原 著

卵巣漿液性嚢胞腺癌の腹水細胞診における
CA 125 および EMA の免疫細胞化学的検討

広島大学医学部産科婦人科学教室

重政 和志 谷岡 慶英 松田 博 永井 宣隆
江川 健士 勝部 泰裕 上馬場是美 藤原 篤

卵巣漿液性嚢胞腺癌 10 例を対象として、酵素抗体法を用いた CA 125 および EMA の免疫染色を行い、それらの組織局在および腹水中癌細胞、中皮細胞、組織球における染色性を検討した。また対照として非癌症例の腹水中中皮細胞における CA 125 および EMA の染色性もあわせ検討し、以下の結果を得た。

(1) 摘出組織において、CA 125 および EMA はそれぞれ 90% (9/10), 100% (10/10) とともに高率に陽性所見が認められた。

(2) 腹水中癌細胞においては、CA 125 および EMA はともに 10 例全例 (100%) で陽性所見が観察され、また CA 125-EMA 二重染色により CA 125 は EMA と比較し高率に癌細胞を検出し得る可能性が示唆された。

(3) 癌症例および非癌症例における腹水中中皮細胞での CA 125 の陽性率はともに高率であり、一部の活動性中皮細胞においては癌細胞類似の染色性が観察された。一方、EMA はごく一部の中皮細胞と反応するのみであり、また活動性中皮細胞における染色性も癌細胞と比較すると明らかに微弱であった。

(4) 腹水中組織球においては、CA 125, EMA とともに陽性所見を認めなかった。

以上の結果、CA 125, EMA の両者を組みあわせて腹水細胞診に応用することにより、原発巣の推定や良・悪性の鑑別の補助として利用し得ることが期待された。

Key words : Ascitic fluid—Immunocytochemistry—CA 125—EMA—Ovarian serous cystadenocarcinoma

I. 緒 言

婦人科領域における腹水細胞診に関する研究は腹水貯留のみられる悪性腫瘍、特に卵巣癌を手術前に診断する目的で広く行われ、現在でも卵巣癌の臨床進行期の決定に重要な役割を果たしている。しかし、腹水細胞診にお

いて悪性細胞と中皮細胞、組織球との鑑別は必ずしも容易ではなく、良・悪性の鑑別や治療方針の決定などに応用していく上で今後さらに検討の余地が残されていると考えられる。近年、酵素抗体法を細胞診に用いて悪性細胞が産生する諸物質を同定することが可能になり、従来の Papanicolaou 染色による細胞の形態観察のみならず、機能的性格を把握し得るようになってきた。

Immunocytochemical detection of CA 125 and EMA in ovarian serous cystadenocarcinomas by ascitic cytology

Kazushi SHIGEMASA, M.D., Yoshihide TANIOKA, M.D., Hiroshi MATSUDA, M.D., Nobutaka NAGAI, M.D., Kenji EGAWA, M.D., Yasuhiro KATSUBE, M.D., Yoshimi UEBABA, C.T., J.S.C., Atsushi FUJIWARA, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Hiroshima University, School of Medicine

論文別刷請求先 ☎734 広島市南区霞 1 の 2 の 3 広島大学
医学部産科婦人科学教室 重政和志
昭和 62 年 8 月 3 日受付
昭和 63 年 4 月 15 日受理

一方、腫瘍関連物質であるいわゆる血中腫瘍マーカーの測定は、癌の免疫学的診断法として注目されており、最近では酵素抗体法を用いた免疫組織化学的検討も盛んに行われている。CA 125 は上皮性卵巣悪性腫瘍、特に漿液性嚢胞腺癌において、血中および組織中に高率に陽性であることがよく知られているが、その腹水細胞診への応用に関する報告は未だ数少ない。また、epithelial membrane antigen (EMA) は上皮性腫瘍に対する組織学的マーカーとして応用されており、近年腹水細胞診においても癌細胞と中皮細胞を鑑別する目的で盛んに検討されている。

今回われわれは卵巣漿液性嚢胞腺癌の腹水細胞および摘出組織において CA 125 および EMA の免疫染色を行い、それらの診断的応用に関する意義などについて検討を加えたので報告する。

