



Title	酵素免疫測定法による血中carcinoembryonic antigen (CEA) 免疫複合体の測定
Author(s)	富永, 修盛
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35266">https://hdl.handle.net/11094/35266</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	富永修盛
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7681 号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 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	酵素免疫測定法による血中 carcinoembryonic antigen (CEA) 免疫複合体の測定
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 宮井 潔

### 論文内容の要旨

#### [目的]

進行・再発大腸癌でありながら血清中の carcinoembryonic antigen (CEA) 値の上昇しない症例に遭遇することがあり、その原因の一つとして抗 CEA 自己抗体の產生にもとづく CEA 免疫複合体 (CEA-IC) が挙げられる。当教室では、CEA-IC の糸球体沈着による高度ネフローゼ症候群を伴った胃癌患者 2 例を発見し、CEA 陽性胃癌の切除によりネフローゼ症候群をも治癒せしめることに成功した。本研究は CEA-IC 測定のルーチン化を目的として、当教室で作製したモノクローナル抗 CEA 特異抗体を用いた酵素免疫測定法によって大腸癌患者血清中の CEA-IC の検出を試み、その測定意義を検討するとともに、CEA-IC の物理化学的性状についても若干の検討を加えた。

#### [方法ならびに成績]

健常人 28 名 [1 群] と初発大腸癌患者 17 名 [2 群] および転移または再発大腸癌患者 19 名 [3 群] の血清を検索の対象とした。CEA-IC の酵素免疫測定法には当教室で作製した、NCA、NCA-2 と交叉反応しないモノクローナル抗 CEA 抗体を使用し、これを硫安塩析、プロテイン A による精製の後、96 穴マイクロプレートに固相化した。10% 胎児ウシ血清によるブロッキングの後、段階的に希釈された被験血清と 37°C において 3 時間反応させ、洗浄後、ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト免疫グロブリン抗体と 37°C において 1 時間反応させた。発色は orthophenylenediamine、過酸化水素水を含むクエン酸リシン酸緩衝液をプレートに加え、10 分間室温にて反応させ、硫酸にて反応を停止した後、波長 492 nm における吸光度を測定した。また、高い CEA-IC 活性を示した胃癌患者の胸水の 10 倍希釈液を標準標品として用い、暫定的に 10 unit/ml (U/ml) として表現した。

この測定法でのCEA-IC活性の定量性を検討するため、胃癌患者胸水に対して希釈操作を行った結果、吸光度と希釈倍率の間に直線性が認められた。さらに、この胸水中に存在する量と等しい量のCEA、ヒト免疫グロブリンGを別々にnegative controlとして測定した結果、検出されなかった。またこの検体の2.5%ポリエチレングリコール沈澱により、その可溶性分画におけるCEA-IC活性の著明な低下を認め、免疫複合体であることが裏付けられた。

前述の方法で測定された健常者と大腸癌患者の血清中CEA-IC値(U/ml)の平均値±標準偏差はそれぞれ1群 $4.17 \pm 1.66$ U/ml, 2群 $2.68 \pm 3.27$ U/ml, 3群 $17.18 \pm 20.74$ U/mlであった。1群から得られたCEA-IC値の平均値に3 S.D.を加えた値(9.15U/ml)を正常値上限と設定した場合、各群における陽性率は1群0%, 2群11.8%そして3群52.6%と、3群においてCEA-IC高値の症例が多く認められた。

さらに、大腸癌患者血清におけるCEA-IC値とCEA値の相関を検討した結果、両者の間に相関は認められなかつたが、CEA値が低値にもかかわらずCEA-IC値が高い例が3例認められ、進行・再発大腸癌患者でありながら血清CEAが低値の症例ではCEA-ICの同時測定が必要であると考えられた。

また、CEA-IC単離の目的で、高いCEA-IC活性を示す胃癌患者腹水を硫酸アセト酸後その不溶分画に2.5%ポリエチレングリコールを用いた沈澱操作を行った。さらにその不溶分画を溶解後、セファクリルS-300にてゲル通過を行い、この各分画を前述のCEA-IC測定法にて検索した。CEA-IC活性の大部分はボイド容とサイログロブリン(分子量669,000)の間に検出されたが、その分画にはCEA活性は検出されなかつた。CEA-IC活性のピークに相当する分画を濃縮してグラジェントゲルPAA4/30を用いた電気泳動を行った後、Towbinらの方法に準じてWestern blottingを行い、ニトロセルロース膜上に転写した。さらにこの膜をウシ血清アルブミンを用いてブロッキングの後、ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト免疫グロブリンG抗体を介した免疫染色を施行した。その結果、CEA-ICは分子量44万以上の高分子領域にブロードなバンドとして検出され、heterogeneousな分子種と考えられた。

#### [総括]

1. 血清CEA-ICの測定系を確立した。
2. 血清CEA-ICは進行・再発大腸癌患者の52.6%において有意に高い値を示し、そのうち3例においては血清CEA値が正常域にとどまっていた。
3. CEA-ICはheterogeneousで、体液中では分子量44万以上の高分子として存在した。

#### 論文の審査結果の要旨

本研究は、モノクローナル抗CEA特異抗体を固相に用いた酵素免疫測定法によって、安定したCEA-IC測定法を確立し、大腸癌患者血清中のCEA-ICの検出を行うと同時に、CEA-ICの物

理化学的性状について検討を加えたものである。

CEA-IC高値の胃癌患者胸水を標準標品として、健常者28例と大腸癌患者36例の血清CEA-IC値を測定したところ、転移のある初発大腸癌または再発大腸癌患者の52.6%において有意に高い値が得られた。また、CEA値が正常域にもかかわらず、高いCEA-IC値を示した例が大腸癌患者3例に認められ、進行・再発大腸癌患者でありながら血清CEAが低値の症例ではCEA-ICの同時測定が必要であることが示された。

また、免疫化学的検索により、CEA-ICは分子量44万以上のheterogeneousな分子種であることが示された。

これらの新しい発見は臨床上高く評価され、学位に値するものと考える。