原 著

卵巣腫瘍における Epithelial Membrane Antigen (EMA) の免疫細胞組織化学的検討

癌研究会附属病院婦人科¹⁾, 東海大学医学部病理学教室²⁾藤本 郁野¹⁾ 荷見 勝彦¹⁾ 増淵 一正¹⁾長村 義之²⁾ 渡辺 慶一²⁾

卵巣腫瘍より得られた病理組織標本, 腹水細胞標本を酵素抗体間接法を用いて Epithelial Membrane Antigen (EMA) の局在を探索し, 組織別陽性率, 組織分化度による局在部位の差などについて比較し, 酵素抗体法の細胞診領域への応用性について検討した。

検索した上皮性卵巣腫瘍は漿液性嚢胞腺癌 37 例, ムチン性嚢胞腺癌 18 例, LPM (low potential malignancy) として漿液性嚢胞腺腫 2 例とムチン性嚢胞腺腫 4 例, 漿液性およびムチン性嚢胞腺腫 8 例, 正常卵巣 3 例の計 72 例であった。細胞診標本は腹水細胞診陽性例のもので, 漿液性嚢胞腺癌 18 例, ムチン性嚢胞腺癌 10 例につき, EMA 再染色を施行し, 以下の結果を得た。

1. 組織での EMA 陽性率は悪性群が最も高く, 次いで中間群, 良性群の順であった。
2. 漿液性嚢胞腺癌とムチン性嚢胞腺癌の組織での EMA 陽性率は前者が 100%, 後者は 77.8% であった。
3. 組織分化度と EMA 陽性部位については, 漿液性嚢胞腺癌, ムチン性嚢胞腺癌ともに高分化型のものは luminal に, 低分化型のものは細胞膜全周~細胞質に局在が認められた。
4. CEA, hkp, CA 125 のマーカーとの比較では, 漿液性嚢胞腺癌では EMA と CA 125 が, ムチン性嚢胞腺癌では CEA が高い陽性率を示した。
5. 腹水細胞診における EMA の陽性部位は漿液性嚢胞腺癌, ムチン性嚢胞腺癌ともに細胞膜全周~細胞質全体において (++) の強陽性に認められた。

以上のことから EMA は漿膜性嚢胞腺癌やムチン性嚢胞腺癌の診断および悪性度の判定について有用であり, 細胞診自動化への応用の可能性も示唆された。

Key words : Ovarian tumor—Epithelial membrane antigen (EMA)—Immunoperoxidase technique—Cytology

I. はじめに

Epithelial Membrane Antigen (EMA) は large

Cytochemical & histochemical study on epithelial membrane antigen (EMA) using immunoperoxidase technique in ovarian tumors

Ikuno FUJIMOTO¹⁾, M.D., F.I.A.C., Katsuhiko HASUMP¹⁾, M.D., Kazumasa MASUBUCHI¹⁾, M.D., F.I.A.C. (hon), Yoshiyuki OSAMURA²⁾, M.D., M.I.A.C., Keiichi WATANABE²⁾, M.D.

¹⁾Department of Gynecology, Cancer Institute Hospital,

molecular weight の糖結合体で, ヒトの乳脂肪滴の細胞膜抗原として Ceriani (1977)²⁾, および Heyderman (1979)⁷⁾ らによって提唱された。EMA はさまざまな正常上皮組織および上皮または中皮組織から発生した腫瘍

Tokyo

²⁾Department of Pathology, Tokai University School of Medicine, Kanagawa

論文別刷請求先 ☎170 東京都豊島区上池袋1の37の1 癌研究会附属病院婦人科 藤本郁野

昭和62年3月24日受付

昭和62年8月28日受理

表 1 The indirect immunoperoxidase staining for EMA

Histological specimens	Cytological specimens
Fixation (10% Formalin)	Fixation (95% Ethanol)
Paraffin section	
Slice	
Inactivation for endogenous peroxidase incubate in 0.3% H ₂ O ₂ added methanol solution	
The first antibody incubate 30 min. Mouse monoclonals E29 (Antihuman milk fat globule membrane)	
	(DAKO)
The second antibody incubate 30 min. HRP labeled antimouse IgG F(ab') ₂ (Amersham)	
Incubation (DAB-H ₂ O ₂ solution)	
Nuclear staining (Methyl green, Harris hematoxylin)	
Microscopic observation	

