尿路系腫瘍における腫瘍組織, 血清および尿中の
carcinoembryonic antigen (CEA) について
—免疫組織化学および Radioimmunoassay による検討—

兵庫医科大学泌尿器科学教室 鹿子木基二
(主任: 生駒文彦教授)

CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN (CEA) IN TUMOR TISSUE, SERUM AND URINE
IN CASES WITH TUMORS OF THE URINARY TRACT
—A Study by Immunohistochemistry and Radioimmunoassay—

Mototsugu Kanokogi

Department of Urology, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya, Japan
(Director: Prof. Fumihiko Ikoma)

In order to evaluate the diagnostic and prognostic significance of carcinoembryonic antigen (CEA), an immunohistochemical study, using the peroxidase-antiperoxidase (PAP) method, of localization of CEA on tissue sections in one hundred and forty-six cases with primary tumors of the bladder, ureter, and renal pelvis was performed. In addition, in some of the cases, CEA values in serum, urine, and tumor tissue extract were also examined by radioimmunoassay.

The following results were obtained:

- 1) Immunohistochemically, CEA-positive tumor cells were found in 63 of 127 transitional cell carcinomas (TCC), 3 of 4 adenocarcinomas, and all of 5 squamous cell carcinomas, but not in any other malignant nor benign tumors.
- 2) Concerning the primary sites of the tumors, there was no significant difference in the incidence and distribution of CEA-positive tumor cells among TCC of bladder, ureter, and renal pelvis.
- 3) In TCC, CEA-positivity in the tumor cells correlated significantly to the histological grade ($p < 0.005$), pathological stage ($p < 0.005$), and occurrence of local recurrence ($p < 0.025$). Therefore, CEA-positivity in the tumor cells seems to be a parameter for the malignant potentiality of the tumor.
- 4) In TCC of the bladder, there was no significant correlation between CEA-positivity in the tumor cells and values of serum and/or urinary CEA, showing that these three parameters are independent of each other.
- 5) In TCC of the bladder, although both values of serum and urinary CEA were not satisfactory as diagnostic information, the former was elevated significantly in cases with distant metastasis ($p < 0.05$), and the latter in high stage cases with muscular invasion ($p < 0.05$).
- 6) CEA was thought to be a more specific tumor marker in urachal carcinoma than in TCC because of its high concentration in the serum and tumor tissue extract. On the other hand, in mesonephric adenocarcinoma it was not detected immunohistochemically. These findings suggest embryologically different pathogeneses of the two adenocarcinomas.

要旨: 原発性尿路腫瘍146例を対象として, 酵素抗体法(PAP法)を用いて免疫組織化学的に carcinoembryonic antigen (CEA) の検索を行ない, 併せて一部の症例で, 血清, 尿中および腫瘍組織中の CEA を Radioimmunoassay 法を用いて測定し, 以下の結果を得た。

(I) PAP法によって, 腫瘍内 CEA は, 移行上皮癌 (63/127), 腺癌 (3/4), 扁平上皮癌 (5/5) に検出されたが, その他の悪性腫瘍や良性病変には検出されなかった。

(II) 移行上皮癌の原発部位別では, 膀胱・尿管・腎盂腫瘍の間で腫瘍内 CEA の陽性率やその局在に有

意差はみられず、CEA 産生能の面で各腫瘍の類似性を示すものと考えられた。

(III) 移行上皮癌において、腫瘍内 CEA の有無は、組織学的異型度 ($p < 0.005$)、深達度 ($p < 0.005$) および局所再発の有無 ($p < 0.025$) との間に相関がみられ、腫瘍の悪性度を表わす parameter となり得ると考えられた。

(IV) 膀胱移行上皮癌では、腫瘍内 CEA の有無、血清 CEA 値および尿中 CEA 値の三者の間には相関はみられなかった。

(V) 膀胱移行上皮癌では、血清および尿中 CEA 値はともにスクリーニングテストとしての特異性は乏しいが、前者は遠隔転移の出現とともに ($p < 0.05$)、後者は high stage 群で ($p < 0.05$) 有意に高値を示した。

(VI) 腺癌のうち、尿膜管癌では移行上皮癌に比べ CEA のもつ特異性は大きいと考えられるが、中腎癌では証明されず、両者の発生母地の相違を示唆するものと思われた。

緒 言

Carcinoembryonic antigen(以下、CEA と略す)は、1965年 Gold ら¹²⁾によって結腸癌組織から抽出され、これが胎児消化管上皮にも存在することから癌胎児性抗原と命名された。当初 Gold らは、CEA が内胚葉由来消化器癌と胎児消化管上皮に共通した特異抗原と考えていたが、その後消化器癌以外の悪性腫瘍のみならず非癌組織中^{21)~5)}にも存在することが明らかにされて来た。

その後の研究で、CEA の物理化学的性状は、 β -globulin 域に電気泳動される分子量約20万の過塩素酸溶解性の糖蛋白とされているが、糖組成などに不均一性⁶⁾がみられ、抗 CEA 血清と交叉反応を有する Immunoreactive CEA として NCA⁸⁾、NFA⁹⁾、NCA-2¹⁰⁾などの CEA 関連物質が正常組織から抽出されたことから、免疫学的にはその抗原決定基は単一ではなく、同定、定量に際し複雑な背景のあることが指摘されるようになった。

臨床的には、Radioimmunoassay 法による CEA 定量法が広く応用されるようになってから、種々の悪性腫瘍に対して検討され、特に結腸直腸癌、脾癌、胆管癌などでは血清 CEA 値は高値を示しその診断的価値は大きい、同時に非癌症例にも検出されることがわかり⁶⁾⁷⁾¹¹⁾、問題点が指摘されている。

泌尿器科領域においても、尿路悪性腫瘍症例における血清および尿中 CEA についての報告は多くみられるが^{12)~19)}、そのスクリーニングテストとしての価値は乏しいとする報告も散見される^{20)~23)}。しかし、いまだ尿路系腫瘍全般において腫瘍組織内 CEA の有無についての報告はなく、また腫瘍組織内 CEA の有無と血清および尿中 CEA 値との関連も不明である。そこで、尿路悪性腫瘍の診断・予後判定における CEA の有用

性と問題点を明らかにする目的で、原発性膀胱・尿管・腎盂腫瘍を対象にして免疫組織化学的方法により腫瘍組織内 CEA の局在を検討し、併せて一部の症例で腫瘍組織、血清および尿中 CEA を測定した。

対象および方法

I. 対象.

昭和48年7月から昭和58年8月までに兵庫医科大学泌尿器科を受診した原発性尿路腫瘍症例のうち、明確な組織診断の下されている146例を対象とした。平均年齢は63.5歳で、性別では男子113例、女子33例であった。

その組織分類は、膀胱腫瘍125例のうち、移行上皮癌(以下、TCC と略す)107例、腺癌(以下、AC と略す)4例(尿膜管癌3例、中腎癌1例)、扁平上皮癌(以下、SCC と略す)5例、未分化癌1例、肉腫2例(横紋筋肉腫1例、平滑筋肉腫1例)、悪性リンパ腫1例、移行上皮乳頭腫5例であった。尿管腫瘍12例では、TCC 11例、移行上皮乳頭腫1例、そして腎盂腫瘍9例は全例 TCC であった。TCC のうち、いわゆる papillomatosis の像を呈し、原発巣が確定し得ない症例は対象から除外した。

