原 著

体腔液細胞診における Carcinoembryonic antigen
(CEA) 検出の診断的意義

杏林大学保健学部細胞診断学教室

椎名 義雄 依田さつき 飯島 淳子 沢田 好明

乾燥後メタノール・エーテル等量液で固定した体腔液塗抹標本 140 例に酵素抗体法を用いて Carcinoembryonic antigen (CEA) を検出し、その診断学的意義を検索した。

非癌例体腔液では、好中球、組織球、反応性中皮細胞に CEA 陽性反応は全くみられなかったが、CEA 産生性癌例の体腔液中には CEA 陽性組織球や好中球がみられた。

CEA 陽性頻度は細胞診陰性 44 例中 3 例 (6.8%)、疑陽性 8 例中 4 例 (50.0%)、陽性 88 例中 63 例 (71.6%) であった。さらに、原発巣の明らかな腺癌に限った CEA 陽性率は 88.3% ときわめて高かった。

原発巣の推定診断に有効な免疫組織化学的所見は少ないが、細胞質内小空胞の内側部に陽性所見を示す卵巣の漿液性嚢胞腺癌と大型粘液空胞に強い陽性を示す胃の印環細胞癌は CEA の局在より原発巣推定の可能性がある。

体腔液塗抹標本での CEA 検出は、反応性中皮細胞と癌細胞を鑑別するために Periodic Acid Schiff (PAS) 反応よりも有効な方法と思われる。

Key words : Effusion—Immunoperoxidase technique—Carcinoembryonic antigen—
Cancer cell

は じ め に

体腔液の細胞診は癌の転移の有無、原発臓器の推定診断および抗癌剤による治療効果判定のために日常広く行われている。しかし、ときに、反応性中皮細胞と癌細胞の鑑別困難な症例に遭遇することがある。PAS 反応は両者の鑑別法として古くから行われてきたが、腺癌の診断

可能な所見は粘液部位が滴状または細胞質全体に均一な強陽性を呈したときに限られる。一方、CEA は消化器癌のみならず非癌細胞にも検出されることから、癌特異的というよりは癌組織でより多くの CEA が産生されると考えられている²⁵⁾。また CEA は上皮細胞のマーカーとしても利用できるため、体腔液細胞診に応用し、PAS および Alcian blue (Al-bl) 染色と対比して CEA 染色の体腔液細胞診への導入意義について検討した。

材料および方法

検索材料は腹水 85 例、胸水 53 例、心嚢液 2 例の計 140 例で、それらの臨床診断・組織診断は悪性が 100 例、良性が 40 例である。

塗抹標本は 5 枚作成し、3 枚は Papanicolaou, PAS, Al-bl 染色のために 95% エタノール湿固定、2 枚は May-Giemsa および CEA 染色のために乾燥標本とし

Diagnostic value of detection of Carcinoembryonic antigen (CEA) in effusion cytology

Yoshio SHIINA, C.T., M.I.A.C., Satsuki YODA, C.T., I.A.C., Junko IJIMA, M.T., Yoshiaki SAWADA, M.D., F.I.A.C.

Department of Cytology, Kyorin University School of Health Sciences

論文別刷請求先 ㊞192 八王子市宮下町 476 杏林大学保健学部細胞診断学教室 椎名義雄

昭和 59 年 10 月 11 日受付

昭和 60 年 10 月 11 日受理

Table 1 Immunoperoxidase method for detecting of CEA

- 1) Fix with methanol-ether (1:1) for 30 minutes after drying at room temperature.
- 2) Immerse in methanol with 0.3% hydrogen peroxide for 30 minutes.
- 3) Counter staining with Harris hematoxylin and rinse in tap water for 10 minutes.
- 4) Digest with 0.01% pronase in PBS for 45 seconds at 20°C.
- 5) Rinse in tap water for 10 minutes and dip in cold PBS for five minutes.
- 6) Add drops of normal swine serum and incubate for 30 minutes at room temperature.
- 7) Wash in three changes of cold PBS for 10 minutes each.
- 8) Add drops of the first anti-serum and incubate for 45 minutes at room temperature.
- 9) Wash in three changes of cold PBS for 10 minutes each.
- 10) Add drops of peroxidase labelled anti-serum and incubate for 30 minutes at room temperature.
- 11) Wash in three changes of cold PBS for 10 minutes each.
- 12) Incubate in DAB solution for 4 to 8 minutes at room temperature.
- 13) Rinse in running tap water for 5 minutes.
- 14) Dehydrate with increasing grades of ethanol, clean in xylol and mount with H.S.R.