組織に存在するが、非上皮性のものには存在しないといわれている。このことから従来の顕微鏡観察例では鑑別が困難な lymphoma と anaplastic carcinoma の鑑別診断に EMA は有用であり^{7,14,15}、骨髄や肝臓での微小転移の発見にも威力を発揮するといわれ、いくつかの報告がみられるようになった^{3,7,14,15}。しかし、婦人科領域における EMA の報告は、現在までのところあまりみられない。特に卵巣腫瘍についての詳しい報告はいまだ認められない。

今回われわれは卵巣漿液性嚢胞腺癌とムチン性嚢胞腺癌の細胞、組織における EMA の陽性率、局在部位を中心に検討した。また EMA とほかの腫瘍マーカーの相関関係についても検討し、EMA の卵巣腫瘍における診断的価値につき検討したので報告する。

II. 研究材料および方法

1. 材 料

表 1 に示したごとく、手術摘出した上皮性卵巣腫瘍のうち、悪性群は漿液性嚢胞腺癌 37 例、ムチン性嚢胞腺癌 18 例の計 55 例。中間群として、漿液性嚢胞腺癌 (LPM) 2 例、ムチン性嚢胞腺癌 (LPM) 4 例計 6 例。良性群として、漿液性嚢胞腺癌 4 例、ムチン性嚢胞腺癌 4 例。正常卵巣 3 例の総計 72 例を研究材料とした。

組織標本は 10% ホルマリン固定後、パラフィン包埋し薄切したものを用いた。細胞診標本は腹水細胞診で癌細胞が陽性であった症例のパパニコロウ染色した標本を脱色後 (キシレンにてカバーガラス除去→無水エタノール

表 2 卵巣漿液性、ムチン性腫瘍および正常卵巣組織の EMA の陽性率

群別	陽 性 例				陰性例	陽性率 (%)	
	#	+	±	計		# ~ ± (%)	# ~ + (%)
悪性群	45	5	1	51	4	51/55 (92.7)	50/55 (90.9)
中間群	0	2	0	2	4	2/6 (33.3)	2/6 (33.3)
良性群	0	2	2	4	4	4/8 (50.0)	2/8 (25.0)
正常群	0	0	1	1	2	1/3 (33.3)	0/3 (0)

($p < 0.001 \sim < 0.005$)

ル 1 分→0.5% 塩酸エタノール数分間→流水→50% エタノール)、酵素抗体法による EMA の再染色を施行し、細胞内の EMA を観察した。

2. 抗体ならびに免疫酵素抗体法

EMA の一次抗体は mouse monoclonals E 29 (anti-human milk fat globule membrane, DAKO 社) を 1% BSA 加 PBS にて 100 倍希釈して用いた。二次抗体は HRP (Horseradish Peroxidase) をラベルした anti-mouse IgG F(ab')₂ (Amersham 社) を 1% BSA 加 PBS にて 25 倍希釈して用いた。EMA のほかに、CEA, hkp, CA 125 のマーカーについての一次抗体はそれぞれ Anti-human CEA Rabbit Serum (DAKO) をヒト脾臓乾燥粉末で吸収したものを 200 倍希釈、Anti-human Keratin Monoclonal Antibody (DAKO) を 100 倍希釈、Monoclonal Antibody CA 125 (Centocor) を 100 倍希釈して用いた。二次抗体は CEA については、Anti-Rabbit IgG goat Serum に HRP を標識したものを、hkp, CA 125 については EMA と同じ二次抗体を用いた。negative control としては、NRS (normal rabbit serum) を 100 倍希釈にて用いた。

