

大腸癌における組織 carcinoembryonic antigen の研究

日本赤十字社医療センター消化器外科

遠 藤 健

A STUDY ON TISSUE CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN IN COLORECTAL CARCINOMA

Takeshi ENDO

Department of Gastroenterological Surgery, Japanese Red Cross Medical Center

大腸癌73例を中心に、血中 CEA 値を規定する因子として組織 CEA を定量し、同時にポリクローナル抗体とモノクローナル抗体による免疫組織染色で検討した。高中分化腺癌に比べて分化度の低い癌では組織 CEA 含量が少なく、染色性も低下し、血中 CEA 値も低かった。また高中分化腺癌でも組織 CEA の染色性が低下している例では血中 CEA 値が低く、経過観察の指標としての CEA の価値は低いと考えられた。原発巣と転移巣では組織 CEA 含量および染色性の差を認めなかった。モノクローナル抗体による CEA の組織染色は、血中 CEA 値との相関性、癌の組織型による染色性の差などの点でポリクローナル抗体による組織染色よりすぐれていた。

索引用語：大腸癌組織 CEA 含量、酵素抗体法、抗 CEA ポリクローナル抗体、抗 CEA モノクローナル抗体

はじめに

われわれはこれまでに大腸癌における術前の血中 carcinoembryonic antigen (CEA) 測定の意義、大腸癌再発例における血中 CEA の推移について自験例を中心に検討し、術前の病期予想、予後の推測、再発の早期発見、再発後の治療効果判定などに血中 CEA の測定が有用ではあるが、必ずしも病期を反映しない例、再発確認時に血中 CEA が陰性の例もみられるので、その原因についてさらに検討を加える必要があると考えていた¹⁾²⁾。血中 CEA 値を規定する因子としては、組織における CEA の量および局在、脈管侵襲の有無、代謝過程の障害の有無などが挙げられているが、このうち最も関連が深いと考えられる組織 CEA に関して、組織定量でその含量を測定し、免疫組織学的に従来の抗 CEA ポリクローナル抗体に加えて、新たに開発された抗 CEA モノクローナル抗体を用いて組織染色を行い検討した。

対 象

昭和59年1月より昭和60年12月の2年間に当科で取り扱った大腸癌73例(うち8例は昭和59年以前の症

例)、大腸非上皮性悪性腫瘍3例、大腸良性疾患6例を対象とした。男性50例、女性32例で、年齢は30歳~83歳、平均56歳であった。

方 法

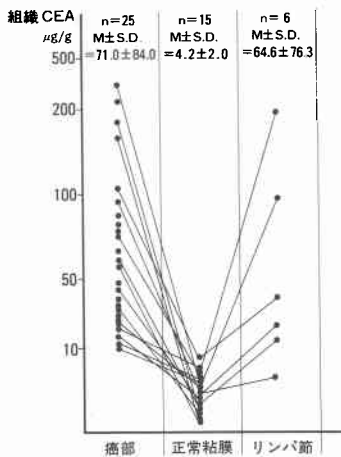
(I) CEA の組織内定量

対象症例のうち27例の大腸癌について癌病巣、病巣より10cm離れた正常粘膜、転移リンパ節、肝転移巣、平滑筋肉腫2例の病巣、良性疾患6例(潰瘍性大腸炎2例、大腸憩室症2例、虫垂炎2例)の正常粘膜で組織 CEA 含量を測定した。摘出新鮮標本を水洗し、糞便、血液を洗い落した後、癌病巣では壊死部、膿苔などを除去して癌組織約1gを採取、また正常粘膜部では粘膜のみを約1g採取した後、組織を凍結した。凍結組織を生理食塩水で、ホモジナイズして組織上清とし、上清を希釈した後、熱処理による除蛋白を行い、得た上清を CEA, Radioimmunoassay Kit を用いサンドイッチ法にて測定した。データ処理は、CEA 標準液より得られた count から、Netcpm を縦軸に、CEA 濃度 (ng/ml) を横軸にした標準曲線を作成し、未知検 count 数から CEA 濃度を読みとった。この値は希釈上清の濃度であり、下記の計算式により組織1g当りの CEA 量を求めた。

表1 酵素抗体法 (PAP法)

1. 脱パラフィン	
2. 水洗	
3. PBS	5分×3回
4. トリプシン処理	1時間 37℃
0.25%トリプシン (DIFCO社) PBS 溶液	
5. PBS	5分×3回
6. 内因性ペルオキシダーゼ処理	30分
0.3% H ₂ O ₂ メタノール溶液	
7. PBS	5分×3回
8. NGS (ポリクロ), NRS (モノクロ)	30分
原液を10倍希釈して使用	
9. 一次血清	
ポリクロ (DAKO社) 100倍希釈	1時間
モノクロ (IBL社) 5倍希釈	12時間
10. PBS	5分×3回
11. 二次血清	
ポリクロ: Goat anti-rabbit IgG (TAGO社)	
モノクロ: Rabbit anti-mouse IgG (IBL社)	
12. PBS	5分×3回
13. PAP	30分
14. PBS	5分×3回
15. DAB発色	5~10分
16. PBS	5分×3回
17. 水洗	
18. 染色 Carazzi-Hematoxyline	1分
19. 水洗	
20. 脱水, 透徹, 封入	

図1 組織CEA含量



$$\frac{\text{希釈上清濃度 (ng/ml)} \times \text{希釈倍数} \times 10(\text{ml})}{\text{秤量した組織重量 (g)}}$$

$$\times \frac{1}{1000} = \text{組織 CEA 含量} (\mu\text{g/g})$$

(II) 酵素抗体法による CEA の免疫組織学的検索

大腸癌73例, 悪性非上皮性腫瘍3例 (平滑筋肉腫2例, 悪性リンパ腫1例), 良性疾患6例を対象として, 腫瘍病巣, 転移リンパ節, 遠隔転移巣, 腺腫, 正常粘膜で, 抗CEAポリクローナル抗体 (Dako社製) およびCEAモノクローナル抗体 (IBL社製) を用いて酵素抗体法によるCEAの組織染色を行い, 両抗体による組織の染色性を比較検討した (表1)。

