ABO (H) 血液型物質と睾丸腫瘍

—予 報—

国立がんセンター病院泌尿器科 藤 田 潤
 松 本 恵 一
 国立がんセンター研究所病理 岸 紀 代 三
 帝京大学医学部法医学教室 石 山 昱 夫

ABO(H) BLOOD GROUP SUBSTANCES AND TESTICULAR TUMORS

—A Preliminary Report—

Jun Fujita and Keiichi Matsumoto

Urology Division, National Cancer Center Hospital

Kiyozo Kishi

Pathology Division, National Cancer Center Research Institute

Ikuo Ishiyama

Department of Legal Medicine, Teikyo University School of Medicine

To evaluate the relationship between cell surface glycoprotein and embryonic development and to find out possible tumor markers, Specific Red Cell Adherence test (SRCA) was applied to 20 patients with testicular tumors. SRCA was developed by Davidsohn and can detect cell surface ABH blood group substances, which are glycoproteins or glycolipids, on formalin-fixed paraffin-embedded tissues. Blood group O patients were not included and the tumors examined were; 14 seminomas, 5 embryonal carcinomas, 1 yolk sac tumor, 2 choriocarcinomas, 2 teratomas and 1 rhabdomyosarcoma, when each component of a mixed tumor was counted separately.

All seminomas, typical or anaplastic, choriocarcinomas and a rhabdomyosarcoma showed negative SRCA results. In embryonal carcinomas and a yolk sac tumor erythrocytes of the blood group identical to the patient adhered to the tumors, but they were found only around and not on the tumor cells. Therefore, the presence of blood group substances in these tumors seemed doubtful. In teratomas, skin, hair and glandular tissues gave positive while cartilage and connective tissues gave negative SRCA results thus simulating fetal tissues.

要旨: 細胞表面糖蛋白質と胎発生との関係を知るため、および睾丸腫瘍のマーカーを見出すために、特異的赤血球被着試験 (SRCA) を、20例の睾丸腫瘍患者に対して行つた。SRCA は Davidsohn により開発発展された方法で、ホルマリン固定パラフィン包埋組織中で糖蛋白や糖脂質である血液型物質を検出することができる。O型の患者は除外した。腫瘍の組織型は、精上皮腫14例、胎児性癌5例、卵黄嚢腫瘍1例、絨毛上皮癌2例、奇形腫2例、横紋筋肉腫1例である。精上皮腫、絨毛上皮癌はすべて赤血球被着がなく SRCA 陰性。卵黄嚢腫瘍、胎児性癌は一見陽性であるが、詳しくみると赤血球が細胞周辺に認められるのみで、細胞上にはないため疑陽性。奇形腫では、皮膚、毛髪、腺上皮細胞は陽性で軟骨や結合組織は陰性であり、胎児組織と同様の SRCA 結果を示した。また横紋筋肉腫は陰性であつた。

緒 言

分化に伴う細胞表面抗原の変化を知ることは、悪性

リンパ腫で示されているように腫瘍の発生、分類を考える上で重要であるばかりでなく¹⁾、診断、治療、予後の

推定に役立つ腫瘍マーカーを見出す糸口となる可能性をも有している²⁾。動物では睾丸胎児性癌(奇形腫)が胎発生のモデルとなりうる事が示されており¹⁾³⁾、細胞表面の glycosyltransferase, glycoprotein, glycopeptide には分化のマーカーとしての意義が示唆されている⁴⁾⁵⁾。そこでわれわれは glycoprotein (および glycolipid) である ABO (H) 血液型物質の睾丸腫瘍における変化を、特異的赤血球被着試験 Specific Red Cell Adherence test (SRCA)⁶⁾を用いて検討したので以下報告する。本法は組織切片中の血液型物質に抗血清を反応させ、さらにその抗血清に赤血球を反応被着させることにより間接的に血液型物質の存在を推定する方法で、近年膀胱腫瘍における応用がみられている⁷⁾。

材料、方法

国立がんセンター病院泌尿器科で手術された睾丸腫瘍患者のうち、血液型O型以外で、病理組織パラフィンブロックが入手できた20例に対し、Davidsohn の原法⁶⁾に改良を加えて、SRCA を行なった。腫瘍の組織型は Table 1 の如くで、混合腫瘍はそれぞれ構成成分について判定した。

Table 1 Histologic classification of testicular tumors and the result of SRCA.