反応手順を表 1 に示した。

III. 結 果

1. 卵巣腫瘍 (悪性群、中間群および良性群) と正常卵巣組織における EMA の陽性率 (表 2)

EMA 反応色調の強度を (-), (±), (+), (++) と分類し、(±) 以上を陽性とした。陽性率は悪性群が最も高く 92.7% (51/55) であったのに対し、中間群 (LPM) では 33.3% (2/6)、良性群では 50% (4/8)、正常卵巣では 33.3% (1/3) に弱陽性であり、悪性群はこれらすべての群に比べ有意に陽性率が高かった ($p < 0.001 \sim < 0.005$)。良性群の陽性率 (50%) が中間群 (LPM) の陽性率 (33.3%) より高くなっているが、陽性例の内訳をみると、良性群の 4 例のうち 2 例は (±) の弱陽性であるの

表 3 漿液性およびムチン性囊胞腺癌の EMA の陽性率

組織型	陽性例				陰性例	陽性率(%)
	+	+	±	計		
漿液性	33	4	0	37	0	37/37(100.0)
ムチン性	12	1	1	14	4	14/18(77.8)

p<0.005

表 4 漿液性囊胞腺癌 EMA 陽性例の染色強度と陽性部位

染色強度	陽性部位			計
	表面細胞膜	細胞膜全周	細胞質	
+	13	9	11	33(89.2%)*
+	3	1	0	4(10.8%)*
±	0	0	0	0
計	16(43.3%)	10(27.0%)	11(29.7%)	37(100.0%)

*p<0.001

に対し、中間群では(±)の弱陽性を呈したものは0であった。そこで(±)の弱陽性を呈したものを除き、(+)(+)を呈したものの陽性率をみると、悪性群では90.9%(50/55)、中間群で33.3%(2/6)、良性群25.0%(2/8)、正常卵巣は0%(0/3)となり、陽性率は悪性群を頂点に、中間群、次いで良性群の順に並び、陽性率と悪性度の相関が認められた。

2. 悪性群の組織別 EMA 陽性率 (表3)

悪性群は漿液性囊胞腺癌(37例)と、ムチン性囊胞腺癌(18例)につき組織別陽性率をみた。漿液性囊胞腺癌では陽性率が100%(37/37)であるのに対し、ムチン性囊胞腺癌では77.8%(14/18)と、ムチン性において陽性率が低かった(p<0.005)。

3. 漿液性囊胞腺癌の EMA 陽性例における EMA 局在部位と染色強度 (表4, 図1~3)

漿液性囊胞腺癌では EMA は全例陽性であったが、EMA の局在部位を表面細胞膜または部分細胞膜(luminal)、細胞膜全周(entire cell surface)、細胞質(cytoplasm)とに分け検討した。表面細胞膜に EMA の局在が認められたのは16/37(43.3%)と最も多く、細胞膜全周性に10/37(27.0%)、細胞質に11/37(29.7%)の局在が認められたが、各部位間には有意差は認められなかった。

次に陽性例における、EMA 染色強度を調べた染色色調の強度により(+)の強陽性、(+)の中等度陽性および(±)の弱陽性とに分類した。(+)を呈したものが最も多く33/37(89.2%)とほとんどを占めたのに対し、(+)が4/37(10.8%)、(±)は0であった。

表 5 ムチン性囊胞腺癌 EMA 陽性例の染色強度と陽性部位

染色強度	陽性部位			計
	表面細胞膜	細胞膜全周	細胞質	
+	3	1	8	12(85.8%)*
+	0	0	1	1(7.1%)*
±	1	0	0	1(7.1%)
計	4(28.6%)	1(7.1%)	9(64.3%)	14(100.0%)

*p<0.001

4. ムチン性囊胞腺癌の EMA 陽性例における EMA 局在部位と染色強度 (表5)

