

Expression of Blood Group-related Carbohydrate Antigens in Malignant and Non-malignant Pancreatic Tissues and Their Clinicopathological Significance

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8124

膵癌における各種血液型関連シアル化糖鎖抗原の発現とその臨床病理学的意義に関する研究

金沢大学がん研究所内科学講座 (主任: 澤武紀雄教授)

里 村 吉 威

(平成1年5月15日受付)

血液型物質と関連し、末端にシアル酸を有する糖鎖抗原には膵癌の腫瘍マーカーとして期待されるものが多数開発されているが、それらの腫瘍マーカーとしての有用性については議論の多いところである。本研究では代表的なI型糖鎖である carbohydrate antigen (CA) 19-9 と CA-50, II型糖鎖である sialyl Lewis^x-haptan (SLEX) と sialyl stage specific embryonic antigen-1 (SLX) について膵癌42例および非癌膵組織 (正常膵13例, 慢性膵炎25例) における各々の発現を免疫組織学的に検索し、血液型物質とは無関係なシアル化糖鎖抗原である DU-PAN-2 と ST-439, さらにルイス抗原の発現とも比較し、これらの抗原の腫瘍マーカーとしての特徴とその臨床病理学的背景を明らかにしようとした。膵癌における各シアル化糖鎖抗原の発現は SLX (52.4%) 以外は80%以上と高率であった。一方、非癌膵組織では、I型糖鎖群は高率に発現しているが、SLXは染色されず、SLEXも一部に弱く染色されるにすぎなかったことより、II型糖鎖抗原の癌特異性は非常に高いと考えられた。また、ST-439もわずかに染色される程度で、同様に癌特異性に優れていた。膵癌における細胞内局在様式の検討では、I型糖鎖抗原群と DU-PAN-2 および ST-439 は腫瘍細胞の細胞質を中心に、II型糖鎖抗原群は腫瘍腺管の管腔側細胞膜を中心に染色されるものが多くみられた。一方、正常膵ではいずれのシアル化糖鎖抗原も腺管の管腔側細胞膜に染色がみられたが、慢性膵炎および癌に隣接した非癌部膵組織ではI型糖鎖抗原群と DU-PAN-2 は腺管細胞の細胞質にびまん性に染まるものが30~40%にみられた。I型糖鎖の CA19-9 と CA-50, II型糖鎖の SLEX と SLX の各々の発現の間には密接な相互関連性がみられたが、I型糖鎖群, II型糖鎖群, DU-PAN-2 および ST-439 のそれぞれの発現の間には特定の関連性は認められなかった。また、膵癌の組織型と各抗原の発現頻度や染色パターンにも特定の関連性はみられなかった。ルイス抗原と各I型糖鎖抗原相互の発現関係からみると、CA-50はルイス抗原の有無と無関係に発現していたが、Lewis^a (Le^a), Lewis^b (Le^b) の少なくとも一方が陰性であった5例中4例では CA19-9 は陰性で、他の一例でもその発現は弱く、CA19-9の発現はルイス抗原の有無に影響されると考えられた。膵癌患者血清中の糖鎖抗原値と細胞内局在パターンとの関連をみると、著しく局在極性が乱れ間質に遊離した抗原が染色された stromal stain を呈する例ではいずれも高い血清糖鎖抗原値がみられ、これが血清値上昇にかかわる重要な因子の一つであると推察された。

Key words 膵癌, 血液型関連抗原, シアル化糖鎖抗原, モノクローナル抗体, 免疫組織化学

Abbreviations: ABC, avidin-biotin-peroxidase complex; Ab, antibody; CA, carbohydrate antigen; DAB, 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride; Fuc, fucose; Gal, galactose; Glc, glucose; GlcNAc, N-acetyl glucosamine; HE, hematoxylin and eosin; Le^a, Lewis^a; Le^b, Lewis^b; Le^x, Lewis^x; NeuAc, neuraminic acid; SLEX, sialyl Lewis^x-haptan; SLX, sialyl stage specific embryonic antigen-1

従来、膵癌の腫瘍マーカーとしては CEA 以外に有力なものはないといっても過言でない。しかし、近年、ハイブリドマ技法の確立により¹⁾、免疫原性の弱い糖鎖部分を認識できる力価の高いモノクローナル抗体を得ることが可能になった。そして、各種の腺癌細胞を免疫原として得られたモノクローナル抗体によって検出される血清腫瘍マーカーは、carbohydrate antigen (CA) 19-9²⁾を初めとして多くの場合膵癌で最も高い陽性率を示している。しかも、エピトープの糖鎖構造が判明しているものは血液型物質と関連した構造を有し³⁾、末端にシアル酸を有する場合が多い。また、I 型糖鎖に属するこの種の抗原の発現に関しては、正常ヒトの遺伝形質であるルイス抗原の有無との関連においても議論の多いところである。このようなシアル化糖鎖抗原には、CA19-9 のように、すでに有用性が高く評価され、臨床的に普及しているものから、臨床の評価のみならず臨床病理学的な背景が十分に検討されていないものまで様々なものが含まれている。さらに、膵癌の腫瘍マーカーとして期待される種々の腺癌関連シアル化糖鎖抗原をいかに使い分けるかは、診断効率のみならず、経済効率の面からも重要な問題である。

このような問題の一端を解明しようとして、本研究では、腺癌を免疫原として得られたモノクローナル抗体により認識され、膵癌の血清腫瘍マーカーとして有用性の期待されるシアル化糖鎖抗原のうち、代表的な I 型血液型糖鎖である CA19-9²⁾と CA-50⁴⁾、同様な II 型糖鎖である sialyl Lewis^x-haptan (SLEX)⁵⁾と sialyl stage specific embryonic antigen-1 (SLX)⁶⁾について、血液型物質とは無関係な DU-PAN-2⁷⁾と ST-439⁸⁾やルイス抗原とも比較しながら、膵癌および非膵癌組織における各々の発現を免疫組織化学的に検索した。各抗原の発現範囲とその細胞内局在様式からそれぞれの抗原の膵癌における発現の特徴および相互関連性を比較検討するとともに、I 型糖鎖抗原については、遺伝形質であるルイス抗原の発現との相互関係を検索し、ルイス抗原の CA19-9、CA-50 発現に及ぼす影響を検討した。さらに、各抗原の血清値と組織発現との関係を検討し、血清値上昇の免疫組織学的背景についても明らかにしようとした。

対象および方法

I. 対 象

手術または剖検により得られた膵癌42例、慢性膵炎25例、正常膵13例を対象とした。正常膵は膵以外の疾患にて手術ないし剖検された時に得られたもので、病

理組織学的に膵障害の所見のないものを用いた。膵癌は病理組織学的にはいずれも膵管癌であり、乳頭腺癌6例、高分化型管状腺癌24例、中分化型8例、低分化型4例である。得られた材料は10%緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋した後、パラフィンブロックより4 μ mの連続薄切切片を作製した。また、膵癌14例において術前または生前に得られた血清中の各種シアル化糖鎖抗原値を測定した。

II. 免疫組織化学的染色法

連続切片の一枚に Hematoxylin-Eosin (HE) 染色を行い、隣接切片には表1に示す各種モノクローナル抗体を用いた間接酵素抗体法 (avidin-biotin-peroxidase complex method, ABC 法) で免疫組織化学染色を行った。使用したモノクローナル抗体はいずれもマウス由来で、NS19-9 (Centocor, Malvern, U.S.A.), C-50 (三井製薬, 東京), CSLEX-1 (ミドリ十字, 東京), FH-6 (大塚アッセイ, 徳島), DU-PAN-2 抗体 (協和メデックス, 東京), ST-439 抗体 (日本化薬, 東京), anti-Lewis^a (Chembiomet, Edmonton, Canada), anti-Lewis^b (Chembiomet) である。

ABC 法は ABC キット (Vector, Burlingame, U.S.A.) を用い、以下の如く行った。まず、各薄切切片を脱パラしたのち、0.1%過酸化水素水を加えた100%メタノール中で20分間反応させ、内因性ペルオキシダーゼを除去した。20倍希釈した未感作正常ヤギ血清に20分間浸漬し非特異的結合を防止したのち、300倍希釈 (NS19-9, C-50, CSLEX-1, DU-PAN-2, ST-439) または5倍希釈 (FH-6) した一次抗体を切片に滴下し、60分間反応させた。二次抗体としてビオチン標識抗マウス IgG または IgM ヤギ血清 (100倍希釈) と30分間反応させた後、ABC 液と30分間反応させた。つづいて、0.005%過酸化水素水含有0.2mg/ml DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, SIGMA, St. Louis, U.S.A.) に3分間浸漬して発色させ、1%メチルグリーン溶液にて核染色したのち、脱水封入した。なお各反応ステップには、0.05M pH7.6トリス塩酸緩衝液 (Tris, hydroxymethyl aminomethan, SIGMA) にて5分間3回の洗浄を行った。また、陰性対照として正常マウス血清 (500倍希釈) を一次抗体のかわりに使用した。

III. 血清シアル化糖鎖抗原値の測定

採血後-70°Cで凍結保存しておいた膵癌患者の術前または生前の血清を用いた。各種シアル化糖鎖抗原値の測定法およびカットオフ値は、CA19-9 (サンドイッチ EIA 法, 東レフジバイオニクス, 東京), 37U/ml; CA-50 (サンドイッチ EIA 法, 三井製薬), 40U/ml;

検討した。染色範囲は、肺癌では癌部の 2/3 以上に染色がみられるものを、(+++), 1/3 以上 2/3 未満に染色がみられるものを(++), 1/3 未満に染色がみられるものを(+), 染色がみられないものを(-)とし、慢性肺炎および正常肺ではそれぞれ該当する組織における陽性範囲について癌の場合と同様に(-)から

IV. 判 定

染色性は陽性域の範囲と細胞内染色パターンにより

Table 1. Structures of carbohydrate antigens defined by specific monoclonal antibodies

carbohydrate antigen	structure	monoclonal antibody	(isotype)
CA19-9	$ \begin{array}{c} \text{Gal } \beta 1 - 3\text{GlcNAc } \beta 1-4\text{Gal} \\ \quad \quad \quad 3 \quad \quad \quad 4 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{NeuAc } \alpha 2 \quad \quad \quad \text{Fuc } \alpha 1 \end{array} $	NS19-9	(IgG ₁)
CA-50	$ \begin{array}{c} \text{Gal } \beta 1 - 3\text{GlcNAc } \beta 1-4\text{Gal} \\ \quad \quad \quad 3 \\ \quad \quad \quad \\ \text{NeuAc } \alpha 2 \end{array} $	C-50	(IgM)
SLEX	$ \begin{array}{c} \text{Gal } \beta 1 - 4\text{GlcNAc } \beta 1-3\text{Gal} \\ \quad \quad \quad 3 \quad \quad \quad 3 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{NeuAc } \alpha 2 \quad \quad \quad \text{Fuc } \alpha 1 \end{array} $	CSLEX-1	(IgM)
SLX	$ \begin{array}{c} \text{Gal } \beta 1 - 4\text{GlcNAc } \beta 1 - 3\text{Gal } \beta 1 - 4\text{GlcNAc} \\ \quad \quad \quad 3 \quad \quad \quad 3 \quad \quad \quad 3 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{NeuAc } \alpha 2 \quad \quad \quad \text{Fuc } \alpha 1 \quad \quad \quad \text{Fuc } \alpha 1 \end{array} $	FH-6	(IgM)
DUPAN-2	NeuAc — ?	DUPAN-2-Ab	(IgM)
ST-439	NeuAc — ?	ST439-Ab	(IgM)
Le ^a	$ \begin{array}{c} \text{Gal } \beta 1 - 3\text{GlcNAc } \beta 1 - 4\text{Gal} \\ \quad \quad \quad \quad \quad 4 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \quad \quad \text{Fuc } \alpha 1 \end{array} $	anti-Le ^a	(IgM)
Le ^b	$ \begin{array}{c} \text{Gal } \beta 1 - 3\text{GlcNAc } \beta 1 - 4\text{Gal} \\ \quad \quad \quad 2 \quad \quad \quad 4 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{Fuc } \alpha 1 \quad \quad \quad \text{Fuc } \alpha 1 \end{array} $	anti-Le ^b	(IgM)

(+++)に分けた。細胞内染色パターンは糖鎖抗原の細胞における局在を表していると考え、染色パターンを以下のごとく分類した。腫瘍腺管の管腔側細胞膜が染色され糖鎖抗原の局在極性が保たれていると考えられるものを apical type, 腫瘍細胞の細胞質がびまん性に染色され局在極性が失われていると考えられるものを cytoplasmic type, また細胞質のびまん性染色に加え管腔側細胞膜が強く染色され上記の二つのタイプの中間の性格をもつと考えられるものを apical and cytoplasmic type とした。さらに、腫瘍で産生された抗原が極性の乱れをきたし、ついには間質へ逸脱したと考えられる腫瘍腺管周囲の間質の染色 (stromal stain) についても検討した。非癌膵組織についても癌部と同様に染色パターンを検討した。

V. 統計学的検討

血清抗原値の群間の差の検定は分散分析後、Duncan の多重比較にて行い、危険率 5 %未満をもって有意差ありとした。

成 績

I. 非癌膵組織における各種シアル化糖鎖抗原の発現

正常膵、慢性膵炎および癌に隣接した非癌部膵における糖鎖抗原発現の陽性率と染色範囲を図 1 に示す。正常膵では、I 型糖鎖に属する CA19-9 や CA-50 の陽性率は高く、それぞれ 76.9%、92.3% に染色が見られたが、(++) 以上の染色を呈したものは CA19-9 では 13 例中わずかに 2 例であったのに対し、CA-50 では 11

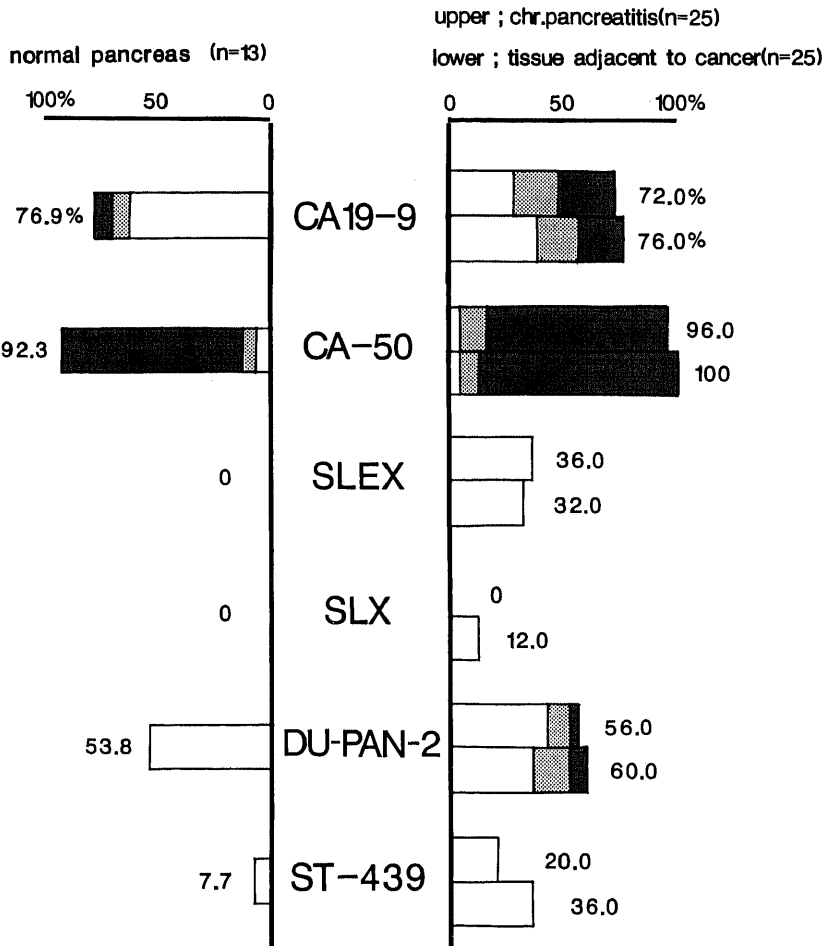


Fig. 1. Expression of various sialylated carbohydrate antigens in the tissues of normal pancreas and chronic pancreatitis. Grade of staining; □ +~1/3, ▨ +1/3~2/3, ■ ++ +2/3~.

