

Study on Clinical Features of Serum Protein Fractions in Human Malignant Tumor Patients -Analysis of Serum Protein by High Performance Liquid Chromatography-

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7954

担癌生体における血清蛋白分画の異同に関する研究

—高性能液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography) を用いた, ヒト血清蛋白の分析とその臨床的意義—

富山医科薬科大学医学部外科学第一講座 (主任: 山本恵一教授)

村 上 新
龍 村 俊 樹

富山医科薬科大学薬学部薬用資源学講座 (主任: 森田直賢教授)

清 水 岑 雄
森 田 直 賢

(昭和62年4月15日受付)

今回我々は、担癌生体における血清蛋白分画の異同を検討する目的で以下の実験を行った。すなわち、臨床診断の確定した悪性腫瘍患者群、良性腫瘍患者群および正常者対照群 (対照群) の血清を、高性能液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography) を用いて分析し、作製したクロマトグラムの各分画面積の全分画面積に対する百分率を基礎データとして、各群間での有意差検定を含む比較検討を行った。その結果、保持時間 34 分で、その構成タンパクの分子量は約 17,000 以下と推定される分画 (本文中 E₂ 分画と仮称) において、はなはだ特徴ある所見が得られた。すなわち本分画の測定値 0.4% を正常下限と設定すると、対照群は 90.5% (21 検体中 19 検体)、両疾患群は 100% (41 検体全例) の正診率で、各々を鑑別することが可能であった。従って、この分画は临床上、悪性腫瘍患者及び良性腫瘍患者のスクリーニングにとって有効な指標となることが推定される一方、担癌生体における蛋白の生合成・代謝の変化を研究する上で、重要な示唆を含むものと考えられ、今後より詳細な検討が期待される。

Key words high performance liquid chromatography, serum protein fraction, tumor bearing person, tumor marker

これまでに癌診断の目的で、血清を対象とする各種の腫瘍マーカーの測定法が試みられてきたが、それらの多くが意図するところは腫瘍関連物質の量的増加や減少を捉えることにあった。血清糖蛋白の測定に注目した研究^{1)~8)}も同一の視点より出発したものであり、Tatsumura らも、血清蛋白結合フコースの測定値の上昇が、癌の診断、病期の進行程度および治療効果の判定などに極めて有用な指標となることを報告してきた⁹⁾。

一方、表面多孔性充てん剤の製造に端を発する研究は、シリカ系微細粒子を担体とする耐圧性の高い充て

ん剤の開発へとすすめられ、さらに耐圧性ミニポンプ、高感度検出器の開発の結果、高性能液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography, HPLC) が実用化し、蛋白質やペプチドの分離・精製および分子量測定の高精度化とともに、その簡易迅速化が可能となった。

今回我々は上記の HPLC を用いて、担癌患者の血清蛋白の諸分画を従来にない高精度で分析することにより、これまで報告されてきた担癌患者における血清糖蛋白の上昇に関与すると考えられる分画を分析するとともに、腫瘍関連物質としての可能性の高い分画を採

Abbreviations: HPLC, high performance liquid chromatography; CONC A, concentration of area; R.T., retention time; M.T.G., malignant tumor group; B.T.G., benign tumor group; C.G., control group; D.R., detection rate.

り出すことを目的とした研究を試み、癌診断に有用と考えられる知見を得たので報告する。

対象および方法

I. 対 象

富山医科薬科大学第一外科入院患者中より無作為に抽出し、承諾を得た悪性腫瘍患者（悪性腫瘍群）および良性腫瘍患者（良性腫瘍群）より、早朝空腹時に採血された250検体について分析を行ったがこれらのうち入院直後未治療の段階での採血を行い、その後の手術や各種臨床検査の結果、診断（とくに組織診）が確定した68例、68検体を対象として検討した。悪性腫瘍群については、各臓器別癌取り扱い規約（胃癌研究会、

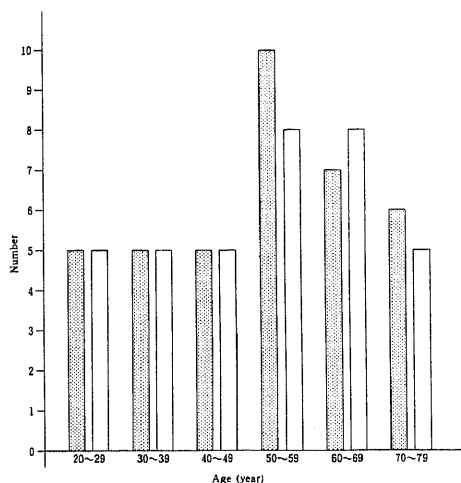


Fig. 1. Sex and age distribution of the normal healthy persons.

▨, male; □, female.

大腸癌研究会、日本肺癌学会等において分類の可能であった49検体（stage II以下、10検体；stage III, 17検体；stage IV以上、22検体）が得られ、これをgroup 1とした。一方良性腫瘍群は19検体得られ、これをgroup 2とした。両群における臓器別内訳を表1に示した。

これらと対比する正常者の血液検体は、74名、74検体であり、富山県赤十字血液センターでの健康人余剰検体および志願者より提供されたものであり、それらの年齢・性別の内訳を図1に示した。採取された検体について血清を遠心分離し、フィルター（孔径、0.45 μm）濾過後分析に用いた。保存を要する場合には-40°Cにて凍結し、解凍後はすみやかに分析を行った。

II. 血清蛋白の分析

各検体より分離した血清を試料とし、下記の測定機器および測定条件にてクロマトグラムを作製した。すなわち使用機器としては、655A-11型高速液体クロマトグラフ（日立、東京）、655A-21型波長可変UVモニター（日立、東京）、655-61プロセッサーA（日立、東京）を用いた。カラムは、TSK-GELG 3000 SW（7.5 mm×600 mm）（東洋曹達、東京）にTSKガードカラム（東洋曹達、東京）を連結して用い、溶離液は、0.2 M リン酸緩衝液（0.2 M KH_2PO_4 + 0.2 M K_2HPO_4 ）（pH 6.9）+ 0.2 M NaClを用いた。その他の測定条件としては、流速は0.7 ml/min. 検出は紫外線波長254 nm（0.16 AUFS）、チャートスピードは5 mm/min、注分量は5 μl（血清）を用いた。

