

肺癌および肺組織に比較的特異的な 2, 3 の抗原について

愛知県がんセンター病院手術部長
京都大学結核胸部疾患研究所非常勤講師

岡 田 慶 夫

京都大学結核胸部疾患研究所胸部外科

池 田 貞 雄

緒 言

癌組織に特異的な抗原が果して存在するか否かという問題は、癌研究における重要課題の一つである。実験的な動物腫瘍に腫瘍特異抗原が存在することは、主として移植免疫の観点から多くの人々によって認められている^{6,9,10,15~19,21,22}。しかしながら、人の腫瘍の特異抗原については、それを証明しえたとする人も少ないが、いまだに明確な結論はえられていない^{7,8,11,20,24,30,31}。

人の肺癌の抗原性を移植免疫の観点から検討することは、動物実験の場合と異って甚だ困難である。したがって、我々は主として肺癌組織の生理的食塩水抽出液について免疫化学的に検討した。すなわち、同抽出液に対する家兎抗血清を作成して、主としてゲル内拡散法によって抗原の解析を行なった¹³。

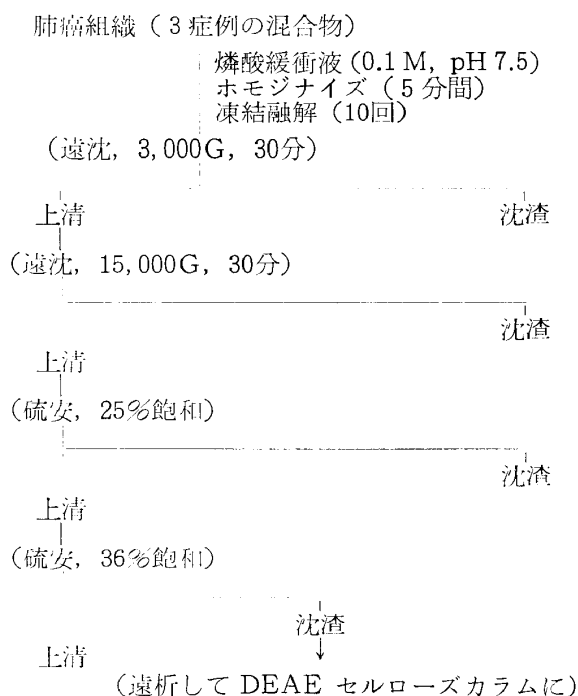
実験材料および実験方法

1. 抗 血 清

3例の肺癌患者から切除された新鮮な癌組織を -20°C に保存したものを混合して抗原とした。すなわち、

それらの癌組織を無菌的に細切し、表1の如き方法によって、肺癌組織の抽出液を作成した。われわれの予備的な実験¹²や従来多くの人々の報告^{14,23,26,28,29}から推して癌組織に特異的な抗原はグロブリン分画中に含まれていると考え、抽出液の中でとくに36%硫酸によって沈澱する分画を検索の対象とした。

表1 肺癌組織の抽出法



36%硫酸飽和分画を DEAE セルローズカラムにかけて、pH 7.5 の磷酸緩衝液で分画すると、**図1** の如く、0.005M, 0.03~0.05M および 0.05~0.1M の各濃度でそれぞれピークを示す三つの分画がえられる。我々はこれらの個々の分画を用いて家兎を感作し、それぞれに対する家兎抗血清を作成した。

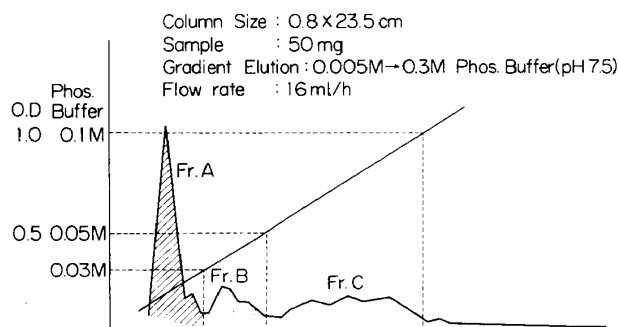


図1 肺癌抽出液の DEAE セルローズカラムによる分画

家兎の感作には抗原液に等量の complete adjuvant (Difco) を加えて、家兎の背部皮下に注射した。蛋白量は1回あたり 100mgm で、週2回、連続4週間感作を行なった。抗体価の上昇を確認し、初回注射後5週間目に抗原液だけを注射した後に、頸動脈から全採血した。

