

《ノート》

Pancreatic oncofetal antigen immunoradiometric assay

キットの基礎的および臨床的検討

Fundamental Studies of a Pancreatic Oncofetal Antigen
Immunoradiometric Assay Kit

長田 篤雄* 菰田 二一**

Atsuo NAGATA* and Tsugikazu KOMODA**

*Radioisotope Laboratory, **Department of Biochemistry, Saitama Medical School

I. はじめに

Pancreatic oncofetal antigen (POA) は Banwo ら¹⁾によって報告されて以来, 多くの研究者によってその精製が試みられたが, 個々の報告において分子量および生化学的性格に違いがみられ^{2~7)}, 現在のところ必ずしも統一の見解は得られていない. Gelder ら²⁾は成人の膵臓癌から抽出した POA に対する家兎抗体を得, この抗体を利用してロケット免疫電気泳動を行い, 膵臓癌患者血清中における高 POA 値, およびその診断上の高陽性率を報告した. 今回われわれは, Gelder らより供与された POA および抗 POA 抗体による POA immunoradiometric assay (IRMA) キットを塩野義製薬株式会社より提供を受けたのでその基礎的ならびに臨床的検討を行った.

II. 試薬の内容と測定方法

キットには標準濃度 6 バイアル (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 U/ml), I-125 標識抗 POA モノクローナル抗体 (55.5 KBq 以下), 抗 POA ポリクロー

ナル抗体固相ビーズ, 緩衝液および洗浄液のそれぞれが含まれる. Fig. 1 にその標準的な 2-step のアッセイ手順を示す. 方法は標準液の 300 μ l に対して, サンプル 10 μ l を添加し, これに緩衝液を 300 μ l 加えるもので, 求める成績は測定値を 31 倍したものとなる.

III. 実験と結果

1. インキュベーション時間について

まず第二インキュベーションを室温 (25°C), 2 時間に固定し, 第一インキュベーションを 30 分, 2, 4, 24 時間と変えた場合, および第一インキュベーションを室温, 2 時間に固定し, 第二インキュベーション時間を 30 分, 2, 4, 24 時間と変えた場合の各標準曲線と血清サンプルの測定値を比較した. Fig. 2a に示したように, 第一インキュベーション時間を延長すると結合放射能が著しく増加したが, 24 時間では結合放射能の飽和傾向が認められた. また同時に測定した血清サンプルの測定値では中濃度ではやや高値となり, 低濃度では逆に低値となる傾向が窺われた.

次に, 第二インキュベーション時間を延長した場合 (Fig. 2b), 全体に結合放射能の増加傾向が認められたが第一インキュベーション時間の変化より影響が少なく, 特に 2 時間および 4 時間ではそ

* 埼玉医科大学 RI 研究施設

** 同 生化学教室

受付: 63 年 6 月 21 日

最終稿受付: 63 年 8 月 15 日

別刷請求先: 埼玉県入間郡毛呂山町本郷 38 (☎ 350-04)

埼玉医科大学研究施設

長 田 篤 雄

Key words: Pancreatic oncofetal antigen, Immunoradiometric assay, Tumor marker, Carbohydrate.

Table 1 Interassay variance

Assay No. Lot No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Mean	SD	CV %
Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
1	RC02	RD01	RD01	RD01	RD01	RD01	RD01	RD01	RD01	RD01	RH01	RH01	RH01	23.51	3.246	13.81
2	13.02	9.46	10.85	10.70	10.70	11.47	10.23	11.16	11.32	13.33	11.32	10.39	10.39	11.10	1.070	9.64
3	2.14	3.57	3.78	3.50	3.35	3.88	4.81	4.19	5.21	3.97	3.72	3.78	4.50	3.87	0.748	19.30

(unit; U/ml)

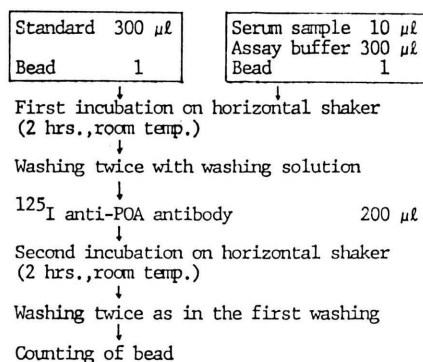


Fig. 1 Assay procedure of POA IRMA kit (Shionogi).

の影響がほとんど認められず、両標準曲線はほぼ一致した。これらの結果より、標準的な測定方法で満足な POA 値が求められると考えられ、以後の測定はこの標準方法に従った。

2. アッセイ内、アッセイ間の測定値変動について

アッセイ内において特定の 3 種類血清 A, B, C をそれぞれ 10 回反復測定したところ、A (\bar{m}) = 9.976 U/ml, SD = 0.443, CV = 4.525%, B (\bar{m}) = 31.62 U/ml, SD = 3.492, CV = 11.04% であった。高濃度の C は一部が測定範囲を超えたため評価から除外した。またアッセイ間変動については Table 1 に 13 回の反復測定結果を示す。測定範囲中間濃度では 10% 以下の変動係数であったが、低、高濃度の安定性はやや不良であった。

