大腸癌患者血清中における腫瘍関連糖鎖抗原 sialylated Lewis^xの検討

長崎大学医学部第1外科¹⁾, 同 第2内科²⁾, 佐世保市立総合病院外科³⁾

中越 享¹⁾ 広田 正毅²⁾ 仲宗根朝紀¹⁾ 下山 孝俊¹⁾
三浦 敏夫¹⁾ 富田 正雄¹⁾ 伊福 真澄³⁾

EVALUATION OF SIALYLATED LEWIS^x AS A TUMOR-ASSOCIATED CARBOHYDRATE ANTIGEN IN SERA OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

Tohru NAKAGOE¹⁾, Masaki HIROTA²⁾, Tomonori NAKASONE¹⁾,
Takatoshi SHIMOYAMA¹⁾, Toshio MIURA¹⁾, Masao TOMITA¹⁾
and Masumi IFUKU³⁾

¹⁾First Department of Surgery, ²⁾Second Department of Internal Medicine,
Nagasaki University School of Medicine and
³⁾Department of Surgery, Sasebo Municipal Hospital

新しいモノクローナル抗体 CSLEX1 によって認識される糖鎖抗原 sialylated Lewis^xを, 大腸癌手術症例63例の血清を対象に, EIA 法にて測定し, 腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。陽性率は23.8% (15/63) で, Dukes A・B の早期においては0%・8.7%と低値で, 早期診断は困難であるが, Dukes C・D の進行癌での陽性率は33.3%・50.0%で, 非治癒切除例・非切除例での陽性率は50.0%・66.7%と高率であり, 術前の根治度の判定が可能であると考えられ, 転移形式のうち肝転移とリンパ節転移因子に関連性を有する。また, 限局型癌・粘液癌に陽性率が高い。以上より, 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x抗原は, 新しい腫瘍マーカーとして臨床的に有用であることが示唆された。

索引用語: 大腸癌の腫瘍マーカー, 糖鎖抗原 sialylated Lewis^x, モノクローナル抗体 CSLEX1

結 言

近年, ハイブリドーマ技法の確立に伴い, 癌細胞を直接免疫源として数多くのモノクローナル抗体が作製されてきたが, その反応する抗原決定基を調べると, しばしば細胞の癌化に伴って変化した糖鎖構造を認識していることが明らかにされてきた¹⁾。その代表的なものが1979年 Koprowski ら²⁾によって作製された N19-9 で, この抗体の認識する抗原決定基は血液型 Lewis^a抗原にシアル酸が1分子付加した sialylated Lewis^a³⁾で, 現在 CA19-9 として肝癌を中心とする消化器癌の血清診断に広く応用されている。この sialylated Lewis^aの構造異性体である sialylated

Lewis^xが腫瘍マーカーとして重要であることは Blaszczyk ら⁴⁾によってすでに指摘されていたが, この抗原を認識するモノクローナル抗体 CSLEX1 を1984年 Fukushima ら⁵⁾が作製したことにより, その腫瘍関連抗原としての臨床的応用が期待されるようになってきた。今回, モノクローナル抗体 CSLEX1 を用いて大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x抗原を測定し, その臨床病理学的各因子との関連性を調べ, 新しい腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。

対象と方法

1. 対象症例:

1983年4月から1986年12月までに長崎大学第1外科および佐世保市立総合病院外科で手術を施行した大腸癌63例を対象とした。年齢は23歳から85歳までで, 平均年齢は61.0歳であった。参考として同時期の良性消

化器疾患30例も対象とした。コントロールとして長崎県赤十字血液センターの協力で得られた健常成人536人の血清を用いた。

2. モノクローナル抗体：

Sialylated Lewis^x抗原を認識するモノクローナル抗体 CSLEX1⁵⁾は、当教室の関連病院で手術を受けたA型Lewis^(a-b+)血液型の79歳の女性の胃癌組織membrane proteinで免疫して作製されたものである。