手術時摘除された組織から1症例につき、1~8個の病理標本作製し組織診断を決定したが、この中には腫瘍病変とは別に、増殖性膀胱炎(Cystitis cystica and glandularis 11例、von Brunn's nest 8例)が含まれていた。

II. 方法.

(A) 酵素抗体法(PAP法):

摘除材料は、10%ホルマリン固定、パラフィン包埋後、ミクロトームで4~5 μ の厚さに薄切し、低温伸展板上で乾燥させた。薄切標本は、一夜37℃の incubator 内に静置した後、酵素抗体法による検索に供した。

CEA の組織内局在は、Sternberger らの Perox-

idase-antiperoxidase (PAP) 法²⁴⁾で検索した。即ち、キシロールで脱パラフィン後、0.3% H_2O_2 添加メタノール中に30分間浸漬し内因性ペルオキシダーゼを除去した後、5%正常ブタ血清を10分間作用させ非特異的抗原抗体反応をブロックした。次いで、抗CEA血清(rabbit anti-human CEA)を30分間湿室内で反応させ、Tris buffer (pH 7.6) で充分洗浄した後、第2抗体(swine anti-rabbit immunoglobulin)、PAP溶液(rabbit, PAP)を順次同様に作用させた。抗原抗体反応は全て37°C incubator内で作用させた。このあと、3, 3'-diaminobenzidine $\cdot$ 4HCl 20mg添加 Tris buffer (pH 7.6) 100mlに、7% H_2O_2 水溶液0.1mlを加えた溶液中に2分間浸漬し、呈色反応させた。Tris bufferで反応を停止させた後、ヘマトキシリンで核染色し、脱水、透徹、封入した。

対照試験²⁵⁾は、抗CEA血清の代わりに非免疫正常ウサギ血清(1:200)およびTris bufferを用いて染色し、それぞれ非特異的反応のないことを確かめた。また、第2抗体を削除して染色し、非特異的反応のないことを確かめた。さらに、後述する結腸癌肝転移組織から過塩素酸で抽出したCEAによる抗CEA血清の吸収操作で、陽性所見の消失することを確認した。陽性コントロールには結腸癌組織(3例)を、陰性コントロールには正常肺(2例)および正常膀胱組織(8例)を用いた。

(B) 過塩素酸抽出法：

手術で得られた膀胱腫瘍組織(計28.0g)、尿管腫瘍組織(計3.9g)、非癌膀胱粘膜(計9.6g)および剖検で得た結腸癌肝転移組織(計5.9g)、正常ヒト肺および脾組織を-80°C deep freezer内にプールしておき、これらの組織からvon Kleistら²⁶⁾の方法に準じ過塩素酸抽出物を得た。即ち、組織のwet weightを測定後、1~5倍量の生理食塩水を加え水冷下にブレンダーでhomogenizeし、これに等量の2M 過塩素酸を加え、30分間よく攪拌した後、4°Cで30分間遠心(12,000rpm)した。得られた上清をTris hydroxymethyl aminomethaneで中性化した後、飽和硫酸アンモニウムで塩析させた。つづいて4°Cで30分間遠心(12,000rpm)し、得られた沈渣を蒸留水で洗浄して余剰の過塩素酸を除去し、再び4°C、30分間遠心(12,000rpm)し、その沈渣から凍結乾燥粉末を得た。

(C) 抗血清：

用いた抗血清は全てDAKOPATTS社製(Denmark)を用いた。抗CEA血清(rabbit anti-human CEA)

は、nonspecific crossreacting antigen (NCA)⁸⁾を除去するために、上述の正常ヒト肺および脾の過塩素酸抽出凍結乾燥粉末(25mg/ml antiserum)、および正常ヒト血清凍結乾燥粉末(50mg/ml antiserum)を加え、4°Cで24時間吸収させた。PAP法に用いた抗血清の希釈濃度は、抗CEA血清1:400、第2抗体1:20、PAP溶液1:100とした。

(D) CEAのRadioimmunoassay：

CEA定量は、CEA・RIAKIT (Dainabot Radioisotope Laboratories, Ltd., Tokyo.)を用い、いわゆるサンドイッチ法によるRadioimmunoassay¹¹⁾で測定した。血清および尿検体は測定まで-20°Cで凍結保存しておいた。尿検体は早朝第1尿を検体とした。組織内CEAの測定は、上述の過塩素酸抽出凍結乾燥粉末を蒸留水に希釈し、これをサンプルとした。尿サンプルについては、健康人尿に各種既知量のCEAを加え測定した結果、その回収率は106.8%であったことや、また血清サンプルと同じ希釈曲線が得られたことから、尿中CEA測定に際して非特異的反応はないものと考えられた。過塩素酸抽出による組織内CEAの測定に際し、希釈系列を用いた複数点測定で各測定値が標準曲線上にプロットされたことから、非特異的反応はないものと考えられた。

結 果

膀胱腫瘍の組織分類は、膀胱癌取扱規約に準じた。TCCの組織学的異型度は、細胞異型度、構造異型度よりG1からG3まで分類した。膀胱腫瘍の組織学的深達度の判定に際し、TUR材料では筋層内浸潤のうち浅層までにとどまるものか、深層にまで及ぶものか明確でない例がみられたため、pT2とpT3を一括してpT2/3と分類した。また、尿管、腎盂腫瘍では粘膜固有層内にとどまるものをnon-invasive、筋層内浸潤を認めるものをinvasiveと分類した。

(1) 酵素抗体法(PAP法)：

PAP法によってCEA陽性細胞は茶褐色に染色されるが、陽性細胞が標本中の腫瘍の10%以上を占めた場合を強陽性、10%以下の場合を弱陽性とした。CEA陽性細胞の核はいずれも陰性であった。

PAP法による腫瘍組織内CEAの検出結果をTable 1に総括した。CEA陽性所見は、TCC、AC、SCCにみられたが、その他の組織型では全て陰性であった。

(a) 移行上皮癌：

TCC 127例のうち、CEA陽性を示したのは63例(50%)で、原発部位別では、膀胱腫瘍49%(52/107)、

Table 1 Results of Immunoperoxidase Stain for CEA in Malignant and Non-malignant Lesions of Bladder, Ureter, and Renal Pelvis.

	No. of cases	CEA-Positive	CEA Positive	
			tumor cells<10%	tumor cells>10%
<u>Bladder</u>				
Transitional cell carcinoma	107	52 (49%)	26 (24%)	26 (24%)
Adenocarcinoma :				
Urachal carcinoma	3	3 (100%)	0	3 (100%)
Mesonephric carcinoma	1	0		
Squamous cell carcinoma	5	5 (100%)	0	5 (100%)
Undifferentiated carcinoma	1	0		
Sarcoma :				
Rhabdomyosarcoma	1	0		
Leiomyosarcoma	1	0		
Malignant lymphoma	1	0		
Transitional cell papilloma	5	0		
Proliferative lesions :				
Cystitis cystica & glandularis	11	0		
Brunn's nest	8	0		
<u>Ureter</u>				
Transitional cell carcinoma	11	6 (55%)	3 (27%)	3 (27%)
Transitional cell papilloma	1	0		
<u>Renal Pelvis</u>				
Transitional cell carcinoma	9	5 (56%)	3 (33%)	2 (22%)

Table 2 Correlation between the Results of Immunoperoxidase Stain for CEA and Histological Grade of Transitional Cell Carcinomas of Bladder, Ureter, and Renal Pelvis.

