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

長崎大学医学部第1外科<sup>1)</sup>,同 第2内科<sup>2)</sup>,佐世保市立総合病院外科<sup>3)</sup> 中越 享<sup>1)</sup> 広田 正毅<sup>2)</sup> 仲宗根朝紀<sup>1)</sup> 下山 孝俊<sup>1)</sup> 三浦 敏夫<sup>1)</sup> 富田 正雄<sup>1)</sup> 伊福 真澄<sup>3)</sup>

# EVALUATION OF SIALYLATED LEWIS\* AS A TUMOR-ASSOCIATED CARBOHYDRATE ANTIGEN IN SERA OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

Tohru NAKAGOE<sup>1)</sup>, Masaki HIROTA<sup>2)</sup>, Tomonori NAKASONE<sup>1)</sup>,
Takatoshi SHIMOYAMA<sup>1)</sup>, Toshio MIURA<sup>1)</sup>, Masao TOMITA<sup>1)</sup>
and Masumi IFUKU<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>First Department of Surgery, <sup>2)</sup>Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine and <sup>3)</sup>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\*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\*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\*,モノクローナル抗体 CSLEX1

#### 緒 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い。その代表的なものが1979年 Koprowski  $6^{20}$ 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<sup>a</sup>抗原にシアル酸が 1 分子付加した sialylated Lewis<sup>a30</sup>で、現在 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。このsialylated Lewis<sup>a</sup>の構造異性体である sialylated

<1989年2月15日受理>別刷請求先:中越 享 〒852 長崎市坂本町7−1 長崎大学医学部第1外 科 Lewis\*が腫瘍マーカーとして重要であることは Blaszczyk らいによってすでに指摘されてはいたが、この抗原を認識するモノクローナル抗体 CSLEX1 を1984 年 Fukushima らい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\*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\*抗原を認識するモノクローナル 抗体 CSLEX1<sup>5</sup>/は、当教室の関連病院で手術を受けた A型 Lewis<sup>(a-b+)</sup>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-( $\gamma$ -maleimido-butyryloxy)-succinimide) を架橋剤としてβ-D-galactosidase を結合し、Sephalose 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 Thinchannel 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, 16µg/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 MgCl<sub>2</sub>, 0.1M NaCl, 0.5% BSA, 0.1% NaN<sub>2</sub>) 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。平均値の差の検値は non-parametric 法である Mann-Whitney 検定、陽性率の検定は  $\chi^2$ 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±34.2(平均値±標準偏差)U/ml,女性235人は34.8±44.9U/ml,全体で

は29.7±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\*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 $185.4\pm405.9$ であり,良性疾患全体の $57.5\pm72.6$ 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)。

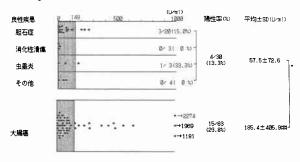
### 3. 大腸癌患者での検討:

#### (1) Dukes 分類:

大腸癌患者血清中 sialylated Lewis\*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\*抗原の測定値は185.4±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±20.1、Dukes B では72.2±81.0、Dukes C では251.9±574.0、Dukes D では377.8±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<sup>×</sup>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:

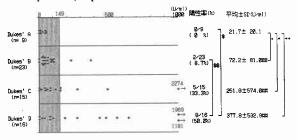
手術根治度別にみると、治癒切除を施行し得たものの陽性率は6/46(13.0%)、測定値は $71.9\pm97.1$ と低値を示したが、非治癒切除に終わったものはそれぞれ7/14(50.0%)、 $294.8\pm334.0$ 、さらに切除不能例ではそれぞれ2/3(66.7%)、 $1,414.6\pm39.5$ と、陽性率・測定値とも高値を示し、陽性率では治癒切除と非治癒切除(p<0.01)、治癒切除と非切除(p<0.05)、測定値では治癒切除と非治癒切除との間(p<0.01)に有意差を認めた(図3)。

# (3) 性:

# 図 2 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis<sup>×</sup>抗原の Dukes 分類別分布と陽性率

Fisher's exact probablity test: p<0.01, p<0.05

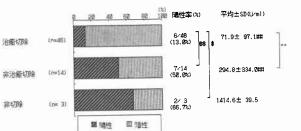
Mann-whitney's test: ## p<0.01 vs controls; \* p<0.05, \*\*p<0.01