3. 測定方法：

上記患者から術前早朝空腹時に採血し、血清に分離後-80℃下に凍結保存した。測定はサンドイッチ法によるfluorescent enzyme immunoassayを行なった。1次抗体(CSLEX1)はDYNATECH社製microflour“W” plateに固相化した。また精製CSLEX1抗体にGMBS(N-(γ -maleimido-butyryloxy)-succinimide)を架橋剤として β -D-galactosidaseを結合し、Sephaclose 6Bにて分画し、得られた β -D-galactosidase結合CSLEX1を2次抗体として用いた。標準抗原は肺癌細胞株PC-9(東京医大、早田教授恵与)の培養上清より得た。すなわち、培養上清をAmicon社製Thin-channel ultrafiltration system(membrane: XM 300)にて40倍に濃縮し、Sephacryl S1000にて分画し、抗原活性分画を収集した。得られた標準抗原はBIO-RAD社のprotein assay kitを用いて蛋白量を測定し、16 μ g/ml蛋白量に相当する抗原活性を1U/mlとした。検体はbuffer A(1mM MgCl₂, 0.1M NaCl, 0.5% BSA, 0.1% NaN₂)にて8倍希釈して用いた。基質は4-methylumbelliferyl- β -D-galactopyranosideを用いて励起波長490nm, 蛍光波長510nmにてDYNATECH社のmicro FLUOR readerにて測定した。

4. 統計学的手法：

測定値は平均値および標準偏差で表わし、さらに各因子別の陽性率を示した。平均値の差の検定はnon-parametric法であるMann-Whitney検定、陽性率の検定は χ^2 検定ないしはFisher正確確率検定を用い、危険率5%以下を有意とした。

結 果

1. 健常成人での検討：

担癌患者の年齢層と一致する目的で、50歳代のみの健常成人536人(平均年齢54.9歳)の血清中での測定を行った。男性301人の測定値は25.8 $\pm$ 34.2(平均値 $\pm$ 標準偏差)U/ml, 女性235人は34.8 $\pm$ 44.9U/ml, 全体で

は29.7 $\pm$ 39.5で、女性に高値であったが両群間に有意差は認めなかった。平均+3標準偏差のcut off値とすると、男性での陽性率は7/301(2.3%), 女性では7/235(3.0%), 健常人全体では14/536(2.6%)となり、本研究のcut off値を149U/mlとした。

2. 良性消化器疾患患者での検討：

各良性消化器疾患患者でのsialylated Lewis^x抗原の陽性率は、胆石症3/20(15.0%), 消化性潰瘍0/3(0%), 虫垂炎1/3(33.3%), その他(肝嚢胞・腹壁ヘルニア・クローン病・ITP)0/4(0%)で、全体では4/30(13.3%)であった。一方、大腸癌患者での陽性率は15/63(23.8%), その測定値は185.4 $\pm$ 405.9であり、良性疾患全体の57.5 $\pm$ 72.6に比べ有意(p<0.05)に高値であった。またその測定値の分布は、良性疾患では最高257U/mlであったが、大腸癌では1,000U/ml以上の症例も3例みられ、その分布に差がみられた(図1)。

3. 大腸癌患者での検討：

(1) Dukes 分類：

大腸癌患者血清中sialylated Lewis^x抗原の陽性率は15/63(23.8%)で、Dukes分類別ではDukes A 0/9(0%), Dukes B 2/23(8.7%), Dukes C 5/15(33.3%), Dukes D 8/16(50.0%)と病期の進行度につれて陽性率は上昇し、Dukes DではDukes A(p<0.05)とDukes B(p<0.01)との間に有意差を示した。一方、血清中sialylated Lewis^x抗原の測定値は185.4 $\pm$ 405.9であり、健常成人対照群に比べ有意(p<0.01)に高値であった。これをDukes分類別にみると、Dukes Aでは21.7 $\pm$ 20.1, Dukes Bでは72.2 $\pm$ 81.0, Dukes Cでは251.9 $\pm$ 574.0, Dukes Dでは377.8 $\pm$ 532.9と、病期の進行度につれ高値を示し、

図1 良性消化器疾患および大腸癌患者血清中sialylated Lewis^x抗原
Mann-Whitney's test : ## p<0.01 vs controls; * p<0.05