これらの条件により作製したクロマトグラムの各分画に対して、その保持時間（retention time, RT: 試料注入後各分画の最高点がチャート紙に現われるまでの時間【min】を示す）の小さいものより順に、A₁, A₂, B₁, B₂, C, D, E₁, E₂, E₃, F, G, H, I, Jと仮称した。各

Table 1. Organ constitution of the neoplastic groups

Organ	Malignant tumor group (n=49)			Benign tumor group (n=19)
	≤ Stage II (n=10)	Stage III (n=17)	≥ Stage IV (n=22)	
Lung	4	8	7	5
Stomach	3	1	5	
Colon	1	3	7	1
Breast	1	1		
Thyroid gland	1	2	1	4
Esophagus		1		
Biliary system			1	2
Parotid gland				3
Others		1	1	4

分画面積の全分画面積に対する百分率 (concentration of area, CONC A: プロセッサに内蔵されたデジタル積分器とコンピューターにより計算され、チャート紙に表記される) を以後の統計学的検討の変量として用いた (図2)。得られたデータはすべて平均値±標準偏差で表わした。群間の平均値の差の検定は、分散分析後 Duncan の多重比較法を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

I. 正常者対照群の設定

健康な正常者とみなされる 74 検体を年齢および性により分類し、各グループ間で各分画について統計学的検討を行った結果、有意差を示すいくつかの分画がみとめられたため、悪性腫瘍群および良性腫瘍群との比較検討を行なうに際し、年齢および性による偏りを補正する目的で、正常者中よりさらに悪性腫瘍群および良性腫瘍群の年齢・性構成に酷似する構成をなす 38 検体を抽出し、これを正常者対照群 group 3 (対照群)

として設定した。この結果、悪性腫瘍群 (malignant tumor group, M.T.G.)、良性腫瘍群 benign tumor group, B.T.G.) および対照群 (control group, C.G.) の年齢・性構成は、良性腫瘍群において、男性への偏りがみとめられる以外は、ほぼそろっていると考えられた (表2)。

II. 悪性腫瘍群および良性腫瘍群と対照群の比較検討

各分画の CONC A を、 $A_2, B_1, B_2, C, D, E_2, E_3, F, G, H+I+J, E_1+E_2+E_3$ について示した。なお、 A_1, E_1, H, I, J の各分画は、検出率 (detection rate, D. R.: [各分画が検出された検体数/総検体数]×100) (%) が低く、単独での統計学的検討が不可能と考えられた。各群間における各分画の比較検討の結果は、以下の如くに要約された。

1. A_2 分画

悪性腫瘍群、良性腫瘍群および対照群のいずれの群においても、100%の検出率をみとめた。各群間には有意差をみとめなかった (図3)。

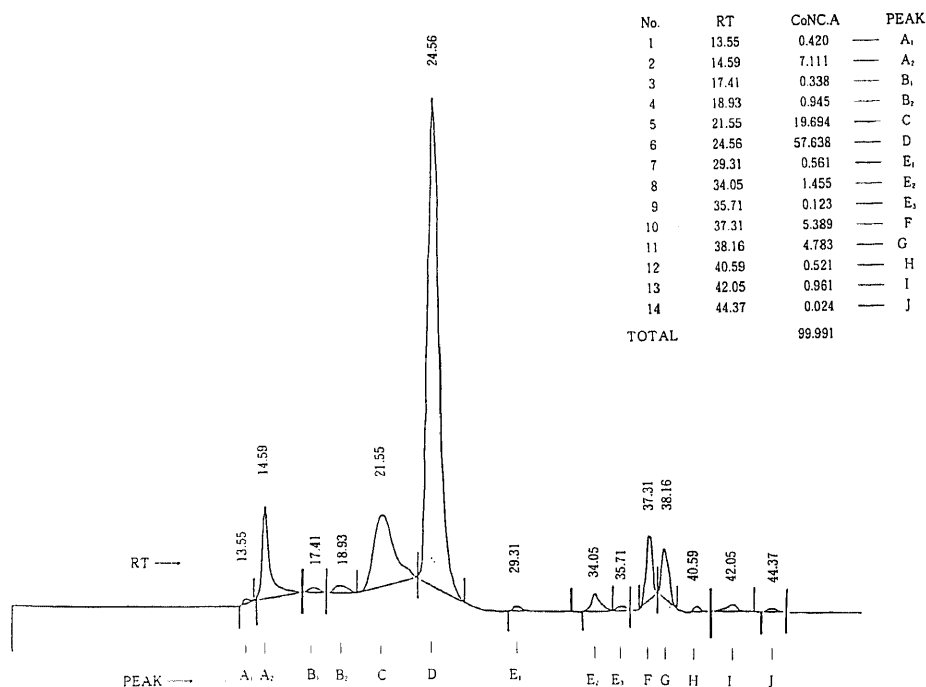


Fig. 2. Typical elution pattern of the serum of normal healthy person on TSK-GEL G3000SW column.

Figures indicate retention time (RT) in minutes and concentration of area (CONC A) in percentage.

A₁, A₂, B₁, B₂, C, D, E₁, E₂, E₃, F, G, H, I, J are the names of peaks (fractions) corresponding with their retention times.

