

# 胃癌の免疫化学的解析

## —胃癌 RNA Rich Fraction の抗原分析—

金沢大学医学部第二病理学教室(主任 石川太刀雄教授)

本 田 雄 治

(昭和40年9月1日受付)

癌細胞組成の特異性を明らかにしようとする試みが近年活潑に行なわれるようになってきた。生化学的手段による特異的な塩基性蛋白、多糖類、リピンなどの追求や酵素レベルでの解析などの外に、最近は免疫学的手段、たとえば沈降反応、凝集反応、補体結合反応、移植免疫現象などを用いた解析あるいは蛍光抗体法の利用などによつて、かなり癌に特異性の高い抗原物質がみつけれられるようになった。

筆者らは、それらの報告のうちで、癌特異性抗原物質がマイクロソーム、不溶性物質などに局在するという成績に注目し、若干の検討を加えることを企図した。即ち人胃組織(癌及び非癌)を材料として、マイクロソーム分画(RNA richfraction)及びその subfraction についてゲル内拡散法による免疫学的解析を行なつたところ、一応胃癌組織の特異性を認めることができたので、結果をつぎに報告する。

### 実験材料並びに方法

#### (1) 抗原の調製

手術的に切除した人胃組織(癌及び非癌)を $-20^{\circ}\text{C}$ で凍結保存し、用いのにぞんで融解後細片とし、0.25M ショ糖液(終濃度 0.005M  $\text{MgCl}_2$ を含む)<sup>1)</sup>を4倍量加え、ワーリングブレンダーで20%ホモジネートを作つた。対照の非癌胃材料としては、胃潰瘍と潰瘍随伴胃炎を起している組織を上記と同様に処置した。また、呑竜ラットを3'メチル4ジメチルアミノアゾベンゼン(3'-methyl DAB)を0.06%にまぜた飼料で飼育して約3カ月後の硬肝変、約6カ月後の肝癌及び処置以前の正常肝についての検討も行なつた。夜絶食させたラットをエーテル麻酔下開腹して肝をとり出し、門脈より冷却した0.9%食塩水で血液の色がなくなるまで(約500ml)灌流を行なつた後、細片とし、Potter-Elvehjem型ガラスホモジナイザーで約20%ホモ

ジネートを作つた。なお、材料は常に一部を病理組織標本として所見を確認した。本実験に使用した組織材料を図1に示す。

図1 実験材料

材	料	例
ヒト	胃癌組織	156*
	非胃癌組織	32
	子宮癌組織	3
	乳癌組織	2
	直腸癌組織	3
	回盲部癌組織	2
ラット	正常肝	20
	硬変肝(DAB)	7
	肝癌(DAB)	20

\*延べ例数。小さな癌の場合は数例分をプールにして材料とした。免疫抗原としては228例、試験抗原としては62例の異なつたプールを材料とした。

#### a) RNA rich fraction の作製方法

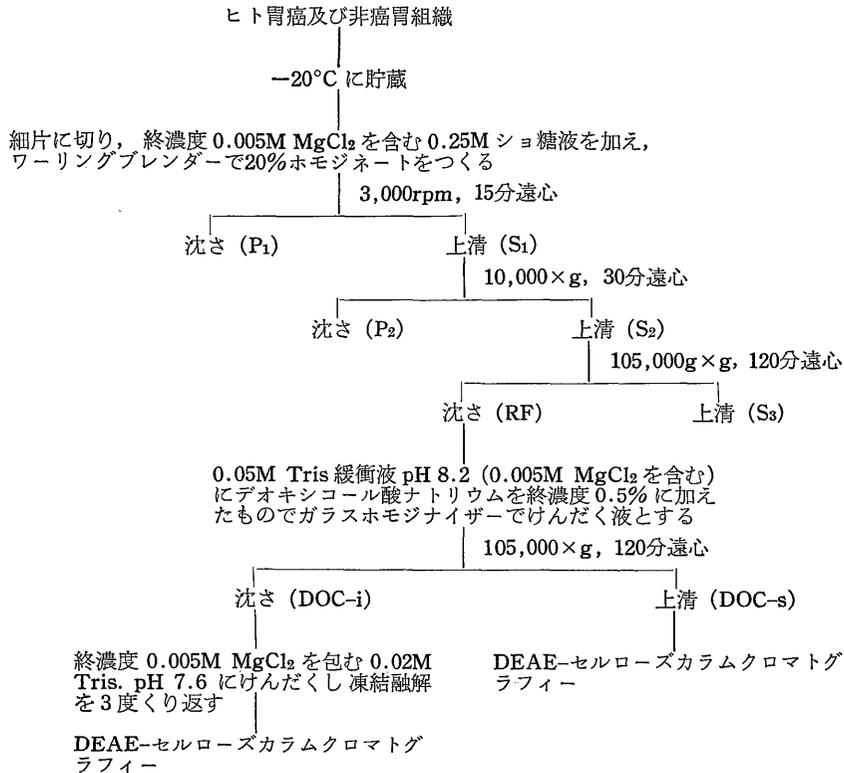
人胃組織及びラット肝組織の RNA rich fraction 作製の大様は、Littlefieldら<sup>1)</sup>の法に準じて行なつた。即ち、上述のホモジネートを3,000 rpm, 15分遠心し得た上清をつぎに10,000×g, 30分遠心する。その上清をさらに Spinco L型超遠心機で105,000×g, 120分遠心して得た沈渣(RF分画)を氷冷した0.25M ショ糖液で十分に洗浄した。

#### b) デオキシコール酸可溶性分画(DOC-s)の作製

上述のごとくして得た各組織の沈渣(RF分画)約1mlに、終濃度0.005Mの $\text{MgCl}_2$ と0.5%のデオキシコール酸(以下DOCと略す)を含む0.05M Tris緩衝液(pH 8.2)を9ml加え、氷冷しながらガラスホモジナイザーに約15分かけて沈渣を溶解させる。

Immunological Analysis of Human Stomach Cancer.—On the Antigen Analysis of the RNA Rich Fraction. Yuji Honda, Department of Pathology (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

図2 抗原の分画方法



ついで Spinco L 型超遠心機で 105,0.0×g, 120分遠心した上清を静かに吸い取つて試料とした。沈渣の表層部分の上清は用いないように注意を払つた。この上清を DOC 可溶性分画 (DOC-s) とし、沈渣を DOC 不溶分画 (DOC-i) とする。いずれも使用時まで -20°C に凍結保存した。以上の抽出過程を図2に示す。

c) DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーによる抗原の精製<sup>2)</sup>

0.035M Tris 緩衝液 (pH 7.8) を用い、氷室で24時間緩衝化した DEAE セルローズカラム (1.0×20) に、前述の DOC-s 蛋白試料 (蛋白濃度約 100mg) をかけ、KCl-Tris 緩衝液 (0.035M Tris 緩衝液に KCl を終濃度 0.1~0.8M まで加えたもの) で step-wise の溶出を行なつた。溶出速度は 20ml/h とし、フラクションコレクターで溶出液を 5ml 宛とつた。各ステップ毎の溶出液を 200 ml とした。各溶出液の紫外域吸光度 (280 mμ, 260 mμ) は図4に示すとおりである。なお KCl 濃度 0.2M までの Tris 緩衝液には終濃度 0.1% になるように DOC を加えた。つぎに各ピークの分画について紫外外部吸収 (280mμ) 及びビウレット法<sup>3)</sup> で蛋白量の比を測定した (図6)。各分画はセロファンチューブに入れ、約1000倍量の 0.005

M Tris 緩衝液 (pH 7.8) に対して24時間氷室で透析を行ない、DOC を充分にのぞいた後、風乾で一定量に濃縮して試験抗原とし、-20°C に保存した。通常、試験抗原濃度を蛋白 10mg/ml とした。

d) DOC 不溶分画 (DOC-i)<sup>4)</sup>

DOC-i 分画は終濃度 0.005M MgCl<sub>2</sub> を含む 0.02 M Tris 緩衝液 (pH 7.6) に懸濁し、ガラスホモジナイザーで均一にし、凍結融解を3度くりかえし、DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーにかけた。溶出液としては、終濃度 0.005M MgCl<sub>2</sub> を含む KCl-Tris 緩衝液 (0.02M Tris 緩衝液 pH 7.6 に KCl を終濃度 0.1~1.2M まで加えたもの) を step-wise に用い、最後に 0.5M KOH で溶出した。

