The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	腫瘍組織carcinoembryonic antigenと胎便および成人糞便における関連抗原の免疫化学的相違
Author(s)	栗山, 洋
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33446
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【15】

氏名・(本籍)	栗山　洋（くりやま　ひろし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　5744　号
学位授与の日付	昭和57年6月30日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**腫瘍組織 carcinoembryonic antigen と胎便および成人糞便における関連抗原の免疫化学的相違**
論文審査委員	(主査) 教授 神前　五郎 (副査) 教授 濱岡　利之　教授 田口　鐵男

論文内容の要旨

〔目　的〕

Carcinoembryonic antigen(CEA)は消化器癌の癌関連抗原として極めて重要な位置を占めるが，その同定は抗CEA血清を用いて免疫化学的に行なわれている。ところが抗CEA血清と交叉反応する抗原物質が正常組織成分にも認められ，中でも胎便中に発見されたNCA-2と，成人糞便に発見されたnormal fecal antigen (NFA)と，CEAとの異同が問題となっている。最近，黒木らはNFAの免疫化学的性状について報告したが，NCA-2に関しては今までほとんど検討がなされていない。

本研究は，胎便よりNCA-2を抽出・精製し，その免疫化学的性状を大腸癌CEAならびに糞便NFAと比較検討し，その相違を明らかにするとともに，化学組成についても検討を加えたものである。

〔方法ならびに成績〕

1）NCA-2の精製：プールした490gの新生児胎便を最終濃度0.6 M過塩素酸で抽出し,その可溶分画より，抗CEA血清と反応する成分を分離した。すなわちヤギ抗CEA血清から特異的に精製した抗CEA抗体を結合させたCNBr-activated Sepharose 4B を用意し，これにて吸着される分画を0.175 Mグリシン塩酸緩衝液，pH2.8 で溶出させた。この分画をさらにSepharose 6Bのゲル沪過にかけたが，抗CEAと反応する抗原は2つの分画に溶出された。　分子量の大きい分画を更にSepharose 6B 及びSephadex- G-200 カラムによって精製し，得られた抗原をBurtin らに従ってNCA-2と名づけた。分子量の小さい分画には，正常肺から得られるNCAと同じ胎便NCA のみが見出され，正常成人糞便に黒木らが見出したNFA-1及びNFCAに相当するCEA関連抗原は存在

しないことが明らかになった。

2）NCA-2の免疫化学的性状：①7.5 %SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動においてNCA-2標品は幅広い1本のバンドを示し，その泳動位置は大腸癌CEA標品，糞便NFA-2標品とほぼ同じで，分子量は16～17万と推定された。②免疫電気泳動においてNCA-2はβグロブリン領域に泳動され，胎便粗抽出液で免疫して得たウサギ抗血清と単一の沈降線を作った。③大腸癌のCEA標品，糞便のNFA-2．NFA-1標品，正常肺のNCA標品と胎便NCA-2標品の抗原性をゲル拡散法で比較検討した。まず通常の方法で作製したウサギ抗CEA血清との反応をみると，CEA, NCA-2，NFA-2はお互いにfuseする沈降線を作り，この抗血清では上記3抗原を区別することは出来なかった。 またNCAおよびNFA-1の沈降線との間には明らかなspur形成が見られ， CEAと同様NCA-2が NCA及びNFA-1と部分的に交叉反応を示すことが明らかになった。 次に， 大腸癌CEAとは反応するがNFA-2，NFA-1およびNCAとは反応しないCEAに特異的なモルモット抗血清を用いて検討した。NCA-2は CEA特異抗血清と全く反応せず，NCA-2と CEAは抗原的に大部分は同じであるが一部異なっていることが確かめられた。さらに糞便NFA-2標品で免疫し，大腸癌CEA標品で吸収したNFA-2に特異的なウサギ血清では，NFA-2とのみ反応がみられ,NCA-2はCEAと同様に反応がなかった。従って，NCA-2はNFA-2とも抗原的に一部異なることが明らかになった。④ウサギ抗NCA-2血清とCEA, NCA-2，NFA-2の反応では，3者に対しfuseする1本の沈降線が得られ，抗血清をCEA標品で吸収することにより，NCA-2に対する反応も消失した。従って，NCA-2に特異な抗原決定基の存在は本研究では認められなかった。⑤松岡らはNFA-2標品をプロナーゼEで処理し，NFA-2をNFA-1とNFCAに相当するフラグメントに分割したが，NCA-2はプロナーゼEの処理に抵抗性を示し，抗原の分割は起こらなかった。⑥精製NCA-2標品がわずかながらNFA-2特異的抗体と反応を示すので，その本体を検索した。NFA-2とのみ反応する特異抗血清より特異的に抗体を清製し， これをCNBr-activated Sepharose 4Bに結合したアフィニティカラムを作成した。このカラムにNCA-2標品をapply したところ，NCA-2標品の20%が抗NFA-2血清と結合し，残りの80%はそのまま溶出した。従って，NCA-2標品の中にもわずかながらNFA-2と免疫学的に差のない成分が存在するものと考えられる。

3）NCA-2の化学組成：NCA-2のアミノ酸組成はAutoanalyzer により，糖組成は松井，田村の方法により，またシアル酸はWarren の方法により，それぞれ測定した。NCA-2はCEA, NFA-2と類似の化学組成を示し，アミノ酸ではAsp. とGlu. が多く含まれ，Met. に乏しい。また，N-acetyl glucosamine が多く含まれ，N-acetyl galactosamine に乏しい。糖と蛋白の重量比は53対47であった。

〔総　　括〕

胎便よりCEA関連抗原を精製した。胎便にはNCA-2とNCAの2つのCEA関連抗原があり糞便と異なりNFA-1，NFCAの存在は認められなかった。胎便NCA-2は分子量，電気泳動度，化学組成のいずれにおいても，大腸癌CEAおよび糞便NFA-2に近似するが，CEA特異抗原決定基を欠き，またNCA-2の大部分はNFA-2特異抗原決定基を欠いている。従って，NCA-2は一つの独

立した抗原分子として取扱われるべきものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

成人糞便や新生児胎便には大腸癌組織の carcinoembryonic antigen (CEA) と極めて類似した抗原物質が存在し，それぞれNFA-2 (糞便)，NCA-2 (胎便) と名付けられている。

本研究は，胎便から抽出・分離したNCA-2を，CEA, NFA-2と比較検討し，NCA-2にはCEAの特異抗原決定基も，またNFA-2の特異抗原決定基も検出されないことから，NCA-2は CEAおよびNFA-2と異なる抗原物質であると結論した。この知見は，CEAの病理学的意義を考える上で重要であると評価する。