例にみられ、広範に染色されるものが多かった。II型糖鎖に属する SLEX, SLX は全く染色されず, ST-439 も1例でごく狭い範囲に染色されるにすぎなかった。DU-PAN-2 の陽性率は53.8%と上記の2群の中間にあったが、いずれも(+)であり広範な染色を呈するものは見られなかった。

慢性膵炎では、CA19-9, CA-50 および DU-PAN-2 の陽性率は各々の正常膵の場合と大差はなかったが、染色範囲からみると CA19-9, DU-PAN-2 は正常膵に比較して広範に染色されるものが多く見られた。一方、SLX は正常膵においてと同様に全く染色されず、ST-439 や SLEX はそれぞれ20%、36%が陽性を呈したが、いずれもごく限られた範囲に弱い染色が見られるにすぎなかった。非癌部膵における各糖鎖抗原の陽性

率、染色範囲は図1に示すように慢性膵炎におけるそれらとほぼ同様であった。

次に、各シアル化糖鎖抗原の細胞内局在パターンを検討した(図2)。正常膵では、いずれの糖鎖抗原も apical type の局在様式を呈していた。CA19-9, DU-PAN-2 は小葉内膵管から介在部にかけての小膵管を中心に、小葉間膵管以上の大きな膵管や一部腺房中心細胞にも発現しており、膵管上皮細胞では管腔側細胞膜に染色が見られた(図3A)。CA-50 は腺房中心細胞、末梢膵管から主膵管にいたる膵管系に広く分布しており(図3B)、膵管上皮では CA19-9 と同様に管腔側細胞膜が染色されていた。前述したように、SLEX, SLX の発現は見られず、ST-439 は一例に末梢膵管上皮の管腔側に弱い染色がみられたが、他は全例が陰性

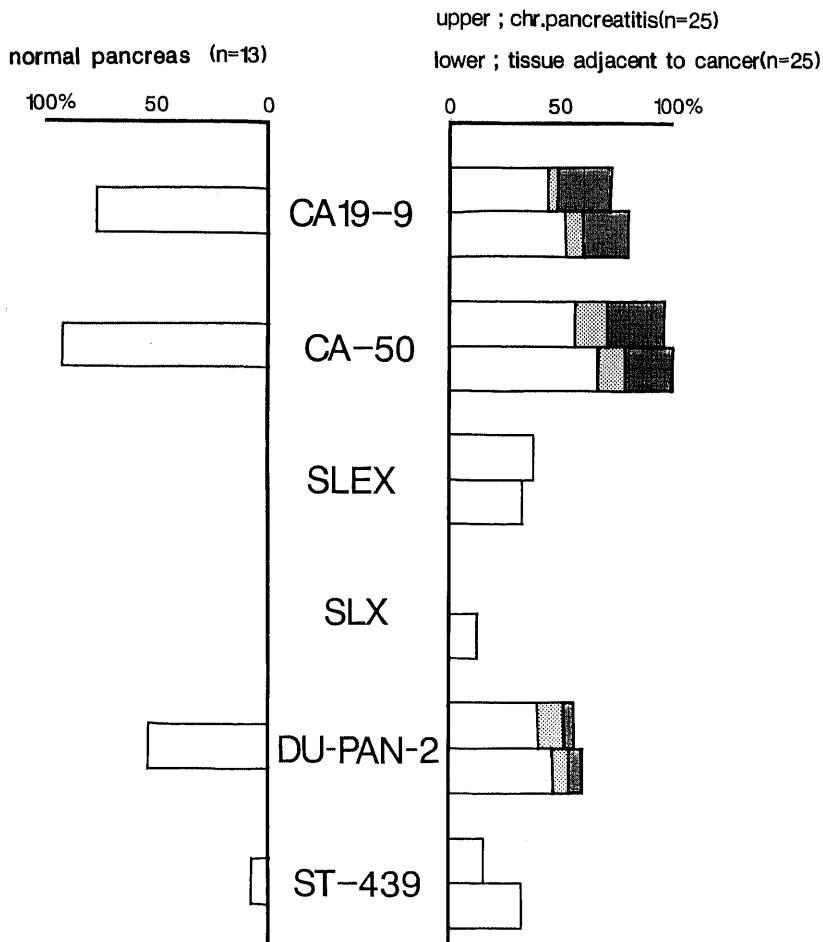


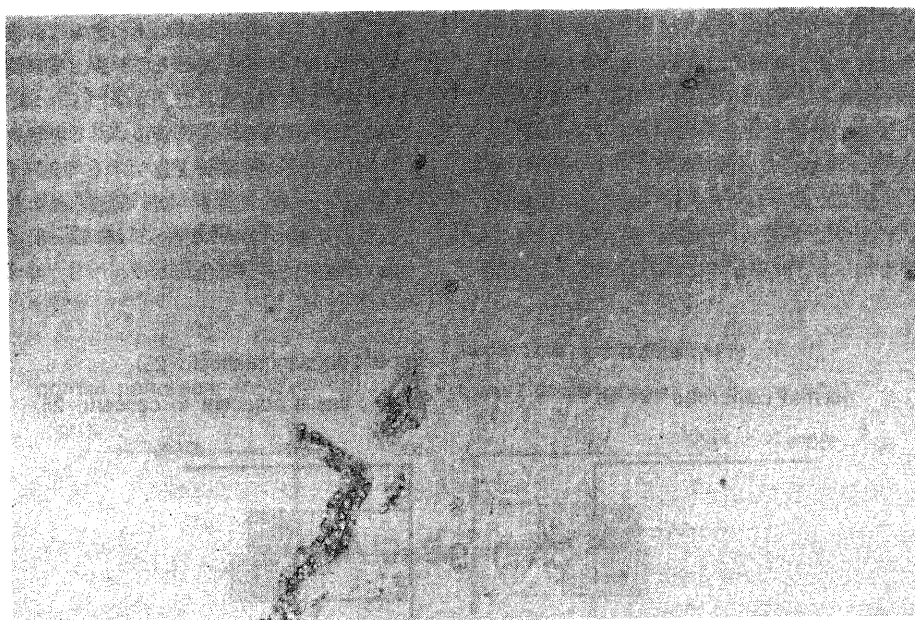
Fig. 2. Cellular localization of various sialylated carbohydrate antigens in non-malignant pancreatic tissue. Cellular localization pattern; □ apical type, ▨ apical+cytoplasmic type, ■ cytoplasmic type.

であった。

慢性膵炎では、図2に示したようにいずれの糖鎖抗原においても正常膵と同様に apical type の局在を呈するものが多かったが、CA19-9、CA-50 および

DU-PAN-2 では apical and cytoplasmic type や cytoplasmic type を呈するものがそれぞれ陽性例の 39%、42%、29%にみられた。このような細胞内局在パターンは広範な染色を呈する例のみならず比較的狭

A



B

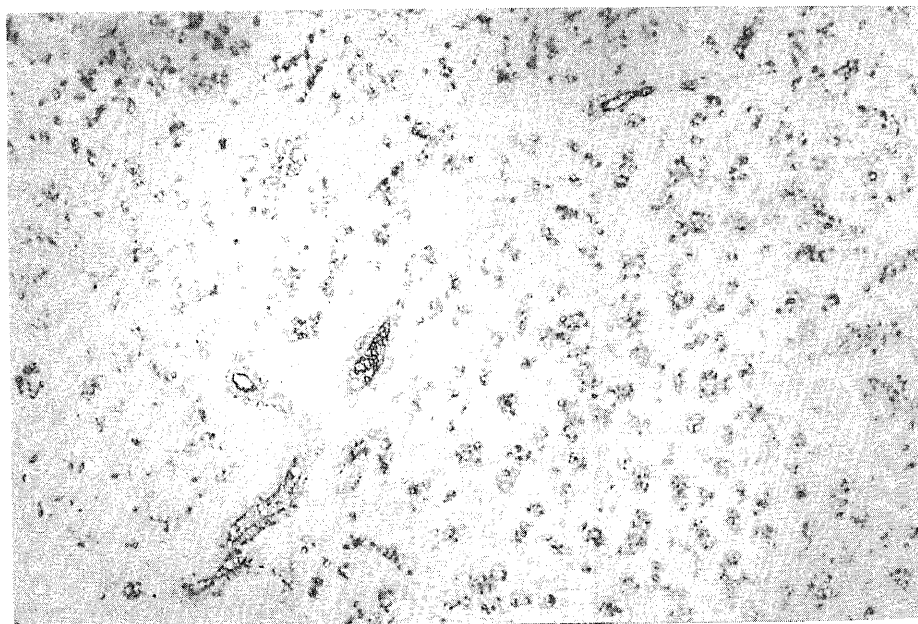
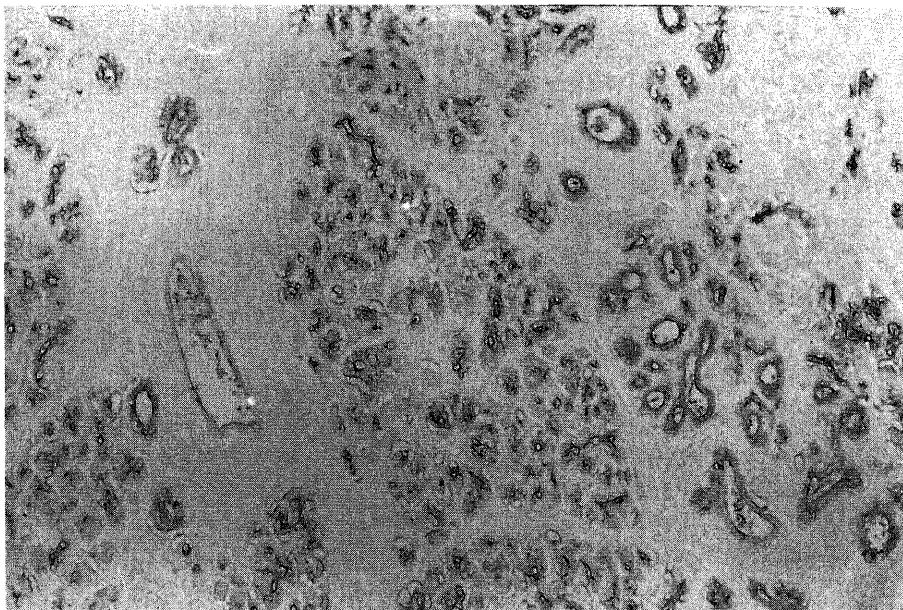


Fig. 3. Expression of CA19-9(A) and CA-50(B) in normal pancreatic tissue. CA19-9(A) is present on the apical membranes of ducts and ductules. CA-50(B) is present on apical membranes of not only ductal cells but also centroacinar cells. ($\times 50$).

い範囲に染色がみられる例においても観察され、特に、膵小葉の破壊に伴い増生、集簇した小膵管の部位に多く認められた(図4A, B, D)。正常膵ではほとんど発現が見られなかった SLEX, ST-439 は散発的に一部の症例で末梢膵管の管腔側細胞膜が染色されていたが(図4C, E), SLX の染色されるものは認められなかった。

癌部に隣接した非癌部膵における各シアル化糖鎖抗原の発現は慢性膵炎におけるそれらと類似しており、膵管上皮の管腔側に染色されるもの(apical type)が最も多かったが、CA19-9, CA-50 および DU-PAN-2 では膵管上皮細胞の細胞質や基底膜にも局在が観察されるもの(apical and cytoplasmic type, cytoplasmic type)が、それぞれ染色陽性例の35%, 36%, 27%みら

