

CA125分子の heterogeneity

—CA125分子は Sialyl Tn, CA19-9と複合体を形成する—

浜松医科大学産科婦人科学教室

小林 浩 大井 豪一 篠原 弘光 寺尾 俊彦

Heterogeneity of the CA125 Antigen that Coexpresses
Sialyl Tn and CA19-9 AntigensHiroshi KOBAYASHI, Hidekazu OHI, Hiromitsu SHINOHARA
and Toshihiko TERAO*Department of Obstetrics and Gynecology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu*

概要 卵巣癌培養細胞 (endometrioid carcinoma cell line; HOC-I細胞) の培養上清および細胞抽出液と、卵巣癌患者血清および癌組織抽出液から CA125抗原をそれぞれ精製し、分子 heterogeneity について検討した。CA125の精製は0.6M 過塩素酸処理, Sepharose CL-4B, 6M urea 加熱処理後 Sepharose 6B によるゲルろ過, および OC125 affinity カラムにより行った。HOC-I細胞および卵巣癌組織抽出液より精製された CA125抗原の分子量は1,000KDa 以上を呈した。一方, HOC-I細胞培養上清および卵巣癌患者血清からは分子量110KDa から400KDa に分布する CA125が精製された。CA125分子が他の glycoconjugates と複合体を形成していることを確認するために, 各種抗体(OC125, NS19-9, TKH-2, B72.3, CC49, MA54, MA61, PC47H)を96穴 ELISA プレートに固相し, probe として biotin 標識 OC125 を用いて double-determinant enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を行った。HOC-I細胞抽出液およびその培養上清や, 卵巣癌組織抽出液およびその患者血清を用いて測定した結果, 癌組織から精製された CA125抗原上には TKH-2や NS19-9認識部位 (すなわち, sialyl Tn や CA19-9抗原) が存在しており, 一方, 癌患者血清中にも CA125と sialyl Tn の複合体が22%, CA125と CA19-9との複合体が6%の頻度で認められた。これらの CA125複合体は血清中より癌組織において多く認められた。以上より, 卵巣癌細胞では CA125抗原が sialyl Tn や CA19-9と複合体を形成しているが, ほとんどの症例では遊離型の CA125として血中へ分泌されることが推定された。

Synopsis High molecular mass glycoproteins detected by the monoclonal antibody OC125 were found in secreted and solubilized materials from the ovarian cancer cell line, HOC-I. The CA125 antigen has been isolated from HOC-I cell extract and conditioned media by perchloric acid precipitation, gel filtration, and OC125 affinity purification. The higher molecular mass complexes (molecular masses were estimated to be >1,000KDa) was predominantly found in extracts of cells grown in vitro or in ovarian cancer tissues, whereas the lower molecular mass antigen (molecular masses were estimated to be 110~400KDa) was the major component in conditioned media and sera from patients with ovarian cancer. Double determinant enzyme-linked immunosorbent assays were carried out with several antibodies (OC125, NS19-9, TKH-2, B72.3, CC49, MA54, MA61, PC47H) immobilized on a solid phase to bind different epitopes on antigens in clinical samples. Biotinylated OC125 was used as a probe to detect the CA125 antigen that had been bound via different epitopes. When TKH-2 was used to bind the antigen and OC125 used as a probe, the coexpression of CA125/sialyl Tn was observed in 12(22%) of 55 sera from patients with ovarian cancer. In some cases, sialyl Tn or CA19-9 antigens may be present on the CA125 macromolecular complexes.

Key words: CA125・CA19-9・Sialyl Tn・Heterogeneity・Ovarian cancer

緒言

CA125は卵巣癌患者血清の80%以上に陽性を示すが¹⁾²⁾, 良性疾患における偽陽性率も高く, 良悪性の鑑別には CA125単独測定は不適當である³⁾.