た。CEA 検出用スミアはその後メタノール・エーテル等量液で約 30 分間固定した。また、ただちに免疫反応が行えなかったときは標本を -80°C の deep freezer 中に保存した。固定した標本は内因性酵素活性をブロックするために、0.3% 過酸化水素加メタノール中に 30 分間浸漬した。十分細胞が塗抹されているところをトリミングするため、Harris' Hematoxylin で counter stain を行った。次に乾燥による免疫反応の低下を補うため、0.01% pronase で 20°C 、45 秒間の消化を行った。Pronase 液は科研製薬のアクチナーゼ E [1,000,000 チロジン単位/g, (EC 3.4.24.4)] を pH 7.2 の phosphate buffer saline (PBS) に使用時に溶解した。その後、非特異的反応の出現を防止するため、20 倍希釈正常ブタ血清を室温で 30 分間 incubate した。第 1 抗体は DAKO 製 (Copenhagen, Denmark) の抗ヒト CEA 家兎血清をヒト脾末で好中球に nonspecific cross reacting antigen (NCA) の反応が完全に消失するまで吸収し、PBS で 80 倍に希釈して使用した (Fig. 2b)。第 2 抗体も DAKO 製 ペルオキシダーゼ標識抗家兎 IgG を 80 倍に希釈して用いた。ペルオキシダーゼの染色反応は 0.005% 過酸化水素加 3,3'-ジアミノベンチデン (DAB) 液で行った (Table 1)。negative control は、第 1 抗体と等量の蛋白含有希釈非感作家兎血清を用いた。

結 果

140 例の細胞診成績は陽性が 88 例、疑陽性が 8 例、陰性が 44 例で、その診断は Papanicolaou, May-Giemsa, PAS および Al-bl 染色標本を用いて行った。CEA は良性群体腔液中にみられた中皮細胞、悪性リンパ腫、骨髄腫、全身性エリテマトーデス (SLE) などの症例に出現

した反応性中皮細胞、組織球および好中球では陰性であった (Fig. 3c) が、CEA 産生性腺癌例にみられた組織球・好中球には顆粒状および慢性的陽性反応がみられた (Fig. 7)。

腺癌細胞の組織化学的陽性反応部位は多彩であり、Fig. 1 に示すごとく 6 型に大別した。A 型は細胞質全体に均一な弱い反応を示すもの。B 型は細胞質内に滴状または細胞質全体に均一な陽性反応を示すもの (Figs. 4c, 7)。C 型は細胞質内の空胞内側部および空胞内に顆粒状または網状の比較的弱い反応を示すもの (Fig. 5b)。D 型は細胞周囲の一部に (Fig. 5c)、E 型は細胞辺縁全周に陽性反応がみられるもの (Fig. 5a)。F 型は細胞質内に顆粒状陽性を示すものである。

細胞診成績と CEA 染色の関係をみると、悪性群で細胞診陽性の 88 例では 63 例 (71.6%) に CEA 陽性細胞を認めたが、CEA 陰性例の組織球には全く CEA 反応がみられなかった。

細胞診疑陽性は良、悪性合わせて 8 例あり、CEA 陽性反応は悪性群の 4 例 (50.0%) の異型細胞と 1 例 (12.5%) の組織球にみられ、良性群では全く観察されなかった。

44 例の細胞診陰性例では、悪性群 3 例 (6.8%) の異型細胞と、そのうちの 2 例 (4.5%) の組織球に CEA 陽性反応を認めた。また、悪性群で CEA 陰性の 3 例の標本中には癌を疑わせる異型細胞はみられなかった (Table 2)。

