

## Ganglioside GM2の正常妊娠における組織局在, 血中動態およびその対応抗体の解析

新潟県立小出病院産婦人科

\*新潟大学医学部産科婦人科学教室

\*\*帝京大学医学部産科婦人科学教室

\*\*\*静岡県立大学薬学部生化学教室

鈴木 孝明 安達 茂実\* 青木 陽一\* 湯沢 秀夫\*  
金沢 浩二\* 竹内 正七\*\* 平林 義雄\*\*\*

### Analysis of GM2 and anti-GM2 Antibody in Normal Pregnancy

Takaaki SUZUKI, Shigemi ADACHI\*, Yoichi AOKI\*,

Hideo YUZAWA\*, Koji KANAZAWA\*, Shoshichi TAKEUCHI\*\*

and Yoshio HIRABAYASHI\*\*\*

*Department of Obstetrics and Gynecology, Koide Hospital, Niigata*

*\*Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University School of Medicine, Niigata*

*\*\*Department of Obstetrics and Gynecology, Teikyo University School of Medicine, Tokyo*

*\*\*\*Department of Biochemistry, University of Shizuoka School of Pharmaceutical Sciences, Shizuoka*

**概要** Ganglioside GM2およびGD2である Oncofetal Antigen Immunogenic (以下 OFA-I) は癌胎児抗原の一つで強い免疫原性を持つが、正常人ではその対応抗体はほとんど認められていない。ところが、正常妊婦血清中には抗 OFA-I 抗体が高率に認められ、OFA-I が妊娠により特異的に表現されるものと推測される。そこで今回は、OFA-I のうち GM2につき正常妊娠におけるその局在、血清中濃度および対応抗体の出現動態を検討し、次の結果を得た。

① 正常妊娠 6 症例の臍帯血、母体血および羊水を分娩時に採取し、その GM2量を Thin Layer Chromatogram (TLC)-Immunostaining 法にて調べると、母体血清中で平均 76.7 pmol/ml (5.0~120.0 pmol/ml) と最も多量に検出され、臍帯血清中でも平均 10.8 pmol/ml (3.0~22.0 pmol/ml) 検出されたが、羊水中には検出されなかった。

② 妊娠時の各組織より gangliosides を抽出し GM2量を TLC-Immunostaining 法にて調べると、妊娠初期脱着膜 4 検体中 2 検体に 75, 70 pmol/g、分娩時胎盤 2 検体中 1 検体に 25 pmol/g の GM2が検出された。しかし、妊娠初期絨毛組織 4 検体には GM2は検出されなかった。

③ 妊娠時の GM2組織局在を免疫酵素抗体法 (ABC 法) により調べたところ、脱着膜内に陽性所見が得られたが、絨毛組織には陽性所見は得られなかった。

④ 妊婦血清 264 検体の抗 GM2抗体活性を ELISA にて測定したところ、妊娠 16 週以後産褥 5 日目に至るまで有意に抗体活性の上昇を認めた。

以上より、GM2は妊娠により、今まで考えられていた絨毛組織ではなく脱着膜内で多量に表現され、血清中に遊離され、その結果母体感作が起こり抗 GM2抗体が血清中に出現したと推察された。

**Synopsis** Oncofetal antigen immunogenic (OFA-I), an antigen common to the fetal brain and some malignant tumors (derived from ectoderm), is immunogenic in man, and anti-OFA-I antibody appears in the sera of not only malignant patients but also pregnant women. Biochemical analysis revealed that OFA-I is ganglioside GM2 and GD2. In the present study, GM2 and anti-GM2 antibody were investigated as to the kinetics in pregnant sera and the tissue localization in placenta and decidua.

The results obtained were as follows;

① The concentration of GM2 was 76.7 pmol/ml (mean) in pregnant sera and 10.8 pmol/ml (mean) in cord sera. GM2 was not measurable in the sera of non-pregnant women.

② GM2 was detected by thin layer chromatogram-immunostaining methods in the gangliosides extracted from decidua and term placenta. GM2 was, however, undetected from villi at an early stage.

③ In immunohistological analysis for GM2, positive findings were observed in decidua and in villous stroma of term placenta. In contrast, no distinct positive findings were observed in trophoblast at any stage.

④ Anti-GM2 antibody appeared in pregnant sera at an early stage and was detectable up to the 5th day postpartum.