なお血中CEA測定にはロッシュ社キットのZ-ゲル法を用い, 5ng/ml以上を陽性とした。切除標本の組織学的検索は大腸癌取扱い規約(1985年7月改訂第4版)によった。また相関関係及び有意差検定には χ^2 検定, t検定を採用した。

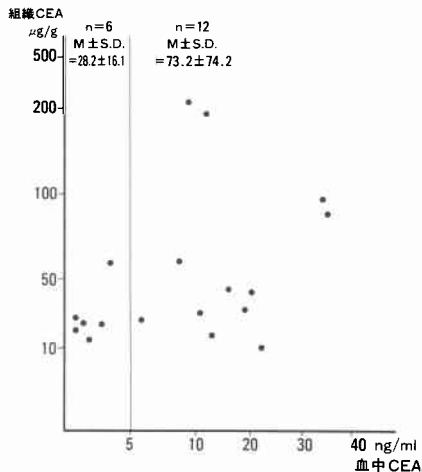
成 績

(I) 組織CEA含量

① 組織別CEA含量

組織CEA含量(以下t-CEA)は, 大腸癌の病巣(n=25)で71.0±84.0μg/g (Mean±S.D.), 転移リンパ節(n=6)で64.6±76.3μg/g, 肝転移巣(n=2)で94.5±20.5μg/g, 病巣より10cm離れた正常粘膜(n=15)で4.2±2.0μg/g, 良性疾患の正常粘膜(n=6)で2.7±0.5μg/g, 平滑筋肉腫(n=2)で0.3±0.2μg/gであった。癌病巣, 転移リンパ節, 肝転移巣の間ではt-CEAに有意差はなかったが, 癌病巣では正常粘膜に比べて有意

図2 血中値と組織CEA含量



にt-CEAが高値を示した(p<0.01) (図1)。また癌病巣より10cm離れた正常大腸粘膜では良性疾患の正常大腸粘膜に比べ有意にt-CEAが高く(p<0.02), 平滑筋肉腫では良性疾患の正常粘膜より更に低値を示した。

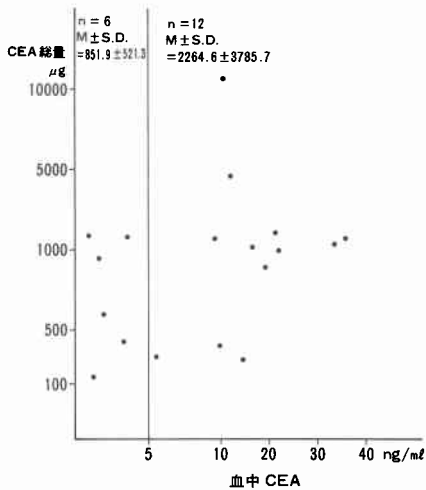
② 血中CEA値と組織CEA含量

遠隔転移のない大腸癌18例における血中CEA値(以下s-CEA)とt-CEAをみると, s-CEA陰性例(n=6)のt-CEAは28.2±16.1μg/gで, s-CEA陽性例(n=12)の73.2±74.2μg/gに比べて低い傾向があったが, 有意差はなかった(p<0.10) (図2)。

③ 血中CEA値と腫瘍内CEA総量

CEAが腫瘍内に均等に分布していると仮定して,

図3 血中値と腫瘍内 CEA 総量



t-CEA に腫瘍の横径と縦径 (cm) を乗じた値を腫瘍内 CEA 総量とした。s-CEA との関連を前記18例についてみると腫瘍内 CEA 総量は s-CEA 陰性例 (n=6) で $851.9 \pm 521.3 \mu\text{g}$ 、陽性例 (n=12) で $2264.6 \pm 3785.7 \mu\text{g}$ と両群間に有意差はみとめられなかった (図3)。

④ 癌の組織型と組織 CEA 含量

大腸癌25例について組織型別の t-CEA をみると、高分化腺癌 (n=11) で $87.0 \pm 82.4 \mu\text{g/g}$ 、中分化腺癌 (n=9) で $98.5 \pm 106.9 \mu\text{g/g}$ 、その他 (低分化腺癌1例、粘液癌3例、印環細胞癌1例) で $21.0 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ と、高分化腺癌と中分化腺癌の間では t-CEA に有意差はなかったが、高中分化腺癌に比べて分化度の低い癌では有意に低値を示した ($p < 0.01$)。

⑤ 脈管侵襲と組織 CEA 含量

大腸癌25例において脈管侵襲と t-CEA について検討した。リンパ管侵襲では ly_1 群 (n=9) で $40.1 \pm 21.1 \mu\text{g/g}$ と $ly_{2,3}$ 群 (n=16) の $88.4 \pm 100.8 \mu\text{g/g}$ に比べ t-CEA が少ない傾向があったが、有意差はなかった ($p < 0.10$)。静脈侵襲では V_1 群 (n=10) で $57.3 \pm 72.2 \mu\text{g/g}$ 、 $V_{2,3}$ 群 (n=15) で $80.2 \pm 92.3 \mu\text{g/g}$ と両群間に有意差はなかった。

⑥ Dukes 分類と組織 CEA 含量

Dukes 分類別にみた t-CEA は、Dukes A (n=3) で $42.3 \pm 29.3 \mu\text{g/g}$ 、Dukes B (n=7) で $37.2 \pm 20.3 \mu\text{g/g}$ 、Dukes C (n=8) で $82.5 \pm 90.5 \mu\text{g/g}$ 、Dukes D (n=7) で $104.0 \pm 121.6 \mu\text{g/g}$ で、リンパ節転移のある群で t-CEA が高値を示す傾向があったが、有意差はなかった ($p < 0.10$)。