ムチン性囊胞腺癌18例中 EMA 陽性を呈した14例につき、EMA 局在部位と染色強度を漿液性囊胞腺癌の場合と同様に調べた。局在部位は細胞質に EMA 局在の認められたものが9/14(64.3%)と最も多く、次いで表面細胞膜4/14(28.6%)、細胞膜全周は1/14(7.1%)であった。染色強度は漿液性の場合と同様に(+)を呈したものが12/14(85.8%)とほとんどであり、(+)と(±)は1例(7.1%)ずつであった。

5. 漿液性囊胞腺癌の分化度と局在部位 (表6)

卵巣腫瘍における分化度は現在までのところ、明瞭な基準がないが、Taylor らにより新たに提唱された分類を用いた。つまり、Grade I (高分化型)は多層の乳頭状構造を有し、細胞異型は少ない。Grade II (中等度分化型)は多層の乳頭状構造に混じて、一部 solid の component を有する。Grade III (低分化型)は乳頭状構造が不明瞭となり、ほとんどが充実性癌組織で占められ、細胞異型が著明であるものと分類した。漿液性囊胞腺癌につき分化度と局在部位の相関をみた。高分化型の15例中10例(66.7%)は表面細胞膜または部分細胞膜に局在が認められたのに対し、中等度から低分化型になるにつれ、細胞膜全周から細胞質全体に局在の認められる率が高くなり、低分化型では87.5%が細胞膜全周から細胞質に局在が認められた。

6. ムチン性囊胞腺癌の分化度と局在部位 (表7)

ムチン性囊胞腺癌14例中9例(64.3%)が高分化型であり、低分化型は1例のみであった。ムチン性囊胞腺癌では高分化型でも細胞膜全周から細胞質に局在の認められるものが多く、7/9(77.8%)を占めた。中等度分化型は4例あったが、細胞膜全周から細胞質は2/4(50%)を占めた。

7. EMA と他マーカーの比較 (表8)

1) CEA

CEA 陽性率を漿液性囊胞腺癌37例とムチン性囊胞腺

表 6 漿液性嚢胞腺癌 EMA 陽性例の分化度と陽性部位

組織分化度	陽性部位			計
	表面細胞膜または部分細胞膜	細胞膜全周	細胞質	
高 分 化 型	10 (66.7%)*	3	2	15 (100.0%)
		5 (33.3%)*		
中等度分化型	5 (35.7%)	2	7	14 (100.0%)
		9 (64.3%)		
低 分 化 型	1 (12.5%)*	5	2	8 (100.0%)
		7 (87.5%)*		

*p<0.025

表 7 ムチン性嚢胞腺癌 EMA 陽性例の分化度と陽性部位

組織分化度	陽性部位			計
	表面細胞膜または部分細胞膜	細胞膜全周	細胞質	
高 分 化 型	2 (22.2%)	1	6	9 (100.0%)
		7 (77.8%)		
中等度分化型	2 (50.0%)	0	2	4 (100.0%)
		2 (50.0%)		
低 分 化 型	0	0	1	1 (100.0%)
		1 (100.0%)		

表 8 漿液性とムチン性嚢胞腺癌における EMA と他腫瘍マーカーとの比較

各種マーカー	漿 液 性			ムチン性		
	陽性例	陰性例	陽性率 (%)	陽性例	陰性例	陽性率 (%)
EMA	37	0	100*	14	4	77.8*
CEA	13	24	35.1*	20	1	95.2*
hkp	24	13	64.9	14	5	73.7
CA 125	18	8	69.2 ^a	4	12	25.0 ^a

*p<0.001, *p<0.001, ^ap<0.01

癌 21 例につき検討した。CEA 陽性率は漿液性嚢胞腺癌で 35.1%, ムチン性嚢胞腺癌で 95.2% と, ムチン性で有意に高い陽性率を示した (p<0.001)。

2) hkp

hkp は漿液性嚢胞腺癌 37 例, ムチン性嚢胞腺癌 19 例につき検討した。陽性率は漿液性嚢胞腺癌 64.9%, ムチン性嚢胞腺癌 73.7% と両組織間にはほとんど差を認めなかった。