	Grade	No. of cases	CEA-Positive	CEA-Positive	
				tumor cells<10%	tumor cells>10%
<u>TCC of Bladder</u>	G1	12	0		
	G2	68	34 (50%)	20 (29%)	14 (21%)
	G3	27	18 (67%)	6 (22%)	12 (44%)
<u>TCC of Ureter</u>	G1	0	0		
	G2	6	3 (50%)	1 (17%)	2 (33%)
	G3	5	3 (60%)	2 (40%)	1 (20%)
<u>TCC of Renal Pelvis</u>	G1	0	0		
	G2	4	2 (50%)	2 (50%)	0
	G3	5	3 (60%)	1 (20%)	2 (40%)

尿管腫瘍55% (6/11), 腎盂腫瘍56% (5/9) に陽性で, これらの陽性率の間には推計学的に有意差は認めなかった (χ^2 検定). TCC における腫瘍内 CEA の局在は, 1) 腫瘍細胞の細胞膜表面に強く染色されるもの (Fig. 1), 2) 細胞質内が diffuse に染色されるもの (Fig. 2) に大別されたが, 膀胱・尿管および腎盂原発腫瘍の間で腫瘍内 CEA の局在に明らかな差はみられなかった.

TCC における腫瘍内 CEA 陽性率と組織学的異型

度の関係は Table 2 に示すように, 膀胱腫瘍では G1 12例は全例 CEA 陰性であったのに対し, G3では67% (18/27) に陽性で, このうち強陽性を示す例が44%を占めていた. TCC 127例において, 異型度の悪化と腫瘍内 CEA 陽性率の間には有意の相関がみられた ($p < 0.005$, χ^2 検定). 同様に, 深達度との関係は Table 3 に示す如く, 粘膜固有層内にとどまる low stage 群と, 筋層内浸潤を伴う high stage 群の間では各群の陽性率は, 膀胱腫瘍では36% (21/58), 63% (31/49), 尿管

Table 3 Correlation between the Results of Immunoperoxidase Stain for CEA and Pathological Stage of Transitional Cell Carcinomas of Bladder, Ureter and Renal Pelvis.

	Stage	No. of cases	CEA-Positive	CEA-Positive	
				tumor cells<10%	tumor cells>10%
TCC of Bladder	pTis	2	0		
	pT1	56	21 (37%)	12 (21%)	9 (16%)
	pT2/3	41	26 (63%)	12 (29%)	14 (34%)
	pT4	8	5 (63%)	2 (25%)	3 (38%)
TCC of Ureter	non-invasive*	3	1 (33%)	1 (33%)	0
	invasive**	8	5 (63%)	2 (25%)	3 (38%)
TCC of Renal Pelvis	non-invasive*	3	1 (33%)	1 (33%)	0
	invasive**	6	4 (66%)	2 (33%)	2 (33%)

* Tumor within the lamina propria
** Tumor invaded into the musculature

腫瘍では33% (1/3), 63% (5/8), 腎盂腫瘍では33% (1/3), 66% (4/6) であり, TCC 127例においては high stage 群で有意 ($p<0.005$, χ^2 検定) に高い陽性率であった。以上の結果から, PAP 法による腫瘍内 CEA の存在と TCC の異型度・深達度の間には相関があるものと考えられた。

次に, 膀胱 TCC において, 局所再発の有無と腫瘍内 CEA について検討した (Table 4). 対象は, 組織学的深達度が pT1 で, 全例 TUR によって原発巣が根治的に摘除されたものと考えられる症例38例 (G1 7 例, G2 31 例) で, うち34例に術後制癌剤注入療法を施行している。このうち, 術後2年以内に局所再発を来した症例を有再発群とした。局所再発は18例 (47%) にみられ, このうち腫瘍内 CEA 陽性群の73% (11/15) に再発がみられたのに対し, 陰性群では30% (7/23) の再発率であり, 両群の間には有意の差 ($p<0.025$, χ^2 検定) を認めた (Table 4A)。局所再発の有無を Grade 別にみると (Table 4B), G2 (16/31) は G1 (2/7) に比べ再発率は高い傾向にあったが, 推計学的には有意差は証明できなかった。このことから, 腫瘍内 CEA の有無は, 再発の有無の点から腫瘍の悪性度を表わす1つの指標になり得ると考えられた。

腫瘍の発育様式からみて, 一般に非乳頭状癌は肉眼的に病変を把え難く, 浸潤癌となって初めて臨床診断がつくことが多いことから, 乳頭状癌とは違った特徴を有している²⁷⁾²⁸⁾。107例の膀胱 TCC のうち非乳頭状増生を示したものは10例にみられた。このうち carcinoma in situ (G2, 2 例) は CEA 陰性であったが, 非乳頭状浸潤癌では50% (4/8) に陽性であり, 乳頭状癌と比べて発育様式の違いによる腫瘍内 CEA 陽性率

Table 4
A : Correlation between Results of Immunoperoxidase Stain for CEA and Local Recurrence in Stage pT1 Cases of Bladder Tumors

Recurrence	No. of cases	Negative stain for CEA	Positive stain for CEA
Without	20	16	4
With	18	7	11
Total	38	23	15

($\chi^2=5.09$, $p<0.025$)

B : Correlation between Histological Grade and Local Recurrence in Stage pT1 Cases of Bladder Tumors

Recurrence	No. of cases	G1	G2
Without	20	5	15
With	18	2	16
Total	38	7	31

($\chi^2=0.467$, N.S.)

の差は見出せなかった。

(b) 腺癌 :

AC 4 例には, 尿尿管癌 3 例, 中腎癌 1 例が含まれた。尿管癌では全例に腫瘍内 CEA が強陽性に検出され, 腫瘍細胞膜表面や細胞質内が強く染色された他に, 管状構造を示す部の腺腔内分泌物 (Fig. 3) や, mucinous adenocarcinoma の像を示す部の粘液も陽性に染色された。尿管癌では, TCC に比べ CEA 陽性所見が著明に強いのが特徴であった。これに対し, 中腎癌では既に報告²⁹⁾したように, glandular component も clear cell component もともに CEA 陰

Fig. 1 Transitional cell carcinoma of bladder, G3. CEA is stained intensely both in the cytoplasm and apical surface of the tumor cells. (PAP method, counterstained with hematoxylin, $\times 240$.)

Fig. 2 Transitional cell carcinoma of bladder, G2. CEA is stained diffusely in the cytoplasm of the tumor. (PAP method, counterstained with hematoxylin, $\times 240$.)

Fig. 3 Adenocarcinoma (urachal carcinoma) of bladder. CEA-positive findings are shown in the glandular luminal surface as well as in the tumor cytoplasm. (PAP method, counterstained with hematoxylin, $\times 240$.)