A



B

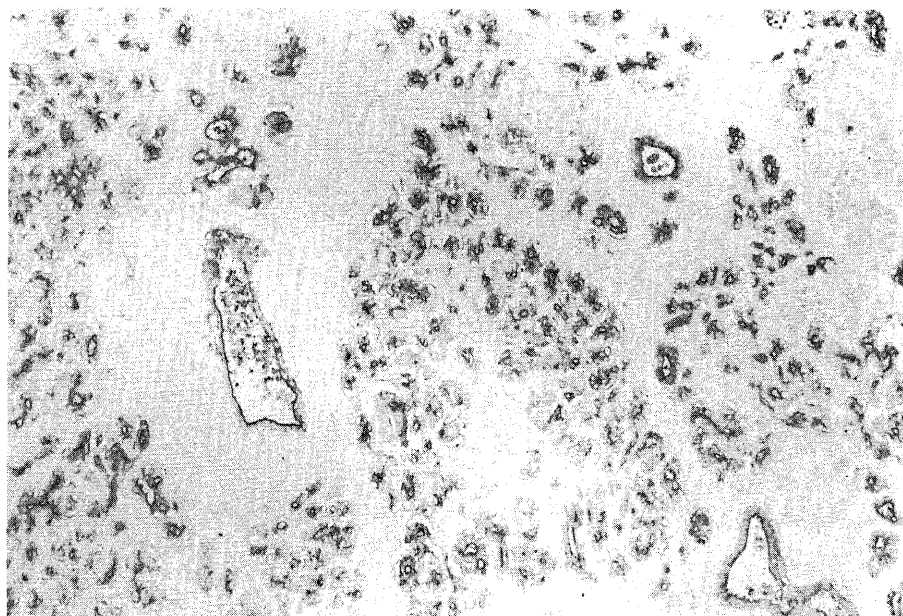


Fig. 4

れた。

なお、腺房細胞および島細胞にはいずれの糖鎖抗原も発現が見られなかった。

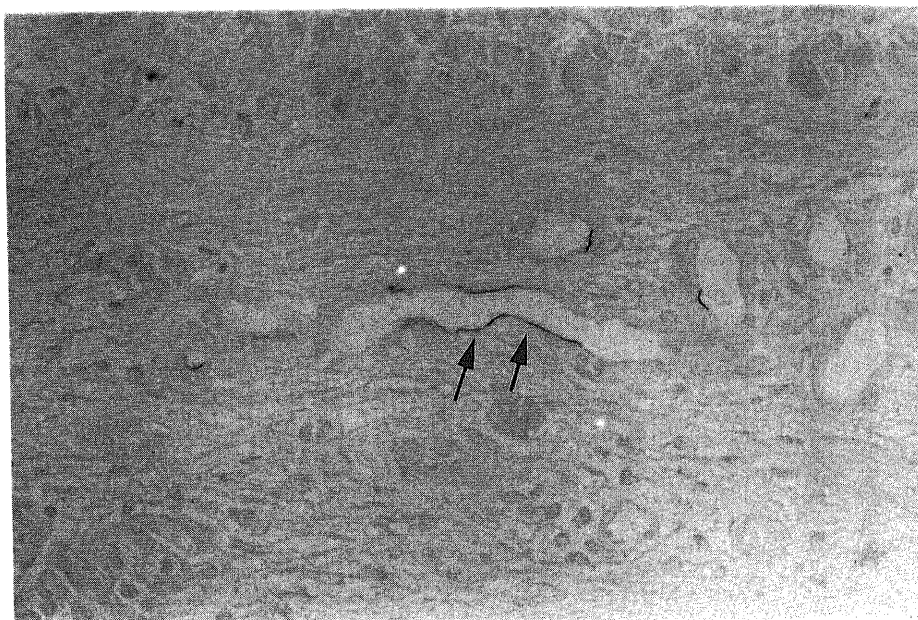
II. 膵癌組織における各種シアル化糖鎖抗原の発現

膵癌組織における各糖鎖抗原の陽性率と染色範囲をみると(図5), SLXを除く他の5種の抗原はいずれも80%以上の高い陽性率を示し、しかも(++)以上の広

範な染色を呈するものが多くみられた。しかし、SLXの陽性率は同じII型糖鎖であるSLEXと異なり52.4%と比較的低く、しかも半数以上が(+)で、狭い範囲に染色されるものが多かった。

図6に各シアル化糖鎖抗原の染色像を示す。膵癌組織における各糖鎖抗原の細胞内局在をみると、図7に示すごとくI型糖鎖であるCA19-9, CA-50や

C



D

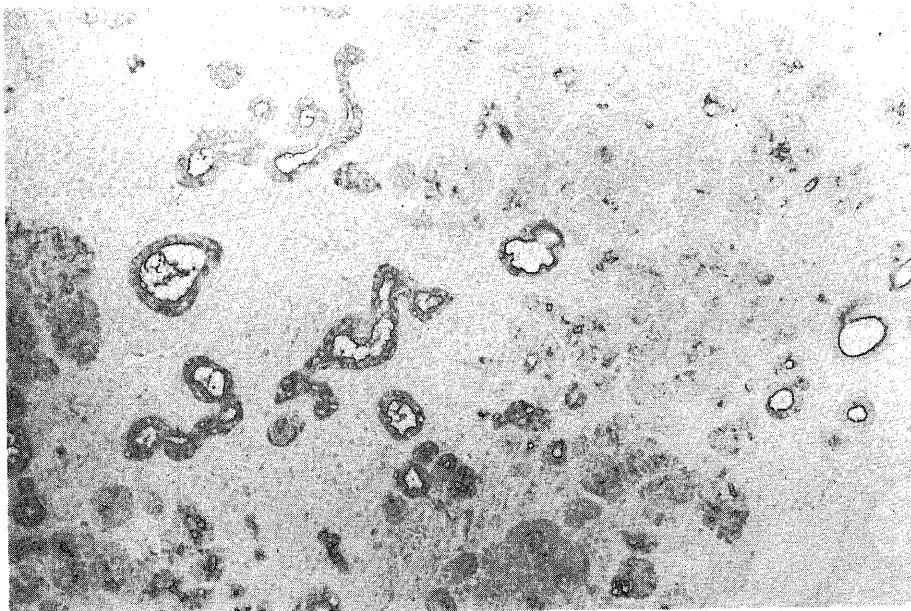


Fig. 4

DU-PAN-2, ST-439 は腫瘍腺管を構成する細胞の管腔側細胞膜のみならず細胞質もびまん性に染色される場合が多く、それぞれの染色陽性例の80%以上が apical and cytoplasmic type や cytoplasmic type を呈していた。さらに、周囲の間質の染色 (stromal stain) が、各抗原の染色陽性例のそれぞれ57%, 56%, 47%, 44%にみられ、これらの糖鎖抗原では、細胞内局在極性の乱れた染色像が一般的であった (図6A, B, E, F)。これに対して、SLEX, SLX では管腔側細胞膜およびその付近の細胞質に染色がみられる場合が多く (図6C, D)、陽性例のそれぞれ41%, 40%に apical type がみられた。また、stromal stain を呈するものも染色陽性例の29%, 9%と少なく、これらのII型糖鎖抗原群では、他の4種の糖鎖抗原に比べて細胞内局在極性の保たれる傾向がみられた。

III. 膵癌組織における各種シアル化糖鎖抗原の発現の相互関連性および膵癌の組織型との関係

表2に各種シアル化糖鎖抗原の発現範囲と細胞内局在パターンを膵癌の組織型別に示した。まず、I型糖鎖抗原に属する CA19-9 と CA-50 の発現の関連をみると、CA19-9 は3例 (症例24, 25, 38) を除いていずれも CA-50 の染色された範囲内に発現しており (図

8A, B)、細胞内局在パターンも類似していた。II型糖鎖抗原である SLEX と SLX についても同様に検討すると、SLX は全例において SLEX の陽性範囲にのみ発現し、類似した細胞内局在を呈していた。このように、エピトープの構造が似ているI型糖鎖の CA19-9 と CA-50, II型糖鎖に属する SLEX と SLX のそれぞれの間には組織発現においても密接な関連性が認められた。

上述したように CA19-9 と CA-50, SLEX と SLX の相互の場合は別として、他の抗原間ではそれぞれが異なった部位に発現している場合も多く、これらの抗原相互間では無関係に発現していた。膵癌42例中16例には6種すべてのシアル化糖鎖抗原が発現していたが、残りの26例においては、ある糖鎖抗原が陰性であっても他の糖鎖抗原の少なくとも一つは発現しており、いずれも陰性という例は認められなかった。

次に、膵癌の組織型との関連をみると (表2)、各糖鎖抗原の発現率および発現範囲は乳頭腺癌から低分化型管状腺癌までほぼ同じであり、分化度による差異は認められなかった。また、細胞内局在は表3に示すように、CA19-9 では分化度が低くなるにつれて apical type が減少し、cytoplasmic type が増える傾向がみ

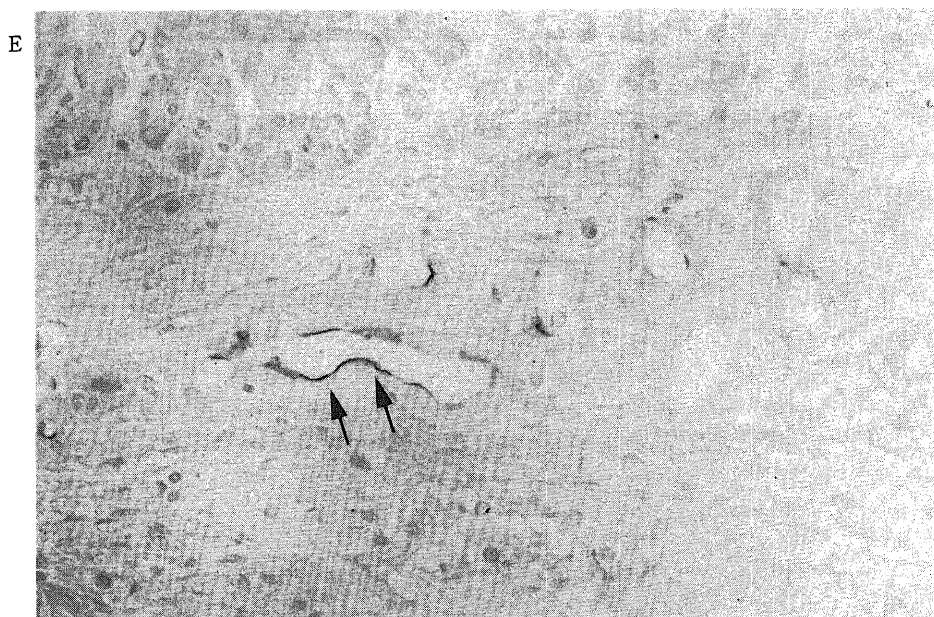


Fig. 4. Expression of CA19-9(A), CA-50(B), SLEX(C), DU-PAN-2(D) and ST-439(E) in tissue of chronic pancreatitis. Staining of CA19-9(A), CA-50(B) and DU-PAN-2(D) are seen in the cytoplasm as well as on the apical surface of ductal cells. ($\times 50$) SLEX(C) and ST-439(E) are faintly stained on the apical surface of ductal cells (arrow). ($\times 100$).

られたが、明らかな差はなく、他の5種の糖鎖抗原においても分化度と局在パターンの間に関連性はみられなかった。

IV. 膵癌組織における各種I型糖鎖抗原発現の相互関連性

膵癌および癌に隣接した非癌部膵においてCA19-9, CA-50に加えてLe^a, Le^bの発現を検討した成績の一覧を表4に示す。非癌部について検索しえたものは25例であったがLe^a, Le^bおよびCA-50はほとんどの例で広範に発現していた。しかし、CA19-9は25例中19例にしか発現がみられず、そのうち10例は(+)と比較的狭い範囲に局限していた。

癌部では、一般にLe^a, Le^bはシアル化I型糖鎖のCA19-9やCA-50と同様に広範に発現するものが多くみられた。同一抗原の癌部と非癌部における発現を対比すると、Le^a, Le^bおよびCA-50では両者がほぼ同等の発現を呈するものが多かった。ただし、CA-50は1例(症例33)で癌部の発現が増強していたが、2例(症例9, 11)で癌部における発現が明らかに減弱しており、Le^aもこの2例で癌部の発現が減弱していた。また、Le^bは1例(症例9)で癌部における抗原の消失を認めた。一方、CA19-9では非癌部においてより広範に発現するものではなく、非癌部では発現がみられないが癌部で明らかに染色されるものが3例、非癌部より

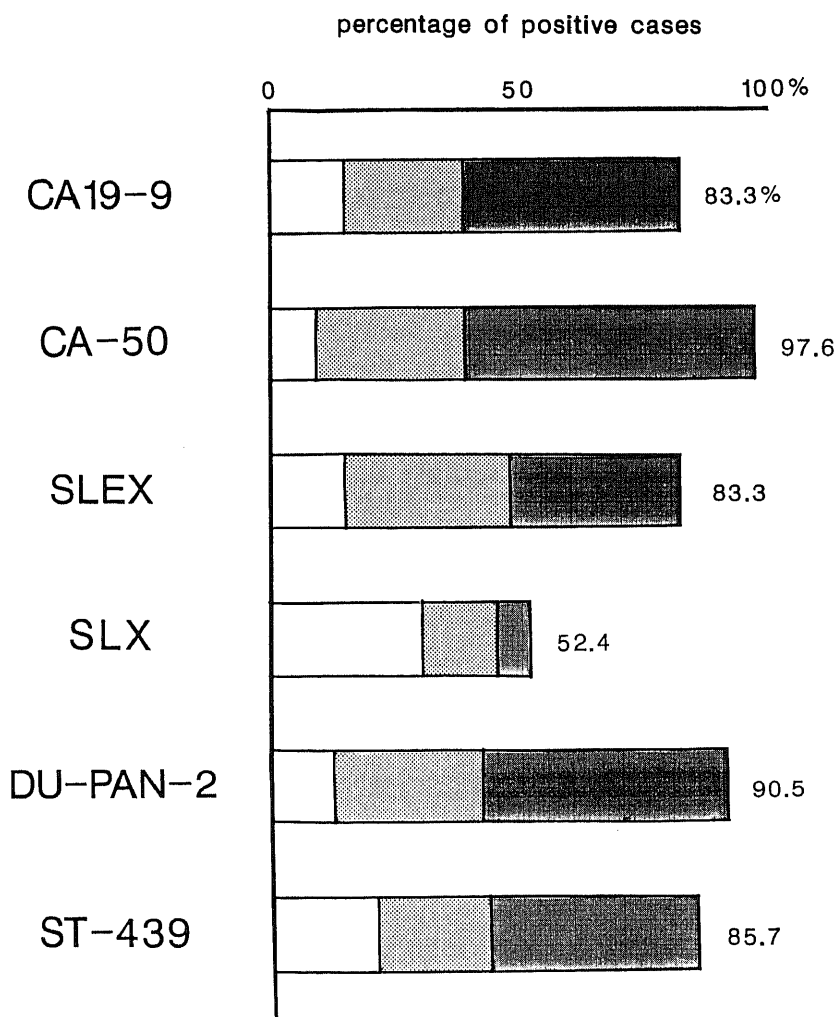


Fig. 5. Expression of various carbohydrate antigens in pancreatic cancer tissue. Grade of staining; □ +~1/3, ▨ ++1/3~2/3, ■ +++ 2/3~.

