

Diagnostic Significance of Cancer-associated Carbohydrate Antigen (CA19-9) Measurement in Pure Pancreatic Juice in Patients with Pancreatic Diseases

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8277

膵疾患における膵液中 CA19-9 値測定の 診断的意義に関する研究

金沢大学がん研究所内科部 (主任: 澤武紀雄教授)

若 林 時 夫

(平成3年4月23日受付)

膵癌関連抗原 CA19-9 は膵癌の有力な血清腫瘍マーカーとして普及しているが、膵液中 CA19-9 値測定の意義に関しては議論の多いところである。本研究では各種膵疾患を中心として、内視鏡的に採取した純膵液中の CA19-9 を測定し、他の膵外分泌機能検査の判定因子とも対比して、その診断的意義を検討した。さらに、膵組織における CA19-9 の免疫組織学的検討も加えて、その臨床病理学的背景も明らかにしようとした。膵液中 CA19-9 の各分画における平均値は、濃度および排出量いずれでみても、膵癌群で最も高い値を示したが、慢性膵炎群でも全分画を通じて対照群に比べて有意な高値を示し、両者はかなりオーバーラップした。しかし、胆石群では対照群に比べて有意差は認められなかった。対照群の平均値 + 2 × 標準偏差をカットオフ値にとると、膵液中 CA19-9 の第Ⅲ分画 (分泌相) における異常出現率は膵癌群で90%、慢性膵炎群で66%であり、膵癌群のみならず慢性膵炎群でも高い異常出現率がみられた。慢性膵炎における CA19-9 の第Ⅲ分画の異常出現率は、従来用いられてきた膵液中の各種パラメーター (分時最高流量・最高重炭酸塩濃度・アミラーゼ排出量およびラクトフェリン濃度) に比べ有意に高率であった。免疫組織学的検討では、慢性膵炎の膵管は、正常膵に比べてより広範囲に CA19-9 の染色されるものが多くみられた。さらに、単位面積当たりの CA19-9 の染色陽性膵管の数も有意に増加していた。その染色パターンをみると、正常膵組織で染色された膵管はいずれにおいても尖端染色型 (apical type) を示したのに対し、慢性膵炎組織ではその約50%が細胞質びまん染色型 (cytoplasmic type) を示しており、このパターンは主に膵小葉実質壊死後の増生した小膵管に多く出現していた。以上より、純膵液中の CA19-9 値は、腫瘍マーカーとしての特異性には乏しいが、非特異的に膵障害を反映する鋭敏なマーカーになりうるものと考えられる。また、慢性膵炎では小膵管の増生を反映して、膵液中 CA19-9 値が上昇するものと推察される。

Key words CA19-9, 膵液, 内視鏡的純膵液採取法, 慢性膵炎, 免疫組織化学

膵は本来外分泌臓器でもあり、膵液中へ各種成分を積極的に分泌するため、膵の病的状態で増加する物質は血中より膵液中へ流出されやすく、膵液でより鋭敏に膵の異常を反映する場合の多いことが予想される。従来、純粋な膵液を臨床的に採取することは非常に困難であったため、純膵液の分析を臨床検査に用いることは、ほとんど行われていなかった。しかし、近年の内視鏡の機器および手技の進歩により、臨床的に純膵

液の採取が可能になり、その生化学的分析による膵疾患の診断が試みられている¹⁾⁻³⁾。

Koprowski ら⁴⁾ により見出された消化器腺癌関連抗原 CA19-9 の血中における測定は、膵癌の腫瘍マーカーとして広く臨床に普及している⁷⁾⁸⁾。上述したような観点より、最近、膵液中の CA19-9 値についても検討されているが、CA19-9 の診断的意義については議論の多いところである⁹⁾⁻¹⁴⁾。本研究では、各種膵疾患

Abbreviations: ABC, avidin-biotin-peroxidase complex; ADP, advanced pancreatitis; CA, centroacinar cell; DAB, 3, 3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride; ERCP, endoscopic retrograde cholangiopancreatography; HE, hematoxylin-eosin; LD, large duct;

を中心として内視鏡的に採取した純膵液中の CA19-9 を測定し、他の膵外分泌機能検査のパラメーターおよび膵管像とも対比して、その診断的意義を検討した。さらに、膵組織における CA19-9 の免疫組織学的検討も加えて、その臨床病理学的背景も明らかにしようとした。

対象および方法

I. 各種疾患における膵液中 CA19-9 値および各種パラメーターの測定

対象は慢性膵炎44例、膵癌22例、胆嚢結石13例および比較対照13例の計92例である。膵癌はいずれも進行癌で、14例は手術ないし剖検にて確認され、8例は超音波とコンピューター断層撮影の所見に加えて内視鏡的逆行性胆管膵管造影 (endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP) により診断された。慢性膵炎は日本消化器病学会の慢性膵炎の臨床診断基準¹⁰⁾により診断され、全例が慢性膵炎 I 群に一致していた。胆嚢結石は超音波および ERCP にて診断され、いずれも無症状胆嚢結石であった。比較対照として、健常ボランティア3例と ERCP を含め諸検査にまったく異常を認めなかった10例の計13例を用いた。

純膵液採取は、空腹時に十二指腸ファイバースコープ、JF-10 (オリンパス光学、東京) を用い、内視鏡的にカニューレをファーター乳頭より主膵管に1.5~3 cm 挿入した。次いで、セクレパン (エーザイ、東京) 1U/kg を静注し、膵液分泌開始後5分毎に4分画、計20分間にわたり膵液を採取した。検体は採取後直ちに重炭酸塩濃度およびアミラーゼ濃度の測定をおこなった。残りは、CA19-9、ラクトフェリン (lactoferrin, LF)、総蛋白測定用として測定まで-80°C に保存された。重炭酸塩濃度は、Natelson 式超微量ガス分析装置 (萱垣製作所、東京)¹⁰⁾、アミラーゼはアミラーゼヨード法¹⁰⁾、さらに総蛋白濃度は Folin-Lowry 法¹⁰⁾ で測定した。CA19-9 濃度の測定は CA19-9TMRIA キット (Centocor, Malvern, U.S.A.) を用い、必要に応じてキット添付の希釈液を用いて適宜希釈後、また、LF は竹森ら¹⁰⁾が開発した EIA 法にて測定した。

II. 免疫組織学的検討

対象には、手術あるいは剖検にてえられた慢性膵炎組織25例と、対照として正常膵組織10例を用いた。慢性膵炎組織は、いずれも慢性膵炎の病理組織学的診断基準¹⁰⁾の確診所見に一致するものであった。正常膵と

しては、膵以外の疾患にて手術ないし剖検されたときに得られたもので、病理組織学的に膵病変のないものを用いた。

得られた材料は10%緩衝ホルマリンに固定後、パラフィン包埋したのちパラフィンブロックから厚さ4 μm の薄切片を作製し、うち一枚に hematoxylin-eosin (HE) 染色を施した。さらに隣接切片に対し、抗 CA19-9 単クローン抗体 (NS19-9: Centocor) を一次抗体として、avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) キット (Vector, Burlingame, U.S.A.) を用いて以下のように免疫組織染色を行った。まず、各切片を脱パラしたのち、0.1%過酸化水素水を加えた100%メタノール中で20分間反応させ、内因性ペルオキシダーゼを除去した。20倍希釈した末感作正常ヤギ血清に20分間浸漬し非特異結合を防止したのち、300倍希釈した抗 CA19-9 抗体を切片に滴下し、60分間反応させた。次いで2次抗体としてビオチン標識抗マウス IgG ヤギ血清 (100倍希釈) と30分間反応させたのち、ABC 液と30分間反応させた。さらに、0.005%過酸化水素水含有 0.2mg/ml DAB (3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, SIGMA, St. Louis, U.S.A.) に3分間浸漬して発色させ、一部の検体ではメチルグリーンにて核染色したのち、脱水封入した。なお、各反応ステップには、0.05M (PH 7.6) トリス塩酸緩衝液 (Tris, hydroxymethyl aminomethan, SIGMA) にて5分間3回の洗浄を行った。また、陰性対照として正常マウス血清 (500倍希釈) を一次抗体のかわりに使用した。

染色性の判定は、染色範囲と、さらに染色された導管系上皮については個々の細胞における染色パターンについても検討した。染色範囲は、標本中全く染色されないものを (-)、標本の腺管組織全体の1/3以下に染色されているものを (+)、1/3以上に染色されているものを (++) として評価した。さらに、Weible²⁰⁾の方法に準じて単位面積当たりに染色された膵管組織の多寡性を表す指標として染色膵管指数 (staining index of ducts: SI) を設定した。SI は各標本を倍率25倍で検鏡し、その中で最も多くの染色された膵管組織が観察される代表的な5視野からそれぞれ倍率135倍の拡大写真を作成し、次いでそれらの上に5mm 間隔の格子構造を描いて染色された膵管上皮と重なる格子の交点を数え、各標本につき5枚の合計を求めたものである。また染色パターンについては、導管系上皮細胞の管腔側細胞膜および細胞質核上部に染色され、

