睪丸腫瘍の腫瘍マーカーの研究

—免疫酵素抗体法による AFP, HCG, CEA の腫瘍組織局在について—

大阪府立成人病センター泌尿器科 三 木 恒 治
(主任: 古武敏彦博士)

STUDIES ON THE TUMOR MARKERS IN THE GERMINAL TESTICULAR TUMORS

—Cellular Localization of α -fetoprotein (AFP), Human Chorionic Gonadotropin (HCG) and Carcinoembryonic Antigen (CEA) in the Germinal Testicular Tumors Using an Indirect Immunoperoxidase Method—

Tsuneharu Miki

Department of Urology, The Center for Adult Diseases, Osaka, Japan

(Director: T. Kotake, M.D.)

A series of testicular germinal cell tumors (27 seminomas and 40 non-seminomas) was studied with respect to the presence of alpha-fetoprotein (AFP), human chorionic gonadotropin (HCG) and carcinoembryonic antigen (CEA) using the peroxidase-antiperoxidase (PAP) method with measured serum levels of AFP, β -HCG and CEA in order to clarify the correlation of histology with their serum levels and cellular localization.

In 7 of 22 patients of seminoma (31.8%), serum levels of β -HCG were elevated. And in 3 of the 27 patients of seminoma (11.1%), HCG reactive syncytiotrophoblastic like giant cells were found, and in 2 of them, serum levels of β -HCG were elevated and the other showed positive urinary HCG.

Then, the pure seminoma case with preoperatively elevated serum β -HCG levels must be studied by serial sections or localization of cellular HCG with PAP method and treated as a non-seminomatous case.

The cellular localization and serum elevation of AFP was not found in seminomas.

CEA was not demonstrated in seminoma tissues, but in two patients of seminoma, serum CEA levels were slightly elevated.

Cellular localization of AFP was demonstrated in 21 of the 40 patients (52.5%) of non-seminomatous germinal testicular tumor.

In 13 of 25 patients (52%) of embryonal carcinoma and 4 of 9 patients (44.4%) of teratocarcinoma, AFP was demonstrated in embryonal carcinoma cells. The serum AFP levels were elevated in 14 of the 25 patients (56%) of embryonal carcinoma and 4 of the 9 (44.4%) of teratocarcinoma. But a slight discordance with cellular localization and serum levels of AFP was found in some patients.

Needless to say, in all four patients of yolk sac tumor, AFP was demonstrated intensively in their reticular or tubular tissues. Two teratomas studied were AFP-negative.

These investigations indicated that AFP was not only present in yolk sac tumor but also in embryonal carcinoma. These results suggest that AFP synthesis may also occur in late stages of embryonal carcinoma or very early stages of yolk sac tumor, which are not clarified by conventional tissue examination.

Cellular localization of HCG was found in 17 of the 40 patients (42.5%) of non-seminomatous germinal testicular tumor in their tumor tissues.

In all eight patients of choriocarcinoma, HCG was demonstrated in syncytiotrophoblastic giant cells and serum β -HCG levels were elevated in six of them.

In 5 of 13 patients (38.5%) of embryonal carcinoma and 2 of 5 patients (40%) of teratocarcinoma, HCG was identified within syncytiotrophoblastic like giant cells. Serum β -HCG levels were elevated in 4 cases with embryonal carcinoma.

Four yolk sac tumors and two teratomas were HCG-negative.

Although serum CEA level was elevated in only one case with non-seminomatous germinal testicular tumor, cellular localization of CEA was found in 23 of the 40 patients (57.5%) of non-seminomatous germinal testicular tumor in their tissues.

In 6 of the 13 cases (46.1%) with embryonal carcinoma, CEA was demonstrated in glandular structures or solid sheets or partly mononuclear embryonal cells within their tissues.

In 8 of the 9 patients (88.9%) of teratocarcinoma and two patients of teratoma, CEA was found in enteric glands within their tissues, especially on the cell surface of its lumen.

The localization of CEA in their tumor tissues resembled that of fetal gastrointestinal tissues and gastric or colorectal cancer tissues.

In 3 of the 4 cases with yolk sac tumor, CEA was demonstrated partially in the tissues presenting reticular or anastomosing tubular patterns.

These investigations demonstrated that CEA was present in a part of embryonal carcinoma and yolk sac tumor, and in almost all of enteric glands of teratocarcinoma or teratoma. These results suggest that CEA is present in a very early stage of endoderm elements of embryonal carcinoma and in endoderm elements of teratocarcinoma or teratoma, when embryonal carcinoma progresses along the embryonic route to form a teratoma.