II. 研究材料および方法

1. 研究材料

広島大学医学部附属病院産婦人科において、1980年4月より1987年3月までに取扱った卵巣癌患者のうち手術前の腹水細胞診 (Papanicolaou 染色) で癌細胞、中皮細胞、組織球が確認され、手術後病理組織において漿液性嚢胞腺癌と診断された10例の腹水細胞診標本および摘出組織標本を材料として用いた。また中皮細胞における染色性を比較検討するために、手術時に腹水が認められ、腹水細胞診 (Papanicolaou 染色) にて中皮細胞が確認された非癌症例5例 (子宮筋腫3例、卵巣良性腫瘍2例) の腹水細胞診標本を材料とした。

腹水細胞診標本においては、通常の Papanicolaou 染色標本をキシレンに浸してカバーガラスを除去し、アルコール系列にて親水化した後、0.5% 塩酸を加えた 50% アルコールにて脱色後に免疫細胞染色を行った。また摘出組織標本は、対象とした漿液性嚢胞腺癌症例の H-E 染色標本より代表的組織像を示す切片を1, 2枚選択し、それらの 10% ホルマリン固定、パラフィン包埋ブロックよりマイクロームにて薄切連続切片を作成し、免疫組織染色を行った。

2. 研究方法

CA 125 および EMA の酵素抗体法を用いた染色方法は、Hsu, H.M.⁷⁾ らによる avidine-biotin peroxidase complex method (ABC 法) を応用した。実際の染色手順は表1に示したごとくであるが¹⁴⁾、一次抗体としては抗 CA 125 抗体 (CIS 社) は原液にて、また抗 EMA 抗体 (DAKO) は 0.01 M 磷酸緩衝液 (pH 7.2) (PBS) にて

表 1 腹水細胞診を用いた CA 125 および EMA 染色操作手順

1. キシレンにてカバーガラスをはずす
2. アルコール系列により切片を PBS 中にもどす
3. 0.5% 塩酸加 50% エタノールにて Papanicolaou 染色を脱色
4. PBS にて洗浄 (5 分)
5. 0.3% 過酸化水素加メタノールにて内因性ペルオキシダーゼ阻止 (30 分)
6. PBS にて洗浄 (15 分)
7. normal horse serum にて反応 (30 分)
8. 一次抗体: anti CA125 monoclonal antibody (CIS) または anti EMA monoclonal antibody (DAKO) にて反応 (60 分)
9. PBS にて洗浄 (15 分)
10. 二次抗体: biotinylated anti mouse antibody にて反応 (30 分)
11. PBS にて洗浄 (15 分)
12. Avidine-Biotin Peroxidase Complex にて反応 (30 分)
13. PBS にて洗浄 (15 分)
14. DAB 溶液にて発色反応
15. ヘマトキシリンにて核染色
16. 脱水・封入

100 倍希釈して用いた。二次抗体以降は vectastatin TM mouse Ig-G kit (VECTOR) を用い、二次抗体としてビオチン化抗マウス抗体 (VECTOR) を PBS にて 200 倍希釈して使用した。ABC complex はアビジン DH (VECTOR), ビオチン化ワザビペルオキシダーゼ (VECTOR), PBS をそれぞれ 9:9:1000 の比率で使用する 30 分前に調整して用いた。呈色は使用時調整した 0.003% 過酸化水素を含む 0.01% 3,3'-ジアミノベンチジン (DAB)/0.05 M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.6) にて反応させた。なお、一次抗体と細胞および組織との反応を行う前に、0.3% 過酸化水素を含むメタノールに浸して内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止し、また二次抗体と細胞および組織との非特異的反応を阻止するために二次抗体と同種の正常血清 (正常ウマ血清) (VECTOR) を PBS にて 20 倍希釈して反応させた。陰性対照としては一次抗体のかわりに同種の正常血清 (正常マウス血清) (VECTOR) を PBS で 20 倍希釈して使用し、一次抗体と細胞および組織との特異的な反応を確認した。

漿液性嚢胞腺癌の腹水細胞診標本においては、あらかじめ Papanicolaou 染色において確認した癌細胞、中皮細胞、炎症細胞について、CA 125 および EMA の染色性をそれぞれ検討した。また、CA 125 染色を行った標本については、各細胞の CA 125 染色所見を検討した後、再びカバーガラスを除去して、呈色に 3-amino-9-ethylcarbazole を用いた EMA 染色を行い、CA 125-EMA 二重染色による検討も行った。なお、同一症例の