(2) 抗血清の作製

体重 2.5~3.0 kg の成熟ウサギを使用し、Freund's complete adjuvant<sup>5)6)</sup> で免疫注射を行なつた。1週間の間隔をおいて3回、ウサギの肩胛骨下腔に抗原を注射し、初回注射後1.5カ月間経過後第1回の追加免疫、さらに20日後に第2回目の追加免疫を行ない、その後5~7日目に全採血を行なつた。胃組織 (癌及び非癌) RF 分画で免疫を行なうには、1回の免疫蛋白量を 50 mg とした。また胃癌及び非胃癌 DOC-s 分画

の Subfraction 及び DOC-i 分画で免疫する場合は、1回の免疫蛋白量を約 20 mg とした。全採血後、血清を分離し、Oudin 法によつて抗体の力価を測定してから  $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。

### (3) 実験方法

#### a) Single Gel Diffusion Technique (Oudin 法)

73)

抗血清と、1.0% に溶解した寒天とを等量ませて小試験管に注ぎ、寒天の固化後抗原を重層する。室温24時間反応させ、抗体寒天層内に沈降帯が出現する抗体の最大稀釈倍数  $2^n$  の指数を抗体価とした。

#### b) 吸収抗血清

抗胃癌 RF 血清 1 ml に蛋白濃度 20 mg/ml の非癌 DOC-s 分画 0.5 ml と正常人血清 0.5 ml を加え、 $37^{\circ}\text{C}$  に 2 時間、ついで氷室に一昼夜放置後遠心して得た上清を吸収抗血清とした。いずれもさらに過剰の抗原を加えても沈殿の生じないことをたしかめた。

#### c) Double Gel Diffusion Technique (Ouchterlong 法)<sup>9)</sup>

寒天板の終濃度 1.33%, pH 7.2. 抗体孔の直径 8 mm, 抗原孔の直径 5 mm, 両者の間隔は 8 mm とした。抗原は 0.02~0.03 ml, 抗体は 0.04~0.05 ml とし、 $20^{\circ}\text{C}$  で反応させ、沈降線がでそろつた時 (通常 3 日), 写真撮影を行なうかまたは乾燥後 Thiazine red<sup>10)</sup> で蛋白染色を行なつて記録した。また一部は sudan black B<sup>11)12)</sup> で脂肪染色を、 $\alpha$ -naphthol-p-phenylen diamine<sup>12)</sup> で糖蛋白染色を行なつて、沈降線の組成をしらべた。

#### d) Immunoelectrophoresis (Graber 法)

術式は William & Graber<sup>13)</sup> の方法によつた。寒天板の組成はペロナール・緩衝液 (pH 8.2,  $\mu$ : 0.1), 寒天終濃度は 0.013% とし、 $8 \times 12$  cm のガラス板上の厚さを 0.1 cm とした。抗原抗直径 3 mm, 15 mA constant, 90 分泳動を行なつた。

## 実験結果

### (1) 抗原の化学的解析

マイクロゾーム分離方法は確立されているけれども、それは主に哺乳動物の肝についてであつて、同様の操作がそのままあらゆる臓器に適用されるわけではない<sup>14)</sup>。そこで筆者は、ラッテ肝のミトコンドリア分画及びマイクロゾーム分画の分離条件<sup>1)</sup>に従つて、人胃組織ホモジネートから各分画 (図 2 参照) をつくり、Schmidt, Thanhauser, Schneider の方法<sup>15)</sup>に従い RNA 及び DNA を抽出し、Mejbaum の方法<sup>16)</sup>により RNA を、Dische のジフェニールアミン反応<sup>17)</sup>

図3 遠心過程の各分画に含まれる核酸量比 (細胞中全 RNA 及び DNA に対する%)

ヒト胃組織

	RNA		DNA	
	非癌胃	胃癌	非癌胃	胃癌
P <sub>1</sub>	10	11	100	100
P <sub>2</sub>	15	16	0	0
DOC-s	2	3	0	0
DOC-i	65	67	0	0
S <sub>3</sub>	8	3	0	0

(3 例の平均値)

ラット肝組織

	RNA			DNA		
	正常肝	硬変肝	DAB 肝 癌	正常肝	硬変肝	DNA 肝 癌
P <sub>1</sub>	10	10	11	100	100	100
P <sub>2</sub>	7	10	12	0	0	0
DOC-s	3	3	3	0	0	0
DOC-i	58	59	56	0	0	0
S <sub>3</sub>	22	18	18	0	0	0

(3 例の平均値)

により DNA を測定した結果、細胞中の全 RNA 量の 60~70% が  $105,000 \times g$ , 120 分の沈殿分画に認められ、これらの分画に DNA は認められなかつた。ラッテ肝では、全 RNA の 60% はマイクロゾーム分画 ( $105,000 \times g$ , 120 分遠心沈殿) にくるから、胃のこの分画はマイクロゾーム分画に相当すると考えられる。

つぎに、人胃 RF 分画及びラッテ肝マイクロゾーム分画を終濃度 0.5% の DOC を含む Tris 緩衝液 pH 8.2 で処理すると、DOC-s 分画及び DOC-i 分画にわかれるが、どちらの材料でも 2~3% (細胞全 RNA 量に対し) の RNA は DOC-s 分画に移行し、約 60~65% の RNA は DOC-i 分画に認められた。

人非癌胃 DOC-s 分画を DEAE セルローズグラマトグラフィにかけ溶出液の 280 m $\mu$  吸収をみると、step 1 には 2 つのピークが認められた。初めの高いピークを N<sub>1</sub>, 後者の小さなピークを N<sub>2</sub> とする。step 2~5 の溶出液のピークは小さい (図 4)。便宜上 step 2 から 5 までのピークを順に N<sub>3,4,5,6</sub> とする。step 6 には 260 m $\mu$  の紫外外部吸光度の大きなピーク N<sub>7</sub> が認められる。この物質は、オルシノール反応陽性、紫外外部吸光度の 260 m $\mu$ /280 m $\mu$  比は 1.8~1.9 でありジフェニールアミン反応は陰性であつた。この分画を 0.5N KOH で  $37^{\circ}\text{C}$ , 18 時間加水分解し、ギ酸タイプの Dowex 1,  $\times 2$  のカラムにかけ、初め

1N ギ酸, ついで 4N ギ酸で溶出すると<sup>18)19)</sup>, 4つのヌクレオチド (アデニール酸, グアニール酸, シチジル酸及びウリジール酸) が分離されたし, 1N の HCl で 100°C, 60分加水分解後<sup>20)</sup> ペーパークロマトグラフィ (東洋濾紙 No. 51 使用) でしらべると, 2つのプリン (アデニン, グアニン) と2つのピリミジンヌクレオチド (シチジル酸, ウリジール酸) が分離されたから, RNA であることが確実である. しかし, 6N HCl で15時間加水分解後ペーパークロマトグラフィ (東洋濾紙 No. 51, n-ブタノール・酢酸・水=4:1:2 で展開) にかけてニンヒドリン反応を行なつても陰性であつたから, この分画には蛋白は含まれていないことが明らかである. なお N<sub>2</sub> は, 症例によつて欠如する場合があつた.

胃癌 DOC-s 分画では同様に7個のピーク (C<sub>1</sub>~7) が溶出されたが, 注目されることは, ピーク C<sub>2</sub> の増量が著明なことである.