要旨： Seminoma 27例および non-seminomatous germinal testicular tumor (non-seminoma) 40例を対象として、血清 AFP, HCG, CEA 値を測定するとともに、peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法により、その組織局在性を検討し、各組織型と各マーカーの血中および組織局在性との関係を明らかにした。

Seminoma では、血清 β -HCG 値は測定した22例中7例(31.8%)で上昇し、その組織局在性は27例中3例(11.1%)で認められ、そのうち2例で血清 β -HCG 値の上昇、1例で尿中 HCG の陽性を認めた。AFP, CEA については全例組織局在性は認めず、血清 AFP 値は全例陰性で血清 CEA 値は2例で軽度の上昇を認めたにすぎない。

Pure seminoma で血清 β -HCG 値が上昇を示す症例は、PAP 法により各組織の再検索を行い、症例によっては non-seminoma として治療すべきである。

Non-seminoma 40例中21例(52.5%)で AFP の組織局在を認めた。各組織別には、embryonal carcinoma では25例中13例(52%)で、teratocarcinoma では9例中4例(44.4%)で AFP の組織局在を認めた。血清 AFP 値は embryonal carcinoma では25例中14例(56%)、teratocarcinoma では9例中4例(44.4%)で上昇を示した。

4例の yolk sac tumor では、もちろん全例で AFP の組織局在を認め、2例の teratoma では AFP の組織局在は認めなかった。

AFP の組織局在は yolk sac tumor のみに認められるものではなく、embryonal carcinoma や teratocarcinoma でも認められ、これらは AFP の合成が、普通の組織の検索では明らかにされない late stage の embryonal carcinoma や very early stage の yolk sac tumor にも認められることを示唆している。

HCG の組織局在は、40例の non-seminoma 中17例(42.5%)で認められた。各組織別には、8例の choriocarcinoma では、全例で syncytiotrophoblastic giant cell に HCG の組織局在を認め、そのうち血清 β -HCG の測定がなされた6例全例で上昇を認めた。

Embryonal carcinoma では13例中5例(38.5%)、teratocarcinoma では5例中2例(40%)で syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の組織局在を認め、4例の embryonal carcinoma で血清 β -HCG 値の上昇を認めた。

4例の yolk sac tumor と2例の teratoma では、HCG は陰性であった。

血清 CEA 値は、non-seminoma 16例中1例で上昇を認めたにすぎないが、CEA の組織局在は、40例中23例(57.5%)で認められた。

Embryonal carcinoma では13例中6例(46.1%)に、腺腔形成細胞や solid 状配列を示す細胞さらには一部で散在性に CEA の組織局在を認めた。Teratocarcinoma では9例中8例(88.9%)、および2例の teratoma では、enteric glands の特に腺腔面に CEA の組織局在を認め、これらは胎児胃腸管組織や胃・大腸癌の CEA の組織局在性に類似していた。

Yolk sac tumor では4例中3例に部分的に CEA の局在を認めた。

すなわち CEA の組織局在は embryonal carcinoma や yolk sac tumor では部分的に認められ、teratocarcinoma や teratoma では enteric glands のほぼ全体に認められた。これらは、embryonal carcinoma が teratoma へと分化していく過程で、組織学的には明らかでないが、内胚葉性の組織へと分化しつつある成分に CEA が存在し、分化した teratoma では内胚葉性の成分に CEA が存在することを示していると考えられる。

緒 言

睾丸腫瘍は、胚細胞性腫瘍として、卵巣腫瘍とともに多彩な組織像を呈する腫瘍であるが、さらに α -feto-protein (AFP), human chorionic gonadotropin (HCG), そして carcinoembryonic antigen (CEA) など癌と胎児に共通した、いわゆる癌胎児性蛋白 (carcinoembryonic proteins) あるいは oncodevelopmental gene products^{1)~4)}を産生する腫瘍として、その発生を考えるうえで非常に興味ある腫瘍といえよう。すなわち胎生期の yolk sac や肝で産生される AFP は CEA とともに embryoblast gene products とされており、さらに HCG は oncotrophoblast products として考えられている¹⁾⁵⁾。これらの胎生期の産生物質が高頻度に、しかも複数に認められる成人の腫瘍として、睾丸腫瘍は他の腺癌や扁平上皮癌や移行上皮癌などの腫瘍とは異なった特異な位置にある腫瘍と言えよう。

睾丸腫瘍患者血清における AFP, HCG, さらに CEA などいわゆる血清マーカーの測定に関しては、かなり詳細にわたり Javadvpour ら^{6)~8)}をはじめすでに多くの報告がなされている^{9)~13)}。すなわち、CEA はさておき、血清 AFP, HCG の測定は radioimmunoassay の発達により、睾丸腫瘍の組織型、stage 診断、治療効果の判定、再発の検索などに欠くべからざるものであり、その有用性は確立されつつある。

