

Studies on Microscopic Blood Grouping III. Blood Group Activities in the Intestinal Metaplasia of the Stomach and the Carcinoma of the Gastrointestinal Tract

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/2297/7850

顕微鏡下における血液型判定に関する研究

Ⅲ. 胃の腸上皮化生部と消化管癌部における血液型活性

金沢大学医学部法医学講座 (主任: 永野耐造教授)

大 島 徹

(昭和61年1月29日受付)

本研究は、1) ヒト消化管の病的状態、特に癌および胃の腸上皮化生部における ABO (H), Lewis 活性の変化と 2) 組織材料について血液型判定を行うための根拠と、血液型抗原が果たす生物学的役割を知る手がかりを得るため、血液型活性と消化管上皮性粘液の組織化学的性状の間に存在する関係を解明することを目的とした。血液型活性は市販のモノクローナル抗体を使用し、アビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体 (ABC) 法で検索した。また、上皮性粘液はアルシアンブルー (以下, A1・B, pH2.5) と過ヨウ素酸・シッフ試薬 (以下, PAS) で染色した。Le (a-b+) 型 (分泌型) のヒトの胃の腸上皮化生部には、PAS 染色性の程度に従って、陽性から陰性に至るまで様々な程度の血液型活性を示す異所性杯細胞が存在した。主に A1・B に染まる杯細胞は ABO (H) 活性が陰性であった。Le (a-b+) 型健常胃粘膜では Le^a 活性が陰性であるにもかかわらず、Le (a-b+) 型の異所性杯細胞には同活性が認められた。胃癌では、癌細胞同士が互いに接着し腺腔構造を形成している高分化型腺癌のうち、専ら PAS 反応のみ陽性を示す癌細胞表面、細胞内構造並びに腺腔内粘液性分泌物に、ドナーの血液型と矛盾しない ABO (H) および Lewis 活性が局在していた。これに対し、PAS 反応陽性腺腔構造に乏しい低分化型胃癌では血液型活性は微弱で、個々に分散した印環細胞癌は、胞体内に限局された PAS 反応陽性粘液に一致して血液型活性を有した。小腸癌でも、同様の所見が認められた。大腸癌では、健常組織において ABO (H) 活性が陰性である下行結腸から直腸にかけての癌組織も含めて、PAS 反応陽性領域にドナーの ABO 式血液型と矛盾しない ABO (H) 活性が認められた。また、いくつかの癌組織には、健常部位では存在しない Le^b 活性が検出された。以上の成績から、ABO (H) および Lewis 活性は PAS 反応陽性上皮性粘液に局在し、血液型活性の量的ないし質的变化は、粘液の組織化学的性状の変化に基づいており、また、血液型抗原は細胞間の接着や相互認識に関与していることが明らかとなった。法医実務面では、健常部には存在しない活性に注意を払いながら、病的組織についても ABO および Lewis 式血液型判定を行いうることが判明した。

Key words blood grouping, intestinal metaplasia, gastrointestinal carcinoma, immunohistochemistry, epithelial mucins

著者は、顕微鏡的試料からの血液型判定のため免疫組織化学的方法の応用に関して一連の研究を進め、先にヒト組織・細胞からの血液型判定という法医実務上の観点から健常組織についての検討結果を報告した¹⁾。しかし、現実にはヒト組織はさまざまな病的変化を伴ったものも多く、このような変化が血液型活性やその特異性に及ぼす影響も明らかにされねばならない。また、病的状態における血液型抗原活性の変化を

明らかにすることは、単に法医実務上の問題のみではなく、同時に同抗原の生物学的機能を解明する上で一つの大きな手がかりを与えるものである。特に ABH, Lewis 抗原などは糖蛋白や糖脂質として存在し、糖鎖にその活性部位が担われていることから、cell-to-cell interaction の点で細胞分化や癌化などとの関連上、非常に注目されている^{2)~7)}。

本研究ではこれまでの研究で得られた知見をふま

Abbreviations: ABC, avidin-biotin-peroxidase complex; A1・B, alcian blue; CEA, carcinoembryonic antigen; Le, Lewis; m-Mo, mouse monoclonal; PAS, periodic acid-Schiff.

え、ヒト消化管粘膜を対照とし、その病的状態特に胃の腸上皮化生と消化管各部の癌組織における ABO (H), Lewis 活性分布や上皮性粘液の組織化学的性状について同時に観察し、両者を関連させながら検討した。

材料および方法

I. 材料

いずれも手術的に採取されたものの一部を用いた。このうち、国立金沢病院外科より供与をうけた手術材料（ホルマリン固定）は以下のごとくである。

胃：ドナーの血液型が Le (a-b+) 型の A 型試料 3 例、B 型 1 例、AB 型 1 例、O 型 1 例の病変部（腺癌部、腸上皮化生部）と健常部、Le (a+b-) 型の A 型 2 例、B 型 1 例、AB 型 1 例の病変部と健常部を検索した。

また、A, Le (a-b+) 型回腸と結腸、O, Le (a-b+) 型 S 字状結腸の健常部もあわせて検索した。

さらに、本学第 1 病理学講座所有の外科病理材料のうち、病歴にドナーの ABO 式血液型の記載があった以下の 30 例を検索した。なお、これらの Lewis 式血液型は未検索であった。また、胃癌材料の記載に用いた組織分類記号はすべて胃癌取扱い規約（1985 年 3 月、改訂第 11 版）⁹⁾ によった。

食道：3 例の squamous cell carcinoma のうち A 型 1 例 (moderately differentiated), O 型 2 例 (well differentiated と moderately differentiated 各 1 例) の癌部、健常粘膜部と付属リンパ節。

胃：早期癌は A 型 2 例 (tub₂ と por 各 1 例), B 型 2 例 (pap, tub₁), O 型 4 例 (tub₁ 2 例, por, sig) の計 8 例、進行癌は A 型 3 例 (pap, tub₂, por), B 型 3 例 (tub₂ 2 例, por), AB 型 1 例 (pap), O 型 1 例 (por) の病変部（癌部と、あれば腸上皮化生部も）および健常部。

十二指腸・回腸：A 型の十二指腸癌 1 例 (papillary adenocarcinoma) と O 型の回盲部癌 (well differentiated adenocarcinoma) の癌部と隣接する健常部。

盲腸：A 型の well differentiated adenocarcinoma (papillo-tubular pattern をとる), B 型の mucinous adenocarcinoma, O 型の mucinous adenocarcinoma 各 1 例の癌部と周辺粘膜。

上行結腸：A 型の papillary adenocarcinoma と B 型の well differentiated adenocarcinoma 各 1 例の癌部と隣接する健常部。B 型の tubular adenoma (Group 2) 1 例。

横行結腸：A 型の mucinous adenocarcinoma で一部 papillo-tubular に増殖する癌部と隣接する健常部。

A 型の tubular adenoma (Group 2~3) 1 例。

下行結腸：O 型の papillo-tubular に増殖する moderately differentiated adenocarcinoma の癌部と健常部。

S 字状結腸：B 型 moderately differentiated adenocarcinoma (tub₂) と O 型 well differentiated adenocarcinoma 各 1 例の癌部と健常部。

直腸：A 型 moderately differentiated tubular adenocarcinoma と AB 型 mucinous adenocarcinoma (多量の mucinous lake の中に signet-ring cell が浮遊) 各 1 例の癌部と健常部。

II. 方法

1. 免疫組織細胞化学的方法による ABO (H), Lewis 活性検出

組織や細胞構造との関連を明確に知るため、パラフィン切片について前報¹⁾で最も良好な特異的染色が得られたマウスモノクローナル (mouse monoclonal, m-Mo) 抗 A, 抗 B, 抗 Le^a, 抗 Le^b・IgM 抗体 (Biotest 社) および m-Mo 抗 H・IgM 抗体 (Chembiomed 社) を 1 次抗体とする ABC 法を適用し検討した。また、必要に応じて、上記 m-Mo 抗体を用い蛍光抗体法 (ピオチン・アビジン法) も併用した。反応等の詳細は前報¹⁾のごとく行った。

2. 粘液組織化学的染色

上記と同一材料から作製した組織切片に対し、中性糖蛋白 (中性粘液) 検出のために過沃素酸・Schiff (periodic acid-Schiff, PAS) 反応⁹⁾を、酸性糖蛋白 (シアロムチンおよびスルフォムチン) を検出するためにアルシアンブルー (alcian blue, 以下 Al·B, pH 2.5) 染色¹⁰⁾を、さらに両者の同時的検出のため Al·B/PAS 重染色¹¹⁾を施した。

成 績

I. ABO 式血液型活性

1. 食道

健常部：A 型、O 型材料とも、基底層以外の重層扁平上皮細胞間に存在する PAS 反応陽性物質 (Fig. 1a) に一致して、ドナーと同一の ABO (H) 活性が認められた (Fig. 1b)。また、A 型材料では、弱いながら O (H) 活性が同時に検出された。

