

Cytotoxicity Inhibition Assayによる 肺癌を中心とする癌患者の血清中癌関連抗原の検討

Tumor-associated Antigens in the Sera from Patients
with Lung Cancer and from Those with Other Cancers
Detected by Cytotoxicity Inhibition Assay.

広田正毅・福島喜代康・平谷一人・門田淳一・中島 学・宮崎幸重
河野 茂・重野芳輝・朝長昭光・神田哲郎・斉藤 厚・原 耕平

要旨：白血球細胞株HL-60に細胞障害性を示す3つのマウスIgMモノクローナル抗体(CLEX5, CSLEX1, TT3)を用いて、肺癌87例を含む各種癌、良性疾患、健常者を対象に、血清中のこれら抗体に対する抗原をcytotoxicity inhibition assay法により検討した。陽性率および特異性の成績から、3つの抗体のうちCSLEX1が最も良く、肺癌：49.4%、癌全体：46.4%、良性疾患群7.0%、健常者群6.1%の抗原(sialylated Lewis^x)陽性率であった。

〔肺癌 26(6) : 665~672, 1986〕

Key words : Monoclonal antibody, Tumor-associated antigen,
Cytotoxicity inhibition assay.

はじめに

癌に対して細胞融合法によって得られたモノクローナル抗体(以下MCAと略)を癌の血清診断に応用することが数多く試みられている。例えば、Koprowski¹⁾によって作られたNS19-9抗体は、血清中の癌関連糖鎖抗原であるCA19-9の測定に用いられ、一般の臨床に広く応用されている。これらの方法が、癌の早期診断に役立つことは疑問であるが、鑑別診断における補助診断法として、進行癌のマススクリーニングとして、またモニタリングのための指標として応用される可能性があり、この分野の研究はますます発展するであろう。

われわれは、CA19-9と構造的にisomerであり、腫瘍関連糖鎖抗原であるsialylated Lewis^xに対するMCA(CSLEX1)を作ることができ

た²⁾。これはヒトの白血球細胞株HL-60に細胞障害性であるが、この抗体以外にも、HL-60に細胞障害性でかつ癌の糖鎖抗原を認識する他の2本のMCA(CLEX5およびTT3)を得た。今回われわれは、癌に関連した血清中の糖鎖抗原を検出する目的で、癌血清とくに肺癌血清を対象に、これら3本のMCAを用いて、HL-60を標的細胞とするcytotoxicity inhibition assay(CIA)を行なった。本稿では、3本のMCAの性状を紹介すると共にCIAによって得られた成績を報告する。

対象および方法

対象とした被検血清の内訳は、原発性肺癌103例(腺癌46例、扁平上皮癌30例、小細胞癌18例、大細胞癌7例、その他2例)、胃癌66例、大腸癌20例、肝癌18例、その他の癌63例で、対照とし

Table 1. Characterization of CSLEX 1 antibody.

Epitope : Sialosyl-Lewis ^x	
Immunogen : Stomach cancer	
Ig class : IgM	
Reactivity to cells :	
Normal blood cells	Lung ca. cell lines
T cells 0/110	PC-1 (+)
B cells 0/ 55	PC-3 (+)
Granulocytes 20/ 20	PC-6 (-)
Platelets 0/ 15	PC-7 (-)
Pooled red cells	PC-8 (-)
A (-)	PC-9 (+)
B (-)	PC-10 (-)
O (-)	PC-12 (-)
Leukemia/lymphoma lines	PC-13 (-)
T cell 0/4	PC-14 (-)
B cell 0/4	QG 56 (+)
HL-60 (+)	A 549 (-)
U 937 (+)	K 7610 (-)
Cancer cell lines	SK-Lu-1 (-)
Stomach ca. 2/6	A 427 (-)
Colon ca. 5/7	Ca-lu-1 (-)
Breast ca. 2/3	Esophageal ca. lines 1/2
	Liver ca. line 0/1
	Bladder ca. lines 0/2

Table 3. Characterization of TT 3 antibody.