3. 回収試験について

ベースとなる血清サンプルに 1/5 容の標準液をあらかじめ添加し、このサンプルを通常の方法で測定して、31 倍しない原濃度について標準濃度の回収率を求めた。その結果、Table 2 に示したように、低濃度の標準液の添加では高回収率、高濃度標準液添加では低回収率であった。

4. 希釈試験について

この試験は 4 種類の血清サンプルをキット中に添付の緩衝液で希釈し、これをサンプルとして通常の方法で測定して標準曲線との平行性を検討した。Fig. 3a に示したように全体としての平行性は良好で、際だった乖離は相互間に認められず、

Table 2 Standard recovery test

Base serum	Added standard (U/ml)	Measured (U/ml)	Added (U/ml)	Recovery (U/ml)	Recovery (%)
A	0	0.805			
	0.2	0.860	0.04	0.055	137.50
	0.8	0.975	0.16	0.170	106.25
	1.6	0.950	0.32	0.145	45.31

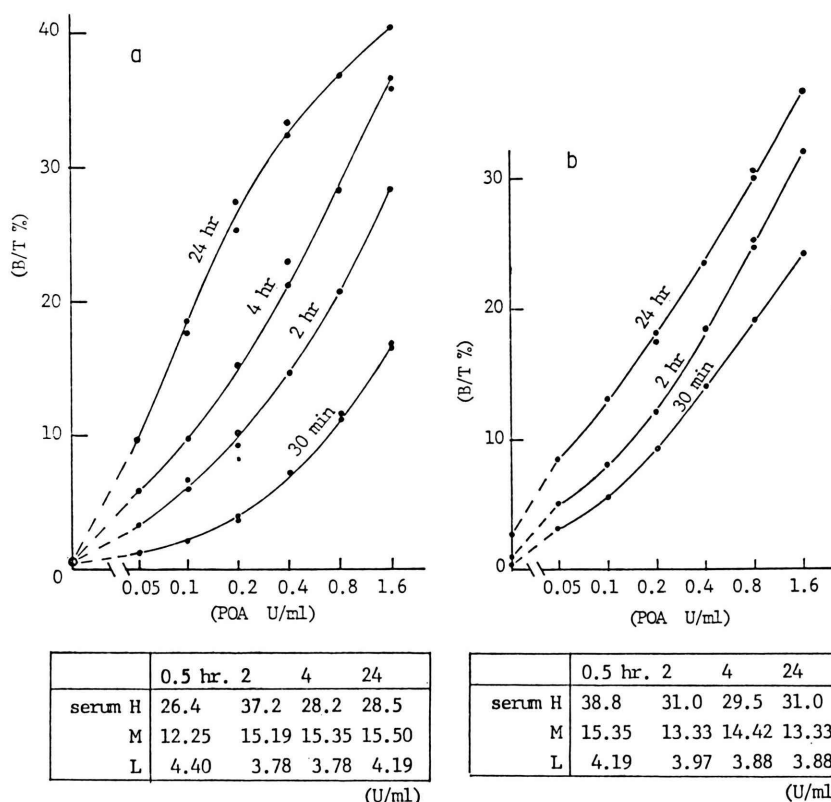


Fig. 2 Effect of incubation time on the standard curves and serum samples. (a) first incubation time, (b) second incubation time.

また、測定範囲上限の 1.6 U/ml 以上でも、明らかな結合放射能の飽和現象は観察されなかった。さらにこの希釈測定値を 31 倍および希釈倍率によって補正し、この結果を Fig. 3b に示したが、低希釈倍率では高値傾向が認められた。

5. 他の物質との免疫学的交差性について

他の物質との免疫学的交差性は関連物質の測定キットの標準液を通常に測定し、濃度と結合放射能の関連性を検討した。使用したキットは CEA

第一 II^{8,9)}, ELSA CA 19-9¹⁰⁾, CANAG CA 50¹¹⁾, ELSA CA 125¹²⁾, NSE RIA (栄研)¹³⁾ である。Fig. 4 に示すように、CEA, CA 50, NSE ではすべての標準濃度で低結合放射能が観察された。また、CA 19-9, CA 50 では高い結合放射能がみられたが、その濃度に比例した増加関係はみられなかった。

6. POA の分子量および糖鎖構造について

POA の分子量は Gelder らによってすでに

Table 3 POA in serum and ascites, before and after neuraminidase treatment

	Neuraminidase treatment		
	before	after	% of increase
Serum 1 (Pancreas carcinoma)	15.66 (U/ml)	16.90	7.9
2 (Pancreas Ca)	8.68	18.60	114.3
3 (Colon Ca)	28.83	40.92	41.9
4 (Colon Ca)	30.07	49.6 ↑	65 ↑
5 (Gastric Ca)	29.14	32.55	11.7
6 (Cholangioma)	15.81	17.36	9.8
7 (Hepatocellular Ca)	21.08	27.60	30.9
8 (Bladder stone)	31.00	35.65	15.0
9 (Undefined)	26.04	27.90	7.1
Ascites (from identical pt. of serum I)	4.03	3.72	-7.7