癌部で広範に染色されるものは11例に認められた。このように、CA19-9は癌部でより広範に発現していた。

非癌部におけるルイス抗原の発現と癌部の CA19-9、CA-50 の発現を対比すると、Le^a、Le^b がともに陰性であった1例(症例33) およびともに陽性であった2例(症例9, 33)において CA19-9 の発現がみられなかったが、CA-50 はいずれの症例でも陽性であった。

癌部における CA19-9 と CA-50 発現の関連を癌部のルイス抗原の発現と対比して検討した(図9)。

CA-50 は3例を除いていずれも CA19-9 より広範に発現しており、CA19-9 が陰性であった7例中6例にも発現がみられた。癌部において Le^a、Le^b のどちらか一方、または両者が陰性を示した5例についてみると、CA19-9 では4例 (Le^{a-b} 1例, Le^{a-b+} 2例, Le^{a+} 1例)

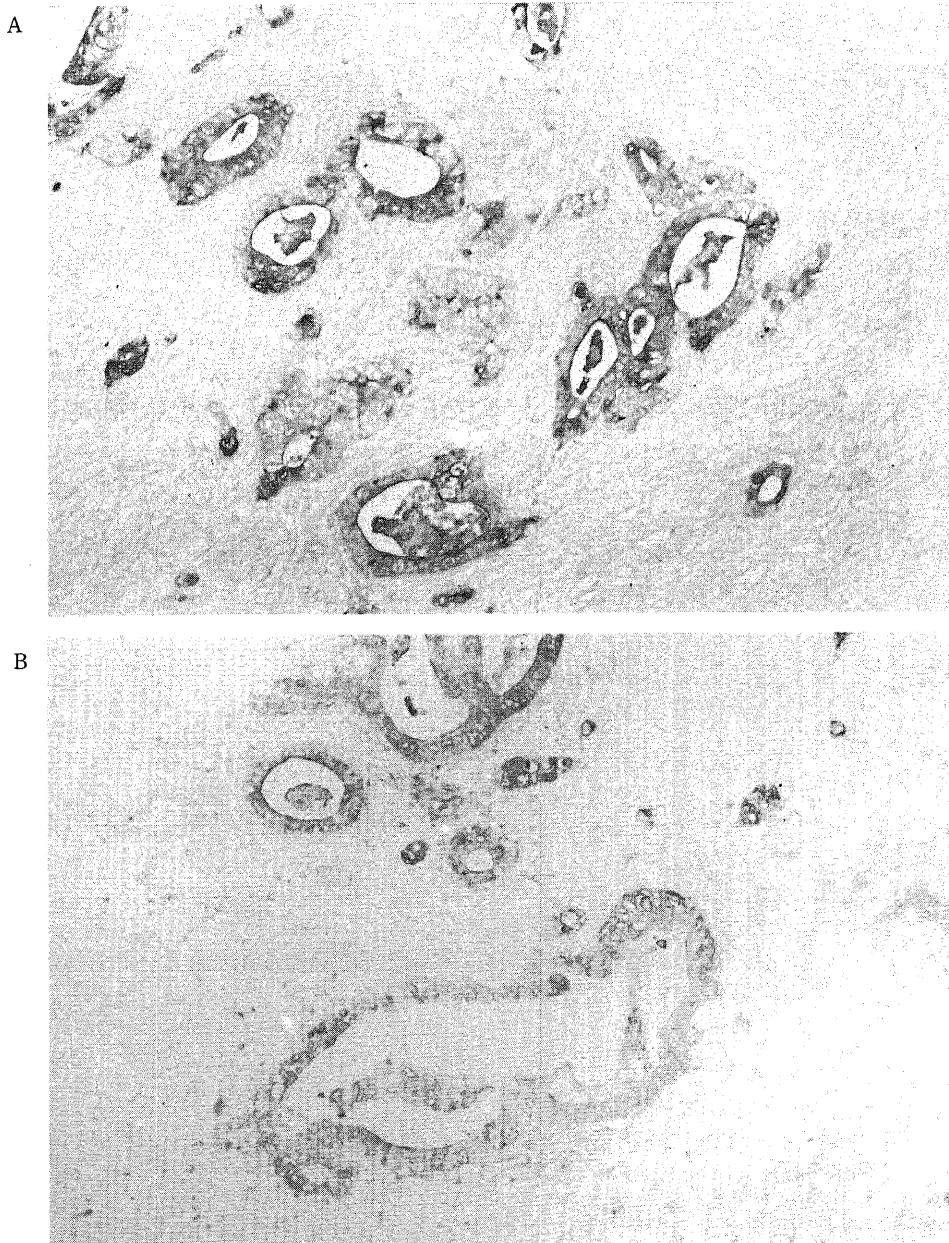


Fig. 6

1例) が陰性で、他の1例 (Le^{a-b+}) も (+) と弱い発現を示した。一方、CA-50 では Le^a , Le^b および CA19-9 がいずれも陰性であった1例 (症例33) を含む4例が (++) で、残る1例も (+) と全例で陽性であった。CA19-9 が陰性の7例中3例 (症例1, 31, 32) および CA-50 が陰性であった1例 (症例32) では Le^a , Le^b ともに陽性であった。

V. 免疫組織化学的染色性と血清値との関連

膀胱癌におけるシアル化糖鎖抗原の組織局在パターンと各々の血清値との関連性を検討した (図10)。まず、細胞内染色パターンと血清値についてみると、細胞内局在極性の保たれている apical type を呈する場合でもカットオフ値を越える血清値を示すものが一部にみられたが、極性の乱れた apical and cytoplasmic

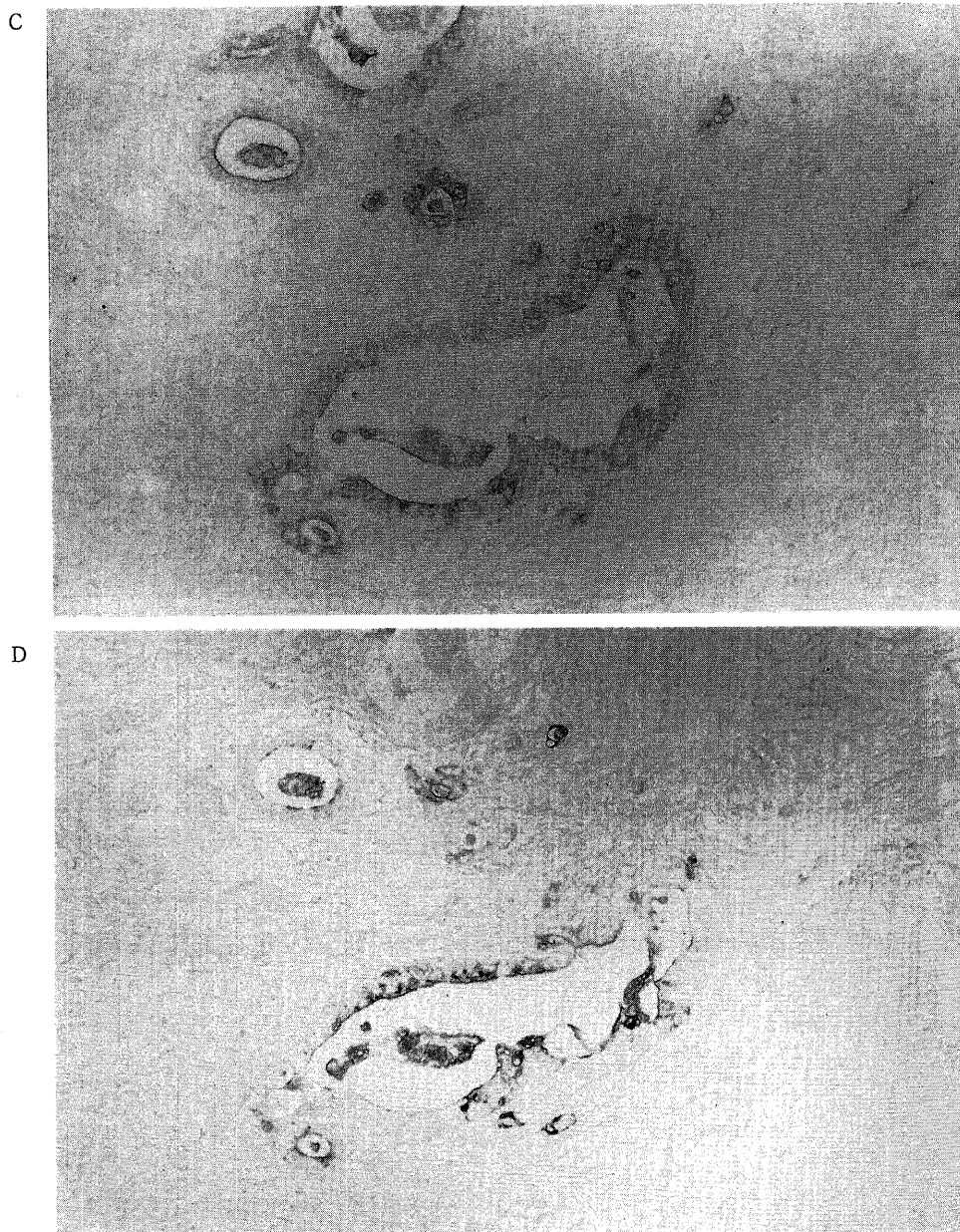
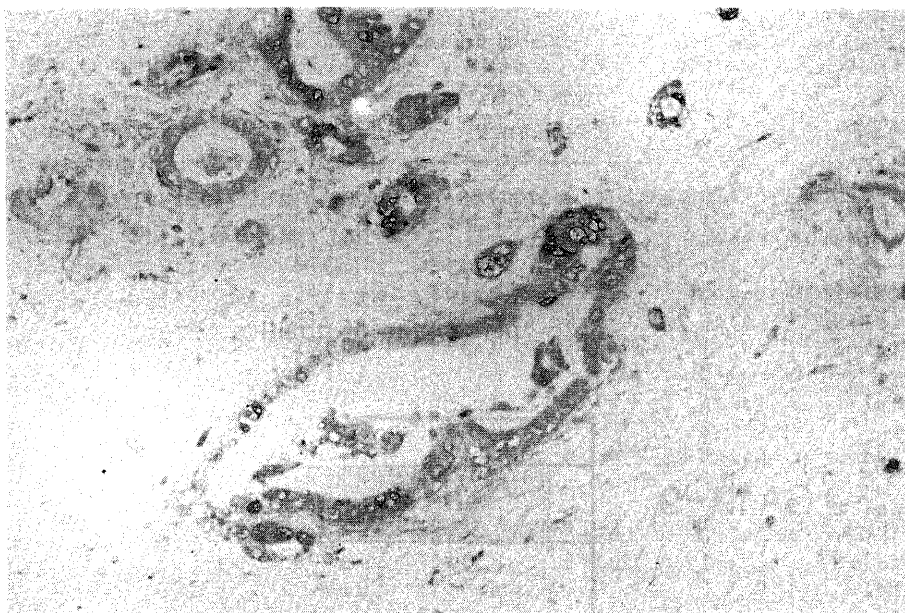


Fig. 6

type あるいは cytoplasmic type を呈する場合はいずれの糖鎖抗原においてもほとんどが高い血清値を示していた。次に, stromal stain を呈するものと呈さないものに分けて血清値を比較すると, 前者では全例が高

い血清糖鎖抗原値を示しており, 特に DU-PAN-2 ($p<0.05$) と ST-439 ($p<0.01$) においてはその差は有意であった。このように, 膵癌組織において抗原の局在極性が乱れ間質へ逸脱した場合に血清抗原値が高度

E



F

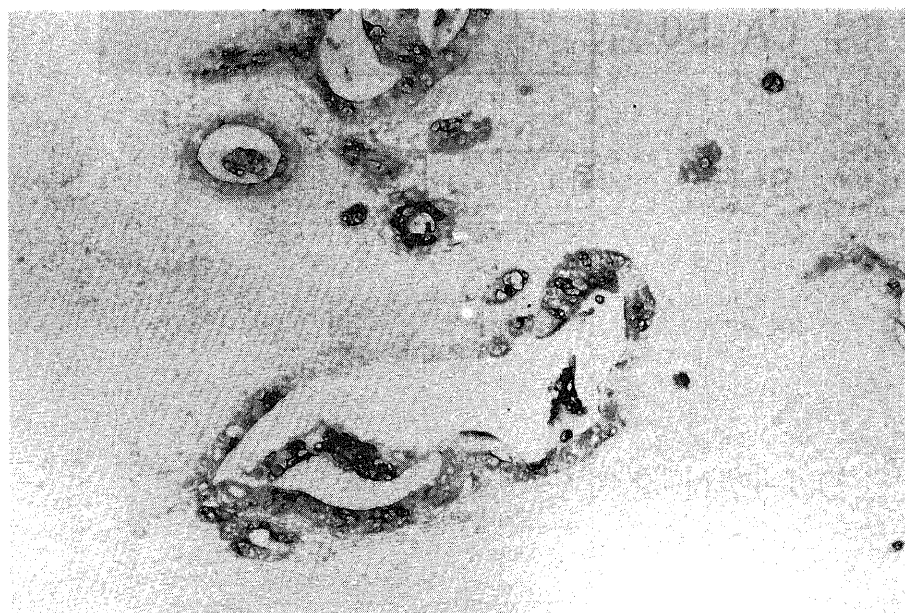


Fig. 6. Expression of CA19-9(A), CA-50(B), SLEX(C), SLX(D), DU-PAN-2(E) and ST-439(F) in pancreatic cancer tissue. CA19-9(A), CA-50(B), DU-PAN-2(E) and ST-439(F) are expressed in the cytoplasm of the cells in malignant glands. The staining of these antigens are also seen in the surrounding stroma. SLEX(C) and SLX (D) are expressed predominantly along the luminal surface of malignant glands. ($\times 50$).

に上昇する場合の多いことが示唆された。

考 察

癌化に伴う形質発現の変化が癌細胞膜の糖鎖部分に起こることはかなり以前から知られていたが⁹⁾¹⁰⁾、糖質は蛋白に比べて免疫原性が弱いため、従来のポリクローナル抗体の作製法では糖鎖部分を認識できる抗体は得られなかった。そのため癌化に伴う糖鎖の異常については不明なことが多く、また、それを臨床的に応用することもほとんどなかった。しかし、近年ハイブリドーマ技法の確立により免疫原性の弱い糖鎖部分を認識できる力価の高いモノクローナル抗体が得ること

が可能になり、癌化に伴う糖鎖異常に関する知見は飛躍的に進歩した¹¹⁾¹²⁾。さらに、このような糖鎖を検出するモノクローナル抗体が多数開発され、肺癌の血清腫瘍マーカーとして期待されるものも多数登場してきた。

これらのうち糖鎖構造の判明したもの多くは血液型物質と類似した構造を有することが明らかになっている。すなわち、ガラクトース β 1-3N アセチルグルコサミンを基幹とするI型糖鎖やガラクトース β 1-4N アセチルグルコサミンを基幹とするII型糖鎖がその駆幹をなし、癌化によりフコース、シアル酸などが付加した構造を有している。代表的なものとして

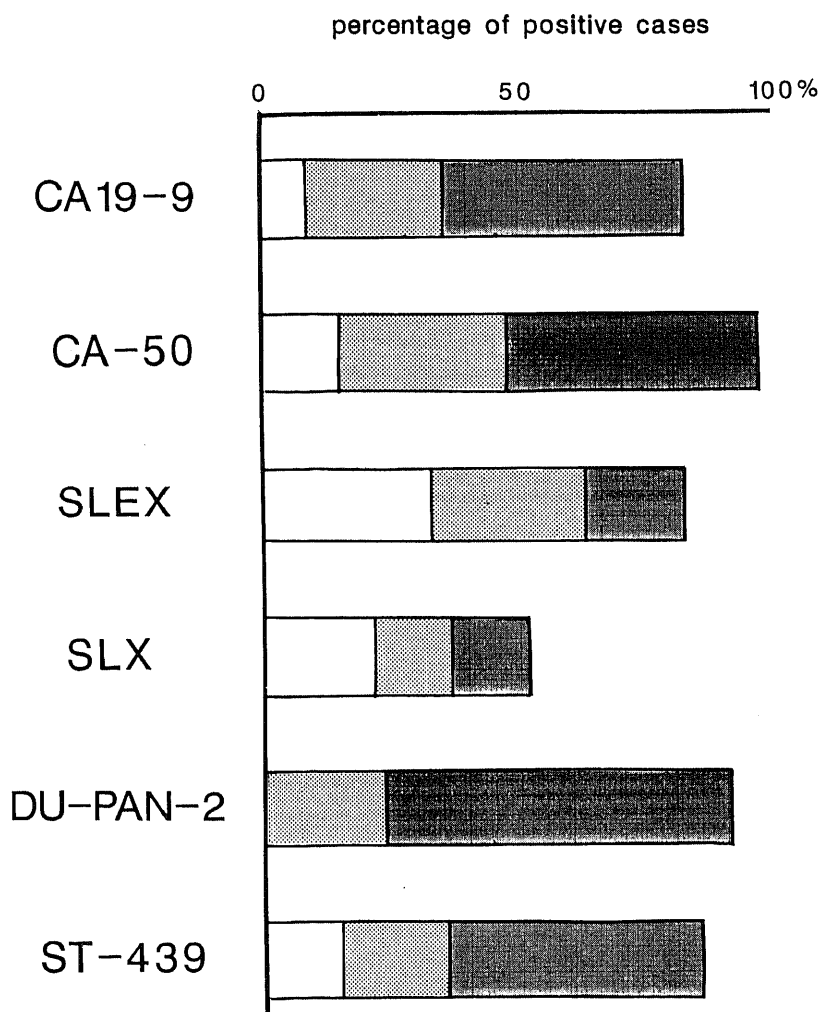


Fig. 7. Cellular localization of various sialylated carbohydrate antigens pancreatic cancer tissue. Cellular localization pattern; □ apical type, ▨ apical+cytoplasmic type, ■ cytoplasmic type.