Epitope : Unknown	
Immunogen : Lung cancer	
Ig class : IgM	
Reactivity to cells :	
Normal blood cells :	Lung cancer cell lines :
T cells 0/105	PC-1 (-)
B cells 0/ 21	PC-3 (+)
Monocytes 0/ 19	PC-6 (-)
Granulocytes 22/ 22	PC-7 (+)
Platelets 0/ 9	PC-8 (-)
Pooled red cells	PC-9 (+)
A (-)	PC-10 (-)
B (-)	PC-12 (-)
O (-)	PC-13 (-)
Leukemia/lymphoma lines	PC-14 (-)
T cell 1/3	QG 56 (+)
B cell 0/2	A 549 (-)
CALL 0/2	K 7610 (+)
HL-60 (+)	SK-lu-1 (+)
U 937 (-)	A 427 (+)
Cancer cell lines :	Ca-Lu-1 (-)
Stomach ca. 4/6	Esophageal ca. lines 2/3
Colon ca. 7/8	Melanoma lines 0/2
Pancreas ca. 1/1	Ovarial ca. lines 1/2
Breast ca. 3/5	Bladder ca. lines 1/2

CIAによる肺癌を中心とする癌患者の血清中癌関連抗原の検討

Table 2. Characterization of CLEX 5 antibody.

Epitope : Unknown	
Immunogen : Stomach cancer	
Ig class : IgM	
Reactivity to cells :	
Normal blood cells :	Lung ca. cell lines :
T cells 0/105	PC-1 (-)
B cells 0/ 21	PC-3 (+)
monocytes 0/ 22	PC-6 (-)
Platelets 0/ 6	PC-7 (+)
Pooled red cells	PC-8 (-)
A (-)	PC-9 (+)
B (-)	PC-10 (-)
O (-)	PC-12 (-)
Leukemia/lymphoma lines	PC-13 (-)
T cell 1/3	PC-14 (-)
B cell 0/4	QG 56 (+)
CALL 0/2	A 549 (-)
HL-60 (+)	K 7610 (+)
U937 (+)	A 427 (+)
Cancer cell lines :	SK-Lu-1 (-)
Stomach ca. 4/6	Ca-Lu-1 (-)
Colon ca. 5/7	Esophageal ca. lines 1/3
Pancreas ca. 1/1	Melanoma lines 0/2
Breast ca. 2/5	Ovarian ca. lines 1/2
	Bladder ca. lines 0/2

で良性疾患100例，健常者100名であった。なお癌症例は，臨床病期，治療の有無に関係なく，良性疾患群では疾患に関係なく，無作為に選んだ。健常群も性年齢に関係なく，主として献血者を対象とした。

本研究では3本のMCAを用いた。これら3本の抗体(CSLEX1, CLEX5, TT3)の性状を，それぞれTable 1, 2, 3に示した。CSLEX1は，KoprowskiらのCA19-9とは構造上isomerである sialylated Lewis^xを認識する抗体である。CLEX5およびTT3抗体のepitopeは不明であるが，CLEX5は，galactose残基を有する比較的長い糖鎖を認識する³⁾。

被検血清は全て56°C30分の加熱によって非働化した。被検血清中の細胞障害性自然抗体はヒトのpromyelocytic leukemia cell lineであるHL-60を標的細胞として microcytotoxicity testで検出した。補体はHLA-DRタイピング用の家兎血清(Pel-Freeze社)を用いた。Cytotoxicityの判定はHLAタイピングに準じ，cyto-

Table 4. Criteria of Cytotoxicity Inhibition (CSLEX 1 antibody).

Antibody dilution	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600	Inhibition
Control	+	+	+	±	-	-
Serum tested	+	+	±	-	-	-
	+	±	-	-	-	-
	±	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	+

Table 5. Frequency of natural cytotoxic antibody.