**Key words:** Ganglioside • GM2 • Placenta • Decidua • Pregnancy

## 緒 言

細胞膜の重要な構成成分の一つである糖脂質は, 細胞の腫瘍化に伴い量的, 質的に変化し, 多くの腫瘍抗原の抗原決定基となつている<sup>1)</sup>. また, 糖脂質は細胞相互の認識や, 機能, 形態の変化に重要な働きをしており, さらに個体発生に直接に関与する重要な分子としても報告されている<sup>3)</sup>. 一方, melanoma 細胞と胎児脳組織に共通な抗原として報告されたいわゆる癌胎児抗原の一つである OFA-I<sup>4)</sup>は, 抗原解析の結果, 糖脂質の中の ganglioside GM2<sup>23)</sup>および GD2<sup>17)</sup>と判明した. GM2, GD2は, 強い抗原性を有し, 悪性腫瘍患者血中には高率に対応抗体の出現が報告されている<sup>6)</sup>. しかし, 脳以外の正常組織ではごく微量にしか表現されておらず, 健康人ではその対応抗体はほとんど認められていない. ところが例外的に正常妊婦血清中に抗 OFA-I 抗体が高率に認められ<sup>5)7)</sup>, OFA-I が妊娠現象と深く関わっている可能性が強く示唆される. しかし, 現在まで妊娠時における GM2, GD2の局在やその生理活性を明らかにした文献は示されていない.

今回は, まず GM2につき, 妊娠時における動態および生理活性を明らかにする目的にて組織局在, 血清中濃度および対応抗体の出現動態を検討したので報告する.

## 研究材料および研究方法

### 1. 血清

正常妊娠135例より264検体を採取し, 血清分離後ただちに $-20^{\circ}\text{C}$ にて使用時まで凍結保存した. 135例中24例は妊娠初期, 中期, 後期, 分娩時, 産褥5日目, 産褥30日目と連続的に採血した. なお健康男子12例, 健康未妊女子16例の血清を対照とした.

### 2. 組織材料

子宮筋腫など医学的適応により摘出された初期妊娠子宮着床部5例(7~9週), 分娩時胎盤10例(前置癒着胎盤のため帝切後子宮全摘した1例を含む), 流産絨毛4例を, 採取後ただちに Tissue Tek O.C.T. compound (Miles Lab., Inc.) に包埋後, 液体窒素中で急速に凍結し, 厚さ $5\mu\text{m}$ の切片を cryostat にて作成し, アセトンにて10分間固定し染色材料とした.

また, この中の初期絨毛および脱落膜各4検体, 流産絨毛3検体, 正常胎盤2検体は細切し gangliosides の抽出に用いた.

### 3. Gangliosides

ウシ脳組織より単離した GM1, GM2, GM3, GD1a を Biosynth A.G. より購入し, 薄層クロマトグラフィー (TLC) にて単一のバンドになることを確認し実験に供した. Sialylparagloboside, GM4は平林義雄博士(静岡県立大学薬学部)より供与された.

### 4. 使用抗体

GM2の検出には, GM2で免疫した家兎血清を affinity purify<sup>12)</sup>して用いた(平林博士より供与). また, ELISA の二次抗体として, ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト免疫グロブリンを用いた (Cappel Lab.).

### 5. 組織よりの gangliosides 抽出方法

組織よりの gangliosides 抽出は, Leeden et al. の方法<sup>15)</sup>に従った. まず組織を homogenizer にて細切し, メタノール-クロロホルム-蒸留水(60:30:8, v/v/v)にて, 30分間2度溶出し粗脂質画分を得た. この粗脂質画分を DEAE-Sephadex A-25カラムにかけ酸性脂質画分を得, アルカリ処理(0.2N NaOH メタノール $37^{\circ}\text{C}$ , 2時間)し, 氷酢酸にて中和したのち, Sep-Pak  $\text{C}_{18}$  (Waters 社 USA) にて脱塩した. さらに, シリカゲルカラム