癌部：少数の PAS 反応弱陽性を示す癌細胞内と細胞間の一部に、ドナーの ABO 式血液型と一致する活性が認められた。たとえば、検索した O 型材料中の扁平上皮癌細胞の多くは O (H) 活性陰性で、陰性細胞群中に少数の、やや小型の陽性癌細胞が混在していた。また、転移リンパ節は原発巣とほぼ同様の所見を示した。

2. 胃

健常部：Le (a-b+) 型ドナーの胃粘膜では、PAS 反応陽性を示す表層粘液細胞、胃底腺頸部の副細胞、壁細胞および胃腺窩内分泌粘液にドナーの型と同一の ABO (H) 活性が認められた。このうち表層粘液細胞および副細胞では、PAS 反応陽性の核上部ゴルジ装置から細胞内粘液に一致して活性が検出された。

また、壁細胞内の活性は細胞核周囲に多数の顆粒状ないし小桿状あるいは層状構造として存在した。この構造物は PAS 反応弱陽性を示し (Fig. 2)、壁細胞内の管状構造に相当するものと考えられた。これに対して、Le (a+b-) 型ドナーからの試料では上記活性のうち、一部の壁細胞の活性を除いて陰性であった。

ドナーの Lewis 式血液型を調べなかった胃材料については、同一試料内健常粘膜部の ABO (H) 活性を検索し、表層粘液細胞などに同活性が存在する材料は Le (a-b+) 型、有しない材料は Le (a+b-) 型とみなして以下の成績を述べる。

腸上皮化生部：Le (a-b+) 型——PAS 反応が種々の程度に陽性で、なおかつ Al・B で青く染まる粘液を胞体内に有する異所性杯細胞が多数認められる領域では (Fig. 3)、粘液中にドナーの血液型と同一の ABO (H) 活性を示す杯細胞からはほぼ陰性の杯細胞にいたるまで、様々な程度の活性を有する細胞が混在していた (Fig. 4)。しかも、この ABO (H) 活性の強さは杯細胞粘液が示す PAS 反応陽性の程度と相関し、粘液以外では小腸吸収上皮細胞の刷子縁と類似する構造 (PAS 反応陽性) にも明瞭に認められた。O 型以外の材料では、一部の杯細胞に O (H) 活性が同時に検出された。

Le (a+b-) 型——Al・B/PAS 重染色で PAS 反応陽性の杯細胞粘液においても ABO (H) 活性はほぼ陰性で、明らかに Le (a-b+) 型と異なっていた。

胃癌部：Le (a-b+) 型——乳頭腺癌 (pap) や管状腺癌 (tub₁, tub₂) など、高分化～中等度分化した腺癌細胞では通常ドナーの ABO 式血液型と同一の活性が、PAS 反応陽性を示す細胞表面または核周囲ないし核上部のゴルジ装置に一致して認められた。具体例として、腺腔形成の顕著な、O 型高分化型管状腺癌 (tub₁, 早期癌) 細胞の腺腔側表面に存在する PAS 反応陽性構造や同じく PAS 陽性を示す核上部及び腺腔内粘液 (Fig. 5a) に、O (H) 活性が認められた (Fig. 5b)。O 型以外でも、O 型と比べて弱いながら O (H) 活性が検出された。一方、低分化型の印環細胞癌 (signet-ring cell carcinoma, sig) の胞体内に充満する PAS 反応陽性粘液などでも活性が明瞭に認められ、また腺腔構造に乏しい低分化腺癌 (por) でも、一部 PAS 反応陽

性を示す腺腔や腺腔内分泌粘液にはドナーと同一の活性がみられた。しかし、腺腔形成のほとんどない低分化腺癌では血管内皮細胞と赤血球以外は陰性であった。

Le (a+b-) 型——これに相当する O 型印環細胞癌では、腺腔部以外の PAS 反応陽性を示す胞体内粘液には Le (a-b+) 型と異なり必ずしも O (H) 活性は認められなかった。

早期癌と進行癌につき ABO (H) 活性の分布様式について比較検討したが、明らかな差異は認められなかった。

本研究で検索した印環細胞癌 (4 例) のうち 2 例は次のような ABO (H) 活性を示していた。すなわち、AB, Le (a-b+) 型の印環細胞内粘液は健常胃粘膜表層粘液細胞と同程度に著明な PAS 反応陽性を示し (Fig. 6a)、Al・B (pH 2.5) 陰性であった (Fig. 6b)。A 型活性は多数の印環細胞内粘液で認められたが (Fig. 7a)、B 型活性陽性の印環細胞はごく少数に限られた (Fig. 7b)。他の B, Le (a-b+) 型印環細胞癌例では、産生された粘液は Al・B (pH 2.5) に強く染まるものの (Fig. 8a)、PAS 反応は弱陽性ないし陰性となり、同部の ABO (H) 活性および Lewis 活性は陰性であった (Fig. 8b)。しかし、同一切片内のごく一部分に、健常胃粘膜表層部の PAS 反応性と比べて減弱してはいるが、PAS 反応陽性を示す癌部が存在し、同部では B 活性と Lewis 活性が弱いながら認められた。

3. 十二指腸・回腸

健常部：Le (a-b+) 型回腸健常部では、ドナーの ABO 式血液型と同一の活性が、吸収上皮細胞の核上部や、刷子縁 (PAS 反応陽性) および胃粘膜表層部より弱いながら種々の程度に PAS 反応陽性を示す杯細胞内粘液に認められた。A 型十二指腸材料でも同様であった。

癌部：A 型十二指腸癌部では、PAS 反応陽性を示す乳頭状腺癌細胞の表層部 (特に刷子縁) や核上部、並びに分泌粘液 (Fig. 9a) に一致して、A 活性が認められた。特に、癌細胞核上部には顆粒ないし小桿状を呈する A 活性が局在していた (Fig. 9b)。転移リンパ節の癌細胞も原発巣と同様であった。また、少数の癌細胞核上部には O (H) 活性も認められたが、B 活性は常に陰性であった。O 型回盲部癌についても、ドナーと同じ O (H) 活性が上記と同様の分布を示した。

4. 盲腸

A 型、B 型、O 型材料の癌部、健常部 (吸収上皮細胞、杯細胞) ともドナーと同一の活性が PAS 反応陽性部に分布していた。このうち、健常部杯細胞粘液は胃や小腸の上皮性粘液と比べ PAS 反応陽性の程度が減少し、それに対応して活性の陽性の程度も減弱してい

た。A 型材料の癌部には O (H) 活性が陽性～陰性の癌細胞がみられた。

5. 上行結腸

B 型材料では健常部吸収上皮細胞、杯細胞内粘液 (PAS 反応陽性部)、腺癌部癌細胞と PAS 反応陽性分泌粘液に B 活性と弱い O (H) 活性が認められた。

また、腺癌以外に合併した大腸腺管腺腫 (tubular adenoma, Group 2) における ABO (H) 活性は、健常部とほぼ同様であった。一方、A 型材料では、小腺腔を形成している癌部の一部に A 活性を認めたが、健常部吸収上皮細胞や杯細胞は A 活性陰性であった。

6. 横行結腸

健常部：A 型材料の健常粘膜陰窩部杯細胞粘液のうち、全体の約 2 割程度を占める PAS 反応弱陽性粘液や吸収上皮細胞核上部に A 活性のみが認められた。

腺腫部：腺管腺腫上皮の杯細胞の一部に A 活性が認められた。

癌部：PAS 反応陽性の癌細胞細胞質やその産生する粘液には A 活性と O (H) 活性が認められた。

7. 下行結腸～直腸

健常部：A1・B/PAS 重染色を施すと、杯細胞内粘液は A1・B の青色主体に染色され PAS 反応は陰性ないし弱陽性で (Fig. 10)、下行結腸から遠位部では ABO (H) 活性は陰性であった。血管内皮細胞と赤血球にはドナーと同じ型の活性が認められた。

癌部：O 型下行結腸癌と O 型 S 字状結腸癌では明らかに正常とは異なり、PAS 反応陽性癌細胞やその腺腔内分泌粘液に O (H) 活性が明瞭に検出された (Fig. 11, 12)。B 型 S 字状結腸癌の一部には PAS 反応陽性の腺腔がみられ、B 活性のみが同部で弱陽性であった。また、A 型直腸癌の PAS 反応陽性腺腔部 (全腺腔の一部) には A 活性と弱い O (H) 活性が認められた。AB 型 mucinous type の腺癌では、PAS 反応陽性粘液と粘液内に浮遊する、PAS 反応陽性を示す signet-ring cell の胞体 (Fig. 13a) に A 活性のみが認められた (Fig. 13b)。一方、B 活性は前述の AB, Le (a-b+) 型胃印環細胞癌と同じく、ほぼ陰性であった。