Group	N	Number of positive case	%positive
Cancer of :			
Lung	103	16	15.5
Adeno	46	7	15.2
Sq	30	6	20.0
Small	18	2	11.1
Large	7	1	14.3
Other	2	0	0
Stomach	66	13	19.7
Colon	20	3	15.0
Liver	18	5	27.8
Other	63	9	14.3
Cancer (total)	270	46	17.0
Benign diseases	100	18	18.0
Normal	100	14	14.0

lysisを起こした細胞が40%以上を+，10~40%を±，10%以下を-とした。

被検血清中のMCAに対する抗原の検索は当然のことながら細胞障害性自然抗体陰性の血清について，CIAによって行なった。すなわち最終的に標的細胞(HL-60)に対する cytotoxicity が+，+，+，±，-，になるような2倍希釈系列の抗体の5濃度を選び，これら5濃度の抗体(1 μ l)と非働化した被検血清1 μ lをTerasaki trayのwellで混和し，37°C 2時間反応後，標的細胞(1000/well)を入れ，型の通り microcytotoxicity testを行なった。Inhibitionの判定は，Table 4にCSLEX1抗体の例を示したが，5濃度のうち最高濃度まで全て inhibition をみとめた血清を inhibition陽性と判定した。

なお microcytotoxicity test および CIA の再

Table 6. Frequencies of Cytotoxicity Inhibition.

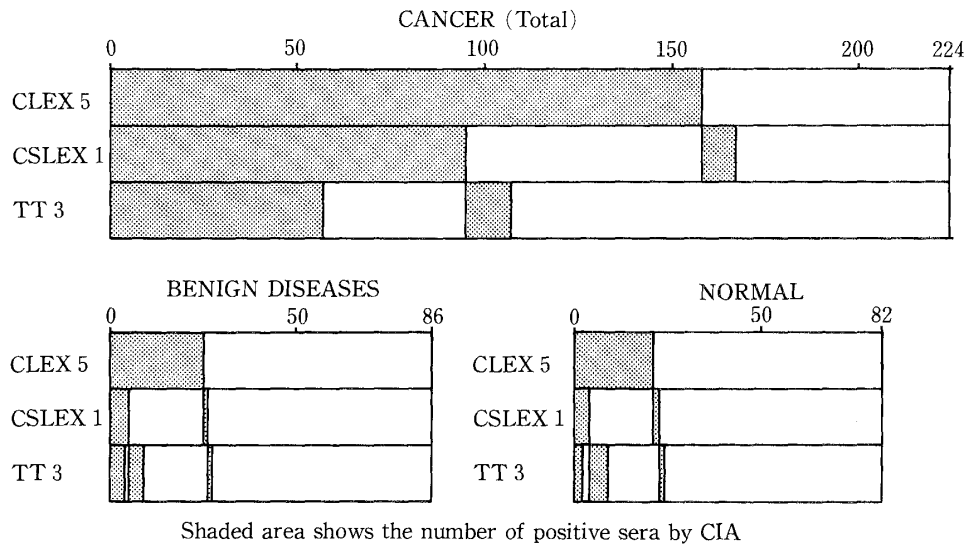
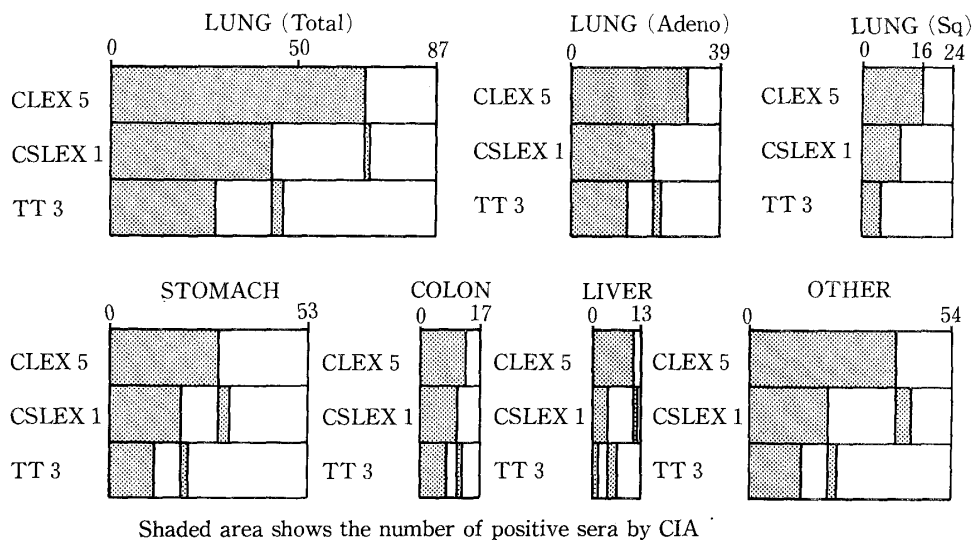
Group	Number of sera tested	Monoclonal antibody used		
		CLEX 5	CSLEX 1	TT 3
Cancer of :				
lung	87	77.7%	49.4%	34.5%
adeno	39	79.5	56.4	43.6
sq	24	66.7	41.7	20.8
small	16	87.5	43.8	31.3
large	6	83.3	50.0	33.3
other	2	50.0	50.0	50.0
stomach	53	54.7	41.5	26.4
colon	17	70.6	52.9	41.2
liver	13	84.6	38.5	23.1
other	54	72.2	46.3	27.8
Cancer (total)	224	70.5	46.4	30.8
Benign diseases	86	29.1	7.0	10.5
Normal	82	25.6	6.1	9.8

