

胆管癌における carcinoembryonic antigen (CEA) の検討 —特に組織 CEA 反応による癌か非癌かの診断の応用も含めて—

久留米大学第2外科

福田 義人 内藤 寿則 沢田 勉
津留 昭雄 中山 和道 古賀 道弘

STUDY ON CARCINOEMBRIONIC ANTIGEN (CEA) IN BILE DUCT CARCINOMA

Yoshito FUKUDA, Hisanori NAITO, Tsutomu SAWADA,
Teruo TSURU, Toshimichi NAKAYAMA and Michihiro KOGA
The Second Department of Surgery Kurume University School of Medicine

切除胆管癌の23例に Peroxidase-antiperoxidase 法を用いた組織 CEA 反応および22例の血清 CEA について検討した。組織 CEA は19例(82.6%)に何らかの反応を認めた。血清 CEA は平均値 3.0 ± 1.6 ng/ml, 陽性率54.5% (22例中12例)であった。血清 CEA の上昇程度と組織 CEA 反応の程度に相関は認めず、組織型では pap 5例 (83.3%), tub 13例 (81.3%), por の1例, 癌部杯細胞(++)、(+) 群11例 (78.6%), (-) 群8例 (88.7%), 肉眼型では、乳頭型2例, 結節型4例 (80%), 浸潤型13例 (81.3%)に何らかの組織 CEA 反応を認めた。さらに、CEA 反応を用いて癌部の検索をすると、粘膜および胆管壁に浸潤した癌の先進部まで反応を認め、より詳細な癌浸潤範囲の検索や切除断端部の癌浸潤の有無の判定に有用であると思われた。

索引用語：胆管癌, peroxidase-antiperoxidase 法, 組織 CEA 反応, 血清 CEA

はじめに

近年、胆管癌の切除率は向上しているもののその予後は必ずしも良好ではないのが現状である。その原因として粘膜筋板がないことや、血管、リンパ管や神経に富むなどの胆管組織構造の特異性があげられる。しかし、もう1つの因子として癌が胆管の長軸に沿った予想外の浸潤による切除断端の癌遺残があげられる。この胆管長軸への癌浸潤範囲の決定は、術中迅速はもちろんの事、術後の組織学的検索においても必ずしも明確に判断できないのが現状である。最近、消化器癌の診断、予後によく用いられている Carcinoembryonic antigen (以下 CEA と略す)は、血液、体液中はもちろんのこと組織内での局在の検討も可能となった。そして癌組織において特異的に認められることから潰瘍性大腸炎の前癌状態の予知¹⁾、大腸腺腫の境界領域²⁾お

よび胃における隆起性病変の異型上皮(以下 ATP と略す)か癌か³⁾の補助診断の1つとして用いられるようになった。

これらの結果、結論を応用して著者らは、peroxidase-antiperoxidase⁴⁾法(以下 PAP 法と略す)によって胆管癌組織の CEA の局在を検討するとともに、胆管癌における断端浸潤判定の補助診断として有用であるという、興味ある結果を得たので報告する。

対象および方法

昭和54年より昭和57年12月までに教室で切除した胆管癌23例を対象とした。組織 CEA (以下 T-CEA と略す)の検索は、L.A. Sternberger⁴⁾が開発した酵素抗体法の原理を応用した PAP 法を施行した。一次抗体、二次抗体は、DAKO 社製を使用し、発色には、3-amino-9-ethylcalbazol (AEC)を用いた。なお、抗 CEA 血清は、ヒト結腸癌肝転移巣より抽出した purified CEA (抗血清1mlあたり6.3mg purified CEA)にて完全に吸収でき、また Non specific-crossreacting antigen

(NCA)は、アセトン抽出ヒト脾臓粉末を用いて吸収した。さらに抗CEA血清の代わりにヒト抗IgGを用いた反応では全く、陰性であり、陽性反応が特異であることを確かめた。T-CEAの反応性は、反応の程度およびその範囲より、強陽性(++)から陰性(-)の4段階に分類した。血清CEA(以下P-CEAと略す)はDinabot社製KITを用い、2.5ng/ml以上を陽性とした。