(Iatrobeads 6RS-8060) につけ、gangliosides を精製した。

## 6. 血清および羊水中よりの gangliosides 抽出方法

血清は1ml, 羊水は0.2ml を1回の分析に用いた。血清または羊水を凍結乾燥し、2ml のクロロホルム-メタノール (2 : 1, v/v) を一夜加え抽出する。濾過後、残渣をクロロホルム-メタノール-水 (5 : 4 : 1, v/v/v) で洗浄し、洗液を濾液と合わせ窒素ガス流下で溶媒を飛ばす。0.1N NaOH クロロホルム-メタノール (2 : 1, v/v) 溶液2ml を一夜加え加水分解したのち、4℃で2日間透析し凍結乾燥する。クロロホルム-メタノール (2 : 1, v/v) で溶解し、溶媒を留去し、真空デシケーター中で一夜乾燥させる。0.5ml 無水ピリジンに完全に溶解し、0.5ml 無水酢酸を加え室温で18時間放置しアセチル化する。少量のトルエンを数回加え、共沸させながら窒素ガス流下溶媒を留去する。少量のアセトン-ジクロロエタン (1 : 1, v/v) に溶解しジクロロエタンで調製したフロリジルカラム (Frorisil 60~100メッシュ) にのせる。アセトン-ジクロロエタン (1 : 1, v/v) を5ml 流し、糖脂質のアセチル化物を溶出させ、溶媒を留去し一夜乾燥する。少量のクロロホルム-メタノール (2 : 1, v/v) に溶解し、3%ナトリウムメチラートメタノール溶液を2ml 加え脱アセチル化する。過剰の酢酸エチルで中和し、4℃で2日間透析脱塩し凍結乾燥する。一定量のクロロホルム-メタノール (2 : 1, v/v) に溶解し定量に用いる。

## 7. Gangliosides の検出方法

### 1) TLC-Immunostaining 法

Higashi et al.<sup>11)</sup> の TLC-Immunostaining 法に若干の変更を加え GM2 量を定量した。まず gangliosides を Polygram-Sil G (Macherey-Nagel 社) 上で、メタノール-クロロホルム-0.02% CaCl<sub>2</sub> (55 : 45 : 10, v/v/v) の溶媒系にて展開し、風乾後 1% ウシアルブミン、1% ポリビニルピロリドン、0.02% NaN<sub>3</sub> を含む 0.01M PBS (溶液 A) にて室温で1時間ブロッキングする。つぎにラビット抗 GM2 抗体を注ぎ (100μl/cm<sup>2</sup>) 4℃一夜

反応させ、0.1% Tween 20-0.01M PBS にて洗浄後、再び溶液 A に15分間浸した。つぎにビオチン化ヤギ抗ラビット IgG を室温にて30分間反応させ、0.01M PBS にて洗浄後、Avidin Biotin Peroxidase Complex (ABC) をプレートに注ぎ室温にて30分間反応させた。PBS で洗浄後、4-クロロ-1-ナフトール-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (4-クロロ-1-ナフトールを3 mg/ml でメタノールに溶解し、5倍量の100mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.6) で希釈し、さらに最終濃度0.01%になるように H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を加える) を室温で15分間反応させ、水で洗浄し乾燥させた。反応部位は青紫色スポットとして検出され、これを島津二波長 TLC スキャナーにて定量した。

### 2) 組織酵素抗体染色法

GM2 の組織局在を酵素抗体法にて検索した。アセトン固定した組織切片を、PBS に充分浸し、一次抗体としてラビット抗 GM2 抗体を室温にて2時間反応させ、免疫酵素抗体法 (ABC 法) にて処理し、ジアミノベンチジン (DAB)・H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> にて褐色に発色させた。核染色にはメチルグリーンを用いた。

## 8. 抗 GM2 抗体測定方法

血清中抗 GM2 抗体の測定は、Tai et al.<sup>17)</sup> の ELISA による方法に若干の変更を加えた<sup>5)</sup>。概説すると、抗原である GM2 をエタノールに溶解し、96穴マイクロタイタープレート (Nunc-Immuno Plate I) に1μg/well 分注し、乾燥により固相させる。0.01M PBS + 1% ヒトアルブミン (PBS-HA) にてブロッキングしたのち、一次抗体として被験血清を加え、室温にて60分間反応させ、PBS-HA にて2回洗浄した。二次抗体としてペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト免疫グロブリン (Cappel Lab.) を加え、室温にて60分間反応させた。O-フェニレンジアミンを加え発色させたのち、波長455.5 nm での吸光度を測定し (ラボサイエンス社 SLT210)、抗 GM2 抗体活性とした。

## 9. 抑制試験

血清100μl あたり GM1, GM2, GM3, GD1a をそれぞれ10~10<sup>-5</sup> μg 加え、4℃一夜反応させ、遠心後、血清中の抗 GM2 抗体活性を測定した。操作前後の抗体活性を測定し、以下の式により抑制率

を求めた.