現性を検討する目的で，無作為に選んだ癌血清100本について，同一方法で2回検査し，成績の一致率を求めた。

結 果

細胞障害性自然抗体の出現頻度をTable 5に示した。癌全体では17%，良性疾患群18%，健康対照群14%で，これら3群の間に顕著な差を認めなかった。また癌種別の頻度にも有意性は認められなかった。なお，細胞障害性自然抗体による microcytotoxicity test の再現性は98%であった。

CIAによる癌血清中の抗原陽性頻度は，3本のMCAによって異なり，CLEX5に対する抗原頻度が最も高く，50.5~87.5%を示しTT3で最も低く，20.8~50.0%を示した(Table 6)。癌全

Fig. 1. Cytotoxicity Inhibition Assay Using Three Monoclonal Antibodies (Cancer <total>, Benign diseases, and normal controls).**Fig. 2.** Cytotoxicity Inhibition Assay Using Three Monoclonal Antibodies (Various types of cancer).

体の平均でも CLEX5 70.5%, CSLEX1 46.4%, TT3 30.8%であった。しかし良性疾患および健常群でも CIA 陽性例がみられ、とくに CLEX5では30%弱の頻度であった。なおCIAの再現性は94%であった。

CIAの成績を抗体間で比較した(Fig.1および2)。癌全体をみると、CSLEX1の陽性例の91.3%(104例中95例)はCSLEX5の陽性例に含まれ、TT3陽性の82.6%(69例中57例)はCSLEX1陽性例に含まれた。各癌種別の検討でも、ほぼ同様の成績であった。

考案

Köhler & Milstein⁴⁾によって、細胞融合法が確立されて以来、ヒトの癌に対するMCAを作る試みが広く行なわれるようになった。しかし、これまで得られた全ての抗体は、何らかの正常細胞や正常組織と反応し、癌特異的ではない。とくに最近明らかになったことは、マウスを癌で免疫した得られるMCAは、癌細胞にも存在する血液型ないしは血液型関連の糖鎖抗原に対するものが多いということである。

癌においては、血液型またはその関連抗原の

発現異常があることは，古くから知られていた。近年，糖鎖の構造決定の化学的技術の進歩とあいまって，腫瘍学におけるこの分野での新しい知見の集積にはめざましいものがある^{5)~7)}。

血液型を決定するのは数個の単糖よりなるオリゴサッカライドであるが，これは，糖蛋白または糖脂質の糖鎖の末端に存在している。そして，基本的にはGal(galactose)とGlcNAc(N-acetylglucosamine)の結合が $\beta 1 \rightarrow 3$ 結合か， $\beta 1 \rightarrow 4$ 結合かによってtype 1またはtype 2に大別される⁸⁾。これはA，B，O(H)型のみではなく，Lewis型でも同様である。しかし，それぞれ Le^a と Le^b のisomerである Le^x (X-antigen, X-haptenまたはX-determinantとも言われる)と Le^y (Y-hapten)は，血液型抗原ではなく，いわゆる血液型関連糖鎖抗原である。