Dukes A は Dukes B ($p < 0.05$), Dukes C ($p < 0.05$) および Dukes D ($p < 0.01$) との間に有意差を示した。またその測定値の分布は, 500U/ml 以上の値をとるものは一例を除きすべて Dukes D の症例のみであった(図 2)。

(2) 手術根治度:

手術根治度別にみると, 治癒切除を施行し得たものの陽性率は6/46(13.0%), 測定値は71.9±97.1と低値を示したが, 非治癒切除に終わったものはそれぞれ7/14(50.0%), 294.8±334.0, さらに切除不能例ではそれぞれ2/3 (66.7%), 1,414.6±39.5と, 陽性率・測定値とも高値を示し, 陽性率では治癒切除と非治癒切除($p < 0.01$), 治癒切除と非切除($p < 0.05$), 測定値では治癒切除と非治癒切除との間($p < 0.01$)に有意差を認めた(図 3)。

(3) 性:

図 2 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の Dukes 分類別分布と陽性率

Fisher's exact probability test: $\$p < 0.01$, $\$p < 0.05$

Mann-whitney's test: $\#p < 0.01$ vs controls; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

図 3 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の手術根治度別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: $\#p < 0.01$ vs controls; ** $p < 0.01$.

chi-square test or Fisher's test: $\$p < 0.05$, $\$p < 0.01$.

男性での陽性率は8/35 (22.9%), 測定値は189.7±427.6, 女性ではそれぞれ7/28(25.0%), 179.9±384.7で, 男女差はみられなかった。

(4) 腫瘍占拠部位:

右側大腸 (C・A・T) の陽性率は5/12 (41.7%), 測定値は477.8±793.6, 左側大腸 (D・S・R) ではそれぞれ10/51 (19.6%), 116.6±200.9で, 右側大腸に高値を示したが有意差は認めなかった。結腸の陽性率は11/35 (31.4%), 測定値は263.3±523.7, 直腸ではそれぞれ4/28 (14.3%), 88.0±123.5で結腸に高値を示したが有意差はなかった。

(5) 肉眼的所見:

腫瘍肉眼的分類別では, 0・1型には陽性例なくその測定値も低値であった。2型では陽性率12/46 (26.1%), 測定値は188.5±386.7と最も高かったが, 他型との有意差はみられなかった。3型では陽性率1/10 (10.0%), 測定値は70.0±74.3と低値となり, 4型では陽性例はなく, 浸潤型では低値をとる傾向がみられた(図 4)。

腫瘍の最大径別にみると, ~2.9cm では陽性率は3/20(15.0%), 測定値は79.2±110.7, 3.0~4.9cm ではそれぞれ2/11(18.2%), 134.2±270.3, 5.0cm~では8/28(28.6%), 138.3±177.7と腫瘍の大きさが増すにつれ陽性率・測定値とも増加したが, 統計学的有意差は認めなかった(図 5)。

(6) 遠隔転移:

肝転移については, H₀の陽性率は9/50(18.0%), 測定値は160.8±419.2, H_{1,2,3}ではそれぞれ6/13 (46.2%), 279.8±348.6と肝転移例に有意に陽性率が高かったが, 測定値では有意差はなかった。腹膜播種に関しては, P₀の陽性率は12/58 (20.7%), 測定値は151.0±344.4, P_{1,2,3}ではそれぞれ5/3 (60.0%),

図 4 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の肉眼的分類別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: $\#p < 0.01$ vs controls.

図5 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の腫瘍最大径別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: ## $p < 0.01$ vs controls.

図6 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の肝転移と腹膜播種の有無別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs controls. Chi-square test: \$ $p < 0.05$.