%抑制率 =

$$\left( 1 - \frac{\text{吸収後抗 GM2抗体活性}}{\text{吸収前抗 GM2抗体活性}} \right) \times 100$$

### 実験結果

#### 1. 抗 GM2抗体特異性の検討

TLC-Immunostaining 法にてラビット抗 GM2 抗体の特異性を確認した(図 1). GM2とのみ特異的に反応し, 他の gangliosides とは反応しなかった.

#### 2. 血清中および羊水中の GM2量測定

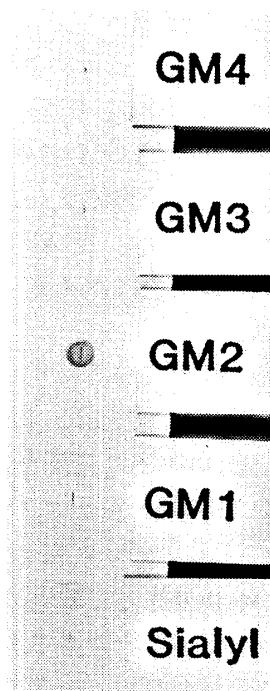


図 1 抗 GM2抗体の特異性の検討

表 1 正常妊娠における母体血・臍帯血・羊水中の GM2量測定

症 例	GM2(pmol/ml)		
	母体血	臍帯血	羊 水
J. N.	5	N.E.* <sup>1</sup>	N.D.* <sup>2</sup>
H. T.	120	7	N.D.
E. S.	70	22	N.D.
J. O.	76	3	N.D.
K. S.	79	16	N.E.
A. K.	110	6	N.D.

\*<sup>1</sup> N.E.: not examined

\*<sup>2</sup> N.D.: not detected

正常妊娠 6 症例の母体血・臍帯血・羊水を分娩時に採取し, その GM 2 量を TLC-Immuno-staining 法にて測定した(表 1). GM2は, 母体血清中で5.0~120.0pmol/ml 平均76.7pmol/ml, 臍帯血清中で3.0~22.0pmol/ml 平均10.9pmol/ml 検出されたが, 羊水中には検出できなかった. 健康未妊女子 6 名を対照とし, 血清中の GM2量を測定したが, GM2は検出されなかった. つぎに, 妊娠の各段階における母体血清中 GM2量の変化を調べた. 正常妊娠14例を対象とし, 妊娠初期から産褥30日目まで経時的に採血し GM2量を測定した(図 2). 妊娠初期より産褥30日目に至るまで血清中に GM2は存在し, 時期的差異は認められなかった.

#### 3. 組織中 GM2量測定

妊娠各組織より抽出した gangliosides 中の GM2量を TLC-Immunostaining 法にて測定した(表 2). 妊娠初期脱落膜 4 検体中 2 検体に75 pmol/g, 70pmol/g, 分娩時胎盤 2 検体のうち 1 検体に25pmol/g の GM2が検出された. しかし, 初

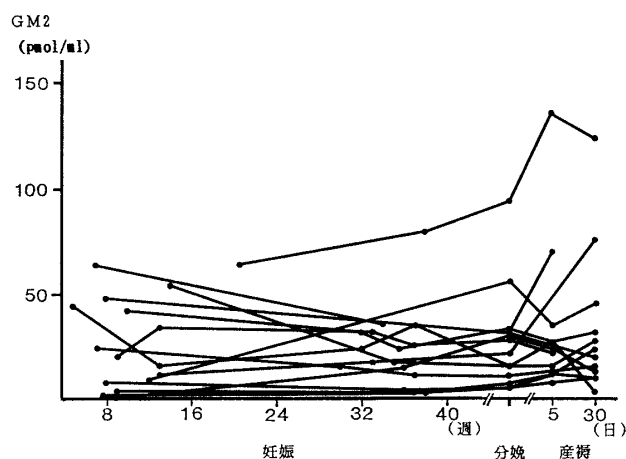


図 2 妊娠経過に伴う母体血清中 GM2量の変化

表 2 妊娠各組織中の GM2量

組 織	GM2(pmol/g)
脱落膜	75 , 70 , N.D. , N.D.
妊娠初期絨毛	N.D. , N.D. , N.D. , N.D.
流産絨毛	N.D. , N.D. , N.D.
分娩時胎盤	25 , N.D.
子宮筋層	N.D. , N.D.