は、I型糖鎖では CA19-9, CA-50 がある。前者は Koprowski ら²⁾によって作製されたモノクローナル抗体 NS19-9 により認識され、そのエピトープの構造は sialylated Le^aである¹³⁾。後者は Lindholm ら⁴⁾が樹立

したモノクローナル抗体 C-50 により認識され、エピトープは sialylated type I precursor である¹⁴⁾。I型糖鎖に属するこれらの抗原に関しては正常ヒトの遺伝形質であるルイス抗原の有無との関連において議論の

Table 2. Correlation between the tumor differentiation and the expression of various carbohydrate antigens in pancreatic cancer tissue

	Histology	CA19-9	CA-50	SLEX	SLX	DUPAN2	ST-439
1	papillary	—	3+(c)	3+(a)	—	3+(c)	3+(c)
2		+(a)	2+(a+c)	2+(a+b)	+(a+c)	—	3+(c)
3		2+(c)	2+(c)	—	—	2+(c)	+(c)
4		3+(c)	3+(c)	3+(c)	2+(a+c)	3+(c)	3+(a+c)
5		3+(a)	3+(a+c)	3+(a+c)	3+(a)	3+(c)	3+(c)
6		3+(c)	3+(c)	2+(a+c)	2+(a)	3+(c)	2+(c)
7		—	2+(a)	2+(a)	2+(a)	3+(c)	2+(a)
8		—	2+(a+c)	—	—	2+(a+c)	—
9		—	+(a)	3+(c)	2+(a+c)	2+(c)	3+(a+c)
10		+(a+c)	3+(c)	+(a)	—	3+(c)	—
11	well	+(a)	+(a)	—	—	3+(c)	+(a)
12		+(a)	2+(a)	—	—	—	—
13		2+(a+c)	3+(a+c)	—	—	—	3+(c)
14		2+(c)	2+(c)	3+(a+c)	+(c)	2+(c)	—
15		2+(c)	3+(a+c)	3+(c)	3+(c)	3+(c)	3+(c)
16		2+(c)	3+(c)	2+(a)	—	3+(c)	+(a)
17		2+(a+c)	2+(a)	2+(a)	+(a)	+(a+c)	3+(a+c)
18		2+(c)	3+(c)	2+(a)	+(c)	3+(c)	2+(a+c)
19		3+(a+c)	3+(c)	3+(c)	2+(a)	3+(c)	3+(c)
20		3+(a+c)	3+(a+c)	2+(a+c)	+(a)	+(c)	3+(c)
21	moderately	3+(c)	3+(c)	3+(c)	3+(c)	2+(a+c)	3+(c)
22		3+(c)	3+(c)	3+(a+c)	—	3+(c)	+(a)
23		3+(a+c)	3+(c)	+(a+c)	+(a+c)	+(c)	3+(c)
24		3+(c)	2+(a+c)	+(a)	+(a)	3+(c)	3+(c)
25		3+(c)	+(a)	2+(a)	—	2+(a+c)	2+(a+c)
26		3+(a+c)	3+(a+c)	3+(a+c)	—	2+(a+c)	3+(a+c)
27		3+(c)	3+(c)	2+(c)	—	3+(c)	2+(a)
28		3+(c)	3+(c)	3+(a)	—	3+(c)	+(c)
29		3+(c)	3+(c)	2+(c)	2+(a)	3+(c)	+(a)
30		3+(c)	3+(c)	3+(c)	—	3+(c)	3+(c)
31	poorly	—	3+(a+c)	+(a)	+(a+c)	3+(a+c)	2+(a+c)
32		—	—	—	—	3+(c)	3+(c)
33		—	2+(a)	—	—	—	—
34		+(a+b)	2+(c)	2+(a)	—	3+(a+c)	+(a+c)
35		2+(c)	3+(c)	2+(c)	2+(a+c)	+(c)	3+(c)
36		3+(a+c)	3+(c)	3+(a)	—	3+(c)	3+(a+c)
37		3+(c)	3+(c)	+(c)	+(a+c)	3+(c)	2+(a+c)
38		3+(c)	2+(c)	+(a+c)	+(c)	3+(c)	+(c)
39		+(c)	3+(a+c)	2+(a+c)	+(a)	2+(c)	—
40		2+(c)	2+(c)	2+(c)	+(c)	2+(c)	+(c)
41		2+(c)	3+(c)	2+(a)	—	2+(c)	3+(c)
42		3+(c)	3+(a+c)	2+(a)	—	2+(a+c)	2+(a)

papillary, papillary adenocarcinoma; well, well differentiated tubular adenocarcinoma; moderately, moderately differentiated tubular adenocarcinoma; poorly, poorly differentiated tubular adenocarcinoma. a, apical type; a+c, apical and cytoplasmic type; c, cytoplasmic type. —~3+; grade of staining (see Material and Method).

多いところである。また、II型糖鎖としてはSLEXとSLXが挙げられるが、それぞれ Fukushima ら⁵⁾, Fukushi ら⁶⁾により作製されたモノクローナル抗体CSLEX-1, FH-6により認識され、各々のエпитープは sialylated Le^xおよび sialylated Le^xi であることが確立している。

一方、エピトープは糖鎖であるが、構造が未同定のものも多い。これらの中で膵癌の腫瘍マーカーとしては DU-PAN-2¹⁵⁾と ST-439¹⁶⁾が現時点ではもっとも期待される。DU-PAN-2は Metzger ら⁷⁾により膵腺癌細胞を免疫原として、ST-439は Hirohashi ら⁸⁾により胃腺癌を免疫原として得られたモノクローナル抗体によ

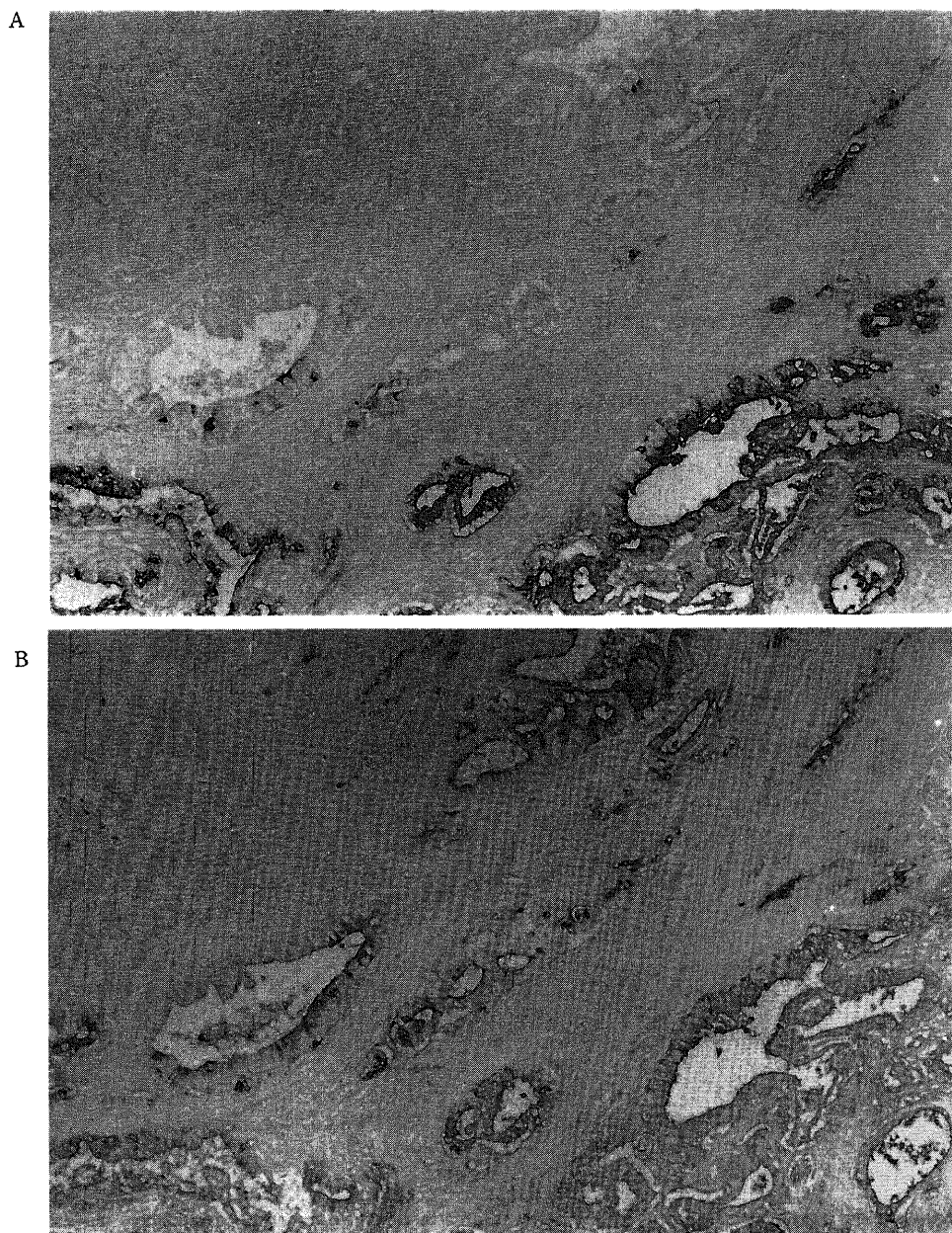


Fig. 8. Expression of CA19-9(A) and CA-50(B) in pancreatic cancer tissue. CA19-9 is detected within the area expressing CA-50. ($\times 50$).

り認識され、いずれもそのエピトープにはシアル酸が関与していることが判明しているが⁸⁾⁽¹⁷⁻¹⁹⁾、糖鎖構造の詳細は確立していない。しかし、これらは既知の腫瘍抗原や最近の各種糖鎖抗原とは免疫学的に明らかに異なっていることも証明されている。

本研究では、膵癌の腫瘍マーカーとして期待される血液型関連シアル化糖鎖抗原のうち代表的な I 型糖鎖である CA19-9, CA-50, 同様な II 型糖鎖である

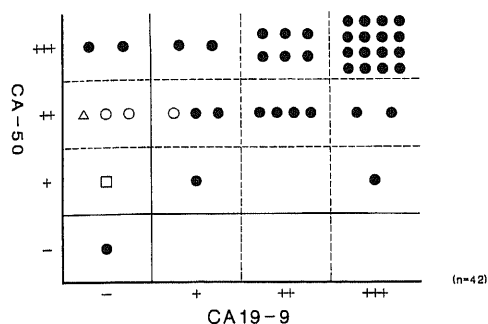


Fig. 9. Correlation among the expression of type I carbohydrate antigens in pancreatic cancer tissue. Grade of staining; negative (-), up to 1/3(+), between 1/3 and 2/3(++), and more than 2/3(+++). Closed circle, open square, open circle and open triangle shows the case of Le^{a+b+} , Le^{a+b-} , Le^{a-b+} and Le^{a-b-} , respectively.

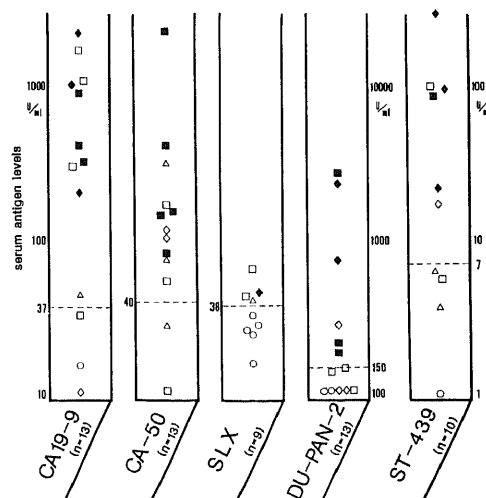


Fig. 10. Correlation between serum value and cellular localization pattern of carbohydrate antigens in pancreatic cancer. Dotted lines show cutoff values of each antigen. Serum antigen levels of patients with stromal stain are significantly higher than those of patients without stromal stain in DU-PAN-2 ($p < 0.05$) and ST-439 ($p < 0.01$). ○; negative, △; apical, ◇; apical+cytoplasmic, □; cytoplasmic. open; stromal stain(-), closed; stromal stain(+).