II. Lewis 式血液型活性

1. 食道

健常部：健常粘膜の ABO (H) 活性分布と前報¹⁾の成績から Le (a-b+) 型と判断される O 型健常部では、Le^a活性はほぼ陰性であるが、Le^b活性は基底層以外で明瞭に検出され、特に PAS 反応陽性を示す重層扁平上皮細胞間に局在していた。

癌部：扁平上皮癌部の所々に PAS 反応陽性を示す癌細胞や細胞間基質が散見され (Fig. 14a)、同部では Le^aまたは Le^b活性 (Fig. 14b)、あるいは両活性とも陽

性となった。しかし、多くの癌細胞は PAS 反応陰性で、Lewis 活性も認められなかった。

2. 胃

健常部：前報¹⁾に示した Lewis 活性部位のほとんどは ABO (H) 活性の項で述べた PAS 反応陽性部位に対応していた。ただし、主細胞核上部に小顆粒状にみられた Le^b活性に対応する PAS 反応陽性部位は見出しえなかった。

腸上皮化生部：Le (a-b+) 型——健常部表層粘液細胞や副細胞と異なり、PAS 反応陽性を示す杯細胞胞体内粘液に Le^a, Le^b両活性が認められた。また、ABO (H) 活性と同様、個々の杯細胞の PAS 染色性に従って陽性から陰性までの不均一な活性分布が認められた (Fig. 15, 16)。

Le (a+b-) 型——腸上皮化生部の杯細胞内粘液には Le (a-b+) 型と同じく、Le^a, Le^b両活性が不均一に分布した。

癌部：Le (a-b+) 型——腺癌部では、Le^b活性が多数の癌細胞細胞質、腺腔内自由面および分泌粘液 (PAS 反応陽性～弱陽性) に認められた。一方、Le^a活性については陽性癌細胞が少数混在していたが、多数の癌細胞は Le^a陰性であった。一般的に高分化～中等度分化の管状腺癌で Le^b活性が明瞭に認められる傾向にあった。

Le (a+b-) 型——これに相当する O 型材料 (sig) では、一部腺腔形成の認められる部分も含め印環細胞にも Le^a, Le^b両活性が検出され、Le^b活性が主体をなす Le (a-b+) 型とやや異なっていた。

3. 十二指腸・回腸

健常部：Le (a-b+) 型回腸では、ほぼ全ての吸収上皮細胞とその刷子縁 (PAS 反応陽性)、回腸陰窩表層から深部までの PAS 反応陽性杯細胞内粘液で Le^b活性が陽性となり、Le^a活性は腺窩浅層の一部の杯細胞と吸収上皮細胞刷子縁で認められた。

癌部：A 型十二指腸腺癌細胞表面、特に PAS 反応陽性刷子縁で、Le^a, Le^b両活性が明瞭に認められた。また、ABO (H) 活性が著明に分布し Le (a-b+) 型と推定される回盲部癌部では Le^b活性のみが明瞭に認められた。

4. 盲腸

健常部：Le^b活性はほぼ全ての大腸陰窩とその杯細胞で陽性となり、Le^a活性は一部の大腸陰窩と杯細胞に限って認められた。

癌部：Le^a, Le^b両活性が癌細胞細胞質と腺腔内 PAS 反応陽性粘液に認められた。ただし Le^a活性陽性部位は Le^b活性と比べ少数であった。

5. 上行結腸

B型材料は健常部のABO(H)活性分布からLe(a-b+)型と推定され、Le^a活性が健常粘膜、腺腫部並びに癌部腺腔部で認められたが、Le^a活性はいずれでも陰性であった。一方、Le(a+b-)型と推定されたA型材料では、Le^a活性がほぼ全ての大腸陰窩杯細胞、癌細胞の胞体と腺腔内粘液で認められた。これに対し、Le^b活性は健常部粘膜で陰性であったが、癌細胞では陽性となった。

6. 横行結腸

Le^a活性が主に健常部陰窩表層から中間部に位置する大部分の杯細胞で認められたのに対し、Le^b活性は数は少ないが健常部陰窩浅層から深層部の杯細胞と癌部(癌細胞胞体、分泌粘液)の両方で陽性であった(Fig. 17)。また、腺管腺腫のLewis活性は健常部とほぼ同様であった。

7. 下行結腸～直腸

癌部で健常部と異なる明瞭なO(H)活性を認めた材料のうち、O型S字状結腸癌部のPAS反応陽性粘液には主にLe^a活性が存在し、Le^b活性は一部で陽性であった。また、AB型直腸癌の印環細胞とその産生粘液にもLe^a、Le^b両活性が検出された。O型下行結腸癌部では癌細胞の胞体と腺腔内分泌粘液並びに健常部のうち吸収上皮の一部と杯細胞にLe^b活性のみが認められた。

考 察

病的変化に伴う血液型抗原分布の変化について、近年、生化学的または免疫組織化学的方法を用い、特に癌化との関連で多くの研究がなされている。

このうち生化学的研究の成果はHakomori¹²⁾の総説に詳しく、O型やB型患者の腫瘍組織に出現したA活性を有するdifucosyl glycolipidの例や、遺伝子型が $\bar{p}\bar{p}$ の癌患者に本来出現しないはずのP抗原が出現したり¹³⁾、ABH抗原(type 2 chain)の生合成が阻止され、前駆物質であるIi抗原が蓄積する¹⁴⁾などの異常が報告されている。このなかでHakomoriは、ヒトの腫瘍における血液型抗原の変化を、'incompatible antigens'の出現と、前駆物質の蓄積を伴った血液型抗原の欠落、deletionの2つに総括している。

また、混合凝集反応法や免疫組織化学的方法を用いた形態学的研究においては、肺癌¹⁵⁾⁻¹⁷⁾、胃癌¹⁶⁾¹⁸⁾⁻²²⁾³⁰⁾、大腸癌¹⁶⁾²²⁾⁻²⁶⁾³⁰⁾、膀胱癌²⁷⁾⁻²⁹⁾、肝癌¹⁶⁾²²⁾³⁰⁾、腎癌³⁰⁾、子宮癌¹⁶⁾³¹⁾³²⁾、食道異型上皮(dysplasia)および食道癌¹⁶⁾³³⁾、皮膚前癌病変³⁴⁾など各種臓器別に個別的に検討が加えられているが、組織学的変化と血液型抗原分布の変化を統一的かつ明確に説明できる結論はまだ得られていない。これらのうち石山ら³⁵⁾は混合凝集反応

法をホルマリン固定癌組織に適用し、ABH血液型抗原の生合成過程との関連によって以下のように分類している。すなわち、癌組織を、1)正常細胞と同様H物質及びAまたはB型物質が検出される癌組織、2)AまたはB型でありながらH物質のみが検出される癌組織、3)AまたはB型物質は癌組織で認められる(正常組織もAまたはB)が、H物質が検出されない癌組織、4)正常組織ではABH活性をもつが、癌組織では活性が消失するもの、の四種類に大別した。また、これらの所見は癌の病巣部全体に共通して出現するのが一般的であるが、一部には同一病巣部に各種の性質をおびた癌組織が共存する所見も見られたと報告している。

すでに著者の別報¹⁾で明らかなように、ヒト消化管粘膜にはABO(H)およびLewis活性が豊富に分布しており、血液型活性分布・局在の病的状態における変化を検索する上で格好の対象と考えられる。一方、血液型抗原は生体内で糖蛋白、糖脂質として存在しており、胃液や唾液から糖蛋白を抽出し標品のABO(H)活性の化学組成や電気泳動度を検討した生化学的研究³⁶⁾³⁷⁾や、消化管粘膜および唾液腺の上皮性粘液を粘液組織化学的に検索した報告³⁸⁾⁻⁴¹⁾などがみられる。しかしながら血液型抗原活性とそれを担う上皮性粘液(複合糖)の性状変化を同時に組織学的に検討した研究は見あたらない。

本研究ではこうした観点から、血液型抗原の生物学的役割を解明する一助となるよう、消化管の病的状態のうち癌組織と胃の腸上皮化生を対象に検討した。

食道扁平上皮癌部では、健常粘膜部に認められた細胞の規則的配列と細胞間PAS反応陽性物質が消失または減少しており、これに伴い細胞間隙に局在した活性も消失し、少数のPAS弱陽性癌細胞と細胞間のみで活性が認められた。これに関連し、Dabelsteenら⁴²⁾⁴³⁾は口腔粘膜創傷部辺縁部の創傷治癒に関与する増殖上皮細胞群では、正常状態で認められるABO(H)活性が消失することを報告し、活性の消失が癌化以外に細胞の正常配列からの逸脱、即ち、細胞のmobilization(流動化)と関連することを示唆している。したがって、血液型活性陽性の細胞間物質は細胞同士の接着や相互認識に関与しているものと考えられる。

胃・腸上皮化生部は、組織学上A1・B(pH 2.5)染色で青く染まる粘液を有する異所性杯細胞の出現に特徴づけられ⁴⁴⁾、その他PAS反応で赤紫色に染まる刷子縁構造を管腔側に有する小腸吸収上皮類似の細胞を認める場合も多い⁴⁵⁾。この腸上皮化生は従来の病理組織学的⁴⁴⁾⁻⁴⁷⁾、生化学的研究⁴⁸⁾から、分化型胃癌の発生母地(いわゆる前癌病変)と考えられている。