CA125抗原は分子量1,000KDa 以上の高分子糖蛋白であり²⁾⁴⁾⁵⁾, CA125抗原を認識する抗体として OC125以外に M11, 130-22, 145-9, 602-1, 602-6, B27.1, B43.13等が報告され, OC125同志による

sandwich assay により CA125が, OC125と M11 による immunoradiometric assay により CA125 II⁽⁶⁷⁾が, 130-22と145-9により CA130⁽⁸⁾⁽⁹⁾が, 602-1と602-6により CA602⁽¹⁰⁾が, B27.1と B43.13により バイオミラ CA125がそれぞれ測定される. 臨床的には CA130値, CA602値, および バイオミラ CA125値が CA125値 (セントコア社) とよく相関するということは判明しているが, 同じ抗原であるという保証はない.

CA125抗原解析の結果, CA125分子上には二つ以上の subunits が存在し, 一方は OC125認識部位であり, 他方は M11, 130-22, 145-9, 602-1, 602-6 認識部位が存在していることが判明した(未発表)が, OC125認識部位の分子量はなお200KDa 以上であり, さらに何らかの glycoconjugates と複合体を形成している可能性がある. そこで, 卵巣癌細胞 HOC-I についてその培養上清および細胞抽出液から精製した CA125について抗原解析を行うとともに, 現在卵巣癌の腫瘍マーカーとして使用可能な各種抗体(OC125, NS19-9, TKH-2⁽¹¹⁾, B72.3, CC49⁽¹²⁾, MA54, MA61⁽¹³⁾, PC47H)を96穴 ELISA プレートに固相し, probe として biotin 標識 OC125⁽⁸⁾⁽¹⁴⁾を用いた double-determinant enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を作成して患者血清中, 癌組織抽出液中に CA125複合体が存在するかどうか(すなわち, CA125抗原が OC125と他の抗体により sandwich assay が可能かどうか)検討した. また, 血中の複合体の存在が良悪性の鑑別に有用かどうかも検討した.

研究材料および方法

抗体

使用した抗体は OC125, NS19-9, B72.3, CC49 (東レフジバイオニクスより提供), TKH-2 (大塚アッセイ), MA54, MA61(持田製薬), PC47H (ヘキスト) であり, OC125を biotin 標識し double-determinant assay のための probe として用いた. なお, NS19-9は CA19-9を認識する抗体であり, B72.3と CC49は CA72-4を認識する抗体, TKH-2は sialyl Tn を認識する抗体, MA54と MA61は CA54/61を認識する抗体, PC47H は fucosylceramide を認識する抗体である. また,

sialyl Tn, CA54/61, CA72-4の異同についても検討中であるが, いずれも sialyl Tn 類似抗原 (NeuAc α 2-6Gal NAc-Ser/Thr) を認識することが推定されている(未発表データ).

CA125抗原の精製

卵巣癌 HOC-I 細胞の培養方法および培養上清からの CA125精製法は既報のごとくである⁽⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾. HOC-I 細胞および卵巣癌患者の摘出癌組織から CA125抗原を精製した. HOC-I 細胞は 5×10^7 個, 卵巣癌組織は0.5g に対して5ml の extraction buffer (10mM phosphate, pH 7.1, 0.15M NaCl, 0.5% Triton X-100, 0.02% NaN₃, 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride) を用いて以下の方法で抽出した. Polytron で homogenize した後にスターラで攪拌(1h, 4°C), 遠心(35,000×g, 3h)し, その上清を-20°Cに保存した. これを0.6 M 過塩素酸処理後, Sepharose CL-4B にて void fraction を回収し, 6M urea 存在下にて加熱(45°C, 30分)した後, Sepharose 6B にて低分子分画を回収し, OC125 affinity カラムにて精製した. これは培養子宮内膜細胞から CA125を精製した時と同じ方法である⁽¹⁷⁾.

Gel electrophoresis および Western blot

2.5%polyacrylamide-1.0%agarose composite gel を用い, blotting は既報のごとく行った⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾.