3) CA 125

CA 125 については漿液性嚢胞腺癌 26 例, ムチン性嚢胞腺癌 16 例につき検討した。陽性率は漿液性嚢胞腺癌

18/26 (69.2%), ムチン性嚢胞腺癌 4/16 (25%) であり, EMA に比べ漿液性嚢胞腺癌, ムチン性嚢胞腺癌ともに陽性率は低かった。

8. 細胞診における EMA の陽性率 (表 9)

腹水細胞診で EMA の陽性率は漿液性嚢胞腺癌で 15/18 (83.3%), ムチン性嚢胞腺癌で 6/10 (60.0%) であり, 組織での結果と同じく漿液性嚢胞腺癌の方がムチン性嚢胞腺癌より, 高い陽性率であった。EMA を調べた腹水細胞標本と同じ症例の組織での EMA 陽性率を表 9 の右側に示した。組織標本の陽性率は漿液性嚢胞腺癌, ムチン性嚢胞腺癌ともに細胞標本より約 20% 高い値であっ

表 9 漿液性とムチン性囊胞腺癌細胞診の EMA 陽性率

組織型	細胞診反応結果				陽性率(%)	組織診陽性率*
	卅	+	±	—		
漿液性	7	7	1	3	15/18(83.3%)*	18/18(100.0%) ^a
ムチン性	3	2	1	4	6/10(60.0%)*	8/10(80.0%) ^a

*細胞診と同じ症例の結果

*p<0.05, ^ap<0.05

た。細胞での EMA の陽性部位は漿液性囊胞腺癌, ムチン性囊胞腺癌ともに細胞膜から細胞質全体に局在が認められ, また染色の強さも(卅)~(+)のものが多かった(図4, 5)。

IV. 考 案

Ceriani ら(1977)²⁾によって, 人乳の脂肪球被膜(human milk fat globule membrane HMFG)から得られた乳腺上皮に対する特異抗体が報告された。Hyderman ら(1979)はそれと反応する glycoprotein を Epithelial Membrane Antigen と名付け, 乳腺上皮を中心に検討し, さらに, ほかの臓器における正常組織および悪性腫瘍での EMA の存在についても研究し, 従来の腫瘍マーカー(CEA, ferritin, etc.)とは全く異なるものであると報告した⁷⁾。その後, 種々組織内での EMA の存在につき, Sloane ら^{14,15)}により多くの報告がなされた。Hybridoma 法(Kohler と Milstein 1975, 1976)が導入されたのち, EMA の monoclonal 抗体として Cordell ら⁸⁾により“E 29”が作製された。また一方, Hilkens ら^{10,11)}により, EMA に対する 19 種類の monoclonal 抗体が報告された。Taylor ら¹⁰⁾は HMFG-1, HMFG-2, Foster ら^{5,6)}は M 3, M 8, M 18, M 24 と報告しているように, 現在までのところ EMA に対する monoclonal 抗体の統一名ができていないのが現状である。今回われわれは, E 29(DACO)を使用し, 組織細胞中の EMA について検討した。

EMA は上皮性または上皮由来の組織に存在し, 結合組織には存在しないといわれる^{11,14,15)}。また正常中皮細胞や反応性中皮には弱陽性に染まるが, 癌や悪性中皮腫になると染色性が強く認められるようになる。そのため, 上皮と非上皮性腫瘍の鑑別診断, 体腔液中の反応性中皮と癌細胞の鑑別診断に利用されている^{15,17)}。Sloane ら^{13,14)}は臨床的にはいまだ転移所見が認められない微小転移巣(特に, 肝臓や骨髄などの転移巣)の発見に EMA は非常に有力であると述べている。婦人科領域においては EMA は正常子宮頸部の扁平上皮には認められず, 子宮頸部の円柱上皮および卵巣上皮には弱陽性, 子

