

癌胎児抗原 (Oncofetal Antigen-1) による婦人科 悪性腫瘍の予後に関する研究

新潟大学医学部産婦人科学教室 (主任: 竹内正七教授)

高 橋 正 明

A Study on Clinical Significance of Oncofetal Antigen-1 in Gynecologic Tumors

Masaaki TAKAHASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine, Niigata
(Director: Prof. Shoshichi Takeuchi)

概要 UCLA より提供を受けた UCLA SO-M 14を標的細胞とし、免疫粘着反応により、婦人科悪性腫瘍患者の病態と予後を抗 OFA-1抗体との関連において検討を加え、次の結果を得た。

1) 抗 OFA-1抗体は、絨毛癌 7 例中 7 例 (100%)、子宮頸癌56例中21例 (37.4%)、卵巣癌20例中10例 (50%)、未分化胚細胞腫 5 例中 5 例 (100%)、外陰癌 5 例中 3 例 (60%)、健康成人42例中 5 例 (11.9%) に陽性であった。

2) このうち絨毛癌 7 例、子宮頸癌12例、卵巣腫瘍(未分化胚細胞腫 2 例を含む)10例を継続的に Follow-up した結果、以下の事が判明した。

i) 絨毛癌 7 例全例抗体陽性であり、抗 OFA-1 抗体価が高値を持続するか上昇傾向を示す 6 症例では HCG 値は、LH レベルに安定し、抗体価の著しい下降を示した 1 症例では、腫瘍が全身臓器に転移し、腫瘍死に至った。

ii) 子宮頸癌12例では、9 例が抗体陽性で、その内、手術にて摘出された 7 例は抗体価の著明な変動を示さず、全例生存した。しかし遠隔転移を生じ照射療法を行った 2 例では、高抗体価を持続し、1 例は腫瘍が縮小し予後良好であったが抗体価の下降を示した例は椎骨転移がおり腫瘍死に至った。また抗体陰性であった 3 例の、臨床経過は良好であった。

iii) 卵巣癌10例中 6 例が抗体陽性であり、特に高抗体価 (×512) を示した胎児性癌の 1 例では、その後、抗体価の著明な低下を示し、腫瘍増大による死の転帰をとった。未分化胚細胞腫 2 例のうち高抗体価の持続を認めた 1 例は経過良好で化学療法にて腫瘍の著明な縮小を認めた。また抗体価が低下し、陰性化した 1 例は、他臓器 (肝・脳) 転移を来し腫瘍死に至った。以上より抗 OFA-1抗体の陰性例、抗体価の安定及び上昇例は予後良好であり、抗体価の低下例は予後不良の経過をとった。

Synopsis To investigate the immune response of patients with gynecologic cancer to a new cancer-related fetal antigen (OFA-1), anti-OFA-1 was titrated by the immune adherence method in these patients. A high prevalence of anti-OFA-1 was observed in a number of different histologic types of tumor and this fact shows that OFA-1 can be highly immunogenic in patients. Then in order to identify anti-OFA-1 profiles that correlate with prognosis and to understand the role of anti-OFA-1 behavior in vivo, I analyzed the anti-OFA-1 response of various gynecologic cancer patients in relation to the course of their disease. 1) Cases which had persistently high anti-OFA-1 levels following surgery and ones in which anti-OFA-1 titer increased to more than twofold were free of clinical diseases. 2) In cases in which anti-OFA-1 antibody increased and then dropped gradually, this was followed by clinical recurrence or metastasis. 3) Cases without response to OFA-1 were associated with no recurrence. Thus monitoring anti-OFA-1 in patients could have immediate clinical application in evaluating prognosis.