正常ラッテ, 硬変肝及び DAB 肝癌の DOC-s 分画について同様な検討を加えた結果は, step 1 に溶出される2番目のピークにやはり著明な差が認められた. 正常肝では小さなピークが存在したが, 硬変肝に移行すると減少ないし消失し, 癌化に伴い著明に増量

した. 以下, 正常ラッテ肝の溶出液の各ピークを NL<sub>1</sub>~7, 硬変肝のそれを CL<sub>1</sub>~7, DAB肝癌のそれを DL<sub>1</sub>~7 と呼ぶことにする.

つぎに DOC-i 分画を DEAE セルローズカラムクロマトグラフィで分画した. 終濃度 0.005M MgCl<sub>2</sub> を含む KCl-Tris 緩衝液 (0.02M Tris 緩衝液 pH 7.6 に KCl を終濃度 0.1~1.2M まで加えたもの) で stepwise に溶出し, 280m $\mu$  及び 260m $\mu$  の紫外外部吸収をしらべると, 胃癌, 非胃癌, ラッテ肝 (正常肝, 硬変肝, DAB 肝癌) のいずれを材料としても3つのピークが認められた. ピーク1, 2は蛋白で核酸を含まず, ピーク3は, 前記と同様な種々の定性反応の結果, RNA であることがたしかめられた. ピーク3の溶出終了後, 0.5N KOH で溶出を続けると, ピーク4が溶出されるが, この物質もピーク3と同様な定性反応を示したから RNA と断定される. なお, この場合材料によつて特定のピークの高さが異なるというようなことは認められなかつた.

(2) 抗血清作製法の吟味

免疫抗原量, 免疫回数, 間隔などの差による特異抗体価の違いを Oudin 法により吟味した. まず, 免疫注射3回法では, 第1回の免疫注射後2週目から抗体

図4. a ヒト胃癌及び非胃癌 DOC-s 分画の DEAE セルローズカラムクロマトグラム

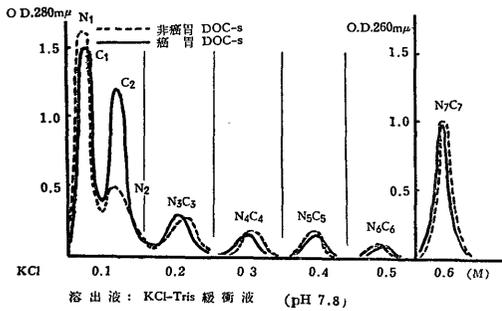


図4. b ラット正常肝, 硬変肝及び DAB 肝癌, DOC-s 分画の DEAE セルローズカラムクロマトグラム

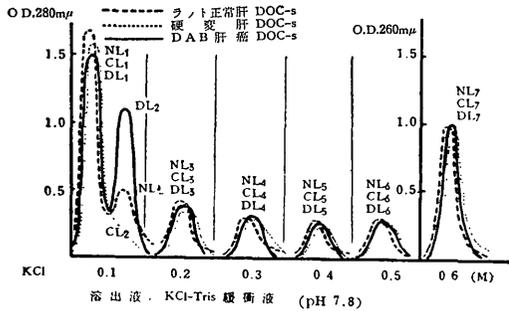


図5. a ヒト胃癌及び非胃癌 DOC-i 分画の DEAE セルローズカラムクロマトグラム

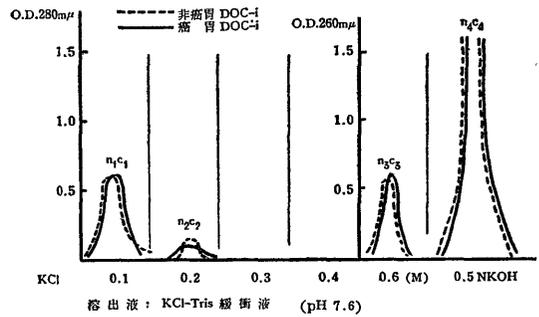
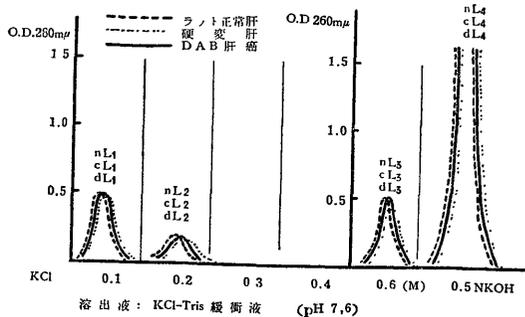


図5. b ラット正常肝, 硬変肝及び DAB 肝癌, DOC-i 分画の DEAE セルローズカラムクロマトグラム



は産生されるが、力価は弱く (n=2), 3週目で やや高く (n=3, 4) 5~6週目で 最高 (n=5) になり, 8週目より減少し始め, 10週目に入ると著しく低くなつた (n=1).

免疫注射 3 回後45日放置し, 追加免疫を 1 回ウサギの肩胛骨下腔へ注射した場合には, 追加免疫注射後約 7 日から10日目に最高の力価 (n=5,6) が得られた. 第 1 回目の追加免疫後 2~3 週間放置し, 第 2 回目の追加免疫を行なうと, その後 4 日目から力価はさらに高まり (n=7,8), それが約 2 週間続いた (図 7). そこで以後の実験には免疫注射 3 回と追加免疫を 2 回行

なつて, minor component にも充分反応することがたしかめられた抗血清を使用した. 1 回の注射に要する抗原蛋白量は 40~50 mg で, それ以下の蛋白量では抗体産生は弱かつた. しかし, DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーにかけて精製した抗原を用いる場合には, 量的制限のため 1 回の蛋白量を 20mg とせざるを得なかつたので, 必然的に力価の低い抗血清 (n=4,5) しか得られず, そこで使用に際しては抗血清を 1/2 量に濃縮した.

### (3) 免疫化学的解析

#### i) DOC-s 分画について

図 6 各分画の蛋白量の比 (%)

#### ヒト胃癌 DOC 可溶性分画

フラクシオン No.	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
1	43	29	15	8	5
2	56	34	5	5	0
3	49	25	11	12	3
4	50	24	12	8	6
5	38	28	14	12	8
6	50	25	11	8	6
7	49	25	8	10	8
8	50	26	9	8	7
9	49	24	14	9	4
10	50	25	14	9	2
11	44	26	14	10	6
12	45	27	16	10	2
13	48	29	14	9	0
14	46	30	16	8	0
15	48	29	15	8	0
16	46	28	18	8	0
平均値	47	27	13	10	3

#### ヒト非癌胃 DOC 可溶性分画

フラクシオン No.	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>	N <sub>5</sub>
1	76	7	8	9	0
2	88	5	7	0	0
3	73	14	2	0	11
4	59	3	14	13	11
5	62	12	12	9	5
6	57	11	11	10	11
7	62	14	13	8	3
8	65	13	13	6	3
9	61	12	12	8	7
10	64	12	10	6	8
平均値	67	10	10	7	6

#### 正常ラット肝 DOC 可溶性分画

フラクシオン No.	NL <sub>1</sub>	NL <sub>2</sub>	NL <sub>3</sub>	NL <sub>4</sub>	NL <sub>5</sub>
1	65	10	6		19
2	57	11	8		24
3	57	12	0		31
4	71	12	0		17
5	68	11	2		19
6	68	10	3		19
7	63	10	4		23
8	61	11	4		24
9	63	10	5		22
10	59	13	6		22
平均値	63	11	4		22