Tumor	No. of tumors examined ^a	SRCA ^b
Seminoma	14	(-)
Embryonal Ca.	5	(±) ^c
Choriocarcinoma	2	(-)
Yolk Sac Tumor	1	(±) ^c
Teratoma	2	(+) and (-) ^d
Rhabdomyosarcoma	1	(-)

- a : different histologic types in a mixed tumor were considered separately, so the total number is greater than that of the patient.
b : minus sign means negative and plus sign means positive SRCA result.
c : erythrocytes were found around but not on the tumor cells.
d : skin, hair and glandular tissues were positive, while cartilage and connective tissues were negative.

SRCA : 5μm の組織切片を型の如く脱パラフィン後、0.1% Tween 80生理食塩水中につけ、非特異的な赤血球の被着を予防する。次いで抗A血清(Ortho社製)を滴下し、室温にて20分間感作し、リン酸加緩衝液 PBS (pH 7.4) にて15分ずつ3回洗浄、一般供血者よりのA型赤血球0.2%浮遊液を滴下して20分間反応させる。そこで PBS をみたしたシャーレ中に標本面を下にして

ひたし、未反応の赤血球を沈降させる。5分後そのままで鏡検しさらに2%グルタルアルデヒド固定、ヘマトキシリン-エオシン染色にて永久標本化する。B型物質に対しては、抗B血清とB型赤血球を使用し、同様に行なう。

大部分の細胞上に赤血球が被着している場合を SRCA 陽性とする。血管内皮細胞、赤血球は血液型物質をもっているため陽性、筋肉、結合織、骨などは逆に陰性となるはずである⁶⁾。これら built-in のもののほかに、血球型と抗血清との組み合わせを変え、コントロールとする。

結 果

精上皮腫は typical, anaplastic ともに SRCA 陰性 (Fig. 1, Table 1)。絨毛上皮癌も陰性。卵黄囊腫瘍と胎児性癌は一見陽性であるが、注意深くみると細胞周辺に被着赤血球がみられるのみで、細胞上にはわずかである

Fig. 1 Seminoma. Blood group B. SRCA negative. Note erythrocytes adhering to blood vessels. (H & E, ×100)

Fig. 2 Embryonal carcinoma. Blood group A. Erythrocytes were found only around and not on the tumor cells. (H & E, ×100)

Fig. 3-a,b Teratoma(glandular tissue). Blood group A. SRCA positive. Blood group A erythrocytes adhered (a), but no group B erythrocytes did (b). (H & E, $\times 100$)

(a)

(b)

ため、疑陽性とした (Fig. 2). 奇形腫はその分化形態に応じ、毛髪、皮膚、腺上皮は陽性 (Fig. 3), 軟骨、結合組織は陰性であった。またこれら陽性反応は、患者血液型と同一の型物質に対してのみ認められた。なお横紋筋肉

腫は正常筋組織と同様に陰性であった。

考 按

血液型物質は一般に糖蛋白 glycoprotein 又は糖脂質 glycolipid であり、O型の血液型特異物質をH物質と称する。パラフィン切片では一般に SRCA によるH物質の検出は困難とされている⁸⁾。このH物質に glycosyltransferases の働きで、ガラクトースが付けばB型、N-アセチルガラクトサミンが付けばA型物質となる。

睪丸胎児性癌は胚細胞から生じ、新生物であると同時に、少なくとも動物モデルでは発育分化の能力を保持している¹⁾。この分化に伴い減少、消失するものとして、F₀抗原、アルカリフォスファターゼ、フコース含有糖蛋白質、IV型コラーゲン⁵⁾⁹⁾、出現してくるものとしては、H-2 抗原、 β_2 ミクログロブリン、トランスフェリン、フィブロネクチン、 α 胎児蛋白質、インターフェロン、プラズミノーゲンアクチベーターなどが知られている¹⁾²⁾³⁾⁹⁾。一方マウスでは、血液型物質が、endodermal cell におけるトリプシン処理家兎赤血球のロゼット形成を抑制するが、より未分化な embryonal carcinoma stem cell でのロゼット形成は抑制しないというように、分化は細胞表面の糖結合特異性の変化をも伴い¹⁰⁾、これら各発生段階に特異的な糖鎖や glycosyltransferase 活性と、細胞間相互作用、形態形成との関連が示唆されている⁴⁾⁵⁾¹⁰⁾。