2. ゲル内拡散法

ゲル内拡散法⁴⁾ (Ouchterlony) に倍型オブジェクトグラスを用いて行なった。すなわち、0.1% Special Agar Noble (Difco) にグリセロール0.05%を加えたものをグラス上に塗抹乾燥せしめ、その上に pH 8.6, 0.025M Veronal 緩衝液および0.01%マーゾニンを含む Special Agar Noble の溶液を厚さ 2mm になるように注いだ。そして、凝固した寒天板上に直径 4mm の Gel-punch を用いて 5mm の等間隔で孔を作った。抗原および抗血清は各孔にそれぞれ 0.03ml ずつ注入し、室温で4日間放置した後に沈降線の有無を判定した。

免疫電気泳動法は Scheidegger²⁵⁾ の方法に準じて、LKB 6800A の装置を用いて行なった。寒天層の厚さは 1mm である。Gel-cutter (LKB 6810A) を用い、巾 1mm の中央溝の両側に、溝から 3mm 離れて直径 1mm の孔を作った。電極槽には pH 8.6, 0.1M Veronal 緩衝液を入れ、8.0V/cm で90分間泳動した。

3. 螢光抗体法

螢光抗体法は間接法によった。すなわち、新鮮な組織の凍結切片を作成し、スライドグラスに貼布した後

にアルコール固定を行なった。組織中の TS 抗原の分布を観察する場合には、60°C, 1時間加熱して、C 抗原を不活性化せしめた。切片を pH 7.1 磷酸緩衝液で湿潤せしめて、抗血清を添加し、4°C, 24時間放置した後に、同緩衝液で洗滌して過剰の抗体を除去した。螢光染色には抗家兎グロブリン—FITC ラベル山羊血清を標本に添加し、室温に1時間放置した。

実験成績

1. A分画(0.005M磷酸緩衝液で抽出される分画)

電気泳動では γ の位置に泳動される。免疫化学的には γ G に一致しており、その中には肺癌に特異的な抗原は見出されない。

2. C分画(0.05~0.1M磷酸緩衝液で抽出される分画)

電気泳動では主としてグロブリンからなるが、若干アルブミンを混じている。C分画に対する抗血清を、pool した健常人血清で吸収して、ゲル内拡散法もしくは免疫電気泳動法を行なうと、 β の位置に泳動される1本の沈降線が残る。肺癌組織中にみられて、健常人血清中にはみられないこの抗原を、我々には仮りにC抗原とよぶことにした。

C 抗原の分布を各種臓器、各種悪性腫瘍および各種血清について調査したところ、このものは、**図2** の如く、肺癌組織だけではなく、正常肺組織にも、また肺癌患者血清中にも見出されるが正常人血清には見出されることが判明した。また胃癌や正常腎組織中にもこのC抗原は見出される。**表2** は各種疾患々者および健常人血清中におけるC抗原陽性の頻度を示すものである。原発性肺癌の患者血清では、46.2%にC抗原が見出された。それに反して、非癌性肺疾患の患者血清では僅かに3.0%に、また、正常人血清ではさらに低率で3.1%にC抗原が見出されたにすぎない。このような事実から、C抗原はかなり広く各種組織や血清の中に分布している抗原であって、真の意味では肺癌に特異的であるとはいえないが、肺癌患者の血清中には高率に陽性であるので、肺癌診断の診助的指標になるようである。