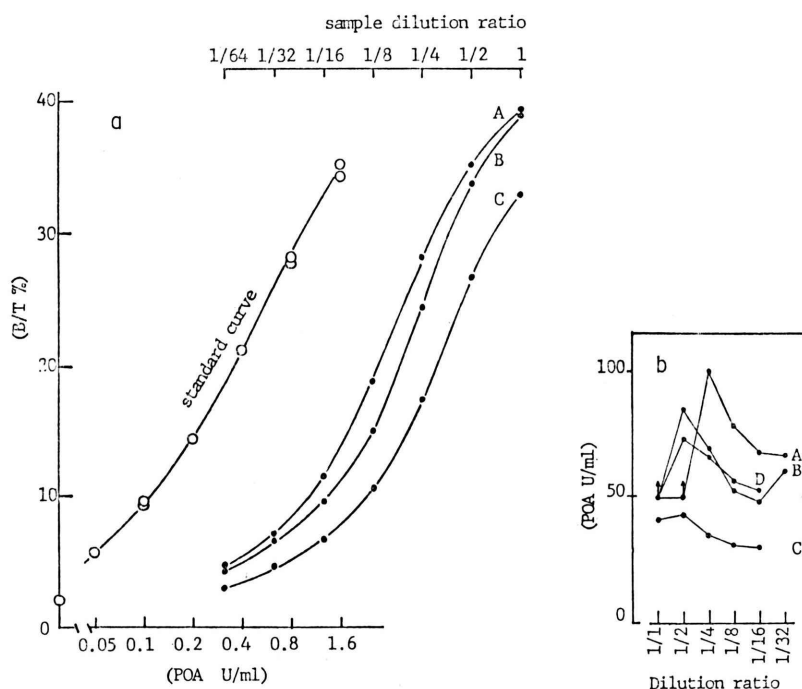


Fig. 3 Comparison of the dose-response curves between the standard preparations and serum samples (a), and calculated values of the samples by dilution factors (b).

800~900 k dalton²⁾とされているが、他の報告者は 40 k⁴⁾あるいは 3.7 k dalton⁷⁾とも報告している。そこで本測定法が、このうちのどの分子量のものを認識しているかを推定する目的で、POA 高濃度の血清試料を Sephadex G 200 カラムにかけリン酸バッファー (0.2 M, pH 7.2) で溶出したところ、800~1,000 k dalton に検出測定される

抗原の溶出ピークがみられ、native な状態では Gelder らの分子量に近似したものがその抗原と考えられた。また、9 種の血清試料 (膵臓癌 2, 胃癌 2, 大腸癌 2, 胆嚢癌 1, 肝臓癌 1, 胆石症 1, 不明 1) と膵臓癌の腹水 1 例を、あらかじめ Neuraminidase (0.5 U/ml, Nacalai Tesque) で処理し、これを未処理のものと比較した。Table 3 に示したよ

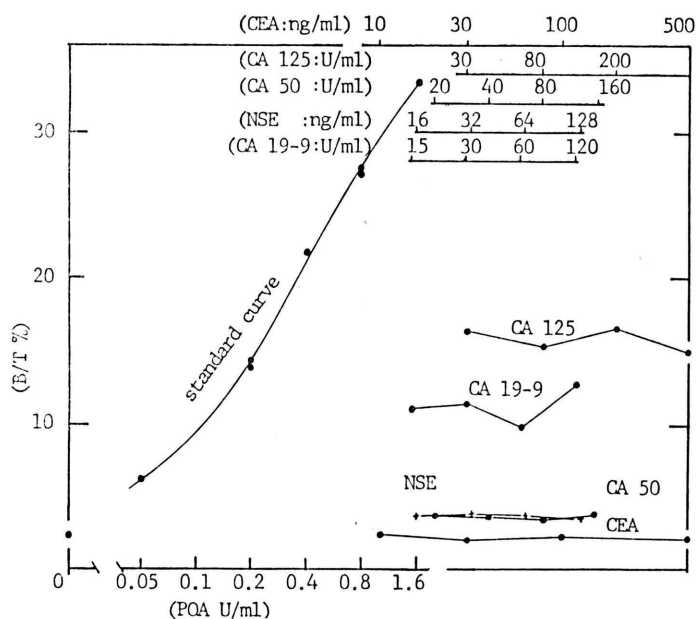


Fig. 4 Cross-reactivity of the other tumor markers.