細胞診陰性で CEA 反応を認めた 3 例は、いずれも標本中に異型細胞数が少ないうえに細胞異型も弱く、PAS および Al-bl の染色性からも癌の診断は不可能であった。乳癌再発例は Papanicolaou 標本に Pair cell として 2 個、PAS, Al-bl, CEA 標本にも同様の細胞がそれぞ

Fig. 1 Findings of histochemical positive reaction on adenocarcinoma cells in effusions

Table 2 Results of cytological diagnosis and CEA reaction in all cases of effusion

Clinical & Histological diag.	malignant		benign	
Cytological diag.	—	±	+	— ±
Cases	6	6	88	38 2
CEA reaction (—)	3	2	25	38 2
(+)	3	4	63	0 0

れ1個ずつ存在した。Al-bl は陰性、PAS、CEA はともにA型の陽性所見を示したが、PAS 所見は癌と診断できるものではなかった (Fig. 6)。ほかの2例は胃癌と肺癌で、ともに異型細胞は少数で散在性に出現した。

組織化学的所見は、胃癌で pseudo-cilia と思われる細胞周囲の一部に弱いD型反応を認め、肺癌でPAS、CEA がA型陽性所見を示したが、CEA を除いてはいずれも癌と診断しうるものではなかった (Table 3)。

細胞診陽性で異型細胞にCEA 反応を認めたのは4例であり、それらの臨床診断は乳癌1例、胃癌3例であった。これらは1例の胃癌を除いて細胞数が少なく、

PAS はAまたはE型、Al-bl 染色は陰性またはE型であった。比較的多数の異型細胞を認めたにもかかわらず癌と診断し得なかった1例は、細胞異型に乏しいうえ、PAS がF型、Al-bl が陰性であったためであるが、CEA はA型の弱い陽性反応を示した。また、組織球にのみ陽性反応を認めた患者は直腸癌の転移が考えられた症例であるが、少数の異型細胞においてCEA 反応は陰性であった (Table 4)。

細胞診陽性例の原発巣とCEA 反応の関係は、Table 5に示すごとく、胃癌は21例中20例 (95.2%) が陽性で、組織型は印環細胞型を示した症例が大部分であり、陽性反応も強かった。卵巣癌は15例中13例 (86.7%) が陽性で、偽ムチン性囊胞腺癌全例が強陽性、漿液性囊胞腺癌では2例が陰性、7例がごく一部の癌細胞にBまたはC型の陽性反応を認めた。肺癌は4例の小細胞癌が陰性、大細胞癌と腺癌各1例にC型の弱い反応がみられ、ほかの腺癌細胞はすべてAまたはB型の強いCEA 反応を示した。肺癌は低分化型腺癌、乳癌は乳頭腺癌、子宮体

Table 3 Results of histochemical reaction in cytological negative cases

Patients	Sex	Materials	Clin. diag.	CEA	PAS	Al-bl	No. of cell
E. K.	F	PF	Mamma Ca.	+, A	+, A	—	Few
A. Y.	M	AF	Gastric Ca.	+, D*	+, D	+, D	Few
S. N.	M	AF	Pancr. Ca.	+, A*	+, A	—	Few

*showing the presence of CEA positive macrophages

AF=ascitic fluid, PF=pleural fluid, A, D=these are explained in Fig. 1

Table 4 Results of histochemical reaction in cytologically suspicious cases

Patients	Sex	Materials	Clin. diag.	CEA	PAS	Al-bl	No. of cell
Y. S.	F	PF	Mammary Ca.	+, A	+, A	—	Few
Y. T.	F	PF	Lung Ca.	—	+, E	+, E	Many
M. S.	F	PF	SLE	—	+, E	+, E	Many
N. M.	M	AF	Rectal Ca.	—*	+, A	—	Few
T. W.	M	AF	Cirrhosis	—	+, E	+, E	Many
F. M.	F	AF	Gastric Ca.	+, E	+, E	+, E	Few
G. S.	F	AF	Gastric Ca.	+, A	+, A	—	Few
E. K.	M	AF	Gastric Ca.	+, A	+, F	—	Many