# 図3 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis<sup>×</sup>抗原の手 術根治度別陽性率と測定値

Mann-Whitney's test: ## p < 0.01 vs costrols; \*\* 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 $189.7\pm427.6$ ,女性ではそれぞれ7/28(25.0%), $179.9\pm384.7$ で、男女差はみられなかった。

#### (4) 腫瘍占拠部位:

右側大腸  $(C \cdot A \cdot T)$  の陽性率は5/12 (41.7%), 測定値は $477.8\pm793.6$ , 左側大腸  $(D \cdot S \cdot R)$  ではそれぞれ10/51 (19.6%),  $116.6\pm200.9$ 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 $263.3\pm523.7$ , 直腸ではそれぞれ4/28 (14.3%),  $88.0\pm123.5$ 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、 $0 \cdot 1$ 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 $188.5\pm386.7$ 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 $70.0\pm74.3$ 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、 $\sim$ 2.9cm では陽性率は 3/20(15.0%),測定値は $79.2\pm110.7$ , $3.0\sim$ 4.9cm では それぞれ2/11(18.2%), $134.2\pm270.3$ ,5.0cm $\sim$ では 8/28(28.6%), $138.3\pm177.7$ 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、 $H_0$ の陽性率は9/50(18.0%)、測定値は $160.8\pm419.2$ 、 $H_{1,2,3}$ ではそれぞれ6/13(46.2%)、 $279.8\pm348.6$ 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、 $P_0$ の陽性率は12/58(20.7%)、測定値は $151.0\pm344.4$ 、 $P_{1,2,3}$ ではそれぞれ5/3(60.0%)、

# 図 4 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis<sup>x</sup>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.

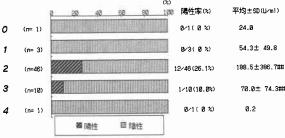


図5 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis\*抗原の腫 瘍最大径別陽性率と測定値

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

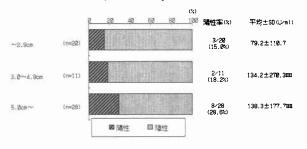
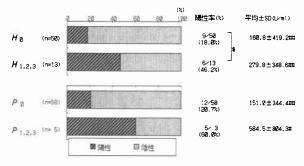


図 6 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis\*抗原の肝 転移と腹膜播種の有無別陽性率と測定値

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

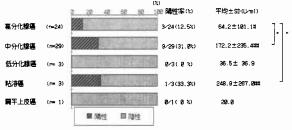
# (7) 組織学的所見:

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 $\pm$ 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 $\pm$ 101.1,中分化腺癌ではそれぞれ9/29(31.0%),172.2 $\pm$ 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 $58.6\pm72.3$ 、 $n_1$ ではそれぞれ3/7 (42.9%)、 $187.4\pm209.0$ 、 $n_2$ では5/9(55.6%)、 $316.3\pm378.8$ 、 $n_{3,4}$ では1/6(16.7%)、 $152.3\pm242.7$ 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\*抗原の病 理組織学的分類別陽件率と測定値

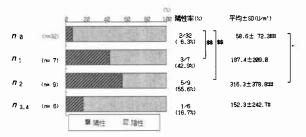
Mann-Whitney's test: # p < 0.05, # # p < 0.01 vs controls; \*p < 0.05.



# 図8 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis<sup>\*</sup>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; \* < 0.05.

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



(p<0.01), 測定値では n₀と n₂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%)、 $126.0\pm137.5$ 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 $140.1\pm224.2$ 、 $v_0$ ではそれぞれ8/48(16.7%)、 $96.2\pm146.4$ 、 $v_{1,2,3}$ では3/10(30.0%)、 $248.4\pm365.7$ 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,箱守のによって,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\*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.

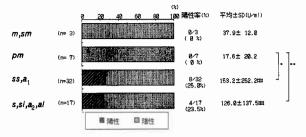
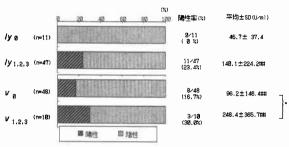