Key words: OFA-1・HMAg・Allo Ag・IA・Gynecologic malignancy

緒 言

腫瘍免疫学の進歩と共に、腫瘍と胎児組織の免疫学的抗原性の類似が注目され、現在まで、CEA、

AFP など種々の腫瘍胎児抗原 oncofetal antigen (以下 OFA と略す) が、知られている。しかし、これらの OFA はヒト生体に抗原性を有しておら

ず、またその腫瘍における生物学的意義の詳細は未だ不明といわざるをえない。

近年, Irie et al.⁵⁾により発見された oncofetal antigen-1 (以下 OFA-1 と略す) は Melanoma 細胞と胎児脳に共通に認められ、また生体に対して高い抗原性を有すると共に、この OFA-1 抗体は OFA-1 を有する細胞に障害作用を有する事から注目されている。

今回, Melanoma より確立された UCLA SO-M14 (以下 M14 と略す) を UCLA より分与をうけたのでこの細胞を標的細胞とし、婦人科悪性腫瘍患者血清の OFA-1 及びその抗体の免疫学的検索を行い、併せて抗 OFA-1 抗体の担癌生体における病態との関係について検索を行ってみた。

対象及び方法

1) 新潟大学医学部附属病院産婦人科に入院した、絨毛癌 7 例、子宮頸癌 56 例、卵巢腫瘍 20 例、外陰癌 5 例、健康婦人 42 例を研究対象とした。

2) 標的細胞: M14 細胞を標的細胞として使用した。M14 の培養には RPMI-1640 にて円形平底シャーレ内で培養を行つた。培養後、48 から 72 時間後、0.25% トリプシンにより細胞浮遊液を作製した。PBS で 3 回洗滌し細胞数を、 $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整した。又継代による抗原性発現の変化を考慮し、あらかじめ low passage の M14 を -78°C に分注凍結保存を行つて抗原性の一定化を計り、細胞を適宜融解し研究に供した。

3) 指示細胞: 高い IA receptor を有する O 型赤血球を採血後直ちに Alserver 溶液に浮遊させ冷所保存し、使用時に EDTA-GVB で 1 回、PBS で 2 回洗滌し、細胞数を $1 \times 10^7/\text{ml}$ に調整した。

4) 補体: 同一 Lot の東芝化学工業株式会社製の乾燥補体を用い、M14 細胞で吸収操作を行つた後、至適補体価を決定して使用した。

5) 患者血清: 遠心分離後 56°C 、30 分間の非働化を行い、 -20°C に分注保存した。

6) Allo 抗体¹⁾⁵⁾及び Heterologous membrane antigen¹⁾⁴⁾ (以下 HMAg 抗原と略す) に対する抗体の除去: 被検血清の抗 OFA-1 抗体以外の抗体の除去を行つた。Allo 抗体の吸収には M14 患者より樹立したリンパ球 (L-14) を用い、細胞数 4×10^7

個を $100\mu\text{l}$ の血清吸収に用い、HMAg 抗体の除去には bovine erythrocyte 2×10^8 個を $100\mu\text{l}$ の血清吸収に用いた (37°C 1 時間、その後 4°C 、一昼夜 incubation を行つた)。これらの抗体を吸収した後に IA 陽性の血清は抗 OFA-1 陽性であり、更に、Fetal/brain で吸収し、反応の陰性化によりそれを確認した。

7) Immune Adherence (免疫粘着反応): 図 1 に示す如く、Irie et al. の行っている方法に従い、判定は 50% の IA 陽性細胞を示す血清希釈倍数をもつて抗体価とした。また抗体価の $\times 2^2$ 以上の上昇を患者抗体価の上昇と判定した。

成 績

1) 抗 OFA-1 抗体と HMAg 抗体、抗 Allo 抗体 表 2 に示す如く、健康婦人 42 例の M14 細胞に対する陽性率は 23/42 (54.8%)、HMAg 抗体陽性率は 10/42 (23.8%)、抗 Allo 抗体陽性率は、8/42 (19.0%)、抗 OFA-1 抗体陽性率は 5/42 (11.9%) であつた。