本研究において、腸上皮化生部の杯細胞内粘液は、Al・B/PAS 重染色によって赤紫色から青紫色に亘る色調を示していた。これは、個々の杯細胞によって PAS に対する染色態度が均一でないことを示し、杯細胞内粘液が質的に不均一であることが明らかになった。ドナーが Le (a-b+) 型の腸上皮化生部の ABO (H) 活性は、上記の PAS 染色性が強い杯細胞で、細胞核上部のおそらくゴルジ装置からそれに連続する貯蔵粘液に局在し、光顕で前者は微小な膜構造に一致して顆粒状、小桿状ないし層状に認められ、後者は粘液内に微細顆粒状に認められた。一方、Al・B の色調が主体の杯細胞では弱陽性ないし陰性となった。また、Le (a+b-) 型腸上皮化生部では ABO (H) 活性は陰性であった。このように、Le (a-b+) 型の腸上皮化生部は ABO (H) 活性分布の点で健常胃粘膜と異なり、明らかに区別することができる。また、腸上皮化生部の Lewis 活性についても、ドナーの Lewis 型に関係なく Le^a、Le^b両活性が杯細胞によって異なる程度で存在し、Le^a活性を持たぬ Le (a-b+) 型健常部から大きく隔っていた。

腸上皮化生以外の変化として胃炎が存在したが、Goldman ら³⁹⁾の報告と同様に Al・B/PAS 重染色で認めうる程度の上皮性粘液の変化はなく、ABO (H) および Lewis 活性が無変化であることに対応しているものと思われた。

ドナーが Le (a-b+) 型の胃癌部では腺腔形成性の癌細胞と腺腔内粘液が PAS 反応陽性を示し、通常同部にはドナーと同一の ABO (H) 活性が認められた。しかし、Le (a+b-) 型の胃癌では ABO (H) 活性が陰性を示す部位も認められ、胃癌組織の ABO (H) 活性は基本的に発生母地の性質に規定されているものと考えられた。

胃癌組織分類の点からみて、高分化型管状腺癌細胞では腺腔側表面に小腸吸収上皮の刷子縁に類似した構造を有し、同部は PAS 反応、ABO (H) 活性のいずれも陽性と結論される。

AB, Le (a-b+) 型印環細胞癌でみられた A 活性および B 活性の分離現象については、同様の現象が胃癌⁴⁰⁾および子宮内膜癌³²⁾で報告されている。この原因として、癌化による細胞内環境変化のため B 型遺伝子が不活化されたこと、B 型遺伝子の基質特異性が変化し誤って A 抗原を生合成するようになったこと、あるいは、A 型活性を示す新たな抗原物質が合成されていること⁵⁰⁾などが推測されよう。また、B, Le (a-b+) 型ドナーから発生した印環細胞癌で主に Al・B で青く染まる粘液が産生され、B および Lewis 活性が一部を除いて認められなかった原因については中城ら⁵¹⁾の報

告が示唆深い。すなわち、同氏らは胃印環細胞癌における carcinoembryonic antigen (CEA) 及び腸粘液抗原を検討し、胃印環細胞癌は胃型の粘液に限らず、周囲の条件により腸型の粘液を産生しうること、すなわち腸としての一形質を発現しうる事実を報告している。前述の Al・B (pH 2.5) 陽性、PAS 弱陽性で B 活性陰性を示す粘液を産生する癌もこれに該当するものと思われる。

一方、胃癌の Lewis 活性についても基本的には ABO (H) 活性と同じく、発生母地となった胃粘膜健常部の Lewis 活性分布に類似し、腺腔形成性の明瞭な癌組織の PAS 反応陽性部で検出され、腺腔および粘液産生能に劣る低分化腺癌では陰性となるものと考えられる。

また、血液型活性分布の点では早期癌と進行癌の間に差異はないものと判断される。

以上、分化型胃腺癌では癌細胞同士が互いに接着し、PAS 反応陽性物質が細胞間に分布する腺腔構造を形成しているのに対し、個々の癌細胞が分散している胃印環細胞癌では、PAS 反応陽性物質も胞体内に貯留される傾向が認められている。この事実と PAS 反応陽性物質に血液型抗原活性が認められることから、食道癌の項でも述べたように、血液型抗原は細胞相互の接着や認識に密接に関与しているものと考えられる。

十二指腸から回腸では分化型乳頭状腺癌で、分化型胃癌と同様に癌細胞核上部の PAS 陽性顆粒状構造から腺腔側の刷子縁にかけて血液型活性が認められたが、これは分化型胃癌と同様の現象と理解される。刷子縁に明瞭に示される血液型活性に関連し、この部位が粘液多糖類に豊富糖衣 (glycocalyx) で覆われていること⁵²⁾と、ヒト小腸刷子縁に存在するアミノペプチダーゼなど、PAS 反応陽性糖蛋白からなる少なくとも 6 種の加水分解酵素には分泌型の場合、ドナーと同一の ABO (H) 活性基が認められるという報告⁵³⁾などは極めて示唆深いものである。

盲腸から直腸では、肛門側に近づくにつれ結腸陰窩杯細胞は主に Al・B (pH 2.5) で染色され、反対に PAS 反応はほぼ陰性に近い程度に減弱する。こうした粘液組成の変化が下行結腸から直腸健常粘膜で ABO (H) 活性が陰性となる理由の 1 つと考えられる。

一般にヒトおよび他の哺乳類の上皮性粘液は、ポリペプチド骨格にオリゴ糖からなる側鎖が結合し、側鎖末端は多くの場合シアル酸またはフコースである⁵⁴⁾⁵⁵⁾。この上皮性粘液(糖蛋白)は中性粘液、シアロムチン、スルフォムチンに大別され、中性粘液は PAS 反応陽性、Al・B (pH 2.5) 染色陰性であり、シアロムチンとスルフォムチン(硫酸化糖蛋白)は Al・B

(pH 2.5) に陽性で、PAS に対しては陰性～弱陽性など種々の反応態度を示すといわれている⁶⁰⁾。Goldman ら³⁹⁾はヒト消化管正常粘膜および癌組織における上皮性粘液の性状とその局在を検討し、正常胃粘膜のうち表層粘液細胞、胃小窩部粘液細胞および副細胞には、胃体部、幽門部を問わず PAS 陽性中性粘液が存在し、正常小腸粘膜杯細胞には非硫酸化酸性粘液 (non-sulfated acid mucin) すなわちシアロムチンが、また正常結腸粘膜杯細胞内の粘液にはシアロムチンに加えてスルフォムチンが含まれていることを報告している。

著者の成績では、小腸粘膜杯細胞内の粘液は結腸粘膜杯細胞内の粘液に比べ、一般に PAS 反応陽性の程度が強く、それと平行して同部の ABO (H) 活性もより明瞭に認められている。これに関し、Lev ら³⁸⁾はヒト上皮性粘液を組織化学的に検討し、小腸の上皮性粘液が結腸粘液よりも PAS 反応で強く染色されることを報告しており、その理由として Hoskins ら³⁶⁾は結腸ではフコースを含有する中性粘液が減少していることを指摘している。

さらに、糖蛋白の性質と血液型活性の関係を示す血清学的知見として、Nishi ら⁵⁷⁾は AB-MN 型ヒト赤血球膜からシアロ糖蛋白を抽出し、赤血球凝集反応で標品中に A, B, M および N 活性を検出している。

これらを総合するとフコースに豊富 PAS 陽性中性粘液や、シアロムチンなどが豊富な胃および小腸健常粘膜には明瞭な ABO (H) 活性が検出されるが、中性粘液が減少し代わりにスルフォムチンを含む結腸健常粘膜杯細胞では、血液型活性の程度も減弱しているものと考えられる。

こうした健常部に対し、結腸腺癌部の多くは腹腔内粘液と癌細胞 (特に腹腔側) で、PAS 反応陽性となり、ドナーの血液型と同一の ABO (H) 活性が新たに出現していた。結腸癌症例の過半数ではスルフォムチンの減少が報告されている³⁹⁾ので、癌部の粘液組成の変化が ABO (H) 活性の異常発現と関連しているものと推測される。おそらく癌化による細胞の脱分化のため、正常状態では抑制を受けていた血液型抗原遺伝子が胎生期と同じく発現したためと考えられる。

今回検索した一部手術材料ドナーの Lewis 式血液型が不明なため、結腸健常部の Lewis 活性分布については十分な考察ができないが、著者の検索した範囲では、下行結腸から直腸にかけての健常結腸遠位部は Le^a活性よりも Le^b活性が主体を占める例が多かった。また結腸および直腸癌部の Lewis 活性分布についても、遠位部結腸 (下行結腸から直腸) 癌では Le^b活性の出現が特徴的とする報告²⁰⁾⁵⁸⁾と同様の傾向を認めた。