Fig. 4 Squamous cell carcinoma of bladder. CEA is positive in the keratinizing (A) and non-keratinizing (B) squamous cell carcinoma cells. (PAP method, counterstained with hematoxylin, $\times 480$.)

(A)

(B)

性であった。

(C) 扁平上皮癌：

SCC 5 例の全例で一部に TCC の混在を認めた。腫瘍内 CEA は SCC の全例に検出され、角化傾向を示す高分化な部位も (Fig. 4A)、角化を示さないより未分化な腫瘍細胞も (Fig. 4B) とともに陽性に染色された。コントロールとした正常扁平上皮 (食道、喉頭) および膀胱扁平上皮化生では、角化層以下の基底細胞層に陽性所見はみられず CEA 陰性と判定したが、表層の角化層に局限して陽性所見がみられ非特異的反応と考

えられた。

(d) その他の組織型：

TCC, AC, SCC 以外の悪性腫瘍で CEA が陽性に染色されたものはみられなかった。

移行上皮乳頭腫 (膀胱 5 例, 尿管 1 例) では全例 CEA 陰性であった。

また、腫瘍病変に隣接して増殖性膀胱炎 (von Brunn's nest 8 例, Cystitis cystica and glandularis 11 例) がみられたが、これらも全例陰性であった。

(2) 組織内 CEA の Radioimmunoassay：

手術材料から得た膀胱 TCC（4 例，計20.5g），膀胱 AC（1 例，計7.5g），尿管 TCC（3 例，計3.9g）の腫瘍組織，および剖検より得た結腸腺癌肝転移組織（1 例，計5.9g）から前述した過塩素酸抽出法で CEA を抽出し，Radioimmunoassay 法で組織内の Immuno-reactive CEA を測定した。同時に，膀胱腫瘍で全摘除術を受けた膀胱から肉眼的に腫瘍と離れた非癌膀胱粘膜（3 例，計9.6g）を採取し，同様に測定した。上述の手術材料より得た腫瘍組織は，1 症例当りごく少量の例が含まれたため，各腫瘍組織を一括してプールして検体とし CEA 抽出操作を行なったため，各症例間の CEA 量の有意差は検定できなかった。各腫瘍における腫瘍内 Immunoreactive CEA 量の結果は Table 5 に示すように，膀胱 AC 中の濃度は720ng/g wet wt. で，結腸腺癌中の1,119ng/g wet wt. に匹敵する量が認められたのに対し，TCC では極めて少量しか検出されなかった。

(3) 血清 CEA :

膀胱 TCC 無転移例59例，膀胱 TCC 有転移例14例，

膀胱 AC 4 例，尿管 TCC 5 例，腎盂 TCC 7 例について血清 CEA 値を測定した。対照群とした良性疾患 28例についての結果も併せて Fig. 5 にまとめた。測定平均値はいずれの悪性腫瘍群も良性疾患群に比べ高く，特に膀胱 TCC 有転移群，膀胱 AC 群では各々 $10.51 \pm 13.40 \text{ ng/ml}$ ， $5.48 \pm 3.32 \text{ ng/ml}$ と高値を示した。良性疾患群との間で平均値の差を検定してみると（F 検定），膀胱 TCC 無転移群（ $p < 0.01$ ），有転移群

Table 5 Immunoreactive CEA in the Tissues of Urothelial Malignancies, Non-malignant Bladder Mucosa and Colonic Carcinoma.

	Immunoreactive CEA (ng/wet weight)
TCC of Bladder*	3.8
AC of Bladder**	720
TCC of Ureter*	8.4
Non-malignant Bladder Mucosa	2.0
Colonic Carcinoma	1119

* Transitional cell carcinoma

** Adenocarcinoma

Fig. 5 Levels of Serum CEA in the Cases with Urothelial Tumors and Benigh Diseases.

($p < 0.05$) で有意の差を認めたが、その他の群では有意差を証明できなかった。

膀胱 TCC 無転移群 59 例において、組織学的異型度・深達度と血清 CEA 値の関係をみると、Table 6 に示すように、異型度、深達度の悪化とともに平均値は高くなったが、推計学的には有意差は証明できなかった。一方、転移の有無と血清 CEA 値の関係をみると (Table 7)、有転移群は無転移群に比べ有意 ($p < 0.05$) に高値を示し、10ng/ml 以上を示す症例が 29% (4/14) にみられた。遠隔転移の出現は、腫瘍の血管、リンパ管内浸潤によるものと考えられることから、血清 CEA 値は腫瘍の脈管内浸潤を反映するものと考えられた。

兵庫医科大学 RI センター診療部における血清 CEA 値の正常値 3.0ng/ml を正常上限値とした場合、TCC 全体では 31% (26/85) の陽性率であり、スクリーニングテストとしての診断的価値は不十分であるが、従来指摘されているように¹³⁾¹⁵⁾¹⁶⁾、腫瘍の拡がり、特に脈管内浸潤を強く反映するものと考えられる。

これに対し、尿膜管癌 3 例中 2 例が 5.0ng/ml 以上の高値を示し、腫瘍内 CEA の結果と併せて考えると、尿膜管癌では TCC に比べ CEA はより特異的な

tumor marker であると考えられる。

(4) 尿中 CEA :

尿中 CEA 測定に際し、感染尿^{13)20)~22)}、回腸導管尿¹⁴⁾¹⁵⁾や女性では膣からの分泌物混入¹³⁾²²⁾が false positive をもたらしことが指摘されている。そこで、非悪性腫瘍症例で細菌尿を伴わず、尿沈渣で白血球数 5/毎以下の男子 28 例、女子 16 例を正常コントロールとして測定したところ、正常男子では 3.02 ± 2.38 ng/ml、正常女子では 4.59 ± 4.73 ng/ml と男女差を認めた。今回対象とした膀胱 TCC のうち、尿路感染、膿尿を除外できたものは 23 例で全例男子であった。測定結果を Fig. 6 に示すが、膀胱 TCC では 8.01 ± 10.42 ng/ml と正常男子に比べ有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。7.8ng/ml (mean $\pm$ S.D.) を正常上限値とした場合、その陽性率は 35% であった。

膀胱 TCC における組織学的異型度・深達度と尿中 CEA 値の関係を Table 8 に示した。異型度と尿中 CEA 値の間には相関はみられなかった。これに対し、

Table 6 Relationship between Serum CEA Levels and Histological Grade, Pathological Stage in Transitional Cell Carcinoma of Bladder.

TCC of Bladder	No. of cases	Serum CEA levels (ng/ml)	*
		Mean $\pm$ S.D.	
Grade			
G1	2	1.40 ± 0.42	N.S.**
G2	39	2.58 ± 1.10	
G3	18	3.19 ± 3.50	
Stage			
pTis+pT1	27	2.42 ± 1.04	N.S.**
pT2/3+pT4	32	2.99 ± 2.72	

* Statistical significance of differences between means (F test).

** Not significant.

Fig. 6 Levels of Urinary CEA in the Cases with Transitional Cell Carcinoma of Bladder and Normal Controls.