X-haptenは，LNFP III (lacto-N-fucopentaose III)に含まれている糖鎖として，癌組織中のglycolipidに存在することが明らかにされ⁹⁾，一方，X-haptenに対する多くのMCAが作られた^{10),11)}。これらは肺癌¹²⁾をはじめ，種々の悪性腫瘍でもってマウスを免疫して作られたものである。そして，これらの抗体を用い酵素抗体法によってX-haptenはとくに正常細胞(組織)では末梢血顆粒球と腎尿細管に分布することが明らかにされた¹³⁾。われわれのCLEX5はGal残基を有する糖鎖抗原を認識する抗体であり³⁾顆粒球，腎尿細管と反応し，その組織分布は，X-haptenと類似している。

Koprowskiら¹⁴⁾によって得られたNS19-9抗体はsialylated Le^a を抗原(CA19-9)とし¹⁴⁾，癌の血清診断に広く応用されている¹⁵⁾。われわれは，このisomerであるsialylated Le^x に対するCSLEX1抗体を得た²⁾。この糖鎖抗原は，mono-sialo x-haptenとして以前より重要な腫瘍マーカーであると考えられていた¹⁶⁾。

TT3抗体の認識するepitopeは，現在のところ不明であるが，この組織分布もX-haptenと類似点が多い。これらの3つの抗体に共通していることは，いずれも顆粒球，HL-60，PC-3(肺癌)，PC-9(肺癌)，QG-56(肺癌)のcell lineと反応する細胞障害性IgM抗体であることである。

3本の抗体がHL-60に反応するということは，このcell lineを共通の標的細胞としてCIAを行うことが可能であった。またHL-60に対する細胞障害性自然抗体の存在頻度も他のcell lineに比し低く，このことは，CIAに極めて好条件であった。しかし，HL-60に対する細胞障害性自然抗体の頻度が低いとは言え17%前後であり(Table 5)，これらの症例についてはCIAで抗原の検索を行うことは不可能であり，CIAの欠点と言える。

CIAは補体依存性の細胞障害テストであり，補体として家兎血清を用いるが，家兎血清中の細胞障害性自然抗体の存在も否定出来ない。また，標的細胞として培養細胞を用いなければならず培養条件による細胞表面の抗原量の変化も否定出来ない。CIAにはこのような欠点が考えられるが，われわれが行なった再現性の検討では，細胞障害性自然抗体を検出する細胞障害テストもCIAも良好であった。

本法の最大の長所は，microcytotoxicity testであるが故に，dotting machineなどの利用によって多数の検体を同時に扱うことが可能であり操作も容易である。すなわちマススクリーニングには極めて有用な方法と考えられる。

血清中の癌関連抗原の検出法には，RIAやEIAをはじめ多くの方法が行なわれている。われわれはRIAによるsandwich assay¹⁷⁾，RPHA (reversed passive hemagglutination assay)¹⁸⁾やcell binding inhibition assay^{3),19),20)}によって，とくにCSLEX1抗体を用いて癌の血清診断を試みて来た。同一血清をこれらの異なった全ての方法で検討していないので明らかではないが，ランダムに選んだ癌血清の陽性頻度を比較する限り成績に大差なかった。しかしCSLEX1の健常対照群の成績を比較すると，cell binding inhibition assayでは1%前後であり^{3),19),20)}，CIA(6.1%)がやや高い頻度を示し，特異性ではCIAが劣っていた。この原因は明らかではないが，方法の簡易性を考慮するとCIAもスクリーニングに導入する価値は十分に認められる。

CLEX5のCIAの成績は，他の2つの抗体に比し，癌において最も陽性頻度が高かったが，良

性疾患群および健常群においても陽性例が多数あることから、その診断的価値は、CSLEX1に比し乏しいように思われる。一方、TT3もCSLEX1に比しやや非癌群に陽性頻度が高いこと、さらにTT3の陽性例の多くはCSLEX1に含まれることなどから、CSLEX1より有用性に欠ける。CSLEX1とTT3の組合せでもって陽性率を高めることは可能かも知れないが、以上の成績からして、その可能性は期待出来る程のものではない。

CSLEX1抗体を用いるCIAはランダムに選んだ各種の癌で、50%前後の陽性率を得た。同一の抗体を用いたcell binding inhibition assay法では、抗原のtiterが臨床病期、治療の有無に関連している³⁾ことから、このCIAの成績も、これらの臨床事項と対比し検討しなければならない。これは別稿に報告する予定である。