*showing the presence of CEA positive macrophages

AF=ascitic fluid, PF=pleural fluid, A, E, F=these are explained in Fig. 1

Table 5 Results of CEA reaction in cytologically malignant cases

Primary sites of tumors	Total no. of cases	Results of CEA reaction		
		Negative	Partly positive	positive
Stomach	21(21)	1(1)	1(1)	19(19)
Ovary	15(15)	2(2)	7(7)	6(6)
Lung	11(6)	4(0)	2(1)	5(5)
Rectum	5(5)			5(5)
Pancreas	3(3)	1(1)		2(2)
Mamma	3(3)	1(1)		2(2)
Liver	1(1)			1(1)
Gallbladder	2(2)			2(2)
Bile duct	2(2)			2(2)
Endometrium	2(2)	2(2)		
Myeloma	1	1		
Malig. lymphoma	3	3		
Chronic leukemia	1	1		
MFH	1	1		
Teratoblastoma	1	1		
Unknown	16	7	1	8
Total	88(60)	25(7)	11(9)	52(44)
%		28.4(11.7)	12.5(15.0)	59.1(73.3)
			71.6(88.3)	

() showing adenocarcinoma cases

MFH=malignant fibrous histiocytoma

部癌は乳頭状腺癌のそれぞれ1例が陰性、直腸癌、胆嚢癌および肝内嚢胞性腺癌はいずれも陽性を示した。

また、原発臓器不明の16例において、CEA陽性率は56.3%とやや低値を示した。CEA陰性の多くは癌細胞が散在性に出現し、比較的低分化の傾向にあった(Table 5)。

一方、非上皮性悪性腫瘍では腫瘍細胞、組織球ともにCEA反応は全く観察されなかった。

考 察

近年、CEAは上皮性悪性細胞のマーカーとして注目されているが、癌細胞以外の良性病変に由来する細胞にも検出され^{1,6,8)}、癌特異抗原として細胞診に応用することはできない。したがって、対象となる材料に上皮性成分を欠く体腔液やリンパ節の細胞診でCEAを検出する意義は高く、すでに前者に対する応用が報告されている^{13,15,27)}。

われわれの成績では形態学的に同定可能な中皮細胞はもとより、非癌例および非上皮性腫瘍例にみられた反応性中皮細胞にもCEAは全く検出されず、Sehestedら¹⁵⁾が行ったセルブロック法の結果や長村ら¹⁴⁾の組織切片に

おける成績と一致した。しかし、Waltsら²⁷⁾は反応性中皮細胞の周囲に弱い反応を認め、その理由として、(1)細胞膜成分または細胞表面の微絨毛による反応産物の非特異的凝集、(2)Fc (crystalizable fragments) receptorによる抗体の結合、(3)高い感度により検出できる表面微絨毛または細胞膜のCEA含有成分の特異染色をあげている。われわれの成績からはWaltsらが得た所見は全くみられず、なんらかの非特異反応の関与が示唆される。非特異反応の原因としては特に検体処理および固定法の違いがあげられる。

塗抹前に細胞成分を洗浄するwash out法¹⁸⁾は背景の染色性を除去するために効果があり、Toら²³⁾も推奨している。一方、清宮⁷⁾は超微形態学的観察より、95%エタノール湿固定では細胞膜をはじめ、単位膜構造を完全に破壊消失させることによる非特異反応の出現を示唆し、乾燥標本は細胞の原構造を比較的よく保つことを報告している。さらにOrellら¹³⁾が95%エタノール湿固定標本は通常より低い濃度の抗血清を使用すべきと述べていることも非特異反応を最小限にとどめるための策と思われる。そのため、CEA検出に際しては乾燥標本を用いているが、乾燥による多少の免疫反応低下は免れない。しかし、それは短時間のpronase消化でカバーす