⑦ 癌の占居部位と組織 CEA 含量

横行結腸の中央を境に右半結腸と左半結腸に分けると、t-CEA は右半結腸 (n=8) で $23.5 \pm 10.2 \mu\text{g/g}$ 、左半結腸 (n=17) で $93.4 \pm 94.2 \mu\text{g/g}$ と左半結腸で有意に高値を示した ($p < 0.01$)。

⑧ 癌の肉眼的形態と組織 CEA 含量

t-CEA は限局潰瘍型 (n=9) で $51.6 \pm 49.5 \mu\text{g/g}$ 、浸潤潰瘍型 (n=14) で $90.1 \pm 102.6 \mu\text{g/g}$ と両群間に有意差はなかった。

(II) CEA の免疫組織学的検索

ポリクローナル抗体 (以下 P 抗体) を使用した組織染色の場合には正常大腸粘膜上皮の管腔側でわずかに CEA が染色されるので、P 抗体による組織染色性を CEA の局在および染色程度により、(-): 染色されない、(±): 管腔側に正常粘膜程度の染色を認める、(+): 管腔側および細胞質全体に染色を認める、(++) : 細胞質全体が強染される、(+++) : 間質の一部にも染色を認める、の5段階に分類した (写真1-a, b, c)。なお管腔形成のない癌病巣では組織の染色程度から判定した。一方、今回使用したモノクローナル抗体 (以下 M 抗体) による組織染色では正常大腸粘膜は染色されず、一般に P 抗体に比べ染色程度は弱く、間質への CEA の出現もほとんどみられなかった。従って、M 抗体による染色性は (-): 染色されない、(±): 管腔側のみにわずかに染色を認める、(+): 管腔側および細胞質の一部に染色を認める、(++) : 染色程度が (+) より増強している、の4段階に分類した (写真2-a, b, c)。

① 癌の組織型と染色性

大腸癌73例、悪性非上皮性腫瘍3例についてみると、高分化腺癌と中分化腺癌ではいずれの抗体による染色でも染色性の差を認めなかったが、高中分化腺癌と分化度の低い癌と比較すると、P 抗体による染色では低分化腺癌、粘液癌、印環細胞癌、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌共に比較的強い染色性を示し、染色程度でみる限り高中分化腺癌との差は認められなかったのに対して、M 抗体による染色ではこれらの分化度の低い癌で染色性は高中分化腺癌に比べて明らかに低下していた。また、平滑筋肉腫、悪性リンパ腫ではいずれの抗体による染色でも CEA は陰性であった (表2, 3)。P 抗体による染色性と M 抗体による染色性を比較すると検定の結果、正の相関関係が認められた ($p < 0.01$)。

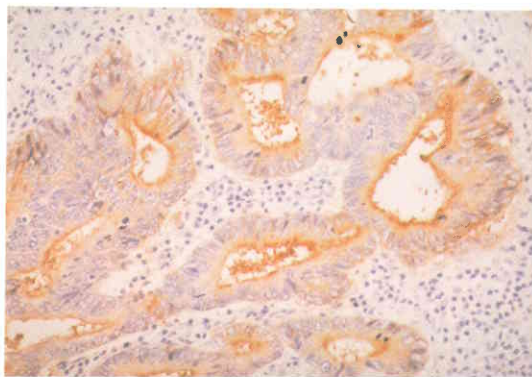
② 血中 CEA 値と染色性

写真1 ポリクローナル抗体によるCEA組織染色性
(×200)

a: (±) b: (+) c: (++)
1-a



1-b

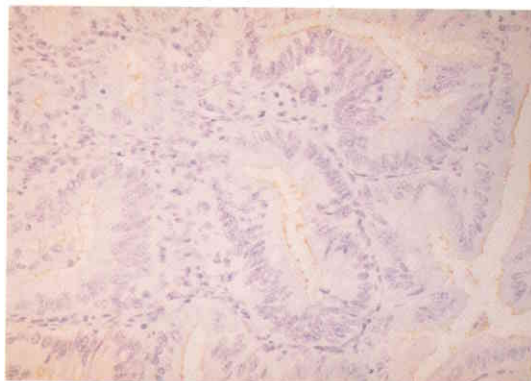


1-c

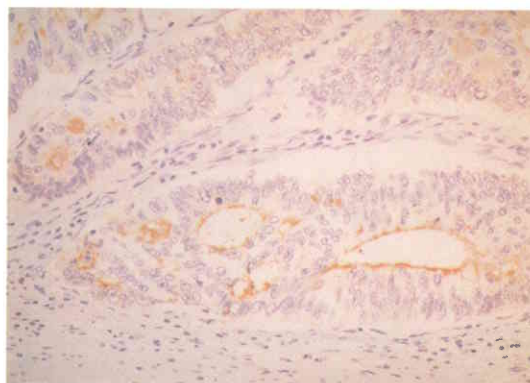


写真2 モノクローナル抗体によるCEA組織染色性
(×200)

a: (±) b: (+) c: (++)
2-a



2-b



2-c

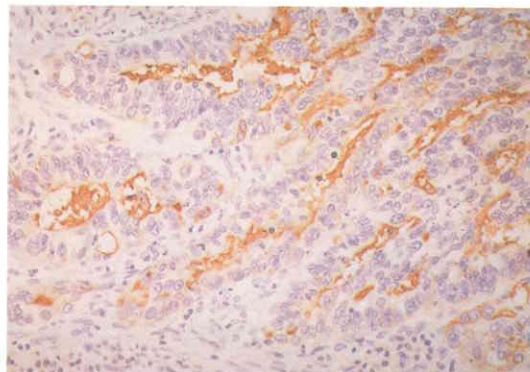


表2 組織型とポリクローナル抗体による染色性

組織型	染色性					計
	-	±	+	++	+++	
Well	0	6	12	9	11	38例
moderate	0	0	11	9	3	23
poor	0	0	0	1	0	1
mucinous	0	1	6	1	0	8
signet ring	0	0	0	1	0	1
squamous	0	0	0	1	0	1
adenosquamous	0	0	0	1	0	1
leiomyosarcoma	2	0	0	0	0	2
lymphoma	1	0	0	0	0	1
計	3	7	29	23	14	76