さらに最近では、これらの腫瘍産生マーカーの組織局在性についての関心が高まり、peroxidase を用いた間接酵素抗体法、とくに Sternberger ら¹⁴⁾が発表した peroxidase-antiperoxidase immunocomplex method (PAP) 法により睾丸腫瘍組織内の AFP, HCG の組織局在性の検討がおこなわれ、これらの産生細胞に関する報告も多くみられるようになった^{15)~22)}。しかしながら種々の oncodevelopmental gene products を産生する睾丸腫瘍において、CEA の組織局在性の検討はそ

の血清マーカーとしての発現頻度が低いためか、いまだその報告をみない。そこで今回我々は、67例の睾丸腫瘍を対象として、PAP 法により、AFP, HCG とともに、さらに CEA をも加えて、これら3種の oncodevelopmental gene products の睾丸腫瘍組織内の局在性を検索し、血清値および組織型との関連性、さらにはその組織発生について考察を加え臨床面からこれらの意義について検討したので報告する。

対象および方法

対象は、大阪府立成人病センター、大阪大学および関連諸機関泌尿器科の睾丸腫瘍67例とし、その組織学的分類は Table 1 に示すごとくで、Mostofi and Price²³⁾および World Health Organization²⁴⁾の分類を参考に分類した。Pure seminoma は27例であり、non-seminoma は40例で、このうち embryonal carcinoma は13例、teratoma は1例、teratocarcinoma は5例、小児の yolk sac tumor は4例で、pure の choriocarcinoma はなく、残りの17例は mixed type

Table 1 Distribution of histological features

	Histology	Number
Pure	Seminoma	27
	Embryonal carcinoma	13
	Teratoma	1
	Teratocarcinoma	5
	Yolk sac tumor	4
Mixed	Embryonal carcinoma + Choriocarcinoma	4
	Embryonal carcinoma + Seminoma	7
	Embryonal carcinoma + Choriocarcinoma + Seminoma	1
	Teratocarcinoma + Choriocarcinoma	3
	Teratocarcinoma + Seminoma	1
	Teratoma + Seminoma	1
	Total	67

であった。

血清マーカー測定のための血清は除手術前後に採血し冷凍保存後測定に供した。血清 AFP は一部を除き二抗体法による radioimmunoassay (RIA) 法 (栄研)*1により測定した。正常値は20ng/ml 未満であった。また一部の症例では、逆受身赤血球凝集反応を応用した、serodia-AFP (FD 601) (富士臓器製薬)*2にて測定した。なおこの血清 AFP の RIA 法による測定は35症例においてなされた。血清 β -HCG は二抗体法による RIA 法 (ミドリ十字)*3により43例で測定され、その正常値は0.64ng/ml 未満であった。なお13例では免疫学的妊娠反応による尿中 HCG の測定のみであった。血清 CEA は、サンドイッチ法に基づいた固相酵素免疫法を原理とした CEA-EIA (アボット)*4により測定し、正常値は5ng/ml 未満であり、27症例で測定がなされた。

PAP 法による AFP, HCG, CEA の組織局在性の検索にはホルマリン固定パラフィン包埋切片が用いられ、各症例につき少なくとも3ブロックは使用した。PAP 法は Sternberger ら¹⁴⁾の方法に基づく古本ら²⁵⁾の変法に従い、抗 AFP, 抗 HCG, 抗 CEA の各抗体は Dako 社製*5を用いた。なお各抗体の特異性については、抗 AFP 抗体は肝癌、抗 HCG 抗体は絨毛癌、抗 CEA 抗体は大腸癌の各組織をコントロールとして検討した。その実際のな手技は Table 2 に示すごとくで、内因性 peroxidase 反応は0.3% H_2O_2 メタノール液で除去した。なお各組織につき少なくとも1カ所の組織局在を認めれば陽性とした。

結 果

1. Pure seminoma について

組織学的に pure seminoma とした27例について、血清 AFP, β -HCG, CEA などの測定値と、PAP 法によるこれらの組織局在性の有無、さらにその stage と予後など症例の概略を Table 3 に示す。