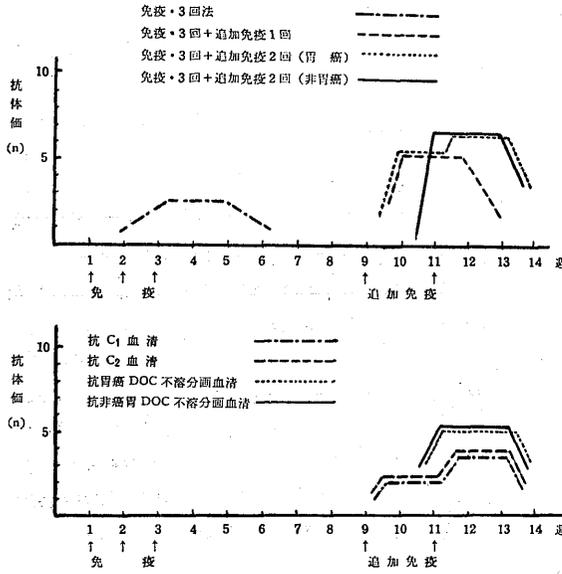
#### ラット硬変肝 DOC 可溶性分画

フラクシオン No.	CL <sub>1</sub>	CL <sub>2</sub>	CL <sub>3</sub>	CL <sub>4</sub>	CL <sub>5</sub>
1	56	0	14		30
2	62	0	11		27
3	62	0	14		24
4	70	0	11		19
5	64	0	16		20
6	64	0	16		20
平均値	63	0	14		23

#### DAB 肝癌 DOC 可溶性分画

フラクシオン No.	DL <sub>1</sub>	DL <sub>2</sub>	DL <sub>3</sub>	DL <sub>4</sub>	DL <sub>5</sub>
1	33	24	16		27
2	41	22	14		23
3	41	30	10		19
4	43	28	9		20
5	38	27	12		23
6	39	28	11		22
平均値	39	27	12		22

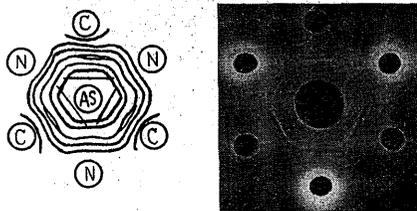
図7 抗血清作製法の吟味



抗胃癌 RF 血清 (No: 700, 702, 704, 705, 707, 710, 989, 990) に対して, 胃癌 RF 分画及び非胃癌 RF 分画の DOC-s 分画を Ouchterlony 法により反応させると, 癌及び非癌と抗血清の間には共通な沈降線が4~5本得られたが, その他に胃癌には2本の沈降線がみられ, 内1本は共通沈降線と intersection をしたが, 他の1本は胃癌に特異的であった(図8). そこで非胃癌 DOC-s 成分で吸収した抗胃癌 RF 血清を用いると, 癌に特異的なこの沈降線が1本残った(図9).

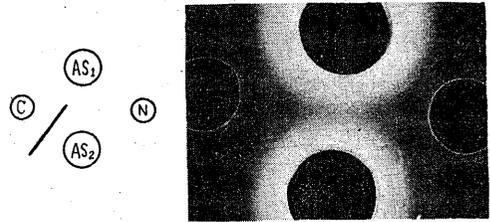
つぎに DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで精製した抗原による検討を行なつてみると, 抗胃癌RF血清に対して, C<sub>1</sub> は2本の沈降線を示し, N<sub>1</sub> は1本の沈降線を示す. 内1本は共通沈降線をつくり, 他の1本は胃癌に特異的であった(図10 a). 吸収抗血清(抗胃癌 RF 血清を N<sub>1</sub> と正常人血清で吸収)を用

図8 抗胃癌 RF 血清による胃癌及び非胃癌 DOC-s 分画のゲル内沈降反応



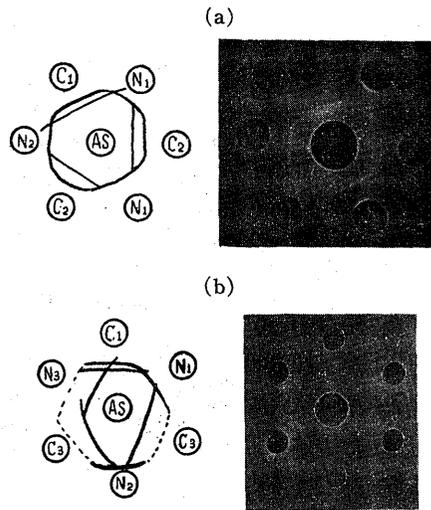
C : 胃癌 DOC-s 分画  
N : 非胃癌 DOC-s 分画  
AS: 抗胃癌 RF 血清

図9 吸収抗血清によるゲル内沈降法



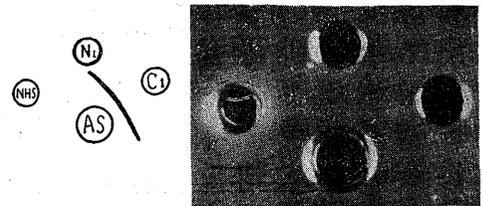
AS<sub>1</sub> : 抗非胃癌 RF 血清-胃癌 DOC-s-NHS  
AS<sub>2</sub> : 抗胃癌 RF 血清-非胃癌 DOC-s-NHS

図10 抗胃癌 RF 血清による胃癌及び非胃癌 DOC-s 分画の subfraction のゲル内沈降反応



N<sub>1</sub> : }  
N<sub>2</sub> : } 非胃癌 DOC-s 分画の subfraction  
N<sub>3</sub> : }  
C<sub>1</sub> : }  
C<sub>2</sub> : } 胃癌 DOC-s 分画の subfraction  
C<sub>3</sub> : }  
AS: 抗胃癌 RF 血清

図11 吸収抗血清によるゲル内沈降反応



NHS : 正常人血清  
AS : 抗胃癌 RF 血清 -N<sub>1</sub>-NHS

いと、この特異沈降線のみが残る (図11)。即ち、 $C_1$  に胃癌特異抗原が存在する。 $C_2$  も2本の沈降線を示したが、このうち1本は癌及び非癌の subfraction の各抗原と共通沈降線であり、他の1本はその共通沈降線によつて intersection をうけたが、抗原  $C_1$  の特異沈降線とは関係がなかつた (図10 a)。さらに同血清に対し、 $C_3$ 、 $N_2$  及び  $N_3$  の反応をしらべてみると、これらも1本の共通沈降線を示したが、 $N_3$  及び  $C_3$  はさらにもう1本の沈降線を示し、それらは spur を形成した (図10 b)。

免疫電気泳動法では、胃癌 DOC-s 分画は5本の弧状沈降線を生じ、非癌胃 DOC-s 分画は3本の沈降線を生じた。即ち、胃癌 DOC-s 分画では、 $\beta_1$ -g1 位に2本、 $\alpha_2$ -g1 位に3本、非癌胃 DOC-s 分画では  $\beta_1$ -g1 位に1本、 $\alpha_2$ -g1 位に2本を生じた。したがつて癌と非癌の差は、 $\beta_2$ -g1 位の1本、 $\alpha_2$ -g1 位の1本である (図13 a)。

つぎに抗原の subfraction について、抗胃癌 RF 血清を用いて検討してみると、 $C_1$  は2本、 $N_1$  は1本の弧状沈降線を示し、いずれも  $\beta_1$ -g1 位であつた (図13 b)。 $N_1$  と正常人血清とで吸収した抗血清を用い

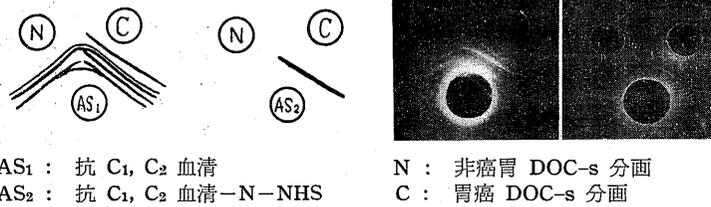
ると、 $N_1$  の沈降線は消失し、 $C_1$  の抗原孔に近い1本の沈降線が残つた (図13 c)。 $C_2$  は抗胃癌 RF 血清に対し  $\beta_1$ -g1 位に1本、 $\alpha_2$ -g1 位に1本の沈降線を生じた (図13 a)。

なお、 $C_1$  の胃癌特異抗原因子及び  $C_2$  の癌化時増量する因子の存在は、抗  $C_1$  血清、抗  $C_2$  血清を用いた場合にも全く同様にたしかめられた (図12)。しかし抗体として抗非癌胃 RF 血清を用いると、胃癌 DOC-s 分画及び非癌胃 DOC-s 分画の差異は失われる。

