

大腸癌過塩素酸可溶分画中に検出された α -tissue antigen の解析

小林 壮 光

札幌医科大学内科学第1講座 (主任 谷内 昭 教授)

Characterization of α -Tissue Antigen (α TA) Detected in Perchloric Acid Soluble Extracts of Colonic Cancer Tissue

Takeaki KOBAYASHI

Department of Internal Medicine (Section 1), Sapporo Medical College

(Chief : Prof. A. Yachi)

ABSTRACT During the isolation of carcinoembryonic antigen (CEA) from perchloric acid (PCA) soluble extracts of colonic cancer tissue, an antigen that migrated to α region on immunoelectrophoresis has been previously detected in our laboratory, which we named α -tissue antigen (α TA). In this study, α TA was found to be antigenically distinct from already known α -globulin components, CEA, non-specific cross-reacting antigen (NCA), pregnancy associated proteins, and membrane associated tissular autoantigen (MTA). α TA was determined as a glycoprotein of 40,000 dalton, pI 3.4 and 11.5% sugar content.

Serum α TA level was determined by competitive RIA in 124 healthy controls, 162 patients with neoplastic diseases, and 87 patients with non-neoplastic diseases. The normal upper level of serum α TA was 200 ng/ml, and the incidence of cases with the elevation was found to be 69.1% (112/162) for neoplastic diseases, and 43.7% (38/87) for non-neoplastic diseases. As to neoplastic diseases, the incidence of increased levels in patients with solid tumors was higher than in patients with hematopoietic diseases. In addition, the incidence of serum α TA level over 1,000 ng/ml was 31.5% (39/124) in patients with solid tumors and 5.3% (2/38) in patients with malignant blood diseases, the former was statistically higher than the latter ($p < 0.01$). Regarding the relations of serum α TA levels and the stages in 32 cases with gastric cancer, the levels were found to be higher in stage IV than in the other stages ($p < 0.05$). There was, however, no correlation between the serum levels of α TA and those of CEA. In non-neoplastic diseases, it was notable that 3 of the 5 cases with ulcerative colitis had serum α TA levels over 1,000 ng/ml.

Immunofluorescence antibody analysis indicated that α TA was located largely on the surface of cancer cells. In signet ring cell carcinoma of the stomach obtained from ascites, α TA was found in the cytoplasm. Only a faint immunofluorescence of α TA was detected in normal and non-cancerous digestive mucosa, and granulocytes and monocytes.

In addition, monoclonal antibody (MoAb) TA53 was developed from a fusion of the murine myeloma cell line with splenocytes of BALB/c mice which were immunized with purified α TA. The MoAb reacted with α TA recognized as 40,000 dalton protein of colonic cancer cells but did not react with granulocytes. This MoAb will be expected to develop a more specific assay system for monitoring the serum levels of α TA.

(Received April 22, 1988 and accepted May 23, 1988)

Key words: α -Tissue antigen (α TA), Membrane associated tissular autoantigen (MTA), Carcinoembryonic antigen (CEA), Tumor associated antigen, Monoclonal antibody

1 結 言

癌の免疫化学的診断法は α -fetoprotein (AFP)¹⁾, carcinoembryonic antigen (CEA)²⁾などの腫瘍関連抗原の発見以来、著明な進歩を示し、近年はCA19-9³⁾, CA125⁴⁾など新しい腫瘍マーカーが発見され臨床診断に応用されるようになった。

本講座では、これまでCEAに関して系統的な検索⁵⁻⁷⁾を進めてきたが、結腸癌組織の過塩素酸可溶分画(Coca-PCA extract)からのCEAの単離過程で、電気泳動的に α 領域に移動度を有し、CEAとは異なる興味ある抗原を見出し、組織由来であることからこれを α -tissue antigen(α TA)と命名し、予報的に報告した⁸⁾。しかし、このCoca-PCA extractの α 領域には多くの抗原成分が含まれており、それらの異同を検討する必要がある。

本研究においては、まず α TAを単離しその特異抗血清を作製するとともに、これらを用いて免疫組織学的ならびに化学的に検討して、その抗原としての性格を明らかにした。また、radioimmunoassay (RIA)により種々の疾患の血中 α TAレベルを測定して、その臨床的意義を検討した。また α TAと類似した抗原については、von Kleist *et al.*⁹⁾によるmembrane associated tissular autoantigen (MTA)の報告があり、著者らはvon Kleist教授と互いに抗原・抗体を交換し、それらの異同を免疫化学的に検討したのであわせて報告する。さらに最近 α TAに対するモノクローナル抗体の作製に成功したので、その成績についても一部述べる。

2 研究方法

2.1 α TAの単離、精製

2.1.1 過塩素酸可溶分画の作製

Fig. 1に示すように、 α TAの単離は、CEAに準じて、手術および剖検により得た結腸癌およびその転移巣より行なった。これらをプールのした癌組織に2倍重量の生理的食塩水を加えてhomogenizeし、それに等量の1.2 M 過塩素酸を加え20分放置した後、3,000 g, 15分間遠心して上清を分離し、直ちに5 N-NaOHを滴下し中和した。それに硫酸アンモニウム粉末を飽和量に達するまで攪拌しながら加えた。6,000 g, 15分間遠心後、沈殿物を少量の蒸留水で溶解し、蒸留水で透析後、ミリポア (Type GS, 0.22 μ m) により濾過し、Amicon Model 52 (Membrane UM 2) により濃縮し、凍結乾燥して保存し、これを過塩素酸可溶分画(PCA分画)とした。

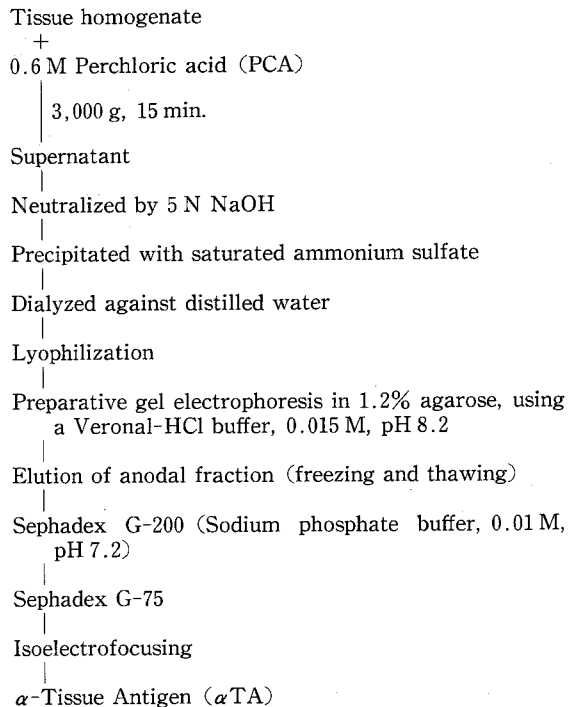


Fig. 1 Purification of α -tissue antigen (α TA) from colonic tumor extracts.

2.1.2 ゾーン電気泳動法

過塩素酸可溶分画を1.2% agaroseを支持体とし、veronal-HCl緩衝液、0.015 M, pH 8.2を用いてゾーン電気泳動により分画した。泳動槽(40×7×1 cm)の陰極側より13 cmに試料2 mlを入れ、2 mA/cm², 5 v/cmの条件で36時間泳動した。

2.1.3 ゲル濾過法

ゾーン電気泳動により得た α 分画をSephadex G-200(2×100 cm), 次いでSephadex G-75(1.5×40 cm)によりゲル濾過した。溶出には0.01 Mリン酸ナトリウム緩衝液, pH 7.2を用いた。得られた分画のうち抗結腸癌PCA分画(Coca-PCA)抗体⁵⁾(正常血漿にて吸収)による免疫電気泳動法(IEP)で α 位に移動度を有する分画のみをプールした。これに、正常血漿の α -globulinが主体をなすCohn IV分画に対する抗体をAvrameas and Ternynck¹⁰⁾の方法に従って固相化したものを加えて正常血漿成分を除去し、部分精製 α TAとした。

2.1.4 等電点分画法

ゲル濾過により得た部分精製 α TAをさらに等電点分画法により精製した。2% Ampholine液で透析した試料(部分精製 α TA 25 mg)を濃厚液(sucrose 28 g,

40% Ampholine 3.75 ml, aq. dest. 42 ml) 中に溶解し, 希薄液 (40% Ampholine 1.25 ml, aq. dest. 58.75 ml) とミキサーにより密度勾配をカラム (LKB 社製 110 ml) 内に作製した。泳動は自動還流恒温装置により 4°C に保ちつつ, 800 V の条件下で 72 時間行なった。泳動終了後は 1.5 ml ずつ分画採取し, 精製 α TA を得た。

2.2 α TA に対するウサギ抗血清およびモノクローナル抗体の作製

2.2.1 ウサギ抗 α TA 血清の作製

α TA 1 ml (1 mg) を等量の Freund's complete adjuvant に混じて家兎に免疫し, 2 週間後からその半量を 1 週間毎に 4~5 回免疫して, 最終免疫後 10 日目に全採血した。得られた抗血清は, 正常血漿, 正常血漿 Cohn IV 分画, および ABO 型赤血球成分により十分に吸収した。さらに CEA を含む β 位の Coca-PCA 分画⁵⁾ により吸収した。