結 果

1) P-CEA の検討

T-CEAの検討を行った23例のうち、術前にP-CEAを測定できた22例について検討した。22例中12例54.2%が陽性であり、最高値は8.7ng/ml、平均値は 3.0 ± 1.6 ng/mlであった(図1)。

2) T-CEA 反応の局在および反応性

乳頭状腺癌(以下papと略す)(図2a)や、管状腺癌(以下tubと略す)(図2b)においては、形成された腺腔に面した細胞の尖端の所謂、luminal borderに強く反応を認め、腺腔に近い細胞質にも弱く反応を認めた。一部には腺腔内のdepositにも反応を認めた。低分化腺癌(以下porと略す)(図2c)では、個々の細胞の細胞質内に反応を認めた。また同一症例、同一癌巣内においても部位によってその反応態度に差を認めた。以上のような、T-CEAの反応性から、23例を分類すると、(++)9例(39.1%)、(+)7例(30.4%)、(±)3例(13.0%)、陰性4例(17.4%)となった。すなわち(±)例を含めて19例(82.6%)に何らかのT-CEA反応を認めた(表1)。

また、対照として乳頭癌で膵頭十二指腸切除をして得た10例の正常胆管部のCEA反応を行ったが全例

図1 胆管癌 P-CEA 値

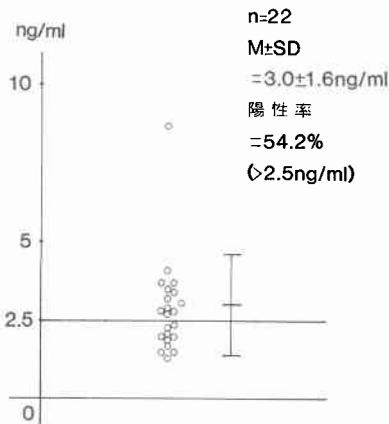
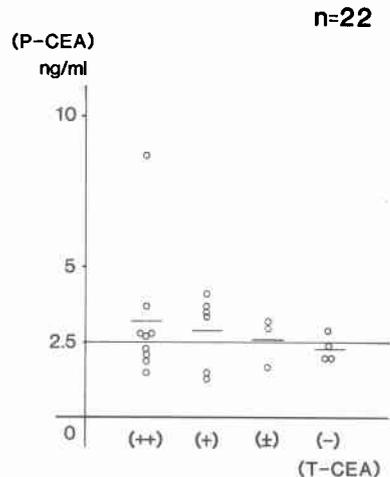


表1 胆管癌における T-CEA 反応性

CEA (+)	9 (39.1)	19 (82.6)
CEA (+)	7 (30.4)	
CEA (±)	3 (13.0)	
CEA (-)	4 (17.4)	4 (17.4)
total	23	23

() %

図3 P-CEA と T-CEA の関連性



にその反応は認めなかった。

3) P-CEA と T-CEA 反応の関連性

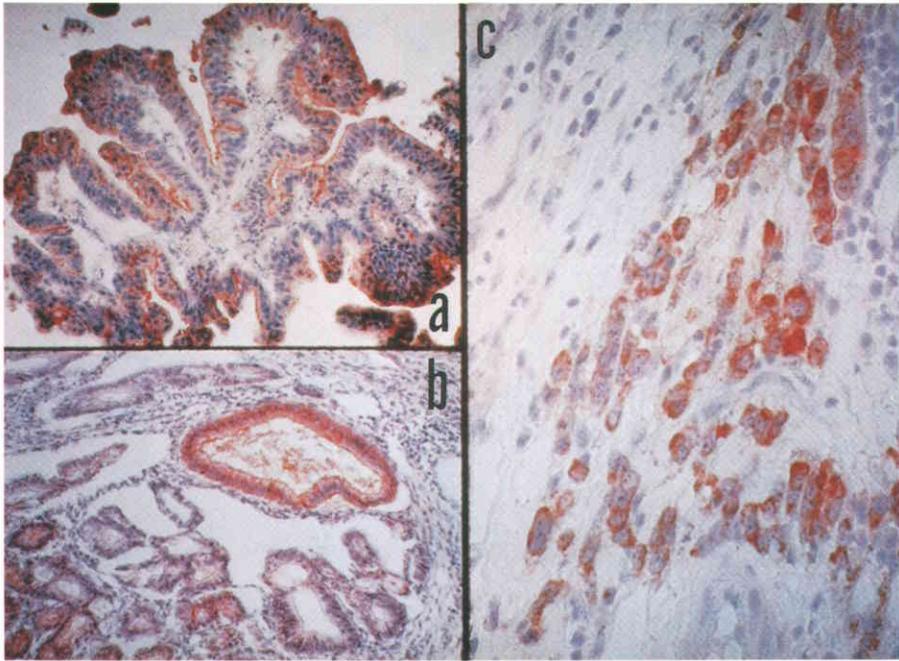
T-CEA (++) 9例のうち5例(55.6%)、(+) 6例のうち4例(67.0%)、(±) 3例のうち2例(66.7%)がP-CEAは陽性であった。すなわち、何らかのT-CEA反応をみた18例のうち11例(61.1%)がP-CEAも陽性ということになる。T-CEA (-)の4例のうち3例はP-CEAも陰性であったが、陽性の1例は2.9ng/mlと比較的低値であった。また、それぞれの間有意差は認めなかった(図3)。