Table 7 Serum CEA Values in the Cases of TCC of Bladder with and without Metastasis.

Metastasis	No. of cases	Serum CEA levels (ng/ml)				*
		≤ 3.0	3.1—10.0	> 10.0	Mean $\pm$ S.D.	
Without	59	45 (76%)	13 (22%)	1 (2%)	2.71 ± 2.13	$p < 0.05$
With	14	5 (36%)	5 (36%)	4 (29%)	10.51 ± 13.40	

* Statistical significance of difference between means (F test).

深達度との関係では、low stage 群では $3.55 \pm 2.52 \text{ ng/ml}$ であったのに対し、high stage 群では $13.81 \pm 13.81 \text{ ng/ml}$ で、うち 10 ng/ml 以上の高値を示したものが70%を占めていた。両群の平均値の比較では有意($p < 0.05$)の差がみられ、尿中 CEA 値と深達度の間には相関があると考えられた。

(5) 腫瘍内、血清および尿中 CEA の相互関係：
PAP 法による腫瘍内 CEA の有無、および Radioimmunoassay 法による血清、尿中 CEA 値の間に直接の相関があるかどうかを検討した。腫瘍内 CEA 陽性群と陰性群の間で血清 CEA 値を比較検討する

Table 8 Relationship between Urine CEA Levels and Histological Grade, Pathological Stage in Transitional Cell Carcinoma of Bladder.

TCC of Bladder	No. of cases	Urine CEA levels (ng/ml)	*
		Mean $\pm$ S.D.	
Grade			
G1	4	3.38 ± 1.92	N.S.**
G2	13	9.55 ± 13.01	
G3	6	7.78 ± 6.75	
Stage			
pTis+pT1	13	3.55 ± 2.52	P<0.05
pT2/3+pT4	10	13.81 ± 13.81	

* Statistical significance of differences between means (F test).

** Not significant.

と、膀胱 TCC 59例では、陽性群と陰性群の間で血清 CEA 値の平均値に差がみられたが、推計学的には有意差は認められなかった (Table 9). 同様に、膀胱 TCC 23例で尿中 CEA 値との関係をみると、CEA 陰性群の90% (9/10) では 10 ng/ml 以下であり両群の平均値に差がみられたものの、推計学的には有意差は証明されなかった (Table 10).

また、同一症例における血清 CEA 値と尿中 CEA 値の間の相関をみるために片対数表を用いて相関係数を求めてみると、 $y = 0.575 + 0.038x$ ($y = \log \text{urine CEA}$, $x = \text{serum CEA}$, $n = 22$), 相関係数 $r = 0.243$ が得られ、有意の相関は証明されなかった (t 検定).

以上のことから、腫瘍内 CEA の有無、血清および尿中 CEA 値の三者の間には相関はないものと考えられた。

考 察

CEA が Gold¹⁾²⁾によって発見され、その Radioimmunoassay 法が確立されてからは、血清をはじめ様々な体液中の微量な CEA の測定が可能となり、悪性腫瘍の診断に広く臨床応用されるようになった。諸家の報告⁶⁾⁷⁾¹¹⁾によれば、一般に、結腸直腸癌、肝癌、胆管癌などで高率に検出されるが、同時に肝機能障害者、ある種の炎症性疾患、喫煙者などの非癌症例にも少数ながら検出されることが判り、その cancer-specificity に問題点があることが指摘されるようになった。

Table 9 Correlation between the Results of Immunoperoxidase Stain for CEA and Serum CEA Levels in Transitional Cell Carcinoma of Bladder.

TCC of Bladder	No. of cases	Serum CEA values (ng/ml)			*
		≤ 3.0	> 3.0	Mean $\pm$ S.D.	
Positive stain for CEA	33	26 (79%)	7 (21%)	2.91 ± 2.67	N.S.**
Negative stain for CEA	26	19 (73%)	7 (27%)	2.50 ± 1.15	

* Statistical significance of difference between means (F test).

** Not significant.

Table 10 Correlation between the Results of Immunoperoxidase Stain for CEA and Urine CEA Levels in Transitional Cell Carcinoma of Bladder.

TCC of Bladder	No. of cases	Urine CEA levels (ng/ml)			*
		< 10.0	≥ 10.0	Mean $\pm$ S.D.	
Positive stain for CEA	13	6 (46%)	7 (54%)	10.84 ± 13.11	N.S.**
Negative stain for CEA	10	9 (90%)	1 (10%)	4.35 ± 3.12	

* Statistical significance of difference between means (F test).

** Not significant.

CEA は、 β -globulin 域に電気泳動される分子量約20万の糖蛋白で、細胞膜表面に glycocalyx として存在する³⁰⁾とされるが、その化学的組成には不均一性がみられ⁶⁾⁷⁾、複数の抗原決定基を有している。CEA と免疫学的に交叉反応を示す CEA 関連物質として、NCA⁸⁾、NFA⁹⁾、NCA-2¹⁰⁾などの存在が明らかにされ、CEA 分子上にはこれらと共通の抗原決定基があるものと考えられている。このうち NCA は、分子量約5万の糖蛋白で、肺、脾、白血球など広く正常ヒト組織中に含まれており、これを除外して CEA を考えるのが一般的基準となっている。今回 PAP 法に用いた抗血清は、NCA を除外する目的で正常ヒト肺・脾の過塩素酸抽出物および正常ヒト血清で吸収処理したものを抗 CEA 血清として使用した。

近年、組織内標的物質の存在を知る手段として免疫組織化学的方法が一般的な方法として確立され、その中でも Immunoperoxidase 法²⁵⁾はその手技の簡便さに加え鋭敏な方法であることから、ますます臨床病理診断の一つの補助手段として頻用されるようになって来ている。CEA についても、免疫組織化学的方法を用いて腫瘍細胞内における局在に関する報告は多くみられ^{31)~33)}、特に消化器癌に高率に証明される他に、肺癌³⁴⁾、子宮癌³⁵⁾、乳癌³⁶⁾などにも検出されている。

泌尿器科領域においても、膀胱腫瘍について、Goldenberg ら³⁷⁾は indirect immunoperoxidase 法を用いて11%に、Jautzke ら³⁸⁾、Nakatsu ら⁵⁰⁾は PAP 法で57%、28%に CEA 陽性細胞を証明し、また Wahren³⁹⁾は蛍光抗体法で45%に尿中剝離細胞中に陽性所見を得ている。これらの報告で陽性率にバラツキがみられるのは、染色方法、標本の固定方法の違いによる可能性を考慮しなければならない。一般に、Immunoperoxidase 法の中でも PAP 法は直接法や間接法に比べ標的物質の検出感度は鋭敏とされ²⁵⁾、またホルマリン固定、パラフィン包埋材料よりも凍結後エタノール固定材料の方が検出率が高い³²⁾とされている。前述の Goldenberg らは間接法を用い染色し、Jautzke らは4%フォルムアルデハイドによる固定後、プロナーゼ処理を施し標的抗原の unmask 化をはかっている。また、Wahren は蛍光抗体法で CEA の検出を試みているため、単純に陽性率を比較することは難しいと思われる。