2.2.2 モノクローナル抗体の作製およびその検定

α TA 100 μ g/0.5 ml を等量の Freund's complete adjuvant に混じて BALB/c マウス (日本クレア) に 2 週間隔で 3 回免疫し, 最終免疫より 3 日後に脾細胞をとり出しマウス骨髄腫細胞 P 3-X 63-Ag 8.653 と既報の方法¹¹⁾ に従い細胞融合を行った。モノクローナル抗体のスクリーニングは, 既報¹²⁾ のように精製 α TA を抗原とした enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA 法) によった。対応抗原の検索は, 遠藤・今井¹²⁾ に従い, ウェスタンブロット法によった。

2.3 α TA の免疫化学的分析

2.3.1 既知の抗原との交差反応性の検討

Micro-Ouchterlony 法 (MO 法), 免疫電気泳動法 (IEP) および counter immunoelectrophoresis (CIEP) および RIA により, 既知の α -globulin 成分, および CEA, AFP, ferritin, TPA, α_1 -microglobulin 等の腫瘍関連抗原との交差反応性を調べた。さらに von Kleist 教授より供与された MTA, 抗 MTA 血清を用いて, α TA と MTA との抗原性の異同を比較検討した。

2.3.2 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel 電気泳動法 (SDS-PAGE)

5% SDS-PAGE を用い, ヒト IgG (M. W. 16×10^4), ヒト albumin (M. W. 6.8×10^4), chymotrypsinogen (M. W. 2.5×10^4) を分子量既知標準蛋白として用いその相対移動度から α TA の分子量を測定した。

2.3.3 化学組成分析

α TA のアミノ酸分析は Spackman *et al.*¹³⁾ の方法

により北大薬学部元素分析室において, また糖組成は Dr. Shively (City of Hope National Medical Center) により測定^{14,15)} していただいた。

2.4 血中 α TA の測定

2.4.1 測定対象

血液生化学検査, 尿検査, 胸部 X 線検査その他の理学的検査により異常のみとめられないものを正常対照群とし, その中から男子 65 例 (10 歳代 8, 20 歳代 8, 30 歳代 7, 40 歳代 5, 50 歳代 7, 60 歳代 10, 70 歳代 10, 80 歳代 10), 女子 59 例 (10 歳代 8, 20 歳代 5, 30 歳代 8, 40 歳代 9, 50 歳代 9, 60 歳代 9, 70 歳代 5, 80 歳代 6) 計 124 例を選んだ。

悪性腫瘍例は総計 162 例で, その内訳は固型癌が, 胃癌 47 例, 結腸・直腸癌 29 例, 膵癌 13 例, 肝癌 15 例, 肺癌 11 例, その他 9 例 (食道癌 3, 悪性胸腺腫 2, 前立腺癌, 胆管癌, 咽頭癌, 睾丸腫瘍各 1) の計 124 例であり, 造血器腫瘍が急性骨髄性白血病 (AML) 16 例, 慢性骨髄性白血病 (CML) 5 例, 悪性リンパ腫 10 例, 多発性骨髄腫 7 例の計 38 例である。

また非腫瘍性疾患群としては, 自己免疫疾患 35 例 (SLE 11, RA 12, 多発性動脈炎 2, Behçet 症候群 2, 自己免疫性溶血性貧血 2, 潰瘍性大腸炎 5, 皮膚筋炎 1), 急性肝炎 7 例, 慢性肝炎 19 例, 肝硬変症 11 例, 消化管ポリープ 3 例, その他 12 例の計 87 例である。

2.4.2 RIA プロトコール

Chloramine T 法により精製 α TA 36 μ g を Na-¹²⁵I 0.5 mCi により標識し, Sephadex G-25 によりゲル濾過して ¹²⁵I- α TA (37 μ Ci/ μ g) を得た。 ¹²⁵I- α TA および抗 α TA 血清の希釈には牛血清アルブミンを 0.1% に含む 0.075 M リン酸緩衝液 pH 7.2 を用いた。

まず標準 α TA あるいは被検血清 0.1 ml に ¹²⁵I- α TA 0.1 ml (10,000 cpm) および抗 α TA 血清 (1:1,000) を添加し, 4°C で 24 時間反応させた。また, 抗体結合 ¹²⁵I- α TA と free ¹²⁵I- α TA の分離は Creighton *et al.*¹⁶⁾ に従い 25% PEG によって行なった。すなわち抗 α TA 結合 immunoabsorbent であらかじめ α TA を除去した正常血清 (α TA 除去正常血清) を作り, その 0.1 ml と 25% PEG 0.4 ml を加え 4°C で 20 分間放置した後, 3,000 rpm 20 分間遠沈し, 上清をすて, 試験管に残存する上清を注意深く濾紙で吸い取って沈殿物の放射能 B (cpm) を測定した。また blank 液としては α TA 除去正常血清 0.1 ml を用いて B₀ (cpm) を測定し B/B₀ を算出した。また検量曲線は, 精製 α TA を上記 α TA 除去正常血清により 10, 20, 50, 100, 500, 1,000, 2,000 ng/ml の濃度になるように調整した

標準液について作製した。

2.5 α TA の免疫組織学的検討

2.5.1 免疫ペルオキシダーゼ法および蛍光抗体法

抗 α TA 血清および抗 α TA モノクローナル抗体 TA 53 を用いて免疫ペルオキシダーゼ法, あるいは蛍光抗体間接法により α TA の組織分布を検討した。

手術および剖検により得た正常胃・結腸組織, 胃癌・結腸癌組織および人工流産の際に得られた 16 週, 32 週齢の胎児の胃・結腸組織を検索対象とした。間接免疫ペルオキシダーゼ法にはホルマリン固定, paraffin 包埋切片を用い, 方法は杉山¹⁷⁾に従った。蛍光抗体法には各組織を 95% ethanol 固定後, 低融点 paraffin 包埋し, 4 μ m の組織切片を作製後特異抗 α TA 血清と 1 時間反応させ, PBS で十分洗浄した。さらに FITC 標識抗体により 1 時間反応させた後, 再び十分洗浄して蛍光顕微鏡で観察した。また胃癌患者の腹水を 1,000 rpm 10 分間遠沈し, 沈殿を MEM により数回洗浄し血漿成分を十分に排除した後, その一滴をスライドグラスに塗抹し, 95% ethanol (4°C) 固定して同様に反応させ, 遊離癌細胞における α TA の局在を検索した。

2.5.2 Rosette formation test

癌細胞の細胞膜における α TA の局在を検討すべく, rosette formation test¹⁸⁾ を行なった。すなわち腹水中の癌細胞を抗 α TA 血清と反応させ, さらにこれを protein A を結合させたヒツジ赤血球 (SRBC) と反応させた。反応後 1,000 rpm, 10 分遠沈し沈殿をスライドグラスに塗抹し, メイギムザ染色の後に検鏡した。

3 研究成績

3.1 α TA の分画

Fig. 2 に大腸癌 PCA 分画の電気泳動, ゲル濾過, 等電点分画による単離成績を示した。ゾーン電気泳動法では, α TA は原点より 11 および 12 cm の領域に泳動し, CEA とは明確に分離された。この α 分画をさらにゲル濾過すると, α TA は血清のアルブミン分画 (A 分画) よりさらに分子量の小さい分画に溶出した。さらに等電点分画法により精製を進めると, pI 3.3~3.5 に一致して α TA が得られた。

3.2 免疫化学的検索

3.2.1 精製 α TA について

CEA, NCA¹⁹⁾, AFP, ferritin²⁰⁾ 等の腫瘍関連抗原, 正常血漿成分および妊娠関連抗原など既知の抗原と α TA との関連性を MO 法, IEP, および CIEP により検索したが, α TA はいずれの抗原とも交差反応を示さなかった。また精製 α TA を RIA により, TPA お

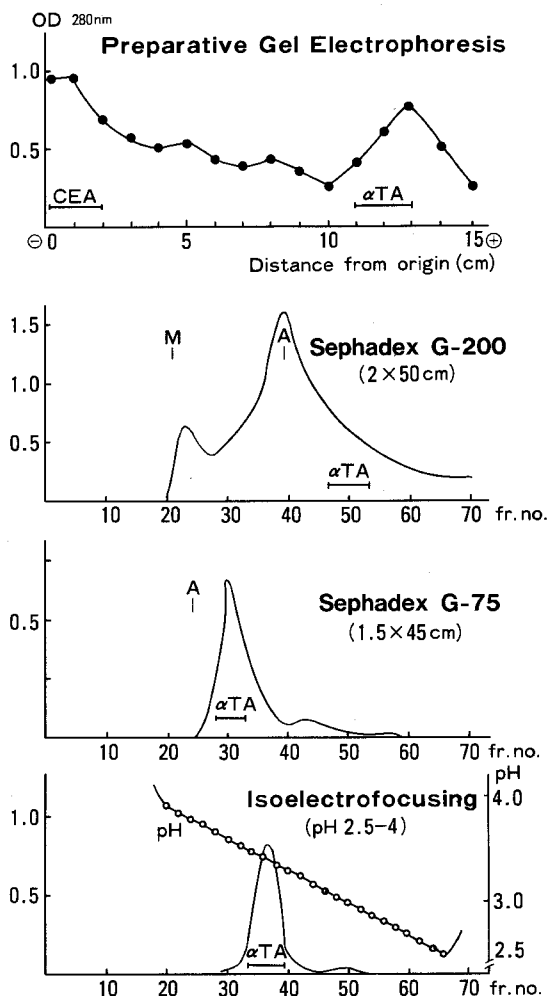


Fig. 2 Isolation of α TA by preparative gel electrophoresis, gel filtration and isoelectrofocusing. Gel filtration was performed by using Sephadex G-200 and then Sephadex G-75 (M: IgM fraction, A: albumin fraction). Further purification was carried out by isoelectrofocusing with a pH 2.5-4.0 ampholine, and the purified α TA with a pI 3.3 to 3.5 was obtained.