4) 組織型と T-CEA 反応の関連性

pap 6例中(++) 1例(16.7%)、(+) 3例(50.0%)、(±) 1例(16.7%)、(-) 1例(16.7%)であり、(±)も含めて何らかのCEA反応を認めたのは、5例(83.3%)であった。tub 16例では(++) 7例(43.8%)、(+) 4例(25.0%)、(±) 2例(12.5%)、(-) 3例(18.8%)であり、(±)も含めて何らかの反応を認めたのは13例(81.3%)であった。なお、porの1例は(++)であった(表2)。

図 2

- a. 乳頭状腺癌 (pap) luminal border に CEA 反応を認める.
- b. 管状腺癌 (tub) luminal border および deposit に CEA 反応を認める.
- c. 低分化腺癌 (por) 個々の細胞の細胞質に CEA 反応を認める.



5) 癌部杯細胞の有無と T-CEA 反応の関連性

癌巢内の杯細胞分布状態から胆管癌を津留⁵⁾の分類に準じて I-type, non-I-type に分類し, これと T-CEA 反応との関連をみた. 杯細胞(+)群 4 例では, T-CEA (++) 3 例 (75.0%), (+) 1 例 (25.0%), 杯細胞(+)群 10 例では, T-CEA (++) 1 例 (10.0%), (+) 3 例 (30.0%), (±) 3 例 (30.0%), (-) 3 例 (30.0%), 杯細胞(-)群 9 例では, T-CEA (++) 5 例 (55.5%), (+) 3 例 (33.3%), (-) 1 例 (11.1%) であった. すなわち, 杯細胞 (+) (+) 群の I-type 14 例中 11 例

表 3 癌部杯細胞と T-CEA 反応の関連性

	癌部杯細胞		
	I-type		non-I-type
	(#)	(+)	(-)
CEA (#)	3 (75.0)	1 (10.0)	5 (55.6)
CEA (+)	1 (25.0)	3 (30.0)	3 (33.3)
CEA (±)	0	3 (30.0)	0
CEA (-)	0	3 (30.0)	1 (11.1)
total	4	10	9

() %

表 2 組織型と T-CEA 反応の関連性

	pap	tub	por
CEA (#)	1 (16.7)	7 (43.8)	1
CEA (+)	3 (50.0)	4 (25.0)	0
CEA (±)	1 (16.7)	2 (12.5)	0
CEA (-)	1 (16.7)	3 (18.8)	0
total	6	16	1