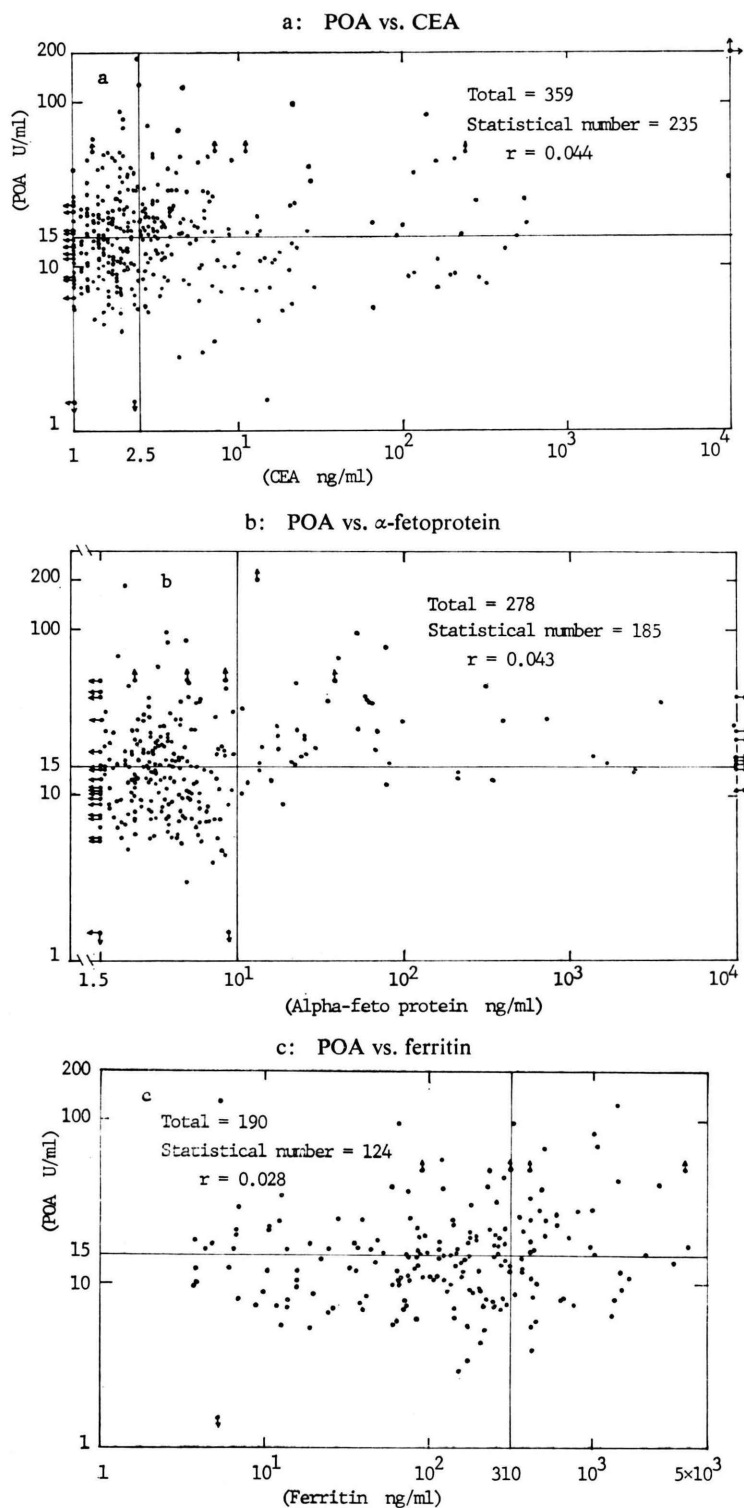
	(POA :U/ml)						
	0	15	50	100	150		
Normal control	●●●●●					76 ¹⁾	
Lung carcinoma	●●●●●					41	39.0 ²⁾
Gastric ca.	●●●●●					52	55.8
Colo-rectal ca.	●●●●●					31	58.1
Hepatocellular ca.	●●●●●					24	79.2
Pancreas ca.	●●●●●					16	81.3
Bile-cyst,duct ca.	●●●●●					13	69.2
Uterus ca.	●●●●●					14	50.0
Ovary ca.	●●●●●					20	30.0
Breast ca.	●●●●●					19	73.7
Urinary bladder ca.	●●●●●					4	50.0
Kidney ca.	●●●●●					3	66.7
Diabetes mellitus	●●●●●					9	22.2
Benign hepato-d.	●●●●●					13	61.5
Pancreatitis	●●●●●					6	33.3
Pneumonia	●●●●●					10	40.0

1) number of cases, 2) % of positives over 15 U/ml

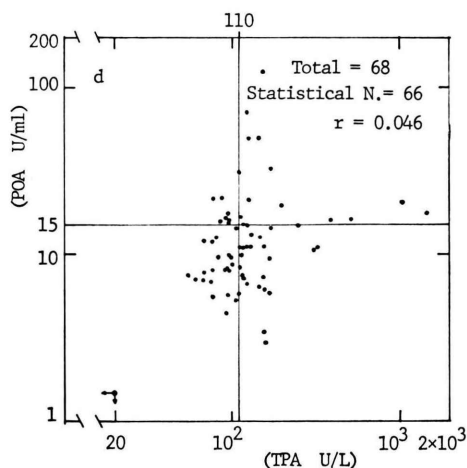
Fig. 5 Distribution of serum POA values calibrated with POA IRMA kit (Shionogi) in various diseases and normal controls.