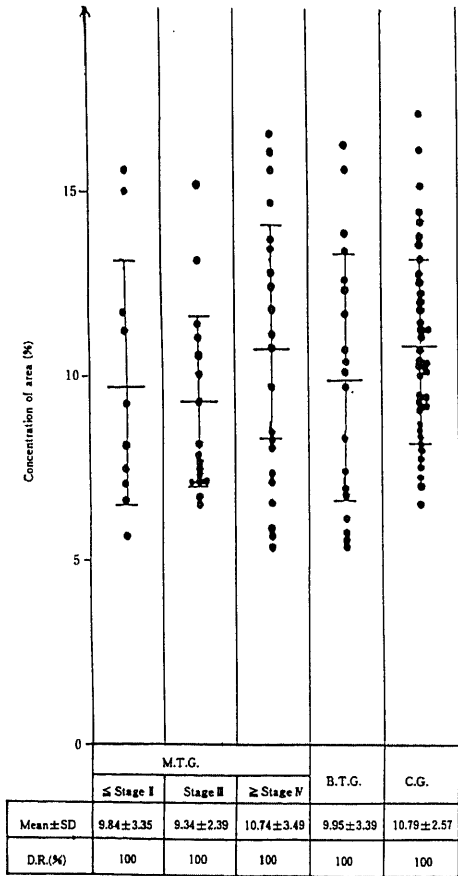


Fig. 3. Distribution of concentration of area (%) of A₂ fraction on HPLC of the serum from malignant, benign tumor and healthy persons. [Mean ± SD] is superimposed in the figure. M.T.G., malignant tumor group; B.T.G., benign tumor group; C.G., control group; D.R., detection rate.

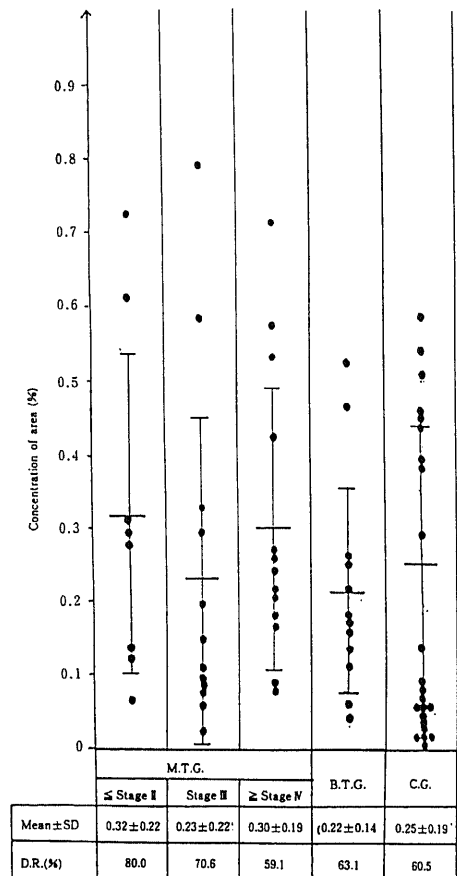


Fig. 4. Distribution of concentration of area of B₁ fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

Table 2. Sex and age constitution of the three groups

Group	Number of patient	Number of		Mean of age (year)
		Male	Female	
1. Malignant tumor				
≤ Stage II	10	5	5	56.0
Stage III	17	9	8	66.1
≥ Stage IV	22	14	8	62.5
2. Benign tumor	19	16	3	57.5
3. Control	38	20	18	62.1

2. B₁ 分画

各群での検出率には著明な差をみとめなかった。また各群間には有意差をみとめなかった (図 4)。

3. B₂ 分画

悪性腫瘍群および良性腫瘍群での検出率は低かった。両疾患群における本分画の値は、対照群のそれに比べて低い傾向をみとめ、悪性腫瘍群 ($p < 0.01$) および良性腫瘍群 ($p < 0.05$) と対照群の間において有意差がみとめられたが、両疾患群においては有意差をみとめなかった (図 5)。

4. C 分画

いずれの群も 100% の検出率を示した。悪性腫瘍群および良性腫瘍群において分散の大きい傾向をみとめたが、各群間においては有意差をみとめなかった (図 6)。

5. D 分画

いずれの群も 100% の検出率を示した。分散は、全分画中最も小さく、各群間には有意差をみとめなかった (図 7)。

6. E₂ 分画

対照群での検出率がやや低い傾向をみとめたが、悪性腫瘍群および良性腫瘍群では対照群に比べ約 1/8 の低値を示すことが確認された ($p < 0.005$)。すなわち両疾患群での測定値は全例が 0.4% 以下であるのに対して、対照群では測定値が 0.4% 以下のものは、21 検体中僅か 2 検体 (9.5%) のみにすぎないというはなはだ特徴ある所見が得られた。従って、測定値 0.4% を正常値下限と設定した場合の正常者に対する正診率は 90.5% で、疾患群患者に対する正診率は 100% となった。また本分画においては、悪性腫瘍群での測定値は、

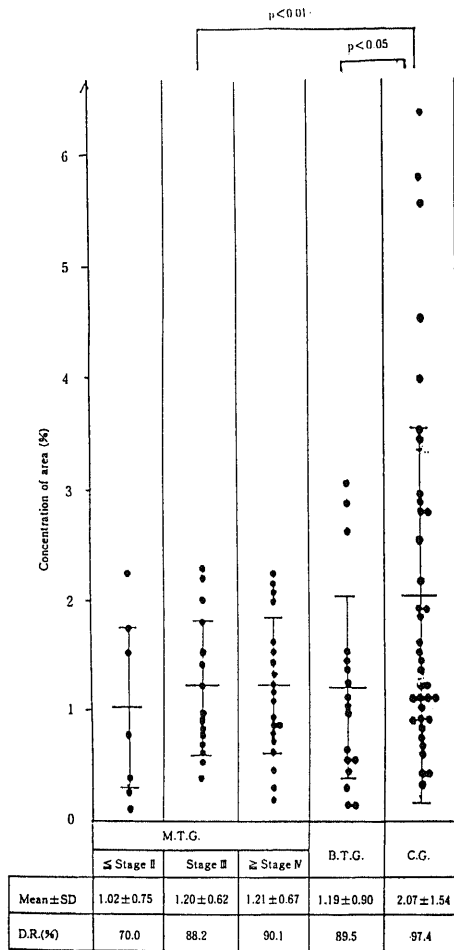


Fig. 5. Distribution of concentration of area of B₂ fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