N.D.: not detected

期絨毛4検体, 流産絨毛3検体および子宮筋層2検体より抽出した gangliosides 中には GM2は検出されなかつた。

#### 4. GM2組織局在の検討

初期妊娠子宮着床部5検体, 流産絨毛4検体, 正常胎盤10検体の凍結切片を用い, GM2局在をABC法により検討した。初期妊娠子宮着床部では全検体とも脱落膜細胞層内に陽性所見が認められたが, 絨毛細胞および絨毛間質には陽性所見は認められなかつた(写真1)。流産絨毛でも, 絨毛細胞および絨毛間質に陽性所見は認められなかつた。妊娠末期胎盤でも脱落膜層内に陽性所見を認めるが, 絨毛組織には陽性所見は得られなかつた。

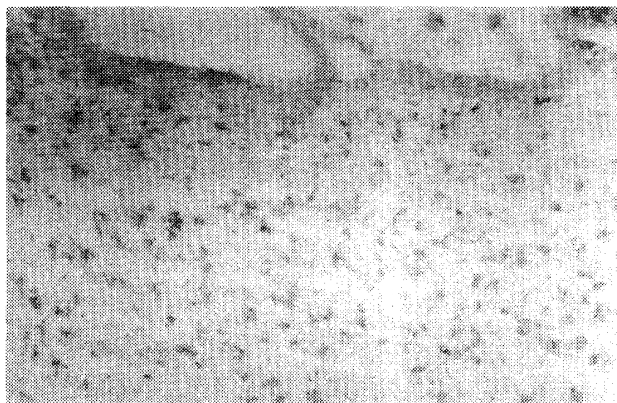


写真1 妊娠子宮着床部(8週)におけるGM2の組織局在(×100)

表3 妊婦血清中の抗GM2抗体活性

血 清	検体数	抗体活性 ( $A_{455.5}$ ) <sup>a)</sup>
健康		
男子	12	$0.162 \pm 0.244$
女子	16	$0.275 \pm 0.333$
妊娠		
<16週	59	$0.326 \pm 0.392$
16≤ <28週	16	$0.547 \pm 0.590^b)$
28≤ <36週	59	$0.470 \pm 0.458^c)$
36≤	29	$0.476 \pm 0.391^c)$
分娩時	50	$0.454 \pm 0.463^c)$
産褥		
5日目	30	$0.382 \pm 0.443^b)$
30日目	21	$0.225 \pm 0.482$

<sup>a)</sup>: 平均±標準偏差 (in triplicate)

<sup>b)</sup>:  $p < 0.05$  対健康男子

<sup>c)</sup>:  $p < 0.01$  対健康男子

#### 5. 血清中抗GM2抗体の検討

妊婦血清中の抗GM2抗体活性をELISAを用いて測定したところ, 妊娠初期より抗体活性の上昇が認められ, 産褥5日目まで持続し, 産褥30日目には低下していた(表3)。妊娠16週以後より産褥5日目までの期間と, 健康男子との間に統計学的有意差が認められた。

つぎに, 経産婦19例, 初産婦5例を妊娠初期より産褥30日目まで連続的に採血し, 症例ごとに抗GM2抗体活性の推移を検討した(図3)。健康男子の平均+2 S.D. ( $A_{455.5} = 0.667$ )を正常範囲の上限とし, 一度でも正常範囲を超えた症例を抗GM2抗体陽性例とすると, 陽性例は経産7/19例(36.8%), 初産2/5例(40.0%), 計9/24例(37.5%)