および α_1 -microglobulin 抗体との反応を調べたが, 全く交差反応を認めなかった。

Fig. 3 に α TA の免疫電気泳動パターンを示した。結腸癌の PCA 可溶分画 (Coca-PCA 分画) を泳動し, この分画に対する抗 Coca-PCA 血清⁵⁾ を反応させると, β 位に CEA, NCA の 2 本および α 位に 1 本の沈降線が認められるが, 精製 α TA はこの α 位の沈降線に一致し, α_1 の移動度を示した。

5% SDS-PAGE では, Fig. 4 に示すように, 精製 α TA は幅広い一本のバンドを示し, 分子量は平均約

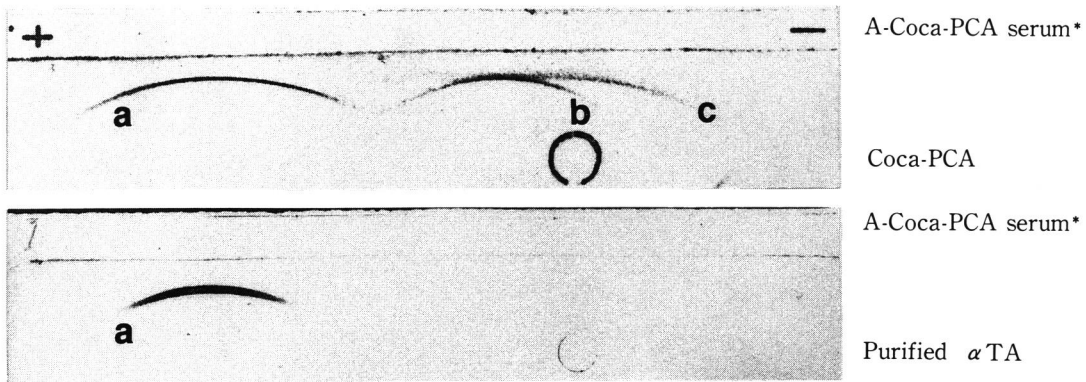


Fig. 3 Immunoelectrophoretic identification of α TA.
 (a: α TA, b: CEA, c: NCA)
 Coca-PCA: perchloric acid extracts of colonic cancer tissues.
 * Antiserum against Coca-PCA

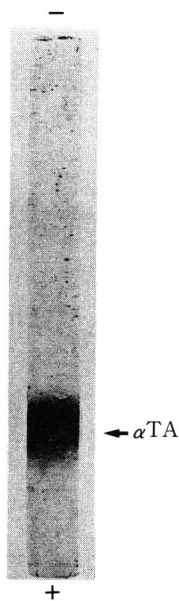


Fig. 4 SDS-PAGE of α TA. An arrow indicates α TA showing a single band.

40,000 と測定された。

3・2・2 MTA との抗原性の比較検討

Fig. 5 に示すように von Kleist 教授より供与された MTA を用いて、 α TA の移動度を免疫電気泳動により比較した。

まず、精製 CEA は抗 Coca-PCA 血清に対し β 位に 1 本の沈降線を示した。

α TA と MTA はともにこの抗 Coca-PCA 血清に対して α 位に 1 本の沈降線を認めたが、MTA に比べて α TA の方がわずかに移動度が早いと判断された。

さらに抗 MTA 血清を用いて Fig. 6 のように MO 法により MTA と α TA の抗原性を比較してみた。MTA

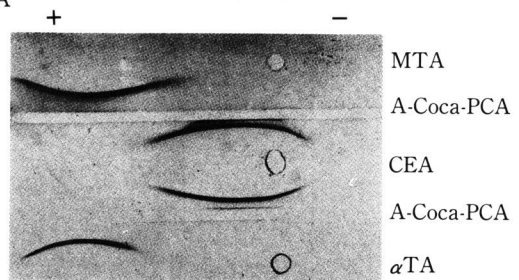


Fig. 5 Immunoelectrophoresis of α TA, MTA and CEA. Both α TA and MTA form a single precipitin arc when reacted with A-Coca-PCA serum.
 MTA: Membrane associated tissular autoantigen which was kindly supplied by Dr. von Kleist.

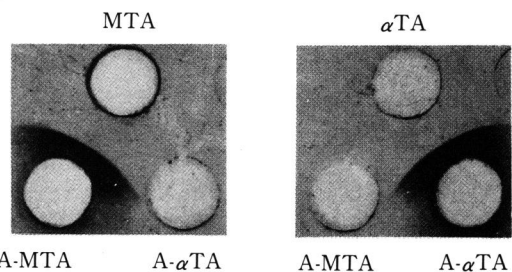


Fig. 6 Ouchterlony reaction of MTA and α TA against A-MTA and A- α TA. There was no cross-reactivity between α TA and MTA, when tested by using corresponding antibodies. MTA and A-MTA were kindly supplied by Dr. von Kleist.

と抗 MTA の間および α TA と抗 α TA の間に、それぞれ 1 本の沈降線がみられた。しかし MTA と抗 α TA の間および α TA と抗 MTA の間には反応を認めず、 α TA と MTA の抗原性は全く異なることが判明した。

3・2・3 化学組成分析

Table 1 に示すように α TA のアミノ酸組成は、グルタミン酸、アスパラギン酸が多く、酸性糖蛋白としての性格を有しているが、CEA に多く含まれているセリン、スレオニンは比較的少なかった。また、メチオニンはCEA にほとんど含まれていないが、 α TA には少量含まれていた。

一方糖成分はN-アセチルグルコサミン、シアル酸、ガラクトサミンが比較的多く含まれており、フコース、マンノースは少ない。しかしN-アセチルガラクトサミンは検出されなかった。 α TA は糖成分を11.5%に含有する糖蛋白である。

3・3 α TA の RIA 検量線

Fig. 7 のごとく α TA は20~1,000 ng/ml の範囲内で測定可能であった。検体の α TA 濃度が1,000 ng/ml を超える場合にはblank血清により希釈して測定した。なお1,000 ng/ml までの範囲ではCEA およびNCA の有意な交差反応は認められなかった。

Table 1 Amino acid and carbohydrate contents of α TA, CEA and NCA. (See Ref. 21)

	Amino Acids (μ mol/mg)		
	CEA	NCA	α TA
Lys.	0.029	0.032	0.090
His.	0.017	0.012	0.019
Arg.	0.031	0.029	0.038
Asp.	0.157	0.137	0.106
Thr.	0.087	0.093	0.067
Ser.	0.114	0.100	0.062
Glu.	0.096	0.116	0.213
Pro.	0.080	0.081	0.068
Gly.	0.063	0.066	0.063
Ala.	0.061	0.059	0.084
Val.	0.066	0.069	0.064
Ile.	0.037	0.040	0.042
Leu.	0.076	0.083	0.090
Tyr.	0.040	0.043	0.032
Phe.	0.022	0.017	0.063
Met.	0.000	0.009	0.013
1/2 Cys.	0.016	0.008	0.016
	Carbohydrates (μ g/100 μ g)		
Fuc.	8.1	3.1	0.4
Man.	6.8	10.5	0.8
Gal.	10.5	3.6	2.7
NACglu.	20.5	11.0	3.2
NANA	3.2	2.9	2.9

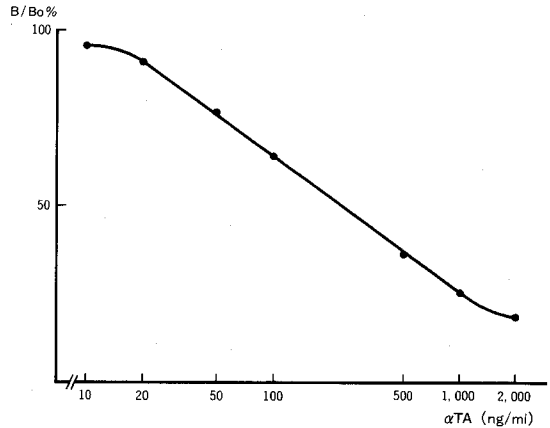


Fig. 7 Standard curve of α TA developed by competitive radioimmunoassay. A linear curve was obtained in the range from 20 ng/ml to 1,000 ng/ml.