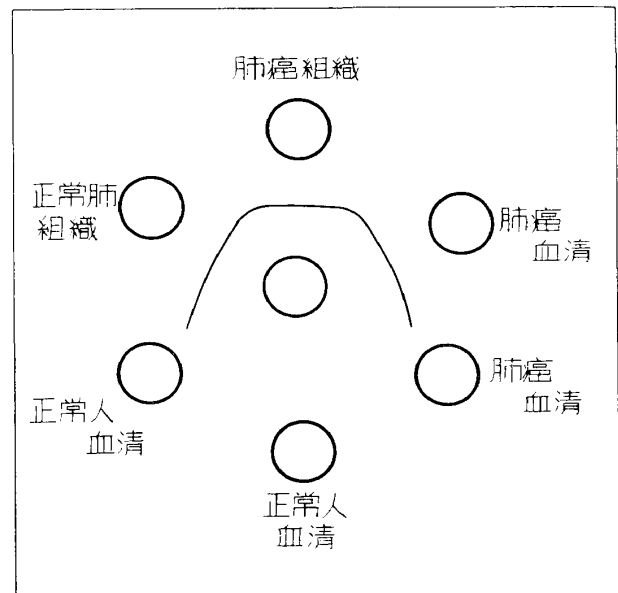
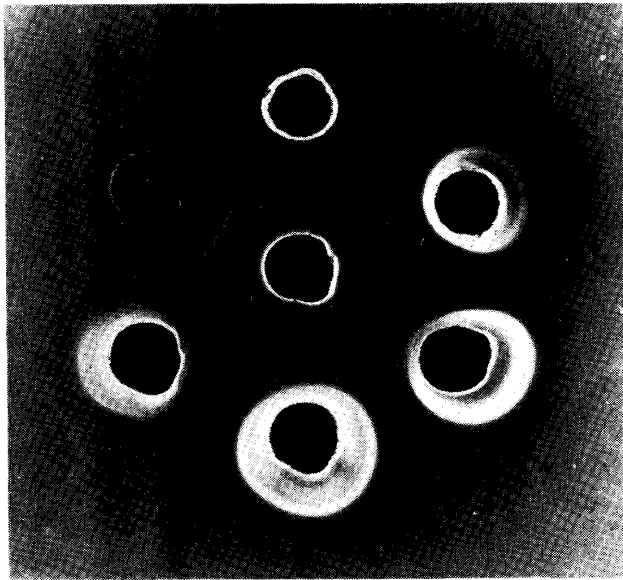


図 2 C 抗原の分布
中央: 抗C分画血清

表 2 各種肺疾患患者血清におけるC抗原の検出率

	症例数	陽性例	陽性率
原発性肺癌	132	61	46.2%
転移性肺癌	8	3	
胃癌	22	6	27.3%
肺結核	86	2	
肺化膿症	16	2	
良性肺腫瘍	16	0	
その他の肺疾患	15	0	
非癌性肺疾患の合計	133	4	3.0%
健康人	194	6	3.1%

血清中のC抗原の有無と肺癌の組織像との関連性をみると、表3の如く、両者の間には相関々係は認められない。また、肺癌の大きさおよび進展度と血清中C抗原の有無との関連性をみても、表4の如く、両者の間には全く相関々係は認められない。換言すれば、直径2cm以下の小型肺癌や、リンパ節転移が全く認められない比較的早期の肺癌でも、その血清中にC抗原がかなり高率に見出される。したがって、比較的早期の肺癌でも血清中C抗原を診断の補助的指標にしようものとする。

通常血清中には transferin, α_2 -macroglobulin, β -lipoprotein 等の α から β の位置に泳動される蛋白が多数存在している。我々はそれ等

表 3 肺癌の組織像と血清中C抗原との関係

C 抗原	組織型 扁平上皮癌	腺癌	大細胞型 未分化癌	小細胞型 未分化癌	分類不能
陽性	25	15	2	4	1
陰性	32	14	7	1	5

表 4 肺癌の大きさおよび進展度と血清中C抗原との関係

	C 抗原	陽性	陰性
原発巣の大きさ	～3cm	13	12
	3～6cm	15	23
	6cm～	19	24
転移巣の広がり	転移なし	12	14
	肺内リンパ節	8	7
	肺外リンパ節	11	18
	遠隔性転移 臓器・胸膜・炎症転移	15	17

の蛋白に対する標準抗血清を用いて、それらとC抗原との異同をゲル内拡散法によって検討した。その結果、C抗原はいずれの蛋白とも全く

別個のものであることが判った。また, fibrinogen が癌患者の血清においてしばしば増量していることが報告されているが, C 抗原は fibrinogen やその分解産物とも全く別個のものであることが明らかになった。その他, C 抗原は血液型, 松原氏癌反応, マリグノリピン等とも関係がなく, CRP とも別個のものであることが判った。

最近, 肝癌の患者や胎児の血清中 α -fetoglobulin になる蛋白が高率に見出されている^{1,2,5,27)}。我々は, 北大平井秀松教授の御厚意により, 同教授のもとで作成された α -fetoglobulin に対する抗血清を用いて検討したが, C 抗原は α -fetoglobulin とは別個の蛋白であることが判った。