表 2 漿液性嚢胞腺癌の摘出組織における CA 125 染色結果

症例	年齢	進行期	血清 CA125 値 (IU/ml)	分化度	組 織 染 色		
					腺腔側細胞膜	細胞間細胞膜	基底側細胞膜
1	54	IIc		G2	卅	—	—
2	72	III		G1	卅	—	—
3	55	III	3160.0	G1	卅	+	+
4	61	III	1716.0	G1	卅	卅	卅
5	60	III	500.0	G1	—	—	—
6	46	III	6880.0	G2	卅	—	+
7	58	III	140.0	G2	卅	—	—
8	58	III		G2	卅	+	卅
9	43	III		G2	+	+	—
10	57	IV		G2	卅	+	卅

表 3 漿液性嚢胞腺癌の摘出組織における EMA 染色結果

症例	年齢	進行期	分化度	EMA 染色所見			
				腺腔側細胞膜	細胞間細胞膜	基底側細胞膜	細胞質
1	54	IIc	G2	卅	卅	卅	+
2	72	III	G1	卅	—	—	—
3	55	III	G1	卅	卅	卅	卅
4	61	III	G1	卅	卅	卅	+
5	60	III	G1	卅	+	+	—
6	46	III	G2	卅	+	+	—
7	58	III	G2	卅	卅	+	+
8	58	III	G2	卅	卅	卅	卅
9	43	III	G2	卅	+	+	+
10	57	IV	G2	卅	卅	卅	卅

摘出組織においても, CA 125 および EMA の陽性率, 組織局在を検討した. 非癌症例の腹水細胞診標本においても中皮細胞における CA 125 および EMA の染色性を観察し, 漿液性嚢胞腺癌症例の中皮細胞における染色性と比較検討した. CA 125 および EMA 染色陽性例においては, 対象とした細胞および組織での陽性率により, 陽性率 75% 以上を卅 (強陽性), 25~75% を卅 (中等度陽性), 25% 未満を + (弱陽性) と 3 段階に分類し判定した. また, 腹水細胞染色では癌細胞, 中皮細胞, 組織球について, 組織染色では癌細胞の腺腔側細胞膜, 細胞間細胞膜, 基底側細胞膜, 細胞質と陽性部位別にそれぞれ判定を行った.

なお 1983 年以降の症例 (5 例) については, 手術前の血清中 CA 125 値も測定した.

III. 結 果

1. 漿液性嚢胞腺癌摘出組織における CA 125 および EMA 染色結果

今回検討を行った漿液性嚢胞腺癌症例の年齢, 臨床進行期, 治療前血清中 CA 125 値, 組織分化度, および摘出組織における CA 125 染色結果を表 2 に, 同一症例の摘出組織における EMA 染色結果を表 3 に示した.

各症例の臨床進行期は IIc 期 1 例, III 期 8 例, IV 期 1 例であり, 治療前の血清中 CA 125 値を測定した 5 例においては, 140.0 U/ml から 6880.0 U/ml までいずれも高値を示していた. 組織分化度は Grade 1 症例 (G1) 4 例, Grade 2 症例 (G2) 6 例であり, Grade 3 症例 (G3) は認められなかった.

表 4 漿液性嚢胞腺癌腹水細胞診の癌細胞, 中皮細胞, 組織球における
CA 125 および EMA 染色結果

症例	CA 125 染色所見			EMA 染色所見		
	癌細胞	中皮細胞	組織球	癌細胞	中皮細胞	組織球
1	卅	+	—	+	—	—
2	卅	—	—	卅	—	—
3	卅	卅	—	卅	+	—
4	卅	卅	—	卅	+	—
5	卅	+	—	卅	—	—
6	卅	卅	—	卅	+	—
7	卅	+	—	+	—	—
8	卅	卅	—	+	+	—
9	卅	+	—	卅	+	—
10	卅	+	—	卅	—	—

摘出組織の CA 125 染色においては, 10 例中 9 例 (90%) で癌細胞の腺腔側細胞膜を中心に陽性所見が認められ (写真 1), そのうち 6 例では癌細胞の細胞間細胞膜と基底側細胞膜のいずれかあるいは両者に染色性が認められた (写真 2). しかし, 癌細胞細胞質への染色性は観察されなかった. 今回の検討で 1 例のみ CA 125 染色陰性であった症例 5 については, 癌組織全体に多数の砂粒体が認められ切片作成時に artifact が生じ, CA 125 染色の陽性判定が困難であった症例であり, 一応陰性と判定した. 各症例の血清中 CA 125 値および組織分化度と摘出組織における CA 125 染色所見の関係は特に認められなかったが, CA 125 の染色性は, 同一症例においてはより高分化の癌組織部位で高率に陽性所見を示す傾向が観察された.