AFP について検討してみると、血清 AFP 上昇例は1例もなく、また組織局在性も全例陰性であった。

Table 2 PAP method

- 1) Deparaffinized paraffin tissue sections in xylene
- 2) Rehydrated in a graded ethanol series
- 3) Block endogenous peroxidase activity with
• methanol containing 0.3% H_2O_2 , for 30 min.
- 4) 5% Normal swine serum in 0.05M tris buffer (pH7.6)
for 30 min.
- 5) Washed in two 5-minute changes of tris buffer
- 6) Incubated in the first antibody for 30 min. at 37°C
in moist chamber
(rabbit anti AFP or rabbit anti HCG or rabbit anti
CEA in tris buffer)
- 7) Washed in two 5-minute changes of tris buffer
- 8) Incubated in the second antibody for 30 min. at 37°C
in moist chamber
(swine anti-rabbit serum IgG)
- 9) Washed in two 5-minute changes of tris buffer
- 10) Incubated in PAP immune complex for 30 min. at
37°C in moist chamber
- 11) Washed in three 5-minute changes of tris buffer,
finally in 0.05M tris-HCl buffer for 10 min.
- 12) Reacted with diaminobenzidine (DAB, Sigma) for
1-2 min. at 37°C
- 13) Washed in tris buffer
- 14) Counterstaining in methylgreen or H.E.
- 15) Dehydrated and mounted in glycerol-gelatin mixture

CEA は血清では11例中2例で軽度の上昇を認めたが、AFP と同様に組織局在性を証明しえた症例はなかった。

血清 β -HCG は、22例で測定され、7例(31.8%)で上昇していた。さらに尿中 HCG が1例で陽性を示した。これらの症例のなかで Table 3 に示すように、組織局在性を証明しえたのは27例中3例(11.1%)であった。そのうち2例は血清 β -HCG の上昇を示し、また残りの1例は尿中 HCG 陽性例であった。血清 β -HCG の上昇を示した7例で見れば、その組織局在を証明しえたものは2例のみで、28.6%と低率であった。

組織学的には、HCG の組織局在は seminoma 組織の一部に、核小体が明瞭で融合傾向を示す、合胞栄養細胞に類似した多核巨細胞 (syncytiotrophoblastic like giant cell) 内に認められ (Fig. 1), 細顆粒状の濃染として観察された。

2. Non-seminomatous germinal testicular tumor (NSGT) について

NSGT 40例については、Table 4 に血清 AFP, β -HCG, CEA の測定値と、各々の PAP 法による組織局在性の有無ならびに stage と予後について示す。さら

*1 栄研 日本標準商品分類番号81729

*2 富士臓器製薬 日本標準商品分類番号817259

*3 ミドリ十字 β -HCG $\cdot$ I-125キット 日本標準商品
分類番号62875

*4 アボット Abott CEA-EIA Diagnostic kit

*5 DAKO PAP KIT K505

HCG A231

AFP A008

CEA A115

Table 3 Clinical features and correlation of histology with serum levels and cellular localization of AFP, HCG and CEA with seminoma

NO.	Age	Histological diagnosis	Serum AFP (ng/ml)	Tissue AFP	Serum β -HCG (ng/ml)	Tissue HCG	Serum CEA (ng/ml)	Tissue CEA	Stage	Present status
1	27	S	—*	—	<0.64	—		—	III	dead
2	42	S	—*	—	<0.64	—		—	I	alive
3	27	S	—*	—	<0.64	—		—	I	alive
4	43	S	—*	—	150	—		—	II	alive
5	57	S	<20	—	1.68	—		—	I	alive
6	60	S	<20	—	<0.64	—	<5	—	II	dead
7	25	S	<20	—	2.1	—	6.8	—	I	alive
8	26	S	<20	—	18	—		—	I	alive
9	58	S	<20	—	<0.64	—		—	II	alive
10	35	S	<20	—	<0.64	—	5.1	—	I	alive
11	26	S	<20	—	<0.64	—		—	I	alive
12	49	S	<20	—	<0.64	—	<5	—	II	dead
13	31	S	<20	—	<0.64	—	<5	—	I	alive
14	33	S	<20	—	50	+	<5	—	I	alive
15	49	S	—*	—	— (u)	—		—	II	dead
16	58	S	—*	—	+ (u)	+		—	I	alive
17	34	S	—*	—		—		—	I	alive
18	28	S	—*	—		—		—	I	alive
19	30	S	—*	—		—		—	I	alive
20	24	S	—*	—	<0.64	—		—	II	alive
21	20	S	<20	—	<0.64	—		—	I	alive
22	31	S	<20	—	<0.64	—		—	I	alive
23	51	S	<20	—	<0.64	—	<5	—	II	alive
24	29	S	<20	—	10.8	—	<5	—	I	alive
25	25	S	<20	—	352.8	+	<5	—	II	alive
26	29	S	<20	—	<0.64	—	<5	—	I	alive
27	40	S	<20	—	<0.64	—	<5	—	I	alive

* : serodia AFP (u) ; urine

Fig. 1 Seminomaの一部にみられる syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の局在を認める. (PAP 法, methyl green, $\times 100$)

に Table 5 に各組織型と, AFP, HCG, CEA の組織局在の陽性率との関係を示す.

