



Title	膀胱癌関連抗原の精製とその性状
Author(s)	古川, 順康
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35672
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

氏名・（本籍）	ふる古	かわ川	じゅん順	こう康
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8001	号	
学位授与の日付	昭	和	63年3月1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	膵癌関連抗原の精製とその性状			
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞			
	(副査) 教授 谷口 直之 教授 鎌田 武信			

論文内容の要旨

〔目 的〕

私たちの研究室では膵癌患者腹水より精製した膵癌関連抗原（Pancreas cancer-associated antigen, PCAA）をはじめとした腫瘍マーカーの研究を続けているが、一方、膵特異抗原（PaA, LooR）のように正常膵組織抗原でありながら膵癌のマーカーとして有用なものの存在が知られている。本研究は、その事実をふまえ、正常膵組織に対する抗血清と反応する膵癌産生性の糖蛋白抗原をあらたに精製しその性状と有用性を検討したものである。

〔方法ならびに成績〕

1. 抗血清の精製とその特異性

まず正常膵組織をリン酸緩衝液（PBS）にて抽出し、40-60%硫酸塩析をおこない、その粗分画にて家兎を免疫し、正常膵に対する抗血清を作製した。この抗正常膵抗血清は正常ヒト血清、肝及び大腸粘膜抽出液にて吸収を行うと、ゲル拡散法にて正常膵と膵癌組織抽出液との両方に反応を示した。しかし、その抗体価は弱く、抗原物質の精製は不可能であった。そこで膵癌組織に対する抗血清を作製した。膵癌組織の粗分画の作製には、抗正常膵抗血清を指標として用いた。膵癌組織をPBS抽出し、40-60%硫酸塩析後、DEAE-Sephacelを用いたイオン交換クロマトグラフィーをおこない、その非結合分画に抗原物質は存在した。この分画を用いて家兎を免疫し、抗膵癌抗血清を作製し、不溶化したヒト血清及び肝抽出液にて抗血清の吸収を行った。この抗血清は膵癌組織に対し抗正常膵抗血清と融合する一本の沈降線を形成した。またロケット免疫電気泳動法にて膵癌ならびに脾抽出液とは反応がみられたが、膵液、正常ヒト血清及び、正常膵、肺、肝、大腸、小腸の各抽出液とは反応しなかった。また膵癌組織と

脾抽出液とは融合する一本の沈降線を形成した。

2. 脾癌関連抗原 (PCRA) の精製とその性状

脾癌肝転移巣を出発材料とし、抗脾癌抗血清を用いたロケット免疫電気泳動法を指標として精製を行った。まず、PBS抽出し、40-60%硫酸塩析ののち、Sephrose-6Bにてゲル濾過を行い、Affi-Gel Blueのアフィニティ・クロマトグラフィーを行い吸着成分を分画し、抗アルブミン抗血清と抗ヒト全血清抗血清を吸着させたアフィニティ・クロマトグラフィーにて非吸着成分を分離し精製を行った。精製標品はポリアクリルアミド・ディスク・ゲル電気泳動法にて単一のbandを示した。

PCRAの性状は以下のごとくである。

- 1) 免疫電気泳動にて α_2 - β 領域に泳動され、ゲル濾過にて50万の分子量を持ち、また4/30 ポリアクリルアミド・グラジエント・ゲル電気泳動法にては45万の分子量であった。
- 2) 化学組成は約70%の蛋白と30%の糖を含む物質であり、7.8%のhexosamineと21.7%のhexoseを含んでいた。アミノ酸では、グルタミン酸、グリシン、アラニンを多く含むが、スレオニン、シスチン、メチオニンを欠く物質であった。

3. 既知の脾腫瘍マーカーとの比較

癌胎児性抗原 (CEA)、トランスフェリン、フェリチンとはゲル拡散法にて異なる物質であり、当教室の島野らが報告した脾癌関連抗原 (PCAA) ともゲル拡散法にて明らかに異なっていた。Loorらの脾特異抗原 (PaA) とも、あるいはCA19-9, Dupan 2等の糖鎖抗原とも、その性状において明らかな相違がみられた。

4. 酵素抗体法による検討

この抗血清を用いて酵素抗体法 (PAP法) にて脾癌ならびに正常脾組織を検索した。16例の脾癌組織中14例に陽性所見が認められた。高分化腺癌では腺腔面、腺腔内容物に低分化腺癌では細胞質に認められた。正常脾では導管上皮が染色され、また顆粒球細胞にも陽性所見が得られた。

5. 臨床応用への試み

この抗血清を用いて血清診断の可能性を検討した。脾癌患者血清、脾炎患者血清、各種良性炎症性患者血清ならびに正常人血清を用いDot-blotting法にて検索を行った。脾癌患者18例中16例と高率に反応するのに対し、脾炎患者6例中1例に、良性炎症性疾患25例中8例にのみ弱く反応し、正常人27例では反応がみられなかった。

[総括]

正常脾組織と脾癌組織に共通に存在する抗原物質 (PCRA) を精製し、その性状を検討するとともにその臨床応用の可能性を検討した結果、以下の成績を得た。

1. PCRAは免疫電気泳動法にて α_2 - β 領域に泳動される分子量は約50万で、30%の糖と70%の蛋白からなる糖蛋白質であった。
2. PCRAはCEA, CA19-9, Dupan 2, PCAA, PaA等既知の脾腫瘍マーカーとは異なる物質であった。
3. 免疫組織学的検索でPCRAは正常脾導管細胞と、脾癌細胞に認められた。

4. PCRAは膵癌患者血清中に高率に認められ、正常人、良性炎症性疾患患者、膵炎患者血清中では低率であり、新しい膵腫瘍マーカーとして有用であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究は、膵癌の血清学的診断に有用な膵組織抗原（膵癌関連抗原，PCRAと略す）を分離し、その生化学的性状を明らかにしたものである。膵癌肝転移より抽出、分離されたPCRAは30%の糖を含む分子量約50万の糖蛋白で、その化学組成よりNグリコシド型（血清型）の糖鎖結合をもつものと推定された。抗PCRA抗血清を用いた免疫組織学的検索では、正常膵導管細胞と膵癌細胞に強い反応が認められ、またdot blottingでの検索では膵癌患者血清に高率（16/18例）に検出された。

PCRAは既知の腫瘍マーカーとは異なる新しい膵癌マーカーであることが確かめられており、学位に値するものとする。