584.5 ± 804.3と腹膜播種陽性例に高い傾向を示した (図6)。

(7) 組織学的所見:

病理組織学的分類別では粘液癌の陽性率は1/3 (33.3%), 測定値は248.9 ± 267.0と、最も高値を示した。一方、低分化腺癌では3例とも陰性で、その測定値も低値であり、高分化腺癌では陽性率は3/24 (12.5%), 測定値は64.2 ± 101.1, 中分化腺癌ではそれぞれ9/29 (31.0%), 172.2 ± 253.4と、腺癌の分化度と相関はみられなかった。陽性率に関しては、各組織型間には有意差はなかったが、測定値では高分化腺癌と中分化腺癌 ($p < 0.05$), 高分化腺癌と粘液癌 ($p < 0.05$) との間に有意差が認められた (図7)。

組織学的リンパ節転移では、 n_0 では陽性率は2/32 (6.3%), 測定値は58.6 ± 72.3, n_1 ではそれぞれ3/7 (42.9%), 187.4 ± 209.0, n_2 では5/9 (55.6%), 316.3 ± 378.8, $n_{3,4}$ では1/6 (16.7%), 152.3 ± 242.7と、 n_2 までではリンパ節転移の程度が増すにつれて陽性率・測定値とも増加し、陽性率では n_0 と n_1 ($p < 0.01$), n_0 と n_2

図7 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の病理組織学的分類別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs controls; * $p < 0.05$.

図8 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原の組織学的リンパ節転移別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs controls; * $p < 0.05$.

Fisher's exact probability test: \$\$ $p < 0.01$.

($p < 0.01$), 測定値では n_0 と n_2 との間 ($p < 0.05$) に有意差を示した (図8)。

深達度別にみると、 $m \cdot sm$, pm では陽性例はなく、その測定値も低値であったが、 $ss \cdot a_1$ では陽性率は8/32 (25.0%), 測定値は153.2 ± 252.2, $s \cdot a_2 \cdot si \cdot ai$ ではそれぞれ4/17 (23.5%), 126.0 ± 137.5と、 $ss \cdot a_1$ 以上の深達度で陽性例を認め、測定値において pm と $ss \cdot a_1$ ($p < 0.05$), pm と $s \cdot a_2 \cdot si \cdot ai$ との間 ($p < 0.01$) に有意差を認めた (図9)。

脈管侵襲に関しては、 ly_0 では陽性例はなく、 $ly_{1,2,3}$ では陽性率は11/47 (23.4%), 測定値は140.1 ± 224.2, v_0 ではそれぞれ8/48 (16.7%), 96.2 ± 146.4, $v_{1,2,3}$ では3/10 (30.0%), 248.4 ± 365.7と、脈管侵襲陽性例で陽性率・測定値とも高値を示し、静脈侵襲の測定値で有意差 ($p < 0.05$) を示した (図10)。

考 察

細胞の癌化に伴った糖脂質の変化については、糖質の構造決定の化学的技術の進歩に伴って次第に解明され、箱守⁸⁾によって、①糖鎖不全現象、②糖鎖不全に伴

図9 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x抗原の壁深達度別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: ## $p < 0.01$ vs controls; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

図10 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x抗原の脈管侵襲の有無別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: ## $p < 0.01$ vs controls, * $p < 0.05$.

う前駆糖脂質の蓄積, ③新しい癌細胞に固有の糖脂質の合成, ④細胞接触に対応する糖脂質蓄積現象の消失として集約されている。一方, 近年, 癌細胞を直接免疫源として数多くのモノクローナル抗体が作製されたが, その抗原決定基の解析が進むにつれて, 多くのモノクローナル抗体が癌細胞膜上に蓄積した糖脂質あるいは糖蛋白質の糖鎖部分を認識していることが明らかにされてきた。しかも, その中で血液型ないしは血液型関連の糖鎖抗原が注目され, 臨床的に腫瘍マ

ーカーとして血清診断に応用されるようになっていいる。なかでも, 1979年 Koprowski ら²⁾によって作製されたモノクローナル抗体 N19-9 は, 血液型 Lewis^a抗原にシアル酸が1分子付加した sialylated Lewis^aを認識抗原とし, CA19-9 として膵癌を中心とする消化器癌の血清診断に広く応用されている。