NSGT 症例を総合的に見ると, AFP, HCG, CEA の

組織局在を証明しえたのは40例中, それぞれ21例 (52.5%), 17例 (42.5%), 23例 (57.5%) であった.

① AFP について

各組織型別に検討すると, AFP の組織局在は pure な embryonal carcinoma では13例中4例 (30.8%) にしか認められず, 予想に反してその陽性率は低値を示した. しかし embryonal carcinoma element を含む mixed type を加えた25症例で検討してみると, 13例 (52%) で組織局在性を確認できた. 血清 AFP 上昇例は25例中14例 (56%) であり, 血清 AFP 上昇率と組織局在陽性率はほぼ一致した値を示した. さらに血清 AFP 値を RIA 法測定 の15例のみに限れば, 11例 (73.3%) で血清値と組織局在の間に相関が認められ, また逆に組織局在を証明しえた9症例は RIA 法では全例で血清 AFP 値の上昇を示した.

Embryonal carcinoma における AFP の組織局在を組織学的に検討すると, 腺腔を形成する細胞および

Table 4 Clinical features and correlation of histology with serum levels and cellular localization of AFP, HCG and CEA with non seminomatous germinal testicular tumor

NO.	Age	Histological diagnosis	Serum AFP (ng/ml)	Tissue AFP	Serum β -HCG (ng/ml)	Tissue HCG	Serum CEA (ng/ml)	Tissue CEA	Stage	Present status
1	34	E	—*	—	200IU/L (u)	—	—	—	III	alive
2	18	E	1010	+	27400	+	24.3	+	III	dead
3	28	E	<20	—	324.8	—	<5	—	III	alive
4	20	E	4005	+	<0.64	—	<5	+	III	dead
5	25	E	823	—	13528	+	<5	+	III	alive
6	46	E	142	+	0.64	—	<5	+	II	alive
7	35	E	26	—	299.4	—	—	+	III	alive
8	19	E	— ^e	—	50000IU/L (u)	—	—	—	III	dead
9	54	E	+	+	250IU/L (u)	+	—	—	I—A	alive
10	19	E	— ^c	—	— (u)	+	<5	+	I—A	alive
11	46	E	— ^a	—	— (u)	—	—	—	II	dead
12	46	E	<20	—	<0.64	—	—	—	I—A	alive
13	18	E	5100	—	7323	+	<5	—	III	dead
14	10mon.	YST	—	+	—	—	—	+	I	alive
15	1	YST	—*	+	0.64	—	—	+	I	alive
16	6mon.	YST	—*	+	— (u)	—	—	+	I	alive
17	5mon.	YST	+	+	— (u)	—	—	—	I	alive
18	48	Tca	<20	—	55	+	—	+	I—A	alive
19	19	Tca	106	—	19.8	+	<5	+	II	alive
20	15	Tca	—*	—	+	(u)	—	+	I—A	alive
21	24	Tca	—*	+	—	—	—	+	I—B	alive
22	19	Tca	32	—	<0.64	—	<5	+	I—B	alive
23	36	E + C	—*	+	8.4	+	—	+	I—A	alive
24	28	E + C	175	—	425000	+	<5	—	III	dead
25	25	E + C	1637	+	848	+	<5	+	III	alive
26	27	E + C	800	+	514	+	—	—	III	alive
27	35	E + S	—*	+	<0.64	+	—	—	I—A	alive
28	36	E + S	—*	+	—	—	—	—	I—B	dead
29	32	E + S	—*	—	— (u)	—	—	—	I—A	alive
30	30	E + S	100	+	799	+	<5	—	I—A	alive
31	41	E + S	19009	+	0.64	—	<5	+	III	alive
32	37	E + S	<20	—	0.64	—	<5	—	II	alive
33	31	E + S	71	+	1.2	—	<5	+	II	alive
34	32	E + S + C	2880	+	4710	+	<5	—	III	dead
35	32	Tca + C	77	—	—	+	—	—	III	dead
36	20	Tca + C	—*	+	320IU/L(u)	+	—	+	I—A	alive
37	33	Tca + C	260	+	31.6	+	—	+	III	dead
38	28	Tca + S	—*	+	— (u)	—	—	+	II	dead
39	33	T	—	—	—	—	—	+	III	dead
40	36	T + S	—*	—	—	—	—	+	II	dead

E: embryonal carcinoma, Tca: teratocarcinoma, C: choriocarcinoma, S: seminoma, *: serodia-AFP, (u): urine HCG, YST: Yolk sac tumor, T: teratoma

solid 状配列を示す細胞 (Fig. 2), さらに一部では papillary pattern を示す細胞に散在性に (Fig. 3) AFP の局在を認めた。
Teratocarcinoma については, AFP の組織局在性を証明しえたのは 5 例中 1 例 (20%) と少ないが, teratocarcinoma element を含む 9 例で検討すると, 4 例