一方, 摘出組織の EMA 染色においては, 10 例全例 (100%) において癌細胞の腺腔側細胞膜を中心に陽性所見が観察され, またそのうち 9 例においては細胞間細胞膜から基底側細胞膜においても染色性が観察されるとともに (写真 3), 癌細胞細胞質への染色性も 7 例において認められた (写真 4). 各症例の組織分化度と摘出組織における EMA 染色所見との関係を検討すると, 高分化 (Grade 1) 症例ではその陽性部位は腺腔側細胞膜が中心であり, 個々の癌細胞を取囲むような染色性や, 細胞質への陽性所見に乏しかったが, より分化度の低い Grade 2 症例においては, 個々の癌細胞全周への強い染色性や細胞質への陽性所見が高率に認められる傾向を示した.

2. 漿液性嚢胞腺癌腹水細胞診の癌細胞, 中皮細胞, 組織球における CA 125 および EMA 染色結果

漿液性嚢胞腺癌腹水細胞診の癌細胞, 中皮細胞, 組織

球における CA 125 および EMA 染色結果を表 4 に示した.

腹水中癌細胞の CA 125 染色では, 10 例全例 (100%) において Papanicolaou 染色で癌細胞と判定された細胞と同一細胞で, 癌細胞の細胞膜に中等度～強陽性所見が認められた (写真 5). 一方, 同一症例による腹水中癌細胞の EMA 染色においても, 10 例全例 (100%) で癌細胞の細胞膜全周に陽性所見が認められ, また細胞質への染色性も観察された (写真 6). なお, CA 125-EMA 二重染色において同一癌細胞による CA 125 および EMA の染色性を比較検討した結果, CA 125 が陽性であった癌細胞のうち大多数は EMA 染色においても陽性所見が観察されたが, 一部に CA 125 のみが陽性であり, EMA と反応しなかった癌細胞が認められた. その反対に, CA 125 が陰性であり, EMA とのみ反応性を示す癌細胞は観察されなかった.

漿液性嚢胞腺癌の腹水中に出現した中皮細胞における CA 125 染色に関しては, 10 例中 9 例 (90%) において Papanicolaou 染色で中皮細胞と判定された細胞と同一細胞の一部でその細胞膜に陽性所見が観察された. また, 臨床的に癌細胞との鑑別が問題となる活動性中皮細胞の一部においては, 癌細胞に類似した CA 125 陽性所見が観察される症例も認められた (写真 7). 一方, 同一症例の EMA 染色では 10 例中 5 例において中皮細胞の一部に陽性所見が観察されたが, その頻度は CA 125 と比較して明らかに低く, また活動性中皮細胞における染色性も癌細胞と比較して微弱であった (写真 8). また, CA 125-EMA 二重染色においても CA 125 が陽性所見を示した通常の中皮細胞および活動性中皮細胞に対して

表5 非癌症例腹水細胞診の中皮細胞における CA 125 および EMA 染色結果

症例	疾患名	CA 125	EMA
11	子宮筋腫	+	—
12	子宮筋腫	+	—
13	子宮筋腫	—	—
14	卵巣類皮嚢胞腫	+	+
15	卵巣ムチン性嚢胞腺腫	+	+

EMA はほとんど陰性であった (写真9)。

腹水中に出現する組織球, リンパ球, 好中球などの炎症細胞に関しては, 10例全例において CA 125 および EMA は陽性所見を示さなかった。

3. 非癌症例腹水細胞診の中皮細胞における CA 125 および EMA 染色結果

非癌症例腹水細胞診の中皮細胞における CA 125 および EMA 染色結果を表5に示した。

CA 125 染色では, 癌症例の中皮細胞における染色結果と同様に, 非癌症例においても5例中4例(80%)で腹水中中皮細胞の一部でその細胞膜に陽性所見が観察され, また活動性中皮においては癌細胞類似の染色性が認められる症例も認められた (写真10)。一方, 同一症例の EMA 染色では5例中2例において中皮細胞のごく一部に陽性所見が認められたが, その染色性は弱くまたその頻度も CA 125 と比較して明らかに低かった (写真11)。

