原 著

中皮細胞の免疫細胞化学的検討

——CA 125 を中心に——

東海大学病院病理診断科¹⁾, 同 病理学教室²⁾伊藤 仁¹⁾ 篠田 玲子¹⁾ 赤塚 由子¹⁾覚道 健一²⁾ 長村 義之²⁾

体腔液細胞診に免疫細胞化学的染色を取り入れることは、診断上有用であると考え、そこで、腫瘍細胞との鑑別の対象となる中皮細胞の免疫細胞化学的特色を明らかにするために、酵素抗体間接法を応用し、Keratin, Vimentin, S-100 蛋白, Desmin, EMA, CEA, CA 125, CA 19-9, AFP の 9 種について、体腔液、漿膜タッチスミアおよび胸腹膜組織切片を用いて検討した。その結果、中皮細胞は Keratin, Vimentin に陽性を示し、また、卵巣癌の腫瘍マーカーとして知られる CA 125 にも高率に陽性を示した。その他、Desmin, EMA, S-100 蛋白、腫瘍マーカーである CEA, CA 19-9, AFP については、中皮細胞は陰性であった。

Key words : Mesothelial cell——Immunocytochemistry——CA 125——Tumor marker

体を用い以下の点について検索した。

I. はじめに

体腔液細胞診において、しばしば遭遇する問題として、反応性中皮細胞と腺癌細胞の鑑別、転移性癌細胞の原発推定などがあげられる。われわれはこれらの点について、免疫細胞化学的染色を細胞診に取り入れ検討してきた⁷⁾。今回われわれは卵巣腫瘍（漿液性嚢胞腺癌）を抗原として作成された単クローン抗体 Cancer antigen 125 (以下 CA 125 と略す)^{1),3)} を用いて CA 125 産生卵巣癌の腹膜転移の有無について検討中に、一部の中皮細胞が CA 125 に陽性を呈することに気付いた。そのため中皮細胞の免疫細胞化学的特色を明らかにするために、種々の抗

II. 材料および方法

用いた材料は、細胞診陰性であった 47 例、陽性例 9 例の体腔液および腹腔内洗浄液と剖検時漿膜タッチスミア 5 例などの細胞標本および腹膜組織のホルマリン固定パラフィン切片 6 例である。細胞標本は、95% エタノール固定でパニコロウ染色, PAS 染色, アルシアン青染色および乾燥後メタノール固定ギムザ標本なども合わせて

表 1 抗体リスト

抗 Keratin 抗体(Monoclonal)	Immunotech
抗 Vimentin 抗体(Monoclonal)	DAKO
抗 Desmin 抗体(Polyclonal)	Bio-Science Products
抗 CA 125 抗体(Monoclonal)	Fujirebio
抗 CEA 抗体(Polyclonal)*	DAKO
抗 CA 19-9 抗体(Monoclonal)	Centocor
抗 AFP 抗体(Polyclonal)	DAKO
抗 EMA 抗体(Monoclonal)	DAKO
抗 S-100 抗体(Polyclonal)	DAKO

*牌の Perchloric extract により NCA を吸収後使用

Immunocytochemical characteristics of mesothelial cells
—With special reference to the CA 125—

Hitoshi ITO, C.T., I.A.C., Reiko SHINODA, C.T., I.A.C.,
Yuko AKATSUKA, C.T., I.A.C.

Department of Clinical Pathology, Tokai University Hospital
Kenichi KAKUDO, M.D., Yoshiyuki OSAMURA, M.D.

Department of Pathology, Tokai University School of
Medicine

論文別刷請求先 ☎ 259-11 伊勢原市望星台 東海大学附属病

院病理診断科 伊藤 仁

昭和 61 年 12 月 18 日受付

昭和 62 年 4 月 24 日受理

写真 1

左：単離，小集塊状に認める反応性中皮細胞（Pap. 染色， $\times 750$ ）
 右：中皮細胞は，細胞表面微絨毛に一致して Al-b 染色陽性である（Al-b 染色， $\times 750$ ）

写真 2

左：中皮細胞および炎症性細胞ともに陽性を示す（Vimentin 染色， $\times 750$ ）
 右：中皮細胞の細胞質に陽性反応が認められる．組織球（矢印）は陰性である（Keratin 染色， $\times 750$ ）