の 44.4% であった。血清 AFP 上昇例は 9 例においては 4 例 (44.4%) で, 組織局在陽性率と同等の結果であったが, 両者に一致のみられた症例は 1 例のみであった。
組織学的には, teratocarcinoma の solid 状配列を示す細胞に AFP の組織局在を認め (Fig. 4), 一部で

Table 5 Correlation of histological features with cellular localization of AFP, HCG and CEA

Histological diagnosis	Total	No. of pts. with positive AFP (%)	No. of pts. with positive HCG (%)	No. of pts. with positive CEA (%)
Seminoma (S)	27	0	3(11.1)	0
Non seminoma	40	21(52.5)	17(42.5)	23(57.5)
Embryonal carcinoma (E)	13	4(30.8)	5(38.5)	6(46.1)
Teratocarcinoma (Tca)	5	1(20)	2(40)	5(100)
Teratoma (T)	1	0	0	1(100)
E + S	7	5(71.4)	2(28.6)	2(28.6)
E + C	4	3(75)	4(100)	2(50)
Tca + C	3	2(66.6)	3(100)	2(66.6)
E + S + C	1	1(100)	1(100)	0
Tca + S	1	1(100)	0	1(100)
T + S	1	0	0	1(100)
with embryonal carcinoma element	25	13(52)	12(48)	10(40)
with teratocarcinoma element	9	4(44.4)	5(55.6)	8(88.9)
with choriocarcinoma element	8	0	8(100)	0
Yolk sac tumor	4	4(100)	0	3(75)

Fig. 2 Embryonal carcinoma の腺腔形成細胞および solid 状配列を示す細胞に AFP の局在を認める. (PAP 法, methyl green, ×200)

Fig. 3 Embryonal carcinoma の papillary pattern を示す細胞に散在性に AFP の局在を認める. (PAP 法, methyl green, ×100)

は enteric glands 形成細胞にも AFP の組織局在を認めた (Fig. 5). ただし, teratocarcinoma を Mostofi ら²³⁾の分類に従い, teratoma と embryonal carcinoma と考えれば, AFP の局在は殆んどが embryonal carcinoma の組織型を示す部分に認められた. 小児の yolk sac tumor では 4 例全例に AFP の組織局在が認められ, 組織学的には tubular あるいは reticular pattern を示す細胞のほぼ全体に AFP の局在を証明することができた (Fig. 6).

Yolk sac tumor で血清 AFP 値の上昇を示した症例は 1 例のみであったが, いずれも RIA 法以外の測定法によるものであり, RIA 法であれば上昇を示したも

のではないかと考えられる.

Teratoma (mature teratoma) の 2 例では AFP の組織局在はまったく証明しえなかった.

② HCG について

Choriocarcinoma の element をもつ 8 例では, 当然のことながら全例に HCG の組織局在を認め, 血清 β -HCG を測定しえた 6 例全例で上昇を示した. 組織学的には, choriocarcinoma の syncytiotrophoblastic giant cell に HCG の局在を証明した (Fig. 7).

Embryonal carcinoma における HCG の局在は 13 例中 5 例 (38.5%) でみられ, embryonal carcinoma element を含む 25 例では 12 例 (48%) でみられた. しか

Fig. 4 Teratocarcinoma の solid 状配列を示す細胞の一部に AFP の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 100$)

Fig. 5 Teratocarcinoma の enteric glands および solid 状配列の細胞に AFP の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 200$)

Fig. 6 Yolk sac tumor の tubular あるいは reticular pattern を示す細胞に AFP の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 100$)

し血清 β -HCG は、測定しえた 8 例中 5 例 (62.5%) で上昇を示し、組織局在陽性率はこれに比べやや低い

Fig. 7 Choriocarcinoma の syncytiotrophoblastic giant cell に HCG の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 100$)

Fig. 8 Embryonal carcinoma の syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 200$)

かと考えられる。血清 β -HCG とその組織局在の一致は 75% で認められたが、さらに切片を検索すれば、100% の一致をみると考えている。組織学的には、embryonal carcinoma 組織内の syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の組織局在が認められた (Fig. 8)。

Teratocarcinoma における HCG の組織局在は 5 例中 2 例で認められ、2 例とも血清 β -HCG の上昇を示した。組織学的には embryonal carcinoma と同様に、syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の局在を認め、一部では小型の細胞にも HCG 陽性の所見を認めた (Fig. 9)。

Teratoma の 2 例、および yolk sac tumor の 4 例では HCG の局在は証明しえなかった。

③ CEA について

血清 CEA 値の上昇を示したのは 16 例中 1 例のみで

Fig. 9 Teratocarcinoma の syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の局在を認め、一部では、小型の細胞にも HCG の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 100$)