IV. 考 察

CA 125 は, 1980年に Bast ら¹⁾によってヒト卵巣漿液性嚢胞腺癌の培養細胞を免疫原として得られたモノクローナル抗体 (OC 125) が認識する抗原であり, 上皮性卵巣癌における血中腫瘍マーカーとしての有用性は高く評価され^{3,11)}, 現在臨床に広く応用されている。一方 Kabawat ら¹⁰⁾は種々の組織を用いた免疫組織化学的検索により, CA 125 が卵巣漿液性嚢胞腺癌において, 高率に陽性所見を認めるのみならず, ムチン性以外の上皮性卵巣腫瘍, Müller 管上皮由来の組織および腫瘍, 中皮由来の組織および腫瘍に広く局在を認め, CA 125 を胎児期体腔上皮由来の抗原と性格づけている。また腹膜, 心外膜, 胸膜においても CA 125 がいずれも陽性所見を示し, 特に炎症および癒着の認められる部位には強く局在を認めたと報告している。

腹水細胞診への CA 125 染色の応用に関する報告は未だ数少ないが, 石ら⁸⁾は卵巣癌, 肺癌, 胃癌, 乳癌, 大腸

癌患者の腹水29例を対象とした検討により, CA 125 は卵巣漿液性嚢胞腺癌において比較的高率に陽性であるが, 他の組織型の卵巣癌や他臓器の癌においても陽性所見が存在し, また中皮細胞の一部においても陽性所見を認めたと報告している。また, 伊藤ら⁹⁾は各種抗体を用いた中皮細胞の免疫細胞化学的検討により, CA 125 は一部の中皮細胞にさまざまな染色性を示し, 体腔液細胞診を検討するとき卵巣癌細胞かあるいは異型中皮細胞かが問題となる症例については CA 125 染色による鑑別は困難であったと報告している。

一方, EMA は1977年に Ceriani ら²⁾が人乳脂肪球被膜より作成した抗体が認識する抗原であり, 免疫組織化学的検討が多数報告されている。Heyderman ら⁶⁾は, 乳腺上皮を中心とした種々の組織および腫瘍を用いた検討により, EMA が分泌能を有する上皮組織および腫瘍に広く局在することを報告し, また Sloane ら¹²⁾は, EMA が上皮および中皮由来の腫瘍には存在するが非上皮性腫瘍には存在しないことより, 上皮性腫瘍と非上皮性腫瘍の鑑別診断における有用性を報告している。漿液性嚢胞腺癌における EMA の免疫組織化学的検討は数少ないが, 藤本ら⁵⁾は上皮性卵巣腫瘍の摘出組織および腹水細胞診標本を用いて EMA の陽性率を検討し, EMA は漿液性嚢胞腺癌摘出組織37例全例に陽性であり, その局在部位は高分化型症例では主に表面細胞膜から部分細胞膜に局在が認められ, 中分化から低分化症例になるにつれ細胞膜全周から細胞質にも局在が認められたと報告している。また, 漿液性嚢胞腺癌の腹水細胞診においても18例中15例に陽性であったとしている。

腹水細胞診における EMA 染色の有用性に関しても幾つかの報告がなされているが, Epenetos ら⁴⁾は多数の癌症例の胸, 腹水を用いて EMA の免疫細胞化学的検討を行い, EMA が癌細胞とのみ反応し, 中皮細胞とは反応しなかったことより, EMA が癌細胞とまぎらわしい中皮細胞を癌細胞と鑑別する上で有用であることを報告している。また, To ら¹³⁾は卵巣癌症例14例を含む100例の胸, 腹水細胞診標本を用いて EMA 染色を行い, EMA は癌細胞において高率に強陽性所見を認め, 中皮細胞においてもその一部に弱陽性所見が認められてはいるが, 癌細胞と中皮細胞との鑑別には有用であると報告している。

今回のわれわれの検討では, 漿液性嚢胞腺癌10例の摘出組織を用いた CA 125 および EMA 染色において, CA 125 は判定困難で一応陰性とした1例を除き陽性所見が観察され, また EMA においても10例全例が陽性であり, 漿液性嚢胞腺癌の摘出組織において CA 125 お