LF, lactoferrin; MOP, moderate pancreatitis; SE, standard error; SD, small duct; SI, staining index of ducts

CA19-9 の局在極性が保たれていると考えられるものを尖端染色型 (apical type, A), 細胞質全体に染色され局在極性が失われていると考えられるものを細胞質びまん染色型 (cytoplasmic type, C) とし²⁾, 以上の2型に分け検討した。

III. 推計学的処理

CA19-9 濃度, CA19-9 排出量, アミラーゼ排出量, LF 濃度, CA19-9・総蛋白濃度比および SI は対数変換以下の検討を行った。平均値の差は検定は Cochran-Cox test にて, 異常率および染色性の差の検定は Yates の補正を加えた χ^2 検定にて, また相関係数の検定は Fisher の r 表にて行い, 危険率 5% 未満をもって有意差ありとした。

成 績

I. 膵液中の CA19-9 濃度および排出量の推移

図1に示すごとく, 対照群における各分画の平均 CA19-9 濃度は, 219→79→45→35U/ml と推移し, 第1分画ではウォッシュアウト効果により最高値を示し, 以後漸減した。各種疾患群においてもほぼ同様な分泌像を示した。しかし, 膵癌においては平均5495→

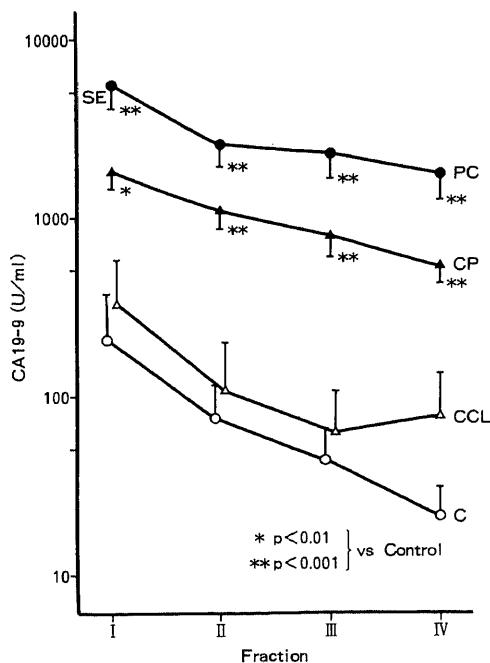


Fig. 1. Sequential changes of CA19-9 concentration. Each bar represents mean $\pm$ S.E.M. SE, standard error; PC, pancreatic cancer; CP, chronic pancreatitis; CCL, cholecystolithiasis; C, control.

2570→2344→1820U/ml, 慢性膵炎においても平均 1862→1122→832→550U/ml と推移し, いずれも対照群に比較して全分画を通じて有意な高値を示した。一方胆嚢結石においては, いずれの分画においても対照群と有意な差はみられなかった。

排出量として検討すると, 図2に示すごとく, 濃度の場合と同様に各群とも第I分画で最高値を示し, 以後の分画では漸減する傾向にあった。全分画を通じて膵癌で最も高く, 慢性膵炎でもかなり高値を示し, これらの疾患ではいずれの分画でも対照群に比して有意な上昇がみられた。一方, 胆嚢結石群では, 対照群に比べて有意な差はみられなかった。

II. 各種疾患における膵液中 CA19-9 濃度の異常出現率

比較対照群の平均値 + 2 $\times$ 標準偏差を上限として, 第I分画 (>9120 U/ml) と第III分画 (>562 U/ml) における CA19-9 の異常出現率を検討した (図3)。第I分画では膵癌27% (6/22), 慢性膵炎14% (6/43) の異常出現率がみられたが, 胆石では全例陰性であった。第III分画では, 膵癌は90% (19/21), 慢性膵炎は66% (27/41), 胆石は8% (1/13) の異常出現率であった (表1)。このように, 第I分画では膵癌および慢性膵炎のいずれにおいても異常出現率はあまり高くはなかった。一方, 第III分画においては, 膵癌と慢性膵炎で高い異常

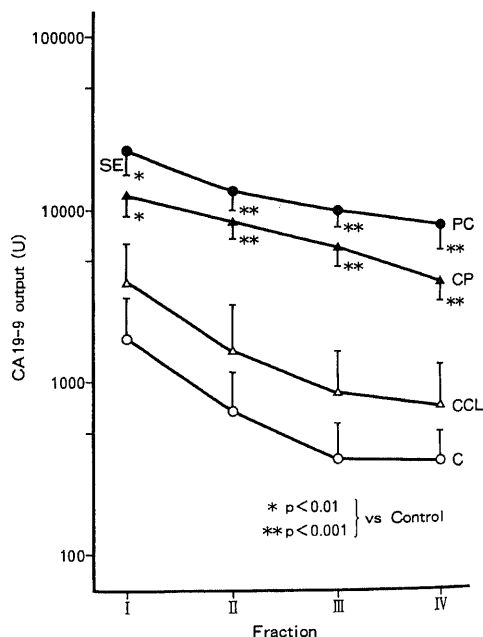


Fig. 2. Sequential changes of CA19-9 output. Each bar represents mean $\pm$ S.E.M. SE, PC, CP, CCL, C (see Fig. 1).

出現率がみられ、膵癌でより高率であったが、重なりが多く両者の異常出現率に有意差は認められなかった。

Ⅲ. 各種膵疾患における膵液中 CA19-9・総蛋白濃度比とその異常出現率

図4に示すごとく、第Ⅰ分画の対照群における平均は $0.074\text{U}/\mu\text{g}$ であり、膵癌では平均 $1.563\text{U}/\mu\text{g}$ 、慢性膵炎では $0.553\text{U}/\mu\text{g}$ といずれも対照群に比べて明らかに有意な高値を示した。一方、胆石は平均 0.171

$\text{U}/\mu\text{g}$ と対照群と比べて有意な差は認められなかった。同様に第Ⅲ分画についても検討すると、対照群における平均は $0.054\text{U}/\mu\text{g}$ であり、膵癌では平均 $1.824\text{U}/\mu\text{g}$ 、慢性膵炎では平均 $1.033\text{U}/\mu\text{g}$ といずれも対照群に比べて明らかに有意な高値を示した。一方、胆石では平均 $0.087\text{U}/\mu\text{g}$ と対照群に比べて有意差は認められなかった。

また、対照群の $M+2SD$ を上限として第Ⅰ分画 ($>2.47\text{U}/\mu\text{g}$) と第Ⅲ分画 ($>1.13\text{U}/\mu\text{g}$) における

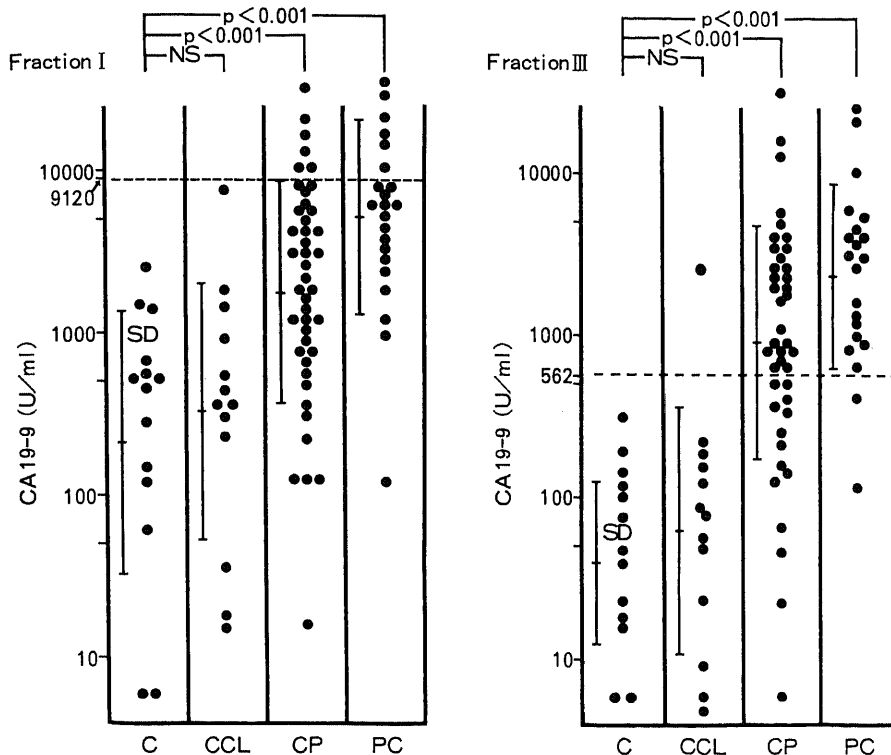


Fig. 3. Distribution of CA19-9 concentration at fraction I and III. Dotted line indicates CA19-9 level of mean+2S.D. in controls. Each bar represents mean±S.D.. PC, CP, CCL, C (see Fig. 1).