() %

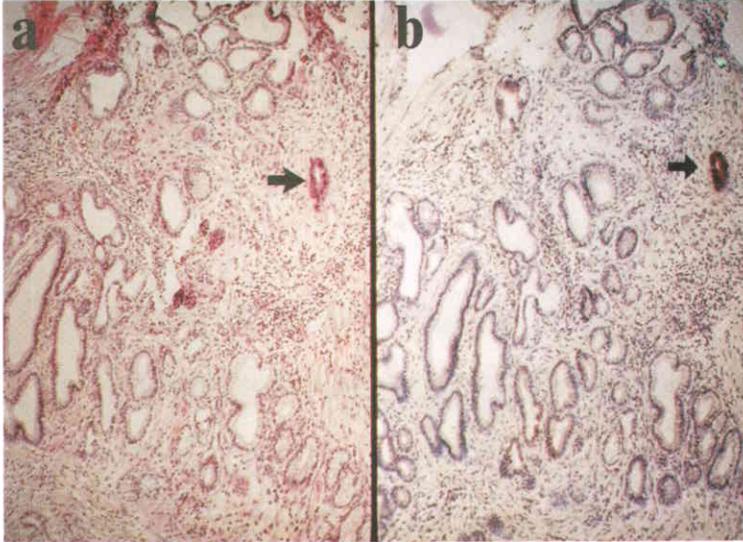
表 4 肉眼型と T-CEA 反応の関連性

	乳頭型	結節型	浸潤型
CEA (#)	1 (50.0)	1 (20.0)	7 (43.8)
CEA (+)	1 (50.0)	2 (40.0)	4 (25.0)
CEA (±)	0	1 (20.0)	2 (12.5)
CEA (-)	0	1 (20.0)	3 (18.8)
total	2	5	16

() %

図4 管状腺癌

- a. 多くの腺管を認めるが右上の腺管にのみ、核の濃染がみられ、管状腺癌が疑われる。(H.E. 染色×100)
- b. 矢印の腺管のみに CEA 反応を認め、H.E. 染色の所見も含めて管状腺癌と診断できた。(PAP 法×100)



(78.6%), 杯細胞(-)群の non-I-type 9 例中 8 例 (88.9%) に何らかの T-CEA 反応を認めたことになる(表 3)。

6) 肉眼型と T-CEA 反応の関連性

乳頭型の 2 例は, (++)、(+) が 1 例ずつであった。結節型の 5 例では (++) 1 例 (20.0%), (+) 2 例 (40.0%), (±) 1 例 (20.0%), (-) 1 例 (20.0%), 浸潤型の 16 例では (++) 7 例 (43.8%), (+) 4 例 (25.0%), (±) 2 例 (12.5%), (-) 3 例 (18.8%) であった。従って浸潤型では 16 例中 13 例 (81.3%) に, (±) も含めて何らかの T-CEA 反応を認めた(表 4)。

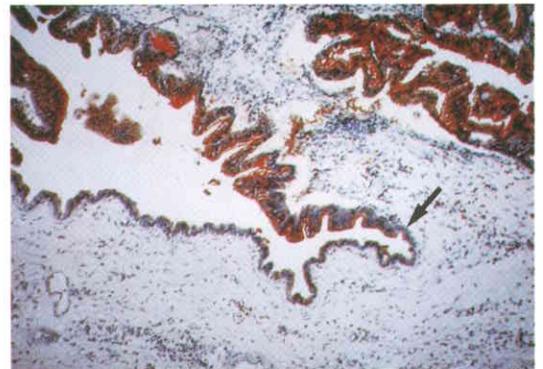
7) T-CEA の反応性からみた胆管癌巣と非癌胆管粘膜について

検索胆管癌 23 例の連続切片を作製し, T-CEA 反応と H.E. 染色を行いながら癌の浸潤範囲を検討した。T-CEA 反応を認めた 19 例においては, H.E. 染色での癌巣から反応がみられ, それは辺縁部にも及んだ。また, H.E. 染色において明らかに正常粘膜, 粘膜下の正常腺管においては, 対照例と同様に T-CEA 反応は認めなかった。そして, H.E. 染色で異型をともなっているために癌か非癌かの鑑別困難な部位において T-CEA 反応をみると 2 つに分類できた。すなわち, 強い異型があり癌を疑わせる部においては, T-CEA 反応がみら

れ, 逆に異型もそれ程強くなくしかも必ずしも正常腺管ではない部においては T-CEA は反応しなかった。とくに粘膜下層に浸潤している分化した管状腺癌では正常腺管との鑑別が H.E. 染色のみからは困難な場合があった。しかし, このような症例においても T-CEA 反応をみると既述と同様に癌を思わせるきわめて異型の強い腺管には反応がみられ, 逆に異型も少なく非癌を思わせる腺管には T-CEA 反応は認めなかった(図

図5 乳頭状腺癌

矢印の部所謂 front で CEA 反応に差を認める。(PAP 法×100)



4).そして所謂, front まで T-CEA 反応がみられ, それより先は反応を認めなかった(図5). また神経, リンパ管や血管などの脈管への浸潤している癌細胞においても反応を認めた.

