも同様にゲル濾過分析を実施した結果、アーキテクト SCC コントロールと同じ分画領域に活性のピークが確認された。SCC 抗原と免疫グロブリンが分離して、通常の SCC 抗原の位置にピークが移動した可能性があり、乖離検体は自己抗体の結合した高分子化 SCC 抗原である可能性が考えられた。高分子化 SCC 抗原の場合、自己抗体が起因している可能性もあるため、今後も SCC 抗原に対する抗体を産生する可能性があり、他の腫瘍マーカーとの併用などを考慮する必要がある、モニタリングに際してこのような患者情報は重要であると考え、

結 語

エクルーシス SCC の基礎的検討と、アーキテクト SCC との比較検討を実施した。基礎的検討は良好な結果が得られ、相関性に関しても、良好な結果が得られた。しかし、アーキテクト SCC との比較では、一部に使用抗体の特性の違いやカットオフ値の違いによる不一致を認め、1 例ではアーキテクト SCC に自己抗体の結合が影響する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Kato H, Torigoe T : Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer* 40 : 1621-1628, 1977.
- 2) De Bruijn HW, Duk JM, van der Zee AG, Pras E, Willemse PH, Boonstra H, Hollema H, Mourits MJ, de Vries EG, Aalders JG : The clinical value of squamous cell carcinoma antigen in cancer of the uterine cervix. *Tumor Biol* 19 : 505-516, 1998.

- 3) Snyderman CH, D'Amico F, Wagner R, Eibling DE : A reappraisal of the squamous cell carcinoma antigen as a tumor marker in head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 121 : 1294-1297, 1995.
- 4) Vassilakopoulos T, Troupis T, Sotiropoulou C, Zacharatos P, Katsaounou P, Parthenis D, Noussia O, Troupis G, Papiris S, Kittas C, Roussos C, Zakynthinos S, Gorgoulis V : Diagnostic and prognostic significance of squamous cell carcinoma antigen in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 32 : 137-144, 2001.
- 5) 加藤 紘 : SCC 抗原. *日本臨牀 増刊号*48:1057-1059, 1990.
- 6) Schneider SS, Schick C, Fish KE, Miller E, Pena, JC, Treter SD, Hui SM, Silverman GA : A serine proteinase inhibitor locus at 18q21.3 contains a tandem duplication of the human squamous cell carcinoma antigen gene. *PNAS* 92 : 3147-3151, 1995.
- 7) 縄田修吾, 加藤 紘, 中村和行 : SCC 腫瘍マーカーの発現とその機能解析. *Jpn J Electroph* 42 : 257-263, 1998.
- 8) 渡邊真理子, 清宮正徳, 大山里子, 荒井満恵, 浅野はるな, 吉田俊彦, 澤部祐司, 松下一之 : エクルーシス試薬 SCC を用いた SCC 抗原測定 の 検 討. *医学と薬学*74(2) : 181-188, 2017.
- 9) 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会 : 定量分析法における検出限界および定量限界の評価法. *臨床化学*35 : 280-294, 2006.
- 10) 堀田大輔, 今野良 : エクルーシス試薬 SCC の基礎的検討および臨床性能評価. *医学と薬学*74(8) : 933-943, 2017.
- 11) 加藤由佳, 深田 愛, 中別府奈穂子, 松岡 優, 武内 信一, 山岡美穂, 池淵研二 : 扁平上皮癌関連抗原 (SCCA) 測定試薬の比較検討. *JJCLA* 44(5) : 647-652, 2019.

(令和 2. 4. 6 受付, 令和 2. 5. 20 受理)

「本論文内容に関する開示すべき著者の利益相反状態 : なし」