Table 1. Prevalence of significantly elevated CA19-9 concentrations in patients with various pancreatic diseases

Disease	Fraction I (CA19-9 $\geq 9120\text{U}/\text{ml}^*$)	Fraction III (CA19-9 $\geq 562\text{U}/\text{ml}^*$)
Pancreatic cancer	27% (6/22)	90% (19/21)
Chronic pancreatitis	14% (6/43)	66% (27/41)
Cholecystolithiasis	0% (0/13)	8% (1/13)
Control	0% (0/13)	0% (0/13)

* mean+2SD of the control group

CA19-9・総蛋白濃度比の異常出現率を検討した。第I分画では肺癌50% (7/14), 慢性肺炎16% (6/37), 胆石8% (1/13)の異常出現率がみられた。同様に第III分画での異常出現率は, 肺癌で59% (10/17), 慢性肺炎で46% (17/37), 胆石で8% (1/13)であった。

IV. 慢性肺炎における膵液中の他の各種パラメーターの異常出現率との比較

膵外分泌の異常判定因子として, 従来用いられてきた膵液の各種パラメーターの異常出現率と CA19-9 のそれを比較した。すなわち, 同時に採取した膵液中の最高重炭酸塩濃度 (4分画のうち最も高い値, mEq/l), 分時最高流量 (4分画のうち最も多くの液量を得られた分画の液量を採液時間の5分で除した値, ml/min), アミラーゼ排出量 (第II分画から第IV分画のアミラーゼ排出量の合計を採液時間の15分で除した値, IU/min) および第I分画の LF 濃度 (ng/ml) について, 同様な方法で施行した純膵液採取検査の教室における正常対照群の正常値⁴⁾を用いて, 慢性肺炎群の各パラメーターの異常出現率を検討すると, 最高重炭酸塩濃度で27% (11/41), 分時最高流量で39% (17/44),

アミラーゼ排出量で9% (3/35) および LF 濃度で41% (13/32) が異常と判定された (表2)。これらの異常出現率を CA19-9 のそれと比較してみると, 前述したごとく慢性肺炎における CA19-9 の異常出現率は第I分画で14%, 第III分画で66%であり, 特に第III分画の CA19-9 の異常出現率は, 今回検討した4つの膵外分泌パラメーター, すなわち最高重炭酸塩濃度 ($\chi^2 = 12.1$, $P < 0.01$), 分時最高流量 ($\chi^2 = 6.30$, $P < 0.05$), アミラーゼ排出量 ($\chi^2 = 25.9$, $P < 0.01$) および LF 濃度 ($\chi^2 = 4.61$, $P < 0.05$) のいずれに比べても有意に高値であった (表2)。

V. 慢性肺炎における純膵液中 CA19-9 濃度と各種パラメーターとの比較検討

1. 膵管像との関係

明瞭な膵管像の得られた慢性肺炎40例について, 日本消化器病学会の診断基準¹⁵⁾における膵管像所見にしたがい各々の形態学的異常度を分類すると, 高度肺炎 (advanced pancreatitis, ADP) 20例と中等度肺炎 (moderate pancreatitis, MOP) 20例の2群にわけられた。これら2群において第I分画および第III分画にお

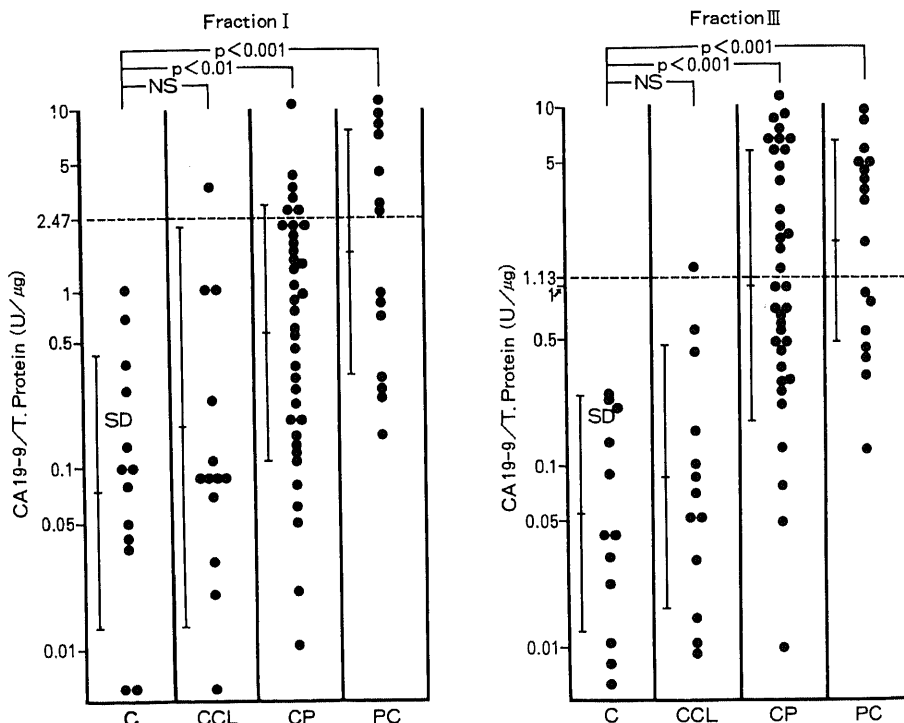


Fig. 4. Distribution of CA19-9 to total protein ratio at fraction I and III. Dotted line indicates CA19-9 to total protein ratio of mean+2S.D. in controls. Each bar represents mean±S.D.. PC, CP, CCL, C (see Fig. 1).

ける CA19-9 濃度を比較検討すると (図 5), いずれの分画においても, ADP と MOP との間に CA19-9 濃度の有意な差は認められなかった。

2. 最高重炭酸塩濃度との関係

重炭酸塩濃度を測定しえた症例において, 第 I 分画および第 III 分画の CA19-9 濃度との関係を比較検討したが, いずれの分画においても, 最高重炭酸塩濃度と CA19-9 濃度との間には有意な相関性は認められなかった (図 6 の a)。

3. 分時最高流量との関係

第 I 分画および第 III 分画の CA19-9 濃度と分時最高流量の関係を比較検討した。第 III 分画では両者間に有意な相関性はみられなかったが, 第 I 分画においては, 分時最高流量と CA19-9 濃度との間に有意な負の相関性が認められた (図 6 の b)。

4. アミラーゼ排出量との関係

第 I 分画および第 III 分画の CA19-9 濃度とアミラーゼ排出量の関係を検討したが, いずれの分画においても, 両者間で有意な相関性は認められなかった (図 7 の a)。

5. LF 濃度との関係

第 I 分画および第 III 分画における CA19-9 と LF 濃度との関係を比較検討したが, 両分画とも両者に有意な相関性は認められなかった (図 7 の b)。

VII. 免疫組織学的検討

CA19-9 は, 正常膵・慢性膵炎を問わず, 腺房中心細胞 (centroacinar cell, CA) および膵管上皮細胞に染色され, 島細胞や腺房細胞には染色されなかった。そこで, 膵管を終末膵管から小葉内膵管のレベルの小膵管 (small duct, SD), 小葉間膵管より太いレベルの大膵管 (large duct, LD) とに分け, CA・SD・LD の 3 部位について, その染色所見を比較した。表 3 および表 4 にそれぞれ正常膵組織 (10 例) と慢性膵炎組織 (25 例) の CA19-9 の染色範囲および染色パターンを各部

位別に示した。各部位での単なる発現率は, 正常膵では CA・SD・LD の全ての部位で 60% であり, 慢性膵炎では CA 72%, SD 80%, LD 76% と正常膵と比較していずれの部位においても高率であったが, 明らかに有意な差は認められなかった (図 8)。

一方, 染色範囲について検討すると, (++) を示したのは, 正常膵では CA で 50%, SD と LD でいずれも 10% にみられた。これに対して, 慢性膵炎では,

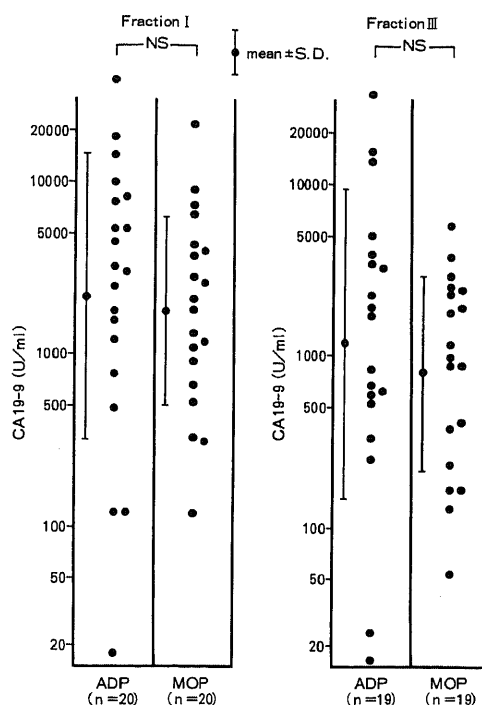


Fig. 5. Distribution of CA19-9 concentration in advanced pancreatitis and moderate pancreatitis at fraction I and III. Each bar represents mean $\pm$ S.D.. ADP, advanced pancreatitis; MOP, moderate pancreatitis.