3・4 正常対照群の血中 α TA 値

正常対照の血中 α TA 値を Table 2 に示した。正常対照の平均値 \pm SD は 84 ± 46 ng/ml で、男性 69 ± 30 ng/ml ($n=65$)、女性 99 ± 55 ng/ml ($n=59$) で女性に高い傾向を示した ($p < 0.05$)。100 ng/ml 以上 200 ng/ml 未満の例は男性 6 例 (9.2%) に比べて女性 22 例 (37.3%) であった。また、女性では加齢に伴い高値を示す例が多く認められ 70 歳代、80 歳代では全例が 100 ng/ml 以上であることが注目されるが、男性にはこのような傾向が認められなかった。しかし正常対照群全体としては 200 ng/ml を越えるものは認められず、また女性の平均 $+2$ SD は 209 ng/ml であるが、便宜上正常上界を 200 ng/ml とし、それ以上を陽性とした。

3・5 各種悪性腫瘍における血中 α TA 値

悪性腫瘍患者の血中 α TA 値を Table 3 に示した。異常値を示す例は、癌 124 例中 93 例 (75.0%)、造血器腫瘍 38 例中 19 例 (50%) であった。特に癌は造血器腫瘍に比べて陽性率が高く、また 1,000 ng/ml 以上の高値を示すものは、癌 124 例中 39 例 (31.5%)、造血器腫瘍 38 例中 2 例 (5.3%) となっており前者が有意に高かった ($p < 0.01$)。なお各種疾患別において男女差は認められなかった。

3・5・1 胃癌：47 例中陽性を示したのは 35 例 (74.5%) であるが、1,000 ng/ml を越える高値を示したのは 17 例 (36.2%) となっており、他の癌および血液腫瘍に比し高率である。

これら症例のうち、胃癌研究会の胃癌取り扱い規約によって肉眼的進行度を分け得た stage I 8 例、stage II 6 例、stage III 10 例、stage IV 9 例のそれぞれの平

Table 2 Serum α TA levels in normal controls.

Normal controls	No.	Serum α TA				
		<100 ng/ml	100-199	200-499	500-999	1,000 \leq
Male :						
10-y. o.	8	8	0	0	0	0
20-	8	8	0	0	0	0
30-	7	5	2	0	0	0
40-	5	3	2	0	0	0
50-	7	5	2	0	0	0
60-	10	10	0	0	0	0
70-	10	10	0	0	0	0
80-	10	10	0	0	0	0
subtotal	65	59(90.8%)	6(9.2)	0	0	0
Female :						
10-y. o.	8	6	2	0	0	0
20-	5	4	1	0	0	0
30-	8	5	3	0	0	0
40-	9	6	3	0	0	0
50-	9	8	1	0	0	0
60-	9	8	1	0	0	0
70-	5	0	5	0	0	0
80-	6	0	6	0	0	0
subtotal	59	37(62.7)	22(37.3)	0	0	0
TOTAL	124	96(77.4)	28(22.6)	0	0	0

Table 3 Serum α TA levels in patients with neoplastic diseases.

Neoplastic diseases	No.	Serum α TA				
		<200 ng/ml	200-499	500-999	1,000 \leq	200 \leq
Carcinoma						
Stomach	47	12	14	4	17(36.2%)	35(74.5)
Colon	29	7	5	7	10(34.5)	22(75.9)
Pancreas	13	2	3	4	4(30.8)	11(84.6)
Liver	15	6	4	0	5(33.3)	9(60.0)
Lung	11	1	6	2	2(18.2)	10(90.9)
Others	9	3	3	2	1(11.1)	6(66.7)
subtotal	124	31	35	19	39(31.5)	93(75.0)
Hematopoietic diseases						
AML	16	8	5	2	1(6.3)	8(50.0)
CML	5	2	0	2	1	3
Malignant lymphoma	10	5	4	1	0	5(50.0)
Multiple myeloma	7	4	3	0	0	3
subtotal	38	19	12	5	2(5.3)	19(50.0)
TOTAL	162	50(30.9)	47(29.0)	24(14.8)	41(25.3)	112(69.1)

均値をみると、Fig. 8 に示すように、それぞれ 291 ng/ml, 555 ng/ml, 649 ng/ml, 2,777 ng/ml であり、stage の進行とともに増量する傾向を示し、とくに stage IV は他の stage に比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。また 1,000 ng/ml を越える値を示した胃癌 11 例中 10 例は stage III, IV の進行癌であった。すなわちその stage の進行とともに α TA 値は上昇の傾向を示した。

また、これらの胃癌のうち、手術または剖検により組織像を知り得た例は乳頭状腺癌 1 例、高分化型腺癌 3 例、中等度分化型腺癌 6 例、低分化型腺癌 10 例、印環細胞癌 5 例、未分化型腺癌 2 例の計 27 例であるが、組織型と血中 α TA 値には関連性を認め難かった。しかし 1,000 ng/ml 以上を呈した 4 例はすべて腺癌であった。

次に Borrmann 分類別に α TA の平均値をみると、Borrmann I 1,365 ng/ml (2 例)、Borrmann II 863 ng/ml (6 例)、Borrmann III 1,322 ng/ml (9 例)、Borrmann IV 285 ng/ml (2 例) となっておりその間に差を認め難かった。

また α TA と同時に CEA を測定し得た胃癌 38 例、結腸癌 16 例については Fig. 9 に示すように、両者の間

には相関は認められなかった。しかし CEA 陰性 30 例のうち 22 例に α TA は陽性であった。

3・5・2 結腸癌；結腸・直腸癌では 29 例中 22 例 (75.9%) に陽性で、1,000 ng/ml 以上の増加を示したのは 10 例 (34.5%) であった。

結腸癌および胃癌の手術に伴う α TA および CEA 値の変動を観察し Table 4 にまとめた。結腸癌では 7 例中 6 例が 500 ng/ml 以上の高値を呈し、術後 4 週で α TA の減少は有意でなく、CEA が陰性化した例においても高値を呈した。第 6 および第 7 例は術後肝転移を認めた例で、 α TA および CEA はともに陽性を持続した。胃癌では術前 CEA 陽性は 9 例中 2 例にすぎないが、 α TA は 9 例中 5 例が陽性を示し、その中 4 例が術後陰性化した。第 8 例は術後陽性を示したがその後陰性化し、再発は認められていない。また第 9 例は、肝転移を認めた例で、 α TA および CEA は高値を呈した。

3・5・3 膵癌；比較的高値を示す例が多く、陽性は 13 例中 11 例 (84.6%) であり、1,000 ng/ml を越える例も 4 例 (30.8%) 認められた。

3・5・4 肝癌；15 例中 9 例 (60.6%) に陽性で、1,000 ng/ml を越える例は 5 例 (33.3%) 認められた。

3・5・5 肺癌；11 例中 10 例 (90.9%) が 200 ng/ml

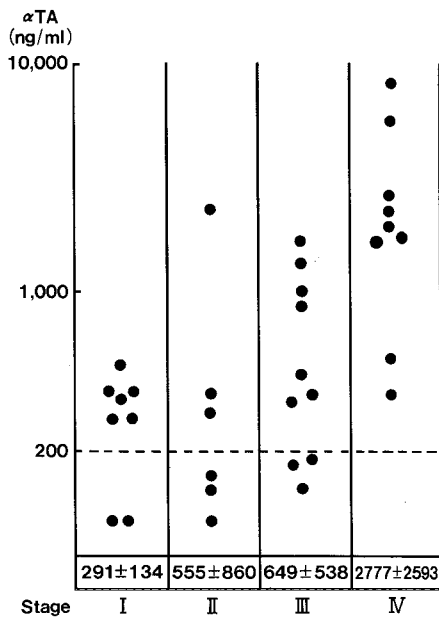


Fig. 8 Serum α TA levels in the various stages of gastric cancer. A mean \pm SD of serum α TA levels was indicated in each stage. The level was found to be higher in stage IV than in the other stages ($p < 0.05$).

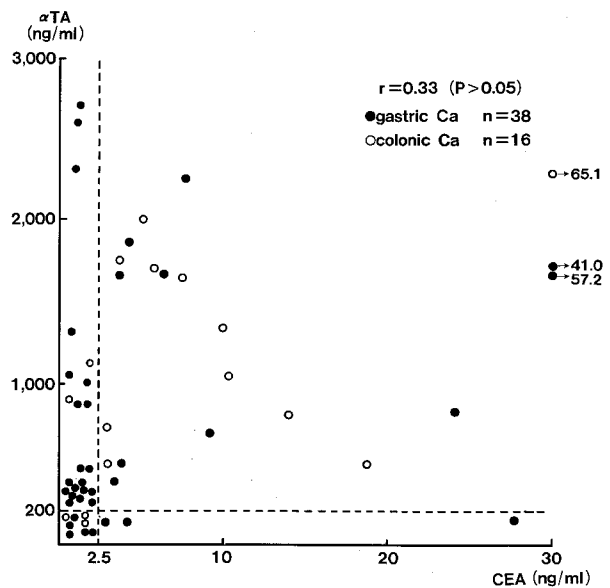


Fig. 9 Correlation between α TA and CEA levels in patients with gastric or colonic cancer. There was no correlation between the serum levels of α TA and CEA. CEA was determined using Dainabot kit.