検討した．免疫細胞化学的染色には，表 1 に示した 9 種の市販抗体を用い Nakane の酵素抗体間接法⁵⁾を応用し，核染色には 1% メチルグリーン（pH 4.0）を使用した．

III. 結 果

中皮細胞（写真 1）は，シート状あるいは小集塊状に出現し，アルシアン青でその表面微絨毛が染色される．おのおののマーカーに対する染色態度は，細胞骨格蛋白である Keratin, Vimentin が細胞質に陽性を示し（写真 2），Epithelial membrane antigen（以下 EMA と略す），S-100 蛋白，Desmin は陰性であった．腫瘍マーカー

写真 3 シート状に出現した中皮細胞，左側の細胞集塊の一部にのみ細胞膜に沿って CA 125 の局在を認める．挿入図は卵巣癌の CA 125 局在を示す（CA 125 染色， $\times 750$ ）

写真 4

左：中皮細胞の細胞質，細胞表面に CA 125 の強い陽性反応を認める（CA 125 染色， $\times 750$ ）
 右：さまざまな染色性を示す中皮細胞（CA 125 染色， $\times 750$ ）

Carcinoembryonic antigen（以下 CEA と略す），Cancer antigen 19-9（以下 CA 19-9 と略す），Alpha-fetoprotein（以下 AFP と略す）では全く陰性であったが，卵巣癌に陽性を示す（写真 3 右上挿入図）とされる CA 125 では一部の細胞が種々の染色結果を示した．その陽性部位は，シート状に出現する中皮細胞では主としてその細胞表面に認められ（写真 3），一部のものではごく弱く染色されたり，また，全く陰性の細胞集塊も認められた．単離性，小集塊状の大型反応性中皮細胞では主として細胞質あるいは細胞表面に強陽性であったが，上記のように陰性の中皮細胞も認めた（写真 4）．漿膜組織パラフィン切片では，中皮細胞は立方状で一層に認められ，主と

写真 5 胸膜タッチスミア(上)と胸膜組織パラフィン切片(下)の CA 125 染色(同一例, $\times 750$)

上: 細胞膜および細胞質に陽性像を認める

下: 細胞表面微絨毛に陽性局在を認める

してその細胞表面に一致して CA 125 陽性像を認め(写真 5 下), 同一部位のタッチスミア(写真 5 上)とほぼ一致する所見を得た. 免疫細胞化学的染色に, 中皮細胞が陽性を示した 3 種の抗原 Keratin, Vimentin, CA 125 については, 同一検体にて検討できた 19 例の結果を表 2 に示した.

IV. 考 案

細胞診断に免疫化学的手法が広く用いられるようになり, 特にそのなかでも細胞骨格蛋白の証明と腫瘍マーカーの検出は診断上有用と考えられている. 今回中皮細胞に陽性を示した腫瘍マーカー CA 125 は, Bast らにより卵巣の乳頭状漿液性嚢胞腺癌患者の腹水より抽出した癌細胞株をマウスに免疫して作成された単クローン抗体であり, この抗体により認識される抗原は胎生期体腔上皮に存在する糖蛋白質と関連性を有するとされている^{1,6)}. また, CA 125 は, 一般的に漿液性嚢胞腺癌に特異性が高いと考えられているが, Kabawat らによると漿液性嚢胞腺癌のほかにも良性漿液性腫瘍, 漿液性嚢胞腺癌と内膜様腺癌の混合癌, 内膜様腺癌, 明細胞癌および未分化癌にも陽性を示し, 粘液性腫瘍, 胚細胞性腫瘍, 性索間質性腫瘍, 造血性腫瘍では陰性であると報告している³⁾. また, 正常組織については, 胎生期の体腔上皮由来のミューラー管上皮, 羊膜, 胸膜, 腹膜上皮に陽性を示し, 大人では炎症や癒着のある胸膜および腹膜の中皮細胞すなわち反応性中皮細胞にも証明されると述べている⁴⁾. 今回われわれの用いたホルマリン固定の胸腹膜組織パラフィン切片では, 中皮細胞は主として細胞表面の微絨毛に一