宮体部の円柱上皮および卵管上皮には強陽性に認められるという。ところが, 炎症性変化が加わったり neoplastic な病変が存在する場合, 陰性だった子宮頸部扁平上皮細胞が全周性に染まってくるようになり, 扁平上皮癌になると細胞の隣接部位と基底部, またさらに細胞質にまで強い染色性が認められるようになると述べている¹⁴⁾。Moncrieff ら¹²⁾は子宮頸部の CIN では深層から表層まで強く染まり, また染色の強度と病変の進行度が一致していると述べている。しかし, 卵巣組織における EMA 存在についての報告はわずかに Sloane^{14,15)}や, Hilkens ら^{10,11)}の報告がみられるにすぎない。彼らによると, 正常卵巣組織には EMA は陰性もしくは弱陽性であるが, 卵巣癌では強陽性になると報告している。われわれの調査でも正常や良性のものでは陰性もしくは弱陽性であったが, 悪性になるにつれ, 強陽性のものが増加し, その陽性率は悪性群で最も高く, 次いで中間群, 良性群の順であった。

卵巣癌における EMA の組織別陽性率についての報告は内外ともに認められない。われわれの調査では漿液性囊胞腺癌では, EMA の陽性率は 100% であったのに対し, ムチン性囊胞腺癌では 77.8% であった。ムチン性囊胞腺癌で陽性率が低かった理由として卵巣ムチン性囊胞腺癌は腸上皮化生を通じて発生するという説があり, 腸上皮における EMA の陽性率は低いことから, これが一因とも考えられる。

反応強度については Moncrieff ら¹²⁾は(—), (±), (+), (卅)と, Sloane ら¹⁴⁾は“negative”, “weakly positive”, “strongly positive”と, To ら¹⁷⁾は“absent”, “weak”, “strong”と, Bonetti ら¹⁾は(—), (+), (卅), (卅)と表現している。

反応部位については, To ら¹⁷⁾は“rim”, “diffuse cytoplasm”, “intense staining throughout the cytoplasm”と表現し, Sloane¹⁴⁾, Bonetti ら¹⁾は“luminal”, “adjacent cell membrane”, “cytoplasm”と表現している。強さと部位の関係については, 悪性になると強陽性になり, 陽性部位は良性の場合は luminal で, 悪性になるにつれて細胞質に染色が認められるという報告が多い^{1,12,14,17)}。われわれの結果は悪性になると(卅)を示

すものが漿液性嚢胞腺癌, ムチン性嚢胞腺癌ともに 90% 近くを占めたが, 陽性部位については組織型により違いが認められた。つまり, ムチン性嚢胞腺癌では細胞質に陽性の認められたものが多かったが, 漿液性嚢胞腺癌では表面細胞膜のものが約 43% を, 細胞質のものは約 30% を占めた。

卵巣癌の分化度についてはいまだ一定の基準がないが, Sloane ら¹⁴⁾は分化度を well, moderately, poorly differentiated と分類し, 分化度と染色の強度について述べた。中～高分化型のものでは EMA は強陽性に染まるのに対し, 低分化型では一定した染色性を示さないと述べている。Heyderman ら⁷⁾は乳癌における分化度と EMA の局在部位について述べているが, 中～高分化型では表面に, 低分化型では細胞膜全周～細胞質に EMA の局在が認められたと述べている。われわれも Heyderman らと同様な結果を得た。

EMA とほかのマーカーとの相関関係について Sloane ら¹⁵⁾は EMA は CEA や hkp より, 上皮性マーカーとして優れており, この三者を合わせると, 腫瘍の組織診断がさらに正確になると述べている。つまり, 転移巣において EMA が陰性で, CEA が陽性の場合には胃腸消化系由来の腫瘍を, EMA 陰性で, hkp 陽性の場合は扁平上皮癌を疑うと述べている。卵巣腫瘍におけるこれらのマーカーの相関について, 特に組織別での報告は認められない。われわれの調査では漿液性嚢胞腺癌については, EMA, CA 125 の陽性率が高く, ムチン性嚢胞腺癌では, CEA が高い陽性率を示した。