ヒト癌細胞に蓄積する糖鎖抗原のうち, 最も多くのモノクローナル抗体が確立されているのは, 糖脂質の中でも Lact 系および neoLact 系に属する糖鎖である⁷⁾。これらは Amino CTH より分枝し, galactose (Gal) と N-acetylglucosamine (GlcNAc) の結合様式により, Galβ1 → 3GlcNAc 構造 (type 1 chain) を持つ Lact 系と, Galβ → 4GlcNAc 構造 (type 2 chain) を持つ neolact 系糖脂質が合成される⁸⁾。癌化に伴い, しばしば fucose が増加することが知られており, 末端より2番目の GlcNAc 残基に1個の fucose が, type 1 chain では α1 → 4 結合して Lewis^a抗原を生じ, type 2 chain では α1 → 3 結合して Lewis^x抗原 (X hapten) を生ずる。さらに, 末端の galactose に α2 → 3 結合でシアル酸が結合したものが, type 1 chain では sialylated Lewis^a抗原で, type 2 chain では sialylated Lewis^x抗原である。すなわち, sialylated Lewis^a抗原と sialylated Lewis^x抗原は互いに分子構造は同じで, 結合部位のみが異なった構造異性体であることがわかる (表1)。

Lewis^a 抗原は Lewis 式血液型抗原であるが, sialylated Lewis^a抗原は sialyltransferase 活性が高い⁹⁾癌において, Lewis^a抗原にシアル酸が付加し, 糖脂質 sialylated lacto-N-fucopentaose II に含まれる糖鎖として膜表面に表現されて³⁾おり, 腫瘍関連性が高い抗原である。現在, 癌の血清診断に用いられている CA19-9 測定は, 血中に流出した sialylated Lewis^a hapten を糖鎖に持つ巨大糖蛋白 mucin を定量しているとされている¹⁰⁾。

表1 Sialylated Lewis^x と Sialylated Lewis^a の抗原決定基構造とモノクローナル抗体

抗 原	抗原決定基	モノクローナル抗体
Sialylated Lewis ^a (CA19-9)	NeuAc α2→3Gal β1→3GlcNAc β1→ ↑ Fuc α1	N19-9
Sialylated Lewis ^x	NeuAc α2→3Gal β1→4GlcNAc β1→ ↑ Fuc α1	CSLEX1

一方, Lewis^x抗原 (stage-specific embryonic antigen, SSEA1) は Lewis^a抗原と構造異性体であるが, Lewis^a抗原に比べはるかに腫瘍関連性が高い。Lewis^x抗原は lacto-N-fucopentaose III に含まれる糖鎖として癌組織中に存在することが明らかにされていたが¹²⁾, この抗原に対するモノクローナル抗体¹³⁾¹⁴⁾が報告されて以来, 種々のヒト正常組織にも存在することが明らかにされてきた¹⁵⁾。しかし, 胎児性発現や腫瘍への蓄積が高いことから癌胎児性抗原として理解されている。この Lewis^x抗原にシアル酸が付加した sialylated Lewis^x抗原の腫瘍関連性が高いことは十分に想定され得るが, すでに Blaszczyk ら⁴⁾によって, neuraminidase 処理大腸癌細胞において Lewis^xを認識する抗体の反応性は非処理細胞より高いこと, および正常大腸粘膜に発現しないか, してもわずかであることより, この monosialo-X glycolipid antigen が有用な腫瘍マーカーとなることを予想している。1984年 Fukushima ら⁵⁾は胃癌組織から抽出した membrane protein fraction で免疫して作製されたモノクローナル抗体が, sialylated Lewis^x抗原を認識することを明らかにし, その腫瘍関連抗原としての臨床的有用性が注目されている^{10)16)~18)}。