Double-determinant ELISA

96穴 microtiter plate (Coster 社製) の個々の well に OC125, NS19-9, TKH-2, B72.3, CC49, MA54, MA61, PC47H をそれぞれ固相(1.0 μ g/ml, 16h, 4°C) し, probe として biotin 標識 OC125 (100ng/ml) を用いた double-determinant ELISA を作成した. 各種抗体を固相, 2% bovine serum albumin で blocking 後, 血清, 癌組織抽出液100 μ l を加え(1h, 23°C), 洗浄後 probe を添加(100 μ l, 100ng/ml, 1h, 23°C) 後, avidin-peroxidase (0.4 μ g/ml) にて発色し450nm にて測定した. 癌組織抽出液の蛋白量も同時に測定し, 100 μ g/ml に調整して使用した. また, いかなる抗体も固相せずに albumin を固相しただけの96穴 ELISA プレートにおける反応を negative con-

trolとして用い、cut off 値を0.01OD (450nmにおけるEIA readerの測定値)とした。例えば、OC125とTKH-2でsandwich assayが可能であるということは、同一分子上の異なる部位にそれぞれの抗体の認識部位が存在することを意味し、CA125とsialyl Tnが複合体を形成していることを示していると考えられる。

次に上に述べた各種抗体を固相したプレートを用いて、血中へ分泌されるCA125複合体の出現頻度を55例の卵巣癌患者血清と124例の良性卵巣腫瘍患者血清について調べた。血清からCA125抗原を精製せずに添加し(100 μ l, 1h, 23 $^{\circ}$ C), probeとしてbiotin標識OC125を添加(100 μ l, 100ng/ml, 1h, 23 $^{\circ}$ C)した。

臨床検体

5例の卵巣癌患者(症例1, 漿液性嚢胞腺癌, III期; 症例2, 漿液性嚢胞腺癌, II期; 症例3, 類中腎癌, III期; 症例4, 粘液性嚢胞腺癌, II期; 症例5, 類内膜癌, III期)から手術時に得られた癌組織および同一症例の術前血清を用いて上述した方法でCA125抗原をそれぞれ精製し、Western blotおよびdouble-determinant ELISAを行いCA125複合体について検索した。また、55例の卵巣癌の内訳は漿液性嚢胞腺癌が35例、粘液性嚢胞腺癌が12例、類内膜癌が5例、類中腎癌が3例であり、臨床進行期I期が20例、II期が6例、III期が24例、IV期が5例である。コントロールとして使用した良性卵巣腫瘍の内訳は漿液性嚢胞腺腫が42例、粘液性嚢胞腺腫が26例、類皮嚢胞腺が10例、内膜症性嚢胞が46例の合計124例である。

結 果

HOC-I細胞の培養上清から精製されたCA125抗原を電気泳動後Western blotにより解析した結果、その分子量は110KDaから400KDaの範囲に分布した。一方、HOC-I細胞からextraction bufferにて抽出、精製したCA125抗原の分子量は93KDaから1,000KDa以上の範囲に分布し、培養上清から精製されたCA125抗原に比べて低い分子量(93KDaから116KDa)だけでなく高い分子(1,000KDa以上)のものも存在した(図1, lane 2矢印)。

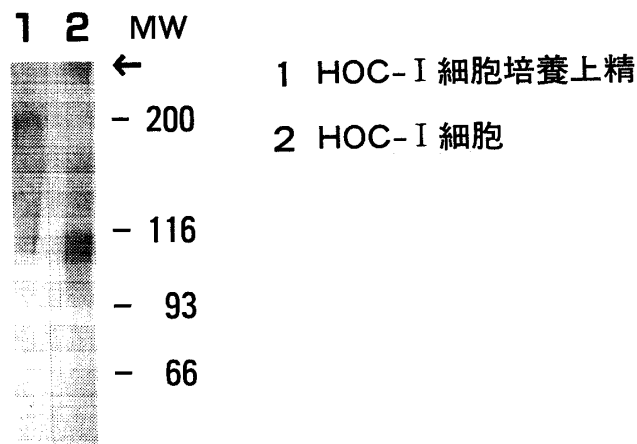


図1 HOC-I細胞より精製されたCA125抗原のWestern blotによる解析

Lane 1, HOC-I細胞培養上清から精製されたCA125抗原; lane 2, HOC-I細胞抽出液から精製されたCA125抗原. 2.5%polyacrylamide-1.0%agarose composite gelを使用した。

