



Title	大腸粘膜より抽出した膀胱癌関連抗原に対する monoclonal 抗体の作製およびその解析
Author(s)	龍田, 眞行
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35708
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)	たつ 龍	た 田	まさ 眞	ゆき 行
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7506	号	
学位授与の日付	昭	和	62年1月7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	大腸粘膜より抽出した膵癌関連抗原に対する monoclonal 抗体の 作製およびその解析			
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〕

膵癌の新しい血清学的診断法として、いくつかの膵腫瘍マーカーの臨床応用が試みられている。膵癌関連抗原 pancreas cancer-associated antigen (P C A A) は、膵癌患者腹水より分離・精製された分子量約100万の糖蛋白で、精製 P C A A に対する家兎抗血清は、Gelder らの pancreatic oncofetal antigen (P O A) に対する山羊抗血清と identical に反応する。また、家兎抗 P C A A 抗血清を用いた enzyme immunoassay による血清 P C A A 値の測定では、膵癌患者の約67%に高値を示す。一方、免疫組織学的検索で、P C A A は膵癌細胞以外に、腸粘膜の杯細胞など多くの粘液腺に存在することが判明し、このことから正常大腸粘膜より P C A A 様物質 (P C A A c) が抽出・精製され、その物理化学的性状も明らかにされている。本研究は、これらの知見にもとずき、P C A A と P C A A c との抗原性の異同を明らかにすることを目的として、P C A A c に対する monoclonal 抗体を作製し、その解析および膵癌の血清学的診断への応用を試みたものである。

〔方法ならびに成績〕

1. Monoclonal 抗 P C A A c 抗体の作製

精製 P C A A c 10 μ g で、雄 B A L B / c マウスを等量の Freund's complete adjuvant とともに腹腔内に免疫し、30日後さらに 50 μ g を booster shot して3日後に摘脾し、その脾細胞 10⁸ 個と、P 3 - N S 1 / 1 - A g 4 マウス骨髓腫細胞 10⁷ 個とを、polyethylene glycol 4000 存在下で細胞融合を行った。Screening および cloning を繰り返した後、抗 P C A A c 活性を有する 5 種類の hybridoma cell line を確立し、これらを pristan 処理した B A L B / c マウスに移植して、腹水化された monoclonal

抗体を採取した。Micro-Ouchterlony法で、家兎抗P C A A c抗血清とP C A Aとの形成する沈降線に一致して、標識したmonoclonal抗体が局在することを、autoradiographyによって確認した。

2. Monoclonal抗体による免疫組織学的検索

Monoclonal抗P C A A c抗体を用いて、種々の正常および癌組織（95% ethanol固定，paraffin包埋切片）を，avidin-biotin-peroxidase complex法により酵素抗体染色にて検討した。その結果，いずれのmonoclonal抗体も家兎抗P C A A c抗血清と同様，正常膵組織とは全く反応せず，十二指腸より大腸管の杯細胞には強い反応を示した。他の正常組織，すなわち胃（腺窩上皮），十二指腸（Brunner腺），肝（肝内胆管），乳腺（導管），および胎児膵（導管）に対しては，各monoclonal抗体のlot毎に，反応の相違を認めた。

癌組織に対する検索は，家兎抗P C A A c抗血清で陽性反応を示したものについて行った。5種類のmonoclonal抗体は，膵癌，肝細胞癌と比較的強く反応を示すタイプと，胃癌，大腸癌との反応が強いタイプ，および癌との反応が概して弱いタイプとに亜分類された。

3. P C A AとP C A A cとの抗原性の異同

先の検索で，特異性が異なると判断された2種類のmonoclonal抗体（A17-5，7-13）を用いてP C A AとP C A A cとの抗原性の異同について検討した。すなわち家兎P C A A c抗血清をcatcher抗体としてbeadsに固相化し，tracer抗体には¹²⁵Iで標識したA17-5あるいは7-13を使用してsandwich radioimmunoassay（R I A）を組み，両者の系におけるP C A AとP C A A cとの反応性の相違を希釈曲線の上から比較した。Monoclonal抗体A17-5を使用した系ではP C A AとP C A A cは同様の反応を示したのに対して，7-13の系ではP C A A cのみが反応を示した。

4. Monoclonal抗P C A A c抗体の臨床的意義

家兎抗P C A A c抗血清をcatcher抗体とし，tracer抗体にはP C A A，P C A A cの両者を認識するmonoclonal抗体A17-5を使用したR I Aで，健常人および各種疾患患者の血清P C A A c値を測定した。健常人40例の平均値（13.9 μ g/ml）+ 2標準偏差値，すなわち22.3 μ g/mlをcut-off値とすると，膵癌では75%（64/84例）において陽性を示し，他の消化器癌では14~51%が陽性となった。膵癌特異性を向上させる目的で，catcher抗体を家兎抗P C A A cから抗P C A A抗血清に変更し，測定値におよぼす影響を検討した。膵癌症例では測定値は変動せず，膵癌以外の症例では測定値が有意に低下し，P C A Aの測定系としてspecificityの向上が期待できた。

〔総括〕

1. 大腸粘膜より抽出した膵癌関連抗原（P C A A c）に対する5種類のmonoclonal抗体を作製した。
2. 免疫組織学的に検索したところ，これらのmonoclonal抗体はいずれも正常膵とは反応せず，消化管の杯細胞と反応した。他の正常組織および膵癌を含む癌組織においては抗体のlot毎に反応の相違を認め，P C A A cのmicro-heterogeneityが示唆された。
3. P C A AとP C A A cの抗原性の異同が，sandwich R I Aによって明らかにされた。すなわち，P C A A cの分子上にはP C A Aにない抗原決定基が存在し，両者に共通する抗原決定基を認識するmonoclonal抗体が得られた。

4. Monoclonal抗PCAAc抗体を用いたRIAで、健常人および各種疾患患者の血清PCAAc値を測定したところ、PCAAcは膵癌患者の75%に高値を示し、膵癌の血清学的補助診断法として有用であった。
5. 今後、膵癌特異性の高いmonoclonal抗体を利用することにより、さらに膵癌診断能の高いPCAA測定RIA系を開発し得る可能性が示された。

論文の審査結果の要旨

本論文は、PCAA（膵癌患者腹水より精製した膵癌関連抗原）と、PCAAc（正常大腸粘膜より精製したPCAA様物質）との抗原性の異同を明らかにすることを目的として、PCAAcに対するmonoclonal抗体を作製し、その解析および血清学的診断への応用を試みたものである。

具体的には、これらの抗体を用いた免疫組織学的な検索と、sandwich radioimmunoassayによる検討がなされている。

また、他の膵腫瘍マーカーに対する比較・検討も十分に考察されており、さらに臨床的には膵癌診断を向上させる工夫もなされ、優れた研究論文である。