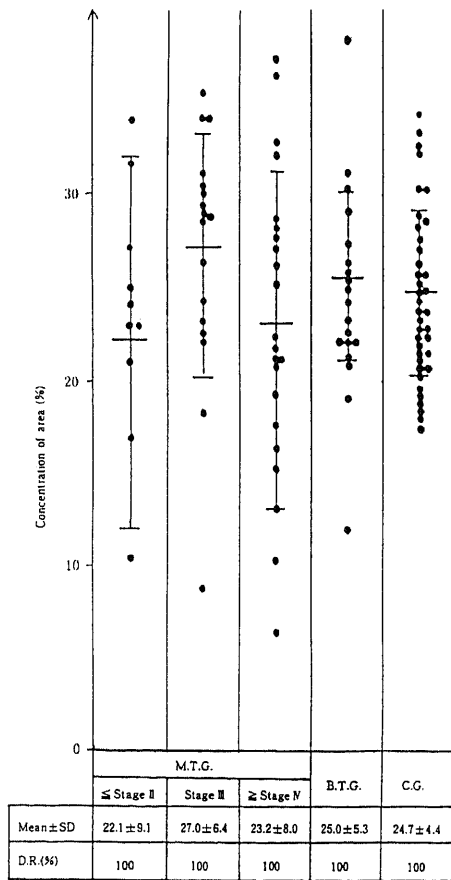


Fig. 6. Distribution of concentration of area of C fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

良性腫瘍群の測定値より有意に低い傾向 ($p < 0.005$) をみとめた (図 8), 更に良性腫瘍群で比較的分散の小さい E_3 との比 E_3/E_2 を算出し, “ $E_3/E_2 < 1.75$ かつ $E_2 > 0.16$ ” を想定すると, 全良性腫瘍群がこれに該当し, かつ悪性腫瘍群のオーバーラップは僅かに 1 検体のみとなった. 従って良性腫瘍患者に対する正診率は 100%, 悪性腫瘍患者に対する正診率は 96.4% と算出された (図 9). また本分画の構成蛋白は, 標準物質 (ミオグロビン等) のクロマトグラムとの比較によって, 分子量 17,000 以下と推定された (図 10).

7. E_3 分画

両疾患群での検出率はやや低い, それらの群の測定値は対照群のそれに比べ低い傾向をみとめ, 悪性腫瘍群 ($p < 0.01$) および良性腫瘍群 ($p < 0.01$) と対照群の間に有意差をみとめたが, 両疾患群の間においては有意差をみとめなかった (図 11).

8. F 分画

各群においてほぼ良好な検出率を示した. 両疾患群の本分画の値は対照群のそれに比べ高い傾向をみとめ, 悪性腫瘍群 ($p < 0.01$) および良性腫瘍群 ($p < 0.01$) と対照群との間に有意差をみとめたが, 両疾患群の間においては有意差をみとめなかった (図 12).

9. G 分画

悪性腫瘍群および良性腫瘍群での検出率はやや低かった. 両群での本分画の値は対照群に比べ低い傾向をみとめ, 悪性腫瘍群 ($p < 0.01$) と対照群との間に有意差をみとめた. なお両疾患群間には有意差をみとめなかった (図 13).

10. H+I+J 分画

いずれの群も 100% の検出率を示した. 各群間には有意差をみとめなかった (図 14).

11. $E_1 + E_2 + E_3$ 分画

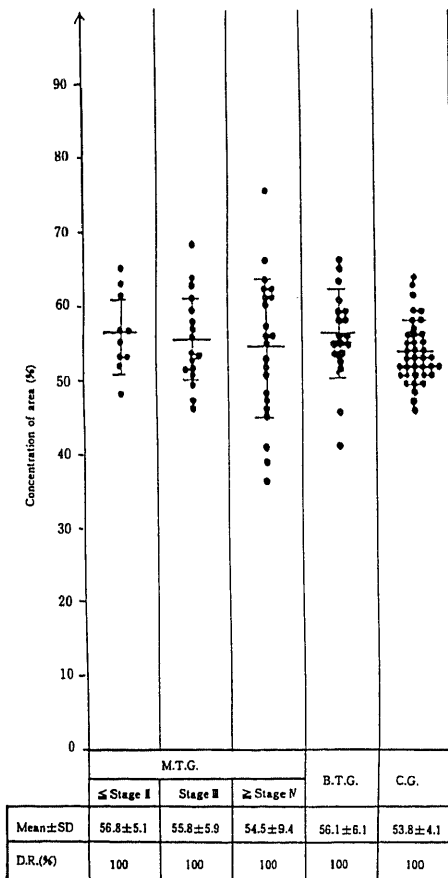


Fig. 7. Distribution of concentration of area of D fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

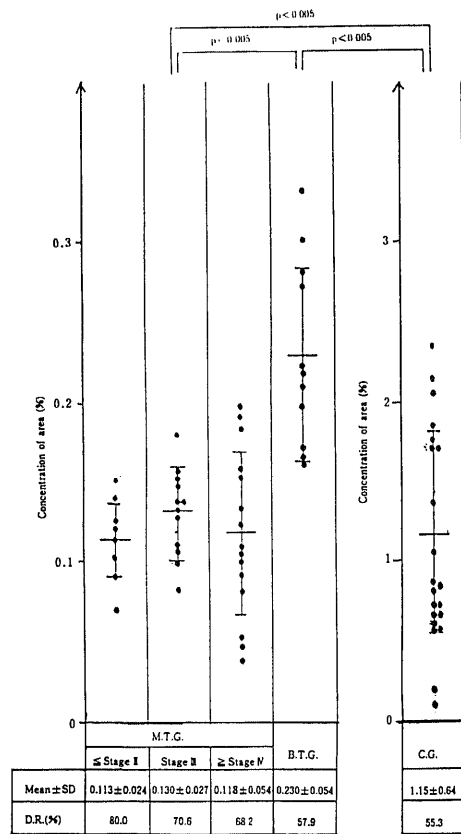


Fig. 8. Distribution of concentration of area of E_2 fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

