



Title	The Partial Characterization and Clinical Evaluation of Pancreas Cancer-associated Antigen (PCAAP) from the Ascites Fluid of a Patient with Pancreatic Cancer
Author(s)	齋藤, 眞文
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37685
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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)	^{さい} 齋	^{とう} 藤	^ま 真	^{あみ} 文
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 8 1 9		号
学位授与の日付	平 成 3 年 6 月 3 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学 位 論 文 名	The Partial Characterization and Clinical Evaluation of Pancreas Cancer-associated Antigen (PCAAp) from the Ascites Fluid of a Patient with Pancreatic Cancer (膵癌患者腹水より精製した膵癌関連抗原 PCAAp の解析とその臨床的意義)			
論 文 審 査 委 員	(主査)			
	教 授	森	武貞	
	(副査)			
	教 授	鎌田	武信	教 授 谷口 直之

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 (PCAAp) 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、polyclonal 抗体での解析では、Gelder らの pancreatic oncofetal antigen (POA) と免疫学的に同一であることが確認され、免疫組織学的検索において膵癌細胞以外に、正常組織では消化管の杯細胞など多くの粘液腺に存在することが判明している。また、正常大腸粘膜より抽出・精製された PCAAp 様物質 (PCAAc) に対する monoclonal 抗体も作製され、その抗体を用いた測定系では膵癌での陽性率は高いものの肝硬変等の良性疾患においても陽性例がかなり存在することが確かめられている。本研究は、膵癌に特異性の高い血清学的診断法を開発することを目的として、膵癌患者腹水から抽出・分離された PCAAp に対する monoclonal 抗体を作製し、その膵癌特異性を検討するとともに monoclonal 抗体を用いた測定系による膵癌スクリーニング法の確立、さらには膵癌治療への応用を試みたものである。

〔方法ならびに成績〕

1. Monoclonal 抗 PCAAp 抗体の作製

精製 PCAAp 10 μ g で、雄 BALB/c マウスを等量の Freund's complete adjuvant とともに腹腔内に免疫し、さらに booster shot して 3 日後に摘脾し、その脾細胞 10^8 個と、P3-NS 1/1-Ag 4 マウス骨髓腫細胞 10^7 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、免疫組織学的に膵癌と強く反応するが、正常大腸粘膜とは反応しない 2

種類の hybridoma cell line を選別し, monoclonal 抗体 3B6 と 3F1 を作製・樹立した。

2. Monoclonal 抗体の解析

Monoclonal 抗 PCAAc 抗体 (A17-5), 2 種類の monoclonal 抗 PCAAp 抗体 (3B6, および 3F1) を用いて, 種々の正常および癌組織 (95% ethanol 固定, paraffin 包埋切片) を対象として, Avidin-biotin 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 抗体も正常脾組織とは全く反応せず, 脾癌に強い反応性を示した。胃癌, 大腸癌においては 3B6, 3F1 が A17-5 に比べて陽性率が低下し, さらに正常大腸粘膜においては A17-5 が杯細胞と強く反応するのにくらべ, 3B6, 3F1 はごく少数の杯細胞に弱い反応を認めたのみで, 全く陰性の症例も存在した。次に, PCAAp あるいは PCAAc を固相化した 96 穴マイクロプレート上にて, protease, neuraminidase, 過ヨウ素酸処理等を行い, 3 種類の monoclonal 抗体との反応性を検討した。3 種類の monoclonal 抗体はともに PCAA の蛋白部分を認識すると考えられたが, 3F1 のみが過ヨウ素酸処理において PCAAp 活性が上昇し, 認識する epitope が糖鎖によって一部修飾されていることが示唆された。

3. 臨床的意義

A17-5 を catcher 抗体には脾癌特異性の高い 3F1 をビオチン化したものを使用した sandwich enzyme immunoassay 法 (EIA 法) にて, 健常人および各種疾患患者の血清 PCAAp 値を測定した。健常人 32 例における血清 PCAAp 値の測定結果による cut-off 値は $2.06 \mu\text{g/ml}$ (平均値 + 標準偏差値 $\times 2$) であり, 従来の血清 PCAAc 値測定系の cut-off 値 $22.3 \mu\text{g/ml}$ に比べて著しく低下した。脾癌では 72% (22/32) において陽性を示し, 他の消化器癌では, 胆管癌 65%, 肝癌 60%, 胃癌 38%, 大腸癌 37% においても検出された。しかし, 脾炎, 肝炎, 肝硬変等の良性疾病患者血清中では陽性率が 10% (6/60) と著明に低下し, 従来の測定系にくらべて脾癌特異性の向上が認められた。各種患者血清値は CA19-9, CEA 血清値とは統計学的に相関が認められず, 特に脾癌患者血清値において相補的な関係が得られ, combination assay による陽性率の向上が認められた。さらに, 根治手術が可能であり術前の血清 PCAAp 値が高値を示した脾癌患者 2 例および胆管癌患者 3 例の術後血清 PCAAp 値が正常域に低下しており, 他の腫瘍マーカー同様に術後の経過観察にも有用であることが示唆された。

〔総括〕

1. 脾癌患者腹水より精製した脾癌関連抗原 (PCAAp) に対する 2 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, 脾癌組織には高い反応性を示し, 正常大腸粘膜には反応性を認めなかった。また, EIA 法による種々の疾患患者における血清 PCAAp 値の測定の結果, 従来の測定法に比べて脾癌特異性の向上が認められた。
3. 精製 PCAAp を各種酵素および化学処理し, monoclonal 抗体の反応性の変化から, monoclonal 抗体の認識する epitope は糖鎖に修飾された蛋白部分であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、膵癌特異性の高い血清学的診断法を開発することを目的として、膵癌患者腹水より精製した膵癌関連抗原 (PCAAp) に対する monoclonal 抗体を作製し、その膵癌特異性を免疫組織学的に検討するとともに、新たに開発した測定系の臨床的評価を行ったものである。

この抗PCAAp抗体は、すでに作製されているPCAAの他のエピトープ (PCAAc) に対する抗体に比べて膵癌特異性が高く、正常成人組織とは全く反応せず、わずかに胎児膵組織と反応するのみであった。抗PCAAc抗体をcatcher、抗PCAAp抗体をtracerとしたsandwich enzyme immunoassayでは膵癌の診断率は72%と従来の成績と大差はなかったが、良性疾患におけるfalse positiveは10%以下に低下した。

本研究は、膵癌の血清学的診断に寄与するところが大きく、学位に値する。