表3 組織型とモノクローナル抗体による染色性

組織型	染色性				計
	-	±	+	++	
Well	0	8	17	13	38例
moderate	0	5	9	9	23
poor	1	0	0	0	1
mucinous	6	2	0	0	8
signet ring	1	0	0	0	1
squamous	1	0	0	0	1
adenosquamous	0	1	0	0	1
leiomyosarcoma	2	0	0	0	2
lymphoma	1	0	0	0	1
計	12	16	26	22	76

遠隔転移のない大腸癌57例でP抗体による染色性とs-CEAをみると、(-)群(n=2)で1.0±0.1ng/ml、(±)群(n=6)で2.0±0.9ng/ml、(+)群(n=23)で5.0±5.2ng/ml、(++)群(n=17)で6.8±7.5ng/ml、(+++)群(n=9)で12.6±7.6ng/mlと(-)(±)群に比べ(+) (++) (++)群で有意にs-CEAが高値を示したが(p<0.01)、(+)群と(++)群、(++)群と(+++)群の間に有意差はなかった(図4)。M抗体による染色性との関連は(-)群(n=9)で2.2±1.1ng/ml、(±)群(n=12)で2.3±1.4ng/ml、(+)群(n=19)で6.2±7.6ng/ml、(++)群(n=17)で11.3±6.6ng/mlと(-)(±)群に比べ(+) (++)群で有意にs-CEAが高く(p<0.01)、(+)群と(++)群の間にも有意差(p<0.05)が認められた(図5)。

③ 脈管侵襲と染色性

脈管侵襲の判明している大腸癌症例のうち68例でP抗体による染色性を、56例の高中分化腺癌でM抗体による染色性を検討したが、リンパ管侵襲、静脈侵襲ともいずれの抗体にも関連は認められなかった。

④ Dukes分類と染色性

大腸癌症例のうち、P抗体による染色73例とM抗体による染色61例で癌の進行度と染色性との関連はいずれの抗体による染色でも認められなかった。

⑤ 癌の占居部位と染色性

前記のP抗体使用73例、M抗体使用61例での検討で

図4 血中値とポリクローナル抗体による染色性

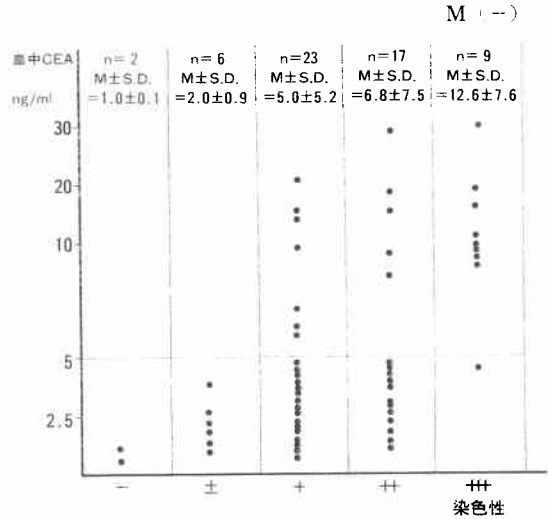
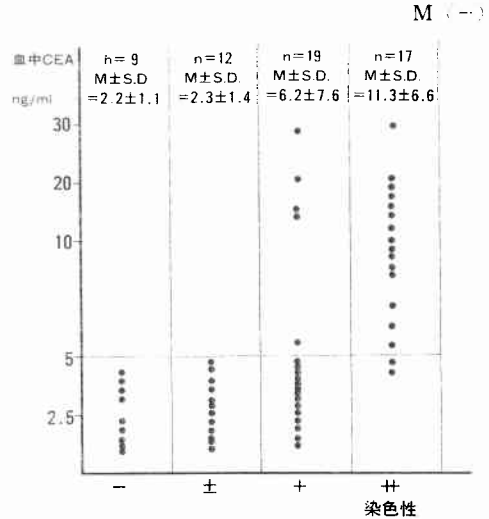


図5 血中値とモノクローナル抗体による染色性



占居部位と染色性との関連はいずれの抗体による染色でも認められなかった。

⑥ 転移巣と染色性

大腸癌症例のうち遠隔転移巣切除が行われた10例(肝転移3例、肺転移4例、脳転移2例、骨転移1例)を対象に原発巣と遠隔転移巣の染色性をみると、両抗体による染色共に転移巣では原発巣とほぼ同様のCEAの局在を示し、染色程度に若干の差を認めるのみであった。P抗体による染色では10例中8例までが原発巣に比べ転移巣でやや低い染色性を示したのに対し

表 4 転移巣と染色性

No.	原発部位	転移部位	術前値	ポリクローナル		モノクローナル		時期
				原発巣	転移巣	原発巣	転移巣	
1	S	肝	8.8	+	+	+	+	再発
2	T	肝	1.6	+	+	+	-	同時
3	R	肝	0.5	+	+	+	+	同時
4	A	肺	2.9	+	+	+	-	再発
5	S	肺	4.5	+	+	+	+	再発
6	S	肺	10	+	+	+	+	同時
7	S	肺	16	+	+	+	+	再発
8	C	肺	4.2	+	+	+	+	同時
9	S	肺	7.9	+	+	+	+	同時
10	S	骨	16	+	+	+	+	再発
11	T	リンパ節	440	+	+	+	+	同時
12	R	リンパ節	28	+	+	+	+	同時
13	C	リンパ節	5.2	+	+	-	-	同時
14	S	リンパ節	210	+	+	+	+	同時
15	R	リンパ節	4.5	+	+	+	+	同時

て、M抗体による染色では10例中5例にみとめられた。転移部位別にみても両抗体による染色ともにCEAの局在に変化はなく、原発巣と同時期の切除部位および再発巣の切除部位との比較でも染色性に差はなかった。次に原発巣とリンパ節転移との染色性を5例で比較したが、遠隔転移巣の染色性と同様に両抗体による染色共にCEAの局在の変化はなく、若干の染色程度の差を認めるのみであった(表4)。

