479. CA19-9 の希釈特性と抗原について

Characterization of CA19-9 antigens exhibiting different dilution curve

滋賀医科大学附属病院 ○ 濱津尚就 牛尾哲敏 高橋雅文

(Masanari Hamazu) (Noritoshi Ushio) (Msafumi Takahashi)

大西英雄 増田一孝

(Hideo Ohnishi) (Kazutaka Masuda)

〔目的〕 日常検査のCA19-9測定で希釈測定をしたさい、希釈倍率の違いで測定値が解離する検体につき希釈特性を調べ、希釈低値(L)・正常(N)・高値(H)の三群に分け、その抗原性や分子量の差異を検討した。検討項目は、1. 癌患者血清の希釈分布、2. 加熱処理による抗原の耐熱性、3. 過塩素酸(PCA)による耐酸性、4. ノイミナーゼ処理、5. 各種レクチンとの結合阻害、6. 抗原の分子量分布等につき調べた。

〔方法及び結果〕 1. 希釈分布: 血清をキット添付の希釈液で16倍まで等倍希釈し、各々測定値に希釈液の濃度補正を加え、Fig.1に示すように元血清の濃度を1.0としたindexで表し、L・N・H群に分けた。 2. 耐熱性: 血清を蒸留水で4倍希釈後、65℃15分の熱処理を加え10,000g15分の遠心後上清を測定試料とした。Fig.2に各群の分布を示すが、L群で有意に活性低下を認めた。 3. 耐酸性: 血清にPCAを加え1Mにて蛋白変性を行い、10,000g30分の遠心後その上清を4℃にて3日間透析し、試料測定後キット補正を加えた。Fig.3に各群のPCA処理後の抽出率を示すが、L・H群はN群に較べ有意に低率であった。 4. ノイミナーゼ処理: 血清1mlあたりノイミナーゼ0.1μUをpH5.0の条件下で3時間反応後、100℃1分の不活性化を行い、通常のアッセイ系にいて測定した。各群に有意な差はなく何れも活性低下を示すことから、各群のシアル酸残基に差はないと考えられる。 5. 各種レクチンの結合阻害: レクチンによる結合試験は通常測定の第一反応後、10μg/tubeのレクチンとpH7.4 50mM・PBS 300μlを加え室温6時間反応後、標識抗体を加え通常測定系に戻し測定した。Fig.4のPNA(ビナナツ)は[β-Gal], ConA(コナハリア)は[α-Man, α-Glc]に糖特異性であるが、何れもL群で有意に抵抗性を示した。Fig.5のABA(マツルム)は[Galβ1→3GalNAc], WGA(小麦胚芽)は[GlcNAcβ1→4GlcNAc]に糖特異であるが、何れもL群に較べH群は、レクチンの阻害を受け有意に活性率の低下を認めた。 6. 分子量分布: 各群の血清をSephacryl S-400HRでゲル濾過した。溶出液には、50mM・NaCl・PBS pH7.4を用い、1fr. 1mlで各fr.には、キャリア蛋白として1%BSA・PBS 50μlを加え測定試料とした。Fig.6に各群の代表的な活性パターンを示す。

〔まとめ〕 各群間で、耐熱性や耐酸性に有意な差があったが、ノイミナーゼ処理では差がなかった。レクチン結合による抑制はPNAやConAでL群が抵抗性を示し、ABAやWGAでH・L群間で有意な差が認められた。またゲル濾過による分子量測定ではN群に較べ、L・H群は比較的低分子量域まで抗原活性が認められた。以上から希釈時の解離は、主に抗原性の違いにより生じると考えられた。

Fig.1

Fig.2

Fig.3

Fig.4

Fig.5

Fig.6