2) 婦人科腫瘍における抗 OFA-1 抗体出現率

HMAg 抗体及び抗 Allo 抗体を吸収除去後 Fetal brain 吸収で確認した抗 OFA-1 抗体出現率

表 1 Immune adherence technique

- 1) Wash M-14 cells 2-3 times by PBS
- 2) Cell adjust to $1 \times 10^6/\text{ml}$ by PBS
- 3) 0.025ml of $1 \times 10^6/\text{ml}$ cells
0.1ml of patient's serum
incubate at 37°C for 90min.
- 4) Wash 2-3 times by PBS
- 5) Suspended in 0.025ml of 1/20 guinea pig serum
incubate at 37°C for 40min.
- 6) Add 0.025ml of $1 \times 10^7/\text{ml}$ HuE.
shaking at 37°C for 10min.
setting at 37°C for 20min.
- 7) Read rosette formation of HuE.

表 2 抗 OFA-1 抗体と連続吸収操作による HMAg 抗体、抗 Allo 抗体除去とその陽性率

吸収物質	陽性数/被検体数
未吸収	23/42
牛赤血球	13/23
牛赤血球と L14	5/13
牛赤血球、L14 と胎児脳	0/5

図1 絨毛癌患者の抗OFA-1抗体の推移とLH level

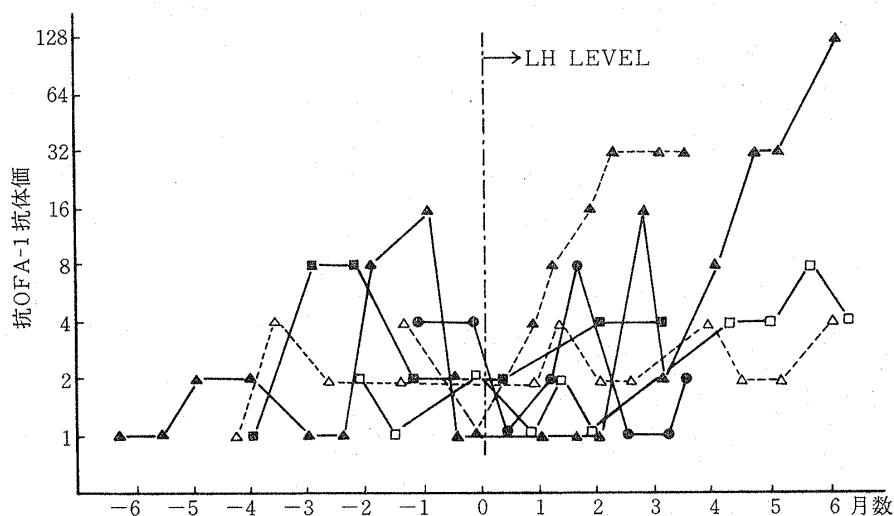
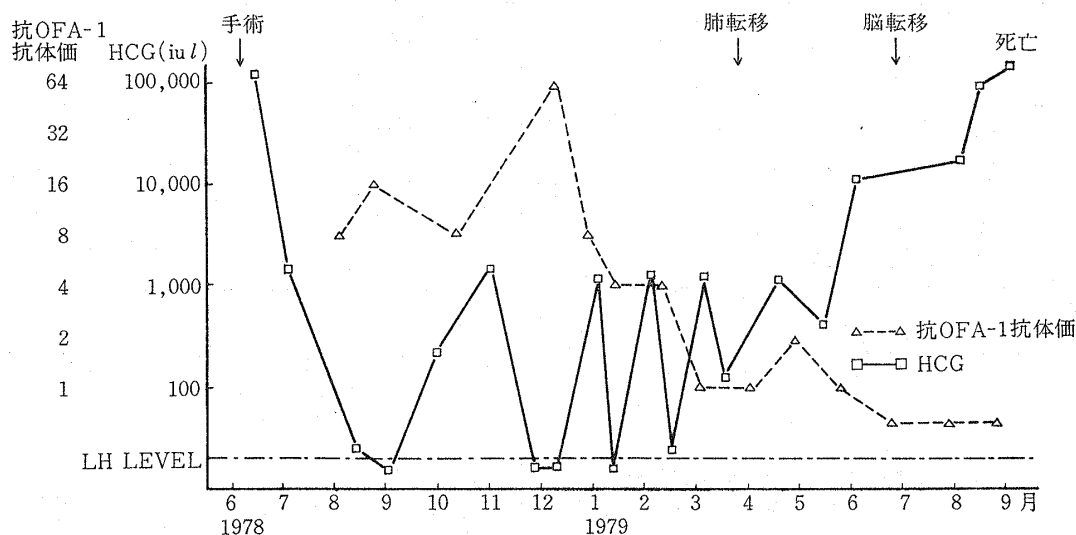