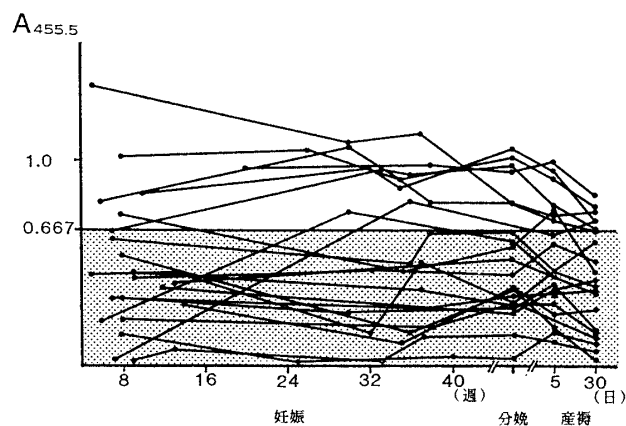


図3 妊娠経過に伴う抗GM2抗体の推移

表4 各種糖脂質による妊婦血清中抗GM2抗体活性の抑制効果

血清 \ 糖脂質 <sup>a)</sup>	GM1	GM2	GM3	GD1a
1(1.121) <sup>b)</sup>	0%	100%	1.4%	8.6% <sup>c)</sup>
2(1.554)	0%	100%	5.1%	0%
3(1.681)	0%	79.5%	22.3%	21.2%
4(1.128)	0%	88.7%	11.3%	24.7%
5(1.257)	0%	88.8%	4.1%	32.6%
6(1.317)	0%	100%	9.7%	100%
7(1.027)	19.1%	100%	34.2%	80.7%
8(1.167)	1.2%	31.6%	53.5%	12.2%
9(1.588)	0%	27.6%	30.0%	14.7%

<sup>a)</sup>: 血清100 $\mu$ l あたり10 $\mu$ g 使用

<sup>b)</sup>: 抗GM2抗体活性 (455.5nm における吸光度)

<sup>c)</sup>: %抑制率

$$\left(1 - \frac{\text{吸収後抗体価}}{\text{吸収前抗体価}}\right) \times 100$$

であつた。この抗 GM2抗体陽性例 9 例中 7 例は、妊娠初期（最も早い症例では 6 週）より抗体活性の上昇を認め、以後産褥 5 日目まではほぼその抗体活性レベルを保ち、産褥 30 日目には低下する傾向を示した。

つぎに、これら陽性例の血清中抗 GM2抗体活性の特異性を検討した。血清 100 $\mu$ l あたり 10 $\mu$ g の gangliosides を用いた時の抑制率を、表 4 に示した。全検体とも GM2により抗体活性は明らかに抑制されるが、5/9例(55.6%)では他の gangliosides による抑制効果が少なく、GM2に特異的な抗体が主体をなしていることが確認された。

### 考 案

胚および胎児に特異的に出現する抗原は、個体が成立する過程で、細胞間の相互認識や器官の形成に直接関与する重要な分子として注目される。その代表的な例は F9<sup>8)</sup>抗原であろう。マウスの teratocarcinoma F9には初期胚と共通の抗原があり、抗原エピトープは X-hapten 構造を有する糖脂質であつた<sup>13)</sup>。さらに、多価の X-hapten が初期胚細胞の decompaction を引き起こすことも Fenderson et al. により示された<sup>9)</sup>。この stage-specific embryonic antigen (SSEA) 系は、teratocarcinoma のみならず他の癌細胞にも表現され、その対応抗体は tumor marker として臨床応用されるに至っている<sup>2)</sup>。

一方、melanoma 細胞にも胎児脳と共通する抗原があり、OFA-I と命名され、後に、ganglioside GM2および GD2であることが判明した。OFA-I は胎児に出現する点や、生化学的性状としては糖脂質に属する点など SSEA 系と似ている。ところが、正常妊婦血清中における対応抗体の陽性率を見ると、SSEA 系では低値<sup>4)</sup>であるのに対し、本研究でも示したごとく OFA-I では高値を示した。このことは、OFA-I が妊娠生理に関し、重要である可能性を示唆している。しかし、現在まで OFA-I の局在や生理活性、対応抗体の推移など不明な点が多く、生化学的検討を含めその解明が待たれていた。そこで、本研究では、OFA-I のうちまず GM2に関し妊娠時におけるその局在、血清中濃度および対応抗体の推移を生化学的ならびに免疫学