考 察

1965年, Gold ら⁶⁾が大腸癌特異抗原として CEA を発見して以来, 結腸, 直腸癌はもちろんのこと, 食道, 胃, 小腸などの消化管の癌, 肝胆膵の悪性腫瘍, 消化器以外の癌, 非腫瘍性疾患や, 異型上皮の前癌状態の予知などに, 血中, 体液中, および組織中 CEA の検討は広く応用されるようになった.

胆道癌においても同様で, 平井⁸⁾, 井口⁹⁾, 谷内¹⁰⁾, 渡辺ら¹¹⁾によって, 血中, 胆汁中の検討は, 行われているが, 胆管癌についての P-CEA や, T-CEA の検討, 報告は少ない. 著者らは, 教室で切除した胆管癌23例の T-CEA および, 22例の P-CEA について検討した.

最近, T-CEA の局在を酵素抗体法, 蛍光抗体法などの免疫組織学的方法を用いて定性的に検索することが可能となったが, 著者らは1970年に L.A. sternberger⁴⁾が開発した酵素抗体法の原理を応用した PAP 法を用いて, 胆管癌の T-CEA の局在を検討した. T-CEA の局在を検索すると, 和久本¹²⁾, 西田¹³⁾, Goldenberg¹⁴⁾, Primus¹⁵⁾の大腸癌や, 胃癌の CEA の局在と同様に, 腺腔形成の明瞭な pap や tub では, 腺腔に向うにつれて, その反応は強くなる傾向にあり, 腺腔に面した luminal border に最も強く反応し, 細胞質および, 一部には腺腔内の deposit にも反応を認めた. por においては細胞質のみに反応を認めた. これは胃癌の低分化腺癌と同様の結果であった. また同一癌巢内においても反応性に強弱を認め, CEA 反応細胞と, 非反応細胞が混在していた. このことは手技の不均一さもあるが, 同一癌組織の heterogeneity を示唆しているものと思われる. 胆管癌の T-CEA の反応性の頻度をみると, (++) 9例 (39.1%), (+) 7例 (30.4%), (±) 3例 (13.0%) であり, (±) も含めると23例のうち19例 (82.6%) に何らかの CEA 反応を認めた. 諸家の報告では, 胆管癌は100%¹⁶⁾, 大腸癌のうち腺癌は100%²⁾¹²⁾, 胃癌は62%¹²⁾, 85%¹³⁾であったと報告している.

術前の P-CEA は22例のうち12例 (54.5%) に 2.5ng/ml 以上の陽性であり, 最高8.7ng/ml, 平均値は3.0±1.6ng/ml であった. 胆道癌の P-CEA の陽性率は平井 (61%)⁸⁾, 谷内 (60%)¹⁰⁾, 大倉¹⁷⁾ (50%) の報告と同程度であるが, 諸家の胃癌における陽性率35~42%^{8)~11)}

と比較すると, 胆道癌の陽性率は若干, 高い傾向にある. しかし, 胆道癌の P-CEA の陽性率は50%台で, その上昇程度も低く, 胆管癌の腫瘍マーカーとしては, 胃癌において西田¹³⁾も述べるごとく, 補助的診断のひとつにすぎないと思われる.

つぎに, P-CEA と T-CEA 反応の関連性をみると, P-CEA および T-CEA の (±) も含めてともに陽性であった11例のうち9例 (81.8%) は, 旁神経, および血管などへの比較的高度の脈管侵襲を認め, P-CEA の上昇機序は, 癌による CEA の産生能や量的因子のみばかりでなく, Zamchek¹⁸⁾の述べるごとく, 血中への移行態度すなわち, 脈管への侵襲の程度も多いに関与していることが示唆される.

組織型と T-CEA 反応の関連性についてみると pap では, 5例 (83.3%), tub では11例 (81.3%), por の1例に (±) 以上の何らかの反応を認めた. 一般に, 組織学的には, pap や tub の分化型癌に CEA 産生能は多いといわれているが, 著者らにおいては, por の1例も反応を認め, 胆管癌の組織型および分化度と CEA 産生能との関連性は, 症例数も少なく, さらに症例数をかさね, 今後の検討が必要と思われる.