図2 絨毛癌症例(38歳, G6 P3)



は、絨毛癌7/7(100%), 子宮頸癌21/56(37.4%), 卵巣癌10/20(50%), 未分化胚細胞腫5/5(100%), 外陰癌3/5 (60%), 正常婦人5/42 (11.9%)であった。

3) 婦人科腫瘍の予後と抗OFA-1抗体価の推移

i) 絨毛癌では7例の内、抗体価の変動の少ない5例と抗体価がやや上昇した1例ではHCG値はLHレベルを維持した(図1)。又図2に示す如く抗体価の明らかな下降を認めた1例では、HCG値が上昇し肺・脳転移を来し死亡した。

ii) 子宮頸癌では手術療法を行ったI・II期の12例中9例が抗体陽性であったが、7例は抗体価の著明な変動は認められず予後良好であった(図

3)。遠隔転移を来し、照射療法を行った2例共抗体陽性であったが、抗体価の下降を認めた例では椎骨に転移が認められ腫瘍死に至った(図4)。

他の例では照射療法により腫瘍の縮小と共に抗体価の上昇が認められた(図5)。また抗体陰性であった3例の臨床経過は良好であった。

iii) 卵巣癌10例中6例が抗体陽性であり、抗体陰性4例と抗体価の著変を認めない3例の経過は良好であった。2例の抗体陽性未分化胚細胞腫の内、抗体価の著明な低下を認めた1例では腫瘍の増大と肝・肺への転移を生じ腫瘍死に至った(図6)。