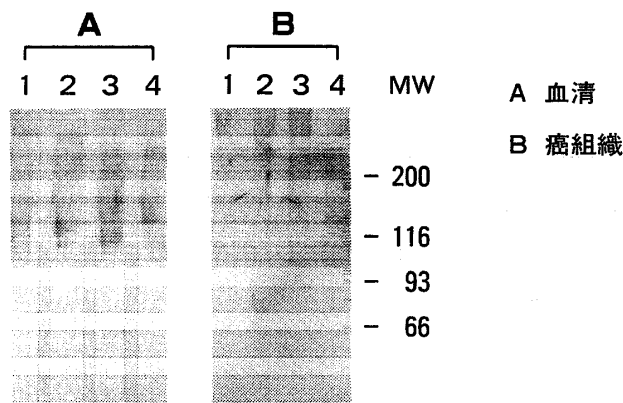
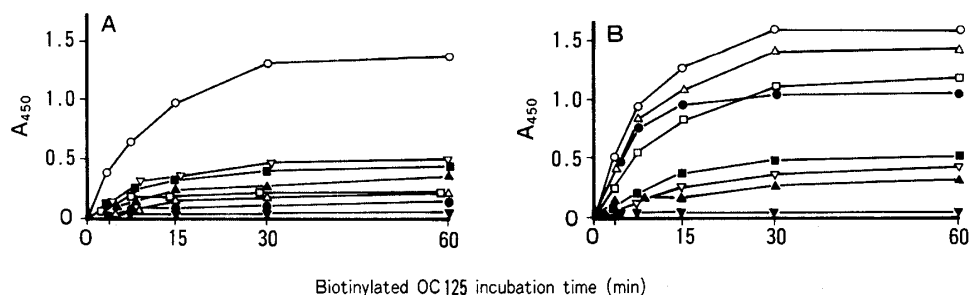


図2 卵巣癌血清および癌組織より精製されたCA125抗原のWestern blotによる解析

A, 血清から精製されたCA125抗原; B, 卵巣癌組織から精製されたCA125抗原. Lane 1, 症例1, 漿液性嚢胞腺癌, III期; lane 2, 症例3, 類中腎癌, III期; lane 3, 症例4, 粘液性嚢胞腺癌, II期; lane 4, 症例5, 類内膜癌, III期. 2.5%polyacrylamide-1.0% agarose composite gelを使用した。症例2のみCA125を精製する過程でurea処理によりCA125抗原が失活してしまうため、Western blotが不可能であった。

症例2を除いた4例の卵巣癌患者から得られた癌組織および同一症例の血清から精製されたCA125抗原は図2に示すように血清中のCA125抗原(A)に関してはいずれも分子量110KDaから400KDaの範囲に分布した。しかし、癌組織から精



A, HOC-I細胞培養上清より精製されたCA125抗原, B, HOC-I細胞より精製されたCA125抗原.

○, OC125 : ●, NS19-9 : △, TKH-2 : ▲, B72.3 : □, CC49 : ■, MA54 : ▼, MA61 : ▽, PC47H(固相抗体)

図3 HOC-I細胞およびその培養上清より精製されたCA125抗原の double-determinant enzyme-linked immunosorbent assay (経時的結合応). 固相抗体としてOC125, NS19-9, TKH-2, B72.3, CC49, MA54, MA61, PC47Hを使用し, probeとしてbiotin標識OC125を用いたdouble-determinant ELISAである. AはHOC-I細胞の培養上清より精製されたCA125抗原であり, BはHOC-I細胞の抽出液より精製されたCA125抗原である. 縦軸はOD(450)値を示す. cut off値はOD(450)の値として0.01以下とした.