3. B 分画 (0.03~0.05M 燐酸緩衝液で抽出される分画)

電気泳動ではグロブリンからなり, C 分画のようにアルブミンを含んでいることはない。B 分画に対する抗血清を正常な肺組織の抽出液で吸収してゲル内拡散法もしくは免疫電気泳動法を行なうと, α の位置に泳動される 1 本の沈降線が残る。肺癌組織中には存在するが, 正常肺組織中には存在しないこの抗原を, 我々は仮りに TS 抗原とよぶことにした。

TS 抗原の分布を各種臓器について調べると, 図 3 の如く, それは肺癌組織だけではなく, 胃癌組織にも見出された。しかしながら, 同抗原

は正常人血清はもとより, 肺癌患者の血清中にも見出されないので, 我々はそれを血清中には移行しない癌組織に特異的な抗原であると考えた。仮りに TS 抗原 とよぶことにしたのは, tumor specific と推定されたからである。しかしながら, その後の研究により, 正常組織の抽出液でもそれを濃縮して蛋白濃度を上昇せしめると, 表 5 の如く, 微量ながら TS 抗原が見出されることが判明した。また, 最近では後述する如く, 胎児の肝臓中にも TS 抗原が存在していることが判明した。

TS 抗原は α -globulin 領域に泳動されるが, transferin, β -lipoprotein, α_2 -macroglobulin 等とは別個のものであり, fibrin やその分解産物とも別個のものである。また, TS 抗原は胎児肝にも見出されるが, α -fetoglobulin とは全く別個の蛋白である。

TS 抗原は C 抗原よりもさらに肺癌に 特異性が高く見出されるが, 血清中には移行しないので, 血清学的診断法の指標とすることはできない。ただし, それは正常組織中よりも癌組織中にはるかに高濃度に見出されるので, その量的な差を利用して蛍光抗体法によって癌細胞や癌組織を選択的に染色することが可能である。図 4 はその 1 例であって, 癌細胞が選択的に蛍光染色されている。我々は, TS 抗原に対する抗体を用いて喀痰中の肺癌細胞を蛍光染色することを目下検討しているが, 喀痰中の粘液多糖類

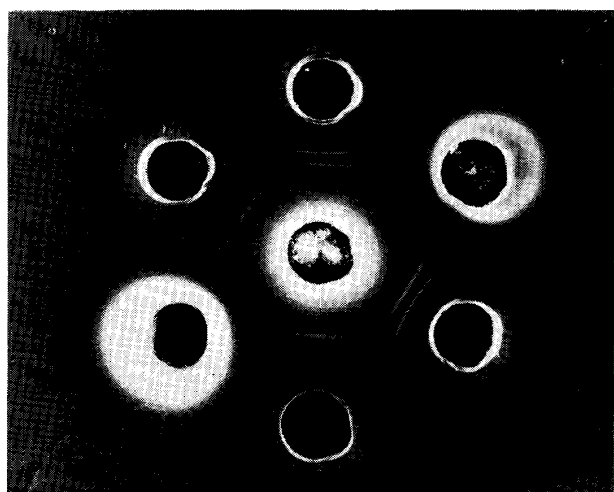
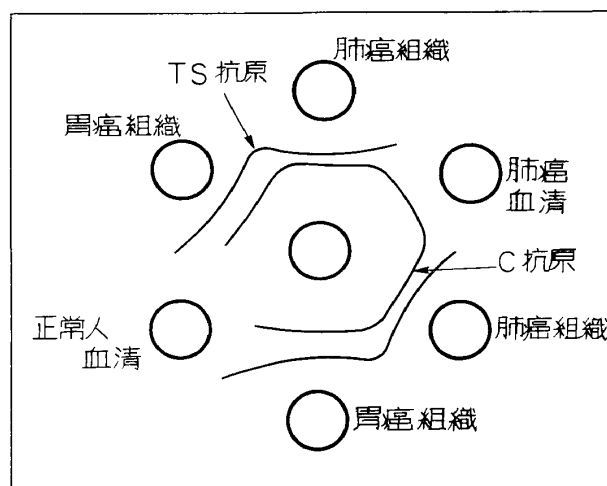