SRCA に対し、睪丸腫瘍は陽性、陰性、疑陽性と3つの態度を示した。精上皮腫、絨毛上皮癌が SRCA 陰性なのは、精祖細胞や絨毛細胞が血液型物質活性を示さない¹¹⁾ことから予測されるとおりである。奇形腫ではその分化形態に応じて、胎児組織と同様¹²⁾の態度を示したのは興味深い、ここで血液型物質がその形態形成に関与している可能性もあるが、単にその結果であるかもしれない。今回、患者の血液型と腫瘍組織の示した血液型活性とが同一であったが、奇形腫の如く、細胞クローンが一定方向にその性状を決定した場合、血液型遺伝子が、欠失又は不活化されることもあり得る¹³⁾。このような点を考慮すると、さらに腫瘍の性質も詳しく分析できることが期待される。胎児性癌、卵黄嚢腫瘍でみられた細胞周辺の赤血球被着は、細胞からの分泌、周囲体液から細胞への型物質の吸着、技術的な問題その他を考える必要がある。

睪丸腫瘍にける細胞表面の変化をとらえることは、腫瘍の発生、分化、それに基いた合理的な分類、腫瘍マーカーの発見につながるだけでなく、正常の胎発生を考え

るもとともなるため、今後さらに詳しく解析を進める予定である。

本研究の一部は文部省研究助成金一般研究C(457177)の補助を受けた。

文 献

- 1) Gachelin, G.: The cell surface antigens of mouse embryonal carcinoma cells. *B.B.A.*, **516**, 27—60, 1978.
- 2) Jewett, M.A.S.: Biology of testicular tumors. *Urol. Clin. N. Am.*, **4**, 495—507, 1977.
- 3) Artzt, K. and Bennett, D.: Analogies between embryonic (T/t) antigens and adult major histocompatibility (H-2) antigens. *Nature*, **256**, 545—547, 1975.
- 4) Roth, S.: Plasma membrane glycosyltransferases and morphogenesis. in *Mechanism of cell change*, Ebert, J.D. and Okada, T.S., 1st ed., p. 215, Wiley & Sons, New York, 1979.
- 5) Muramatsu, T., Gachelin, G., Nicolas, J.F., Condamine, H., Jakob, H. and Jacob, F.: Carbohydrate structure and cell differentiation: Unique properties of fucosyl-glycopeptides isolated from embryonal carcinoma cells. *P. N.A.S.*, **75**, 2315—2319, 1978.
- 6) Davidsohn, I.: Early immunologic diagnosis and prognosis of carcinoma. *A.J.C.P.*, **57**, 715—730, 1972.
- 7) Young, A.K., Hammond, E. and Middleton, A.W. Jr.: The prognostic value of cell surface antigens in low grade, non-invasive, transitional cell carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, **122**, 462—464, 1979.
- 8) 石山 昱夫, 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. *帝京医誌*, **2**, 169—176, 1979.
- 9) Adamson, E.D., Gaunt, S.J. and Graham, C.F.: The differentiation of teratocarcinoma stem cells is marked by the types of collagen which are synthesized. *Cell*, **17**, 469—476, 1979.
- 10) Grabel, L.B., Rosen, S.D. and Martin, G.R.: Teratocarcinoma stem cells have a cell surface carbohydrate-binding component implicated in cell-cell adhesion. *Cell*, **17**, 477—484, 1979.
- 11) Loke, Y.W. and Ballard, A.C.: Blood group A antigens on human trophoblast cells. *Nature*, **245**, 329—330, 1973.
- 12) Szulman, A.E.: The histological distribution of the blood group substances in man as disclosed by immunofluorescence. III. The A, B, and H antigens in embryos and fetuses from 18 mm in length. *J. Exp. Med.*, **119**, 503—516, 1964.
- 13) Ishiyama, I.: Histochemical demonstration of biosynthetic pattern of ABH isoantigens in various tissues. *Proc. Japanese Acad.*, **55**, Ser. B, 329—334, 1979.

(1980年1月29日受付)