Fig. 10 Embryonal carcinoma の腺腔形成細胞に CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 100$)

あったが、その組織局在性は NSGT 40 例中 23 例、57.5% とかなりの高率で証明された。

組織型別に検討してみると、embryonal carcinoma 13 例では 6 例 (46.1%) に CEA の局在を認め、さらに embryonal carcinoma element を含む 25 例では 10 例 (40%) に CEA の局在を証明しえた。組織学的には、腺腔形成を示す細胞 (Fig. 10)、solid 状配列を示す細胞 (Fig. 11)、さらに一部では散在性 (Fig. 12) に CEA の局在を認めた。

Teratocarcinoma element を含む 9 例では 8 例 (88.9%) と、高率に CEA の組織局在を認めた。組織学的には、teratocarcinoma の enteric glands を形成する細胞の特に腺腔に面した細胞膜のほぼ全面に CEA の局在を認め (Fig. 13)、一部では充実性に増殖

Fig. 11 Embryonal carcinoma の一部 solid 状配列を示す細胞に CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 100$)

Fig. 12 Embryonal carcinoma で散在性に CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 200$)

Fig. 13 Teratocarcinoma の enteric glands を形成する細胞に CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, $\times 4$)

する腫瘍細胞に CEA の局在を認めた (Fig. 14)。

Teratoma を含む 2 例では、teratocarcinoma と同様に enteric glands を形成する壁細胞の腺腔に面した

Fig. 14 Teratocarcinoma の一部で充実性に増殖する腫瘍細胞に CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, ×200)

Fig. 15 Teratoma の enteric glands を形成する壁細胞の腺腔に面した細胞膜に CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, ×10)

Fig. 16 Yolk sac tumor の reticular pattern を示す細胞の一部に, CEA の局在を認める。(PAP 法, methyl green, ×40)

細胞膜のほとんど全部に CEA の局在を認めた (Fig. 15).

Table 6 Immunohistologic classification of germ cell tumors

Tumor	AFP	HCG	CEA
Seminoma	—	—	—
Seminoma with STGC	—	+	—
Embryonal carcinoma	+	+	+
Teratocarcinoma	+	+	+
Choriocarcinoma	—	+	—
Teratoma	—	—	+
Yolk sac tumor	+	—	+

STGC: syncytiotrophoblastic like giant cell
modified from Kurman's classification¹⁵⁾

Yolk sac tumor については, 4 例中 3 例で部分的に reticular pattern を示す細胞の一部に CEA の局在を認めた (Fig. 16). Choriocarcinoma element では CEA の局在は認めなかった.

腫瘍マーカーの組織局在と組織型の関係について以上を要約すれば, AFP の組織局在は, embryonal carcinoma, yolk sac tumor, teratocarcinoma で証明され, seminoma, teratoma, choriocarcinoma では認められなかった.

HCG の組織局在は, choriocarcinoma では syncytiotrophoblastic giant cell に全例証明しえた. さらに seminoma, embryonal carcinoma, teratocarcinoma でも, 一部に認められる syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の局在を認めた.

CEA の組織局在は, teratocarcinoma, teratoma で高頻度に証明され, embryonal carcinoma や yolk sac tumor でも一部に認められたが, seminoma や choriocarcinoma には認められなかった. また組織学的には, 腺腔形成細胞や, いわゆる enteric glands を形成する細胞に, CEA の局在が多く認められた. 以上の結果を Table 6 に示した.

考 案

睪丸腫瘍における血中マーカーとして, AFP および HCG の重要性は, 現在すべての泌尿器科医の認めるところであり, staging, 治療効果の判定, 再発の有無などを判定するうえで必要欠くべからざるものであり, さらには病理組織学的検討を加えるうえでも考慮しなければならない. これらについては, すでに Javadpour ら^{6)~8)26)27)}, Scardino ら⁹⁾, Bosl ら¹⁰⁾¹¹⁾, Skinner ら²⁸⁾, 坂下ら²⁹⁾, 藍沢ら³⁰⁾, 著者ら¹³⁾により詳細に報告されている.