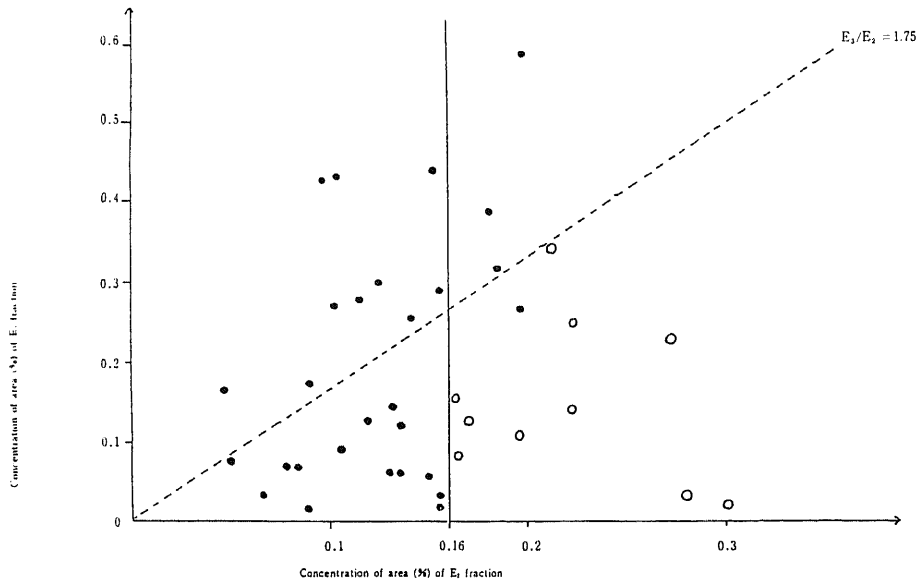


Fig. 9. Differentiation of malignant tumor group from benign tumor group by the index of $[E_3/E_2 < 1.75 \ \& \ E_2 > 0.16]$.

- , malignant tumor group;
- , benign tumor group.

	M.W	RT
(1) γ -Globulin (Human)	160,000	22.37
(2) Albumin (Bovine)	67,000	25.15
(3) β -Lactoglobulin (Bovine)	36,000	28.51
(4) Myoglobin (Horse)	17,000	31.79

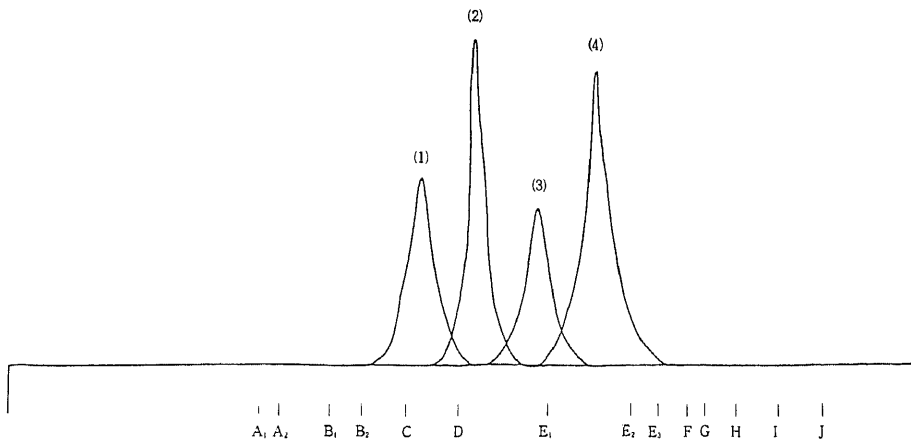


Fig. 10. Chromatogram of standard substances (γ -Globulin, Albumin, β -Lactoglobulin, and Myoglobin).

A₁, A₂, B₁, B₂, C, D, E₁, E₂, E₃, F, G, H, I, J are the names of peaks defined in Fig. 2.

いずれの群も100%の検出率を示した。対照群に比べ悪性腫瘍群および良性腫瘍群では約1/3の低値を示した ($p < 0.005$)。測定値0.6%を正常値下限と仮定した場合の正常者に対する正診率は79.0%、疾患群患者に対する正診率は92.7%と算出された。両疾患群間には有意差をみとめなかった (図15)。

12. その他

良性腫瘍群はE₂を除き、ほぼ悪性腫瘍群と類似する測定結果が得られた。また全分画において、悪性腫瘍の進行程度に対応する一定の傾向をみとめることはできなかった。

考 察

細胞レベルでの癌化の機序を解明し、宿主腫瘍関係

を詳細に分析した一連の研究において、糖蛋白の代謝に関する研究の果たした役割は非常に大きい。

糖蛋白は⁹⁾¹⁰⁾糖がグリコシド結合で結びついた蛋白質であり、生体内に広く分布する。血清糖蛋白には、 α_1 酸性糖蛋白、フィブリノーゲン、トランスフェリン、セルロプラスミンや免疫グロブリンなどが含まれ、またホルモンや酵素の一部、腫瘍マーカーと定義される物質の多くも糖蛋白と考えられている。

このように生体内で重要な機能を有する糖蛋白のうち、細胞の癌化や悪性腫瘍の発生に伴い、1) 腫瘍細胞膜表面糖蛋白、2) 血清中糖蛋白に変化が生じることが報告されてきた。まず、細胞の癌化またはトランスフォームに際して、細胞膜表面糖蛋白に変化がみられるとする研究は、Meezanら¹¹⁾が先鞭をつけた後、

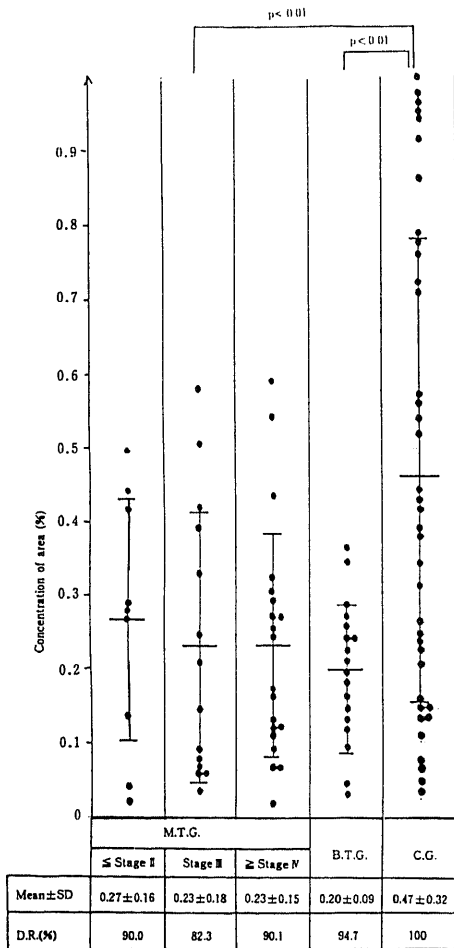


Fig. 11. Distribution of concentration of area of E₃ fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