Table 3. Correlation between the tumor differentiation and cellular localization of carbohydrate antigens in pancreatic cancer tissue

		CA19-9	CA-50	SLEX	SLX	DUPAN2	ST-439
papillary	a	2 *	0	1	2	0	0
	a + c	0	2	3	2	0	1
	(n=6)	3	4	1	0	5	5
well	a	2	6	8	6	0	6
	a + c	7	6	5	2	5	5
	(n=24)	12	12	7	4	17	9
moderately	a	0	1	3	0	0	0
	a + c	2	1	1	3	2	4
	(n=8)	3	4	2	1	5	3
poorly	a	0	0	2	1	0	1
	a + c	0	2	1	0	1	0
	(n=4)	4	2	1	1	3	2

papillary, papillary adenocarcinoma; well, well differentiated tubular adenocarcinoma; moderately, moderately differentiated tubular adenocarcinoma; poorly, poorly differentiated tubular adenocarcinoma. a, apical type; a+c, apical and cytoplasmic type; c, cytoplasmic type. *; number of cases

Table 4. Expression of type I carbohydrate antigens in pancreatic cancer tissue and non-cancerous tissue adjacent to tumor

	non-cancerous tissue				cancerous tissue			
	Le ^a	Le ^b	CA19-9	CA-50	Le ^a	Le ^b	CA19-9	CA-50
1					3+	3+	—	3+
2	3+	3+	+	3+	3+	2+	+	2+
3					3+	2+	2+	2+
4					3+	3+	3+	3+
5					3+	3+	3+	3+
6	3+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+
7					—	3+	—	2+
8					—	+	—	2+
9	3+	3+	—	3+	+	—	—	+
10					2+	3+	+	3+
11	3+	3+	+	3+	+	3+	+	+
12					2+	2+	+	2+
13	3+	3+	+	3+	3+	3+	2+	3+
14	2+	2+	2+	3+	2+	3+	2+	2+
15					2+	3+	2+	3+
16					3+	3+	2+	3+
17	3+	3+	+	3+	3+	3+	2+	2+
18	3+	3+	+	3+	3+	3+	2+	3+
19	3+	2+	+	3+	3+	3+	3+	3+
20	3+	3+	+	3+	3+	3+	3+	3+
21					3+	2+	3+	3+
22	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
23	3+	2+	2+	3+	3+	3+	3+	3+
24	3+	3+	+	2+	3+	3+	3+	2+
25					3+	3+	3+	+
26	3+	2+	—	3+	3+	3+	3+	3+
27	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
28	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
29	3+	3+	—	3+	3+	2+	3+	3+
30	3+	3+	+	3+	3+	3+	3+	3+
31	3+	3+	—	3+	3+	3+	—	3+
32					+	3+	—	—
33	—	—	—	+	—	—	—	2+
34					—	3+	+	2+
35					3+	3+	2+	3+
36	3+	3+	2+	3+	3+	3+	3+	3+
37	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
38	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	2+
39					3+	3+	+	3+
40	2+	2+	+	2+	2+	2+	2+	2+
41					3+	3+	2+	3+
42	3+	3+	—	3+	3+	3+	3+	3+

—~3+ ; grade of staining (see Material and Method).

SLEX と SLX について、血液型物質とは関連のない DU-PAN-2 と ST-439、さらにルイス抗原とも比較しながら、膵癌および非癌膵組織における各々の発現を酵素抗体法により検索した。各抗原の発現範囲のみならず細胞内局在様式からそれぞれの膵癌における発現の特徴および相互関連性を比較検討し、I 型糖鎖抗原に関しては、遺伝形質であるルイス抗原の発現との関連性についても検討した。さらに、これらの糖鎖抗原の血清値と組織における発現との関連を検討し、免疫組織学的に血清値上昇に関与する要因を明らかにしようとした。

I. 各種シアル化糖鎖抗原の膵組織における発現の特徴

個々の I 型糖鎖の組織発現に関する研究は比較的多いが^{20)~22)}、CA19-9 と CA-50 の比較検討がなされているものは Haglund ら²⁴⁾、市原ら²⁵⁾の報告があるにすぎない。それらによると、非癌膵組織においてもこれらの糖鎖抗原は高い陽性率を示すが、比較的狭い範囲に限局して発現する CA19-9 に対し CA-50 は広範な分布を示すとされている。また、膵癌組織では市原らは両者とも発現が著しく増強としているが、Haglund らは CA-50 では癌部よりも癌周囲の非癌部により強い染色がみられたと報告している。筆者の成績では、正常、慢性膵炎を問わず非癌膵組織において CA19-9、CA-50 の陽性率はそれぞれ 70%、90% 以上と高率であった。CA-50 では正常膵と慢性膵炎とともに広範に発原し、陽性率、染色範囲に差はなかったが、CA19-9 では慢性膵炎でより広範に染色された。膵癌と非癌膵組織の染色性について比較すると CA19-9 では癌において明らかな発現の増強がみられるのに対し、CA-50 では陽性率、発現範囲とも非癌膵組織とほとんど差異はなかった。しかし、両抗原の細胞内局在をみると正常膵では局在極性はほぼ保たれていたが、慢性膵炎では 30% 以上の症例に局在極性の乱れを呈するものがみられるようになり、さらに、膵癌ではほとんどが著しい極性の乱れを呈していた。癌化に伴う細胞膜抗原の局在極性の喪失は癌性上皮細胞に特徴的であり²⁶⁾²⁷⁾、CEA や secretory component で初めて指摘されたが、CA19-9、CA-50 においても同様の所見が報告されている²⁸⁾。注目すべきはこのような極性の乱れが慢性膵炎にもみられ、特に、膵小葉の破壊に伴い増生、集簇した小膵管に強く認められたことである。CA19-9、CA-50 による膵癌の血清診断において、慢性膵炎の偽陽性率は比較的高いと言われており²⁸⁾²⁹⁾、詳細は後述するが、このような組織レベルにおける局在極性の乱れを伴った抗原発現の増強が慢性膵炎の偽陽

性の陽性の要因として関与している可能性が示唆された。さらに、膵液中の CA19-9 値は正常者に比べて慢性膵炎でも有意に高値で、膵癌と頻りにオーバーラップすることが知られており^{30)~32)}、慢性膵炎の純膵液中の CA19-9 高値にも上述した極性の乱れを伴う CA19-9 の発現の増強が大きく関与するものと思われる。

以上のように、I 型糖鎖抗原に属する CA19-9、CA-50 は組織における発現率では癌特異性に乏しいが、両者を比較すると CA19-9 は膵癌における発現の増強とその細胞内局在様式から比較的癌に特異的であるといえる。しかし、CA-50 は局在様式を除いて癌と非癌組織の差はほとんどなく癌特異性は低いと考えられる。

II 型糖鎖抗原に関する研究は Solter ら³³⁾ の SSEA-1 の発見に始まり、Kannagi ら³⁴⁾がその糖鎖構造の解析を行って以来、側鎖が修飾をうけてさまざまに変化した SSEA-1 系統の抗原群が発見されている^{35)~37)}。Le^xの末端のガラクトースにシアル酸の付加した SLEX は表 1 に示したように CA19-9 構造異性体であり、さらにこの構造に II 型糖鎖の前駆体である i 抗原の結合したものが SLX である。これらの糖鎖抗原の各種組織における発現は調べられているが³⁸⁾³⁹⁾、小数例の検討にとどまり筆者のように正常膵、慢性膵炎、膵癌と多数例において系統的に検討された報告はない。筆者の検討では、非癌膵組織において SLX はほとんど認められず、SLEX は慢性膵炎の一部に弱く発現するにすぎなかったが、膵癌組織ではそれぞれ 52.4%、81.3% に発現がみられ、これらの抗原の高い癌特異性が示唆された。また、SLEX、SLX の局在極性は他の 4 種の糖鎖抗原のそれとは異なり、癌組織においても比較的保たれる傾向がみられ、著しい極性の乱れを呈するものは少なかったことも大きな特徴として指摘された。このように、I 型糖鎖に比べて II 型糖鎖が高い癌特異性を示すのは、Hakomori 一派が^{39)~41)}主張するように前者が同種抗原の性格を有するのに対し、後者は分化抗原としての生物学的意義を有し、癌化に伴い細胞が胎児期のレベルにまで脱分化した時に出現する癌胎児性抗原の性格を反映するためであろう。

I 型糖鎖に抗原の CA19-9 と CA-50 の場合と違って、II 型の SLEX と SLX との比較検討はほとんどなされていない。前述したように、両者の癌特異性は非常に高いが、膵癌組織における発現率をみると、SLEX の 83.3% に対し、SLX は 52.4% であり両者に大きな差異がみられる。また、染色パターンは類似し

ているものの発現範囲は SLEX のほうが明らかに広範であった。一方、SLX の血清腫瘍マーカーとしての有用性に関する報告は比較的多くみられ⁴²⁻⁴⁶⁾、それらによると組織レベルにおけると同様に血清においても癌特異性は高いが、陽性率は期待する程高いことが指摘されている。血清 SLEX については、Terasaki 一派の^{48,49)}研究があるにすぎないが、SLX と同様な傾向の成績が報告されている。前述したように、両者は高い癌特異性を有するが、SLEX のほうが明らかに高い発現率を示すことにより、血清腫瘍マーカーとしても SLEX の有用性がより期待できるように思われ、今後 SLEX の血清腫瘍マーカーとしての有用性が詳細に検討されるべきであろう。

一方、血液型物質とは関連のないシアル化糖鎖抗原である DU-PAN-2, ST-439 では、前者は正常膵、慢性膵炎の約50%に陽性で、慢性膵炎の20%以上に局在極性の乱れが観察されたのに対し、後者はほとんど発現がみられず、わずかに発現した場合でも極性は保たれていた。膵癌組織では、両者とも発現は増強しており、極性の乱れを伴う広範な発現が多く例で認められた。これらの糖鎖抗原を I 型糖鎖の CA19-9, CA-50 および II 型糖鎖の SLEX, SLX と比較すると、DU-PAN-2 は膵癌では I 型糖鎖群と類似した発現を示すものの、非膵癌組織における発現率は I 型糖鎖群より低く、非膵癌ではほとんど発現しない II 型糖鎖群と I 型糖鎖群の中間の癌特異性を有すると考えられた。これに対して、非膵癌での発現率が極めて低い ST-439 は II 型糖鎖群と同等の高い癌特異性を有すると考えられた。また、II 型糖鎖群が癌、非膵癌組織いずれにおいても局在極性が保たれる傾向を示したのに対し、ST-439 は膵癌で著しい極性の乱れを呈し、非膵癌と明らかに異なる染色パターンを示した。従来、病理組織学的に膵癌の鑑別に腫瘍マーカーを用いることはほとんど不可能とされてきたが、II 型糖鎖群と ST-439 は癌特異性が極めて高いことより、このような領域の応用も期待されるように思われ、特に ST-439 は癌化によりしばしば極性が乱れ、強く発現することからも病理組織学的な鑑別のマーカーとして有望であるといえよう。

II. 各腺癌関連シアル化糖鎖抗原発現の相互関連性および膵癌の組織型との関係

今回検討した 6 種を初めとして既知の癌関連糖鎖抗原の多くは、血清中においてはムチン様の高分子糖蛋白として存在するといわれている⁸⁾¹⁷⁾⁴²⁾⁴⁸⁾。それらを各種のクロマトグラフィーで分画すると溶出像が極めて類似していることにより、このような癌関連糖鎖抗原

はエピトープの異なる糖鎖として同一のムチン分子上に共存した形で存在すると想定されている⁴⁸⁾。一方、これらの糖鎖抗原は、癌組織においては糖脂質または糖蛋白の形で存在するが、個々の発現の間の関連性は十分に明らかにされていない。本研究では、6 種の腺癌関連糖鎖抗原について膵癌組織におけるそれぞれの発現範囲と細胞内局在様式、および発現部位を比較し、各糖鎖抗原発現の関連性を検討した。

エピトープの構造が類似した I 型糖鎖抗原の CA19-9 と CA-50 についてみると、図 9 に示したように、CA-50 はほとんどの例で CA19-9 と同等か、またはより広く発現しており、各々の細胞内局在様式も類似していることから、膵癌組織における両抗原発現の間の高い関連性が示唆された。Haglund ら²⁰⁾、市原ら²⁰⁾の検討でも、両抗原は若干の染色性の差異はあるものの、ほぼ同様に広く膵癌組織に分布するとしており、今回の成績もそれらと矛盾しないものであった。

一方、II 型糖鎖である SLEX と SLX では、各々のエピトープの糖鎖構造から予想されるように、SLEX を認識する CSLEX-1 は SLX とともに反応するが、SLX に対するモノクローナル抗体 FH-6 は SLEX と反応性を示さず、より限定された糖鎖を認識するとされている^{53,54)}。今回の検討では、SLX の発現はすべて SLEX の陽性範囲内に限られており、上述した抗体の反応性に一致する成績が得られた。また、細胞内局在様式も極めて類似しており、両者の膵癌における組織発現は密接に関連していることが確認された。

CA19-9 と CA-50, SLEX と SLX をそれぞれ I 型糖鎖群、II 型糖鎖群として、DU-PAN-2 や ST-439 を含めたシアル化糖鎖抗原発現の相互関連性を検討すると、同一の部位に多数の抗原が発現している症例もあり血清中のムチン上における存在様式との類似点もみられたが、それぞれが異なった部位に発現している場合も多く、これらのいずれの間にも特定の関連性は認められなかった。

従来種々の腫瘍関連抗原において癌の浸潤性や転移性などの悪性度を反映するものを求めて多くの研究がなされてきたが、未だそのような指標として臨床病理学的に応用可能なものはなく、モノクローナル抗体により検出される糖鎖抗原に期待が寄せられている。今回、6 種のシアル化糖鎖抗原について、それぞれの発現率、発現範囲および細胞内局在様式と悪性度の指標の一つである癌の組織型との関係を検討した。各抗原の発現率と膵癌の組織型には特定な関連性は認められなかった。細胞内局在様式についてみると、CA19-9 では分化度が低くなるにつれ cytoplasmic type の出

現率が高くなる傾向がみられたが、有意ではなく、また、他の抗原でも局在様式と組織型との間には特定な関連性はみられなかった。このように、今回検討した糖鎖抗原においても、癌の悪性度を反映する指標となりうるものはみられなかった。

Ⅲ. ルイス抗原を含む I 型糖鎖抗原発現の相互関係
 癌化により血液型物質が変化することは以前より指摘されていたが⁹¹⁰、不明なことが多かった。近年糖鎖を識別するモノクローナル抗体の応用により、このような問題はかなり解明されつつある。癌化により通常の血液型物質の消失 (deletion of expected blood group substance) とその前駆物質の蓄積 (accumulation of precursor substance)、不適合な血液型物質の発現 (incompatible expressing of blood group substance) などが起こる。これらを糖鎖の合成過程の面からみると、糖鎖合成不全 (imcomplete synthesis) と前駆体の蓄積 (precursor accumulation)、および新しい糖鎖の合成 (neosynthesis) として理解される^{12,50,53}。そして、このような癌に伴う糖鎖不全には種々のグルコシルトランスフェラーゼの誘導異常が関与するといわれている。ルイス抗原に関連した I 型血液型糖鎖の合成においては、フコシルトランスフェラーゼおよびシアリルトランスフェラーゼの存在下に各糖鎖構造が合成されると考えられている。