又、抗体価の上昇傾向を認めたもう1例の未分

図3 予後良好な経過をとった子宮頸癌症例と抗OFA-1抗体価の推移

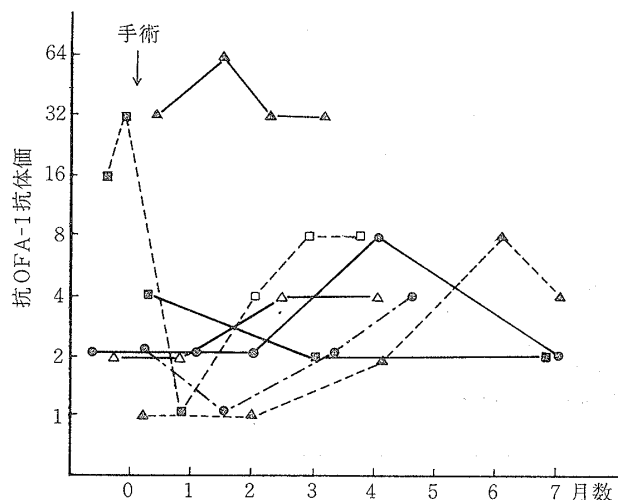


図4 予後不良な経過をとった子宮頸癌、椎骨転移例と抗OFA-1抗体価の推移

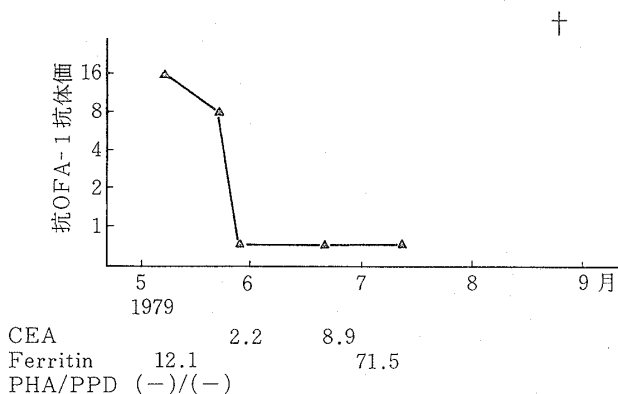


図5 照射療法により腫瘍の縮小をみた子宮頸癌例

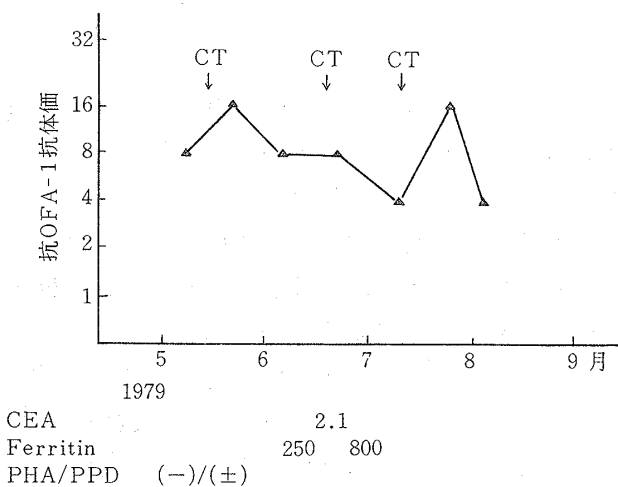


図6 予後不良な経過をとった未分化胚細胞腫と抗OFA-1抗体価の推移

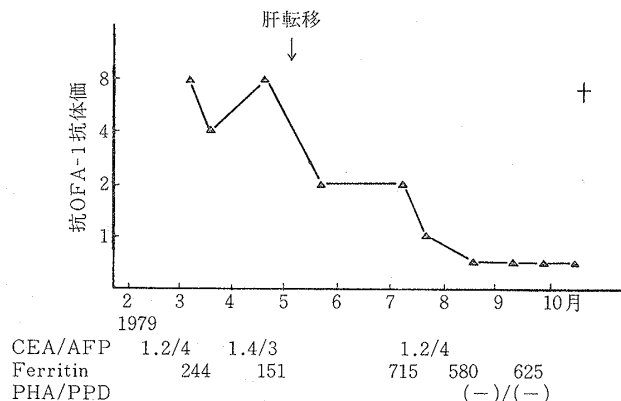


図7 予後良好な経過をとった未分化胚細胞腫例

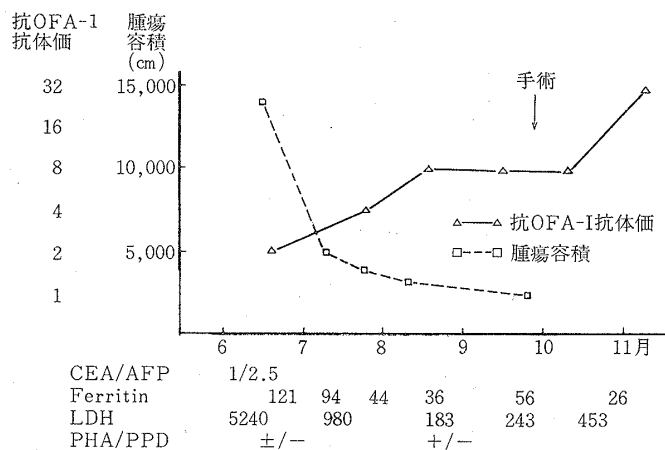


表3 婦人科腫瘍と抗OFA-1抗体出現率

疾患名	陽性数/被検体数
絨毛癌	7/7 (100)
子宮頸癌	21/56 (37.4)
卵巣癌	10/20 (50)
未分化胚細胞腫	5/5 (100)
外陰癌	3/5 (60)
健康婦人	5/42 (11.9)