うに、血清ではいずれの場合も Neuraminidase 処理により POA 値は上昇し、特に試料 2 の場合はこの処理により 2 倍以上増加した。しかしこの

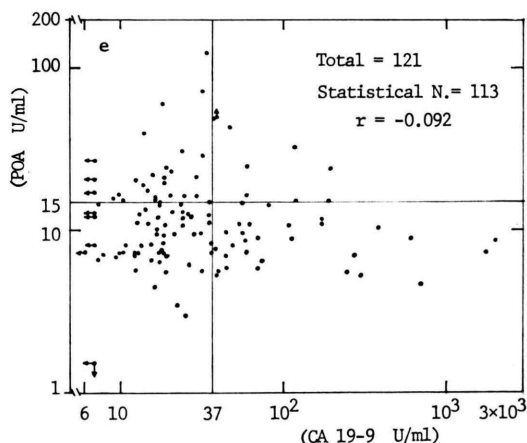
増加においては、未処理血清 POA 濃度や疾患との関連性は認められなかった。また腹水は血清試料 1 と同一患者の一例のみの比較であるが、



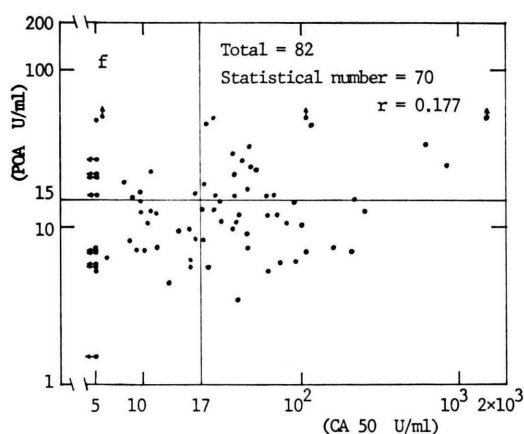
d: POA vs. TPA



e: POA vs. CA 19-9



f: POA vs. CA 50



Neuraminidase 処理でやや低値となった。

7. 臨床的検討

健常献血者 76 名 (21~55 歳) の採取後 2 週間以内 (-20°C 保存) の血清中 POA を測定したところ, その値は 4.45 から 17.44 U/ml に分布し, ほぼ対数正規分布性がみられ, 7~8 U/ml にそのピークがみられた。そこで, 測定値の対数について平均値と標準偏差を求め, これを真数に変換したところ, 平均値は 8.49 U/ml であり, 平均+2 標準偏差を取ると 15.1 U/ml となった。また, 実分布上では 15 U/ml 以上は 1 例 (1.3%) のみであることから, 15 U/ml を正常範囲のカットオフ値とした。そこで, 各種悪性疾患および良性疾患の血清サンプルについて POA を測定し, この結果を Fig. 5 に示す。膵臓癌ではその陽性率は 81.3% であったのに対して, 肝細胞癌 79.2%, 乳癌 73.7%, 胆嚢・胆管癌 69.2%, 結腸・直腸癌 58.1% および胃癌 55.8% など高陽性率であった。一方, 良性疾患では肝炎・肝硬変などで 66.7% の高陽性率が認められた。一方, -20°C で保存後 2 年を経過している健常者血清サンプル 66 例を測定したところ, ほぼ正規分布性がみられ, 最小 3.1 U/ml, 最大 27 U/ml, 平均 15.3 U/ml であり, 長期保存血清では POA が高値化する傾向が観察された。

このほか, 血清以外の試料として, 正常妊婦の出産時における羊水および正常児の胎便と, 悪性疾患ではない成人の小腸抽出液についても POA 値を測定した。試料としての羊水は採取後遠心分離 (4°C , 15 min, 3,000 rpm) を行い, その上清を測定した。胎便は同容量の過塩素酸液 (0.6 M) を加え Homogenize した後, 遠心分離 (4°C , 1 hr, 3,000 rpm) を行い, この上清を測定した。また, 成人の小腸は生理食塩水で洗浄した後, ほぼ等容量の Tris バッファー (0.2 M, pH 7.4) を加えて Homogenize し, これを遠心分離 (4°C , 10 min, 15,000 rpm) を行い, その上清を測定した。

Fig. 6 Interrelationship between POA values calibrated with POA IRMA kit (Shionogi) and the other tumor markers.

Table 4 POA in 20 amniotic fluid samples after delivery

	Number of cases	% of cases
Under 1.5 U/ml	12	60
1.5-2.0 U/ml	4	20
2.0-3.0 U/ml	3	15
Over 3.0 U/ml	1	5

rpm) 後, その上清を測定した. Table 4 に示したごとく羊水の 60% が POA 値 1.5 U/ml 以下であり, 羊水中には POA がほとんど含まれないものと考えられた. 一方, 胎便には平均 14 U/ml (3 試料) の POA が観察され, 高値ではないものの胎便由来の POA が羊水中に反映されていない可能性が示唆された. また, 正常小腸では回腸では平均 6 U/g (wet weight) (2 試料) と低値であったが, 十二指腸では 54 U/g (wet weight) (2 試料) とかなり高濃度の POA が存在していた.