製されたCA125抗原(B)は約1,000kDaのCA125が認められ, 癌組織に発現しているCA125と血中に分泌されたCA125とでは分子量に相違を認めた. 組織型別比較では少数例ではあるがCA125の分子量に相違を認めなかった. また, HOC-I細胞の場合には比較的低い分子量のCA125も出現するのに対して, 臨床検体として得られた癌組織では低分子CA125は認められなかった.

CA125抗原が他のglycoconjugatesと複合体を形成しているかどうかを検討するために各種抗体を固相した96穴ELISAプレートを作成し, biotin標識OC125をprobeとして, double-determinant ELISAを行った. HOC-I細胞の培養上清およびHOC-I細胞抽出液から精製されたCA125抗原を用いてdouble-determinant ELISAを行った時のprobeの経時的結合能を図3に示す. その結果, HOC-I細胞から精製されたCA125抗原(B)にはOC125以外にも, TKH-2, CC49, NS19-9とsandwich assayが組めるためこれらの抗体が認識するepitopeと複合体を形成しており, 一部はMA54, MA61, B72.3とも反応を認めた. しかし, HOC-I細胞の培養上清から精製されたCA125抗原(A)は固相抗体としてOC125を使用したときのみ強く反応し, cut off値が0.01ODであること

を考慮すると他の抗体との反応性は少なく, 各種glycoconjugatesと複合体を形成したまま培養液へ分泌されることは少ない.

この現象が実際の卵巣癌患者についてもいえるかどうか5症例(症例1から5)の癌組織, 血清についてCA125抗原を精製後, 上記と同様に測定した結果(反応時間60分のOD値)を図4に示す. 各症例とも程度の差はあれ, HOC-Iでの結果と同様に癌組織中では各種抗体が認識するepitopeと複合体を形成している. 症例1, 2では, 血清中へはCA19-9との複合体として分泌されており, 症例3はCA125抗原単独で分泌されている. 症例4はCA125と抗体TKH-2, B72.3, CC49, MA54, MA61が認識するepitope(sialyl Tn関連あるいは類似抗原; すべての抗体がsialyl Tnのみを認識しているとは断言できないが, sialyl Tnあるいは類似抗原を認識している)と複合体を形成して血清中へ分泌されている. 症例5では血清中へもCA125とCA19-9, sialyl Tnが複合体を形成して分泌されている. 症例により血清中CA125抗原の複合体形成に関してheterogeneityが認められたが, 癌組織では程度の差はあるがCA125抗原はCA19-9, sialyl Tn関連抗原と複合体を形成して存在していることが示唆された.

次に血中へ分泌されるCA125複合体の出現頻

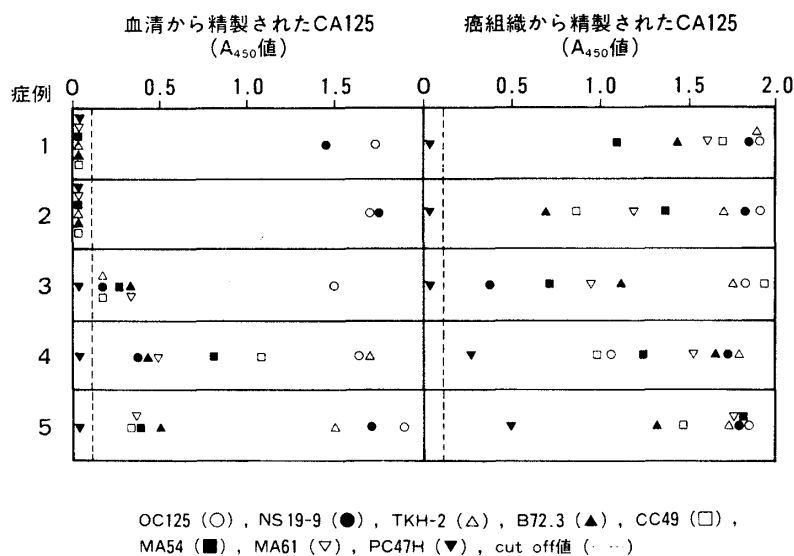


図4 5症例の卵巣癌患者(癌組織および血清)から精製されたCA125抗原の double-determinant enzyme-linked immunosorbent assay. 図3と同様な double-determinant ELISA を作成し、臨床検体(5例の卵巣癌組織、血清)を用いて測定した。反応時間60分後のOD値のみを示して比較した。cut off値はOD(450)値として0.01以下とした。横軸はOD(450)値を示す。