図 3 各種臓器における TS 抗原の分布



中央: 抗 B 分画血清
(正常人血清で吸収)

表5 各種組織中におけるTS抗原の分布

		腫瘍抽出液 (蛋白濃度 0.5%)	同一臓器健常部抽出液 濃 縮	
原 発 性 肺 癌 転肺 移腫 性瘍 胃 癌	1. 腺 癌	TS 抗 原 (+)	TS 抗 原 (+)	(+) (蛋白濃度 5.0%)
	2. "	" (+)	" (+)	(+) (蛋白濃度 6.2%)
	3. "	" (+)		
	4. "	" (+)		
	5. "	" (+)		
	6. "	" (+)		
	7. 扁平上皮癌	" (+)	" (+)	(+) (蛋白濃度 7.7%)
	8. "	" (+)	" (+)	(+) (蛋白濃度 6.7%)
	9. "	" (+)	" (+)	(+) (蛋白濃度 3.5%)
	10. 未分化癌	" (+)		
	11. "	" (+)	" (+)	(+) (蛋白濃度 4.0%)
	12. 絨毛上皮腫	TS 抗 原 (+)		
	13. "	" (+)		
	14. 肉 腫	" (+)		
	15. 腺 癌	TS 抗 原 (+)	TS 抗 原 (+)	(+) (蛋白濃度 3.0%)
	16. "	" (+)	" (+)	(+) (蛋白濃度 4.5%)
	17. "	" (+)		
	18. "	" (+)		

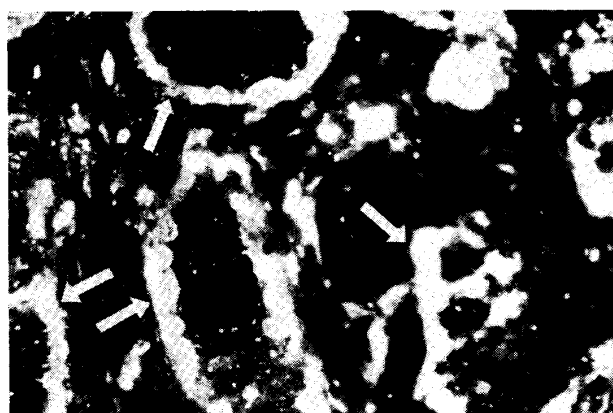


図4 TS抗原陽性の肺癌組織(蛍光抗体法)

の妨害等もあって未だ実用化していない。

総括ならびに考按

我々は肺癌組織の生理的食塩水抽出液の中の抗原を分析的に検討し、肺癌に比較的特異的な抗原が少なくとも2種類存在することを報告した。それらを我々は仮りにC抗原およびTS抗原とよんでおり、それらの性状を要約して表示すると、表6の通りである。

C抗原は癌組織および正常組織中に見出されるばかりでなく、癌患者の血清中にも高率に見

表6 C抗原およびTS抗原の性状の総括

	C 抗 原	TS 抗 原
DEAE セルローズ カラム	0.05~0.1 M 燐酸 緩衝液で抽出さる。	0.03~0.05M燐酸 緩衝液で抽出さる。
電気泳動	β_1	α_2
耐 熱 性	58°C 3分で失活	58°C 3分 活性 60°C 60分 活性 100°C 3分 失活
酵素処理	トリプシン 失活 パパイン 活性	トリプシン 失活 パパイン 失活
染 色 性	PAS (+) Sudan Black B (+) Benzidin (+) Amidoblack (+)	PAS (+) Sudan Black (+) Benzidin (+) Amidoblack (+)
分 布	正常組織、腫瘍組織に存在。肺癌患者血清中に高率に出現す。	一部の腫瘍組織に存在し、健常組織にも微量に検出さる。血清中には移行せず。

出されることはすでに述べた通りである。肺癌患者においてその血清中にC抗原が高率に見出されるのは、肺癌においては組織の破壊によってC抗原が組織中から血清中へ移行する頻度が特に高い為であろうと考えられる。肺癌組織自体あるいはそれに接する正常組織が自壊する