8. 他の腫瘍マーカーとの相関性について

従来の腫瘍マーカーとして CEA (CEA 第一 II^{8,9)}), α -フェトプロテイン (α -フェトリアビーズ¹⁴⁾), フェリチン (フェリチン第一 II¹⁵⁾), TPA (TPA 第一¹⁶⁾), CA 19-9 (ELSA CA 19-9¹⁰⁾), ならびに CA 50 (CANAG CA 50 IRMA¹¹⁾) に対する POA の相関性を観察した. その結果, Fig. 6 に示したごとく, いずれの他の項目とも有意な相関性は認められなかった. CEA のカットオフ値を 2.5 ng/ml⁹⁾ とし, また, POA を前述のように健常例の測定結果から 15 U/ml とすると, CEA は 46.8%, POA は 52.1% の陽性率であった (Fig. 6a). また, α -フェトプロテインのカットオフ値を 10 ng/ml¹⁴⁾ とすればその陽性率は 20.1% であり, POA は 51.1% であった (Fig. 6b). フェリチンではカットオフ値を健常男子の上限 310 ng/ml¹⁵⁾ とすると, その陽性率は 25.8% に対して POA は 47.4% であった (Fig. 6c). TPA ではカットオフ値を 110 U/L¹⁶⁾ とすると 57.4%, POA は 30.9% の陽性率であった (Fig. 6d). CA 19-9 では 37 U/ml¹⁷⁾ をカットオフ値とすると陽性率は 32.2% であり, POA では 28.9% であった (Fig. 6e). さらに, CA 50 では当施設独自のカットオフ値を設定

できていないので, Stena Diagnostics 社の取り扱い書による 23 U/ml¹⁸⁾ を利用すると, その陽性率は 54.9%, 一方, POA では 37.8% であった (Fig. 6f).

IV. 考 察

Gelder ら²⁾ が開発した Pancreatic oncofetal antigen (POA) および抗 POA 抗体による Immunoradiometric assay (IRMA) キット (シオノギ製薬) について検討した. 本キットに応用されている固相抗体はポリクローナル抗体であり, Gelder らの報告と同一のものと考えられるが, I-125 標識モノクローナル抗体については明らかではなく, 測定系として Gelder らのロケット免疫測定法²⁾ とどのように異なるかは現在のところ不明である.

測定条件に関する基礎的検討では, 標準的測定法でほぼ満足できる成績が得られたが, 測定値変動幅が大きいに思われた. 本キットは測定法ですでに述べたように, 標準液は 300 μ l を直接採取するのに対して, 測定試料は 10 μ l を採取し, さらに緩衝液 300 μ l で希釈する方法を採用しているため, 希釈誤差が結果的に 31 倍に拡大されることが測定誤差の一因になっていると考えられる. そこで, 採取試料を 25 μ l と変え 13 倍の希釈測定方法としてアッセイ内変動を求めたところ, 平均値 3.3 U/ml の試料でも CV=5.3% と前方法に比較して良好な結果が得られることが証明された. しかし, この方法は 21 U/ml が測定限界となるので実用的ではない. Fig. 3a に示すように測定条件によっては 1.6 U/ml 以上でも結合放射能の飽和現象がみられないことから, さらに高標準濃度を付け加えて希釈倍率による誤差を低くすることも, 測定法の問題を解決する一方法であろう. また現状の測定上の注意点としては試料の 10 μ l および緩衝液の 300 μ l 採取を厳密に行い, また両者の容量的比率を前もって正確に設定しておく必要があると思われる.

添加回収率においてもやや不良な結果であったが, 血清試料に対して標準液の濃度が 1/31 のレ

ベルであるため、両者が等しい濃度の関係にある通常の方法による評価に無理があったように思われる。

他の腫瘍マーカーとの交差性では、各測定法の標準液を使ったため、高濃度での交差性は判定できないものの、少なくとも各項目に対して Dose-dependent な結合放射能の増加がみられないので交差性はないと考えられる。CA 125 と CA 19-9 で結合放射能が高いが、これらの標準液は細胞の培養液由来¹⁷⁾と考えられることから、細胞が CA 125 や CA 19-9 と同時に POA も産生し、標準液に一定量の POA が混入しているものと思われる。Fig. 4 のように CA 19-9 とは正の相関関係がみられず、また、CA 19-9¹⁹⁾と抗原構造の類似した CA 50²⁰⁾とも相関性がみられなかった。また、Gelder らによれば POA は糖タンパク質であり、抗原決定部位はタンパク部分にあるとされるので、POA はこれら糖鎖抗原とは異なった膵臓癌由来の抗原であると考えられた。一方、Gelder ら²⁾によれば POA は Neuraminidase 処理および過塩素酸抽出に対して sensitive であるとされているが、血清試料をあらかじめ Neuraminidase で処理すると POA 値はむしろ増加し、腹水試料ではほとんど影響がみられなかった。これは血清中の POA には非還元末端にシアル酸が存在していることを示唆しており、このシアル酸が立体構造的に抗原決定部位を一部 masking している可能性も考えられた。これに対して腹水中の POA はシアル酸を持たず糖鎖構造として血中のそれと異なり、通常血中分泌糖タンパクと同様、このシアル酸の有無が血流中への POA 出現に関与しているかどうか興味深い。島野ら⁶⁾が腹水中 PCAA (後に POA と免疫学的に同抗原とされた²¹⁾)を抽出精製し、これの糖鎖を調べてシアル酸含量が大変少ないとしており、われわれの結果と良く符合していた。したがって、Gelder らの血清由来の POA と島野らの腹水由来の POA は糖鎖構造に違いがあった可能性も示唆される。さらにわれわれは胎便から過塩素酸抽出を行った試料でも測定可能量の POA を確認した。これは無処理の状態の POA との比