Koprowski ら⁵⁴は、CA19-9 の合成には前駆体である Le^aが不可欠であり、遺伝的にルイス抗原を発現できない Le^{a-b-}の例では CA19-9 が発現しないと推定した。その後、これらに関する実証的な研究がなされ、上記の仮説を裏付ける所見が得られている。Hirohashi ら⁵⁵は胃癌組織における CA19-9 と Le^aの発現を検討し、前者の発現は後者の陽性部位に限られていたとしている。Le^a、Le^bと CA19-9 の発現を比較した検討では、Pour ら⁵⁶は30例の肺癌組織において Le^aが陰性であった4例 (Le^{a-b-} 2例、Le^{a-b+} 2例)のいずれにも本抗原の発現がみられなかったとしており、徳丸ら⁵⁷も胃癌における検討で CA19-9 陽性例はすべて Le^a陽性で、Le^a陰性例で CA19-9 が陽性のものはなかったとして、CA19-9 発現には Le^aの存在が強く関与すると結論している。また、両者は Le^aが陽性であっても CA19-9 が発現しない症例をそれぞれ2例 (Le^{a-b+})、4例 (Le^{a-b+} 2例、Le^{a-b-} 2例) 経験している。一方、52例の肺癌組織を検討した市原ら⁵⁸の成績では Le^a陽性のものはいずれも CA19-9 が発現していたが、Le^{a-b+} 10例中4例にも CA19-9 の陽性例を経験し、これらでは、Le^aを基質として異常なシアル化とフコシル化が競合しておこり Le^aがすべて CA19-9 あるい

は Le^bに転換された可能性を示唆している。このように、CA19-9 の発現には Le^aの存在が非常に重要であると考えられるが、Le^bとの関連性については十分明らかにされておらず、また CA-50 の発現とルイス抗原との関係についても十分検討されていない。

本研究では、Le^a、Le^bの発現と CA19-9 のみならず CA-50 の発現とも比較し、それらの相互関係を検討した。筆者の成績では、染色範囲についてみるとほとんどの症例で Le^a陽性部に一致してあるいはその一部に CA19-9 の発現が認められた。個々の症例における関連についてみると、Le^a、Le^bの少なくとも一方が陰性であった5例中4例では CA19-9 が陰性で、他の1例でもその発現は弱かった。また、Le^aが CA19-9 の発現にどのような影響を及ぼすかは不明であるが、Le^aは陽性で Le^bが陰性を呈した1例でも CA19-9 が陰性であり、このような例は前述したごとく徳丸らも報告している。一方、Le^aは陰性であるにもかかわらず、弱いながらも CA19-9 が陽性であった1例も経験された。この例では、わずかに発現した Le^aが速やかにシアル化をうけて CA19-9 に転換されたか、または Le^aを介さずに CA19-9 の合成が行われたと想定される。後者の可能性を支持するものとして、Hansson ら⁵⁹、Itzkowitz ら⁶⁰はシアル化 type I precursor (CA-50) を前駆体とした CA19-9 の合成経路があることを指摘しており、今回の経験例においても CA19-9 発現部位は CA-50 の陽性範囲内にあったことから CA-50 を介して CA19-9 が生成された可能性が示唆された。

一方、CA-50 の発現とルイス抗原のそれとを比較検討した報告は少ないが、CA19-9 とは異なりルイス抗原との関連に乏しいことが示唆されている。肺癌組織における検討で、市原ら²⁹は、Le^aが陰性であった13例中10例において CA-50 の強い染色性が観察されたとしており、また、Haglund ら²⁴は Le^a、Le^bがともに陰性を呈した3例にも CA-50 の発現がみられたと報告している。筆者の成績でも本抗原は、Le^a、Le^bのどちらか、または両方の発現が認められなかった症例のいずれにおいても陽性を呈しており、その発現はルイス抗原の有無と無関係であった。これは、CA-50 が type I precursor の末端のガラクトースに直接シアル酸が付加して合成されるためと考えられ、CA-50 は Le 遺伝子の影響を受けずに発現すると想定された。

IV. 組織発現と血清値との関連性

血清腫瘍マーカーとして臨床に応用されている種々の腫瘍関連抗原は癌細胞において大量に産生され、一部が癌細胞から放出されて血中に入ると考えられているが、その血清値上昇の機序は十分に解明されていない。

い。血清中の抗原値は単に腫瘍組織における抗原の発現の程度を反映しているのではなく、抗原の放出されやすさ、腫瘍の部位および進行度、組織学的特性、肝臓や腎臓における抗原の破壊、排泄、さらに、抗原に対する自己抗体の存在など多くの因子により複雑に影響を受けると想定されている。近年、Ahnén ら²⁰⁾、Nagura ら²¹⁾は癌性上皮細胞において CEA の細胞内局在極性が失われることを報告し、Hamada ら⁶⁾は局在極性の喪失が血清 CEA 値上昇に重要な意味を持つと想定した。その後、市原ら²²⁾は極性の乱れに伴い血清値が上昇し、極性の喪失がない例で血清値の上昇はみられなかったとして、局在極性の喪失が血清値上昇の最も重要な因子であると報告している。これに対して Tabuchi ら⁶⁾は CA19-9、CEA の局在様式と血清値の間には相関はなかったと報告している。

本研究では CA19-9、CA-50、DU-PAN-2 に加えて SLX、ST-439 について癌組織における発現と血清値との関連を検討した。細胞内局在極性が喪失し細胞質にびまん性の抗原発現がみられる cytoplasmic type や apical and cytoplasmic type の例では一般に高い血清値を呈するものが多く、さらに、著しい極性の乱れにより抗原が間質へ逸脱した stromal stain の陽性例では全例で明らかに高い血清値がみられた。このように、CA19-9、CA-50、DU-PAN-2 および ST-439 に関しては市原らの成績とほぼ一致しており、著しく局在極性がみだれ、抗原が間質へ逸脱することが血清値上昇にかかわる重要な因子の一つであると考えられた。しかし、極性の乱れない apical type においてもカットオフ値を越える血清値を示す例が一部にみられた。このような例では局所的な要因として、腫瘍内における不均一性 (intratumoral heterogeneity) のため別の部分で極性の乱れが観察される可能性、あるいは腫瘍膵管内に分泌された抗原が膵管の延長上で血管やリンパ管に流入している場合などが想定されるが、今回の検討では、このような点については明らかにすることができなかった。

結 論

代表的な I 型糖鎖抗原である CA19-9 と CA-50、II 型糖鎖である SLEX と SLX について、血液型物質とは無関係なシアル化糖鎖抗原である DU-PAN-2 と ST-439、および Lewis 抗原と比較しながら正常膵、慢性膵炎および癌組織における各々の発現を免疫組織学的に検索し、それぞれの糖鎖抗原の癌における発現の特徴およびその臨床病理学的背景を検討して、以下の結論を得た。

1. 癌におけるシアル化糖鎖抗原の発現率は SLX (52.4%) 以外ではいずれも 80% 以上と高かった。一方、非癌膵組織においては ST-439 および II 型糖鎖 SLEX、SLX の発現率は著しく低く、これらの抗原の癌特異性は高いと考えられた。

2. 正常膵における各シアル化糖鎖抗原の細胞内局在極性は保たれていた。慢性膵炎および癌に隣接した非癌部膵組織においても多くの場合極性はほぼ保たれていたが、CA19-9、CA-50 および DU-PAN-2 では 30~40% に極性の乱れを呈するものがみられた。

3. 癌ではいずれのシアル化糖鎖抗原も非癌膵に比べ極性の乱れは強かった。I 型糖鎖および DU-PAN-2、ST-439 では大半が極性の喪失を示し、細胞質を中心に発現する傾向を示したのに対し、II 型糖鎖は管腔側を中心に発現しており比較的局在極性が保たれる傾向がみられた。

4. I 型糖鎖に属する CA19-9、CA-50、II 型糖鎖である SLEX、SLX の各々の間にはその発現に密接な関連性がみられたが、I 型糖鎖群、II 型糖鎖群、DU-PAN-2、ST-439 のそれぞれの発現の間には相関性はみられなかった。また、いずれの抗原においても、その発現と癌の病理組織型との間には特定な関連性は認められなかった。

5. ルイス抗原を含めた I 型糖鎖抗原群相互の発現関係からみると、癌において CA-50 はルイス抗原の有無とほとんど無関係に発現していた。一方、Le^a、Le^b の少なくとも一方が陰性であった 5 例中 4 例では CA19-9 が陰性で、他の一例でもその発現は弱く、CA19-9 の発現はルイス抗原の有無に影響されていると考えられた。

6. 著しい細胞内局在極性の乱れに伴い癌管周囲の間質へ逸脱した抗原が染色される stromal stain を呈する例では、いずれの糖鎖抗原においても高い血清値がみられた。このように局在極性が乱れ、抗原が間質へ逸脱することが血清中の抗原値上昇にかかわる重要な因子の一つであると考えられた。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師澤武紀雄教授に深謝の意を表します。有益な御助言、御協力を頂きました国立金沢病院渡辺七郎博士、金沢医科大学第一病理科小西二三男助教授に深く感謝いたします。また、貴重な材料を提供していただきました本研究所外科磨伊正義教授、本学医学部第二外科宮崎逸夫教授に心より御礼申し上げます。さらに、御助言、御協力を頂きました本研究所外科大井章史博士ならびに本研究所内科教室員各位に厚く御礼申し上げます。

尚本論文の要旨は、第 1 回癌腫瘍抗原に関する国際ワー

クショップ (於ワシントン, 1987) および第47回日本癌学会総会 (1988) において発表した。

文 献

- 1) Köhler, G. & Milstein, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, **256**, 495-497 (1975).
- 2) Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., Herlyn, M., Herlyn, D. & Fuhrer, P.: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. *Somat. Cell Genet.*, **5**, 957-972 (1979).
- 3) Feizi, T.: Demonstration by monoclonal antibodies that carbohydrate structures of glycoproteins and glycolipids are onco-developmental antigens. *Nature*, **314**, 53-57 (1985).
- 4) Lindholm, L., Holmgren, J., Svennerholm, L.: Monoclonal antibodies against gastrointestinal tumour-associated antigens isolated as monosialogangliosides. *Int. Archs. Allergy Appl. Immun.*, **71**, 178-181 (1983).
- 5) Fukushima, K., Hirota, M., Terasaki, P. I., Wakisaka, A., Togashi, H., Chia, D., Suyama, N., Fukushi, Y., Nudelman, E. & Hakomori, S.: Characterization of sialylated Lewis^x as a new tumor-associated antigen. *Cancer Res.*, **44**, 5279-5285 (1984).
- 6) Fukushi, Y., Nudelman, E., Levery, S. B., Rauvala, H. & Hakomori, S.: Novel fucolipids accumulating in human adenocarcinoma. *J. Biol. Chem.*, **259**, 10511-10517 (1984).
- 7) Metzgar, R. S., Gillard, M. T., Levine, S. J., Tuck, F. L., Bossen, E. H. & Borowitz, M. J.: Antigens of human pancreatic adenocarcinoma cells defined by murine monoclonal antibodies. *Cancer Res.*, **42**, 601-608 (1982).
- 8) Hirohashi, S., Watanabe, M., Shimosato, Y. & Sekine, T.: Monoclonal antibody reactive with the sialyl-sugar residue of a high molecular weight glycoprotein in sera of cancer patients. *Gann*, **75**, 485-488 (1984).
- 9) Hakomori, S. & Murakami, W. T.: Glycolipids of hamster fibroblasts and derived malignant-transformed cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **59**, 254-261 (1968).
- 10) Hakomori, S., Saito, T. & Vogt, P. K.: Transformation by ruos sarcoma virus. Effects on cellular glycolipids. *Virology*, **44**, 609-621 (1971).
- 11) Beyer, T. A., Rearick, J. I., Paulson, J. C., Prieels, J. P., Sadler, J. E. & Hill, R. L.: Biosynthesis of mammalian glycoproteins. Glycosylation pathways in the synthesis of the nonreducing terminal sequences. *J. Biol. Chem.*, **254**, 12531-12541 (1979).
- 12) Hakomori, S.: Aberrant glycosylation in cancer cell membranes as focused on glycolipids. overview and perspectives. *Cancer Res.* **45**, 2405-2414 (1985).
- 13) Magnani, J., Brockhaus, M., Smith, D., Ginsburg, V., Blaszczyk, M., Mitchell, K., Steplewski, Z. & Koprowski, H.: A monosialoganglioside is a monoclonal antibody-defined antigen of colon carcinoma. *Science*, **212**, 55-57 (1981).
- 14) Nilsson, O., Mansson, J. E., Lindholm, L., Holmgren, J. & Svennerholm, L.: Sialosylactotetraosylceramide, a novel ganglioside antigen detected in human carcinomas by a monoclonal antibody. *FEBS Lett.*, **182**, 398-402 (1985).
- 15) Sawabu, N., Toya, D., Takemori, Y., Hattori, N. & Fukui, M.: Measurement of pancreatic cancer-associated antigen (DU-PAN-2) detected by a monoclonal antibody in sera of patients with digestive cancer. *Int. J. Cancer*, **37**, 693-696 (1986).
- 16) Sugano, K., Ohkura, H., Maruyama, T., Watanabe, M., Hirohashi, S., Shimosato, Y., Kodaira, S. & Abe, O.: Sandwich radioimmuno-metric assay with murine monoclonal antibody, NCC-ST-439, for serological diagnosis of human cancers. *Gann*, **79**, 618-625 (1988).
- 17) Lan, M. S., Finn, O. J., Fernsten, P. D. & Metzgar, R. S.: Isolation and properties of human pancreatic adenocarcinoma-associated antigen, DU-PAN-2. *Cancer Res.*, **45**, 305-310 (1985).
- 18) Lan, M. S., Khorrami, A., Kaufman, B. & Metzgar, R. S.: Molecular characterization of mucin-type antigen associated with human pancreatic cancer. *J. Biol. Chem.*, **262**, 12863-12870 (1987).
- 19) Watanabe, M., Hirohashi, S., Shimosato, Y., Ino, Y., Yamada, T., Teshima, S., Sekiner, T. & Abe, O.: Carbohydrate antigen defined by a

monoclonal antibody raised against a gastric cancer xenograft. *Gann*, **76**, 43-52 (1985).

20) Atkinson, B. F., Ernst, C. S., Herlyn, M., Steplewski, Z., Sears, H. F. & Koprowski, H.: Gastrointestinal cancer-associated antigen in immunoperoxidase assay. *Cancer Res.* **42**, 4820-4823 (1982).

21) Arends, J. W., Wiggers, T., Schutte, B., Thijs, C. T., Verstijnen, C., Hilgers, J., Blijham, G. H. & Bosman, F. T.: Monoclonal antibody (1116NS19-9) defined monosialoganglioside (GICA) in colorectal carcinoma in relation to stage, histopathology and DNA flow cytometry. *Int. J. Cancer*, **32**, 289-293 (1983).

22) Haglund, C., Lindgren, J., Roberts, P. J. & Nordling, S.: Gastrointestinal cancer-associated antigen CA19-9 in histological specimens of pancreatic tumours and pancreatitis. *Br. J. Cancer*, **53**, 189-195 (1986).