Table 2. Abnormal incidence of various parameters and CA19-9 concentration in patients with chronic pancreatitis

Parameter	Cut-off	No. of cases	Abnormal incidence
Max. HCO_3^-	$< 109.3 \text{ mEq/l}$	41	27%
Max. flow rate	$< 1.69 \text{ ml/min}$	44	39%
Amylase output	$< 47.7 \text{ IU/min}$	35	9%
LF (Fract. I)	$> 150 \text{ ng/ml}$	32	41%
CA19-9 (Fract. III)	$> 562 \text{ U/ml}$	41	66%

* $p < 0.05$
** $p < 0.01$ } VS. CA 19-9

CA と SD で48%, LD で36%に(++)の染色がみられ、図8に示すごとく SD と LD において正常膵に比べて広範囲に染色され、その差は SD において有意であった($\chi^2=4.42$, $P<0.05$)。さらに、正常膵と慢性膵炎で SI を比較すると、慢性膵炎で有意($P<0.05$)に SI が高値を示し、慢性膵炎は正常膵に比べて単位面積当たりの CA19-9 の染色された膵管組織数が多いという結果がえられた(図9)。

次に、染色パターンを各部位別に比較すると(図10)、CA においては正常膵では染色された CA の67%が、慢性膵炎ではその55%がCタイプを示し、両者間で有意な差は認められなかった。しかし、SD および LD の染色パターンについてみると、正常膵ではいずれにおいても染色されたものは全て図11に示すようなAタイプを示したのに対し、慢性膵炎では、SD および LD において染色されたもののそれぞれ55%, 47%が図12に示すようなCタイプを示し、いずれにおいてもその差は有意(SD: $\chi^2=6.42$, $P<0.02$; LD: $\chi^2=4.85$, $P<0.05$)であった。なお、いずれの組織においても間質には CA19-9 の明らかな発現はみられなかった。

そこで、このような CA19-9 の細胞内局在パターン

(Cタイプ)が慢性膵炎組織のどのような病理学的変化をきたした膵管に出現しやすいかを明らかにする目的で、慢性膵炎の特徴的な膵管系の病理学的変化¹⁰⁾とされる、小膵管の増生・集簇、大膵管の不規則拡張あるいは膵管上皮化生の3つの所見と CA19-9 の染色パターンとの関連性を検討した。まず、慢性膵炎組織25例を対象に、各標本中の膵腺房細胞の壊死萎縮領域にみられる増生した SD と、それ以外のほぼ正常な膵小葉内にみられる SD における CA19-9 の染色パターンを比較検討した(表5)。SD の増生部では44%(11/25)にCタイプの染色パターンがみられたのに対し、正常な小葉内にみられる SD では12%(3/25)のみがCタイプを示しており、その差は有意($\chi^2=6.35$, $P<0.02$)であった。

慢性膵炎例にみられる LD の不規則拡張を示す部位とそれを見さない部位における CA19-9 の染色パターンを比較すると、不規則拡張がみられた LD では27%(6/22)が、それを見さない部位の LD では24%(6/25)がCタイプを示し、両者間で明らかな差は認められなかった(表6)。さらに、慢性膵炎例の粘液上皮化生部と非化生部における CA19-9 の染色パターンを比較すると(表7)、粘液上皮化生部では10%(1/10)に、

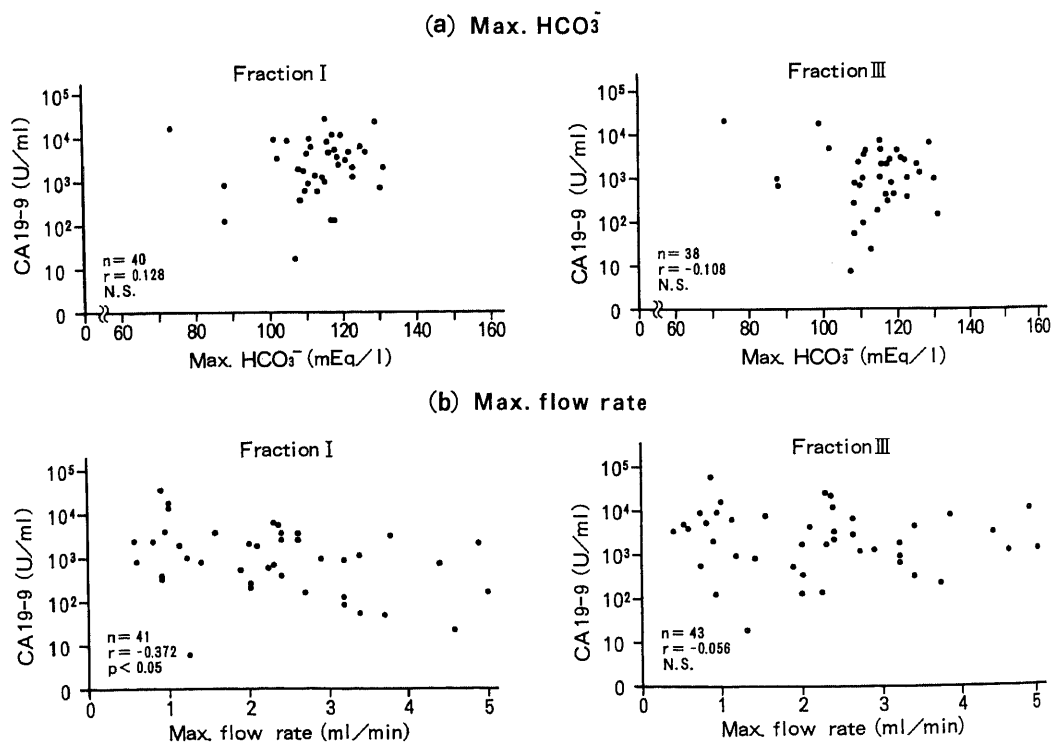


Fig. 6. Correlation between CA19-9 concentration and Max. HCO_3^- (a), or Max. flow rate (b).

非化生部では36% (9/25) にCタイプがみられ、両者間で有意な差は認められなかった。以上のように、Cタイプの染色パターンは慢性膵炎組織中の主に膵小葉実質壊死後の増生した小膵管上皮に明らかに多く出現していたが(図13)、大膵管の不規則拡張や粘液上皮化生との間には、特定の関連性は認められなかった。

考 察

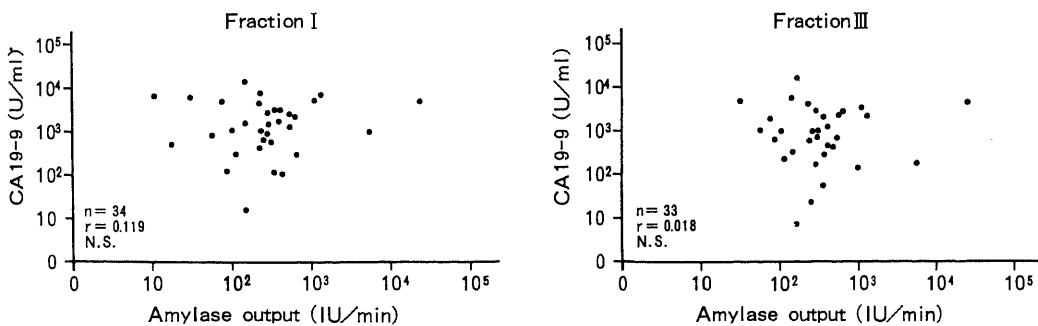
最近の各種画像診断法の進歩により膵疾患の診断は格段の進歩をとげた。しかし、いぜんとして根治可能な膵癌は極めて少なく²⁰⁾、また慢性膵炎の診断にも大きな限界のみられる現状にある²¹⁾。これには、早期診断に結びつくような鋭敏な検査法のないことが大きな要因となっている。膵臓は膵液中へ各種成分を積極的に分泌するので、膵液において鋭敏に膵の異常を反映する場合が多いと思われるが、従来純粋な膵液を臨床的に採取することは極めて困難であったために、純膵液の分析を臨床検査法として用いることは一般に行われていなかった。しかし、最近の十二指腸ファイバースコープの改良と進歩により、純膵液の採取はある程

Table 3. Expression of CA19-9 in centroacinar cells, small ducts and large ducts of normal pancreatic tissues

Case No.	CA	SD	LD
1	—	—	—
2	—	—	—
3	++(C)	+(A)	+(A)
4	+(A)	++(A)	++(A)
5	—	—	—
6	++(A)	+(A)	+(A)
7	++(C)	+(A)	+(A)
8	++(C)	+(A)	+(A)
9	—	—	—
10	++(C)	+(A)	+(A)

CA, centroacinar cell; SD, small duct; LD, large duct. —, not stained; +, stained up to 1/3; ++, stained more than 1/3. A, apical type; C, cytoplasmic type.