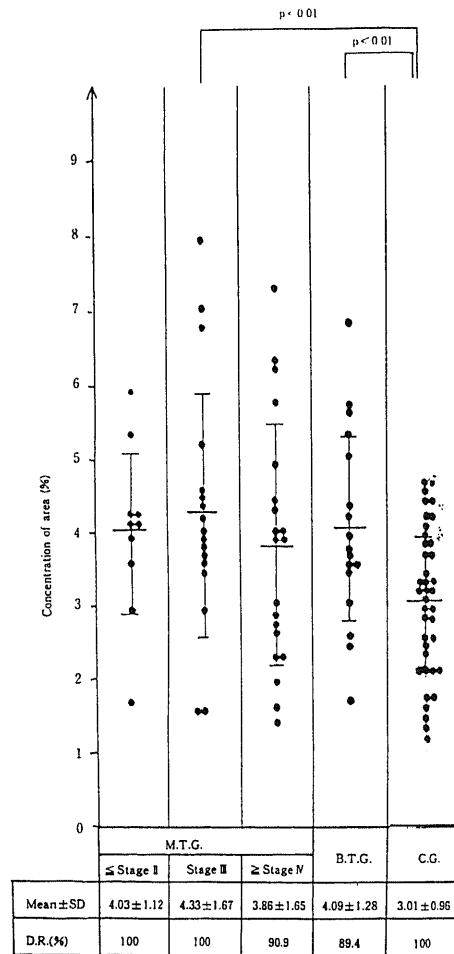


Fig. 12. Distribution of concentration of area of F fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

Warren ら¹²⁾によって詳細に検討された。すなわち彼らは正常細胞とトランスフォーム細胞の細胞膜表面に露出した糖蛋白を、プロナーゼ分解により遊離させ、ゲル濾過により各々の糖ペプチドのパターンを比較し、両者の間に顕著な差異を認めることを報告した。また細胞膜表面に存在し、細胞内リボソームで生合成された蛋白のグリコシレーションに関与する酵素—グリコシルトランスフェラーゼ—の癌化に伴う活性低下ないし消失¹³⁾¹⁴⁾、細胞相互の接着あるいは細胞間組織と細胞との結合に重要な機能を有すると考えられているフィブロネクチンの消失^{15)~17)}なども癌化に伴う細胞膜表面糖蛋白の変化と考えられる。一方、担癌生体における血清糖蛋白の変化に注目した研究^{1)~8)18)}においては、もっぱらその測定値の上昇が報告されており、臨床上癌診断にとって有用な指標が探られてきた。

我々も血清蛋白結合フコース (protein-bound fucose) の測定値の上昇が、癌の診断や治療効果、進行程度の判定に有用な指標となりうることを報告した⁴⁾⁸⁾。この担癌生体での血清中糖蛋白の上昇は、培養細胞が培養液中へ糖蛋白を放出する場合と同様の機序で、腫瘍細胞より血中へ放出された結果であると考えられている¹⁾²⁾⁶⁾⁹⁾。しかしながらこれまでの報告では、正常人と担癌患者の間で、測定値にオーバーラップが多く、また種々の炎症性疾患、活動性結核、活動性リウマチなどにおいてもその測定値が上昇する点が指摘されており、現在臨床検査として一般化されるには到っていない。そしてこれらの研究の対象は近年になって、血清中の各種グリコシルトランスフェラーゼ活性値の測定に向けられるようになり、担癌生体での活性値の上昇が報告されるようになった^{19)~24)}。

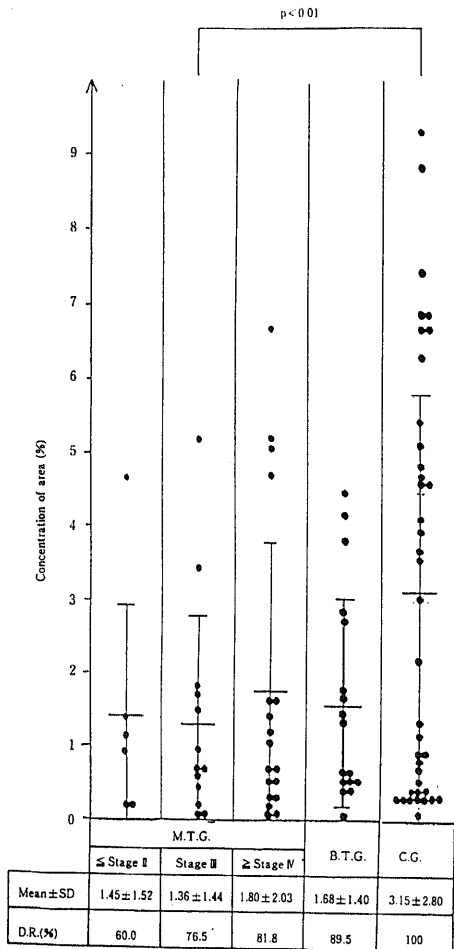


Fig. 13. Distribution of concentration of area of G fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

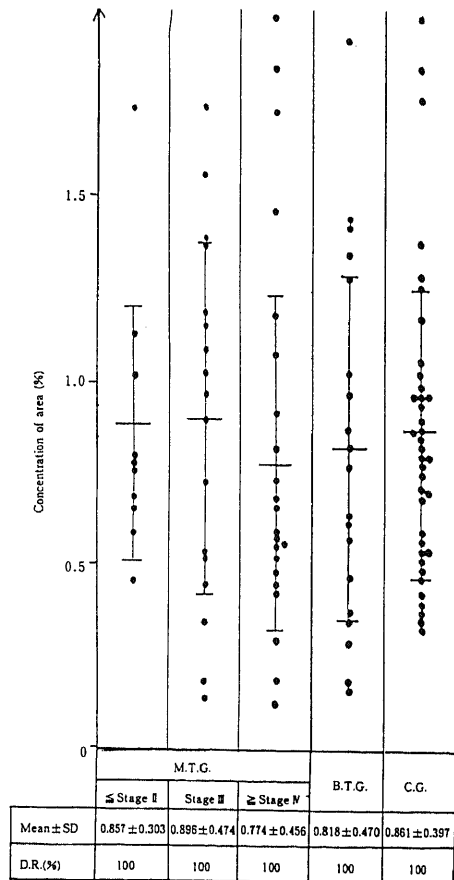


Fig. 14. Distribution of concentration of area of H+I+J fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