細胞診における EMA の有用性について, Sloane ら¹³⁾は乳癌患者の骨髓穿刺細胞の smear を EMA にて染色し, 臨床的には detect できない微小な転移巣を発見できたと報告している。また, To ら¹⁷⁾, Epenetos ら⁴⁾は胸, 腹水細胞診に EMA を応用し, 悪性細胞とまぎらわしいような中皮細胞と癌細胞の鑑別に便利であると述べている。Hilborne ら⁹⁾は 137 例の胸, 腹水細胞標本に従来のパピニコロウ染色と HMFG-2 (EMA) による染色とを同時に施行し, 両者の検査結果が不一致であった 15 例 (うち 4 例は卵巣癌) をさらに検討し, EMA の診断的価値は高いと述べている。卵巣癌については To ら¹⁷⁾は胸, 腹水標本に EMA 染色をしたところ, 14 例中全例が EMA 陽性であったという。また, EMA は組織の場合より, 細胞特に単離細胞においては細胞質まで強い染色性が認められ, 胸, 腹水細胞診における EMA の診断的価値は高いと述べている。このように EMA は細胞診断の分野で sensitivity, specificity ともに優れていると思われる。特に単離細胞では EMA の染色強度が悪性度とよ

く一致することから将来細胞診の自動分析に応用される可能性もあると思われる。

V. 結 語

酵素抗体間接法を卵巣腫瘍組織切片および腹水細胞標本に用いて, EMA の検出を行った。卵巣悪性腫瘍において EMA の陽性率は高く, 特に漿液性嚢胞腺癌では 100% の陽性率であった。陽性部位と分化度の相関関係も認められた。細胞標本においても組織と同様な所見が認められたことから, EMA を腹水細胞診に応用することにより, 癌の診断および悪性度の判定, さらに, 細胞診自動分析への可能性も示唆された。

Summary

Using indirect immunoperoxidase technique on histological sections and cytologic smears of peritoneal fluid from ovarian epithelial tumors, we have evaluated the role of Epithelial Membrane Antigen (EMA) and its association with histopathologic types and staining pattern related to histologic grade.

Sections from 72 tissues (serous cystadenocarcinomas 37, mucinous cystadenocarcinomas 18, serous cystadenomas (LPM) 2, mucinous cystadenomas (LPM) 4, serous and mucinous cystadenomas 8 and normal ovaries 3) and the peritoneal smears from 18 serous cystadenocarcinomas and 10 mucinous cystadenocarcinomas were examined by immunohistochemical staining for EMA.

The following results were obtained:

1. In serous and mucinous tumors, the highest positive rate of EMA staining was observed in malignant groups, the second positive rate was in "LPM" groups, and lowest in benign groups.
2. All of 37 serous cystadenocarcinomas was stained for EMA (100%), and of 18 mucinous cystadenocarcinomas 14 cases were stained for EMA (77.8%).
3. In tissue specimens, EMA positive area was localized at luminal membranes in well differentiated adenocarcinomas, and in poorly differentiated, positive area was in diffuse cytoplasm.
4. Comparing EMA-positive rate with CEA, hkp and CA125 in serous cystadenocarcinomas, the higher positive rate of EMA and CA125 was obtained than that of CEA and hkp. In contrast the positive rate of CEA in mucinous cystadenocarcinomas was higher than that of EMA.
5. In cytological specimens, EMA staining was seen

strongly on entire cell membrane or diffuse cytoplasm. These findings were well correlated with those of histologic sections.

These results suggest that immunocytochemical staining for EMA could be of value not only for the diagnosis of malignant ovarian tumors but also for the automated screening of peritoneal smears.