そこで上記の胃癌 DOC-s 分画  $C_1$  に見いだされた胃癌特異抗原因子の細胞内分布をしらべてみると、胃癌ホモジネートの 10,000×g, 30分の沈殿分画, 105,000×g, 120分の上清分画及びその DOC-i 分画のいずれにもそれを認めることができなかつた。勿論、この場合不溶分画 (ホモジネートの 10,000×g, 沈殿分画及び DOC-i 分画) は DOC 処理または凍結融解のくり返しにより可溶化した分画について検討を加えた。

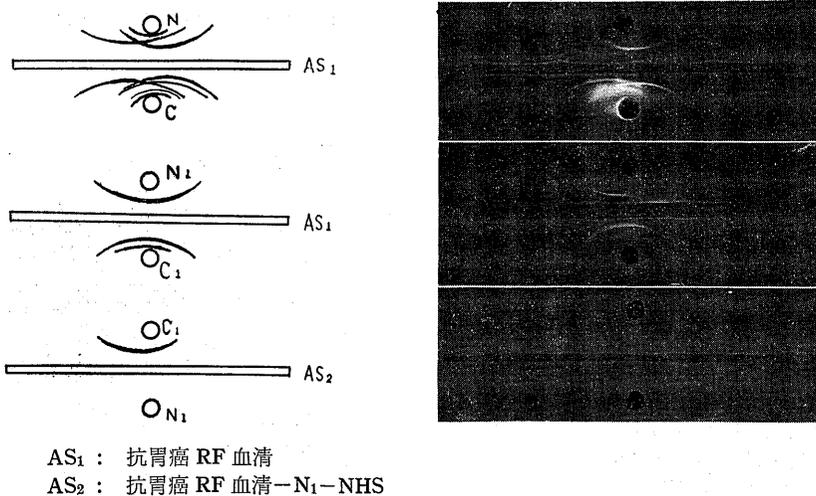
つぎに胃以外の臓器の癌について上記の胃癌特異因子の存在をしらべてみた。即ち、子宮癌3例、乳癌2例、直腸癌3例及び廻盲部癌2例を使用し、それぞれ

図12 抗  $C_1$ ,  $C_2$  血清によるゲル内沈降反応



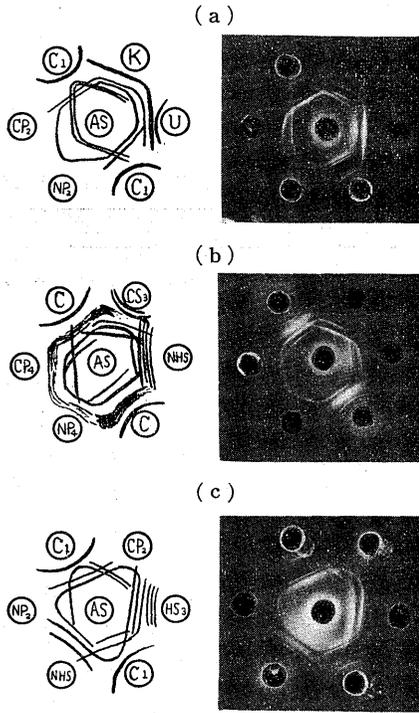
AS<sub>1</sub> : 抗  $C_1$ ,  $C_2$  血清  
AS<sub>2</sub> : 抗  $C_1$ ,  $C_2$  血清-N-NHS  
N : 非癌胃 DOC-s 分画  
C : 胃癌 DOC-s 分画

図13 抗胃癌 RF 血清による胃癌及び非癌胃 DOC-s 分画の subfraction の免疫電気泳動



AS<sub>1</sub> : 抗胃癌 RF 血清  
AS<sub>2</sub> : 抗胃癌 RF 血清-N<sub>1</sub>-NHS

図14 胃癌特異抗原因子の細胞内分布及び  
その他の臓器癌の DOC-s 分画との関係



- N : 非癌胃 DOC-s 分画
- C : 胃癌 DOC-s 分画
- N<sub>1</sub> : 非癌胃 DOC-s の subfraction
- C<sub>1</sub> : 胃癌 DOC-s の subfraction
- NP<sub>2</sub> : 非癌胃ホモジネート 10,000×g, 沈殿分画の DOC-s 分画
- CP<sub>2</sub> : 胃癌ホモジネート 10,000×g, 沈殿分画の DOC-s 分画
- NS<sub>3</sub> : 非癌胃ホモジネート 10,5000×g, 上清
- CS<sub>3</sub> : 胃癌ホモジネート 10,5000×g, 上清
- NP<sub>1</sub> : 非癌胃 DOC-i 分画

- CP<sub>1</sub> : 胃癌 DOC-i 分画
- K : 回盲部癌 DOC-s 分画
- U : 子宮癌 DOC-s 分画
- AS : 抗胃癌 RF 血清

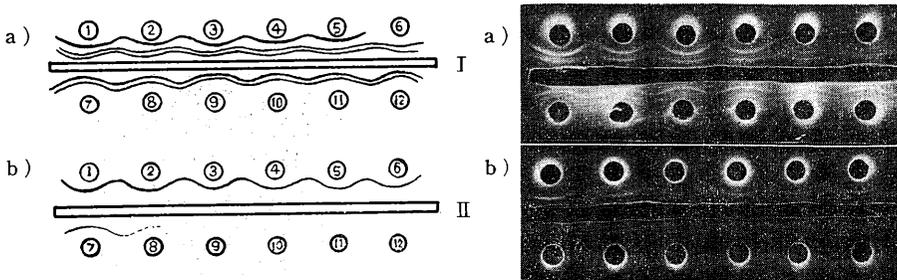
の DOC-s 分画を抽出し、抗胃癌 RF 血清と反応させたが、胃癌特異抗原に一致する抗原の存在は 1 例も認められなかった (図14 a~c).

ii) DOC-i 分画について

抗胃癌 DOC-i 分画血清に対し、胃癌及び非胃癌 DOC-i 分画 (終濃度 0.005M MgCl<sub>2</sub> を含む 0.02M Tris 緩衝液 pH 7.6 を加えて凍結融解を 3 回くり返し可溶化した分画を使用) をそれぞれ反応させると、胃癌に 3 本、非癌胃には 1 本の沈降線が認められたが、その 1 本は両者に共通沈降線であり、残りの 2 本は胃癌に特異的であった (図15). つぎに吸収抗血清 (抗胃癌 DOC-i 分画血清を非癌胃 DOC-i 分画から前述の方法で抽出した分画及び正常人血清で吸収) を用いると、共通沈降線は消失し、2 本の癌特異沈降線が残った (図15). この特異抗原は、胃癌の各分画 (10,000×g, 30分沈殿分画, DOC-s 分画及び DOC-i 分画, 105,000×g, 120分上清) の中では DOC-i 分画にのみ存在した (図16 a~e). なお、この因子は前記の胃癌 DOC-s 分画にある特異抗原と関連性を持たない (図16 a~e).