か、あるいは強く傷害されると、その分解産物が隣接部の血管内へ移行する。C抗原もそのような機構に伴って組織から血流中へ移行するのであろう。

一方、TS抗原は肺癌や胃癌等の組織内に高率にしかも高濃度に見出される蛋白である。ただし、同抗原はそのような癌組織だけでなく胎児の肝臓にも見出され、さらに、正常な肺や胃の組織でもそれを濃縮して蛋白濃度を上昇せしめると、それらの中にも同抗原が見出されることがある。すなわち、TS抗原は癌組織だけに特異的なものではなく、症例によっては正常組織中にも微量ながら存在している。

このように、TS抗原が癌組織に高濃度に見出され、正常組織や胃組織等には低濃度にしかに見出されないのは、1) TS抗原が癌化した細胞に高度に含まれている、2) TS抗原は上皮系細胞に多く含まれており、上皮起源である癌細胞に多く含まれている、のいずれかの原因によるであろうと考えられる。いずれの点に関しても我々の検索は未だ不十分であるから、今後さらに詳しく検討する予定である。

結 言

主としてゲル内拡散法によって検討した結果、我々は肺癌組織の生理的食塩水抽出液中に肺癌に比較的特異性の高い抗原が少なくとも2種類存在することを見出した。

その一つのC抗原は血清中に移行するので、肺癌の補助的診断法の指標となるように思われる。他の一つのTS抗原はC抗原よりもさらに肺癌に特異性が高いが、血清中に移行しないので血清学的診断法の指標にすることは困難である。

謝 辞

著者らは厚生省がん研究助成金による「がんの特異性を応用したがん診断法の開発に関する研究」班（班長：和田達雄教授）の一員として参加し、同班の班員諸氏から多くの助言を受けた。とくに、北大平井秀松教授には快く α -fetoglobulinに対する抗血清を御恵与下さった。ここに厚く感謝の意を表す次第である。

文 献

- 1) Abelev, G.I.: Acta Union Internat. Cancer, 19, 80, 1963
- 2) Abelev, G.I.: Cancer Res., 28, 1344, 1968
- 3) Bernfeld, P. et al.: Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 3, 95, 1960
- 4) Crowle, A.J.: J. Lab. Clin. Med., 52, 784, 1958
- 5) 遠藤康夫他：医学のあゆみ, 68, 519, 1969
- 6) Foley, E.M.: Cancer Res., 13, 835, 1953
- 7) Gold, P. et al.: J. Exp. Med., 121, 439, 1965
- 8) Gold, P. et al.: J. Exp. Med., 122, 467, 1965
- 9) Gross, L.: Cancer Res., 3, 326, 1943
- 10) Gross, L.: J. Immunol., 50, 91, 1945
- 11) Hughes, L.E. et al.: Brit. Med. J., 1, 209, 1964
- 12) 池田貞雄他：癌の臨床, 9, 205, 1963
- 13) 池田貞雄他：臨床免疫, 1, 231, 1969
- 14) 石川大刀雄：癌の免疫病理, 1, 97, 1965
- 15) Kitano, M. & Okada, Y.: J. Jap. Soc. Cancer Therapy, 2, 339, 1967
- 16) Kitano, M. & Okada, Y.: Bull. Chest Dis. Res. Inst., Kyoto Univ., 1, 1, 1968
- 17) 北野司久：京大胸部研紀要, 1, 91, 1968
- 18) Klein, G. et al.: Cancer Res., 20, 1561, 1960
- 19) Klein, G. et al.: Cancer Res., 23, 84, 1963
- 20) 岡田慶夫・池田貞雄：診療, 19, 1085, 1966
- 21) Old, L.J. et al.: Cancer Res., 21, 1281, 1961
- 22) Old, L.J. et al.: Ann. Rev. Med., 15, 167, 1964
- 23) 大内清太他：弘前医学, 15, 434, 1963
- 24) Rapport, M.M. et al.: Cancer, 8, 538, 1955
- 25) Scheidegger, J.J.: Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 7, 103, 1955
- 26) 高柳尹立：最新医学, 19, 900, 1964
- 27) Tatarinov, Ju.: Therap. Arch., 39, 43, 1967
- 28) Waldenstrom, J.: Acta Med. Scand., 367 (suppl.), 110, 1961
- 29) Witz, I. et al.: Brit. J. Cancer, 18, 397, 1964
- 30) Yachi, A. et al.: J. Nat. Cancer Inst., 40, 663, 1968
- 31) Zilber, L.A.: J. Nat. Cancer Inst., 18, 341, 1957