このように、下行結腸から直腸までの大腸左半部は ABO (H), Lewis 活性分布において他の消化管とは質的に異なっていると考えられる。これに関連し、Wiley ら⁵⁹⁾は ABO (H) 活性の有無が横行・下行結腸から直腸にかけての癌の悪性度と相関するのに対し、上行結腸癌ではこうした相関は認めないとしている。また、Picard ら⁶⁰⁾は胃の糖蛋白と結・直腸 (colorectal) の糖蛋白のピーナツレクチンや抗 Ii 血清に対する反応性を検討し、両者のオリゴ糖骨格の差異を指摘しており、これからも上部消化管と下部消化管の質的相違がうかがわれる。

なお、今回検索した大腸腺管腺腫⁶¹⁾の 2 例 (A 型, B 型各 1 例) では、粘液組成、血液型活性ともに健常粘膜との差異は見い出せなかった。Goldman ら³⁹⁾も大腸腺腫の粘液組成は健常部と同様であったと報告しているが、詳しい組織像については不明である。一般に大腸腺腫は大腸癌の前癌病変と考えられている⁶²⁾だけに、今後、より異型度の高い例や絨毛腺腫⁶³⁾を対象に再検討する必要があると思われる。

以上、本研究および既報¹⁾により細胞内の血液型抗原活性を特異的に検出することや、同時に癌化など病態における同抗原の変化等が明らかにされたことから、従来の報告^{63)~66)}なども考慮に入れると、臨床腫瘍診断学的な面からの利用価値は極めて高くなるものと考えられる。今後は病的変化に伴う血液型抗原の変化、すなわち糖鎖構造変化が遺伝子レベルのいかなる異常と関連しているかについて、さらに系統的に解明される必要があろう。

結 論

血液型抗原が有する生物学的機能を解明する手がかりを得るため、モノクローナル抗体を用いる免疫組織化学的方法と AI・B, PAS 染色などの粘液組織化学的方法を用い、ヒト消化管健常粘膜、胃の腸上皮化生部並びに消化管癌を対象に、血液型活性と上皮性粘液の関連を検討した。その結果、以下の結論を得た。

1. マウスモノクローナル抗体を用い ABC 法で検出したヒト消化管健常粘膜における ABO (H), Lewis 活性は PAS 反応陽性を示す上皮性粘液および細胞内小器官 (特にゴルジ装置) に一致して局在していた。

2. ヒト消化管癌組織および胃の腸上皮化生部における ABO (H), Lewis 活性の変化は、上皮性粘液 (糖蛋白) 成分の質的变化と密接に関連しており、活性の程度は主に病的組織・細胞の PAS 染色性に依存していた。

3. 胃粘膜腸上皮化生部に出現する血液型活性の不均一性、多様化は明らかに健常粘膜と異なっており、

病変の指標となりえたが、大腸腺管腺腫については特徴的な変化はみられなかった。

4. 血液型活性はヒト組織・細胞が示す生物学的マーカーの1つであり、その検索は一般病理組織学および臨床腫瘍学上有用な方法と考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました永野耐造教授に深甚の謝意を表します。また、終始御指導、御助言を頂きました田中宣幸助教授、前田均講師に深謝します。さらに、貴重な材料および病理所見を御提供いただいた金沢大学医学部病理学第一講座中西功夫教授並びに勝田省吾助教授、国立金沢病院外科の諸先生方に心から感謝いたします。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金(奨励研究(A), 特別研究員)の援助を受けたことを記し、謝意を表する。

なお、本論文の一部は、第6回日本法医学会中部地方会(1984年, 名古屋), 第64回ドイツ法医学会総会(1985年, ハンブルク)および第13回国際法医・社会医学会(1985年, ブタペスト)で発表した。

文 献

- 1) 大島 徹: 顕微鏡下における血液型判定に関する研究. I. ヒト組織・細胞内 ABO (H) および Lewis 活性検出による血液型判定. 十全医会誌, **94**, 1169-1183 (1985).
- 2) 渡辺清博・箱守仙一郎: 免疫化学(大沢利昭編), 初版, 211-229 頁, 南江堂, 東京, 1983.
- 3) 牧田 章: 癌化による糖脂質の変化—ヒト癌関連単クローン抗体に対する糖脂質抗原—. 蛋白質 核酸 酵素, **30**, 169-183 (1985).
- 4) Dabelsteen, E., Vedtofte, P., Hakomori, S. & Young, W. W.: Carbohydrate chains specific for blood group antigens in differentiation of human oral epithelium. *J. Invest. Dermatol.*, **79**, 3-7 (1982).
- 5) Dabelsteen, E., Buschard, K., Hakomori, S. & Young, W. W.: Pattern of distribution of blood group antigens on human epidermal cells during maturation. *J. Invest. Dermatol.*, **82**, 13-17 (1984).
- 6) Gooi, H. C., Feizi, T., Kapadia, A., Knowles, B. B., Solter, D. & Evans, M. J.: Stage-specific embryonic antigen involves $\alpha 1 \rightarrow 3$ fucosylated type 2 blood group chains. *Nature*, **292**, 156-158 (1981).
- 7) Childs, R. A., Gregoriou, M., Scudder, P., Thorpe, S. J., Rees, A. R. & Feizi, T.: Blood group-active carbohydrate chains on the receptor for epidermal growth factor of A431 cells. *EMBO J.*, **3**, 2227-2233 (1984).
- 8) 胃癌研究会編: 胃癌取扱い規約, 改訂第 11 版, 金原出版, 東京, 1985.
- 9) 佐野 豊: 組織学研究法, 第 6 版, 455-456 頁, 南山堂, 東京, 1981.
- 10) 佐野 豊: 組織学研究法, 第 6 版, 462-463 頁, 南山堂, 東京, 1981.
- 11) 杉山繁雄: 染色法のすべて(月刊 Medical Technology 編), 第 2 版, 78-79 頁, 医歯薬出版, 東京, 1984.
- 12) Hakomori, S.: Tumor-associated carbohydrate antigens. *Ann. Rev. Immunol.*, **2**, 103-126 (1984).
- 13) Kannagi, R., Levine, P., Watanabe, K. & Hakomori, S.: Glycolipid and glycoprotein profiles and characterization of the major glycolipid antigen in gastric cancer of the 1951 patient of blood group genotype pp (Mrs. D. J.). *Cancer Res.*, **42**, 5249-5254 (1982).
- 14) Feizi, T., Turberville, C. & Westwood, J. H.: Blood-group precursors and cancer-related antigens. *Lancet*, *ii*, 391-393 (1975).
- 15) Davidsohn, I. & Ni, L. Y.: Loss of isoantigens A, B, and H in carcinoma of the lung. *Am. J. Pathol.*, **57**, 307-334 (1969).
- 16) 石山晃夫: 抗原の局在性について. 日法医誌, **36**, 70-84 (1982).
- 17) Hirohashi, S., Ino, Y., Kodama, T. & Shimosato, Y.: Distribution of blood group antigens A, B, H, and I (Ma) in mucus-producing adenocarcinoma of human lung. *JNCI*, **72**, 1299-1305 (1984).
- 18) Davidsohn, I., Ni, L. Y. & Stejskal, R.: Tissue isoantigens A, B, and H in carcinoma of the stomach. *Arch. Pathol.*, **92**, 456-464 (1971).
- 19) Slocombe, G. W., Berry, C. L. & Swettenham, K. V.: The variability of blood group antigens in gastric carcinoma as demonstrated by the immunoperoxidase technique. *Virchows Arch. [Pathol. Anat.]*, **387**, 289-300 (1980).
- 20) Kapadia, A., Feizi, T., Jewell, D., Keeling, J. & Slavin, G.: Immunocytochemical studies of blood group A, H, I, and i antigens in gastric mucosae of infants with normal gastric histology and of patients with gastric carcinoma and chronic benign peptic ulceration. *J. Clin. Pathol.*, **34**, 320-337 (1981).