ることが可能であり、消化により非特異反応を惹起することはなく⁴⁾、われわれは本法を導入している。

抗 CEA 血清には好中球と強い反応を示す NCA も考慮する必要がある^{2,9,24,25)}。好中球が多数出現する膿胸などでは、好中球の崩壊物が中皮細胞の表面に付着したり、組織球に貪食され、紛らわしい反応を示すことが考えられる。そのため、ヒト脾末による NCA の吸収が必要である。われわれの方法で染色した標本中に陽性反応を示す好中球または組織球がみられたら、Orell ら¹³⁾も指摘しているように immune complex の取り込みを反映しているか、または CEA 産生癌細胞の崩壊物を貪食した可能性が高い。このことは、標本中に明らかな癌細胞がみられない症例でも体腔に CEA 産生癌の転移が考えられ、同時に検索した体液 CEA 量の成績とも一致し¹⁶⁾、診断の補助的所見となる。

体腔液細胞診と CEA 陽性例の頻度を報告したものは少ないが^{13,15)}、Sehested ら¹⁵⁾は細胞診陰性 20 例では 4 例 (20.0%)、疑陽性 15 例では 9 例 (60.0%)、細胞診陽性 32 例では 22 例 (60.0%) にそれぞれ CEA を検出している。われわれの成績は細胞診陽性例で 71.6% とやや高く、これを腺癌だけに限ると 88.3% でかなり高い陽性率となった。これは検索対象として比較的陽性率の高い消化器に原発した癌が多かったことも考えられるが、標本中に CEA 陽性細胞を 1 個でも認めれば陽性と判定したためと思われる。つまり、非特異反応を完璧にブロックし、蛋白分解酵素により消化して反応を増強させることによって得られた特異染色の結果と考えられる。

原発臓器との関係において、胃癌は 95.2% と高い陽性率を示したが、今回対象とした多くが印環細胞癌であり、平田ら⁵⁾の組織学的検索、牧野ら¹⁰⁾の体腔液 CEA 濃度の成績に一致した。

肺癌は 4 例の小細胞癌を除いては全例陽性であり、Wang ら²⁸⁾の成績とほぼ同様であるが、小細胞癌では清水らの組織学的²¹⁾、堂坂らの血中レベル³⁾の成績とは異なっている。卵巣癌に関するこれまでの報告をみると、漿液性囊胞腺癌は CEA 陰性であるものが多く^{11,29)}、そのため陽性率は低く¹²⁾、Walters ら²⁷⁾は 10 例中 4 例 (40.0%) に陽性でこのなかには (±) のものが含まれている。われわれの成績では 86.7% に陽性細胞を認めたが、漿液性囊胞腺癌ではごく一部の細胞にのみ陽性を示すものが多く (全体の 46.7%)、組織切片上でこのようなわずかな CEA を検出できるかは疑問である。

腺癌細胞の CEA は、電顕的には管腔側細胞表面および微絨毛表面、basolateral plasmamembrane、核膜周囲、

粗面小胞体などに局在することが報告されている²²⁾。光顕的に CEA は、A 型が細胞表面に、E 型が特に発達した微絨毛に認められ、D 型が pseudo-cilia に一致するものと思われる。また、強い染色性を示す B、C、F 型は細胞内に存在すると考えられ、B 型は粘液空胞、C 型は intracytoplasmic microcyst であると考えられる。

CEA 局在と原発臓器および組織型との関係では卵巣の漿液性囊胞腺癌に C 型、胃の印環細胞癌で B 型が目立ち、細胞所見^{19,20)}と併せて考えると、原発巣の推定は可能と思われる。

今回の検索で、CEA 染色は腺癌できわめて高い陽性率が得られたことから、PAS 反応より利用価値は高いと思われる。

さらにわれわれの経験より乾燥無固定で deep freezer 内に保存したものはかなり長期間 (-80°C で 8 年まで) 観察が可能であることや、Papanicolaou 脱色標本でも検出可能な点で¹⁷⁾実用的といえる。

Summary

The diagnostic significance was studied of CEA detected by the immunoperoxidase technique on 140 cases of cytocentrifuged serous effusion preparations fixed with methanol-ether after drying.