(a) Amylase output



(b) LF

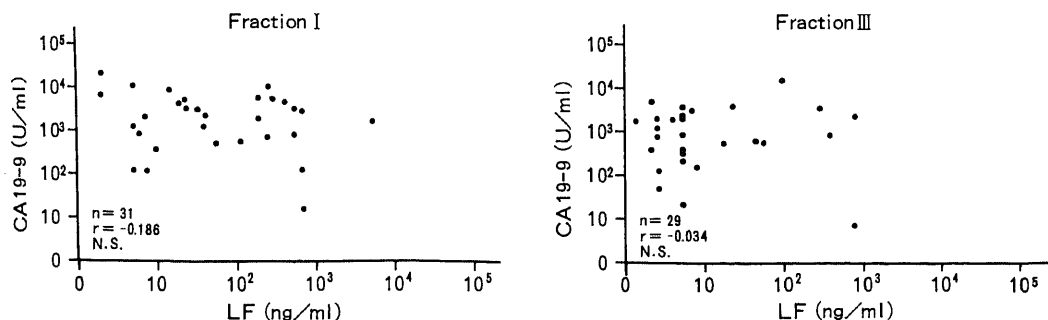


Fig. 7. Correlation between CA19-9 concentration and amylase output (a), or LF (b).

これまでの純膵液中 CA19-9 値の測定された成績についてみると, Nishida ら¹³⁾は膵液中の CA19-9 値は, 膵癌で慢性膵炎や他の疾患群に比べて有意に高く, 膵癌の診断において膵液中 CA19-9 値の測定は, 血清における測定と同程度に有用であり, かつ血清あるいは膵液中の CEA 値の測定より優れていたとしている. Chen ら¹⁴⁾も, 膵液中 CA19-9 濃度は慢性膵炎群では正常対照群と差がみられなかったのに対し, 膵癌では有意に上昇しており, 膵癌に特異的で, 鑑別診断にも有用なマーカーであると述べている. さらに, Malesci ら¹⁵⁾によると, 膵液中 CA19-9 値の単なる濃度による

比較では膵癌群と非膵癌群はかなりオーバーラップするが, CA19-9 値の蛋白濃度に対する比を検討すると, 膵癌22例中非癌性疾患とオーバーラップしたものは1例に過ぎなかったとしている. 加えて, 切除可能膵癌11例はいずれもこのカットオフ値を越えて上昇していることを示し, 単なる CA19-9 の濃度だけではなく蛋白との比を検討することの重要性を強調している. 一方, Schmiegell ら⁹⁾は213例と多数の膵癌の膵液中の CA19-9 値を測定し, 平均値でみると慢性膵炎や対照に比べて膵癌で明らかに高値であるが, 個々の値はかなりオーバーラップすることより, 膵液中 CA19-9 値の測定は特異性に乏しいとしている. また, Tatsuta ら¹⁰⁾も, 膵液中の CA19-9 値は膵癌群と膵石を有する膵炎群との間には差がみられなかったことより, 膵疾患の鑑別には有用ではないと述べている. このように, 膵液中 CA19-9 値の測定は膵癌の診断に有用であるとするものから, 蛋白濃度との比が重要であるとするもの, あるいは良悪性の鑑別にはならないとするものなど, 一定の見解は得られておらず, その診断的意義に関しては議論の多いところである. そこで, 筆者は良性疾患を含めた各種膵疾患における純粋膵液中の CA19-9 値を測定し, 各種疾患で膵液中 CA19-9 がいかなる変動を示すかを検討し, さらに, 慢性膵炎を中心として従来より用いられている他の膵外分泌機能検査のパラメーターおよび膵管像の異常度とも対比してその診断的意義について検討した.

一般に, 血清の腫瘍マーカーを測定する場合には,

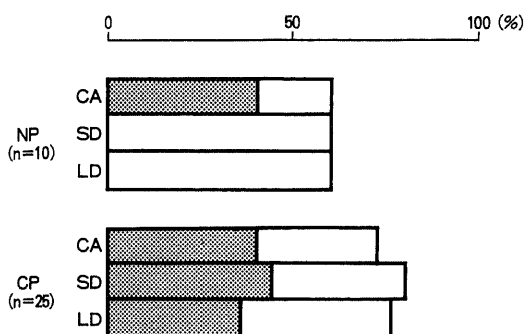


Fig.10. Cellular localization of CA19-9 in the tissues of normal pancreas and chronic pancreatitis. Cellular localization pattern; □ apical type, ▨ cytoplasmic type. NP, CP, CA, SD, LD (see Fig. 8).



Fig.11. Expression of CA19-9 in the tissue of normal pancreas. Staining of CA19-9 is seen on the luminal surface and supranuclear regions in the cytoplasm of small and large ductal cells with the preservation of polar distribution of antigen (apical type). The antigen is also present in centroacinar cells. (×25).

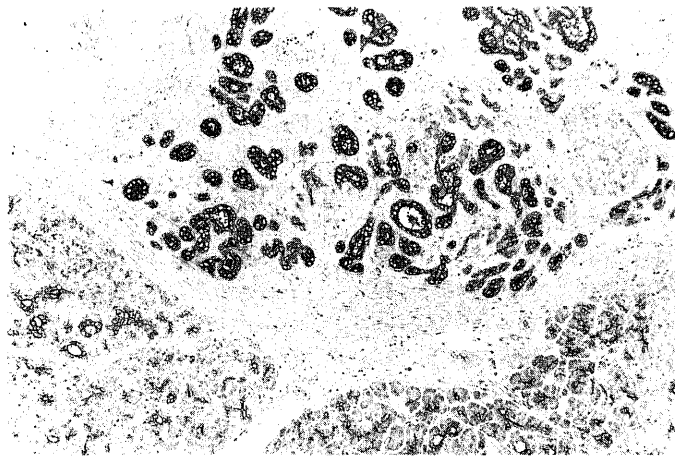


Fig.12. Expression of CA19-9 in the tissue of chronic pancreatitis. CA19-9 is expressed in the whole cytoplasm of the centroacinar and ductal cells without the preservation of polar distribution of antigen (cytoplasmic type) ($\times 25$).

Table 5. Cellular localization of CA19-9 in proliferating and normal small ducts of chronic pancreatitis tissues

Case No.	Cellular localization pattern	
	Proliferating duct	Normal duct
1	C	A
2	—	—
3	C	A
4	A	A
5	C	C
6	C	C
7	A	A
8	—	—
9	C	A
10	—	—
11	A	A
12	C	A
13	A	A
14	A	A
15	—	—
16	A	A
17	A	A
18	A	A
19	A	A
20	—	—
21	C	A
22	C	A
23	C	C
24	C	A
25	C	A

—, not stained; A, apical type; C, cytoplasmic type.

通常の末梢血であれば採取法や採取時期などにはほとんど留意する必要はない。しかし、膵液の場合には、挿入直後には既に分泌され膵管に貯留されていたいわゆる排出相の膵液が主体をなし、その後は腺房から導管へ分泌されるものが主体をしめ、その分泌刺激方法と時期により、膵液中の各種成分の濃度に大きな相違がみられる。したがって、膵液中の成分を測定する際には、分泌刺激方法や採取時間を一定の条件の下で比較することが必須である。しかし、従来の膵液中の各種成分を測定した報告には、このような採液条件について留意せずに検討されたものが非常に多い。また、分泌刺激方法や採取時間は報告者により様々であるので、それらの絶対値を単純に比較することは非常に危険である。筆者はセクレパン 1 U/kg 刺激により、5分毎4分画にわけ採液をおこないその分泌動態を検討するとともに、排出相として第I分画、分泌相として第III分画を用いて、同じ分画どうして測定値を比較した。

それによると、対照群およびいずれの疾患群においても、第I分画ではウォッシュアウト効果により最高値を示し、以後漸減する分泌パターンがみられた。各分画における平均値についてみると、全分画を通じて膵癌において最も高い値がみられたが、慢性膵炎においても対照群に比べて著明な上昇がみられた。さらに、対照群の平均値+2×標準偏差をカットオフとした場合の異常出現率についてみると、第I分画では膵癌は27%、慢性膵炎では14%のみが陽性となるに過ぎなかったが、第III分画では膵癌は90%、慢性膵炎でも

66%の陽性率を示した。さらに、CA19-9 の濃度だけでなく排出量についても同様な傾向がみられたことより、膵癌および慢性膵炎における CA19-9 濃度の上昇は単なる液量減少による濃縮効果ではなく、CA19-9 そのものの分泌増加によるものと考えられる。排出相を反映する第 I 分画での異常出現率は第 III 分画のそれに比べてかなり低い。この理由は判然としないが、比較対照群における第 I 分画の CA19-9 値の分布が第 III 分画のそれに比べてかなり幅広いため、正常上限値が比較的高く設定され、第 I 分画の異常出現率の低下につながるものと思われる。それに加えて生理的な面からみると、第 I 分画はすでに分泌され管内に濃縮・貯留している膵液であるのに対し、分泌相である第 III 分画は、刺激によって外分泌細胞から新たに分泌され