よび EMA が高率に陽性になることが確認された。また、各症例の組織分化度と摘出組織における CA 125 染色所見の関係は特に認められなかったが、摘出組織においては同一症例でもより高分化の癌組織部位に CA 125 が高率に陽性所見を示す傾向が観察され、今後さらに症例を増して検討する必要があると考えられた。各症例の組織分化度と摘出組織における EMA 染色所見との関係は、高分化 (Grade 1) 症例ではその陽性部位は腺腔側細胞膜が中心であり、より分化度の低い Grade 2 症例においては、それぞれの癌細胞全周への強い染色性や細胞質への陽性所見が高率に認められる傾向を示し、藤本ら⁵⁾と同様の結果を得た。

腹水中癌細胞の CA 125 および EMA 染色においては、ともに 10 例全例において陽性所見が認められたが、CA 125-EMA 二重染色において CA 125 のみが陽性で EMA が陰性であった癌細胞は観察されたが、その逆は認められなかったことより、CA 125 は EMA と比較してより高率に癌細胞を検出し得る可能性が推察された。

腹水中中皮細胞の CA 125 および EMA 染色において、CA 125 は漿液性囊胞腺癌症例 10 例中 9 例および非癌症例 5 例中 4 例で中皮細胞の一部で陽性所見が観察された。また臨床上癌細胞との鑑別が問題となる活動性中皮細胞の一部においては癌細胞類似の強い CA 125 陽性所見が観察される症例も認められ、癌細胞と中皮細胞の鑑別診断に用いるには問題があると考えられた。CA 125 が胎児期体腔上皮由来の抗原であることを考慮すると、腹水中に出現する中皮細胞の一部において CA 125 が陽性となることは容易に首肯され、また活動性中皮においてより強く染色される症例が認められたことは Kabawat ら¹⁰⁾の組織上での検索と合致していた。一方、EMA は漿液性囊胞腺癌症例 10 例中 5 例および非癌症例 5 例中 2 例において中皮細胞の一部に陽性所見が観察された。しかし、その頻度は CA 125 より低く、また活動性中皮細胞においてもその染色性は癌細胞と比較して明らかに微弱であった。また CA 125-EMA 二重染色においても EMA は CA 125 が陽性であった中皮細胞とほとんど反応しないことが確認された。これらの成績から、Epenetos ら⁴⁾、To ら¹³⁾による報告と同様に EMA は癌細胞と中皮細胞の鑑別に有用であると考えられた。

腹水細胞診において、免疫細胞化学的に各種の抗原を検出することにより診断的有用性を高めようとするとき、癌細胞を高率に検出する必要があるとともに、異型の強い活動性中皮細胞と癌細胞の鑑別が常に問題となる。今回のわれわれの検討では、CA 125 は EMA と比較し、より高率に癌細胞と反応することが示唆された

が、癌細胞と中皮細胞との鑑別に関しては問題が残された。一方、EMA は癌細胞の確定診断という点についてかなりの有用性が期待された。以上のような CA 125, EMA の特性を生かし、両者を組みあわせて腹水細胞診に応用することにより、今後腹水を伴う腹腔内腫瘍患者の原発巣の推定、悪性診断の補助として用い得る可能性があるものと考えられた。

各種腫瘍マーカー染色の細胞診への応用は、細胞の細胞性格あるいは悪性度を把握し得る面で従来の Papanicolaou 染色による細胞の形態的把握と別の方向から、良・悪性診断、原発巣の推定に寄与する方法と考えられ、今後症例を重ねてさらに研究を進めて行くべき分野であると考えられた。

本論文の要旨の一部は、第 28 回日本臨床細胞学会総会において発表した。なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (60570778) の援助により行った。

Summary

Immunocytochemical detection of CA 125 and epithelial membrane antigen (EMA) was performed in cancer cells, mesothelial cells and histiocytes in ascitic fluid specimens obtained from patients with ovarian serous cystadenocarcinomas using the avidin-biotin-peroxidase technique. In addition, immunohistochemical localization of CA 125 and EMA in tissue specimens from the same patients were examined. CA 125 and EMA in mesothelial cells of non-cancerous ascitic fluid were also examined.

The results were as follows;

(1) In the tissue specimens, CA 125 was detected in 9 of 10 cases and EMA was detected in all 10 cases. Both CA 125 and EMA appeared mainly on the luminal surface of the cancer cells. In addition, positive stains of EMA were observed even in the cytoplasm in some cases.

(2) In cancer cells of the ascitic fluid, both CA 125 and EMA were positive in all cytologic specimens. Immunocytochemical double stains with CA 125 and EMA revealed that more cancer cells demonstrated a positive reaction for CA 125 than for EMA in all cases.