今回の我々の研究は、以上の事実を踏まえた上で、担癌生体に生ずる蛋白質代謝の変化を検討する目的で、HPLCを用いるという新しい試みとして企図された。

我々は実験を開始するにあたり、悪性腫瘍群において、クロマトグラム上の一分画が異常に高い値を示し、かつ病期の進行程度とともに高値を示すことを期待したが、結果は直接これとは結びつかないかたちとなった。すなわちこれまでの報告を上回る正診率で、悪性腫瘍患者と正常者を鑑別することが可能となるE₂分画を含む4つの分画において、悪性腫瘍患者群での測定値は正常者対照群に比し低下していることが実証された。これまで報告された血清糖蛋白は、それが蛋白結合シアル酸³⁾⁵⁾であれ、蛋白結合フコース⁴⁾⁸⁾¹⁸⁾であれ、担癌生体での測定値は上昇していることに照らして考えると、この結果は極めて興味のもたれるものであるといわざるを得ない。しかしながらこの事実を

明確に説明付けることは不可能であり、現時点では、担癌生体における蛋白生成・分解のバランスの崩れがもたらした結果と考えられるにとどまる。今後、外科治療、化学療法などの有効な治療前後でのこれらの分画の変化、腫瘍重量との相関性、再発に伴う変化などを検討することにより、これらの分画の測定値の変化の腫瘍関連性をより明確にすることが可能となり、またこれらの分画に含まれる複数成分の中より腫瘍関連性の最も高い単一成分の分離・精製を行い、アミノ酸分析・糖分析を含む成分分析を行うことにより、担癌生体における血清蛋白分画の異同の機序を解明する手掛りが得られるものと考えている。

なお臨床上最も注目すべきE₂分画は、蛋白質の検出に特異的な紫外線波長280nmを用いても、254nmと同様に検出される事実より、その構成成分は主として蛋白と考えられる。

一方悪性腫瘍群での測定値が、対照群に比して高値を示した唯一の分画Fは、対照群との間にオーバーラップが多く、臨床上鑑別に有用とは考えられなかったものの、これまで報告されてきた血清糖蛋白の担癌生体における上昇に最も関連性の深い分画と考えられる。E₂分画などと同様、今後より詳細な検討を考慮中である。

以上本研究の結果を今後より詳細に分析するに際して、ことに糖蛋白代謝と関連付けてその機序を解明する目的で、各分画の構成成分の分析が最も重要な課題と考えている。また本研究の再現性を保証する上で、1) 分析対象である血清の保存状態の差異とそれに基づく血清蛋白の変性の差異、2) 食餌のクロマトグラムに与える影響について、各々検討を行った結果、いずれも条件の差異によるクロマトグラムの変化を認めず、再現性は保証されると判断された。更に、E₂分画はカラムTSK-GEL G3000 SWの適正領域(分子量2万~20万)を僅かに下回る結果となったため、現在TSK-GEL G2000 SW(分子量1万~数万)を用いて再検討中である。

我々は、本研究の開始にあたり、正常者の性・年齢の差異による各分画測定値の違いを検討したが、その結果いくつかの分画において統計的に有意差をみとめた。今後検体数を増やし、多変量解析を用いた分析を行い、性・年齢の差異による偏りを十分に補正すべきものと考えられた。

結 論

悪性腫瘍患者群、良性腫瘍患者群および正常者対照群の血清蛋白分画を、高性能液体クロマトグラフィーを用いて分析した。この結果、保持時間34分、溶出容

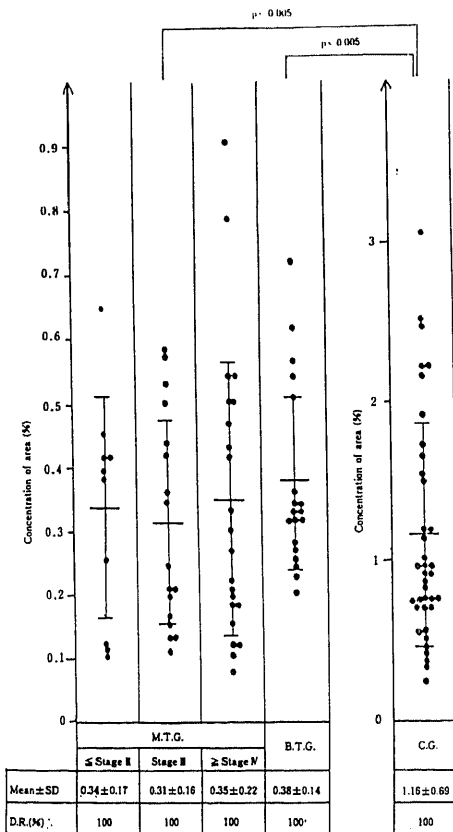


Fig. 15. Distribution of concentration of area of E₁+E₂+E₃ fraction. Refer to the footnotes of Fig. 3.