今回, 大腸癌手術症例を対象に血清中 sialylated Lewis^x抗原を測定し, その腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。健常成人での陽性率を2.6%とした cutt off 値 (149U/ml) とした今回の検討では, 大腸癌での陽性率は23.8%であった。腫瘍マーカーとして不動の地位を占めるに至った CEA の陽性率は44%~56%¹⁹⁾²⁰⁾であり, sialylated Lewis^x抗原の約2倍の陽性率である。また CA19-9 での陽性率27.2%¹⁹⁾とほぼ同率であった。病期別にみた陽性率をみると, Dukes A, B の比較的早期においては sialylated Lewis^x抗原では0~8.7%と低値で, CA19-9 の7.7~8.7%¹⁹⁾とほぼ同率であったが, CEA では17.8~34.8%¹⁹⁾と早期からの陽性例が多いことから, sialylated Lewis^x抗原による早期診断には限界があると考えられた。さらに, 深達度別に検討しても ss・a₁以上進行した症例しか陽性例はないことも, このことを裏付ける結果となっている。しかし, Dukes C, D の進行癌では, sialylated Lewis^x抗原の陽性率は33.3~50.0%と, CA19-9 の30.3~73.7%¹⁹⁾に匹敵する陽性率であり, また非治癒切除例・非切除例での陽性率は50.0~66.7%と高率で, その測定値も500U/ml 以上の高値をとることが多く, 術前の根治度の判定が可能である。さらに, 著者ら²¹⁾

は, 同一血清での CEA・CA19-9・sialylated Lewis^x測定の結果, CEA と sialylated Lewis^x, CEA と CA19-9 との間には全くの相関関係はみられず, また CA19-9 と sialylated Lewis^xの間には弱い相関関係を有するが, 各陽性領域での分布スペクトラムは異なっており, 両者の combination assay で検出率を上げることができ, CEA では検出できない部分の拾い上げが可能である結果を得ている。Chia ら²²⁾も同様の報告をしており, 今後 CEA や CA19-9 とともにルーチン検査となる可能性が秘められている。

癌占拠部位別の陽性率では, 有意差はなかったが右側大腸に高い傾向を示した。これは Dukes 病期の進行した症例が右側結腸には多いこと, さらに腫瘍最大径の比較では右側で平均6.3cm, 左側で4.9cm と, 右側結腸では比較的大きな腫瘍を形成しているためと考えられる。腫瘍の肉眼型別では, 大腸癌の多くが眼局型であるため浸潤型の症例が少なかったが, 浸潤型の陽性率・測定値とも低い傾向であった。これは組織学的分類とも関係することであるが, 組織型別では低分化腺癌では3例とも陰性で, その測定値も低値であった。ところで, 粘液癌での sialylated Lewis^x抗原の陽性率・測定値は最も高値を示した。この抗原の isomer である CA19-9 は高分子の mucin として血清中に存在していること²³⁾, さらに著者らも癌組織の sialylated Lewis^x抗原の免疫組織学的染色で mucous lake に高率に陽性になる結果を得ており, CSLEX1 によって見出されるものは, sialylated Lewis^x hapten を糖鎖に持つ mucin であると予想される¹⁰⁾。

肝転移と腹膜播種の有無別では, 肝転移例では非転移例に比べ陽性率が高く, Dukes D においては陽性例8例のうち6例が肝転移例であることから, 腹膜播種因子より肝転移因子と強く関連があると思われる。組織学的な v 因子においても, v 因子陽性例の測定値は v 因子陰性例に比べ有意に高値であったことも同様の結果と考えてよいのかもしれない。ly 因子有無別では特に有意差はなかったが, 組織学的リンパ節転移別では, その陽性率で n₀ と n₁, n₀ と n₂間で, 測定値では n₀ と n₂との間に有意差を認め, リンパ節転移とも関連があることを示唆された。

構造上 CA19-9 は type 1 chain, sialylated Lewis^x抗原は type 2 chain に属し, 両者は単なる構造異性体であることは先に述べたが, 両者を比較する場合の重要点は, GlcNAc 残基に fucose を結合させる fucosyl-transferase を支配している遺伝子支配の差である。