今回の PAP 法による結果から、尿路系腫瘍の大部分を占める TCC では、腫瘍内 CEA は50% (63/127) に陽性で、原発部位別にみると、膀胱腫瘍49%、尿管腫瘍55%、腎盂腫瘍56%とその陽性率に有意の差はみ

られず、また腫瘍内 CEA の局在にも明らかな差がみられなかったことは、CEA 産生能の面から腫瘍の類似性を示すものとして特記される。CEA 陽性所見は、TCC では腫瘍細胞膜が強く染色されるもの (Fig. 1)、および細胞質内が diffuse に染まるもの (Fig. 2) が観察された。TCC における CEA の局在については、細胞膜表面や細胞質内に認められるという報告³⁷⁾³⁸⁾⁵⁰⁾があり、今回得られた結果はこれらを支持するものであった。結腸癌においては、腺腔内表面、腺腔内分泌物および細胞質内に陽性所見が強く⁴⁰⁾、電顕観察³⁰⁾では glycocalyx として細胞膜表面に存在するとされている。膀胱 AC で得られた所見はこれに極めて類似しているものと考えられた。

TCC において、腫瘍内 CEA 陽性率が、G1 0%、G2 50%、G3 65%と異型度の悪化とともに有意に高くなり (Table 2)、同様に pT1以下の low stage 群36%と pT2以上の high stage 群63%の間で有意の差がみられたこと (Table 3)や、術後局所再発を来した症例に有意に高率であったこと (Table 4)、さらに良性腫瘍である移行上皮乳頭腫では全例陰性であったこと (Table 1)などを併せて考えてみると、腫瘍内 CEA の存在は TCC の悪性度を表わす一つの parameter となりうると考えられた。Jautzke ら³⁸⁾も膀胱 TCC 150例について、組織学的異型度および深達度の悪化とともに腫瘍内 CEA 陽性率が高くなることを報告し、同様に Nakatsu ら⁵⁰⁾も異型度、深達度、予後の悪い群に CEA 陽性率が高いことを見出している。一方、Wahren³⁹⁾、Nathrath ら⁴⁹⁾はこれとは逆に、高分化癌程強く CEA 陽性を示す細胞を有していると報告している。腫瘍の分化度と CEA の関係についての報告は多くみられるが、未だ見解の一致はみえないようである。結腸癌では、Denk ら⁴⁰⁾は間接蛍光抗体法を用いて高分化癌に強陽性に検出されるのに対し、低分化癌では検出されないことを示し、このことから CEA は腫瘍細胞膜の構成成分というよりは分泌産物であろうと推定している。Drewinko ら⁴¹⁾は、結腸癌培養細胞を用いて細胞増殖周期における CEA 合成を検討した結果、CEA は増殖期よりも非増殖期である G1 phase で多く合成されることを報告し、このことから悪性度の高い腫瘍程 CEA 合成が少なくなるとする考え³⁹⁾もある。これとは逆に、Sharkey ら⁴²⁾は結腸 polyp と結腸癌を対象にして組織内 CEA を定量し、癌や異型腺管を伴う polyp よりも、villousadenomatous polyp に多くの CEA が含有されていたことから、腫瘍の分化度

と組織内 CEA 濃度には相関はないとしている。TCC について今回検討した結果は、腫瘍の悪性度が高くなる程 CEA 産生能が高くなるという説を支持するものであった。

一般に、腫瘍組織内 CEA 濃度は結腸癌では高いが³⁾⁵⁾、膀胱腫瘍では低い¹⁴⁾⁴³⁾。Zimmerman ら⁴³⁾は、分子量、過塩素酸溶解性、Con-A 結合性などの点で、膀胱腫瘍組織中にも結腸癌由来 CEA と identical な CEA が存在することを明らかにしたが、その含有量は極めて少量であったとしている。今回得られた結果 (Table 5) と諸家の報告³⁾⁵⁾¹⁴⁾⁴²⁾⁴³⁾している腫瘍内 CEA 濃度の絶対値を比較することは、Khoo ら⁵⁾も指摘しているように、抽出方法、測定に用いた Radioimmunoassay 系の違いのために難しいと考えられるが、膀胱 AC には 720ng/g wet wt. という結腸腺癌に匹敵する多量の Immunoreactive CEA が含まれたことは注目に値する結果であった。AC と TCC では腫瘍組織内 CEA 量に大きな差がみられることや、消化器腺癌では今回得られた TCC における結果とは逆に、高分化癌腫瘍内 CEA が高率に検出されるとする報告が多いことなどから、AC と TCC では各々の CEA の代謝・生合成過程が異なる可能性も考えられる。

非癌膀胱粘膜中にも少量ではあるが Immunoreactive CEA が検出されたことは (Table 5)、Martin ら⁹⁾が指摘しているように CEA のもつ cancer-specificity の問題点を示しているものと考えられる。しかし、非癌粘膜中の CEA については、結腸癌症例で腫瘍近傍粘膜には腫瘍から離れた部位の粘膜に比べ多くの CEA が含まれたことから、これは腫瘍で生成された CEA が非癌粘膜中に吸収された結果であろうとする報告⁵⁾³¹⁾もある。今回対象とした非癌膀胱粘膜は膀胱腫瘍症例から得た検体であることから、腫瘍中の CEA が吸収されたものを測定している可能性も否定できないと考えられる。

膀胱 AC のうち尿管管癌では、高い腫瘍内 CEA 濃度を有し (Table 5)、PAP 法で全例に CEA が強陽性に染色され (Table 1)、そして高い血中濃度を示した (Fig. 5)。Ørjasæter ら¹⁶⁾も、膀胱および尿道原発腺癌 4 例で全例に血清 CEA 値の高値を認めたと報告している。これらのことから、腺癌のうち特に尿管管癌では、TCC に比べて CEA はより特異的な marker であると考えられる。これに対し、中腎癌は 1 例ではあるが PAP 法で CEA は陰性であり、腺癌の中でも両腫瘍の発生母地が内胚葉由来、中胚葉由来⁴⁴⁾と考えられる

ことから興味深い結果であった。

膀胱 SCC では、5 例全例に PAP 法で腫瘍内 CEA が証明された。他臓器原発 SCC の中でも、皮膚、喉頭、食道原発 SCC では CEA 陰性であったという報告³¹⁾と比べて今回の結果は、一般に膀胱 SCC の予後が悪いことと併せて注目すべき結果であった。

尿路系腫瘍における血清 CEA については、その診断的価値は乏しいとする報告が散見される^{20)~23)}。今回の結果でも (Fig. 5)、膀胱 TCC では良性疾病群に比べ有意に高値を示したものの、その陽性率は僅か 32% (23/73) で、スクリーニングテストとしての意義は乏しいと言わざるを得ない。しかし、遠隔転移の出現とともに有意に高値を示し、特に 10ng/ml 以上を示す場合転移の存在を強く疑うべきである (Table 7)。血清 CEA 値は、PAP 法による腫瘍内 CEA の有無とは相関せず (Table 9)、転移の有無と相関がみられたことから、血清 CEA 値を左右する因子は、CEA 産生細胞の多少よりも³²⁾⁴⁵⁾、腫瘍の脈管内浸潤の有無⁴²⁾であると考えられた。