In the nonmalignant effusions, no CEA-positive reactions were found out of polymorphonuclear leukocytes, macrophages and reactive mesothelial cells. However, the presence of CEA-positive metastatic cancer can be suspected in the body cavity, if CEA-positive polymorphonuclear leukocytes or macrophages should be proved in the immunohistologically prepared effusions.

The CEA-positive frequencies were 3 (6.8%) out of 44 cytologically negative cases, 4 (50.0%) out of 8 suspicious cases and 63 (71.6%) out of 88 malignant cases.

Limited to adenocarcinomas whose primary sites were clearly located, the CEA-positive rate was as high as 88.3%.

There are still few immunohistochemical findings which are effective in giving presumptive diagnosis in regard to the primary site. It is possible, however, that the tendency of CEA to localize in the intracytoplasmic microcyst-like structure of ovarian serous cystadenocarcinomas and mucus vacuole with strongly positive immunoreaction in gastric signet ring cell carcinomas leads us to presume the primary site.

The CEA detection method in the centrifuged preparations of serous effusion is considered to be much more

useful than PAS method because of its high objectivity and positive rate, especially for differentiating between cancer cells and reactive mesothelial cells, which are morphologically very difficult to distinguish.

文 献

- 1) Burtin, P. : The carcinoembryonic antigen (CEA) of the digestive system and antigens crossreacting with it, *Ann. Immunol.*, 129c : 185~198, 1978.
- 2) Burtin, P., et al. : Nonspecific cross reacting antigen as a marker for human polymorphs, macrophages and monocytes, *Nature*, 225 : 714~716, 1975.
- 3) 堂坂弘俊・他 : 肺小細胞癌患者における血清中の Carcinoembryonic antigen (CEA) 測定の意義, 癌の臨床, 28 : 73~81, 1980.
- 4) Hautzer, N.W., et al. : Trypsin digestion in immunoperoxidase staining, *J. Histochem. Cytochem.*, 28 : 52~53, 1980.
- 5) 平田 稔・他 : 胃癌における組織 CEA の臨床病理学的検討, 癌の臨床, 28 : 1608~1614, 1982.
- 6) Huitric, E., et al. : An optical and ultrastructural study of the localization of carcinoembryonic antigen (CEA) in normal and cancerous human rectocolonic mucosa, *Lab. Invest.*, 34 : 97~107, 1976.
- 7) 清宮和之 : ヒト胃癌培養細胞の細胞診的固定・染色法による超微形態学的差異に関する実験的研究, 日臨細胞誌, 22 : 801~812, 1983.
- 8) Lindgren, J., et al. : Carcinoembryonic antigen in endoscopic brush specimens from benign and malignant gastric lesions, *Br. J. Cancer*, 40 : 848~855, 1979.
- 9) Mach, J.P., et al. : Carcinoembryonic antigen (CEA) ; Demonstration of a partial identity between CEA and a normal glycoprotein, *Immunochemistry*, 9 : 1031~1034, 1972.
- 10) 牧野幹男・他 : 悪性胸・腹水における CEA 濃度の診断的意義—細胞診との対比, 臨床病理, 29 : 736~740, 1981.
- 11) Marchand, A., et al. : Carcinoembryonic Antigen in Human Ovarian Neoplasms, *Cancer Res.*, 35 : 3807~3810, 1975.
- 12) Nishiyama, T., et al. : Expression of oncodevelopmental markers (Reagan isozyme—HCG, CEA) in tumor tissues and uninvolved bronchial mucosa. An immunohistochemical study, *Acta Histochem. Cytochem.*, 13 : 245~253, 1980.