⑦ 腺腫の染色性

6例の腺腫組織においてP抗体による染色では(±)が5例、(+)が1例、M抗体による染色では(-)が4例、(±)が1例で、両抗体による染色ともに癌病巣より低い染色性を示した。

⑧ 再発時血中CEA値陰性例の染色性

根治術後の再発例で、再発確認時にs-CEAが正常域にあった7例(局所再発4例、肝転移2例、肺転移1例)で原発巣の染色性を検討した。術前のs-CEAは2例の大腸癌によるイレウス症例を除き正常で、組織型は高分化腺癌3例、中分化腺癌2例、扁平上皮癌1例、腺扁平上皮癌1例であった。P抗体による染色では(++)が2例、(++)が4例、(+)が1例と今回検索された他の症例と染色性の差を認めなかったが、M抗体による染色では(-)が1例(扁平上皮癌)で残る6例も(±)と他の症例に比べ明らかに染色性の低下を認めた。

(III) 癌の組織型と血中CEA値

今回検索の対象とした大腸癌症例のうち遠隔転移のない55例でみると、s-CEAは高分化腺癌(n=30)で5.3±4.3ng/ml、中分化腺癌(n=18)で9.3±9.7ng/ml、粘液癌(n=4)で1.5±0.5ng/ml、低分化腺癌(n=1)で3.4ng/ml(Dukes B)、扁平上皮癌(n=1)で3.2ng/ml(Dukes C)、腺扁平上皮癌(n=1)で4.2ng/ml(Dukes C)で、高分化腺癌と中分化腺癌の間にs-CEA

の有意差はなく、高中分化腺癌に比べ粘液癌で有意にs-CEAが低かった(p<0.01)。

考 察

1965年GoldとFreedmannはヒト大腸癌抽出液中に2~6カ月齢胎児大腸と共通の特異的な物質を見出した。この物質は元来は胎児成分であり、細胞の癌化に伴いその合成が再開される癌胎児性蛋白の一つであるとして癌胎児性抗原carcinoembryonic antigen(CEA)と命名された³⁾。その後Krupeyら⁵⁾によりCEAが物理化学的には分子量約20万、β-globulinの易動度を有し、50%前後の糖を含む糖蛋白であることが解明された。当初CEAは消化器癌の特異抗原と考えられていたが、radioimmunoassayやenzymeimmunoassayの発達に伴い、CEAの消化器癌への特異性は否定され、消化器以外の癌や正常大腸粘膜にも存在することが明らかにされ、癌組織と正常組織の間にはCEAの質的というよりは量的な差が存在するにすぎないとの意見が大勢を占めるにいたっている。またCEA以外の物質でありながら抗CEA血清と交叉反応を示すCEA関連抗原の研究も進み、Von Kleistら⁶⁾により報告されたヒトの肺および脾臓に多量に含まれるnonspecific cross reacting antigen(NCA)にはじまり、胎便中よりNCA-2が⁷⁾、正常成人糞便中よりnormal fecal antigen(NFA)が⁸⁾、また正常ヒト胆汁中よりbiliary glycoprotein I(BGP-I)⁹⁾が発見された。これらの関連抗原のうち血中での存在が確認されているのはNCAであるが、現在血中CEA測定に使用されているキットはいずれも抗血清とstandard CEAの組み合わせに工夫がなられ、NCAでの吸収もされているためNCAの関与は無視できる程度と考えられている。

血中CEA値を規定する因子として最も関連が深いのは組織のCEAとされ、組織CEA含量が諸家により報告されている。癌病巣にCEAが多量に含まれていることは異論のないところで、正常粘膜の10倍¹⁰⁾、30倍¹¹⁾、44倍¹²⁾といった報告があるが、今回の検討では正常大腸粘膜の約17倍の値であった。また癌病巣に近い移行粘膜でそれより遠の正常粘膜よりCEA含量が高値を示すことも確認されている^{13)~15)}。本多¹⁴⁾は、大腸癌患者の正常大腸粘膜のCEA含量が非担癌大腸粘膜のそれに比べて有意に高かったと述べているが、この事実は今回の検討でも確認され、発癌機構を考えるうえで興味深い。Martinら¹⁶⁾は原発巣より転移巣でCEAの濃度が高いとしているが、今回の検討で肝転移巣で

は2例と少ないが原発巣と有意差はなく、また転移リンパ節のCEA含量も原発巣と有意差を認めなかった。Wagenerら¹⁷⁾は組織CEA含量 $30\mu\text{g/g}$ 以上を陽性として、血中CEA値と相関すると述べているが、多くの報告者はこれに否定的で、単位重量あたりの組織CEA含量は血中CEA値と相関しないとしている¹⁸⁾¹⁹⁾。一方、大腸癌全体の総CEA量が増加すると血中CEA値も増加するとの見解もある¹¹⁾¹²⁾¹⁸⁾。今回の検討で血中CEA陽性例では単位重量あたりのCEA含量が血中CEA陰性例より多い傾向にあったが、有意差はなく、また癌組織全体の総CEA量と血中CEA値の間に相関関係は認められなかった。癌の組織型とCEA含量について Rognumら¹⁵⁾は関連がないとし、小野¹²⁾は低分化腺癌のCEA含量は高分化腺癌より多いとしているが、分化度の高い癌でCEA含量が高値を示すとする意見が多いようである¹⁰⁾¹¹⁾。今回の検討でも高分化腺癌と中分化腺癌の間に有意差はなかったが、高中分化腺癌に比べて分化度の低い低分化腺癌、印環細胞癌では有意にCEA含量が低値を示した。また非上皮性腫瘍の平滑筋肉腫例では正常粘膜よりCEA含量が少なかった。脈管侵襲とCEA含量との関連についての記載はこれまで見当たらないが、今回の検討ではリンパ管侵襲の著明な群でCEA含量の多い傾向が認められたものの有意差はなく、また静脈侵襲との関連性は認められなかった。リンパ節転移との関連について小田桐ら¹⁹⁾はDukes C症例のCEA含量がA, Bより高値であったとしているが、今回の検討では小島ら¹⁸⁾の報告と同様にその傾向は認められたものの有意差はなかった。癌の発生部位との関連について小島ら¹⁸⁾は左半結腸、直腸、右半結腸の順に組織CEA含量および血中CEA値が高値を示したとしているが、今回の検討でも右半結腸に比べて左半結腸で有意にCEA含量が高値を示した。しかし今回対象とした症例では右半結腸に分化度の低い癌が集中しており、組織型を考慮にいれるとその差は少ないように思われる。肉眼的形態と組織CEA含量についての記載はないが、今回の検討では限局潰瘍型と浸潤潰瘍型の間に差を認めなかった。