尿中 CEA については、治療経過中の経時的測定において放射線療法後に腫瘍細胞破壊によって一過性に最高値を示すことや⁴⁶⁾、膀胱腫瘍症例の腎瘻尿では低値であることから⁴⁷⁾、血流・腎を介して尿中に排泄されるものではなく、直接腫瘍細胞から放出されるものと考えられる。しかし、尿路感染などの要因で false positive を呈する例が多く、限られた症例にのみしか適用できないという問題点を有している。上記の要因が除外できると、尿細胞診など他の検査法との併用でスクリーニングテストとしての有用性が増すものと考えられる¹⁴⁾。膀胱 TCC において、尿中 CEA 値は PAP 法による腫瘍内 CEA の有無 (Table 10) および組織学的異型度 (Table 8) との相関は認められなかったが、深達度との関係で high stage 群は low stage 群に比べ有意に高値を示した。このことは、尿中 CEA 値は腫瘍の膀胱腔内露出面積の大小¹⁵⁾⁴⁶⁾の他に、浸潤癌細胞間結合が弱く剝離し易いという性格⁴⁸⁾を反映しているものと考えられる。

以上述べてきたように、PAP 法による腫瘍組織内 CEA の存在、血清 CEA 値および尿中 CEA 値は、それぞれが腫瘍の病態を表わす tumor marker であると考えられるが、これら三者の間に相関は証明されなかった。即ち、腫瘍内 CEA の存在は組織学的異型度、深達度、再発の有無の点から予後を予知する手がかりとなり得るし、また血清および尿中 CEA は各々、脈管内浸

潤の有無、腫瘍の浸達度を表わす tumor marker として有用であると考えられる。

今後、より尿路腫瘍に特異的な腫瘍抗原としての CEA の解明がすすめば、診断・予後判定に一層有用な tumor marker となりうるものと期待される。

結 語

原発性尿路腫瘍を対象として、腫瘍内 CEA の存在を酵素抗体法 (PAP 法) を用いて免疫組織化学的に検討した結果、移行上皮癌、腺癌、扁平上皮癌に検出されたが、その他の悪性腫瘍や良性病変には検出されなかった。

尿路系腫瘍の大部分を占める移行上皮癌では、腫瘍内 CEA の存在は、異型度、浸達度および局所再発の有無との間で相関がみられ、腫瘍の悪性度を表わす parameter となりうると思われたが、Radioimmunoassay 法により測定した血清および尿中 CEA 値との間には相関は証明されなかった。

尿管癌では、CEA は腫瘍内濃度、血中濃度ともに高く、CEA のもつ特異性は大きいと考えられた。

稿を終えるに当り、御指導、御校閲を賜った恩師生駒文彦教授に深甚の謝意を表します。また、病理学的検討に際し御指導を頂きました兵庫医科大学病院病理部植松邦夫教授、ならびに懇切なる御助言を頂きました兵庫医科大学 RI センター診療部福地稔助教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Gold, P. and Freedman, S.O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J. Exp. Med.*, 121, 439—462, 1965.
- 2) Gold, P. and Freedman, S.O.: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. Exp. Med.*, 122, 467—481, 1965.
- 3) Martin, F. and Martin, M.S.: Radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in extracts of human colon and stomach. *Int. J. Cancer*, 9, 641—647, 1972.
- 4) Burtin, P., von Kleist, S., Sabine, M.C. and King, M.: Immunohistological localization of carcinoembryonic antigen and nonspecific cross-reacting antigen in gastrointestinal normal and tumoral tissues. *Cancer Res.*, 33, 3299—3305, 1973.
- 5) Khoo, S.K., Warner, N.L., Lie, J.T. and Mackay, I.R.: Carcinoembryonic antigenic activity of tissue extracts: A quantitative study of malignant and benign neoplasms, cirrhotic liver, normal adult and fetal organs. *Int. J.*

- Cancer*, 11, 681—687, 1973.
- 6) Neville, A.M. and Laurence, D.J.R.: Report of the workshop on the carcinoembryonic antigen (CEA): The present position and proposals for future investigation. *Int. J. Cancer*, 14, 1—18, 1974.
- 7) von Kleist, S. and Burtin, P.: The carcinoembryonic antigen (CEA) and other carcinoembryonic antigens in gastrointestinal cancers and benign diseases. in *Progress in Gastroenterology*, Glass, G.B.J., Vol. 3, p595, Grune & Stratton Inc., New York, 1977.
- 8) von Kleist, S., Chavanel, G. and Burtin, P.: Identification of an antigen from normal human tissue that crossreacts with the carcinoembryonic antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 69, 2492—2494, 1972.
- 9) Matsuoka, Y., Hara, M., Takatsu, K. and Kitagawa, M.: Presence of antigen related to the carcinoembryonic antigen in feces of normal adults. *Gann*, 64, 203—206, 1973.
- 10) Burtin, P., Chavanel, G. and Hirsch-Marie, H.: Characterization of a second normal antigen that cross-reacts with CEA. *J. Immunol.*, 111, 1926—1928, 1973.
- 11) Hirai, H.: A collaborative clinical study of carcinoembryonic antigen in Japan. *Cancer Res.*, 37, 2267—2274, 1977.
- 12) Reynoso, G., Chu, T.M., Guinan, P. and Murphy, G.P.: Carcinoembryonic antigen in patients with tumors of the urogenital tract. *Cancer*, 30, 1—4, 1972.
- 13) Hall, R.R., Laurence, D.J.R., Neville, A.M. and Wallace, D.M.: Carcinoembryonic antigen and urothelial carcinoma. *Brit. J. Urol.*, 45, 88—92, 1973.
- 14) Fraser, R.A., Ravry, M.J., Segura, J.W. and Go, V.L.W.: Clinical evaluation of urinary and serum carcinoembryonic antigen in bladder cancer. *J. Urol.*, 114, 226—229, 1975.
- 15) Ionescu, G., Romas, N.A., Ionascu, L., Bennet, S., Tannenbaum, M., Veenema, R.J. and Lattimer, J.K.: Carcinoembryonic antigen and bladder carcinoma. *J. Urol.*, 115, 46—48, 1976.
- 16) Ørjasæter, H., Fosså, S.D., Schjølseth, S.A. and Fjæstad, K.: Carcinoembryonic antigen (CEA) in plasma of patients with carcinoma of the bladder/urethra. *Cancer*, 42, 287—295, 1978.
- 17) 木戸 晃, 町田豊平, 三木 誠, 大石幸彦, 上田正山, 柳沢宗利, 飯尾正宏, 山田英夫, 末広牧子: 泌尿器科領域の悪性腫瘍における CEA の検討. 日泌