較を正確に行っていないので断定はできないが、POA が必ずしも過塩素酸抽出によって抗原性を失わないと思われた。一方、POA の分子量について Gelder らは Sepharose 6B カラムを用いて 800~900 k dalton²⁾と報告しているが、Sephadex G200 によるわれわれの測定でも 800~1,000 k dalton が観察され、低分子量の POA は検出されなかった。したがって、この POA IRMA での認識抗原も先の報告の POA に近似したものと考えられた。また POA は胎便には含まれているが羊水中にはほとんど検出されなかったため、胎便から羊水への流入はほとんどないものと考えられ、胎便に存在し羊水にも多量に認められる TPA の場合¹⁶⁾とかなり異なった傾向でもあった。この原因として、TPA²²⁾に比較して POA がかなり高分子であることもその一因かもしれない。また、Gelder ら²⁾によれば成人組織では POA は結腸および小腸に局在するとしているが、われわれの検討でも小腸の近位部位である十二指腸に多量に存在していた。これらから、POA も一正常抗原である可能性もあり、十二指腸でその合成がなされるばかりでなく、近位小腸には膵管、胆管が合流していることから、これらの起源臓器である膵臓や肝臓でもその合成が行われている可能性も考えられた。また、POA は高分子^{2,6)}と低分子^{4,5,7)}のものが報告されているが、これも CEA や CA 19-9 のように脂質成分と結合して高分子となり易く、デタージェント等で低分子化される可能性もある。これら多くの点についてはさらに検討の余地がある。

最後に、特定の疾患に片寄らず各種腫瘍マーカーの陽性率を比較すると、TPA が 57.4%、CA 50 が 54.9%、CEA が 46.8%、CA 19-9 が 32.2%、フェリチンが 25.8% および α -フェトプロテインが 20.1% などの陽性率であったが、POA は最大 52.1%、最小 28.9%、平均 41.4% の陽性率であった。また、特定の疾患では膵臓癌で POA は 81.3% の高陽性率であったが、肝細胞癌、乳癌、胆嚢・胆管癌、結腸・直腸癌および胃癌などでも高陽性率が認められた。すなわち、POA は膵臓癌で最も高

陽性率ではあるが、必ずしも膵臓癌の特異的マーカーとは断定しがたい結果であった。大浪ら²³⁾も膵臓癌以外で高い陽性率を報告しているが、金尾ら²⁴⁾は膵臓癌の陽性率がきわめて高いとしている。しかし、陽性の判断はその正常範囲に大きく依存し、測定施設の正常範囲に相当差があるので、相互施設間の単純な比較はかなり危険を伴う。また健常者の測定値については、Gelder らもシカゴ大学とメイヨークリニック病院での母集団に相当な違いがある²⁾ことを報告しており、原因の究明はできないものの、試料の保存方法によっても測定値が変動する可能性を示唆している。われわれも -20°C で保存後 2 年の健常者血清サンプル 66 例を測定してみたところ、ほぼ正規分布性がみられ、最小 3.1 U/ml, 最大 27 U/ml で、平均値は 15.3 U/ml であり、前述の健常者分布 (15 U/ml 以下) と比較すると大きく異なっていた。保存中にもたらされる変化は数多く考えられるので何ら断定はできないが、臨床成績を求めるに当たって現状では止むをえず保存検体を測定する人が多いので、保存期間や保存方法については今後の検討課題であろう。また正常範囲上限を悪性疾患とのカットオフ値とすることが適当かどうかは他の腫瘍マーカーも含めて議論の余地があり、本法による POA 値では良性疾患の測定値を考慮すると、悪性疾患とのカットオフ値は 25 U/ml 前後になると考えられた。いずれにしても、POA は従来の腫瘍マーカーとは全く相関性が認められないので、特に膵臓癌の場合は CEA, CA 19-9 など従来の有力なマーカーとの相補的な使用で正診率を上昇できることが期待でき、今後、健常例も含めて臨床上の測定母集団をいっそう拡大してさらに検討する必要があるものと考えらる。

V. ま と め

Gelder らの開発した抗体による POA (Pancreatic oncofetal antigen) IRMA (塩野義製薬株式会社) について検討を行い以下の知見を得た。

1) 測定方法の基礎的検討の結果現状では指定測定方法が有用と思われるが、測定値の再現性で

はやや不良な結果がみられた。測定サンプルを 31 倍に直接希釈することが一因と考えられるので、高濃度標準液を付け加えて希釈倍率を低くすることなどが改善の一方法と考えられた。

2) 関連する他の腫瘍マーカーとは全く相関性がみられず、新しい腫瘍マーカーとしての情報が期待できる。

3) この抗体が認識する POA は分子量が 800~1,000 k dalton であり、Gelder の報告と近似している。また血清中では非還元末端にシアル酸を持ち、腹水中 POA はこのシアル酸を持たない可能性が示唆された。