大腸癌におけるCEAの免疫組織学的検索に関する報告はこれまでも多く見られるが、組織CEAの評価は染色程度を重視するもの^{20)~23)}と局在を重視するもの^{24)~26)}との2つに大きく分かれる。今回著者らは組織CEAの評価をCEAの局在に染色程度を加味した染色性で行った。黒木ら²⁵⁾が述べているように従来の

ポリクローナル抗体の問題点は、この抗体が顆粒白血球に多いNCAに対する抗体を多量に含み、またNCA-2, NFAとの関与も否定できない点である。今回使用したモノクローナル抗体はその特異性についてヒト胎児および成人の正常組織の免疫染色で検討した結果、胎児結腸組織では陽性を示したが空腸、回腸、胎便では全く陰性であり、また成人組織では肺、脾で陰性、さらに糞便でも陰性であった。すなわち、このモノクローナル抗体はNCA, NCA-2, NFAなどとは全く反応しないCEA特異抗体であると考えられた。ポリクローナル抗体については、モノクローナル抗体との比較の意味で、今回の検討では関連抗原による吸収を行わずに染色を行った。

酵素抗体法によるCEAの組織染色の報告は、そのほとんどが従来のポリクローナル抗体を使用し、脾臓粉末によるNCAの吸収を行ったものである。これらの報告のうち、癌の分化度と染色性の関連について、浜田ら²⁶⁾は正常大腸粘膜上皮の管腔側に非常に弱い染色性を認め、CEAは高分化腺癌では主として管腔側に局在するのに対し中分化腺癌では管腔側のみにとどまらず、basolateral plasma membraneや細胞質にもみられ、一部間質にも出現するようになるとしている。またDenkら²³⁾は高分化腺癌ではCEAが管腔側に多量に存在するが、その程度は分化度の低下につれて量的に減少し、ついに認められなくなると述べている。一般的には低分化腺癌や未分化癌では癌細胞はCEAを産生しないか、産生しても非常に微量であり、CEA染色は陰性のことが多いとする報告が多い。しかし、Pihlら²⁴⁾は癌組織の分化度とCEAの組織染色性とは関連がないとし、Auら²²⁾は低分化腺癌でも染色性を認めたとしている。また浜田ら²⁶⁾は粘液癌、印環細胞癌では組織CEAが陽性であったが、扁平上皮癌、悪性リンパ腫では陰性であったとし、Denkら²³⁾、Burtinら²⁷⁾は蛍光抗体法による検索で粘液癌にCEAを多量に認めたと報告している。今回の検討では両抗体ともに高分化腺癌と中分化腺癌では染色性の差を認めなかった。ポリクローナル抗体による組織染色では平滑筋肉腫、悪性リンパ腫を除き、癌ではすべてCEAが陽性であった。したがって、ポリクローナル抗体では関連抗原の影響で分化度に関係なく強い染色性が得られるものと考えられる。一方、モノクローナル抗体で検索すると高中分化腺癌ではすべて(±)以上の組織CEAの染色性が得られたのに対して、低分化腺癌、印環細胞癌、扁平上皮癌、平滑筋肉腫、悪性リンパ腫では組織

CEA が陰性であった。今回の検索でポリクローナル抗体による染色性とモノクローナル抗体による染色性との間に正の相関関係を確認した。このことは推測の域を出ないが、高中分化腺癌では関連抗原も CEA とほぼ同様の染色性を示すためではないかと考えられる。また分化度の低い癌ではポリクローナル抗体のみに染色性を認めることから、これらの癌病巣に存在するのは CEA ではなく、CEA 以外の関連抗原である可能性が強い。

血中 CEA 値と組織 CEA の染色性との関連については癌病巣における CEA の局在様式の変化が血中 CEA 値の上昇に関与しており、CEA の染色性の強弱よりも CEA の局在が重要といわれている。また癌の分化度の低下に伴って CEA の局在極性が変化、ときには喪失し、CEA が間質に出現して血中 CEA 値を上昇させるとの見解もある²⁶⁾。名倉ら²⁹⁾は細胞膜自体の物理化学的变化や極性の喪失により CEA が細胞膜より遊離しやすくなること、さらに腫瘍細胞自体が変性壊死に陥りやすくなり、その崩壊産物として血中に流入すること、などが血中値を上昇させる要因であると述べている。今回の検討においても CEA が管腔内側にとどまっている例で明らかな血中 CEA 値の低下を認めた。しかし、腫瘍間質への出現の有無による血中 CEA 値の差異は認められなかった。また細胞質内の染色程度の強弱に伴って血中 CEA 値に有意差を認め、CEA の局在とともに染色程度の強弱も血中 CEA 値を左右する因子と考えられた。

脈管侵襲と染色性とは関連があるとする報告がある²⁹⁾が、今回の検索では相関を認めなかった。また進行度と染色性については、関連があるとするもの²¹⁾²⁶⁾とないとするもの²⁴⁾があるが、今回の検討では進行度と染色性との間に相関を認めなかった。癌の発生部位と染色性に関する記載はこれまでにみられないが、正常粘膜、癌病巣部ともに部位による染色性の差はないようであった。

