The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	胃粘液抗原の精製とその物理化学的性状
Author(s)	井口, 正男
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33973
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

【2】

氏名・（本籍）	井口正男（いぐち まさお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6382 号
学位授与の日付	昭和59年3月24日
学位授与の要件	医学研究科 外科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**胃粘液抗原の精製とその物理化学的性状**
論文審査委員	（主査） 教授 森 武貞 （副査） 教授 倉智 敬一 教授 宮井 潔

論文内容の要旨

（目　的）

私たちの研究室では1972年以来，carcinoembryonic antigen（CEA）の研究を続けているが，その研究過程において，正常消化管組織では胃粘液にのみ存在する抗原物質を見出し，これを胃粘液抗原（gastric mucus antigen；GMA）と名づけた。その後，胎児組織および胃癌・大腸癌とその関連病変を対象とした免疫組織学的検索により，GMAは成人の正常大腸粘液中には存在しないが，胎児腸および大腸癌・大腸腺腫の粘液中には高率に出現する，有用な腫瘍マーカーであることが明らかとなった。また，GMAは卵巣嚢腫粘液中に豊富に含まれている。本研究はこれを受けて，まず卵巣嚢腫粘液から分画したGMA粗標品に対する家兎抗血清に吸収操作を加え，抗GMA特異抗血清を作製し，次いでそれを用いた免疫吸着法によりGMAを精製し，その物理化学的性状を検討したものである。

（実験方法と成績）

1. 抗GMA特異抗血清の作製

卵巣嚢腫粘液から1.0M過塩素酸に可溶の分画をとり，セファローズ6Bによるゲル濾過にて得られたvoid分画を免疫原として，家兎抗血清を作製した。得られた抗血清を正常ヒト血清，正常大腸粘膜抽出液の免疫吸着体で十分に吸収すると，ゲル拡散法で卵巣嚢腫粘液と胃粘膜抽出液に対して単一の沈降線を形成し，かつidenticalに反応する抗血清が得られた。

2. GMAの組織学的局在

この抗血清の特異性を，さらに酵素抗体法（PAP法）にて免疫組織学的に検討したところ，ヒト消化管の非癌組織においては，胃粘膜（表層および腺窩上皮）とのみ特異的に反応し，大腸，小腸と

は全く反応しないことが確認された。一方，消化管癌関連組織では，大腸癌とその周辺粘膜や大腸腺腫に高率にGMAが検出された。

3. GMAの分離と精製

上記抗GMA抗血清から硫安塩析（40％飽和）でγ－グロブリン分画をとり，CNBr活性化セファローズ4Bに固定化して抗GMA γ－グロブリン・カラムを作成した。卵巣嚢腫粘液の1.0M過塩素酸抽出液を抗GMA γ－グロブリン・カラムに添加し，吸着部分を0.2Mグリシン塩酸緩衝液，pH 2.3にて溶出，蒸留水にて透析後，凍結乾燥を行った。この分画には，なおわずかなヒト血清成分の夾雑を認めたので本分画を抗ヒト血清γ－グロブリン・カラムに添加し，その非吸着部分を集め，透析後，凍結乾燥を行い，精製GMA標品を得た。精製GMAは免疫電気泳動法にて，原点よりα_2－β領域に拡がる一本のarcを形成し，7％ポリアクリルアミドゲル電気泳動法では陽極側に幅のやや広い単一バンドを認めた。本方法によるGMAの精製倍率は142倍で，その収率は3％であった。

4. GMAの物理化学的性状

中性糖，ヘキソサミン，シアル酸の定性および定量は，methanolysisによりメチル配糖体としたのち，ガスクロマトグラフィーにて分析した。GMAの糖含量は55％で，フコース，ガラクトース，グルコサミン，ガラクトサミン，シアル酸を含み，マンノースを欠いていた。またアミノ酸分析の結果では，GMAの蛋白含量は45％で，そのアミノ酸組成ではセリン，スレオニンが豊富で，芳香族アミノ酸（トリプトファン，チロシン，フェニールアラニン），含硫アミノ酸（メチオニン，システイン）に乏しかった。これらの化学組成の特徴からGMAはO－グリコシド型の糖蛋白と考えられた。一方，ロジゾン酸法にて硫酸基の測定を行ったが，硫酸基の存在を認めなかった。

GMAの検出，定量には抗GMA抗血清を4％に含む1％アガロースのsingle radial immunodiffusion法を用い，GMAの分子量および等電点を検討した。GMAはセファローズ6Bによるゲル濾過で，分子量20万からvoid分画まで連続して幅広く検出され，分子量45万と135万に相当する位置にピークを認めた。またpH 3～10の範囲で等電点電気泳動を行った結果，GMAはpI値3.0以下，4.0～5.0および6.2にピークを認めた。これら分子ふるい及び等電点分離により分かれたすべてのGMA分画は，ゲル拡散法にて抗GMA抗血清とidenticalに反応し，GMAの多分散性が証明された。

（総　括）

1. 抗GMA特異抗血清を作製し，免疫吸着法により，卵巣嚢腫粘液からGMAを単離，精製し，その物理化学的性状を明らかにした。
2. GMAは糖55％，蛋白45％よりなる糖蛋白で，糖部分ではガラクトサミンを含み，マンノースを欠き，アミノ酸ではセリン，スレオニンが豊富であって，糖鎖とペプチド鎖の結合はO－グリコシド型と考えられた。
3. GMAは免疫化学的には単一の抗原物質であるが，分子量及び等電点において多分散性を示した。
4. 抗GMA抗血清を用いてGMAの組織学的分布を調べた結果，成人正常組織では胃粘膜のみに存在し，病的組織では大腸癌，大腸腺腫に高率に検出された。

論文の審査結果の要旨

卵巣嚢腫と胃粘液に共通した抗原物質が存在することは以前より知られていたが，単一の抗原物質として分離，精製されるには至らなかった。本研究は，正常消化管組織においては胃粘液のみに特異的に存在する抗原物質（gastric mucus antigen，GMAと命名）を卵巣嚢腫粘液より分離，精製し，その物理化学的性状を明らかにしたものである。GMAは正常腸組織には存在しないが，大腸癌，大腸腺腫の粘液中には高率に検出され，腸上皮の新らしい腫瘍マーカーとして臨床的にも高く評価される。