- 13) Orell, S., et al. : Oncofetal Antigen as Tumor Markers in the Cytologic Diagnosis of Effusions, *Acta Cytol.*, 27 : 625~629, 1983.
- 14) 長村義之・他 : 酵素抗体法の細胞診への応用—光顕, 電顕用染色手技確立と体腔液細胞診への応用, 病理と臨床, 1 : 1713~1719, 1983.
- 15) Sehested, M., et al. : Immunoperoxidase Demonstration of Carcinoembryonic Antigen in Peritoneal Effusions, *Acta Cytol.*, 27 : 124~127, 1983.
- 16) 椎名義雄・他 : 胸腹水中の CEA 量とその塗抹標本の CEA 染色の診断的意義, 日臨細胞誌, 23 : 299, 1984.
- 17) 椎名義雄・他 : 細胞診への酵素抗体法の応用—酵素抗体間接法における pronase 消化効果—, 日臨細胞誌, 22 : 218~227, 1983.
- 18) 椎名義雄・他 : 細胞診における酵素抗体法応用に関する基礎的研究, 日臨細胞誌, 21 : 8~14, 1982.
- 19) 椎名義雄・他 : 体腔液の細胞診—原発巣推定の可能性について—第2報. 卵巣癌の形態学的特徴, 衛生検査, 28 : 119~125, 1979.
- 20) 椎名義雄・他 : 体腔液の細胞診—原発巣推定の可能性について—第1報. 胃癌細胞の形態学的特徴, 衛生検査, 27 : 605~612, 1978.
- 21) 清水信義・他 : 肺癌における腫瘍組織内 carcinoembryonic antigen (CEA) の存在—その血中出現率と腫瘍分化度との関連性について—, 癌の臨床, 28 : 1029~1032, 1982.
- 22) 塩田吉宣・他 : ヒト胃の異型腺管, 腺癌組織における SC-CEA-lysozyme (LZ) の局在, 消化器と免疫, No. 9, pp. 68~74, 医歯薬出版, 東京, 1982.
- 23) To, A., et al. : Indirect immunoalkaline phosphatase staining of cytologic smear of serous effusions for tumor marker studies, *Acta Cytol.*, 27 : 109~113, 1983.
- 24) Tuberville, C., et al. : Studies on carcinoembryonic antigen (CEA) and a related glycoprotein, CCEA-2. Preparation and chemical characterization, *Immunochemistry*, 10 : 841~844, 1973.
- 25) Von Kleist, S., et al. : Identification of a normal antigen that cross-reacts with the carcinoembryonic antigen (CEA), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 69 : 2492~2494, 1972.
- 26) Wagner, C., et al. : A highly sensitive method for the demonstration of carcinoembryonic antigen in normal and neoplastic colonic tissue, *Histochemistry*, 58 : 1~11, 1978.
- 27) Walts, A.E., et al. : Specific Tumor Markers in Diagnostic Cytology. Immunoperoxidase Studies of Carcinoembryonic Antigen, Lysozyme and Other Tissue Antigens in Effusions, Washes and Aspirates, *Acta Cytol.*, 27 : 408~416, 1983.

- 28) Wang, N., et al. : Absence of carcinoembryonic antigen-like material in mesothelioma ; An immunohistochemical differentiation from other lung cancers, *Cancer*, 44 : 937~943, 1979.
- 29) 山崎正人・他 : 卵巣腫瘍における carcinoembryonic antigen の免疫組織学的研究, *日産婦誌*, 29 : 1549~1552, 1977.
-

Fig. 2 Showing NCA reaction (a) ($\times 400$), (a) due to non-absorbed antiserum, (b) due to absorbed antiserum

Fig. 3 Reactive mesothelial cell ($\times 400$), (a) Papanicolaou stain, (b) Al-bl stain (+), (c) CEA stain (-)

Fig. 4 Metastatic gastric adenocarcinoma cells ($\times 400$), (a) Al-bl stain (+), (b) PAS stain (+), (c) CEA stain (+)

Fig. 5 Showing the various CEA positive reaction ($\times 400$), (a) type E, (b) type C, (c) type A and D

Fig. 6 Metastatic mammary adenocarcinoma cells ($\times 1,000$), (a) Papanicolaou stain, (b) CEA stain (+), type A

Fig. 7 Metastatic lung adenocarcinoma cells ($\times 400$), CEA stain (+), type B