又、高い抗体価(512倍)を示した胎児性癌は抗体の著明な低下と腫瘍の増大を認め腫瘍死に至った。

以上より抗OFA-1抗体価の婦人科悪性腫瘍と予後との関係は、最初より抗体陰性例、抗体価の安定例及び上昇例は予後は良好であるが、抗体価の低下例では予後不良であつた(表4)。

化胚細胞腫では超音波で計測した腫瘍容積の著しい縮小を認め、後に開腹し腫瘍の全摘出を行つた(図7)。

表4 婦人科腫瘍の予後と抗 OFA-1抗体価の推移

抗体価の推移	絨毛癌	子宮頸癌	卵巣癌 (未分化胚細胞腫も含む)	予後
陰性	0	3	4	良好
安定型	5	7	3	良好
増加	1	1	1	良好
減少 (4倍以上)	1	1	2	不良

考 察

OFA-1の抗原決定因子の化学的な本質は ganglioside M₂及びD₂である事が明らかにされているが、OFA-1の定義は癌組織及び胎児脳組織に共通する腫瘍関連抗原としての免疫学的特異性により定義されている。OFA-1とCEA及びAFPとの相違はそれらの抗原の胎児組織及び癌組織における分布が異なる事から明らかである。則ちCEAは内胚葉由来の消化器系に生じた腺癌に見出されたものであり、又AFPは肝癌あるいは胎児肝組織に存在する事が判明している。これに対しOFA-1は胎児の消化管、胎児肝及びヒト臍帯血血清からは検出されていない。更に、OFA-1はこれら2種の癌胎児抗原とは、生体内における免疫反応を惹起する明らかな免疫原性を有する点からも異なっている。

癌胎児抗原は従来 Carcinoembryonic antigen あるいは Oncofetal antigen と呼ばれていたが、精子・卵妊卵・胎芽及び胎児発生分化の誘導に必要な物質である事から Oncodevelopmental antigen (以下 ODA と略す) と呼ばれている。

種々の ODA は細胞が癌化する事により幼若化のプロセスがおこり染色体上の gene の switch on により産生されると考えられている。この OFA-1 も ODA に属すると考えられるが、生体が高い抗原性を有していることから、従来の ODA と性格を異にしているといえる。

この OFA-1 は種々の悪性腫瘍組織に含まれており、又抗 OFA-1 抗体は妊婦・絨毛性疾患他の婦人科癌血清中に認められている。

人癌細胞の腫瘍関連抗原検出に関して多くの報告がなされてきたが、人癌細胞の膜抗原分析を行う場合には、人は Allo 系であり、かつ培養液中の

種々の成分が培養細胞膜に取り込まれるため、種々の手技による免疫反応が陽性でも、その反応がどの抗原を認識しているかを確認せねばならない。

IA 反応を用いた抗 OFA-1 抗体の検索にも抗 OFA-1 抗体以外の抗体を検出してしまう危険性がある。すなわちその、OFA-1 以外の膜抗原の1つに HMAg がある。これは、fetal bovine serum を含む medium で培養を行う際に、一部の成分が細胞膜にとりこまれるために生ずる。人ではこの抗原に対する抗体を有している可能性があるため被検血清から、この抗体を除去しなければ、抗 OFA-1 抗体との鑑別が不可能となる¹⁾⁴⁾⁵⁾。この抗体を除くには HMAg を含まない臍帯血血清を用いて標的細胞の培養を行う方法があるが、本研究では被検血清 HMAg を含む、羊、または牛血球を用いて、HMAg 抗体の吸収を行つた。また、人は Allo 系のため、Allo 抗体の除去をしなければならないので、M14を樹立した同一患者から EB ウィルスにて樹立したリンパ球(L14)を用いて吸収操作を行い、陽性の場合には抗 OFA-1 抗体であることを fetal brain の吸収による免疫反応消失により確認した。その結果 HMAg 抗体、Allo 抗体はそれぞれ23.8%、19.0%にみとめられ、人癌細胞の膜抗原分析の再検討が必要と考えられた。

