Osaka University Knowledge Archive

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	https://hdl.handle.net/11094/35266
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【42】

氏名・(本籍)	富永修盛（とみながしゅうせい）
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自己抗体の産生にもとずく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℃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℃において1時間反応させた。発色はorthophenylene diamine，過酸化水素水を含むクエン酸リ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492nm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10unit／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しめされた。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±1.66Ｕ／ml，２群2.68±3.27Ｕ／ml，３群17.18±20.74Ｕ／mlであった。１群から得られたＣＥＡ－ＩＣ値の平均値に３Ｓ.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ったが，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安塩析後その不溶分画に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にてゲル濾過を行い，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った。ＣＥＡ－ＩＣ活性のピークに相当する分画を濃縮してグラジエントゲル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。さらにこの腹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，学位に価するものと考える。