血中 CEA 値を上昇させる因子として転移巣の存在が関与していることは異論のないところである。Moore ら²⁹⁾は、肝転移巣では CEA が centrogranular pattern を呈さなくなり、血中に CEA が放出されやすくなっていると述べている。今回の検討では肝転移巣、肺転移巣、脳転移巣、骨転移巣、転移リンパ節について原発巣との染色性の差異について検討したが、転移巣ではその転移部位に関係なく CEA の局在は原発巣とほぼ同様で、染色程度にやや差を認める程

度であった。時期の異なった再発切除巣の組織染色も同様で、原発巣との染色性の差はほとんどなかった。このことより転移巣から特に CEA が放出されやすいという論理は否定され、転移を認める例で血中 CEA 値が高いのは、あくまでも腫瘍の絶対量が増えるためと考えられる。

腺腫の組織 CEA 染色に関して、Inssacson ら³⁰⁾は大腸の正常粘膜より腺腫に CEA が多く含まれるが、癌病巣よりも少ないとしている。著者らの見解もほぼ同様で、異型腺管の CEA の存在は大腸粘膜の悪性変化の一つの指標になりうると考えられる。高田ら³¹⁾は腺腫の異型度が高くなる程 CEA の染色性が強くなり、同一腺腫内に種々の異型度を示す部位が存在する場合は、それぞれの異型度に対応した CEA の染色がみられると報告している。

再発時に血中 CEA が陰性の例について著者らはすでに検討を加えているが²⁾、その組織 CEA の染色性についてみると、モノクローナル抗体による染色において高中分化腺癌ではすべて CEA は腺管腔内でわずかに染色されるのみで、明らかな染色性の低下が認められ、Livingstone ら³²⁾のいわゆる血中に CEA を放出する能力のない大腸癌と考えられる。このことから通常的高中分化腺癌で、進行度に比べ術前の血中値の低い症例では、癌病巣の CEA 染色性の低下が予想され、術後の血中 CEA 値の測定が再発の早期診断に役立つものと考えられる。このことは分化度の低い癌でも同様で、術後の経過観察の指標としての血中 CEA 値の値は低いものと思われる。

モノクローナル抗体による染色は関連抗原による吸収操作が全く不要で、背景因子を無視でき、酵素抗体法による染色において従来の CEA 抗体よりすぐれているといえる³³⁾。さらに血中 CEA 測定のキットが関連抗原の存在を無視できる程度に工夫して作られていることを考慮すると、血中 CEA 値を考える上でモノクローナル抗体による組織染色は非常に有用と思われる。実際、血中 CEA 値との相関性が良好な点、組織型による染色性の差が判然としている点、再発時血中 CEA 陰性例における染色性の低下が認められた点で、今回の検討でもモノクローナル抗体がポリクローナル抗体に比べてすぐれているとの結論に達した。

モノクローナル抗体を用いての血中 CEA 値の測定も試みられている。Hedin ら³⁴⁾、Blaszczyk ら³⁵⁾はモノクローナル抗体による血中 CEA 陽性率はポリクローナル抗体を用いた場合とほぼ同率だが、良性疾患およ

び他臓器癌での陽性率が低下し、結果的には大腸癌に対する特異性が向上したと述べ、米島ら³⁶⁾はモノクローナル抗体による血中CEA値とポリクローナル抗体による血中CEA値が良好な正の相関を示したとしている。モノクローナル抗体の出現で今後組織CEA、血中CEAの検索がさらに発展するものと考えられる。

まとめ

大腸癌73例を中心に組織CEA含量を定量し、同時に免疫組織学的な検討を加えて以下の知見を得た。

- ① 癌病巣の組織CEA含量は $71.0 \pm 84.0 \mu\text{g/g}$ で、正常粘膜 ($4.2 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$) の約17倍であった。
- ② 高分化腺癌と中分化腺癌では、組織CEA含量および染色性に差を認めず、血中CEA値にも有意差は認められなかった。
- ③ 高中分化腺癌に比べ分化度の低い癌では組織CEA含量が少なく、染色性も低下し、血中CEA値も低値を示した。
- ④ 高中分化腺癌で組織CEAの染色性が低下している例では血中CEA値が低く、経過観察の指標としてのCEAの値は低いと考えられた。

⑤ 原発巣と転移巣における組織CEA含量および染色性に差を認めなかった。

⑥ モノクローナル抗体によるCEAの免疫組織学的検索は血中CEA値との相関が良好な点、組織型による染色性の差が判然としている点、再発時血中CEA陰性例における染色性の低下が認められた点で従来のポリクローナル抗体よりすぐれていると考えられた。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜りました東京医科歯科大学医学部第2外科学教室、三島好雄教授、直接御指導いただいた日赤医療センター豊島宏副院長、藤原陸憲副部長に深謝いたします。

本論文の要旨の一部は第28回日本消化器外科学会総会(1986年7月青森)にて発表した。

文 献

- 1) 遠藤 健, 豊島 宏: 大腸癌における術前血漿CEA測定の意味—臨床及び病理学的所見との関連について—。臨外 39: 1293—1299, 1984
- 2) 遠藤 健, 豊島 宏: 大腸癌再発例における血中Carcinoembryonic antigenの推移および他の血液検査値との関連。日消外会誌 19: 773—778, 1986
- 3) Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. J Exp Med 121: 439