津留⁵⁾は胆管癌を組織形態学的に検索し, 悪性杯細胞を示標として腸上皮化生を母地とする I-type と non-I-type の2型に分類している. 著者らにおいても I-type 14例 (61%) と non-I-type 9例 (49%) に分類できた. その T-CEA 反応をみると, I-type は T-CEA (++) 4例 (28.0%), (+) 4例 (28.0%), (±) 3例 (21.4%) で全体では11例 (78.6%) に (±) を含めて何らかの反応を認めている. non-I-type では T-CEA 反応 (++) 5例 (55.6%), (+) 3例 (33.8%) で全体では8例 (88.9%) に何らかの T-CEA 反応を認めた. 森¹⁹⁾は, 胃癌において胃固有粘膜を発生母地とする胃型胃癌と, 腸上皮化生を母地とする腸型胃癌に分類して T-CEA 反応の検討を行い, 杯細胞を有する腸型癌では比較的多くが T-CEA 反応は陽性であり, 胃型癌は陰性が多いと報告している. しかし, 著者らの成績では形態学的に腸上皮化生の指標の1つである杯細胞から I-type と non-I-type に分類できるものの CEA 産生能の機能的な面からの差異は認められなかった.

つぎに, 胆管癌を光顕的に検索すると, 癌が予想以上に長軸方向に進展していることがある. そして切除後の固定標本において, H.E.染色を行い, 癌部と非癌部を形態学的に明確に判定するのに困難なことが少なくない. とくに粘膜面を広がる一層の異型をとまな

た上皮や粘膜下層における腺管を癌か否かを判断することは容易ではない。この点について諸家は、様々な面から検討を行っているが、著者はT-CEAの反応を用いて切除断端部の病変を癌か非癌かの補助診断の1つとして応用してみた。すなわち乳頭部癌の正常胆管部のT-CEA反応をみると10例ともに反応を認められなかったが、これは、正常腺管、粘膜であれば、T-CEA反応を認めないことを示唆している。また、Michael J.ら²⁰⁾は大腸 polyp の T-CEA 反応の程度と異型度を対比させ、severe dysplasia においては、T-CEA 反応の強いものが多く、逆に slight dysplasia においては T-CEA 反応がほとんどないことを記載しており、この T-CEA 反応性という function の面から polyp の良悪性判断の検討を行っている。三輪ら¹⁾は colitis ulcerosa において biopsy の標本の T-CEA 反応から癌発生の予知を検討している。また、考富士³⁾は胃において隆起性早期胃癌と ATP の T-CEA 反応を行い、CEA 反応が両者の鑑別に有用であると述べている。著者らにおいても、T-CEA 反応の局在が、大腸癌や胃癌と同様であったことは、胆管癌においても以上のような検討が可能と思われる。

そこで、肉眼型と T-CEA 反応の関連性をみると、乳頭型では2例とも、結節型では4例(80%)、とくに浸潤型では13例(81%)に反応を認めた。この浸潤型胆管癌においても81%に T-CEA 反応をみたことは、H. E.染色の異型度も加味すればその T-CEA 反応性から癌浸潤範囲の決定に有効と考えた。そこで連続切片から H. E.染色と、T-CEA 反応を施行し両者から癌か非癌かの検討を行うと、明らかな癌巣は勿論のこと、それより続く癌部に T-CEA 反応は陽性を示しさらに続いて front まで反応を認めた。また粘膜下層の癌浸潤と非癌腺管との鑑別も比較的容易であったし、脈管、旁神経浸潤部も容易に判定できた。

以上のように胆管癌において T-CEA 反応をみることは、今まで行われてきた形態学のみからの癌か非癌かの診断に加えて function からの癌診断のアプローチを示すことであり、より癌か非癌かの診断が容易となろう。そして胆管癌のさらに詳細な深達度、浸潤範囲の検索や、切除断端部の癌遺残の有無の判定に有用であると思われる。T-CEA 反応の時間の短縮や手技の簡便さなどの工夫により、術中迅速凍結標本への応用が期待される。