た膵液であるので、細胞個有の機能をより鋭敏に反映すると考えられ、このことが第 III 分画で異常がより出現しやすくなる一因とも推察される。膵癌における膵液中 CA19-9 値の異常出現率を検討した他の成績をみると、Nishida ら¹⁰⁾は94%、Schmiegel ら⁹⁾は84%、Tatsuta ら¹⁰⁾は53%とそれぞれ報告している。採液法や基準値が異なるため単純に比較はできないが、本研究における膵癌の異常出現率も第 III 分画で90%と、Nishida らと同様に高いことより、膵液中 CA19-9 値の測定は膵癌に対しても非常に感度の優れていることを示している。遺伝的にルイス抗原を発現できない Le^{-a-b} のヒトは約10%に存在し、このようなヒトは CA19-9 を産生できないので、膵癌を発生しても CA19-9 を発現できないと考えられる²⁰⁾。したがって、

Table 6. Cellular localization of CA19-9 in irregularly dilated and non-dilated large ducts of chronic pancreatitis tissues

Case No.	Cellular localization pattern	
	Irregularly dilated duct	Non-dilated duct
1	A	A
2	—	—
3	C	A
4	A	A
5	C	A
6	C	C
7	A	C
8	—	—
9	—	C
10	—	—
11	A	A
12	A	A
13	A	A
14	A	A
15	—	—
16	A	A
17	A	—
18	*	—
19	A	A
20	—	—
21	*	A
22	C	A
23	C	C
24	*	C
25	C	C

—, not stained; A, apical type; C, cytoplasmic type.

*, irregularly dilated duct was not observed.

Table 7. Cellular localization of CA19-9 in the large ductal cells of chronic pancreatitis showing mucoid metaplasia and non-metaplasia

Case No.	Cellular localization pattern	
	Metaplasia	Non-metaplasia
1	—	A
2	*	—
3	A	C
4	*	A
5	*	C
6	*	C
7	A	C
8	—	—
9	C	C
10	*	—
11	*	A
12	A	A
13	*	A
14	*	A
15	—	—
16	—	A
17	*	A
18	*	—
19	*	A
20	—	—
21	*	A
22	*	C
23	*	C
24	*	C
25	—	C

—, not stained; A, apical type; C, cytoplasmic type.

*, metaplasia was not observed.

膵癌の膵液中 CA19-9 の異常出現率の90%というのは、理論上からも陽性率の期待値としては最も高い値に一致しており、このような意味からも膵癌における膵液中 CA19-9 値測定の高感度の高いことが窺えるといえよう。しかし、血清中の CA19-9 値の陽性率は、一般に膵癌で75-90%⁹⁾、慢性膵炎で10%前後^{7,10,12)}であり、さらに膵液中 CA19-9 値の慢性膵炎における偽陽性率の高いことを考慮すると、膵癌だけの診断のためにあえて血清に比して採取法の面倒な膵液中の CA19-9 値を測定するほどの利点はないように思われる。また、前述したように、Malesci ら¹²⁾は慢性膵炎では膵液中の蛋白濃度の高くなる場合が多いため、単なる CA19-9 の濃度でなくその蛋白濃度に対する比をとると、膵癌との分別が非常に明瞭になると報告しているが、筆者の検討ではそのような成績は得られなかった。これは、本研究の対象とした慢性膵炎の成因あるいは重症度が彼らのものとはかなり異なり、膵液中の蛋白濃度の上昇したものが少ないためかも知れない。いずれにしても、膵液中 CA19-9 値の膵癌における陽性率は、感度のみを考えると非常に優れていると思われるが、慢性膵炎における偽陽性率が非常に高いため、膵癌のマーカーとしては問題が多いと言わざるをえない。しかし、慢性膵炎における66%という異常出現率は膵障害の指標として考えた場合には、かなり有力なパラメーターになり得るものと思われる。

この点に関して、他の膵外分泌機能の判定因子および膵特異蛋白におけるそれと比較して、慢性膵炎における膵液中 CA19-9 測定の意義を論じたい。まず、慢

性膵炎の診断あるいは重症度判定のための膵外分泌機能の標準的な検査法として、従来より行われてきたパンクレオザイミン-セクレチン試験 (PS 試験) に関して、慢性膵炎における各々の異常出現率をみると、液量で37~53%、最高重炭酸塩濃度で67~95%、アミラーゼ排出量で56~60%という成績が報告されている^{20,27)}。また、内視鏡的純膵液採取法を膵外分泌機能検査として用いた場合の各判定因子の慢性膵炎における異常出現率と比較してみると、Ochi ら⁹⁾は分時最高流量・アミラーゼ排出量でそれぞれ61.5%、最高重炭酸塩濃度で53.8%という成績を報告している。また、著者の本研究における検討でも、分時最高流量で39%、最高重炭酸塩濃度で27%、アミラーゼ排出量で9%が異常値と判定されるにすぎず、第Ⅲ分画の CA19-9 濃度の異常出現率66%に比較していずれも有意に低率であった。このように、従来の PS 試験の最高重炭酸塩濃度の異常出現率よりは劣るが、液量・アミラーゼ排出量、あるいは内視鏡的純膵液採取法による膵外分泌機能検査のいずれの判定因子と比較しても、分泌相における CA19-9 の異常出現率が高いという成績は注目されよう。

一般に、膵液中 LF 濃度は石灰化慢性膵炎のように高度に進展した場合に高値となり、軽度の慢性膵炎の診断には有用ではないとされているが³⁴⁾、今回の著者の検討でも、LF 濃度上昇は41%に過ぎない。このような特異蛋白の異常出現率と比較しても膵液中 CA19-9 濃度のそれが高率であるという成績が得られている。このように、膵液中 CA19-9 濃度の慢性膵炎

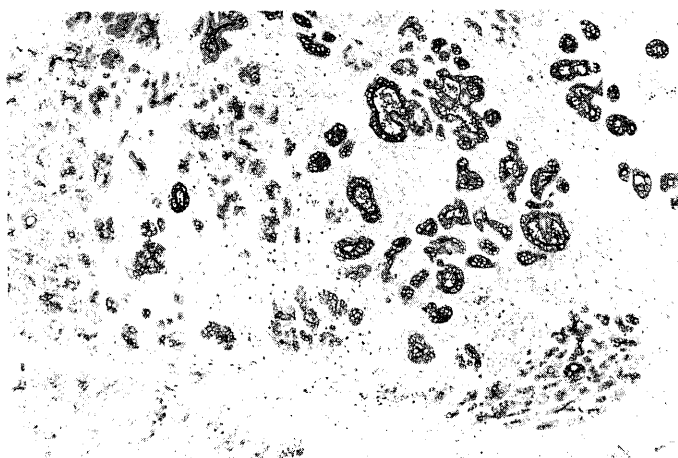


Fig. 13. CA19-9 is strongly demonstrated in the whole cytoplasm of small ducts which are proliferating and aggregating with the destruction of lobules in chronic pancreatitis. ($\times 25$).

における異常出現率は、従来用いられてきた他の膵外分泌の指標に比べてかなり高率であり、膵液中 CA19-9 の測定は、腫瘍マーカーとしての特異性に乏しいが、非特異的に膵障害を反映する鋭敏なマーカーになり得ると思われる。したがって、分泌相における膵液中 CA19-9 値が異常上昇と判定されれば、膵癌か慢性膵炎の存在を考慮して診断を進めることが推奨される。

それでは、慢性膵炎で膵液中の CA19-9 値がなぜ上昇するのであろうか。膵組織における CA19-9 の発現についてみると、膵癌について検討されたものは数多くある^{21)26)~34)}。それによると、正常膵でも CA19-9 は膵管上皮の管腔側細胞膜を中心として微量ながら局在極性を保ったパターンで発現しているが、膵癌では局在極性が乱れ、細胞質全体が強く染色されるものが大部分を占めるようになり、同時に管腔側のみならず基底側の膜も強く染色されるようになる。さらに、Satomura ら²¹⁾は著しく局在極性が乱れると、間質も染色されるものが約半数にみられるようになると述べ、このような抗原の著しい細胞内局在極性の乱れにより抗原の間質へ逸脱することが血清上昇にかかわる重要な要因の一つであると推察している。また、正常膵でも見られた管腔側細胞膜の CA19-9 の発現は癌化により一層強くなり、管腔側表面とその腺管腔内容物にも本抗原が強く発現するようになる。このような所見が膵液中 CA19-9 値の上昇につながることは容易に推察される。