(3) Some of the mesothelial cells in both cancerous and non-cancerous ascitic fluid showed a positive reaction for CA 125, and the reactive mesothelial cells showed staining similar to that of cancer cells. EMA was only weakly expressed on a few reactive mesothelial cells.

(4) In inflammatory cells like histiocytes that were present in the ascitic fluid, both CA 125 and EMA were

negative in all cytologic specimens.

The above findings suggest that immunocytochemical stainings of CA 125 and EMA in ascitic cytology is useful in detecting cancer cells and differentiating them from reactive mesothelial cells.

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) 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) Einhorn, N., et al. : Preoperative evaluation of serum CA 125 levels in patients with primary epithelial ovarian cancer, *Obst. & Gynec.*, 67 : 414~416, 1986.
- 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) 藤本郁野・他 : 卵巣腫瘍における Epithelial Membrane Antigen (EMA) の免疫細胞組織化学的検討, *日臨細胞誌*, 26 : 1019~1026, 1987.
- 6) Heyderman, E., et al. : A new antigen on the epithelial membrane : its immunoperoxidase localization in normal and neoplastic tissue, *J. Clin. Pathol.*, 32 : 35~39, 1979.
- 7) Hsu, S.M., et al. : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques, *J. Histochem. Cytochem.*, 29 : 577~580, 1981.
- 8) 石 和久・他 : 腹水での各種腫瘍マーカーの検出意義, *日臨細胞誌*, 25 : 241, 1986.
- 9) 伊藤 仁・他 : 中皮細胞の免疫細胞化学的検討—CA 125を中心に—, *日臨細胞誌*, 26 : 581~584, 1987.
- 10) Kabawat, S.E., et al. : Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC 125, *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2 : 275~285, 1983.
- 11) Klug, T.L., et al. : Monoclonal antibody immunoperoxidase assay for an antigenic determinant (CA 125) associated with human epithelial ovarian carcinomas, *Cancer Research*, 44 : 1048~1053, 1984.
- 12) Sloane, J.P., et al. : Distribution of Epithelial Membrane Antigen in normal and neoplastic tissues and its value of diagnostic tumor pathology, *Cancer*, 47 : 1786~1795, 1981.
- 13) To, A., et al. : Use of antisera to epithelial membrane antigen for the cytodagnosis of malignancy in serous effusions, *J. Clin. Pathol.*, 34 : 1326~1332, 1981.
- 14) 渡辺慶一, 中根一穂・編 : 改定版酵素抗体法, p. 222, 学際企画, 東京, 1980.

写真 1 漿液性嚢胞腺癌組織における CA 125 染色像。癌細胞の腺腔側細胞膜に CA 125 の局在を認める (症例 3, 20×5)

写真 4 漿液性嚢胞腺癌組織における EMA 染色像。個々の癌細胞の細胞膜全周および一部細胞質にも EMA の局在を認める (症例 10, 20×5)

写真 2 漿液性嚢胞腺癌組織における CA 125 染色像。個々の癌細胞の細胞膜全周に CA 125 の局在を認める (症例 4, 10×5)

写真 5 漿液性嚢胞腺癌の腹水中癌細胞において、CA 125 陽性所見が認められる (症例 3, 100×5)

写真 3 漿液性嚢胞腺癌組織における EMA 染色像。癌細胞の腺腔側細胞膜に EMA の局在を認める (症例 3, 10×5)

写真 6 漿液性嚢胞腺癌の腹水中細胞において、EMA の陽性所見が認められる (症例 4, 100×5)

写真 7 漿液性嚢胞腺癌の腹水中活動性中皮細胞において、癌細胞に類似した CA 125 陽性所見が認められる (症例 4, 100×5)

写真 10 非癌症例の腹水中活動性中皮細胞においても、癌細胞類いの CA 125 陽性所見が観察された (症例 12, 100×5)

写真 8 漿液性嚢胞腺癌の腹水中活動性中皮細胞における EMA 染色像。癌細胞と比較して微弱な陽性所見が認められる (症例 6, 100×5)

写真 11 非癌症例において、ごく一部の中皮細胞に微弱な EMA 陽性所見が認められた (症例 15, 100×5)

写真 9 CA 125-EMA 二重染色において、EMA は腹水中癌細胞にのみ赤色調の陽性所見として観察され、中皮細胞においては茶褐色の CA 125 陽性所見のみが観察された (症例 6, 40×5)