The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、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

【22】

氏名・(本籍)	齋藤眞文（さいとうまふみ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9819 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pacreatic 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 μg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マウス骨髄腫細胞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抗体も正常膵組織とは全く反応せず，膵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抗体には膵癌特異性の高い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 μg/ml（平均値＋標準偏差値×2）であり，従来の血清PCAAc値測定系のcut-off値22.3 μg/mlに比べて著しく低下した。膵癌では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，膵炎，肝炎，肝硬変等の良性疾患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膵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，特に膵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値が高値を示した膵癌患者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. 膵癌患者腹水より精製した膵癌関連抗原（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，膵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膵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 immunoassey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であり，学位に値する。