表 2 中皮細胞の各抗体における陽性率

使用抗体	中皮細胞(細胞診陰性, Keratin 陽性)		
	体腔液	剖検例捺印	パラフィン切片
Keratin	19/19	5/5	6/6
Vimentin	19/19	5/5	5/6
CA 125	15/19	5/5	3/6

致して CA 125 抗原の局在を認め, 上記 Kabawat らの報告と同様の結果を得た. 特に体腔液中に出現する中皮細胞(アルコール固定)では, 胸腹膜パラフィン切片同様, 主として細胞表面にのみ陽性局在を認める細胞, あるいは細胞表面だけではなくさらにその細胞質にも強く陽性局在を示す細胞, または全く陽性反応を認めない細胞など種々の染色性を示し, 癌細胞ではおもに細胞表面および細胞質に陽性局在を認めた. このように中皮細胞と癌細胞における CA 125 の染色性に明らかな差は認められず, そのため体腔液細胞診上卵巣癌細胞かあるいは異型中皮細胞かが問題となった例について, CA 125 の免疫細胞化学的染色を行っても鑑別は困難であった. したがって, 体腔液中の卵巣癌細胞の免疫細胞化学的なマーカーの検索には, CA 125 単独ではなく中皮細胞では陽性とならない CEA あるいは EMA など, ほかの腫瘍マーカーとの併用が望ましいと考えられる²⁾. 中皮細胞は Keratin, Vimentin および CA 125 に高率に陽性を示し, Desmin, S-100 蛋白, EMA, CEA, AFP, CA 19-9 に陰性を示した. 体腔液を用いた細胞診断に免疫細胞化学的手法は有用であるが, CA 125 を用いたマーカーの検索において, 反応性中皮細胞が陽性を示すということはきわめて重要であると考えられる. 本論文における CA 125 のごとく, 腫瘍特異マーカーとされる抗原が非腫瘍性組織にも存在することはほかにも知られているが, 正常細胞にも存在するいわゆる腫瘍マーカーを癌細胞と正常細胞の鑑別のために使用する際には十分注意する必要があると考える.

本論文の要旨は, 第 25 回日本臨床細胞学会秋期大会(於千葉)で発表した.

Summary

In order to clarify immunohistochemical characteristics of mesothelial cells from body fluid, several antigens including tumor markers(CEA, CA 19-9, CA 125 and Alpha-Fetoprotein), cytoskeletal proteins(keratin, vimentin, desmin), S-100 protein and EMA were studied on cytological smears as well as

tissue sections using indirect immunoperoxidase technique. The mesothelial cells were positive for keratin and vimentin in the cytoplasm intensively. Further, significant numbers of them proved to be positive for CA 125, both in the cytological smears and tissue sections. It was localized either on the cell membrane or diffusely in the cytoplasm. It should be noted that some of the mesothelial cells are immunoreactive for the tumor marker, when immunocytochemistry is applied to differentiate malignant cells from reactive mesothelial cells in the body fluid.

文 献

- 1) Bast, Jr. R.C., et al. : Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma, *J. Clin. Invest.*, 68 : 1331~1337, 1981.
- 2) 藤本郁野・他 : 卵巣腫瘍における各種腫瘍マーカーの局在について, *日臨細胞誌*, 24 : 835, 1985.
- 3) Kabawat, S.E., et al. : Immunopathologic characterization of a monoclonal antibody that recognizes common surface antigens of human ovarian tumors of serous, endometrioid, and clear cell types, *Am. J. Clin. Pathol.*, 79 : 98~104, 1983.
- 4) Kabawat, S.E., et al. : Tissue distribution of coelomic epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC-125, *L ab. Invest.*, 48 : 42 A, 1983.
- 5) Nakane, P.K. and Pierce, G.G. : Enzyme-labeled antibodies : preparation and application for localization of antigens, *J. Histochem. Cytochem.*, 14 : 929~931, 1966.
- 6) 西浦治彦, 磯島晋三 : 上皮性卵巣癌に対する monoclonal 抗体, *医学のあゆみ*, 12 : 89~90, 1983.
- 7) 長村義之, 渡辺慶一, 赤塚由子 : 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.