慢性膵炎における膵液中 CA19-9 値の上昇する機序に関しては、Takasaki ら³⁰⁾は、膵非癌部における CA19-9 の染色性を検討し、主に炎症部の膵管に本抗原が多く発現することより、膵炎患者における膵液中 CA19-9 値の上昇が説明できるとしている。しかし、上述の報告を含め慢性膵炎組織に関するこれまでの報告^{29)~34)}は、膵癌組織との対比よりみたものか、あるいはその染色性も単に発現率や染色の強弱で評価したものが大部分であり、正常膵組織との染色性の相違や慢性膵炎における病理学的所見との対比などから詳細に検討されたものはほとんどない。本研究では、慢性膵炎における膵液中 CA19-9 の上昇の病理学的背景を探る目的で、慢性膵炎組織を対象に CA19-9 の染色性をその発現率のみならず、染色範囲、単位面積当たりの染色された膵管組織の多寡性および細胞内局在パターンなどにつき、正常膵組織と対比して詳細に検討した。それによると、腺房中心細胞については、発現率・染色範囲・細胞内局在パターンともに正常膵と慢性膵炎組織で明らかな差異は認められなかった。一

方、膵管組織ではいずれのレベルにおいても、単なる発現率では両者間に明らかな差異は認められなかったが、染色範囲や染色された単位面積当たりの膵管の数は、慢性膵炎で正常膵に比べて明らかに多いという結果が得られた。加えて、染色された膵管上皮細胞における局在パターンも、正常膵ではいずれにおいても局在極性は保たれていたが、慢性膵炎ではその約半数は細胞質全体に発現し、局在極性の乱れを呈していた。以上より、慢性膵炎では正常膵に比べて膵管組織において CA19-9 が広範囲に染色され、かつその染色パターンも細胞質全体に発現し、膵癌でみられたのと同様なパターンへと変化していることが窺えた。ただし、本抗原が間質へ逸脱したと考えられる腺管周囲の間質が染色される例は認められなかった。

ところで、慢性膵炎における本抗原の局在の増加はどのような病理学的変化に伴って出現するのであろうか。慢性膵炎の病理組織学的特徴は、膵小葉内、小葉間あるいは膵管周囲における不規則な実質の脱落と線維化とされており、それにとまなう膵管系の変化として、小膵管の増生・集簇、膵管の不規則拡張、膵管上皮の化生の3項目が挙げられている¹⁹⁾。これらのことを踏まえて、本研究では慢性膵炎組織における小膵管の増生部、大膵管の不規則拡張部および粘液上皮化生部の3部位における CA19-9 の染色パターンを検討してみた。その結果、CA19-9 の細胞内局在の増加は、主に小膵管の増生部に多くみられることが判明したが、大膵管の不規則拡張および粘液上皮化生と本抗原の細胞内局在パターンとの間には、明らかな関連性は見いだしえなかった。

以上より、慢性膵炎では膵小葉実質の壊死に続いて起こる線維化に伴って出現する小膵管の増生部を中心に CA19-9 が多く発現し、正常組織に比較してその分布が増加しているのに加えて、細胞内局在も増加し、かつ乱れていることが示された。そして、その上皮細胞内に増加した CA19-9 が、管腔側遊離面より膵管腔内へ分泌され、膵液中の CA19-9 上昇として反映されるものと推察される。しかし、慢性膵炎では膵癌と比較した場合、一般に膵癌ほどの CA19-9 の細胞内局在の増加は認められず、また膵癌と異なり、本抗原の間質内への遊離現象はほとんどみられず、基底膜内の抗原増加に留まっている。したがって、本抗原は慢性膵炎では管腔内へは容易に分泌されるが、血清中へ直接流入することは少なく、血清中の CA19-9 の上昇としては反映されがたいものと思われる。このことが、膵癌と慢性膵炎における血清 CA19-9 値の上昇頻度の差違として表れるように思われる。

結 論

膵疾患における膵液中 CA19-9 測定の診断的意義を、その臨床病理学的背景も含めて明らかにする目的で、各種膵疾患を中心として内視鏡的に採取した純膵液中の CA19-9 を測定してその分泌動態と異常出現率を検討し、他の膵外分泌機能検査の指標および膵管像の異常度と対比した。さらに、膵組織における CA19-9 の免疫組織学的検索も合わせて行い、以下の結論を得た。

1. 膵液中 CA19-9 値は濃度および排出量いずれでも全分画を通じて膵癌群で最も高値であったが、慢性膵炎群でも対照群に比べて明らかに有意な高値を示し、両者はかなりオーバーラップした。しかし、胆石群では、対照群に比べて有意な差は認められなかった。

2. 対照群の平均値 $+ 2 \times$ 標準偏差を基準値にとると、第Ⅲ分画 (排出相) では膵癌群90%、慢性膵炎群は66%が異常と判定され、膵癌群のみならず慢性膵炎群でも高い異常出現率がみられた。

3. 慢性膵炎群における CA19-9 の異常出現率は、分時最高流量、最高重炭酸塩濃度、アミラーゼ排出量および LF 濃度のいずれのそれに比べても有意に高率であった。

4. 慢性膵炎群における膵液中 CA19-9 濃度と、膵管像の異常度あるいは他の膵外分泌機能の判定因子 (液量・重炭酸塩濃度・アミラーゼ排出量・LF 濃度) の値との間には、液量を除いて有意な相関性は認められなかった。

5. 免疫組織学的検討では、CA19-9 の単なる発現率は慢性膵炎組織と正常膵組織との間に明らかな差はみられなかったが、染色範囲でみると、慢性膵炎では小膵管 (SD)・大膵管 (LD) において、CA19-9 がより広範囲に染色されるものが多くみられ、SD においてその差は有意であった。加えて、慢性膵炎では正常膵に比べて単位面積当たりの染色された膵管数も有意に増加していた。

6. 染色パターンをみると、正常膵では染色された SD・LD はいずれにおいても尖端染色型を示したのに対し、慢性膵炎ではそれらの約50%が細胞質びまん染色型を示していた。さらに、後者の染色パターンは、慢性膵炎の主に膵小葉実質壊死後に増生した SD に有意に多く出現していた。

以上より、膵液中 CA19-9 値は腫瘍マーカーとしては特異性に乏しいが、非特異的に膵障害を反映する鋭敏なマーカーになりうるものと考えられる。また、慢

性膵炎では膵小葉実質壊死後に生じた小膵管の増生を反映して膵液中 CA19-9 値が上昇するものと推察される。

謝 辞

稿を終えるに臨み、ご指導、ご校閲を賜りました恩師澤武紀雄教授に深甚なる謝意を捧げます。病理所見について、有益なご助言と多大なる御協力をいただきました金沢医科大学第1病理小西二三男助教授、国立金沢病院渡辺麒七郎研究検査科長に心より深謝いたします。また、研究遂行にあたり、御支援をいただいた本学第1内科服部信前教授、小林健一教授ならびに国立金沢病院杉岡五郎院長に心から深謝します。さらに、ご協力いただきました本研究所内科部門及び本学第1内科消化器グループの諸先生方に厚く御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨の一部は、第19回日本膵臓学会総会 (1988年、長崎) および第40回日本消化器内視鏡学会総会 Young Investigator Award (1990年、東京) において発表した。

本研究の一部は、文部省科学研究費補助金一般研究 B (No.61480188) ならびにがん特別研究 (No.02151059) によって記して謝意を表す。

文 献

- 1) Denyer, M. E. & Cotton, P. B.: Pure pancreatic juice studies in normal subjects and patients with chronic pancreatitis. *Gut*, 20, 89-97 (1979).
- 2) Fedail, S. S., Harvey, R. F., Salmon, P. R., Brown, P. & Read, A. E.: Trypsin and lactoferrin levels in pure pancreatic juice in patients with pancreatic disease. *Gut*, 20, 983-986 (1979).
- 3) Hayakawa, T., Harada, H., Noda, A. & Kondo, T.: Lactoferrin in pure pancreatic juice in chronic pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 78, 222-224 (1983).
- 4) 木谷 恒, 米島 学, 澤武紀雄, 北川浩文, 竹森康弘, 登谷大修, 小林健一, 服部 信, 若林時夫, 米島正広, 杉岡五郎, 尾崎監治: 純膵液中 Lactoferrin 測定の膵疾患診断への応用 - (第2報) - 慢性膵炎との関係を中心に. *日消誌*, 81, 559 (1984).
- 5) Ochi, K., Harada, H., Tanaka, J., Ishibashi, T., Oka, H., Miyake, H. & Kimura, I.: Exocrine pancreatic function test by endoscopic retrograde aspiration of pure pancreatic juice. *Gastroenterol. Jpn.*, 23, 304-311 (1988).
- 6) Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., Herlyn, H., Herlyn, D. & Fuhrer, P.: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Somatic cell Genet.*, 5, 957-972 (1979).