type 1 chain 抗原の特色は Lewis 式血液型の影響が大きいことで、CA19-9 作製者の Koprowski²⁴⁾ 自身も指摘しているように、約10%程度の頻度²⁵⁾で存在する Le gene 陰性の Le^(a-b-)の個人では、この酵素を欠くため理論的には検出されないし、たとえ癌化してもこの抗原が増加することもないと考えられる²⁶⁾。これに対して、type 2 chain の GlcNAc 残基の fucosylation を支配する X gene の頻度は極めて高く¹⁰⁾、すべての人に活性化されていると考えられ、したがって癌での陽性率は Lewis 式血液型に影響されない。さらに、X gene は Le gene の活性化されていない非上皮細胞でも活性化されており、type 2 chain は理論的には非上皮組織を含む、ほとんどすべての組織で可能であるという¹⁰⁾。もう一つの type 1 chain と type 2 chain の特徴の差異は、type 2 chain 抗原の癌患者での陽性率は一般に type 1 chain 抗原より低い、良性疾患での陽性率が type 1 chain に比べて低い点である²⁶⁾。本研究でも sialylated Lewis^x 抗原の良性疾患での陽性率は 13.3% と、CA19-9 の 18.8%²⁷⁾ に比べ低率であった。したがって type 2 chain 抗原は type 1 chain に比べて腫瘍マーカーとしての陽性率では若干劣るものの、癌特異性は高い抗原といえる。このことは、免疫組織学的に、大腸正常粘膜での sialylated Lewis^x の発現は腺窩底部にわずかに認められる⁹⁾のに対し、sialylated Lewis^a では高率に発現している²⁸⁾ことから裏付けられる。現在のところ、癌特異性が極めて高く、かつ検出率も高いような癌抗原はほとんど皆無であるといえてよいが²⁶⁾、以上のように、CSLEX1 で認識される sialylated Lewis^x 抗原は、癌特異性が高いより普遍的な腫瘍マーカーとなりうる可能性があり、臨床応用が期待される。

結 語

大腸癌手術症例63例の血清中 sialylated Lewis^x 抗原を EIA 法にて測定し、その臨床病理学的各因子との関連性を調べ、腫瘍マーカーとしての有用性を検討し、以下の知見を得た。

(1) 良性消化器疾患での陽性率は4/30 (13.3%) で、その測定値は大腸癌に比べ有意に低値を示し、すべて 300U/ml 以下であった。

(2) 大腸癌での陽性率は15/63 (23.8%) で、Dukes 分類別では病期の進行度につれて陽性率は上昇し、Dukes C・D の進行癌での陽性率は33.3%・50.0% と臨床上有用であるが、Dukes A・B の比較的早期においては 0%・8.7% と低値で、早期診断には限界がある

と考えられた。

(3) 非治癒切除例・非切除例での陽性率は50.0%・66.7% と高率で、その測定値も 500U/ml 以上の高値をとることが多く、術前の根治度の判定が可能であると考えられた。

(4) 腫瘍肉眼型・組織学的分類では限局型癌・粘液癌で陽性率が高い傾向がみられた。

(5) 腫瘍最大径ではその腫瘍量と相関する傾向が認められた。

(6) 転移形式のうち腹膜播種因子より肝転移とリンパ節転移因子に関連性を有した。壁深達度では癌が筋層を越してはじめて陽性例が認められた。

以上より、大腸癌患者血清中 sialylated Lewis^x 抗原は、新しい腫瘍マーカーとして臨床的に有用であることが示唆された。

文 献

- 1) 澤武紀雄, 竹森康弘, 里村吉威ほか: 血清診断へのモノクローナル抗体の応用(2)糖鎖抗原. 臨科学 22: 288—796, 1986
- 2) Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K et al: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Soma Cell Genet 5: 957—972, 1979
- 3) Magnani JL, Nilsson B, Brockhaus M et al: A monoclonal antibody-defined antigen associated with gastrointestinal cancer is a ganglioside containing sialylated lacto-N-fucopentaose II. J Biol Chem 257: 14365—14369, 1982
- 4) Blaszczyk M, Ross AH, Ernst CS et al: A fetal glycolipid expressed on adenocarcinomas of the colon. Int J Cancer 33: 313—318, 1984
- 5) Fukushima K, Hirota M, Terasaki P et al: Characterization of sialosylated Lewis^x as a new tumor-associated antigen. Cancer Res 44: 5279—5285, 1984
- 6) 箱守仙一郎: 癌細胞膜. 代謝 17: 1403—1416, 1980
- 7) 神奈木玲児, 箱守仙一郎: モノクローナル抗体による糖鎖性癌抗原の分析. 代謝 23: 141—154, 1986
- 8) 内貴正治: 癌細胞における糖脂質抗原. Oncologia 20: 19—32, 1987
- 9) Gazinger V, Deutsch E: Serum sialyltransferase levels as a parameter in the diagnosis and follow-up of gastrointestinal tumors. Cancer Res 40: 1300—1304, 1980
- 10) 伊黒 隆: 血液型関連抗原 Lewis^x およびシアリ化 Lewis^x に対するモノクローナル抗体の癌患者血清への診断学的応用. 日外会誌 88: 1407—