- 21) 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. *Gann*, **75**, 540-547 (1984).
- 22) Ernst, C., Thurin, J., Atkinson, B., Wurzel, H., Herlyn, M., Stromberg, N., Civin, C. & Koprowski, H.: Monoclonal antibody localization of A and B isoantigens in normal and malignant fixed human tissues. *Am. J. Pathol.*, **117**, 451-461 (1984).
- 23) Denk, H., Tappeiner, G. & Holzner, J. H.: Blood group substances (BG) as carcinofetal antigens in carcinomas of the distal colon. *Europ. J. Cancer*, **10**, 487-490 (1974).
- 24) 細川武典: 癌胎児性抗原 (CEA) と ABH 血液型抗原との関連性について—大腸癌と正常大腸における抗原の局在性—。帝京医学雑誌, **7**, 115-128 (1984).
- 25) Yonezawa, S., Nakamura, T., Tanaka, S. & Sato, E.: Glycoconjugate with *ulex europaeus* agglutinin-I-binding sites in normal mucosa, adenoma, and carcinoma of the human large bowel. *J. Natl. Cancer Inst.*, **69**, 777-785 (1982).
- 26) Yuan, M., Itzkowitz, S. H., Palekar, A., Shamsuddin, A. M., Phelps, 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).
- 27) Bergman, S. & Javadpour, N.: The cell surface antigen A, B or O(H) as an indicator of malignant potential in stage A bladder carcinoma: Preliminary report. *J. Urol.*, **119**, 49-51 (1978).
- 28) Decenzo, J. M., Howard, P. & Irish, C. E.: Antigenic deletion and prognosis of patients with stage A transitional cell bladder carcinoma. *J. Urol.*, **114**, 874-878 (1975).
- 29) Coon, J. S., Weinstein, R. S. & Summers, J. L.: Blood group precursor T-antigen expression in human urinary bladder carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.*, **77**, 692-699 (1982).
- 30) Ernst, C., Atkinson, B., Wysocka, M., Blaszczyk, M., Herlyn, M., Sears, H., Steplewski, Z. & Koprowski, H.: Monoclonal antibody localization of Lewis antigens in fixed tissue. *Lab. Invest.*, **50**, 394-400 (1984).
- 31) Davidsohn, I., Kovarik, S. & Ni, L. Y.: Isoantigens A, B, and H in benign and malignant lesions of the cervix. *Arch. Pathol.*, **87**, 306-314 (1969).
- 32) Ishiyama, I.: Histochemical demonstration of biosynthetic pattern of ABH isoantigens in various tissues. *Proc. Japan Acad.*, **55**, Ser. B, 329-334 (1979).
- 33) Sato, E., Maruta, K., Yonezawa, S. & Nakamura, T.: Blood group H (O) antigen in normal, dysplastic and carcinomatous esophageal epithelium. *Gann*, **75**, 223-229 (1984).
- 34) Dabelsteen, E., Vedtofte, P., Hakomori, S. & Young, W. W., Jr.: Accumulation of a blood group antigen precursor in oral premalignant lesions. *Cancer Res.*, **43**, 1451-1454 (1983).
- 35) 石山晃夫・小室絵里佳・小川公平・藤田 潤: ヒト癌組織の ABH 血液型活性について, 帝京医学雑誌, **2**, 169-176 (1979).
- 36) Hoskins, L. C. & Zamcheck, N.: Studies on gastric mucins in health and disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 767-774 (1963).
- 37) Glass, G. B. J.: Mucosubstances of gastric secretion in man and their biological activity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 775-793 (1963).
- 38) Lev, R. & Spicer, S. S.: A histochemical comparison of human epithelial mucins in normal and in hypersecretory states including pancreatic cystic fibrosis. *Am. J. Pathol.*, **46**, 23-47 (1965).
- 39) Goldman, H. & Ming, S. -C.: Mucins in normal and neoplastic gastrointestinal epithelium. Histochemical distribution. *Arch. Pathol.*, **85**, 580-586 (1968).
- 40) Schrager, J. & Oates, M. D. G.: Relation of human gastrointestinal mucus to disease states. *Br. Med. Bull.*, **34**, 79-82 (1978).
- 41) Quintarelli, G.: Histochemical identification of salivary mucins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 339-363 (1963).
- 42) Dabelsteen, E. & Fejerskov, O.: Loss of epithelial blood group antigen-A during wound healing in oral mucous membrane. *Acta path. microbiol. scand. Sect. A*, **82**, 431-434 (1974).
- 43) Mackenzie, I. C., Dabelsteen, E. & Zimmermann, K.: The relationship between expression of epithelial B-like blood group antigen, cell movement and cell proliferation. *Acta path. microbiol. scand. Sect. A*, **85**, 49-56 (1977).
- 44) 岩瀨三哉・渡辺英伸・伊津野 稔・成沢林太郎: 腸

上皮化生と萎縮-胃癌との関連-。臨床科学, 21, 87-94 (1985).

45) 中村恭一: 胃癌の構造, 初版, 84-108 頁, 医学書院, 東京. 1982.

46) Nagayo, T. & Komagoe, T.: Histological studies of gastric mucosal cancer with special reference to relationship of histological pictures between the mucosal cancer and the cancer-bearing gastric mucosa. *Gann*, 52, 109-119 (1961).

47) Ming, S. -C., Goldman, H. & Freiman, D. G.: Intestinal metaplasia and histogenesis of carcinoma in human stomach. Light and electron microscopic study. *Cancer*, 20, 1418-1429 (1967).

48) Kawachi, T., Kurisu, M., Numanyu, N., Sasajima, K., Sano, T. & Sugimura, T.: Pre-cancerous changes in the stomach. *Cancer Res.*, 36, 2673-2677 (1976).

49) Denk, H., Tappeiner, G. & Holzner, J.H.: Independent behavior of blood group A- and B-like activities in gastric carcinomata of blood group AB individuals. *Nature*, 248, 428-430 (1974).

50) Yokota, M., Warner, G. A. & Hakomori, S.: Blood group A-like glycolipid and a novel Forssman antigen in the hepatocarcinoma of a blood group O individual. *Cancer Res.*, 41, 4185-4190 (1981).

51) 中城義之・森 武貞・李 伯権・稲治英生・井口正男・神前五郎: 消化器癌粘液の免疫組織学的研究(3), 胃印環細胞癌について。日本癌学会総会記事, 39, 265 (1980).

52) 藤田尚男・藤田恒夫: 標準組織学各論, 第2版, 123-124 頁, 医学書院, 東京. 1984.

53) Triadou, N., Audran, E., Rousset, M., Zweibaum, A. & Oriol, R.: Relationship between the secretor status and the expression of ABH blood group antigenic determinants in human intestinal brush-border membrane hydrolases. *Biochim. Biophys. Acta*, 761, 231-236 (1983).

54) Gottschalk, A.: The basic structure of glycoproteins and problems of their chemical and physico-chemical analysis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 106, 168-176 (1963).

55) Pigman, W. & Tsuiki, S.: The nature of the epithelial mucins. *Internat. Dent. J.*, 9, 502-516 (1959).

56) 杉山武敏: 顕微鏡的組織化学(上)(岡本耕造編), 第4版, 195-204 頁, 医学書院, 東京. 1976.

57) Nishi, K., Tanaka, N., Maeda, H. & Tsuji, T.: Effects of heating on the blood-group activities of sialoglycoprotein preparation obtained from AB-MN human erythrocytes. *Act. Crim. Japon.*, 50, 137-142 (1984).

58) Hounsell, E. F. & Feizi, T.: Gastrointestinal mucins. Structures and antigenicities of their carbohydrate chains in health and disease. *Med. Biol.*, 60, 227-236 (1982).

59) Wiley, E. L., Mendelsohn, G. & Eggleston, J. C.: Distribution of carcinoembryonic antigens and blood group substances in adenocarcinoma of the colon. *Lab. Invest.*, 44, 507-513 (1981).

60) Picard, J. K. & Feizi, T.: Peanut lectin and anti-Ii antibodies reveal structural differences among human gastrointestinal glycoproteins. *Mol. Immunol.*, 20, 1215-1220 (1983).

61) 大腸癌研究会編: 臨床・病理 大腸癌取扱い規約, 改訂第3版, 金原出版, 東京. 1983.

62) 喜納 勇: 大腸癌のすべて(常岡健二編), 初版, 72-87 頁, 南江堂, 東京. 1978.

63) Neville, A. M., Foster, C. S., Moshakis, V. & Gore, M.: Monoclonal antibodies and human tumor pathology. *Hum. Pathol.*, 13, 1067-1081 (1982).

64) 長村義之: 酵素抗体法(渡辺慶一・中根一穂編), 改訂版, 217-229 頁, 学際企画, 東京. 1985.

65) Bariéty, J., Oriol, R., Hinglais, N., Zanetti, M., Bretton, R., Dalix, A. -M. & Mandet, C.: Distribution of blood group antigen A in normal and pathologic human kidneys. *Kidney Int.*, 17, 820-826 (1980).

66) Berry, C. L. & Amerigo, J.: Blood group antigens in vascular tumors. *Virchows Arch. [Pathol. Anat.]*, 388, 167-174 (1980).

Legends for Figures

Fig. 1a. Demonstration of PAS-positive substances in the intact esophageal mucosa. They are distributed in the intercellular spaces and the cytoplasmic margins. A1+B (pH2.5)/PAS double stain, hematoxylin counter stain (CT-H). $\times 100$.