4) 膵臓癌で最も高い陽性率がみられたが肝臓癌や他の悪性腫瘍でも高陽性率が認められ、膵臓癌特異的マーカーとは評価できないものの、他の有力なマーカーとの組み合わせが有益と思われる。

5) 保存血清と新鮮血清で測定値の乖離がみられ正常範囲や陽性率にも影響が考えられるので、POA 本体の基礎的研究とともに、血中や体液中の存在様式、および保存方法の検討が必要と思われる。

文 献

- 1) Banwo O, Versey J, Hobbs JR: New oncofetal antigen for human pancreas. *Lancet* **I**: 643-645, 1974
- 2) Gelder FB, Reese CJ, Moossa AR, et al: Purification, partial characterization, and clinical evaluation of a pancreatic oncofetal antigen. *Cancer Res* **38**: 313-324, 1978
- 3) Mihas AA: Immunologic studies on a pancreatic oncofetal protein. *J Natl Cancer Inst* **60**: 1439-1444, 1978
- 4) Hobbs JR, Knapp ML, Branfoot AC: Pancreatic oncofetal antigen (POA): its frequency and localization in human. *Oncodev Biol Med* **1**: 37-48, 1980
- 5) Schmiegel WH, Becker WM, Arndt R, et al: Pancreatic oncofetal antigen in pancreatic juices. *Scand J Gastroent* **16**: 1033-1040, 1981
- 6) Shimano T, Loor RM, Papsidero LD, et al: Isolation, characterization and clinical evaluation of a pancreas cancer associated antigen. *Cancer* **47**: 1602-1613, 1981

- 7) 西田康一, 松村直幸, 細川計明, 他: 臍液中の臍癌胎児抗原による臍癌の診断. 医学のあゆみ **110**: 272-273, 1979
- 8) 松岡雄治, 黒木政秀: 血清診断へのモノクローナル抗体の応用. 臨床科学 **22**: 779-787, 1986
- 9) 長田篤雄, 大久保次男, 菰田二一: CEA 特異的測定法の基礎および臨床的検討. 医学と薬学 **17**: 393-400, 1987
- 10) Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K, et al: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Somatic Cell Genet* **5**: 957-972, 1979
- 11) Lindholm L, Holmgren J, Svennerholm L, et al: Monoclonal antibodies against gastrointestinal tumor-associated antigens isolated as monosialogangliosides. *Int Archs Allergy appl Immun* **71**: 178-181, 1983
- 12) Bast RC, Feeney M, Lazarus H, et al: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* **68**: 1331-1337, 1981
- 13) Ishiguro Y, Kato K, Shimizu A, et al: High levels of immunoreactive nervous system-specific enolase in sera of patients with neuroblastoma. *Clin Chim Acta* **121**: 173-180, 1982
- 14) 高坂唯子, 横田和子, 小林香津子, 他: ビーズ固相法による α -fetoprotein 濃度測定キット "AFP RIA kit III" の検討. 臨床成人病 **12**: 1289-1295, 1982
- 15) 長田篤雄, 大久保次男, 角田誠一, 他: モノクローナル抗体を利用したフェリチン液相 IRMA キット (第一) の基礎的評価と臨床応用. 医学と薬学 **16**: 751-759, 1986
- 16) 長田篤雄, 田中豊秋, 山羽義貴, 他: Tissue polypeptide antigen (TPA) の Radioimmunoassay kit 基礎的検討と臨床的意義について. 核医学 **21**: 177-190, 1984
- 17) Del Villano BC, Brennan S, Brock P, et al: Radioimmunometric assay for a monoclonal antibody-defined tumor marker, CA 19-9. *Clin Chem* **29**: 549-552, 1983
- 18) The booklet for CanAg CA-50 IRMA published by Stena Diagnostics, Sweden, 1987
- 19) Magnani JL, Nilsson B, Brockhaus M, et al: A monoclonal antibody-defined antigen associated with gastrointestinal cancer is a ganglioside containing sialylated lacto-N-fucopentaose II. *J Biol Chem* **257**: 14365-14369, 1982
- 20) Mansson J-E, Fredman P, Nilsson O, et al: Chemical structure of carcinoma ganglioside antigens defined by monoclonal antibody C-50 and some allied gangliosides of human pancreat adenocarcinoma. *Biochim Biophys Acta* **834**: 110-117, 1985
- 21) Shimano T, Mori T, Kitada M, et al: Purification and characterization of a pancreatic cancer-associated antigen (PCAA) from normal colonic mucosa. *Ann NY Acad Sci* **417**: 97-104, 1983
- 22) Luning B, Wiklund B, Redelius P, et al: Biochemical properties of tissue polypeptide antigen. *Biochim Biophys Acta* **624**: 90-101, 1980
- 23) 大浪俊平, 膳所富士男, 黒田 環, 他: 臍癌胎児抗原 (Pancreatic oncofetal antigen) の Immunoradiometric assay 法による測定. 核医学 **25**: 83-88, 1988
- 24) 金尾啓右, 本田 稔, 友延正弘, 他: ラジオイムノアッセイによる Pancreatic oncofetal antigen (POA) の定量に関する検討. 医学と薬学 **17**: 1541-1548, 1987