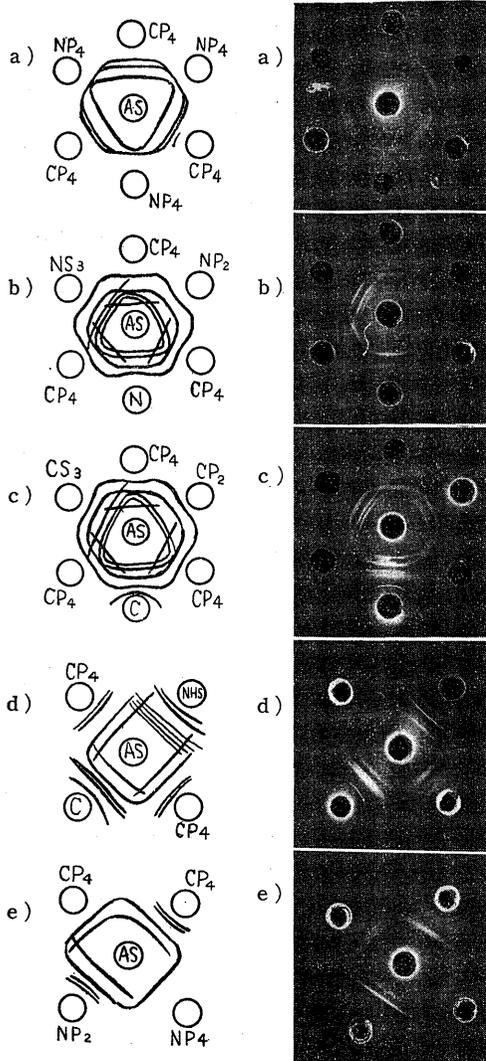
つぎに免疫電気泳動法でしらべると、可溶化した DOC-i 分画は癌 DOC-i 分画血清との反応で、癌は 6 本、非癌は 4 本の弧状沈降線が生ずる (図17 a)). 胃癌は β<sub>2</sub>-gl 位に 1 本、β<sub>1</sub>-gl 位に 3 本、α<sub>2</sub>-gl 位に 2 本、非癌は β<sub>1</sub>-gl 位に 2 本、α<sub>2</sub>-gl 位に 2 本で、癌と非癌の差は β<sub>2</sub>-gl 位の 1 本と、β<sub>1</sub>-gl 位の 1 本である。吸収抗血清 (抗胃癌 DOC-i 分画血清を非癌胃 DOC-i 分画と正常人血清で吸収) を用いると胃癌に

図15 吸収抗血清による胃癌及び非癌胃 DOC-i 分画のゲル内沈降反応



- I : 胃癌 DOC-i 分画
- II : 非癌胃 DOC-i 分画
- ①~⑫ : 抗胃癌 DOC-i 血清-非癌胃 DOC-i-NHS
- ⑫で抗胃癌 DOC-i 血清 : 非癌胃 DOC-i=1:1 になるように吸収した.

図16 胃癌 DOC-i 分画に存在する特異抗原の細胞内分布について



AS : 抗胃癌 DOC-i 血清

特異な沈降線が  $\beta_2$ -g1 位に 1 本,  $\beta_1$ -g1 位に 1 本残る (図17 b)). しかしこの場合も抗体として抗非癌胃 DOC-i 分画血清を用いると, 癌と非癌のこのような差は認められなかった.

小 括

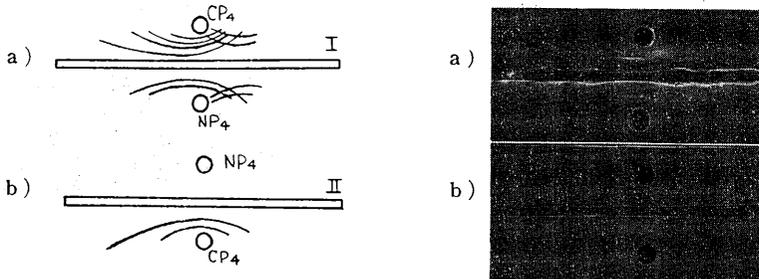
ヒトの胃癌組織より RNA richfraction (マイクロゾーム分画) を分画し, これをさらに DOC-s 分画及び DOC-i 分画にわけ, その3つの分画をもって家兎に免疫して得た抗血清について, ゲル内沈降法及び免疫電気泳動法によつて, 胃癌及び非癌胃の DOC-s 分画及び DOC-i 分画について比較検討した結果, 非癌胃にみられない特異抗原が3個胃癌にみられた. その1つは胃癌 DOC-s 分画に, 他の2つは胃癌 DOC-i 分画にみられ, 前者は  $\beta_1$ -g1 位, 後者は  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -g1 位に等しい泳動度を示す糖蛋白であり, DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで分画すると, いずれも step 1 に見いだされた.

また癌化にさいして著明に増加する因子が存在し, 免疫電気泳動では,  $\alpha_2$ -g1 位に位置し, これを DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで分画すると, ピーク C<sub>2</sub> に溶出される糖蛋白であつた.

考 察

最近数多くの方法で腫瘍特異な高分子組成の検索が行なけるようになり, 免疫学的手段によつても, 癌化に伴う正常組織抗原の減少または消失と正常組織抗原にみられない特異抗原の獲得が見いだされている. たとえば weiler<sup>21)~23)</sup>, Green<sup>24)25)</sup> らは, 肝癌には正常肝の臓器特異抗原が消失すると報告し, Nace, 須山<sup>26)~28)</sup> は Lucké 腎癌を使用して, リゾヂーム活性のある因子の消失を指摘している. 一方石川<sup>29)</sup> らは DAB肝癌上清分画に  $r_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\alpha_1$ -g1 位の泳動度をもつ特異抗原を見だし, 高柳, 建部<sup>30)31)</sup> は同じく

図17 抗胃癌 DOC-i 血清による胃癌及び非癌胃 DOC-i 分画の免疫電気泳動法



I : 抗胃癌 DOC-i 血清

II : 抗胃癌 DOC-i 血清-非癌胃 DOC-i-NHS

DAB 肝癌に癌特異抗原を見だし、ラッテの血清中にもそれを証明した。平井<sup>32)33)</sup>、Horn<sup>34)</sup>はラッテ腹水癌の細胞核に癌特異性を見だしている。Toolan<sup>54)</sup>は、ヒトの可移植性癌(H. EP # 3)の不溶分画、とくに膜成分に強い抗移植性を証明し、武田<sup>35)</sup>は、DAB 肝癌の細胞膜、核膜、ミトコンドリア及び核内不溶成分にそれを認め、この特異抗原は不溶性のリポ蛋白にあるとし、菊地<sup>36)</sup>は、ラッテ腹水腫瘍についても同様の結果を報告しているが、抗原分析はほとんど行なっていない。

人癌に関しては、Körngold<sup>37)~40)</sup>、Messineo<sup>41)</sup>、Calvalho<sup>42)</sup>、Zilber<sup>43)</sup>、板倉<sup>44)</sup>、平井<sup>45)</sup>、荒川<sup>46)</sup>などの報告があり、いずれも癌特異抗原を証明しているが、それらの抗原の細胞内局所は明らかでない。

癌特異抗原の細胞内分布については、前述のように、核、cell sap などにおける存在が述べられているが、筆者が注目するものはミクロゾーム分画に癌特異性を求めた最近の2~3の報告である。Weiler<sup>21)~23)</sup>、Butenandt<sup>47)</sup>、Hiramoto<sup>48)</sup>などは、ラッテ肝ミクロゾームが肝特異性抗原をもち、それが癌化の過程で減少し、肝癌では消失することを螢光抗体法で示した。Kidd<sup>49)</sup>も補体結合反応によつて Brown-Pearce 癌の癌特異抗原をミクロゾームに求めている。小林<sup>50)51)</sup>は、胃癌アルコール抽出物、とくにリボ核酸分画に最も高い癌特異性をゲル内沈降法で示した。上原<sup>52)</sup>はエールリッヒで腹水癌細胞の各細胞分画について螢光抗体法を用いて検討し、ミクロゾーム及び細胞核に特異抗原の存在を認めた。Björklund<sup>53)</sup>は抗人癌馬血清が特異的な Cytotoxicity をもち、人癌あるいは Hela 細胞を障害することをみ、この効果は正常組織による吸収ではなくならないが、人癌の不溶性残渣で吸収すれば消失すると述べ、この抗原を細胞膜に関係するリポ蛋白であると示した。

筆者が人胃癌組織より分画して得た胃癌 RF 分画は、細胞中の全 RNA 量の 60~70% を含み、ミクロゾーム分画に相当するものと考えられる<sup>56)~58)</sup>。ミクロゾームの浮遊液を DOC (デオキシコール酸ナトリウム) で処理すると、溶解部分には多くの蛋白質、リン脂質、色素及び酵素などが含まれ<sup>59)~61)</sup>、不溶性部分 (105,000×g, で沈殿する粒状部分) には少量の蛋白質と、ミクロゾームのもつほとんどの RNA がくる<sup>62)63)</sup>。筆者の結果では、胃癌 RF 分画には非癌胃にみられない抗原因子が3個みられ、その1つは同分画の DOC-s 部分にあり、他の2つは DOC-i 部分にあつた。これらが作つた沈降線はいずれも sudan black B に染色せず、 $\alpha$ -naphthol-P-phenylen diamine