- 尿会誌, 68, 751—757, 1977.
- 18) 門脇照雄, 永井信夫, 金子茂男, 井口正典, 郡健二郎, 南 光二, 秋山隆弘, 八竹 直, 栗田 孝: 泌尿器科領域におけるCEA(第1報). 血中, 尿中のCEA値について. 日泌尿会誌, 69, 539—542, 1978.
 - 19) 角田和之, 宮崎良春, 山口秋人, 南里和成, 原 孝彦, 原 三信: 泌尿器科領域におけるCEAの検討, 西日泌尿, 42, 323—329, 1980.
 - 20) Colleen, S., Ek, A., Gullberg, B., Johansson, B. G., Lindberg, L.G. and Olsson, A.M.: Carcinoembryonic antigen in urine in patients with urothelial carcinoma. Scand. J. Urol. Nephrol., 13, 149—153, 1979.
 - 21) Glashan, R.W., Higgins, E. and Neville, A.M.: The clinical value of plasma and urinary carcinoembryonic antigen (CEA) assays in patients with haematuria and urothelial carcinoma. Eur. Urol., 6, 344—346, 1980.
 - 22) Hall, R.R.: Carcinoembryonic antigen and urological carcinoma. A review after 7 years. Brit. J. Urol., 52, 166, 1980.
 - 23) 大橋輝久, 東條俊司, 武田克治, 公文裕巳, 森岡政明, 松村陽右, 大森弘之, 陶山文三, 広中孝作: 尿路悪性腫瘍患者における血清Ferritin, CEA, β_2 -MG, PAPに関する検討. 泌尿紀要, 29, 141—153, 1983.
 - 24) Sternberger, L.A., Hardy, P.H., Cuculis, J.J. and Meyer, H.G.: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J. Histochem. Cytochem., 18, 315—333, 1970.
 - 25) DeLellis, R.A., Sternberger, L.A. Mann, R.B., Banks, P.M. and Nakane, P.K.: Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology. Report of a workshop sponsored by the National Cancer Institute. Am. J. Clin. Pathol., 71, 483—488, 1979.
 - 26) von Kleist, S. and Burtin, P.: Isolation of a fetal antigen from human colonic tumors. Cancer Res., 29, 1961—1964, 1969.
 - 27) Melamed, M.R., Voutsas, N.G. and Grabstald, H.: Natural history and clinical behavior of in situ carcinoma of the human urinary bladder. Cancer 17, 1533—1545, 1964.
 - 28) Farrow, G.M., Utz, D.C., Rife, C.C. and Greene, L.F.: Clinical observations on sixty-nine cases of in situ carcinoma of the urinary bladder. Cancer Res., 37, 2794—2798, 1977.
 - 29) Kanokogi, M., Uematsu, K., Kakudo, K., Shimada, K. and Ikoma, F.: Mesonephric adenocarcinoma of the urinary bladder: An autopsy case. J. Surg. Oncol., 22, 118—120, 1983.
 - 30) Gold, P., Krupey, J. and Ansari, H.: Position of the Carcinoembryonic antigen of the human digestive system in ultrastructure of tumor cell surface. J. Natl. Cancer Inst., 45, 219—225, 1970.
 - 31) Goldenberg, D.M., Sharkey, R.M. and Primus, F.J.: Immunocytochemical detection of carcinoembryonic antigen in conventional histopathology specimens. Cancer, 42, 1546—1553, 1978.
 - 32) Goldenberg, D.M., Sharkey, R.M. and Primus, F.J.: Carcinoembryonic antigen in histopathology: Immunoperoxidase staining of conventional tissue sections. J. Natl. Cancer Inst., 57, 11—22, 1976.
 - 33) Primus, F.J., Sharkey, R.M., Hansen, H.J. and Goldenberg, D.M.: Immunoperoxidase detection of carcinoembryonic antigen. An overview. Cancer, 42, 1540—1545, 1978.
 - 34) Goslin, R.H., O'Brien, M.J., Skarin, A.T. and Zamcheck, N.: Immunocytochemical staining for CEA in small cell carcinoma of lung predicts clinical usefulness of the plasma assay. Cancer, 52, 301—306, 1983.
 - 35) von Nagell, J.R., Gay, H.E.C., Donaldson, E.S., Hanson, M., Powell, D.F. and Goldenberg, D. M.: Carcinoembryonic antigen in carcinoma of the uterine cervix. Cancer, 49, 379—383, 1982.
 - 36) Kuhajda, F.P., Offutt, L.E. and Mendelsohn, G.: The distribution of carcinoembryonic antigen in breast carcinoma. Cancer, 52, 1257—1264, 1983.
 - 37) Goldenberg, D.M. and Wahren, B.: Immunoperoxidase staining of carcinoembryonic antigen in urinary bladder cancer. Urol. Res., 6, 211—214, 1978.
 - 38) Jautzke, G. and Altenaehr, E.: Immunohistochemical demonstration of carcinoembryonic antigen (CEA) and its correlation with grading and staging on tissue sections of urinary bladder carcinomas. Cancer, 50, 2052—2056, 1982.
 - 39) Wahren, B.: Cellular content of carcinoembryonic antigen in urothelial carcinoma. Cancer, 42, 1533—1539, 1978.
 - 40) Denk, H., Tappeiner, G., Eckerstorfer, R. and Holzner, J.H.: Carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal and extragastrointestinal tumors and its relationship to tumor-cell differentiation. Int. J. Cancer, 10, 262—272, 1972.

- 41) Drewinko, B. and Yang, L.Y.: Restriction of CEA synthesis to the stationary phase of growth of cultured human colon carcinoma cells. *Exp. Cell Res.*, 101, 414—416, 1976.
- 42) Sharkey, R.M., Hagihara, P.F. and Goldenberg, D.M.: Localization by immunoperoxidase and estimation by radioimmunoassay of carcinoembryonic antigen in colonic polyp. *Brit. J. Cancer*, 35, 179—189, 1977.
- 43) Zimmerman, R. and Hammarström, S.: Isolation of CEA-like material from urinary bladder carcinoma. *Urol. Res.*, 6, 215—219, 1978.
- 44) Dow, J.A. and Young, J.D. Jr.: Mesonephric adenocarcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 100, 466—469, 1968.
- 45) Lewis, J.C.M. and Keep, P.A.: Relationship of serum CEA levels to tumor size and CEA content in nude mice bearing colonic-tumor xenografts. *Brit. J. Cancer*, 44, 381—387, 1981.
- 46) Wahren, B., Nilsson, B. and Zimmerman, R.: Urinary CEA for prediction of survival time and recurrence in bladder cancer. *Cancer*, 50, 139—145, 1982.
- 47) Zimmerman, R., Wahren, B. and Edsmyr, F.: Assessment of serial CEA determinations in urine of patients with bladder carcinoma. *Cancer*, 46, 1802—1809, 1980.
- 48) Alroy, J., Pauli, B.U. and Weinstein, R.S.: Correlation between numbers of desmosomes and the aggressiveness of transitional cell carcinoma in human urinary bladder. *Cancer*, 47, 104—112, 1981.
- 49) Nathrath, W.B.J., Arnholdt, H. and Wilson, P.D.: Keratin, luminal epithelial antigen and carcinoembryonic antigen in human urinary bladder carcinomas. An immunohistochemical study. *Path. Res. Pract.*, 175, 299—307, 1982.
- 50) Nakatsu, H., Kobayashi, I., Onishi, Y., Igawa, M., Ito, H., Tahara, E. and Nihira, H.: ABO (H) blood group antigens and carcinoembryonic antigens as indicators of malignant potential in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 131, 252—257, 1984.

(1984年3月1日受付)