を越え 1,000 ng/ml を越える例も 2 例 (18.2%) 認められた。

3・5・6 その他の癌；その他の癌で 200 ng/ml を越える異常値を示したものは、食道癌 2 例 (300 および 350 ng/ml)，および睾丸腫瘍 (300 ng/ml)，咽頭癌 (500 ng/ml)，悪性胸腺腫 (900 ng/ml)，前立腺癌 (1,170 ng/ml) 各 1 例の計 6 例である。

3・5・7 白血病；200 ng/ml 以上を呈するのは、AML 16 例中 8 例 (50%)，CML 5 例中 3 例 (60%) であった。1,000 ng/ml 以上の高値を示すのはともに 1 例ずつ認められた。また急性期では寛解期に比して有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

3・5・8 悪性リンパ腫；10 例中 5 例が 200 ng/ml 以上を示したが、1,000 ng/ml を越える例はなかった。

3・5・9 多発性骨髄腫；7 例中 3 例が陽性であった。

3・6 非腫瘍性疾患群

非腫瘍性疾患患者の血中 α TA 値を Table 5 に示した。計 87 例のうち 38 例 (43.7%) が 200 ng/ml 以上であったが、1,000 ng/ml を越えた例は潰瘍性大腸炎 5 例中の 3 例 (全体の 3.4%) のみであり腫瘍性疾患群に比較して低値であった。

Table 4 Changes in serum α TA and CEA levels before and after operation in patients with gastric or colonic cancer.

	α TA (ng/ml)		CEA (ng/ml)*	
	pre.	post.**	pre.	post.**
Gastric Ca.				
Case 1: stage I	100	140	1.6	1.5
2: I	280	190	1.9	1.6
3: I	480	190	2.0	1.8
4: II	100	140	2.0	1.5
5: II	140	140	2.6	2.3
6: III	425	140	1.3	2.3
7: III	350	160	1.3	1.0
8: III	180	330	1.0	1.6
9: IV	1,870	1,730	4.2	4.0
Colonic Ca.				
Case 1: Dukes A	120	100	0.9	0.9
2: A	500	800	3.0	1.5
3: A	733	500	3.0	1.6
4: B	2,000	1,400	5.2	2.0
5: B	1,700	1,600	6.0	1.9
6: C	1,330	1,200	10.0	12.0
7: C	1,670	1,470	7.6	5.0

* sandwich method (Dainabot kit)

** four weeks after operation

Table 5 Serum α TA levels in patients with non-neoplastic diseases.

Non-neoplastic diseases	No.	Serum α TA				
		<200 ng/ml	200-499	500-999	1,000 \leq	200 \leq
Autoimmune diseases						
SLE	11	8	3	0	0	3(27.3%)
Rheumatoid arthritis	12	6	5	1	0	6(50.0)
Polyarteritis	2	1	1	0	0	1
Behçet's disease	2	0	2	0	0	2
AIHA	2	2	0	0	0	0
Colitis ulcerosa	5	0	1	1	3	5
Dermatomyositis	1	1	0	0	0	0
subtotal	35	18	12	2	3(8.6)	17(48.6)
Hepatic diseases						
Acute hepatitis	7	4	3	0	0	3
Chronic hepatitis						
active	12	8	2	2	0	4
inactive	7	3	1	3	0	4
Liver cirrhosis	11	5	5	1	0	6
subtotal	37	20	11	6	0	17(45.9)
Gastrointestinal disease						
Polyps	3	3	0	0	0	0
Others						
	12	8	2	2	0	4(33.3)
TOTAL	87	49(56.3)	25(28.7)	10(11.5)	3(3.4)	38(43.7)

3・6・1 自己免疫疾患；200 ng/ml を越える例は SLE 11 例中 3 例，RA 12 例中 6 例，多発性動脈炎 2 例中 1 例，Behçet 病 2 例中 2 例，潰瘍性大腸炎 5 例中 5 例であり，そのうち 3 例が 1,000 ng/ml を越える高値を示すことが注目される。

3・6・2 肝疾患；肝疾患 37 例中 17 例（45.9%）が 200 ng/ml 以上を示した。その内訳は急性肝炎 7 例中 3 例，慢性肝炎 19 例中 8 例，肝硬変症 11 例中 6 例であった。しかし慢性肝炎では活動性（12 例中 4 例）と非活動性（7 例中 4 例）との間に差を認め難かった。また 1,000 ng/ml 以上を示す症例は認められなかった。

3・6・3 その他の非腫瘍性疾患；消化管ポリープを含むその他の非腫瘍性疾患 15 例中 4 例に異常値が認められたが，これらはいずれも甲状腺機能亢進症例であった。

3・7 α TA に対するモノクローナル抗体による検討

2 回の細胞融合により得られた 84 個のハイブリドーマ・クローンより，Fig. 10 のように ELISA 法により精製 α TA に強く反応するモノクローナル抗体を産生するクローンが 8 個得られた。このうち，3 種のモノクローナル抗体を検索し得た。2 種は ELISA で NCA と交差反応を示したが，1 種は α TA のみと反応したので，このモノクローナル抗体を大量に作製して TA53 (IgM)

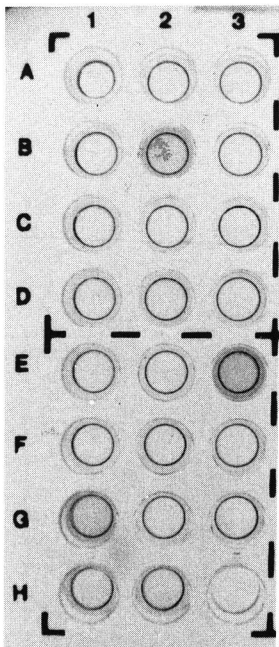


Fig. 10 Reaction of monoclonal antibody TA 53 with purified α TA examined by ELISA. (3E: TA 53, 1G: polyclonal antibody)

と称した。これをヒト大腸癌細胞株 BM 314 の NP-40 (1%) extract を抗原としてウエスタンブロット法によりその対応抗原分子を検討した。その結果 Fig. 11 に示すように本抗体は分子量約 40,000 の分画に反応を示し，それ以外には反応を認めなかった。

3・8 α TA の免疫組織学的検討

3・8・1 免疫ペルオキシダーゼ法および蛍光抗体法による検討

抗 α TA 抗体ならびにモノクローナル抗体 TA53 を用いて，正常胃・結腸組織および胃・結腸癌組織における α TA の局在を検索すると，Table 6 に示すように，これら両組織において，主として細胞膜および一部細胞質に陽性所見が認められるが，その染色あるいは蛍光は癌組織に明らかに強かった。Fig. 12 に TA53 抗体を用いた際の免疫ペルオキシダーゼ染色像を示すが，結腸癌細胞に陽性所見を得た。

Fig. 13 は結腸癌（中等度分化型腺癌）組織の蛍光抗体像およびヘマトキシリン-エオジン染色像であるが，癌組織に明らかに膜性蛍光を認める。Fig. 14-a, b は胃

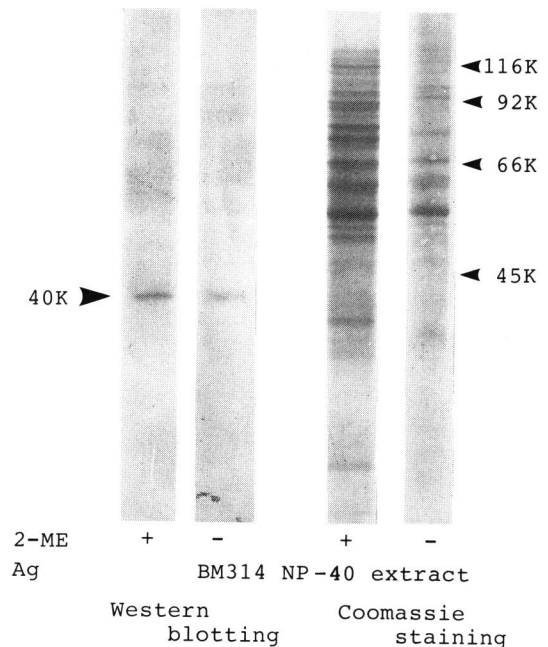


Fig. 11 Reactivity of MoAb TA 53 to NP-40 extracts from colonic cancer cell line BM 314 examined by Western blotting method. A single line was observed at the region of 40 K, which was consistent with the molecular weight of α TA. There was no difference in molecular weight of α TA in 2ME-treated extracts and the non-treated ones.

Table 6 Tissue distribution of α TA by immunoperoxidase method using polyclonal and monoclonal antibodies.