Fig. 1b. Immunostaining of ABO (H)-activities in the intact esophageal mucosa by ABC method. The same activities as donors' ABO-types are noted as minute granules and are located in the

- PAS-positive regions shown in Fig. 1a. CT-H. $\times 400$.
- Fig. 2. PAS-positive perinuclear structures in the parietal cells of gastric fundic glands demonstrated by A1•B/PAS stain (arrows). The structures were positive in ABO (H)- and Lewis-activities detected by ABC method (ref. 1). CT-H. $\times 400$
- Fig. 3. Histochemical findings of intestinal metaplasia of the stomach, group O, Le (a-b+) donor. On the left side of this figure, the intact gastric mucosae are noted as only PAS-positive. On the other hand, the ectopic goblet cells stained with A1•B and PAS in different proportions are demonstrated on the right side and at the bottom. A1•B/PAS stain, CT-H. $\times 100$.
- Fig. 4. Demonstration of O (H)-activity by ABC method with monoclonal anti-H in the same specimen as in Fig. 3. The degree of intensity in the O (H)-activity depends on the stainability with PAS of the intact mucosae or the ectopic goblet cells. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 5a Histochemical findings of well differentiated adenocarcinoma (tub₁) of group O, Le (a-b+), by A1•B/PAS stain. The internal luminal surface and the supranuclear regions of the carcinoma cells composing tubular structures are PAS-positive as seen in the figure. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 5b Immunostaining of O (H)-activity in the same specimen as in Fig. 5a. The activity is immunostained brown in color by ABC method with monoclonal anti-H in the PAS-positive regions (luminal surface, supranuclear region) of carcinoma cells. CT-H. $\times 100$
- Fig. 6a. PAS-positive mucins in the cytoplasm of the signet-ring cells of gastric carcinoma, group AB, Le (a-b+), demonstrated by A1•B/PAS stain. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 6b. Negative finding for A1•B staining of the mucins in the same signet-ring cells as in Fig. 6a. Counter stain; nuclear fast red. $\times 100$.
- Fig. 7a. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 6 by ABC method with monoclonal anti-A. A-activity is located in the PAS-positive mucins in the almost all signet-ring cells. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 7b Immunostaining of the same specimen as in Fig. 7a by ABC method with monoclonal anti-B. There are very few B-positive signet-ring cells in comparison with those possessing A-activity. The endothelium of vessels and red blood cells are clearly positive. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 8a A1•B staining of the signet-ring cells and mucinous secretions of gastric carcinoma, group B, Le (a-b+). They are markedly stained with A1•B. Counter stain; nuclear fast red. $\times 100$.
- Fig. 8b. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 8a by ABC method with monoclonal anti-B. B-activity is negative as seen in the figure and Lewis-activities were also negative. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 9a. A1•B/PAS staining of well differentiated duodenal adenocarcinoma, group A, Le (a-b+). The intracytoplasmic mucins in the supranuclear regions and the brush borders are stained mainly with PAS. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 9b. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 9a. A-activity is distinctly noted as brown in the supranuclear regions and the brush borders. CT-H. $\times 400$.
- Fig. 10. A1•B/PAS staining of goblet cells in the intact mucosa of the descending colon. Those cells are stained almost exclusively with A1•B and hardly with PAS. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 11. A1•B/PAS staining of the sigmoid colon of group O donor. On the upper right in the figure, the goblet cells in the intact mucosa are stained only with A1•B. On the contrary, the adenocarcinoma of the sigmoid colon on the left side has PAS-positive mucinous secretions in the lumen. CT-H. $\times 100$.
- Fig. 12. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 11 by ABC method with monoclonal anti-H. O (H)-activity is markedly positive in the PAS-positive luminal secretions of the carcinoma. However, the activity is completely negative in the intact mucosa (arrow). CT-H. $\times 100$
- Fig. 13a. A1•B/PAS staining of mucinous type carcinoma of the rectum, group AB. The signet-ring cells are stained with both PAS and A1•B (arrow), and the mucinous secretions are stained more distinctly with A1•B than PAS. CT-H. $\times 100$.

Fig. 13b. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 13a by ABC method with monoclonal anti-A. A-activity is noted as brown in the PAS-positive signet-ring cells and mucinous secretions in proportion to the stainability with PAS. CT-H. $\times 100$.

Fig. 14a. A1·B/PAS staining of squamous cell carcinoma of the esophagus, group O. The weakly PAS-positive regions are demonstrated. CT-H. $\times 200$.

Fig. 14b. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 14a by ABC method with monoclonal anti-Le^b. The activity is distributed in the PAS-positive regions as shown in Fig. 14a. CT-H. $\times 200$.

Fig. 15. A1·B/PAS staining of the gastric mucosa, group O, Le (a-b+). On the right side of this figure, the intact mucosae are stained exclusively

with PAS. On the left side, the intestinal metaplasia with ectopic goblet cells can be seen. The ectopic goblet cells are stained with both A1·B and PAS, and the structures similar to the brush border are also found as PAS-positive (arrow). CT-H. $\times 100$.

Fig. 16. Immunostaining of the same specimen as in Fig. 15 by ABC method with monoclonal anti-Le^a. Le^a-activity is completely negative in the intact mucosa on the right but is apparently seen in the ectopic goblet cells of the intestinal metaplasia and the secretions. CT-H. $\times 100$.

Fig. 17 Immunostaining of mucinous adenocarcinoma of the transverse colon, group A, by ABC method with monoclonal anti-Le^b (upper) or anti-Le^a (lower). Le^b-activity is more dominantly distributed than Le^a. CT-H. $\times 100$.

Studies on Microscopic Blood Grouping III. Blood Group Activities in the Intestinal Metaplasia of the Stomach and the Carcinoma of the Gastrointestinal Tract Tohru Ohshima, Department of Legal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 - J. *Juzen Med. Soc.*, 95, 74-88 (1986)

Key words: blood grouping, intestinal metaplasia, gastrointestinal carcinoma, immunohistochemistry, epithelial mucins

Abstract

This study was intended to clarify 1) the changes of ABO(H)- and Lewis-activities in pathological conditions of the gastrointestinal tract, especially in the carcinoma or the intestinal metaplasia of the stomach and 2) the relationship between the blood group activities and the histochemical properties of epithelial mucins of the gastrointestinal tract, as a basis for blood grouping on tissue specimens and also to obtain a cue to know biological roles of the blood group antigens. The activities were investigated by the avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) method using commercial monoclonal antibodies, and the epithelial mucins were stained with alcian-blue (A1·B, pH 2.5) and/or periodic acid-Schiff (PAS).

In intestinal metaplasia of the stomach of Le (a-b+) group (secretor), the ectopic goblet cells showed various degrees of activities, from positive to negative, well in accordance with the intensity of PAS-staining; the goblet cells stained mainly with A1·B were almost negative for ABO(H) -activities. Le^a-activity was observed in the ectopic goblet cells even in the Le (a-b+) group, while Le^a was negative in the normal region.

In gastric carcinoma, the ABO(H)- and Lewis-activities compatible with the donors' types were located exclusively in the PAS-positive cell surface, intracellular structures and luminal mucinous secretions of well differentiated adenocarcinomas where the carcinoma cells tightly

adhered each other and made tubular structures. On the contrary, poorly differentiated carcinomas with few PAS-positive tubular structures showed very weak activities, and the disseminated signet-ring cells possessed blood group activities in the PAS-positive mucins restricted in the cytoplasm. In carcinoma of the small intestine, the similar findings were noted.

In adenocarcinoma of the large intestine, the ABO(H)- activities compatible with the donors' ABO-types were noticed in the PAS-positive regions including the carcinoma of the descending colon and the rectum where intact tissues gave negative results. Le^b-activity absent in normal tissues was observed in some cases of the carcinoma.

The results show that ABO(H)- and Lewis-activities are located in the PAS-positive epithelial mucins, that the quantitative and/or qualitative changes of the activities depend on the histochemical changes of the mucins and that blood group antigens play a role for the cell-to-cell adhesion and recognition. In practical affairs, the blood grouping in ABO- and Lewis-systems can be successfully performed also on the pathological tissues with regard to the activities absent in normal tissues.