血液型関連のこれらの糖鎖抗原が、なぜ癌血清中に高頻度依存するのかは明らかではない。血清のgel filtrationでは、分子量1000kd以上にsialylated Lewis^xの抗原活性が認められていること、またこの抗原のisomerであるCA19-9も高分子のmucin-like glycoproteinとして血清中に存在すること²¹⁾からして、癌血清に出現してくる糖鎖抗原は、ムチン型の糖蛋白である可能性が示唆される。とくに癌組織(血清)ではsialyltransferase活性が高いこと^{22),23)}から、シ

CIAによる肺癌を中心とする癌患者の血清中癌関連抗原の検討

アル酸残基を有する糖鎖抗原が癌血清にムチンとして存在するのであろう。癌組織のペルオキシダーゼ染色法でsialylated Lewis^xが腺癌のmucous lakeに濃く存在する所見を得ているが、このことも、この糖鎖抗原がムチンとして存在する可能性を強く示唆している。

結 語

癌において、血液型に関連した糖鎖抗原の異常発現が明らかにされつつある。一方、マウスを用いた多くの細胞融合の経験から、これらの糖鎖抗原に対するモノクローナル抗体は比較的容易に得やすいことが知られている。しかし抗体のepitopeの糖鎖構造を明らかにすることは極めて困難である。Epitopeが不明のまま、その抗体を癌の治療に応用することには問題があるが、in vitroでの癌診断に応用することは可能である。抗体を利用した癌の血清学的診断は、早期癌の診断のみが目的ではない。むしろこの方面での応用の可能性は乏しい。補助診断法として、マススクリーニングとして、あるいはモニタリングの指標としての臨床的応用に、モノクローナル抗体にかけられた今後の期待がある。

本研究において用いられたモノクローナル抗体は(CLEX5, CSLEX1, TT3)は、米国UCLA外科(PAUL I.Terasaki教授)で作製されたものである。

文 献

- 1) Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., et al. : Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Somat. Cell Genet.*, 5 : 957-972, 1972.
- 2) Fukushima, K., Hirota, M., Terasaki, P., et al. : Characterization of sialosylated Lewis^x as a new tumor-associated antigen. *Cancer Res.*, 44 : 5279-5285, 1984.
- 3) Hirota, M., Fukushima, K., Terasaki, P.I., et al. : The detection of tumor-associated antigens in the sera of lung cancer patients by three monoclonal antibodies. *Cancer Res.*, 45 : 6453-6456, 1985.
- 4) Köhler, G., and Milstein, C. : Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature (Lond.)*, 256 : 495-497, 1975.
- 5) Hakomori, S., and Kannagi, R. : Glycosphingolipids as tumor-associated and differentiation markers. *JNCI*, 71 : 231-251, 1983.
- 6) Hakomori, S. : Philip Levine Award Lecture : Blood group glycolipid antigens and their modifications as human cancer antigens. *A. J.C.P.*, 82 : 635-648, 1984.
- 7) Hakomori, S. : Aberrant glycosylation in cancer cell membranes as focused on glyco-