Tissues	polyclonal	monoclonal
Normal tissue		
Stomach	+/-	+/-
Colon	+/-	+/-
Pancreas	-	-
Liver	-	-
Spleen	-	-
Kidney	-	-
Erythrocyte	-	-
Neutrophil	+	-
Monocyte	+	-
Cancer tissue		
Stomach	++	+
Colon	++	+

++ : strongly positive, + : positive,
+/- : weakly positive, - : negative,

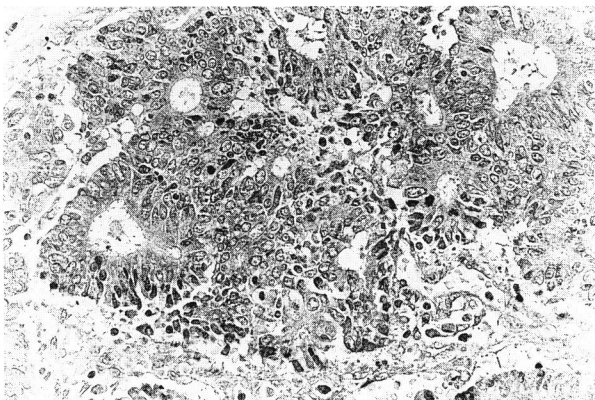


Fig. 12 Immunoperoxidase staining of adenocarcinoma tissue by MoAb TA 53. α TA was located largely on the surface of cancer cells ($\times 100$)

癌患者腹水中の癌細胞における α TA の局在を調べたものである。腺癌細胞はやはり膜性蛍光が認められたが、印環細胞癌細胞では細胞質にも蛍光がみられた。

また、胎児組織では16週、32週の胃、結腸ともに膜性蛍光が認められたが、その蛍光は32週の結腸に最も強く認められた。

また正常胃および大腸では腺上皮細胞の腺腔側に強く陽性反応がみられたが、基底および側壁膜にも明らかな陽性反応がみられた。

3・8・2 Rosette formation test

蛍光抗体法の所見より α TA が癌細胞の膜に存在する

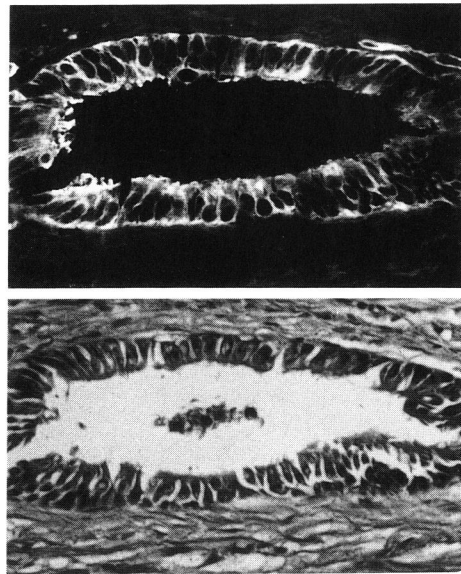


Fig. 13 Immunofluorescent and hematoxylin-eosin staining of moderately differentiated adenocarcinoma tissue of the colon in serial sections.

A membrane-associated immunofluorescence was detected on a section of colonic carcinoma tissue ($\times 230$).

ことが想定されたが、その再確認のため rosette formation test を行なった。Fig. 14-c は胃癌細胞周囲への SRBC 附着、つまり rosette 形成を示している。対照として用いた培養 B リンパ球 (Raji) では rosette は形成されなかった。このことより癌細胞における α TA の細胞膜局在が再確認された。

3・8・3 白血球との反応

さらに抗 α TA 抗体は顆粒球の細胞質にも弱い反応を呈し NCA の反応に類似の所見を示したが、モノクローナル抗体 TA53 は反応しなかった。

4 考 察

α TA は結腸癌組織およびその肝転移巣組織より抽出され、電気泳動的に α 位に移動し分子量 4 万の組織抗原であり、免疫化学的に、MO 法、IEP および CIEP のレベルでは、CEA, NCA¹⁹⁾, AFP, ferritin²⁰⁾, 正常血漿成分および妊娠関連抗原²²⁾, さらに RIA のレベルで TPA²³⁾ 等の腫瘍関連抗原とは交差反応性を示さなかった。また α TA と同様に結腸癌の PCA 可溶分画中に発見され、電気泳動的に α 位に移動することが明らかにされている von Kleist の MTA⁹⁾ と α TA の異同が注目される。MTA は電気泳動的移動度、分子量

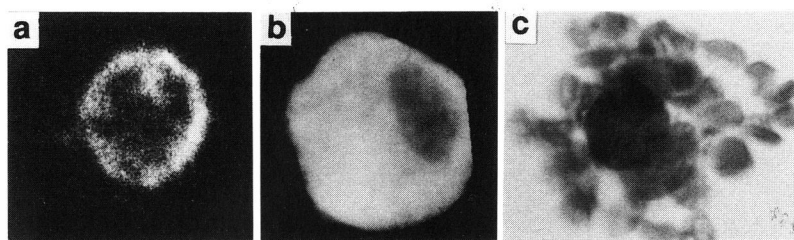


Fig. 14 Immunofluorescence and rosette formation of cancer cells obtained from ascites of gastric cancer patients. Free cancer cells showed a membrane-associated immunofluorescence for α TA (a), whereas cells from the signet ring cell cancer appeared to contain a cytoplasmic staining (b). Detection of α TA on gastric adenocarcinoma cells was confirmed using rosette formation test (c); First, carcinoma cells were reacted with A- α TA and then protein A-coated sheep red blood cells were used as an indicator.

(23,000~40,000), 膜性蛍光を示し, 癌胎児性であるなどの点で α TA と多くの類似点をもつが, 供与を受けた MTA は MO 法で抗 α TA と反応せず, また α TA は抗 MTA と反応しないことが試料の交換によりそれぞれの研究室において確かめられた. したがって, α TA は MTA と明らかに異なる抗原性をもつことが判明した. このことより結腸癌組織の PCA 可溶分画中には α 位に移動度を有する 2 つの相異なる抗原が存在することが証明された.

しかし MTA については未だ臨床応用成績, 化学組成分析等の報告がなく, これらが明らかになれば, その相異がさらに明瞭となろう.

Orjasaeter²⁴⁾ は結腸癌の PCA 可溶分画中に β 領域に移動する β_1 -protein, β_E -protein および α 領域に移動する α -protein を発見し, この α -protein を α_1 -antichymotrypsin と同定している. しかし α TA は α_1 -antichymotrypsin とは抗原性が異なっていた.

α TA は糖蛋白であり, そのアミノ酸成分としてはアスパラギン酸, グルタミン酸, ロイシン, リジン等が多く, 糖成分としては N-アセチルグルコサミン, シアル酸, ガラクトサミンが比較的多く含まれている. これらの成績を, 同じ PCA 可溶分画中に存在する CEA と比較すると, CEA の蛋白部分には不均一性はほとんどみられず, 諸家の報告^{21,25)} によると, アミノ酸組成はほぼ一定しており, アスパラギン酸, スレオニン, セリン, グルタミン酸が多く含まれている. グルタミン酸, アスパラギン酸の多いことは α TA に共通しているが, CEA に多く含まれているセリン, スレオニンは, α TA には比較的少ない.

一方, CEA の糖成分は不均一性が著しく, 報告者によって分析結果^{26,27)} が異なるが, 共通していることは

N-アセチルグルコサミンの含量が多く, N-アセチルガラクトサミンが極めて少ないか, これを欠くことである. この点に関しては α TA も同様であった.

つぎに血中 α TA 値について考察すると, 成人健康対照群での正常域は 200 ng/ml 以下と設定したが, 女性が高値を示す傾向があり, また, 女性では加齢に伴い α TA 値が高値を示す例がみられ, 80 歳代では全例が 100 ng/ml 以上である. 血清中の CEA が加齢に伴って上昇傾向を示すという報告もみられるが, 性差を示す報告はなく, α TA にみられたこの傾向の理由は不明であり, 今後検討する予定である. しかし疾患群における値にまで性差が反映する所見は認め難かった.

悪性腫瘍について血中 α TA 値を検討すると癌 124 例中 93 例 (75%), 血液腫瘍 38 例中 19 例 (50%) と陽性率が高く, 種々の悪性腫瘍に広く上昇が認められる.

結腸癌での陽性例は 29 例中 22 例 (75.9%) であり, CEA の陽性率よりむしろ高い値である. また 1,000 ng/ml を越える高値を示したものが 10 例 (34.5%) にみられる. 胃癌は 47 例中 35 例 (74.5%), 膵癌は 13 例中 11 例 (84.6%) が陽性であり CEA より高い陽性率を示した. また α TA は肺癌, 肝癌でも陽性率が高く, 癌の臓器別特異性は認められなかった. ただし α TA 値が 1,000 ng/ml 以上の高値を示す例は結腸癌, 胃癌など消化器癌に多いのが特徴的といえよう. 一方肝細胞癌では著しい高値を示す例は少なかった.

造血器腫瘍でも血中 α TA 値が, AML 16 例中 8 例 (50%), CML 5 例中 3 例で陽性で, 固型癌ほど高値を示す例はないが, 増悪期例は寛解期例に比べて高値を示した ($p < 0.05$). また悪性リンパ腫, 多発性骨髄腫でも陽性例がみとめられたが, 造血器腫瘍と癌を比較すると, 1,000 ng/ml 以上の高値を示すものは, 癌 124

例中 39 例 (31.5%), 造血管腫瘍 38 例中 2 例 (5.3%) であり癌が有意に陽性率が高かった ($p < 0.05$).