- 1414, 1987
- 11) Gooi HC, Feizi T, Kapadia A et al: Stage-specific embryonic antigen involves $\alpha 1 \rightarrow 3$ fucosylated type 2 blood group chains. *Nature* 292: 156—158, 1981
 - 12) Yang H, Hakomori: A sphingolipid having a novel type of ceramide and lacto-N-fucopentaose III. *J Biol Chem* 246: 1192—1200, 1971
 - 13) Solter D, Knowles BB: Monoclonal antibody defining a stage-specific mouse embryonic antigen (SSEA1). *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 5565—5569, 1978
 - 14) Brockhaus M, Magnani JL, Herlyn M et al: Monoclonal antibodies directed against the sugar sequence of lacto-N-fucopentaose III are obtained from mice immunized with human tumors. *Arch Biochem Biophys* 217: 647—651, 1982
 - 15) Fox N, Damjanov I, Knowles BB et al: Immunohistochemical localization of the mouse stage-specific embryonic antigen 1 in human tissues and tumors. *Cancer Res* 43: 669—678, 1983
 - 16) Iguro T, Wakisaka A, Terasaki P et al: Sialylated Lewis^x antigen detected in the sera of cancer patients. *Lancet* I: 217—818, 1984
 - 17) Hirota M, Fukushima K, Terasaki P et al: Sialosylated Lewis^x in the sera of cancer patients detected by a cellbinding inhibition assay. *Cancer Res* 45: 1901—1905, 1985
 - 18) 平谷一人, 広田正毅, 福島喜代康ほか: 糖鎖抗原シアル化 Lewis^xの胸水中における腫瘍マーカーとしての有用性. *癌と化療* 13: 2678—2680, 1986
 - 19) 中島 厚, 北條慶一, 大倉久直ほか: 各種腫瘍マーカーの性状と臨床的意義. *大腸癌, 臨成人病* 16: 1026—1034, 1986
 - 20) 染谷一彦, 辻野大二郎: 各種腫瘍マーカーの性状と臨床的意義 Carcinoembryonic antigen (CEA). *臨成人病* 16: 879—882, 1986
 - 21) 中越 享, 福島喜代康, 広田正毅ほか: 大腸癌における糖鎖抗原シアル化 Lewis^xとくにシアル化 Lewis^xと CEA との比較検討一. *日本大腸肛門病会誌* 40: 577, 1987
 - 22) Chia D, Terasaki P, Suyama N et al: Use of monoclonal antibodies to sialylated Lewis^x and sialylated Lewis^x for serological tests of cancer. *Cancer Res* 45: 435—437, 1985
 - 23) Magnani JL, Steplewski Z, Koprowski H et al: Identification of the gastrointestinal and pancreatic cancer-associated antigen detected by monoclonal antibody 19-9 in the sera. *Cancer Res* 43: 5489—5492, 1983
 - 24) Koprowski H, Brockhaus M, Blaszczyk M et al: Lewis blood-type may affect the incidence of gastrointestinal cancer. *Lancet* I: 1332, 1982
 - 25) 山本 茂: ルイス式血液型の検査. *血液型, 科学同人*, 京都, 1986, p71—73
 - 26) 神奈木玲児: 糖鎖性腫瘍マーカーの生化学と臨床的意義. *臨病理* 34: 1247—1264, 1986
 - 27) 大倉久直: 各種腫瘍マーカーの性状と臨床的意義 CA19-9. *臨成人病* 16: 889—894, 1986
 - 28) Galton J, Terasaki PI, Wakisaka A et al: A monoclonal antibody reactive with colonic gastric and pancreatic adenocarcinoma. *Ninth International Convocation Immunology, Amherst, NY*, 1984, p117—125