- 7) Sawabu, N., Takemori, Y., Toya, D., Yoneshima, M., Kidani, H., Satomura, Y., Ohta, H. & Hattori, N.: Factors affecting serum levels of CA19-9 with special reference to benign hepatobiliary and pancreatic diseases. *Gastroenterol. Jpn.*, **21**, 491-498 (1986).
- 8) Steinberg, W.: The clinical utility of the CA19-9 tumor-associated antigen. *Am. J. Gastroenterol.*, **85**, 350-355 (1990).
- 9) Schmiegell, M. H., Krieker, C., Eberl, W., Arndt, R., Classen, M., Greten, H., Jessen, K., Kalthaff, H., Soehendra, N. & Thiele, H. G.: Monoclonal antibody defines CA19-9 in pancreatic juices and sera. *Gut*, **26**, 456-460 (1985).
- 10) Tatsuta, M., Yamamura, H., Ishi, H., Ichii, M., Noguchi, S., Yamamoto, R. & Okuda, S.: Values of CA19-9 in the serum, pure pancreatic juice, and aspirated pancreatic material in the diagnosis of malignant pancreatic tumor. *Cancer*, **56**, 2669-2673 (1985).
- 11) 竹森康弘, 澤武紀雄, 木谷 恒, 米島 学, 登谷大修, 米島正広, 若林時夫, 服部 信: 純粋胆汁中 CA19-9 値に関する検討. 胆と膵, **7**, 63-68 (1986).
- 12) Malesci, A., Tommasini, M. A., Bowato, C., Bocchia, P., Bersani, M., Zerbi, A., Beretta, E. & Dicarlo, V.: Determination of CA19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. *Gastroenterology*, **92**, 60-67 (1987).
- 13) Nishida, K., Taseki, N., Miyagawa, H., Yoshikawa, T. & Kondo, M.: Estimation of carbohydrate antigen CA19-9 levels in pure pancreatic juice of patients with pancreatic cancer. *Am. J. Gastroenterol.*, **83**, 126-129 (1988).
- 14) Chen, Y. E., Mai, C. R., Tie, Z. J., Feng, Z. T., Zhang, J., Lu, X. H., Lu, G. J. & Pan, G. Z.: The diagnostic significance of carbohydrate antigen CA19-9 in serum and pancreatic juice in pancreatic carcinoma. *Chin. Med. J.*, **105**, 333-337 (1989).
- 15) 日本消化器病学会慢性膵炎検討委員会: 慢性膵炎の臨床診断基準. 1-4 頁. 医学図書出版, 東京, 1983.
- 16) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査提要, 第29版, 773-774 頁, 金原出版株式会社, 東京, 1983.
- 17) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査提要, 第29版, 562-565 頁, 金原出版株式会社, 東京, 1983.
- 18) Lowry, O. H., Rosenbrogh, N. J., Farr, A. L. & Randall, J.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 19) 竹森康弘, 赤沢修吾, 神田裕三, 石井 勝, 澤武紀雄, 米島正広, 登谷大修, 服部 信: 酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay) による lactoferrin の測定. 医学の歩み, **133**, 53-55 (1985).
- 20) Weible, E. R.: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int. Rev. Cytol.*, **26**, 235-320 (1969).
- 21) Satomura, Y., Sawabu, N., Takemori, Y., Ohta, H., Watanabe, H., Okai, T., Watanabe, K., Matsuno, H. & Konishi, F.: Expression of various sialylated carbohydrate antigen in malignant and nonmalignant pancreatic tissues. *Pancreas*, **6**, 448-458 (1991).
- 22) 斉藤洋一: 膵癌全国登録調査報告 (1989年度症例の要約). 膵臓, **5**, 568-577 (1990).
- 23) 本間達二: 慢性膵炎の診断基準. 肝胆膵, **17**, 1107-1113 (1988).
- 24) Takemori, Y., Sawabu, N., Ohta, H., Satomura, Y., Watanabe, H., Yamakawa, O., Kawakami, H., Kidani, H., Takahashi, H. & Wakabayashi, T.: Evaluation of cancer-associated antigen (NCC-ST-439) measurement in pure pancreatic juice collected by endoscopic aspiration. *Dig. Endosc.*, **2**, 141-147 (1990).
- 25) Koprowski, H., Brockhaus, M., Blaszczyk, M., Magnemi, J., Streplewski, Z. & Ginsbury, V.: Lewis blood-type may affect the incidence of gastrointestinal cancer. *Lancet*, **1**, 1332-1333 (1982).
- 26) Burton, P., Evance, D. G., Harper, A. A., Howat, H. T., Oleesky, S., Scott, J. E. & Varley, H.: A test of pancreatic function in man based on the analysis of duodenal contents after administration of secretin and pancreozymin. *Gut*, **1**, 111-124 (1960).
- 27) 鈴木敏行, 鈴木邦彦, 小林英治, 小川 裕, 川村益生, 中村富夫, 鈴木貞輔, 早川哲夫, 野田愛司, 近藤孝晴, 柴田時宗, 杉本吉行: 慢性膵炎における secretin 試験と pncreozymin-secretin 試験の有用性についての比較検討. 日消誌, **83**, 2209-2215 (1986).
- 28) Atkinson, B. F., Ernest, C. S., Herlyn, M., Steplewski, Z., Sears, H. F. & Koprowski, H.: Gastrointestinal cancer-associated antigen in immun-

operoxidase assay. *Cancer Res.*, **42**, 4820-4823 (1982).

29) Haglund, C., Lindgren, J., Roberts, P. J. & Nordling, S.: Gastrointestinal cancer associated antigen CA19-9 in histological specimens of pancreatic tumor and pancreatitis. *Br. J. Cancer*, **53**, 189-195 (1986).

30) Takasaki, H., Uchida, E., Tempero, M. A., Burnett, D. A., Metzgar, R. S. & Pour, P. M.: Comparative studies on expression of CA19-9 and DU-PAN-2 in pancreatic cancer tissue. *Int. J. Pancreatol.*, **2**, 349-360 (1987).

31) Safi, F., Roscher, R., Bittner, R., Schenkluhn, B., Dopfer, H. P. & Beger, H. G.: High sensitivity and specificity of CA19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. Serological and immunohistochemical findings. *Pancreas*, **2**, 398-403 (1987).

32) Ichihara, T., Nagura, H., Nakao, A., Sakamoto, J., Watanabe, T. & Takagi, H.: Immunohistochemical localization of CA19-9 and CEA in pancreatic carcinoma and associated diseases. *Cancer*, **61**, 324-333 (1988).

33) Schwenk, J. & Makovitzky, J.: Comparative study on the expression of the blood group antigens Le a, Le b, Le x, Le y and carbohydrate antigens CA19-9 and CA-50 in chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Virchows Arch. (A)*, **414**, 65-476 (1989).

34) Shimizu, M., Saitho, Y., Ohyanagi, H. & Itoh, H.: Immunohistochemical staining of pancreatic cancer with CA19-9, KMO1, unabsorbed CEA, and absorbed CEA. A comparison with normal pancreas and chronic pancreatitis. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **114**, 195-200 (1990).

Diagnostic Significance of Cancer-associated Carbohydrate Antigen (CA19-9) Measurement in Pure Pancreatic Juice in Patients with Pancreatic Diseases Tokio Wakabayashi, Department of Internal Medicine, Cancer Research Institute, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med Soc., **100**, 508—525 (1991)

Key words CA19-9, pancreatic juice, endoscopic retrograde aspiration method of pure pancreatic juice, chronic pancreatitis, immunohistochemistry

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the diagnostic significance of the measurement of cancer-associated carbohydrate antigen, CA19-9 in pure pancreatic juice (PPJ) collected by endoscopic cannulation, in comparison to other diagnostic factors of pancreatic exocrine function, chiefly from patients with pancreatic diseases, and to elucidate the clinicopathological background relating to the increase of CA19-9 levels in the pancreatic juice by immunohistochemical study. The mean output as well as concentrations of CA19-9 in each of the 4 fractions collected were highest in patients with pancreatic cancer (PC), and were significantly higher even in patients with chronic pancreatitis (CP) than in controls, but patients with cholecystolithiasis did not have higher levels. When the cut-off value was set as the mean concentration $+2 \times$ the standard deviation of the controls, significant concentration of CA19-9 was found in the third fraction (secretory phase) in 90% of the patients with PC and 66% of the patients with CP. The prevalence of significant CA19-9 levels in the third fraction from patients with CP was significantly higher compared with those of other conventional parameters such as maximum flow rate, maximum HCO_3^- , amylase output and lactoferrin concentration. Immunohistochemical study revealed that in the ductal cells of CP tissues, CA19-9 was expressed more widely than in those of normal pancreatic (NP) tissues, and CP tissues had more CA19-9 positive ductal cells per microscopic area than NP tissues. In NP tissues, CA19-9

was localized to the apical surface and supranuclear regions (apical type) in all the ductal cells stained by the antigen, but about 50% of cases with stained CP, exhibited the cytoplasmic pattern showing loss of polarity of the antigen expression. Moreover, this cellular localization pattern was seen especially at the small ducts which proliferated and aggregated with the destruction of lobules in CP. These results indicate that measurement of CA19-9 levels in PPJ can be used as a sensitive marker for non-specific pancreatic disorders, although increased levels of CA19-9 in PPJ have no cancer-specificity, and higher CA19-9 levels in the pancreatic juice may reflect strong expression of CA19-9 in the proliferating small ducts of CP.