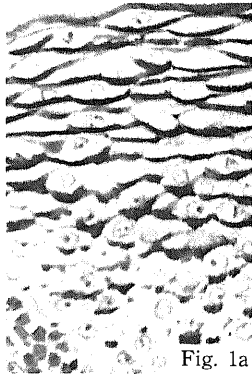


Fig. 1a



Fig. 1b

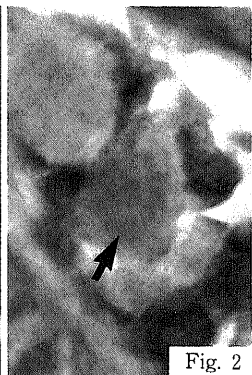
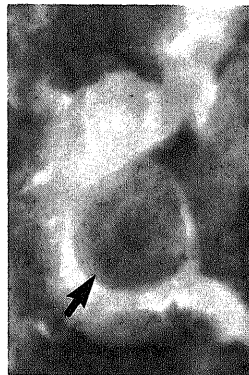


Fig. 2

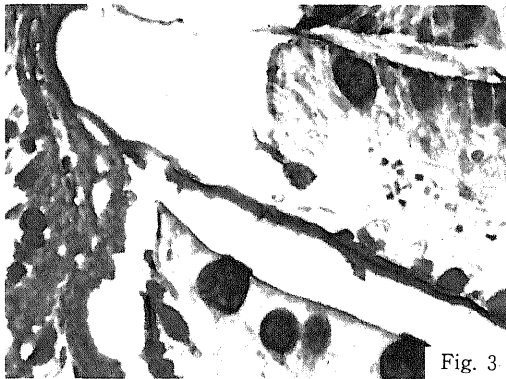


Fig. 3

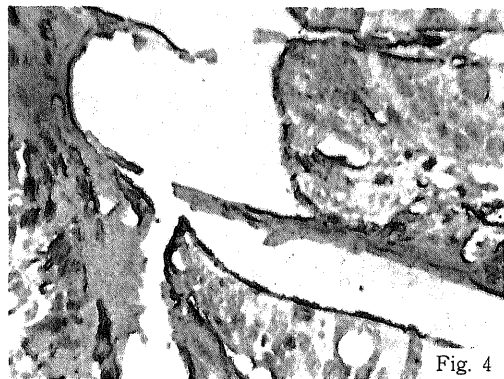


Fig. 4

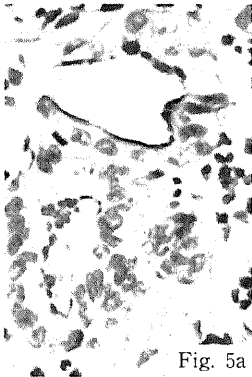


Fig. 5a

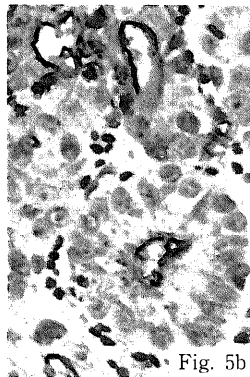


Fig. 5b

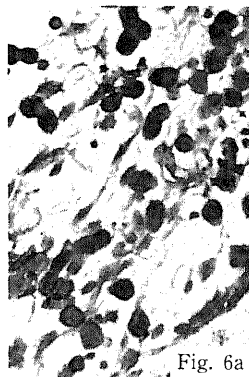


Fig. 6a

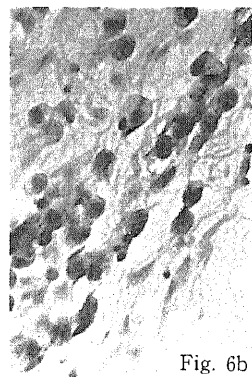


Fig. 6b



Fig. 7a



Fig. 7b

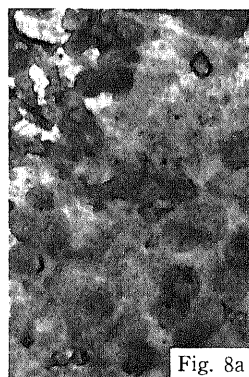


Fig. 8a

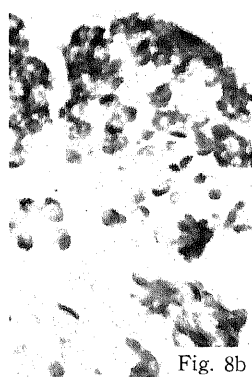


Fig. 8b

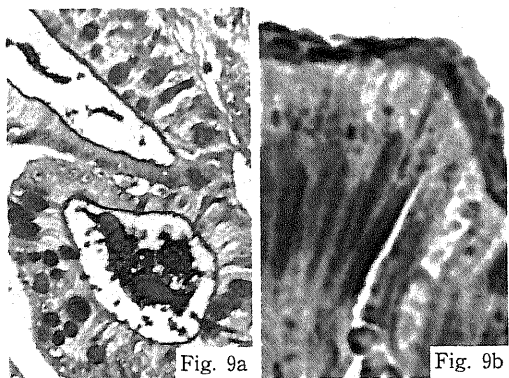


Fig. 9a

Fig. 9b

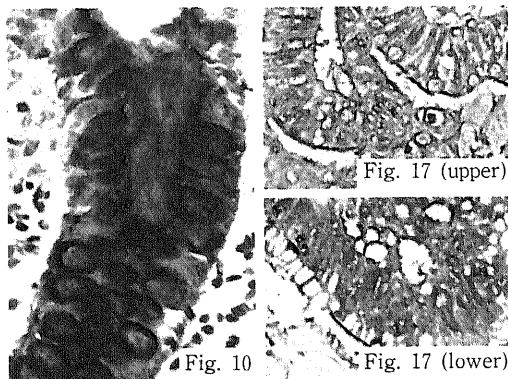


Fig. 17 (upper)

Fig. 10

Fig. 17 (lower)

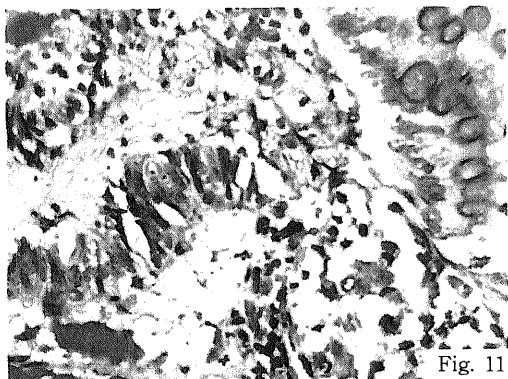


Fig. 11

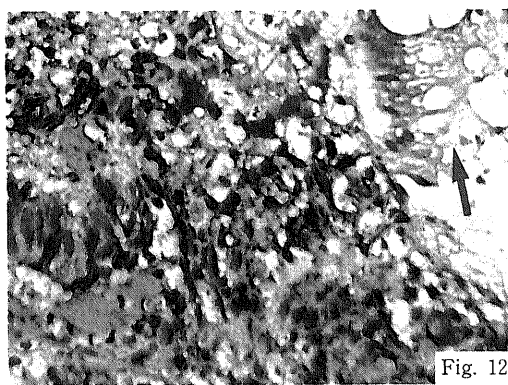


Fig. 12

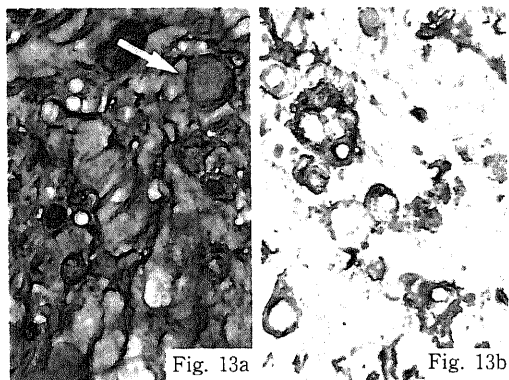


Fig. 13a

Fig. 13b

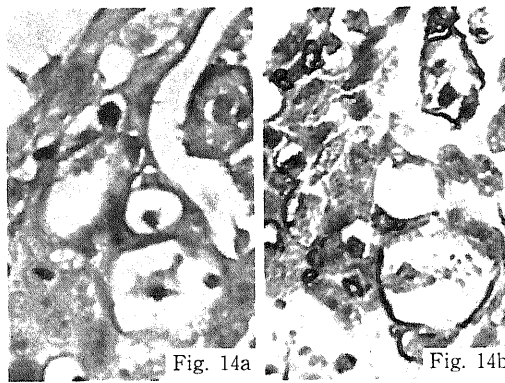


Fig. 14a

Fig. 14b

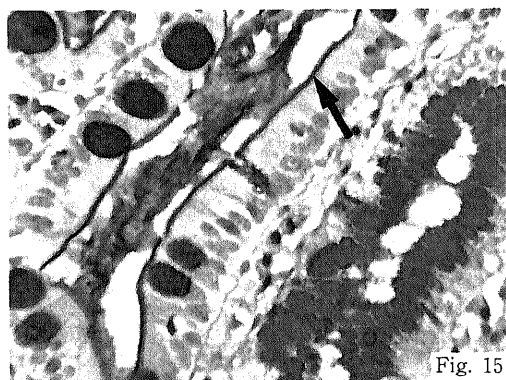


Fig. 15

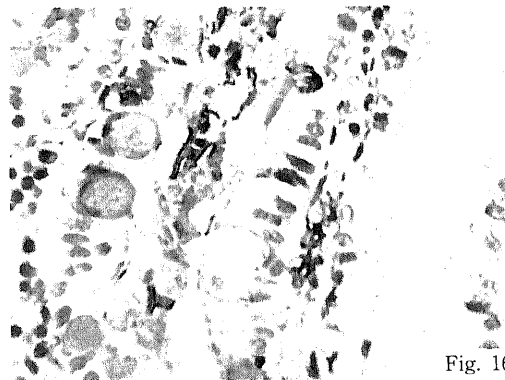


Fig. 16