まとめ

- 1) 胆管癌の T-CEA は82.6%と高率に反応を認め

た。

- 2) T-CEA の局在は、pap, tub では、Luminal border に最も強く、一部では腺腔内 deposit にも反応を認め、por では、細胞質に反応を認めた。

- 3) 胆管癌の P-CEA は54.5%に陽性であり、T-CEA の反応性とは明らかな関連性を認めなかった。

- 4) 組織型、杯細胞の有無と T-CEA との関連性は認めなかった。

- 5) 肉眼型では浸潤型の81.3%に T-CEA 反応を認め、さらに詳細な癌浸潤範囲の検索に有用であった。

- 6) H. E.染色による異型度を加味すれば胆管癌の T-CEA の検索は、癌と非癌部の診断がさらに容易となり切除断端の検索に有用であると思われた。

本文の要旨は、第24回日本消化器外科学会総会において発表した。

文 献

- 1) 三輪洋子, 長谷川かをり, 谷口友章ほか: 大腸における CEA の組織学的検討. 日消外会誌 77: 1562-1565, 1979
- 2) 松田泰次: 癌を中心とした大腸組織における酵素抗体法による CEA (Carcinoembryonic antigen) の細胞組織化学的研究. 近畿大医誌 6: 45-77, 1981
- 3) 考富士喜久生: 胃の異型上皮巣と分化型早期癌における CEA の局在. 日消病会誌 80: 1111-1117, 1983
- 4) Sternberger LA, Hardy RH Jr, Cuculis JJ et al: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in the identification of spirochetes. J Histochem Cytochem 18: 315-333, 1970
- 5) 津留昭雄, 内藤寿則, 日高久光ほか: 胆管粘膜化生の臨床病理学的検討—とくに胆管癌との関連性について—. 日外会誌 84: 212, 1983
- 6) Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumorspecific antigens in human colonic carcinoma by immunological tolerance and absorption technique. J Exp Med 121: 439-463, 1965
- 7) Gold P, Freedman SO: Specific carcinoembryonic antigens of human digestive system. J Exp med 122: 467-481, 1965
- 8) 平井秀松: CEA 測定法とその臨床的検討. 日臨 34: 1274-1279, 1976
- 9) 井口公雄, 田中承男, 稲葉征四郎ほか: 胆道癌の病理組織学的検討. CEA および腸上皮化生との関連性について. 日臨外医会誌 43: 1090-1095, 1982

- 10) 谷内 昭, 川原田信, 笹浪哲雄: Carcinoembryonic Antigen (CEA) 測定と臨床的意義. 臨病理 51: 38-49, 1982
- 11) 渡辺義二, 竜 崇正, 菊池俊之ほか: 悪性胆道膵疾患における胆汁 CEA 測定の臨床的意義. 日癌治病会誌 17: 803-804, 1982
- 12) 和久本博司: Carcinoembryonic antigen (CEA) の免疫組織学的研究. 大阪大医誌 27: 121-131, 1975
- 13) 西田博之: CEA 産生胃癌の臨床病理学的検討血清 CEA と組織 CEA の比較検討及び CEA の局在について. 日外会誌 84: 328-335, 1983
- 14) Goldenberg DM, Sharkey RM, Primus FJ: Immunocytochemical detection of carcinoembryonic antigen in conventional histopathology Specimens. Cancer 42: 1546-1553, 1978
- 15) Primus FJ, Wang RH, Sharkey RM et al: Detection of carcinoembryonic antigen in tissue sections by immunoperoxidase. J Immunol Methods 8: 267-275, 1975
- 16) 藤本隆夫, 杉田 輝, 田中 豊ほか: 胆管癌の病理学的検討—特に CEA を中心として. 日消外会誌 16: 441, 1983
- 17) 大倉久直, 向島 達: 癌胎児性抗原(CEA). 日臨 38(増): 1403-1412, 1980
- 18) Zamcheck N: Carcinoembryonic antigen. Ader Inter Med 19: 413-433, 1974
- 19) 森武 真, 和久本博司, 島野高志: CEA の癌診断的価値. 臨外 9: 1131-1139, 1973
- 20) Michael J, O'Brien MD, Norman Zamcheck JD et al: Immunocytochemical Localization of Carcinoembryonic antigen in benign and malignant colorectal tissues. ASCP 75: 283-390, 1981