癌の進行度と血中 α TA レベルの関係を胃癌についてみると, stage の進行とともに増加する傾向を認め, stage IV は, 他の stage に比べて陽性率, 血中濃度ともに有意に高値を示した. これらのことは, α TA 高値は胃癌などの消化器癌で, しかも進行癌であることを示唆する成績である. しかし CEA と同様に, 早期癌の診断には有用とは言えなかった. また胃癌の組織型, Borrmann 分類別に調べた α TA 値はその間に差がみられず, 血中 α TA 値は癌の分化度, 胃癌の肉眼的な形態との関係は明らかでなかった.

また α TA と同時に CEA を測定し得た胃癌 38 例, 結腸癌 16 例については両者の間に相関は認められなかった. 従って CEA 陰性例において α TA の測定は補助診断的価値があるかもしれない. α TA, CEA とともに癌の進行とともに, その血中濃度が増加するが, CEA と α TA とでは増量しはじめる時期, 増量の度合が異なると思われる, また培養細胞を用いた別の実験から CEA, α TA の産生能も異なるものと考えられ, 別に報告の予定である.

手術前後における α TA の変動をみると, 結腸癌で術後 4 週において CEA が陰性化しても, α TA は低下が遅く陽性を維持しており, 術後モニターとしては CEA より鈍感で不適当と考えられた. しかし胃癌においては CEA の陽性率は高くないから α TA を経時的に測定することは補助診断的意義があると考えられる. また肝転移陽性例では α TA は高値を持続した. これらの点からモニタリングにおける意義についてはさらに経験例を増して検討したい.

非腫瘍性疾患では自己免疫疾患, 肝疾患でも α TA 値が 200 ng/ml 以上を呈する例がみられたが, 1,000 ng/ml を越えた例は潰瘍性大腸炎の 3 例のみであった. いずれも活動期の潰瘍性大腸炎例であり大腸粘膜の破壊, 再生と血中 α TA の増量との関連性が示唆され, 診断の指標になり得る可能性がある. この点は結腸癌術後において α TA の下降が遅いこととあわせて, 後述するように α TA が正常大腸上皮にも存在することと関連するものと推測される. また, 潰瘍性大腸炎で急性期に CEA が上昇するという報告²⁸⁾もあるが, 抗 CEA 血清の種類によっては α TA とも交差反応を示し, α TA をも測定している可能性も否定できないであろう.

次に, 免疫組織学的研究について考察する. 蛍光抗体法あるいは rosette formation test では α TA が腫瘍細胞の表面に多量に存在することが明らかにされた. von

Kleist *et al.*⁹⁾ は結腸癌を用いて腫瘍組織中の MTA の局在部位を蛍光抗体法で検索し, 腫瘍細胞の細胞質および細胞膜に蛍光を認めている. それと比較するため, 本研究では主として蛍光抗体法により検索した. その結果 α TA でも同様に細胞膜に強い蛍光がみられた. 一方胃癌の印環細胞癌では, α TA は細胞質にみとめられる. しかし α TA が intra-cellular membrane に存在するの否かは明らかではない.

正常の胃, 結腸組織にも, 粘膜の細胞膜に腺腔側のみならず基底・側壁側にも弱い陽性蛍光がみられる. MTA でも正常の結腸, 胃粘膜に蛍光がみられることより, α TA, MTA とともに正常組織成分であり腫瘍特異的ではない.

さらに胎児組織の胃, 結腸について α TA の局在を検討したが 16 週, 32 週齢の胃, 結腸ともに, 主に細胞膜に局在が認められた. すなわち α TA は CEA, MTA と同様胎児期に発現がみられる. しかしこの抗原を癌胎児性蛋白のグループに加えられるか否か, 今後の検討が必要であろう.

以上の免疫組織学所見をふまえて血中 α TA の増量機序を考えると, α TA は癌自体に由来するもの以外に, 非癌部消化管, 炎症あるいは再生のある消化管粘膜に由来する部分があるものと推測される. 肝細胞には α TA の存在を認めなかったため, 肝でこの抗原が合成され血中に出現するという血漿蛋白の場合と同様の機序は考え難い. また, 血中 NCA の動向については, 癌においてはあまり増量しないとされている点²⁹⁾, 血清 α TA の変動とは異なっていると考えられる. しかし α TA が造血管腫瘍とくに CML, AML で血中増量をきたす点は NCA に類似しており^{29,30)}, α TA も NCA と同様にその一部が顆粒球に由来するとの考えも否定し得ない. いずれにしても血中 α TA は癌特異的ではなく, その起源は多元的であろうと推測される.

次に α TA と, 文献的にこれまでに報告されているいくつかの抗原との異同について検討すると, 1977 年, Tatarinov and Kalashnikov が卵巣癌より抽出した embryonal prealbumin (EPA)^{31,32)} や, 1978 年, Pant *et al.*³³⁾ の colon specific antigen-P (CSAp) は電気泳動的にも分子量の上でも異なるし, これらのタンパクの血中あるいは組織内出現態度は α TA と異なっている. また, 分子量が α TA と類似する Das *et al.*³⁴⁾ の抗原は大腸に存在し, 潰瘍性大腸炎においてそれに対する血中抗体が出現することが知られているが, 大腸以外には存在しないとされている点で α TA と異なる.

本研究におけるウサギ抗 α TA 抗体による RIA 系に

において、20~1,000 ng/ml の測定域では NCA および CEA との交差反応は無視し得る程度であるが、4,000 ng/ml 程度の NCA では約 20% の抑制がみられ、ごく軽度ではあるが交差反応性を否定し得ない。そこで精製 α TA に対するモノクローナル抗体を数種作製し、ELISA により α TA と結合能の高い TA53 (IgM) を選出した。この抗体は結腸癌、胃癌、正常結腸、胃組織等との免疫組織学的反応は、ポリクローナル・ウサギ抗 α TA 抗体と類似しているが、顆粒球、単球とは全く反応しなかった。また、TA53 は結腸癌 BM 314 細胞の NP-40 抽出物の SDS-PAGE, Western blotting により 40,000 ダルトン分子と反応することが確認された。しかし、精製 α TA に対して作製した他の 2 種のモノクローナル抗体は NCA との交差反応を示した。これらの結果から、ウサギ抗 α TA 血清には白血球成分おそらくは NCA と反応する抗体が微量混在していることも推測されよう。いずれにしても、この成分とは反応しないモノクローナル抗体の作製に成功したので α TA 特異的な測定系が設定され得ると考えられる。この点については教室において検討中である。

また最近、Oikawa *et al.*³⁵⁾ Thompson *et al.*³⁶⁾ により CEA および NCA の gene cloning が行われ、それらの一次構造が決定され、CEA gene family に属する種々の抗原が明らかにされつつある。これらと α TA の関係について、とくに α TA が NCA と一部に共通抗原性を有する可能性も否定し得ないと考えられる。この点 α TA が一つの分子種であるか否か、CEA gene family に属するのかどうかについて今後さらに検討する必要があるものと考えられる。

結 論

結腸癌組織の PCA 可溶分画中に、CEA および NCA と電気泳動上異なり、 α -tissue antigen (α TA) と命名されている抗原について検討し、以下の成績を得た。

(1) α TA は電気泳動上 α 位に移動し、CEA, NCA, AFP, ferritin, TPA 等既知の腫瘍関連抗原および血漿成分とは異なる。また、von Kleist らより供与された MTA, 抗 MTA を用いて α TA と MTA との異同を検討したが、両者の抗原性は異なることを明らかにした。

(2) α TA の分子量は 4 万で、pI は pH 3.3~3.5 である。また抗原は糖成分を 11.5% に含む糖蛋白であり、アミノ酸組成としてはグルタミン酸、アスパラギン酸が多く、糖成分としては N-アセチルグルコサミン、シ

アル酸、ガラクトサミンが比較的多く含まれている。

(3) 血中 α TA の定量を RIA 法により行なった。正常対照 124 例中 200 ng/ml を越えるものは認められなかった。悪性腫瘍では 200 ng/ml 以上の例は癌 124 例中 93 例 (75%)、造血管腫瘍 38 例中 19 例 (50%) に認められた。特に癌は造血管腫瘍、非腫瘍性疾患に比べ陽性率が高く、1,000 ng/ml 以上の高値を示すものは癌 124 例中 39 例 (31.5%)、造血管腫瘍 38 例中 2 例 (5.3%) であり前者が有意に高かった。 α TA には臓器特異性は認められず、広く悪性腫瘍で出現するが、胃癌、結腸癌等の消化器癌に陽性率、血中レベルが高い傾向にあった。

(4) 癌の進行度と血中 α TA の関係では胃癌において、癌の進行とともに血中 α TA が増量する傾向を認めた。また、胃癌 38 例、結腸癌 16 例について血中 α TA 値と CEA 値の相関を検討したが、両者の間に相関は認められなかった。従って CEA 陰性例において α TA の陽性率が高く、補助診断的価値があるものと考えられた。