量 24 ml にみられた分画 E₂ において、両疾患群での測定値は、正常者対照群のそれに比し有意に低く (p < 0.005), 測定値 0.4% を正常値下限と設定した場合, 正常者対照群に対しては 90.5% (21 検体中 19 検体), 両疾患群に対しては 100% (41 検体全例) という極めて高い正診率でそれぞれの群を鑑別することが可能であった。この事実より, 分画 E₂ は臨床上的悪性腫瘍患者および良性腫瘍患者のスクリーニングにおいて有用な指標と考えられると同時に, 担癌生体における蛋白代謝に惹起される変化に関して, 極めて重要な手がかりを与える知見と考えられ, 今後さらに詳細な検討が期待される。

謝 辞

稿を終るにあたって, 本研究に多大な御協力を戴いた, 新井健二, 伊藤博子, 平田早苗の諸技師に深謝する。

文 献

- 1) Alinquist, P. & Lansing, E.: A study of serum glycoproteins in cancer. *J. Clin. Lab. Invest.*, **9**, 179-187 (1957).
- 2) Creenspan, E.: Survey of clinical significance of serum mucoproteins level. *Arch. Intern. Med.*, **93**, 863-874 (1953).
- 3) Harvey, H. A., Lipton, A., White, D. & Davidson, E.: Glycoproteins and human cancer. *Cancer.*, **47**, 324-327 (1981).
- 4) Lambana, S.: Clinical value of protein-bound fucose in patients with carcinoma and other disease. *Gann.*, **67**, 379-388 (1976).
- 5) Lipton, A. & Harvey, H. A.: Glycoproteins and human cancer. *Cancer.*, **43**, 1766-1771 (1979).
- 6) Macbeth, R. A. L. & Bekesi, J. G.: Plasma glycoproteins in malignant disease. *Arch. Surg.*, **88**, 633-637 (1964).
- 7) Snyder, S. & Ashwell, G.: Quantitation of specific serum glycoproteins in malignancy. *Clin. Chimica Acta*, **34**, 449-455 (1971).
- 8) Tatsumura, T., Kuno, S., Sato, H., Komori, Y., Yamamoto, K. & Fukatani, G.: Clinical significance of fucose level in glycoprotein fraction of serum in patients with malignant tumors. *Cancer Res.*, **37**, 4101-4103 (1977).
- 9) Sharon, N.: Glycoproteins. *Sci. Ame.*, **230**, 78-86 (1974).
- 10) Spira, R.: Glycoproteins. *Adv. Prot. Chem.*, **27**, 349-467 (1973).
- 11) Meezan, E., Wu, H. C., Black, P. H. & Robbins, P. W.: Comparative studies on the carbohydrate-containing membrane component of normal and virus-transformed mouse fibroblasts. *Biochemistry*, **8**, 2518-2524 (1969).
- 12) Warren, L., Buck, C. A. & Tuszynski, G. P.: Glycopeptide changes and malignant transformation. *Biochim. Biophys. Acta*, **516**, 97-127 (1978).
- 13) Den, H., Schultz, A. M., Basu, M. & Roseman, S.: Glycosyltransferase activities in normal and polyoma-transformed BHK cells. *J. Biol. Chem.*, **246**, 2721-2723 (1971).
- 14) Keenan, T. W. & Morre, D. J.: Mammary carcinoma-enzymatic block in disialoganglioside biosynthesis. *Science*, **182**, 935-936 (1973).
- 15) Olden, K. & Yamada, K. M.: Mechanism of the decrease in the major cell surface protein of chick embryo fibroblasts after transformation. *Cell*, **11**, 957-969 (1977).
- 16) Veheri, A., Rouslahti, E., Westermark, B. & Ponten, J.: A common cell-type specific surface antigen in cultured human glial cells and fibroblasts. *J. Exp. Med.*, **143**, 64-72 (1976).
- 17) Veheri, A. & Rouslahti, E.: Fibroblast surface antigen produced but not retained by virustransformed human cells. *J. Exp. Med.*, **142**, 530-535 (1975).
- 18) Macbeth, R. A. L. & Bekesi, J. G.: Plasma glycoproteins in various disease states including carcinoma. *Cancer Res.*, **22**, 1170-1176 (1962).
- 19) Evans, I. M., Hilf, R., Murphy, M. & Bosmann, H. B.: Correlation of serum, tumor and liver glycoprotein. *Cancer Res.*, **40**, 3103-3111 (1980).
- 20) Henderson, M. & Kessel, D.: Alteration in plasma sialyltransferase levels in patients with neoplastic disease. *Cancer*, **39**, 1129-1134 (1977).
- 21) Ip, C. & Dao, T.: Alterations in serum glycosyltransferase and 5'-nucleotidase in breast cancer patients. *Cancer Res.*, **38**, 23-28 (1978).
- 22) Kessel, D. & Chou, H. T.: Fucosyltransferase levels in plasma and tissues of the cancer patient. *Fed. Proc.*, **35**, 1442 (1976).
- 23) LaMont, J. T. & Isselbacher, K. J.: Alterations in glycosyltransferase activity in human colon cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **54**, 53-56 (1975).
- 24) Licata, A. A., Woll, J. & Cave, L.: Measure-

ment of sialyltransferase activity and serum glycoproteins in malignant and benign hypercalcemia.

Cancer, 50, 2126-2130 (1982).

Study on Clinical Features of Serum Protein Fractions in Human Malignant Tumor Patients—Analysis of Serum Protein by High Performance Liquid Chromatography— Arata Murakami, Toshiki Tatsumura, Mineo Shimizu*, and Naokata Morita*, Department of Surgery, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University (Director: Prof. Keiichi Yamamoto) and *Department of Medical Resources, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical and Pharmaceutical University (Director: Prof. Naokata Morita), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., **96**, 575—586 (1987)

Key words: high performance liquid chromatography, serum protein fraction, tumor bearing person, tumor marker

Abstract

An analysis of human serum protein fraction of three clinically well defined groups, a malignant tumor bearing group, a benign tumor bearing group and a normal control group, was performed by high performance liquid chromatography. A statistical analysis was applied to each of the fractions, using the concentration of area calculated from the chromatograms as data, so that any differences between these three groups might be clearly presented. We attended to one special fraction called E₂, of which the retention time was 34 minutes and the molecular weight of its protein component was suspected to be under 17,000. Providing that 0.4% of this fraction is introduced as a differential point, we can tell the normal control group to an accuracy of 90.5% (19/21) and the tumor bearing groups (malignant plus benign) to an accuracy of 100% (41/41). This result indicates E₂ fraction availability to the screening test for tumor bearing individuals and we suppose that this fraction implies important clues to elucidate the changes of the serum protein metabolism related to tumor existence.