

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	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33973">http://hdl.handle.net/11094/33973</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

## 【2】

氏名・(本籍)	井 口 正 男
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 3 8 2 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 年以來, 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 は卵巣囊腫粘液中に豊富に含まれている。本研究はこれを受けて, まず卵巣囊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

卵巣囊腫粘液から 1.0 M 過塩素酸に可溶の分画をとり, セファロース 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, ゲル拡散法で卵巣囊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 抗血清から硫酸塩析（40% 飽和）で  $\gamma$ -グロブリン分画をとり、CNBr 活性化セファロース 4B に固定化して抗 GMA  $\gamma$ -グロブリン・カラムを作成した。卵巣嚢腫粘液の 1.0 M 過塩素酸抽出液を抗 GMA  $\gamma$ -グロブリン・カラムに添加し、吸着部分を 0.2 M 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  $\gamma$ -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  $\alpha_2$ - $\beta$  領域に広がる一本の 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 はセファロース 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。