(5) 非腫瘍性疾患は 87 例のうち 38 例 (42.4%) が 200 ng/ml 以上であったが、1,000 ng/ml 以上の例は潰瘍性大腸炎 5 例中 3 例に認められ、 α TA 増量と組織粘膜の破壊、再生機転の関連性が示唆された。

(6) α TA を免疫組織学的に検討すると、 α TA は胃癌、結腸癌細胞膜に多量に存在した。ただし印環細胞癌の細胞質にも α TA が認められた。さらに正常胃・結腸上皮細胞の膜の全周に、また胎児組織では 16 週、32 週齢の胃、結腸ともに主として細胞膜での局在が認められた。また白血球 (顆粒球; 単球) の細胞質にも局在がみられた。

(7) α TA に対するモノクローナル抗体 TA53 (IgM) を作製した。これは白血球と交差反応のないエピトープを認識しており、より特異的な測定系を確立する手がかりが得られた。さらに本抗原の生物学的および臨床的意義が明らかにされるものと期待される。

謝 辞

御指導、御校閲いただいた谷内昭教授、今井浩三講師、杉山敏郎博士、北海道老年医学研究所川原田信博士、ならびに本抗原の糖およびアミノ酸分析を施行していただいた Dr. J. E. Shively および日野田裕治博士 (City of Hope 研究所, USA) および北海道大学薬学部生化学教室石井信一教授、また御協力いただいた諸先生に深謝いたします。

文 献

1. Tatarinov, Yu. S.: New data on embryospecific antigenic components found in the human blood serum. **Vopr. Med. Khim.** **10**, 584-589 (1964).
2. Gold, P. and Freedman, S. O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. **J. Exp. Med.** **121**, 439-462 (1965).
3. Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., Herlyn, M., Herlyn, D. and Fuhrer, P.: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. **Somatic Cell Genet.** **5**, 957-972 (1979).
4. Bast, R. C. Jr., Feeney, M., Lazarus, H., Nadler, L. M., Colvin, R. B. and Knapp, R. C.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. **J. Clin. Invest.** **68**, 1331-1337 (1981).
5. 川原田 信, 谷内 昭: Carcinoembryonic Antigen (CEA) の免疫化学的研究. **札幌医誌** **42**, 129-145 (1973).
6. Imai, K., Moriya, F., Fujita, H., Tsujisaki, M., Kawaharada, M. and Yachi, A.: Immunologic characterization and molecular profile of carcinoembryonic antigen detected by monoclonal antibodies. **J. Immunol.** **32**, 2992-2997 (1984).
7. 東出俊之: DNA のメチル化と遺伝子発現に関する研究—とくに癌胎児性蛋白遺伝子について— **札幌医誌** **55**, 79-91 (1986).
8. Yachi, A., Kawaharada, M., Akahonai, Y. and Imai, K.: Characterization of α -tissue antigen (α TA), a membrane glycoprotein of cancer cells. In: Peeters, H.: *Protides of the biological fluids 29th colloquium 1981*, 93-96, Pergamon press, Oxford and New York, (1982).
9. von Kleist, S., King, M. and Burtin, P.: Characterization of a normal tissular antigen extracted from human colonic tumors. **Immunochemistry** **11**, 249-253 (1974).
10. Avrameas, S. and Ternynck, T.: The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunoabsorbents. **Immunochemistry** **6**, 53-66 (1969).
11. Köhler, G. and Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. **Nature** **256**, 495-497 (1975).
12. 遠藤高夫, 今井浩三: ヒト肺腺癌細胞に対するモノクローナル抗体の作製と癌患者血清中抗原の検出, **札幌医誌** **54**, 393-410 (1985).
13. Spackman, D. H., Stein, W. H. and Moore, S.: Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acid. **Anal. Chem.** **30**, 1190-1206 (1958).
14. Valle, U. D. and Shively, J. E.: Two-column system for determination of glucosamine, galactosamin and amino acids on a Beckman 121MB amino acid analyzer: separation of the anomers of glucosamine and galactosamine. **Anal. Biochem.** **96**, 77-83 (1979).
15. Pritchard, D. G. and Todd, C. W.: Gas chromatography of methyl glycosides as their trimethylsilyl ethers: the methanolysis and re-N-acetylation steps. **J. Chromatogr.** **133**, 133-139 (1977).
16. Creighton, W. D., Lambert, P. H. and Miescher, P. A.: Detection of antibodies and soluble antigen-antibody complexes by precipitation with polyethylene glycol. **J. Immunol.** **111**, 1219-1227 (1973).
17. 杉山敏郎: ラット大腸上皮及び大腸癌細胞における膜抗原の分布に関する研究—モノクローナル抗体による解析— **札幌医誌** **54**, 393-410 (1985).
18. Imai, K. and Ferrone, S.: Indirect rosette microassay to characterize human melanoma-associated antigens recognized by operationally specific xenoantisera. **Cancer Res.** **40**, 2252-2256 (1980).
19. von Kleist, S., Chavanel, G. and Burtin, P.: Identification of an antigen from normal human tissue that crossreacts with the carcinoembryonic antigen. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **69**, 2492-2494 (1972).
20. Alpert, E., Coston, R. L. and Drysdale, J. W.: Carcino-foetal human liver ferritins. **Nature** **242**, 194-195 (1973).
21. Shively, J. E., Glassman, J. N. S., Engvall, E. and Todd, C. W.: Amino acid sequence of CEA and CEA related antigens. In: Lehmann, F. G.: *Carcino-embryonal Proteins. I*, 9-15, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York and Oxford (1979).
22. Bohn, H.: Placental and pregnancy proteins. In: Lehmann, F. G.: *Carcino-embryonal Proteins. I*, 289-299, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York and Oxford (1979).
23. Björklund, B. and Björklund, V.: Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cyto-immunological technique: Presence of an insoluble, heat-labile tumor antigen. **Int. Arch.**

- Allergy* **10**, 153-184 (1957).
24. Orjasaeter, H.: Study of substances related to carcinoembryonic antigens, CEA-NCA and association with α_1 -antichymotrypsin. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand. [C.]* **84**, 235-244 (1976).
 25. Banjo, C., Gold, P., Freedmann, S. O. and Krupey, J.: Immunologically active hetero-saccharides of carcinoembryonic antigen of human digestive system. *Nature [New Biol.]* **238**, 183-185 (1972).
 26. Westwood, J. H., Bessell, E. M., Bukhari, M. A., Thomas, P. and Walker, J. M.: Studies on the structure of the carcinoembryonic antigen-I. Some deductions on the basis of chemical degradations. *Immunochemistry*. **11**, 811-818 (1974).
 27. Krupey, J. Gold, P. and Freedman, S. O.: Physiological studies of the carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. Exp. Med.* **128**, 387-398 (1968).
 28. Moore, T. L., Kupchik, H. Z., Marcon, N. and Zamchek, N.: Carcinoembryonic antigen assay in cancer of the colon and pancreas and other digestive tract disorders. *Am. J. Dig. Dis.* **16**, 1-7(1971).
 29. von Kleist, S., Troupel, S., King, M. and Burtin, P.: A clinical comparison between non-specific cross-reacting antigen and CEA in patients' sera. *Br. J. Cancer* **35**, 875-880 (1977).
 30. Wahren, B., Gahrton, G. and Hammarström, S.: Nonspecific cross-reacting antigen in normal and leukemic myeloid cells and serum of leukemic patients. *Cancer Res.* **40**, 2039-2044 (1980).
 31. Tatarinov, Yu. S. and Kalashnikov, V. V.: New human embryonic antigen and its presence in some adenocarcinomas. *Nature* **265**, 638-639 (1977).
 32. Kalashnikov, V. V., Voloshchuk, S. G. and Tatarinov, Yu. S.: Quantitative immunoenzymic method of determination of embryonic prealbumin (EPA-1) in biological fluids. *Bull. Exp. Biol. Med.* **90**, 1623-1628 (1980).
 33. Pant, K. D., Dahlman, H. L. and Goldenberg, D. M.: Further characterization of CSAp, an antigen associated with gastrointestinal and ovarian tumors. *Cancer* **42**, 1626-1634 (1978).
 34. Das, K. M., Sakamaki, S., Vecchi, M. and Diamond, B.: The production and characterization of monoclonal antibodies to a human colonic antigen associated with ulcerative colitis: cellular localization of the antigen by using the monoclonal antibody. *J. Immunol.* **139**, 77-84 (1987).
 35. Oikawa, S., Nakazato, H. and Kosaki, G.: Primary structure of human carcinoembryonic antigen (CEA) deduced from cDNA sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **142**, 511-518 (1987).
 36. Thompson, J. A., Pande, H., Paxton, R. J., Shively L., Padma, A., Simmer, R. L., Todd, C. W., Riggs, A. D. and Shively, J. E.: Molecular cloning of a gene belonging to the carcinoembryonic antigen gene family and discussion of a domain model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 2965-2969 (1987).

別刷請求先:

札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学内科学第1講座 小林壮光