度を55例の卵巣癌患者血清について調べた。血清からCA125抗原を精製せずに測定したが、double-determinant ELISAにおける陽性率は、固相抗体としてOC125を用いた時は91%(50/55), TKH-2(22%, 12/55), B72.3(16%, 9/55), MA61(15%, 8/55), MA54(11%, 6/55), NS19-9(11%, 6/55), CC49(9%, 5/55), PC47H(2%, 1/55)の順であった。今回、データには示さなかったが、良性卵巣腫瘍124例の血清について同様に解析したが、複合体を形成した症例は1例も存在しなかった。

考 案

CA125の生化学的性質や抗原の解析はDavis et al., Zurawski et al.²⁴⁾により精力的に行われているものの、まだ十分に解明されたわけではない。特に、CA125単独では良悪性の鑑別は困難であるため、我々はこの点に着目してCA125の構造解析を行ってきた¹⁵⁾²¹⁾。CA125を認識する各種モノクロナル抗体を用いた我々の解析の結果、分子量200KDa未満の分子上にM11, 130-22, 145-9, 602-1, 602-6が存在し、別のsubunit上にOC125認識部位が存在することが判明した。しかし、OC125認識部位はなお分子量が200KDa以上の分子の上

にあり、何らかの未知の抗原がさらに別のsubunit構造を形成している可能性がある¹⁵⁾¹⁶⁾。Yu et al.²⁰⁾は卵巣癌患者腹水からCA125を解析し、一部のCA125抗原にはTAG72認識部位が同時に発現していることを報告した。すなわち、CA125とCA72-4が複合体を形成している可能性を示唆した。したがって、CA125抗原の第3のsubunitは他のglycoconjugatesである可能性が推察されている。

我々はまず、卵巣癌患者血清中に存在するCA125抗原が癌組織由来のCA125と分子量が同じであるかどうか検討するため、実際の臨床検体(卵巣癌組織)からCA125を抽出、精製して同一患者血清中のCA125と比較した。比較のために卵巣癌培養HOC-I細胞についても培養上清および細胞抽出液からCA125を精製して比較した。HOC-I細胞抽出液から得られたCA125は培養上清中のCA125より分子量が大きく、一部はfragmentationが認められた。一方、卵巣癌組織からは分子量1,000KDa以上の高い分子量のCA125のみが検出された。したがって、癌細胞から血清へ、あるいは培養液中へCA125が分泌される過程でOC125認識部位が損なわれないまま低分子に分解

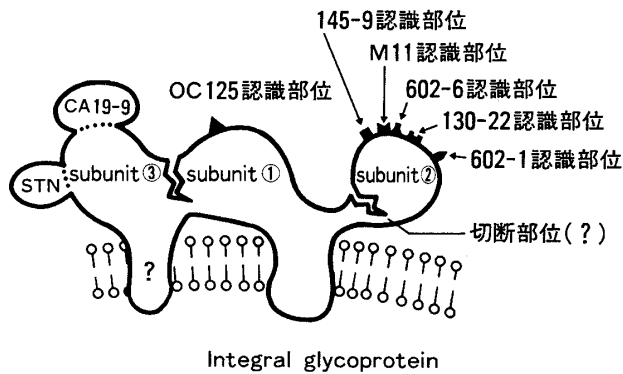


図5 CA125抗原の分子構造。非癌患者の血清中には subunit ③は存在しない。卵巢癌患者の組織では、subunit ①+②+③として存在しても、血清中には subunit ①+②として分泌されることが多いが、約20%は subunit ①+②+③のまま血中に分泌される。STN, sialyl Tn。