的手法により検索した。

まず、筆者は妊娠中どこに GM2が存在するのか検討した。GM2の起源の可能性として、胎児側と母体側に大別することができる。GM2は胎児脳に多量に含まれていることから、胎児脳より胎児血清中に遊出し胎盤を経由して母体血清中に出現する可能性がまず考えられる。しかし、本研究の母体血清中と胎児血清中の GM2量の測定結果では、母体血清中に最大量の GM2が含有されていた。また、胎児脳が GM2の起源であれば、糖脂質の代謝動態より考えて、産褥 30 日目には血清中に GM2が存在しないはずである。ところが、産褥 30 日目の血清中 GM2量を測定してみると、悪性腫瘍患者の血清中濃度<sup>21)</sup>に匹敵する多量の GM2が全検体で証明でき、GM2の起源が母体側であることが強く示唆された。そこで、妊娠子宮の各部分の GM2量を、TLC-Immunostaining 法により検索した。従来は、絨毛細胞、とくに流産絨毛に GM2が存在すると考えられていたが<sup>7)</sup>、流産絨毛も含め絨毛組織より抽出したいずれの gangliosides から GM2は証明できず、脱落膜の 2/4例に高濃度の GM2が証明された。免疫組織染色の結果も同様に、絨毛細胞上には陽性所見が得られず、脱落膜内の細胞群に陽性所見が認められた。なお分娩時の胎盤 1/2例に含有されていた 25pmol/g の GM2は胎盤中の脱落膜由来の GM2と考えられる。当教室では、入江博士 (UCLA) より GM2と反応する抗体 (mouse monoclonal antibody : 202)<sup>19)</sup>の供与を受け、正常妊娠や妊娠中毒症における変化を観察し、絨毛細胞上に 202抗体と反応する抗原が存在することを報告してきた。しかし、202抗体は GM2とも反応するが、それよりはるかに強く GM4と反応することが報告されており、絨毛細胞上の 202抗体と反応する抗原は GM2よりは GM4と考えられる。

つぎに、ELISA を応用し抗 GM2抗体を計測した。その結果、妊娠により GM2と反応する抗体が血清中に高頻度に出現し、そのうちの 55.6%が GM2特異であることを抑制試験にて確認した。この事実は、妊娠により GM2の感作が行われたことを示唆している。同一症例の抗 GM2抗体の推移

を調べても、妊娠現象とよく平行し、妊娠初期より活性の上昇を認め、産褥5日目までその活性を維持し、妊娠現象の終息する産褥30日目では活性が低下していた。

では、細胞障害性を有する抗 OFA-I 抗体<sup>16)</sup>は生体内ではどのような働きをしているのであろうか。抗 GM2抗体は人ではほとんどが IgM 抗体であり胎盤通過性はなく、胎児には直接影響しないと考えられる。また、絨毛細胞は GM2を表現しておらず標的細胞とはなりにくく、絨毛細胞障害性には働かないと考えられる。予備実験ではあるが、高い抗 GM2抗体活性を有する妊婦血清は、GM2を多量に含む melanoma 細胞(M14)に対しては、殺細胞効果を認めるが、GM2の表現されていない正常絨毛細胞に対しては、殺細胞効果を認めなかった。では、GM2を表現する脱落膜に対してはどうであろうか。筆者らの報告のごとく<sup>5)</sup>、妊娠が継続する正常妊娠や胎状奇胎妊娠では、高い抗 GM2抗体活性を有する例が多いのに対し、流産例ではいずれも低い抗体活性を示す。このことは、脱落膜に対しても抗 GM2抗体は、細胞障害性には働いていないと推測される。一般に、癌細胞は自己の抗原を積極的に分泌し、宿主の免疫的監視機構から逃れている。C57BL/6マウス由来の melanoma 細胞(B-16)より分泌された ganglioside GM3が抑制 T細胞を induction phaseにおいて速やかに誘導する活性があることが報告されている<sup>20)</sup>。妊娠においても、GM2が血中に出現することはこの点からも興味深い現象である。今回提示しなかつたが、1例だけ子宮筋腫手術時、都合によりエストロゲンとプロゲステロン配合剤を21日間服用し、高度に肥厚した子宮内膜からも GM2が75 pmol/ml 検出された。さらにその後の検索にて健康未妊女子血清から1例だけ GM2が検出された。このことから、分泌期の子宮内膜も GM2を遊離する可能性が考えられ、性ホルモンにより糖脂質が制御される可能性が考えられ、今後さらに深く調べたい点である。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金(No. 62570745)による。