文 献

- 1) Bonetti, F., et al. : Epithelial antigen expression in cholangiocarcinoma. An useful immunohistochemical tool for differential diagnosis with hepatocarcinoma, *Virchows Arch. (Pathol Anat)*, 413 : 307~313, 1983.
- 2) Ceriani, R.L., et al. : Surface differentiation antigens of human mammary epithelial cells carried on the human milk fat globule, *Ploc. nath. Acad. Sci. USA*, 74 : 582~586, 1977.
- 3) Dearnaley, D.P., et al. : Increased detection of mammary carcinoma cells in marrow smears using antisera to epithelial membrane antigen, *Brit. J. Cancer*, 44 : 85~90, 1981.
- 4) Epenetos, A.A., et al. : Use of two epithelium-specific monoclonal antibodies for diagnosis of malignancy in serous effusions, *Lancet*, 6 : 1004~1006, 1982.
- 5) Foster, C.S., et al. : Monoclonal Antibodies to the Human Mammary Gland I. Distribution of Determinants in Non-Neoplastic Mammary, *Virchows Arch. (Pathol Anat)*, 394 : 279~293, 1982.
- 6) Foster, C.S., et al. : Monoclonal Antibodies to the Human Mammary Gland II. Distribution of Determinants in Breast Carcinomas, *Virchows Arch. (Pathol Anat)*, 394 : 295~305, 1982.
- 7) Heyderman, E., et al. : A new antigen on the epithelial membrane : its immunoperoxidase localisation in normal and neoplastic tissue, *J. Clin. Pathol.*, 32 : 35~39, 1979.
- 8) Heyderman, E., et al. : A new monoclonal antibody to epithelial membrane antigen (EMA)—E29. A comparison of its immunocytochemical reactivity with polyclonal anti-EMA antibodies and with another monoclonal antibody, HMFG-2, *Brit. J. Cancer*, 52 : 355~361, 1985.
- 9) Hilborne, L.H., et al. : Evaluation of an Antibody to Human Milk Fat Globule Antigen in the Detection of Metastatic Carcinoma in Pleural, Pericardial and Peritoneal Fluids, *Acta Cytol.*, 30 : 245~250, 1986.
- 10) Hilkens, J., et al. : Monoclonal antibodies against human milk fat globule membranes useful in carcinoma research, *Ploc. Biol. Fluids*, 31 : 1013~1016, 1984.
- 11) Hilkens, J., et al. : Monoclonal antibodies against human milk fat globule membranes detecting differentiation antigens of the mammary gland and its tumors, *Int. J. Cancer*, 34 : 197~206, 1984.
- 12) Moncrieff, D., et al. : Tumor Marker Studies of Cervical Smears Potential for Automation, *Acta Cytol.*, 28 : 407~410, 1984.
- 13) Sloane, J.P., et al. : The use of antisera to epithelial membrane antigen in detecting micrometastases in histological sections, *Brit. J. Cancer*, 42 : 392~398, 1980.
- 14) Sloane, J.P., et al. : Distribution of Epithelial Membrane Antigen in Normal and Neoplastic Tissues and its Value in Diagnostic Tumor Pathology, *Cancer*, 47 : 1786~1795, 1981.
- 15) Sloane, J.P., et al. : An assessment of the value of epithelial membrane antigen and other epithelial markers in solving diagnostic problems in tumour histopathology, *Histochem. J.*, 15 : 645~654, 1983.
- 16) Taylor-Papadimitriou, J., et al. : Monoclonal antibodies to epithelium-specific components of the human milk fat globule membrane : production and reaction with cells in culture, *Int. J. Cancer*, 28 : 17~21, 1981.
- 17) To, A., et al. : Use of antisera to epithelial membrane antigen for the cytodiagnosis of malignancy in serous effusions, *J. Clin. Pathol.*, 34 : 1326~1332, 1981.

図 1 漿液性嚢胞腺癌高分化型. EMA 陽性部位は表面細胞膜に認められる (×200)

図 4 腹水標本における EMA 陽性の漿液性嚢胞腺癌細胞 (×1,000)

図 2 漿液性嚢胞腺癌中分化型. EMA 陽性部位は細胞膜全周性に認められる (×400)

図 5 腹水標本における EMA 陽性の漿液性嚢胞腺癌細胞 (×1,000)

図 3 漿液性嚢胞腺癌低分化型. FMA 陽性部位は細胞膜～細胞質に認められる (×1,000)