されるか、何らかの複合体から CA125分子のみが遊離して分泌されることが考えられる。

そこで各種の glycoconjugates を認識する抗体（現在卵巢癌の診断に使用可能な抗体）との double-determinant ELISA を行い、複合体の有無を解析した。HOC-I の場合は細胞では OC125 認識部位と TKH-2, CC49, NS19-9 認識部位が複合体を形成していることが推定された。しかし、培養液中へ分泌された CA125 の場合には、もはや複合体を形成することは少ない。実際の臨床検体での解析の結果は、症例により heterogeneity を認め、CA125 抗原が複合体を形成せずに単独で組織中に存在してそのまま分泌される場合や、組織中で CA125 が sialyl Tn や CA19-9 と複合体を形成している症例も存在した。しかし、後者の場合ですら複合体を形成したまま血中に分泌される場合と複合体を形成せずに CA125 のみが遊離してくる場合があることが確認された。実際には複合体を形成せずに血中に分泌される場合のほうが多く存在した。

我々の今までの成績を総合すると、CA125 抗原の分子構造は図5に示したようなものと推定される。良性卵巢腫瘍患者血清中に CA125 複合体が検出された例は1例もない。一方、卵巢癌患者の一部には subunit ③が subunit ①+②と複合体を形成して存在しており、癌組織中ではその頻度が比

較的高いものの血清中には複合体のまま分泌されるものは頻度的に少ないことも判明した。組織中における subunit ③の存在は悪性を強く示唆するが、CA125 複合体を血中で測定しても実際には約20%程度しか subunit ③が認められないため、血清を診断材料とすると癌の特異性は低下してしまうという欠点がある。

複合体を形成するという生物学的意義は不明であるが、予後不良症例の一部に CA125/sialyl Tn 複合体が存在することを我々は見出した（未発表データ）。また、CA19-9 は sialyl Lewis x と同様に血管内皮細胞における Endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) の ligand であり²¹⁾²²⁾、癌細胞の浸潤、転移に關与する糖鎖抗原であると考えられることから、CA125/CA19-9 複合体の存在と予後との関係も興味深い点である。Sialyl Tn や CA125 は癌の生物学的悪性度を反映する独立した因子として利用されつつある²³⁾。また、CA125 の分子構造とその生物活性が解明されれば、臨床における生物学的意義が確立され、coelomic epithelium 由来臓器に発現する CA125 分子のもつ生理的役割も解明されるであろう。今後は CA125 分子の発現および血中への分泌機構について検討を行う必要がある。

文 献

1. Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* 1981; 68: 1331-1337
2. Zurawski VR Jr, Davis HM, Finkler NJ, Harrison CL, Bast RC Jr, Knapp RC. Tissue distribution and characteristics of the CA 125 antigen. *Cancer Res* 1988; 48: 102-118
3. Pittaway DE, Fayed JA. The use of CA125 in the diagnosis and management of endometriosis. *Fertil Steril* 1986; 45: 790-795
4. Davis HM, Zurawski VR, Bast RC Jr, Klug TL. Characterization of the CA125 antigen associated with human epithelial ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1986; 46: 6143-6151
5. Mojiminiyi OA, Bramwell ME, Kennedy SH, Shepstone BJ, Humm SM, Barlow DH. Immunoreactive determinants of CA125 in women with endometriosis. *J Clin Pathol* 1989; 42: 1272-1275