反応が陽性であることから糖蛋白と考えられたが、DOC 処理過程でリポドが離れる可能性も否定できないから、これらの抗原のミクロゾーム内の存在様式は『糖-リポ-蛋白』の形であるかも知れない。教室の田村<sup>77)</sup>は、AH127 及び AH66F からミクロゾームをとりだし、その抗血清に対し、癌と非癌を比較した結果、癌の DOC-s 分画に特異抗原を認め、この因子は sudan black B で染色されることから、Lipoprotein であるとしている。実際、胃癌ミクロゾーム分画を DOC 処理し、105,000×g, で遠心すると、かなりの量のリポドが遊離してくる。おそらく、胃癌 DOC-s 部分にある特異抗原も膜構造の一部であり、DOC 処理により修飾をうけて可溶化したものと考えられる。つぎに、胃癌 DOC-i 分画にみられる2つの特異抗原は、DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで分画すると、0.1M KCl で溶出され、この分画には RNA はみられない。Robert<sup>64)</sup>らがラッテ肝リボゾームを DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで分画したさい、リボゾーム分画は 0.3~0.4M の KCl で溶出され、その分画には RNA が証明されている。このことから推定すると、胃癌 DOC-i 分画に存在する特異抗原はリボゾームの蛋白と考えるよりは、むしろ膜構造の一部と考えるのが妥当と思われるが、この点については今後の検討が必要であろう。

胃癌特異抗原の解析を行なつた Zilber<sup>65)</sup> は、pH 8.3~8.5 で水溶性蛋白を胃癌から抽出し、 $\beta$ -及び  $\tau$ -g1 位の泳動度をもつ蛋白を分離し、この分画に対する抗血清を作つて、Ouchterlony 法で解析をとこ、他臓器癌組織の水抽出液にみられない特異沈降線が1~2本みられたと報告し、つづいて、荒川<sup>46)</sup>は胃癌組織より抽出した糖蛋白について非癌例にみられない2個の特異抗原因子が存在することを示した。この特異抗原はそれぞれ  $\beta_2$ -、 $\beta_1$ -g1 位の泳動度を示し、 $\beta_1$ -g1 位のもはその他の臓器癌にも共通する特異抗原因子であり、 $\beta_2$ -g1 位のもは胃癌特異抗原因子であるとしている。

筆者は胃癌細胞の抗原特異性はミクロゾーム分画とくに膜構造にあると考えているが、既述のように、Toolan<sup>54)</sup>、武田<sup>35)</sup>、菊地<sup>36)</sup>らは、ヒトの可移植性癌、DAB 肝癌及びラッテ腹水癌について細胞膜、核膜、ミトコンドリア及びミクロゾームの膜構造に強い抗移植性を認めている。しかし Rodertson<sup>72)</sup>によれば、細胞膜、核膜、ミトコンドリア及びミクロゾームの膜構造はすべて共通の起源をもち、厚さ 80 Å の二重膜である unite membrane から成る。また膜を構成するプロテオリポド (PL) は細胞の特異性に関

与し<sup>70)</sup>、その抗原性は個体特異性や、生理機能としての作用<sup>73)74)</sup>や、蛋白の合成、あるいはその分泌に中間体として関与したり<sup>75)78)</sup>、アレルギー-性疾患<sup>79)80)</sup>の原因になるという。実際、倉田ら<sup>70)</sup>は、甲状腺細胞膜系を再構成し、それによつて実験的甲状腺炎を作製している。

また、腫瘍と正常の細胞膜の違いについては、Ludford<sup>60)</sup>は腫瘍細胞膜の脂溶性色素に対する透過性が正常細胞膜より大きく、膜を構成するリポ蛋白質の組成に差異があるらしいと述べ、Lucke<sup>67)</sup>らは癌細胞が正常細胞に比し高級アルコールに対する透過性が低いことを証明し、妹尾<sup>55)</sup>、Bennet<sup>68)</sup>らは腫瘍細胞がオレイン酸のような長鎖脂酸により著しく細胞膜が壊され、細胞質の流出・呼吸の低下をおこすことを生化学的に証明している。

このような考え方に従えば、細胞膜・ミトコンドリア及びマイクロゾームの膜成分・核膜などが共通の膜抗原をもつことは十分に期待される。勿論異なつた種類の細胞ではその膜系の糖-リポ-蛋白の組成・立体構造・機能などに差がある筈であり、おそらく癌細胞でもこの細胞膜系に癌としての特異性を求めることができるであろう。実際、石川ら<sup>81)82)</sup>はエールリッヒ腹水癌細胞凝集阻害反応を使用し、癌細胞膜に特異性を見いだしている。このような点をさらに明らかにしてゆくためには、今後とも各抗原の一層の分析を進めることが必要である。そして、複雑な抗原組成をもつ細胞分画のようなものの解析には、抗原の分画・精製とゲル内沈降法の併用による分析が現在のところ最も重要な手段になるであろう。

## 総 括

人胃癌組織マイクロゾーム分画、及びその DOC-s 分画と DOC-i 分画を Freund's complete adjuvant 法で家兎に投与して得た抗血清を用い、それらの分画の抗原分析を Double Gel Diffusion (Ouchterlony 法) 及び Immunoelectrophoresis (Graber 法) で行なつた。

胃癌と非胃癌組織より抽出した RNA rich fraction (マイクロゾーム分画) についてみると、胃癌の同分画には非胃癌にみられない抗原因子が3個見いだされた。その1つは同分画の DOC-s 分画にあり、他の2つは同分画の DOC-i 分画にあつた。前者は  $\beta_1$ -gl, 後者は  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -gl 位に等しい泳動度を示す糖蛋白であつた。両因子は DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーではいずれも step 1 (図4a) 及び 4b) 参照) に見いだされた。

また、非胃癌マイクロゾーム分画の DOC-s 分画には少量存在し、癌化にさいして著明に増加する因子が見いだされた。これは電気泳動的には  $\alpha_2$ -gl 位に位置し、DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで分画すると、ピーク C<sub>2</sub> (図4a) 参照) に溶出される糖蛋白であつた。

これらの胃癌特異性抗原は、マイクロゾームとくにその不溶性膜成分に由来するものと考えられる。

稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師石川教授に深甚な謝意を表します。また多大なる御教示をいただきました倉田自章助教授ならびに教室の諸兄に厚く謝意を表します。なお材料の提供を仰ぎました国立金沢病院長門馬良吉博士、石野病院々長石野琢二郎博士、佐伯病院々長佐伯善雄博士、木元病院々長木元正二博士、内田病院々長内田一博士に深甚なる謝意を表します。

## 文 献

- 1) Littlefield, J. W., Keller, E. B., Gross, J. & Zamecnik, P. C. : J. Biol. chem., 217, 111 (1955).
- 2) Perlmann, P. & Winfield, S. : Proceedings of the first IUB/IUBS. International Symposium Stockholm, (1960).
- 3) Gornall, A. G., Bardawill, C. S. & David, M. M. : J. Biol. chem., 177, 751 (1949).
- 4) Roberts, R. B., Britten, J. & Bolton, E. T. : Microsomal Particles and Protein Synthesis P. 84 (1958).
- 5) Freund, J. & Bonanto, M. V. : J. Immunol., 48, 325 (1944).
- 6) Freund, J. : Clin. Path., 21, 645 (1951).
- 7) Oudin, J. : C. R. Acad. Sci. (Paris), 222, 115 (1946).
- 8) Oudin, J. : Methods in medical Reserch., 5, 335 (1952).
- 9) Ouchterlony, O. : Acta Path. Microbiol-Scand., 32, 231 (1953).
- 10) Crowle, A. J. : J. Lab. Clin. Med., 52, 784 (1958).
- 11) Uriel, J. : Bull. Soc. Chim. Biol., 40, 277 (1958).
- 12) Kohn, J. : Clin Chim. Acta, 3, 450 (1958).
- 13) Graber, P. & Williams, C. A. : Biochem. Biophys. Acta., 17, 67 (1955).
- 14) Siekeritz, P. : Methods in Enzymology (ed. Colowick, S. P. & Kaplan, N. O.), 1, 61, Academic Press, New York (1962).
- 15) Volkin, E. & Cohn, W. E. : "Methods of Biochemical Analysis, 1, 288 (1954).
- 16) Mejbaum, W. : Z. Physiol. Chem., 258, 117 (1939).
- 17) Dische, Z. & Schwarz, K. : Mikrochim, Acta, 2, 13 (1937).
- 18)