- lipids : Overview and perspectives. *Cancer Res.*, 45 : 2405-2414, 1985.
- 8) Watkins, W.M. : Glycoproteins. ed., Gottschalk, A., Elsevier, Amsterdam, P462, 1966.
 - 9) Yang, H. and Hakomori, S. : A sphingolipid having a novel type of ceramide and Lacto-N-fucopentaose III. *J. Biol. Chem.*, 246 : 1192-1200, 1971.
 - 10) Solter, D. and Knowles, B. : Monoclonal antibody defining a stage-specific mouse embryonic antigen (SSEA-1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 75 : 5565-5569, 1978.
 - 11) Brockhaus, M., Magnani, J., Herlyn, M. et al. : Monoclonal antibodies directed against the sugar sequence of lacto-N-fucopentaose III are obtained from mice immunized with human tumors. *Arch. Biochem. Biophys.*, 217 : 647-651, 1982.
 - 12) Cuttita, F., Rosen, S., Gazdar, A.F., et al. : Monoclonal antibodies that demonstrate specificity for several types of human lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78 : 4591-4595, 1981.
 - 13) Fox, N., Damjanov, I., Knowles, B., et al. : Immunohistochemical localization of the mouse Stage-specific embryonic antigen 1 in human tissue and tumors. *Cancer Res.*, 43 : 669-678, 1983.
 - 14) Magnani, J., Nilson, B., Brockhaus, M., et al. : The antigen of a tumor-specific monoclonal antibody is a ganglioside containing sialylated lacto-N-fucopentaose II. *Fed. Proc.*, 41 : 898, 1982.
 - 15) Ritts, R.E., Villano, B.D., Go, V.L.W., et al. : Initial clinical evaluation of an immunoradiometric assay for Ca 19-9 using the NCI serum bank. *Int. J. Cancer*, 33 : 339-345, 1984.
 - 16) Blaszczyk, M., Ross, A.H., Ernst, C.S., et al. : A fetal glycolipid expression on adenocarcinomas of the colon. *Int. J. Cancer*, 33 : 313-318, 1984.
 - 17) Chia, D., Terasaki, P.I., Suyama, N., et al. : Use of monoclonal antibodies to sialylated Lewis^x and sialylated Lewis^a for serological tests of cancer. *Cancer Res.*, 45 : 435-437, 1985.
 - 18) Iguro, T., Wakisaka, A., Terasaki, P.I., et al. : Sialylated Lewis^x antigen detected in the sera of cancer patients. *Lancet*, 8406 : 817, 1984.
 - 19) 広田正毅, 福島喜代康, 平谷一人, 他 : Sialosylated Lewis^x (monosialo-X hapten) - 腫瘍マーカーとしての意義 - . *医学のあゆみ*, 133 : 611-612, 1985.
 - 20) Hirota, M., Fukushima, K., Terasaki, P.I., et al. : Sialosylated Lewis^x in the sera of cancer patients detected by a cell-binding inhibition assay. *Cancer Res.*, 45 : 1901-1905, 1985.
 - 21) Magnani, J.L., Steplewski, Z., Koprowski, H., et al. : Identification of the gastrointestinal and pancreatic cancer-associated antigen detected by monoclonal antibody 19-9 in the sera of patients as a mucin. *Cancer Res.*, 43 : 5489-5492, 1983.
 - 22) Bosmann, H.B., and Hall, T.C. : Enzyme activity in invasive tumors of human breast and colon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71 : 1883-1887, 1974.
 - 23) Ganziger, V., and Deutsch, E. : Serum sialyltransferase levels as a parameter in the diagnosis and follow up of gastrointestinal tumors. *Cancer Res.*, 40 : 1300-1304, 1980.

(原稿受付 1985年11月28日 / 採択 1985年1月13日)

Tumor-associated Antigens in the Sera from Patients with Lung Cancer and from Those with Other Cancers Detected by Cytotoxicity Inhibition Assay

Masaki Hirota, Kiyoyasu Fukushima, Kazuhito Hiratani, Junnichi Kadota, Manabu Nakashima, Takashige Miyazaki, Shigeru Kohno, Yashiteru Shigeno, Akimitsu Tomonaga, Tetsuro Kanda, Atsushi Saito and Kohei Hara.

The Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine.

Three monoclonal antibodies, CLEX5, CSLEX1, TT3, were produced by immunizing mice with human cancers. The CSLEX1 antibody had previously been confirmed to be directed to the sialylated form of Lewis^x (sialylated Lewis^x), but the chemical structures of epitopes of the others have not been completely clarified.

These antibodies were IgM and cytotoxic to the promyelocytic leukemia cell line HL-60. The cytotoxicity inhibition assay to detect the antigens in patients' sera has been performed using the antibodies. From the studies on antigen frequencies and specificities, the CSLEX1 antibody was found to be most useful for antigen detection by this method. The positive rate for sialylated Lewis^x was 49.4% in patients with lung cancer and 46.4% for all cancer patients, whereas 7.0% for those with benign diseases and 6.1% for healthy controls. From the results together with the simplicity of this procedure, sialylated Lewis^x would be a useful tumor marker for detection by cytotoxicity inhibition assay.