抗 OFA-1 抗体は in vitro において、家兎補体の存在下で、OFA-1 陽性の M14細胞に対して細胞障害性を示し、又 in vivo では OFA-1 陽性細胞の破壊を惹起する可能性が Sidell et al.⁸⁾の実験によつて示唆されている。又細胞障害性は標的細胞と抗体と補体を同時に incubate した時に認められ、補体を抗原と抗体を incubation した後に加えた場合には細胞障害性は明らかに阻害される。これと同様の現象は Old et al.⁷⁾による Thymus Leukemia Antigen (TLAg) 及び Aoki et al.³⁾によるマウスにおける tumor-associated fetal antigen に於て認められている。これら特異抗体による、細胞膜抗原の消失は Antigenic modulation (抗原修飾) と考えられる。

抗 OFA-1 抗体価と担癌生体の予後との関係において最初より抗体陰性群でも予後が良好なもの

があり陽性群との明らかな差がなかった。これは体液性免疫より細胞性免疫が宿主腫瘍関係に主役を演じていることとの関連性も考えられる。しかし詳細は不明である。

次に follow-up に於て、腫瘍が存在していても、抗体価が安定または増加している群では、陰性化する群に比し化学療法が有効で予後が良好なのは、OFA-1 抗体が免疫学的に腫瘍増殖を抑制することが可能であることを示唆しており、これに反し抗体価の減少群で予後が悪いのは、宿主腫瘍関係で腫瘍に対する宿主の免疫抑制能が anergy 的になり、腫瘍増加が優位になった結果と考えられる。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師竹内正七教授に篤く御礼申し上げますと共に、終始御指導いただいた香川医科大学講師樋口正臣先生に心から深謝致します。

文 献

1. 樋口正臣, 竹内正七: 腫瘍細胞の膜抗原分析における問題点. 新潟医学会雑誌, 96: 281, 1982.
2. 樋口正臣, 竹内正七: 高度の抗原性を有する癌胎児抗原 Oncofetal Antigen-1 について. 臨床免疫, 15(Suppl. 7): 153, 1983.
3. Aoki, T. and Johnson, P.A.: Suppression of G(Gross) leukemia cell-surface antigens: A kind of antigenic modulation. J. Natl. Cancer Inst., 49: 183, 1973.
4. Irie, R.F., Irie, K. and Morton, D.L.: Characterization of heterologous membrane antigen on human culture cells. J. Natl. Cancer Inst., 53: 1545, 1974.
5. Irie, R.F., Irie, K. and Morton, D.L.: A membrane antigen common to human cancer and fetal brain tissues. Cancer Res., 36: 3510, 1976.
6. Irie, R.F., Sze, L.L. and Saxton, R.E.: Human antibody to OFA-1, a tumor antigen, produced in vitro by Epstein-Barr virus-transformed human B-lymphoid cell lines. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 79: 5666, 1982.
7. Old, L.J., Stockert, E., Boyse, E.A. and Kim, J.H.: Antigenic modulation. loss of TL antigen from cells exposed to TL antibody, Study of the phenomenon in vitro. J. Exp. Med., 127: 523, 1968.
8. Sidell, N., Irie, R.F. and Morton, D.L.: Immune cytotoxicity of human malignant melanoma by antibody to oncofetal antigen-1 (OFA-1). I. Complement dependent cytotoxicity. Cancer Immunol. Immunother., 7: 151, 1979.

(特別掲載 No. 5587 昭59・9・10受付)