- Harlbert, R. B., Schmitz, H., Brumm, A. F. & Potter, V. R. : J. Biol. Chem., 209, 23 (1954). 19) Osawa, S., Takata, K. & Hotta, Y. : Biochim. Biophys. Acta, 28, 271 (1958). 20) Smith, J. D. & Markham, R. : Biochem. J. (London), 46, 509 (1950). 21) Weiler, E. Z. : Naturforsch., 116, 32 (1956). 22) Weiler, E. Z. : Brit. J. Cancer., 10, 553 (1956). 23) Weiler, E. Z. : Brit. J. Cancer., 10, 560 (1965). 24) Green, H. N. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 68, 268 (1957). 25) Green, H. N. : Acta. Unio. Inte. Contra. Cancrum., 17, 215 (1961). 26) Hacc, G. W., Suyama, T. & Smith, N. : Symposium of 1.1. E-Pallanza (1960). 27) Nace, G. W. & Suyama, T. : SABCO Journal 1, 1 (1965). 28) Nace, G. W., Suyama, T. & Iwata, T. : Ann. N. Y. Acad. Sci. in Press. 29) 石川太刀雄・橋武彦・高柳尹立 : 癌の臨床, 8, 593 (1962). 30) 高柳尹立・建部守昭 : 日新医学, 46, 419 (1959). 31) 高柳尹立・建部守昭 : 日新医学, 46, 351 (1959). 32) Hirai, H., Sekine, K., Iijima, A. & Warabioka, A. : J. Biochem., 49, 682 (1961). 33) Hirai, H., Taga, H., Isaka, H., Satoh, H. & Warabioka, K. : Gann, 54, 177 (1963). 34) Horn, E. C. : Cancer Res., 16, 595 (1956). 35) 竹田勝男・吉尾久・坂田義晴 : Gann, 47 (1956). 36) 菊地浩吉 : 癌の臨床, 8, 639 (1962). 37) Korngold, L. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 69, 681 (1957). 38) Korngold, L. & Leeuwen, G. V. : Cancer Res., 17, 775 (1957). 39) Korngold, L. & Leeuwen, G. V. : J. Immunol., 78, 172 (1957). 40) Korngold, L. : J. Nat. Cancer Inst., 26, 547 (1961). 41) Messineo, L. : Nature (Lond), 190, 1122 (1961). 42) Calvalho, S. D. : J. Lab. Clin. Med., 56, 333 (1964). 43) Zilber, L. A. : Biological Approaches to Cancer Chemotherapy., 231 (1961). 44) 板倉克明 : Gann, 54, 193 (1963). 45) 平井秀松・多賀弘子・中村浩一・吉原忠男・原親夫・篠原将郎 : 最新医学, 19, 499 (1964). 46) 荒川弥 : 十全会誌, 70 (1964). 47) Butenandt, A. : 第14回医学総会講演集 (1955). 48) Hiramoto, R. : Cancer Res., 21, 1372 (1961). 49) Kidd, J. G. : J. Exp. Med., 83, 227 (1946). 50) 小林勝太郎 : The Tohoku J. of Exptl. Med., 63, 191 (1956). 51) 小林勝太郎 : The Tohoku J. of Exptl. Med., 63, 191 (1956). 52) 上原洋一郎 : アレルギー, 第14巻, 第7号, (1956). 53) Björklund, B. : Int. Arch. Allergy., 8, 179 (1956). 54) Toolan, H. W. & Wallace, R. A. : Cancer Res., 18, 698 (1958). 55) 妹尾左知丸・吉岡正夫・神田三郎 : 学術月報別冊資料, 41, 174 (1953). 56) Hogeboom, G. H., Schneider, W. C. & Palade, G. E. : J. Biol. Chem., 172, 259 (1948). 57) Schneider, W. C. & Hogeboom, G. H. : J. Biol. Chem., 183, 123 (1950). 58) Palade, G. E. & Siekevitz, P. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 171 (1956). 59) Zamecnik, P. C. & Keller, E. B. : J. Biol. Chem., 22, 45 (1956). 60) Peterman, M. L. & Hamilton, M. G. : J. Biol. Chem., 234, 1441 (1959). 61) Ernster, L., Siekevitz, P. & Palade, G. E. : J. Cell Biol., 15, 541 (1962). 62) Peterman, M. L., Mizzen, N. A. & Hamilton, M. G. : Cancer Res., 13, 372 (1953). 63) Litterfield, J. W., Keller, E. O., Elizabeth, B., Gross, T. & Zamecnik, P. C. : J. Biol. Chem., 217, 111 (1955). 64) Roberts, R. B., Britten, R. J. & Bolton, E. T. : Microsomal Particles and Protein Synthesis P. 84 (1958). 65) Zilber, L. A. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 101, 264 (1962). 66) Ludford, R. J. : Cytology Cell Physiology, (ed. Bourm. G. H.), N. Y. (1951). 67) Lucke, B. & Parpart, A. K. : Cancer Reserch, 14, 75 (1954). 68) Bennet, L. R. & Connon, F. F. : J. Natl. Cancer Inst., 19, 999 (1957). 69) Robertson, J. D. : Prog. Biophys and Biophyscal Chem., 10, 34 (1960). 70) Manson, L. A., Foshi, G. V. & Palm, J. : Proc. Natl. Acad. Sci., 48, 1816 (1962). 71) Robertson, J. D. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 339 (1961). 72) Robertson, J. D. : Scientific American, 206, No. 4, 64 (1962). 73) Ganoza, M. C. & Byrne, W. L. : Federation Proc., 22, 535 (1963). 74) Ebashi,

- S. & Lipman, F. : J. Cell. Biol., 14, 389 (1962). 75) Hunter, G. D. & Godson, G. N. : Nature, 189, 140 (1961). 76) 倉田 自章・岡田収司 : 第54回日本病理学会総会 (長崎) (1960). 77) 田村 充 : 十全医会誌, 未印刷.
- 78) Campbell, P. N. : Protein Biosynthesis (ed. Harris, R. J. C.) 19, Academic Press, New York (1961). 79) Yamamura, Y., Yasaka, S., Nakamura, S., Yamaguchi, M., Ogawa, Y., Endo, K. & Takeuchi, H. : Proc. Japan. Acad., 31, 36 (1955). 80) 永井克孝 : 総合医学, 19, No. 1, 14 (1962). 81) Ishikawa, T. : The Japanese Journal of Experimental Morphology, 17, 8 (1963). 82) Ishikawa, T. & Inoue, K. : Japan Society for Cell Biology. Okayama (1965).

#### Abstract

A RNA-rich fraction was obtained from the cell-free homogenate of human stomach cancer and human non-cancerous stomach respectively by differential centrifugation. The DOC-soluble and DOC-insoluble fraction were prepared from them. Antisera were prepared by immunization of rabbits with these fractions.

Antigen analysis with these antisera by immunodiffusion methods showed the following results: a glycoprotein in the DOC-soluble fraction and two glycoproteins in the DOC-insoluble fraction were highly specific for human stomach cancer.

These specific antigens seemed to be related to the membrane components of the endoplasmic reticulum.