23) Nilsson, O., Lindholm, L., Persson, B., Fredman, P., Mansson, J. E., Holmgren, J. & Svennerholm, L.: Tissue distribution and concentration of a monoclonal antibody defined tumour-associated ganglioside antigen. In M. A. Chester, D. Heinegard, A. Lundblad & S. Svensson (eds.), *Glycoconjugates, Proceedings of 7th International Symposium*, p852-853, Lund University, Lund, 1983.

24) Haglund, C., Lindgren, J., Roberts, P. J. & Nordling, S.: Tissue expression of the tumor marker CA-50 in benign and malignant pancreatic lesions. A comparison with CA19-9. *Int. J. Cancer*, **38**, 841-846 (1986).

25) 市原 透, 中尾昭公, 坂本純一, 鈴木祐一, 野浪敏明, 原田明生, 渡辺 正, 高木 弘, 名倉 宏: 膵癌における CA-50, CA19-9, DU-PAN-2 (II). 組織細胞内分布と血清値との対比. *膵臓*, **2**, 34-45 (1987).

26) Ahnen, D. J., Nakane, P. K. & Brown, W. R.: Ultrastructural localization of carcinoembryonic antigen in normal intestine and colon cancer. *Cancer*, **49**, 2077-2090 (1982).

27) Nagura, H., Tsutsumi, Y., Shioda, Y. & Watanabe, K.: Immunohistochemistry of gastric carcinomas and associated diseases. Novel distribution of carcinoembryonic antigen and secretory component on the surface of gastric

cancer cells. *J. Histochem. Cytochem.*, **31**, 193-198 (1983).

28) Sawabu, N., Takemori, Y., Toya, D., Yoneshima, M., Kidani, H., Satomura, Y., Ohta, H. & Hattori, N.: Factors affecting serum levels of CA19-9 with special reference to benign hepatobiliary and pancreatic diseases. *Gastroenterol. Jpn.*, **21**, 491-498 (1986).

29) 渡辺弘之, 小谷博子, 里村吉威, 太田英樹, 竹森康弘, 岡井 高, 澤武紀雄, 荻野知己, 磨伊正義, 服部 信, 秋山高儀, 永川宅和: 各種消化器癌における血清 CA-50 測定の臨床的意義. *医学のあゆみ*, **141**, 861-862 (1987).

30) Tatsuta, M., Yamamura, H., Iishi, H., Ichii, M., Noguchi, S., Yamamoto, R. & Okuda, S.: Values of CA19-9 in the serum, pure pancreatic juice, and aspirated pancreatic material in the diagnosis of malignant pancreatic tumor. *Cancer*, **56**, 2669-2673 (1985).

31) Malesci, A., Tommasini, M. A., Bonato, C., Bocchia, P., Bersani, M., Zerbi, A., Baretta, E. & Carlo, V.: Determination of CA19-9 antigen in serum and pancreatic juice for differential diagnosis of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis. *Gastroenterology*, **92**, 60-67 (1987).

32) 竹森康弘, 澤武紀雄, 木谷 恒, 米島 学, 登谷大修, 米島正広, 若林時夫, 服部 信: 純粋膵液中 CA19-9 値に関する検討. *胆と膵*, **7**, 63-83 (1986).

33) Solter, D. & Knowles, B. B.: Monoclonal antibody defining a stage-specific embryonic antigen (SSEA-1). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **75**, 5565-5569 (1978).

34) Kannagi, R., Nudelman, E., Levery, S. B. & Hakomori, S.: A series of human erythrocyte glycosphingolipids reacting to the monoclonal antibody directed to developmentally-regulated antigen, SSEA-1. *J. Biol. Chem.*, **257**, 14865-14874 (1982).

35) Hakomori, S., Nudelman, E., Levery, S. B. & Kannagi, R.: Human fucolipids accumulating in human adenocarcinoma. I. Glycolipids with di- or trifucosylated. *J. Biol. Chem.*, **259**, 4681-4685 (1984).

36) Kaizu, T., Levery, S. B., Nudelman, E., Stenkamp, R. E. & Hakomori, S.: Monoclonal antibody specific for trifucosyl Le^x (III^x Fuc V^x Fuc

VP FucnLc₆) and a possible three-dimensional epitope structure. *J. Biol. Chem.*, **261**, 11254-11258 (1986).

- 37) Sun, Q., Siddiqui, B., Nudelman, E., Hakomori, S., Ho, J. J. L. & Kim, Y. S.: New murine monoclonal antibodies to a human colonic cancer-associated glycolipid, extended difucosylated Le^x glycolipid. *Cancer J.*, **1**, 213-220 (1987).
- 38) Fukushi, Y., Kannagi, R., Hakomori, S., Shepard, T., Kulander, B. G. & Singer, J. W.: Location and distribution of difucoganglioside (V¹³ NeuAcV³ III³ Fuc₂ nLc₆) in normal and tumor tissues defined by its monoclonal antibody FH6. *Cancer Res.*, **45**, 3711-3717 (1985).
- 39) Hakomori, S. & Kannagi, R.: Glycosphingolipids as tumor-associated and differentiation markers. *J. Natl. Cancer Inst.*, **71**, 231-251 (1983).
- 40) Kannagi, R., Kitahara, A., Itai, S., Zenita, K., Shigeta, K., Tachikawa, T., Noda, A., Hirano, H., Abe, M., Shin, S., Fukushi, Y., Hakomori, S. & Imura, H.: Quantitative and qualitative characterization of human cancer-associated serum glycoprotein antigens expressing epitopes of sialyl or sialyl-fucosyl type1 chain. *Cancer Res.*, **48**, 3856-3863 (1988).
- 41) Holmes, E. H., Ostrander, G. K., Clausen, H. & Græ m, N.: Oncofetal expression of Le^x carbohydrate antigens in human colonic adenocarcinomas. Regulation through type2 core chain synthesis rather than fucosylation. *J. Biol. Chem.*, **262**, 11331-11338 (1987).
- 42) Kannagi, R., Fukushi, Y., Tachikawa, T., Noda, A., Shin, S., Shigeta, K., Hiraiwa, N., Fukuda, Y., Inamoto, T., Hakomori, S. -I. & Imura, H.: Quantitative and qualitative characterization of human cancer-associated serum glycoprotein antigens expressing fucosyl or sialyl-fucosyl type2 chain polylactosamine. *Cancer Res.*, **46**, 2619-2626 (1986).
- 43) 井村裕夫, 遠藤治郎, 大倉久直, 石井 勝, 有吉寛, 阿部令彦, 正宗 研, 西本幸男, 福士泰夫, 折笠精一, 箱守仙一郎, 神奈木玲児: 新しい腫瘍マーカー「シアルル SSEA-1 抗原」の測定の基礎的検討ならびに臨床的有用性. (2) 各種悪性および非悪性患者血清の測定結果. 癌と化学療法, **14**, 1322-1331 (1987).
- 44) 伊藤鉄英, 木村寿成, 矢津 剛, 大神吉光, 澄井

俊彦, 名和田新: 血清シアルル SSEA-1 抗原の膵腫瘍マーカーとしての臨床的意義. 膵臓, **3**, 1-10 (1988).

- 45) 河上浩康, 澤武紀雄, 竹森康弘, 岡井 高, 元雄良治, 里村吉威, 太田英樹, 渡辺弘之, 松田直人, 山川 治, 磨伊正義, 服部 信: 各種消化器癌における血清シアルル SSEA-1 測定の臨床的有用性. 日消会雑誌, **86**, 1141-1148 (1989).
- 46) Hirota, M., Fukushima, K., Terasaki, P. I., Terashita, G. Y., Kawahara, M., Chia, D., Suyama, N. & Togashi, H.: Sialosylated Lewis^x in the sera of cancer patients detected by a cell-binding inhibition assay. *Cancer Res.*, **45**, 1901-1905 (1985).
- 47) Hirota, M., Fukushima, K., Terasaki, P. I., Terashita, G. Y., Galton, J. & Kawahara, M.: Detection of tumor-associated antigens in the sera of lung cancer patients by three monoclonal antibodies. *Cancer Res.*, **45**, 6453-6456 (1985).
- 48) Magnani, J., Steplewski, Z., Koprowski, H. & Ginsburg, V.: 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).
- 49) Lan, M. S., Bast, Jr. R. C., Colnaghi, M. I., Knapp, R. C., Colcher, D., Schlom, J. & Metzgar, R. S.: Co-expression of human cancer-associated epitopes on mucin molecules. *Int. J. Cancer*, **39**, 68-72 (1987).
- 50) Hirohashi, S., Ino, Y., Kodama, T. & Shimosato, Y.: Distribution of blood group antigen A, B, H, and I (Ma) in mucus-producing adenocarcinoma of human lung. *JNCI*, **72**, 1299-1305 (1984).
- 51) Yuan, M., Itzkowitz, S. H., Palekar, A., Shamsuddin, A. M., Phelos, P. C., Trump, B. F. & Kim, Y. S.: Distribution of blood group antigens A, B, H, Lewis^a, and Lewis^b in human normal, fetal, and malignant colonic tissue. *Cancer Res.*, **45**, 4499-4511 (1985).
- 52) Schoentag, R., Primus, F. J. & Kuhus, W.: ABH and Lewis blood group expression in colorectal carcinoma. *Cancer Res.*, **47**, 1695-1700 (1987).
- 53) Itzkowitz, S. H., Yuan, M., Ferrell, L. D., Ratcliffe, R. M., Chung, Y. -S., Satake, K.,

- Umeyama, K., Jones, R. T. & Kim, Y. S.: Cancer-associated alterations of blood group antigen expression in the human pancreas. *JNCI*, **79**, 425-434 (1987).
- 54) Koprowski, H., Brockhaus, M., Blaszczyk, M. Magnani, J., Steplewski, Z. & Ginsburg, V.: Lewis blood-type may affect the incidence of gastrointestinal cancer. *Lancet*, **1**, 1332-1333 (1982).
- 55) Hirohashi, S., Shimosato, Y., Ino, Y., Tome, Y., Watanabe, M., Hirota, T. & Itabashi, M.: Distribution of blood group antigens and CA19-9 in gastric cancers and non-neoplastic gastric mucosa. *Cann*, **75**, 540-547 (1984).
- 56) Pour, P. M., Tempero, M. M., Takasaki, H., Uchida, E., Takiyama, Y., Burnett, D. A. & Steplewski, Z.: Expression of blood group-related antigens ABH, LewisA, LewisB, LewisX, LewisY, and CA19-9 in pancreatic cancer cells in comparison with the patient's blood group type. *Cancer Res.*, **48**, 5422-5426 (1988).
- 57) 徳丸隆彦, 坂本純一, 渡辺 正, 山内晶司, 伊藤勝基, 市橋秀仁, 中里博昭, 高木 弘: 胃癌における血液型関連抗原 (Le^a, Le^b, X, Y) と CA19-9 (sialylated-Le^a) の免疫組織学的検討. *日消誌*, **84**, 2494-2503 (1987).
- 58) 市原 透, 中尾昭公, 坂本純一, 渡辺 正, 野浪敏明, 原田昭生, 末永昌宏, 鈴木祐一, 高木 弘, 名倉 宏: 肺癌における CA19-9 および関連血液型抗原の組織内分布. *消化器と免疫*, **18**, 250-255 (1987).
- 59) Hansson, G. C. & Zopf, D.: Biosynthesis of the cancer-associated sialyl-Le^a antigen. *J. Biol. Chem.*, **26**, 9388-9392 (1985).
- 60) Itzkowitz, S. H., Yuan, M., Fukushi, Y., Lee, H., Shi, Z., Zurawski, V., Hakomori, S. & Kim, Y. S.: Immunohistochemical comparison of Le^a, monosialosyl Le^a (CA19-9), and disialosyl Le^a antigens in human colorectal and pancreatic tissues. *Cancer Res.*, **48**, 3834-3842 (1988).
- 61) Hamada, Y., Yamamura, M., Hioki, K., Yamamoto, M., Nagura, H. & Watanabe, K.: Immunohistochemical study of carcinoembryonic antigen in patients with colorectal cancer. Correlation with plasma carcinoembryonic antigen levels. *Cancer*, **55**, 136-141 (1985).
- 62) Tabuchi, Y., Deguchi, H. & Saitoh, Y.: Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels of peripheral and draining venous blood in colorectal cancer patients. Correlation with histopathologic and immunohistochemical variables. *Cancer*, **62**, 1605-1613 (1988).

Expression of Blood Group-related Carbohydrate Antigens in Malignant and Non-malignant Pancreatic Tissues and Their Clinicopathological Significance

Yoshitake Satomura, Department of Internal Medicine, Cancer Research Institute, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., 98, 631—657 (1989)

Key words pancreatic cancer, blood group-related antigen, sialylated carbohydrate antigen, monoclonal antibody, immunohistochemistry

Abstract

Although a large variety of sialylated blood group-related carbohydrate antigens have been found expected to be useful markers for pancreatic cancer, the usefulness of each antigen as a tumor marker is still a matter of controversy. In this study, the expression of CA19-9 and CA-50 carrying type I blood group chain, and SLEX and SLX belonging to type II sugar chain, were examined in malignant and non-malignant pancreatic tissues by an immunohistochemical method. The results were compared with those obtained using DU-PAN-2 and ST-439 which have no cross reactivity with blood group substances, and Lewis antigens. All carbohydrate antigens except for SLX (52.4%) were expressed in more than 80% of pancreatic cancer tissues examined. Type I blood group antigens, DU-PAN-2 and ST-439 were localized predominantly in the cytoplasm of cancer cells, while type II carbohydrate antigens were stained mainly on the apical membranes of malignant glands. While type I carbohydrate antigens were expressed in most non-malignant pancreatic tissues, type II blood group antigens and ST-439 were absent in almost all normal cases, suggesting the high tumor-specificity of these antigens. Each antigen was expressed on the apical surface of pancreatic ducts of normal pancreatic tissues. However, in 30 to 40% of tissue specimens of chronic pancreatitis and non-malignant tissue adjacent to cancer, type I antigens and DU-PAN-2 were localized to the cytoplasm of ductal cells. Close correlations were seen between the expression of CA19-9 and CA-50, as well as the expression of SLEX and SLX, but no correlation was detected among the expression of type I and type II blood group antigens, DU-PAN-2 and ST-439. Furthermore, no correlation was observed between the histological types of pancreatic cancer and the frequency of positive cells or staining pattern for each antigen. CA-50 was expressed independent of the presence of Lewis antigens, whereas CA19-9 was negative in four of five cases lacking one or both of Le^a and Le^b, and was faintly stained in the other case. Therefore the expression of CA19-9 seemed to be influenced by the presence of Lewis antigens. All patients showing the occurrence of stromal stain, which might be caused by loss polar expression of antigens and shedding into the surrounding stroma adjacent to malignant glands, revealed high levels of serum antigen. This suggests that stromal appearance of antigens may be one of significant factors in the elevation of serum antigen levels.