—462, 1965

- 4) Gold P, Freedman SO: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J Exp Med 122: 467—481, 1965
- 5) Krupey J, Gold P, Freedman SO: Physicochemical studies of the carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J Exp Med 128: 387—398, 1968
- 6) Von Kleist S, Chavanel G, Burtin P: Identification of an antigen from normal human tissue that crossreacts with the carcinoembryonic antigen. Proc Nat Acad Sci (USA) 69: 2492—2494, 1972
- 7) Burtin P, Chavanel G, Hirsch-Marie H: Characterization of a second normal antigen that crossreacts with CEA. J Immunol 111: 1926—1928, 1973
- 8) Matsuoka Y, Koga Y, Maruta H et al: Proteolytic release of antigenic fragments corresponding to normal fecal antigen and non specific cross reacting antigen from carcinoembryonic antigen. Int J Cancer 21: 604—610, 1978
- 9) Svenberg T: Carcinoembryonic antigen-like substances of human bile. Isolation and partial characterization. Int J Cancer 17: 588—596, 1976
- 10) 下山孝俊, 福田 豊, 伊藤重彦ほか: 大腸癌におけるCEAの臨床的評価—血中および組織内CEAからみた検討—。癌の臨 31: 648—654, 1985
- 11) 藤本 茂, 橋川征夫, 宮崎 勝ほか: 大腸癌における癌組織内CEAと糞便内、血中CEAの関連。癌と化療 6: 1245—1251, 1979
- 12) 小野成夫: 大腸癌組織におけるCEA, LDHおよびLDH isozymeに関する研究。日外会誌 84: 336—348, 1983
- 13) 古屋 正: 大腸癌における癌胎見性抗原の血漿濃度及び腫瘍内含量に関する臨床的研究。日本大腸肛門病会誌 35: 118—127, 1982
- 14) 本多栄一: 担癌大腸粘膜のCEA含量及び細胞核DNA量に関する研究。日本大腸肛門病会誌 38: 144—155, 1985
- 15) Rognum TO, Elgjo K, Brandtzaeg P: Plasma carcinoembryonic antigen concentrations and immunohistochemical patterns of epithelial marker antigens in patients with large bowel carcinoma. J Clin Pathol 35: 922—933, 1982
- 16) Martin F, Martin MS: Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in extracts of human colon and stomach. Int J Cancer 9: 641—647, 1972
- 17) Wagener C, Muller-Wallraf R, Nisson S et al: Localization and concentration of carcinoem-

- bryonic antigen (CEA) in gastrointestinal tumors correlation with CEA levels in plasma. *J Nath Cancer Inst* 62 : 539-541, 1981
- 18) 小島 治, 藤田佳宏, 栗本貴志ほか: 大腸癌における血清 CEA 上昇因子の分析—組織 CEA 濃度ならびに CEA の局在との関係. *日消外会誌* 16 : 911-915, 1983
 - 19) 小田桐恵美, 地曳和子, 篠崎初恵: 大腸癌患者における血中および組織中 CEA. *癌の臨* 30 : 1680-1685, 1984
 - 20) Goslin R, O'brien MJ, Steele G et al: Correlation of plasma CEA and CEA tissue staining in poorly differentiated colorectal cancer. *Am J Med* 71 : 246-253, 1981
 - 21) Midiri G, Amanti C, Benedetti M et al: CEA tissue staining in colorectal cancer patients—A way to improve the usefulness of serial serum CEA evaluation—. *Cancer* 55 : 2624-2629, 1985
 - 22) Au FC, Stein BS, Gennaro AR et al: Tissue CEA in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 27 : 16-18, 1984
 - 23) Denk H, Tappeiner G, Eckerstorfer R et al: Carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal and extragastrointestinal tumors and its relationship to tumor cell differentiation. *Int J Cancer* 10 : 262-272, 1972
 - 24) Pihl E, McNanghtan J, Ma J et al: Immunohistological patterns of carcinoembryonic antigen in colorectal carcinoma. Correlation with staging and blood levels. *Pathology* 12 : 7-13, 1980
 - 25) 黒木政秀, 松岡雄治: CEA の基礎. *医のあゆみ* 137 : 358-360, 1985
 - 26) 浜田吉則, 山村 学, 日置紘士郎ほか: 大腸癌組織内 CEA の免疫組織学的研究. —とくに CEA 値上昇因子について—. *日消外会誌* 17 : 1002-1009, 1984
 - 27) Burtin P, VonKleist SM, Sabine MC et al: Immunohistological localization of carcinoem-
 - bryonic antigen and nonspecific cross-reacting antigen in gastrointestinal normal and tumoral tissues. *Cancer Res* 33 : 3299-3305, 1973
 - 28) 名倉 宏, 塩田吉宣, 渡辺慶一: 消化器癌組織における CEA 局在の免疫電顕法による観察. *癌と治療* 10 : 595-600, 1983
 - 29) Moore TL, Kupchik HZ, Marcon PN et al: Carcinoembryonic antigen assay in cancer of the colon and pancreas and other digestive tract disorders. *Am J Dig Dis* 16 : 1-7, 1971
 - 30) Inssacson P, Le Vann HP: The demonstration of carcinoembryonic antigen in colorectal carcinoma and colonic polyps using an immunoperoxidase technique. *Cancer* 38 : 1348-1356, 1976
 - 31) 高田育明, 小平 進, 寺本龍生ほか: 大腸腫瘍の異型度と酵素抗体法による CEA 染色性. *消と免疫* 7 : 140-144, 1981
 - 32) Livingstone AS, Hampson LG, Shuster J et al: Carcinoembryonic antigen in the diagnosis and management of colorectal carcinoma. *Arch Surg* 109 : 259-264, 1974
 - 33) Lindgren J, Wahlström T, Bång B et al: Immunoperoxidase staining of carcinoembryonic antigen with monoclonal antibodies in adenocarcinoma of the colon. *Histochemistry* 74 : 223-227, 1982
 - 34) Hedin A, Hammarstron S, Larsson A: Specificities and binding properties eight monoclonal antibodies against carcinoembryonic antigen. *Mol Immunol* 19 : 1641-1648, 1982
 - 35) Blaszczyk M, Pak KY, Herlyn M et al: Characterization of gastrointestinal tumor-associated carcinoembronic antigen-related antigens derived by monoclonal antibodies. *Cancer Res* 44 : 245-253, 1984
 - 36) 米島 学, 澤武紀雄, 木谷 恒ほか: モノクローナル抗体を用いた血清 CEA 測定の有用性について. *癌の臨* 31 : 1311-1317, 1985