## 文 献

1. 神奈木玲児：ガングリオシドに対するモノクローナル抗体と腫瘍診断。日本医師会雑誌，95：200，1986。
2. 神奈木玲児，福士泰夫，箱守仙一郎：糖鎖特異的モノクローナル抗体によつて認識される癌関連ムチン(cancer-associated mucin)。癌と化療，13：812，1986。
3. 神奈木玲児，福士泰夫，繁田勝美：個体発生と糖脂質。細胞工学，5：96，1986。
4. 小林 浩：婦人科疾患における Sialyl SSEA-1 測定の臨床的有用性—特に CA125との関連について—。日産婦誌，40：828，1988。
5. 鈴木孝明，茅原 保，本間 滋，湯沢秀夫，金沢浩二，竹内正七：ELISA を用いた妊婦血清中抗 ganglioside GM2 抗体の測定。日産婦誌，40：1773，1988。
6. 高橋正明：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。日産婦誌，36：2613，1984。
7. 竹内 裕：Trophoblast の生体内免疫的拒絶機構における Oncofetal Antigen-I の意義。日産婦誌，37：1893，1985。
8. Artzt, K., Dubois, P., Bennett, D. and Condamine, H.: Surface antigens common to mouse cleavage embryos and primitive teratocarcinoma cells in culture. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 70: 2988, 1973.
9. Fenderson, B.A., Zehavi, U. and Hakomori, S.: A multivalent lacto-N-fucopentaose III-lysoyllysine conjugate decompacts preimplantation mouse embryos, while the free oligosaccharide is ineffective. J. Exp. Med., 160: 1591, 1984.
10. Higashi, H., Fukui, Y., Ueda, S., Hirabayashi, Y. and Naiki, M.: Sensitive enzyme-immunostaining and densitometric determination on thin-layer chromatography of N-glycolylneuraminic acid containing glycolipids, Hanganutziu-Deicher antigens. J. Biochem. (Tokyo), 95: 1517, 1984.
11. Higashi, H., Hirabayashi, Y., Hirota, M., Matsumoto, M. and Kato, S.: Detection of ganglioside GM2 in sera and tumor tissues of hepatoma patients. J. Cancer Res. (Gann), 78: 1309, 1987.
12. Irie, R.F., Irie, K. and Morton, D.L.: A membrane antigen common to human cancer and fetal brain tissues. Cancer Research, 36: 3510, 1976.
13. Kannagi, R., Nudelman, E., Levery, S.B. and Hakomori, S.: A series of human erythrocyte

- glycosphingolipids reacting to the monoclonal antibody directed to a developmentally-regulated antigen. SSEA-1. *J. Biol. Chem.*, 257: 14865, 1982.
14. Katano, M., Saxton, R.E. and Irie, R.F.: Human monoclonal antibody to tumor associated ganglioside GD2. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 15: 119, 1984.
  15. Leeden, R.W. and Yu, R.K.: Gangliosides. Structure, isoration, and analysis. *Methods in enzymology* (eds. S.P. Colowick and N.O. Kaplan), Academic Press, Florida, 83: 139, 1982.
  16. Sidell, N., Irie, R.F. and Morton, D.L.: Immune cytotoxicity of human malignant melanoma by antibody to oncofetal antigen-I (OFA-I). Complement dependent cytotoxicity. *Cancer Immunol.*, 7: 151, 1979.
  17. Tai, T., Cahan, L.D., Saxton, R.E. and Irie, R. F.: Human monoclonal antibody against ganglioside GD2. *J. Natl. Cancer Inst.*, 73: 627, 1984.
  18. Tai, T., Paulson, J.C., Cahan, L.D. and Irie, R. F.: Ganglioside GM2 as a human tumor antigen (OFA-I). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80: 5392, 1983.
  19. Tai, T., Sze, L., Kawashima, I., Saxton, R.E. and Irie, R.F.: Monoclonal antibody directs monosialogangliosides having a sialic acid  $\alpha 2 \rightarrow 3$ -Galactosyl residue. *J. Biol. Chem.*, 262: 6803, 1987.
  20. Takahashi K., Ono, K., Hirabayashi, Y. and Taniguchi, M.: Escape mechanisms of melanoma from immune system by soluble melanoma antigen. *J. Immunology*, 140: 3244, 1988.
  21. Yamanaka, T., Hirabayashi, Y., Hirota, M., Kaneko, M., Matsumoto, M. and Kobayashi, N.: Detection of gangliotriaose-series glycosphingolipids in serum of cord blood and patients with neuroblastoma by a sensitive TLC/enzyme-immunostaining method. *Biochi. Biophys. Acta*, 920: 181, 1987.

(No. 6745 平2・1・9受付)