図10 大腸癌患者血清中 sialylated Lewis\*抗原の脈 管侵襲の有無別陽性率と測定値

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



う前駆体糖脂質の蓄積,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る. なかでも、1979年 Koprowski  $6^{2}$ 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<sup>a</sup>抗原にシアル酸が 1 分子付加した sialylated Lewis<sup>a</sup>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<sup>7)</sup>。 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、Gal 81 → 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<sup>8)</sup>、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,type1 chain では  $\alpha 1 \rightarrow 4$  結合して Lewis<sup>a</sup>抗原を生じ、type 2 chain では α1 → 3 結合して Lewis\*抗原 (X hapten) を生ずる. さらに、末端の galactose に  $\alpha 2 \rightarrow 3$  結合で シアル酸が結合したものが、type 1 chainでは sialylated Lewisa抗原で、type 2 chain では sialylated Lewis\*抗原である。すなわち、sialylated Lewis\*抗原 と sialvlated Lewis\*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<sup>a</sup> 抗原 は Lewis 式血液型抗原であるが, sialylated Lewis<sup>a</sup>抗原は sialyltransferase 活性が高い<sup>9)</sup>癌において, Lewis<sup>a</sup>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<sup>3)</sup>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<sup>a</sup> 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<sup>10)</sup>.

表 1 Sialylated Lewis\* と Sialylated Lewis\* 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 <sup>a</sup> (CA19-9)	NeuAc $\alpha 2 \rightarrow 3$ Gal $\beta 1 \rightarrow 3$ GlcNAc $\beta 1 \rightarrow 4$ $\uparrow$ Fuc $\alpha 1$	N19-9
Sialylated Lewis <sup>x</sup>	NeuAc $\alpha 2 \rightarrow 3$ Gal $\beta 1 \rightarrow 4$ GlcNAc $\beta 1 \rightarrow 3$ $\uparrow$ Fuc $\alpha 1$	CSLEX1

一方, Lewis<sup>x</sup>抗原(stage-specific embryonic antigen, SSEA1) は Lewisa抗原と構造異性体である が、Lewis<sup>a</sup>抗原に比べはるかに腫瘍関連性が高い。 Lewis\*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\*抗原にシアル酸が付加した sialylated Lewis\*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 らいによって、 neuraminidase 処理大腸癌細胞において Lewis\*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 らが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\*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\*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%<sup>19)20)</sup>であり、sialylated Lewis<sup>x</sup>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 sialvlated Lewis\*抗原 では0~8.7%と低値で, CA19-9 の7.7~8.7%<sup>19)</sup>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\*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<sup>x</sup>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\*測定の結果、CEA と sialylated Lewis\*, 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\*と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<sup>22)</sup>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\*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<sup>23)</sup>、さらに著者らも癌組織の sialvlated Lewis\*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\* 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  $n_0$  と  $n_1$ ,  $n_0$  と  $n_2$  間で,測定値では  $n_0$  と  $n_2$  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\*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 fucosyltransferase 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 Koprowski<sup>24)</sup>自身も指 摘しているように、約10%程度の頻度<sup>25)</sup>で存在する Le gene 陰性の Le<sup>(a-b-)</sup>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100, 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<sup>10)</sup>. 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 抗原より低いが、良性疾患での陽性 率が type 1 chain に比べて低い点である<sup>26)</sup>。本研究で も sialylated Lewis\*抗原の良性疾患での陽性率は 13.3%と、CA19-9の18.8%<sup>27)</sup>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\*の発現は腺 窩底部にわずかに認められる5のに対し、sialylated Lewis<sup>a</sup>では高率に発現している<sup>28)</sup>ことからも裏付け 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 いってよいが<sup>26)</sup>,以上のように、CSLEX1で認識され る sialylated Lewis\*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\*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\*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。

#### 対 文

- 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
- 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
- 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<sup>x</sup> 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
- 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\*およびシアル 化 Lewis\*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
- Gooi HC, Feizi T, Kapadia A et al: Stage-specific embryonic antigen involves α1 → 3fucosylated type 2 blood group chains. Nature 292: 156-158, 1981
- 12) Yang H, Hakomori: A sphingolipid having a novel type of ceramide and lacto-Nfucopentaose 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\* antigen detected in the sera of cancer patients. Lancet I: 217-818, 1984
- 17) Hirota M, Fukushima K, Terasaki P et al: Sialosylated Lewis<sup>x</sup> in the sers of cancer patients detected by a cellbinding inhibition assay. Cancer Tes 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\*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\*とくに一シアル化 Lewis\*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<sup>x</sup> and sialylated Lewis<sup>x</sup> for serological tests of cancer. Cancer Res **45**: 435–437, 1985
- 23) Magnani JL, Steplewski Z, Koprowski H et al: Identification of the gastrointestinal an 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 1: 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:糟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