6. *Hardardottir H, Parmley TH II, Quirk GJ Jr, Sanders MM, Miller FC, O'Brien TJ.* Distribution of CA125 in embryonic tissues and adult derivatives of the fetal periderm. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1925—1931
7. *O'Brien TJ, Raymond LM, Bannon GA, Ford DH, Hardardottir H, Miller FC, Quirk GJ Jr.* New monoclonal antibodies identify the glycoprotein varring the CA125 epitope. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 1857—1864
8. *Matsuoka Y, Nakashima T, Endo K, Yoshida T, Kunimatsu M, Sakahara H, Koizumi M, Nakagawa T, Yamaguchi N, Torizuka K.* Recognition of ovarian cancer antigen CA125 by murine monoclonal antibody produced by immunization of lung cancer cells. *Cancer Res* 1987; 47: 6335—6340
9. *Matsuoka Y.* Establishment and clinical application of immunoradiometric assay using two newly developed monoclonal antibodies 130-22 and 149-9. *Mie Igaku* 1988; 32: 93—99
10. *Nozawa S, Yajima M, Sasaki H, Tsukazaki K, Aoki D, Sakayori M, Udagawa Y, Kobayashi T, Sato I, Furusako S, Mochizuki H.* A new CA125-like antigen (CA 602) recognized by two monoclonal antibodies against a newly established ovarian clear cell carcinoma cell line (RMG-II). *Jpn J Cancer Res* 1991; 82: 854—861
11. *Kjeldsen T, Clausen H, Hirohashi S, Ogawa T, Iijima H, Hakomori S.* Preparation and characterization of monoclonal antibodies directed to the tumor-associated O-linked sialosyl 2-6- α -N-acetylgalactosaminyl (sialosyl Tn) epitope. *Cancer Res* 1988; 48: 2211—2220
12. *Johnson VG, Schlom J, Paterson AJ, Bennett J, Magnani JH, Colcher D.* Analysis of human tumor-associated glycoproteins (TAG-72) identified by monoclonal antibody B72.3. *Cancer Res* 1986; 46: 850—857
13. *Nozawa S, Yajima M, Kojima K, Iizuka R, Mochizuki H, Sugawara T, Iwamori M, Nagai Y.* Tumor-associated mucin-type glycoprotein (CA54/61) defined by two monoclonal antibodies (MA54 and MA61) in ovarian cancers. *Cancer Res* 1989; 49: 493—498
14. *Endo K, Matsuoka Y, Nakashima T.* Development of a new sensitive immunoradiometric assay for CA125: Mixed use of two monoclonal antibodies reactive with separate epitopes. *J Tumor Marker Oncol* 1988; 3: 65—71
15. *小林 浩, 井田若葉, 寺尾俊彦, 川島吉良, 正所 および異所子宮内膜腺管上皮培養細胞からの CA125 産生に関する基礎的検討.* *日産婦誌* 1992; 44: 303—309
16. *小林 浩, 井田若葉, 藤井俊朗, 寺尾俊彦, 川島吉良.* 異所子宮内膜腺管培養細胞と卵巣癌培養細胞より分泌される CA125 の分子 heterogeneity に関する研究. *日産婦誌* 1992; 44: 571—576
17. *Satyaswaroop PG, Bressler RS, De La Pena MM, Gurdip E.* Isolation and culture of human endometrial glands. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 639—641
18. *Laemmli UK.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680—685
19. *Towbin H, Staehelin T, Gordon J.* Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 4350—4354
20. *Yu YH, Schlossman DM, Harrison CL, Rhinehardt-Clark A, Soper JT, Klug TL, Zurawski VR Jr, Bast RC Jr.* Coexpression of different antigenic markers on moieties that bear CA125 determinants. *Cancer Res* 1991; 51: 468—475
21. *Polley MJ, Phillips LM, Wayner E, Nudelman E, Singhal AK, Hakomori S, Paulson JC.* CD62 and endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) recognize the same carbohydrate ligand, sialyl-Lewis X. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6224—6228
22. *Takada A, Ohmori K, Takahashi N, Tsuyuoka K, Yago A, Zenita K, Hasegawa A, Kannagi R.* Adhesion of human cancer cells to vascular endothelium mediated by a carbohydrate antigen, Sialyl Lewis A. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 713—719
23. *Kobayashi H, Terao T, Kawashima Y.* Serum sialyl Tn as an independent predictor of poor prognosis in patients with ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 95—101

(No. 7373 平5・4・7 受付)