今回我々は, これらの血中マーカーにさらに CEA

を加えた3者について酵素抗体法(PAP法)により、
 睾丸腫瘍組織内の局在性を調べ、その意義について検討を加えた。血清CEAについては、睾丸腫瘍のマーカーとしては不適とする報告が多いが³⁾¹¹⁾¹²⁾³¹⁾、癌胎児性蛋白質のひとつとして、消化器癌において臨床的に広くもちいられており²⁴⁾、睾丸腫瘍においても何らかの知見をえられるのではないかと考え、あえて我々は検討を加えた。

PAP法は、酵素抗体法の間接法の一つであり、酵素蛋白としてペルオキシダーゼを抗体のマーカーに用い、酵素蛋白の発色反応により、組織内の抗原物質の局在を通常の光学顕微鏡で観察しえるという利点をもつ²⁵⁾。この方法では、通常ホルマリン固定パラフィン包埋の組織標本を使用することができ、その特異性は、Goldenbergら³²⁾によれば、10年余を経た標本でも変化がなく、症例数の限られた睾丸腫瘍の研究には非常に有利な方法であると思われる。その詳細については、Sternbergerら¹⁴⁾、Taylorら¹⁶⁾、Javadpourら¹⁸⁾、Goldenbergら³²⁾、島谷ら²²⁾³³⁾、渡辺ら³⁴⁾、森ら³⁵⁾、小幡ら³⁶⁾により報告されているが、今回の我々のPAP法は、古本ら²⁵⁾の変法に従って行なった。

1. AFPについて

睾丸腫瘍における血清AFPの陽性率は、諸家の報告によれば、NSGTではRIA法で70~90%と高率であり、pure seminomaでは、0%である^{6)~12)26)~29)}。Pure seminomaについては、Javadpourら¹⁷⁾の130例、Wagenerら²¹⁾による20例の検討でAFPの組織局在は認められないと報告されており、今回の我々の27症例でもAFPの組織局在は証明されなかった。もし血清AFPの上昇やAFPの組織局在を認めれば、それはpure seminomaではなく、組織学的に再検討をすることが必要である。

NSGTにおけるAFP産生細胞については、Talermanら^{37)~39)}は、147例の睾丸腫瘍、さらには387例の性腺および性腺外の胚細胞性腫瘍を検討し、それはyolk sac tumorである、としている。そして血清AFPが高値を示すものは詳細に組織を検討すればyolk sac elementをもっており、embryonal carcinoma, choriocarcinoma, teratomaではAFPの組織局在は認められないと述べている。また卵巣腫瘍13例における検討でもAFP上昇例は睾丸腫瘍と同様のyolk sac tumorのelementを含んでいたことを報告している⁴⁰⁾。さらにpureなembryonal carcinomaと診断されたものは、血清AFP値は60ng/ml以下の低値を示

すにすぎないとしており、これは分化へのmultipotentialityをもつembryonal carcinomaが、extraembryonic tissueの方向へと分化する初期の段階で、組織学的には明らかにできないが、yolk sac tumorを形成しつつあり、AFPをわずかではあるが産生しているためであろうとしている³⁹⁾。このTaylormanらの説³⁹⁾は、坂下ら⁴¹⁾およびSakashitaら⁴²⁾のラット実験奇型腫におけるAFP産生能を検討した実験により証明された。すなわちyolk sac elementをもった腫瘍のみにAFPが上昇しており、yolk sac elementをもたないteratomaではAFPの上昇は認められなかった。さらに、Itohら⁴³⁾は、36例の睾丸腫瘍で同様の所見を述べている。

しかしながらKurmanら¹⁵⁾はPAP法を用いて21例の睾丸腫瘍のAFPの組織局在性を検討し、embryonal carcinomaで15例中7例(47%) yolk sac tumorで4例中2例(50%)にAFPの組織局在を認めAFP産生細胞は必ずしもyolk sac tumorに限らないことを指摘した。また卵巣腫瘍についても同様の検討を行い、yolk sac tumorでは血清AFPは15例中15例で上昇し、embryonal carcinomaでも10例中7例でAFPの上昇を認めたとしている⁴⁴⁾。Wagenerら²¹⁾も20例の睾丸腫瘍および転移巣でPAP法によりAFPの組織局在性を検討し、18例のembryonal carcinomaで3例にAFPの組織局在を認めており、AFPはかならずしもyolk sac tumorのみで、産生されるのではないとし、これらのAFP陽性細胞は、late stageのembryonal carcinomaの細胞か、very early stageのyolk sac tumorの細胞ではないかと指摘している。さらにTaylorら¹⁶⁾、Javadpourら¹⁸⁾²⁷⁾⁴⁵⁾も同様の説を述べている。またMostofi⁴⁶⁾もpure adult embryonal carcinomaで血清AFPの上昇があり、AFPの組織局在がyolk sac tumorでない部分に認められる症例があるとしている。我々の40例のNSGTの検討では、4例の小児のyolk sac tumorでは、4例すべてにAFPの組織局在を認め前記の諸家の報告と一致した。さらにembryonal carcinomaの13例中4例(30.8%)にAFPの組織局在を認め、これらはyolk sac elementを含まない腺腔形成細胞やsolid状配列を示す細胞などに証明された。さらにmixed typeとしてembryonal carcinoma elementを含む12例を加えた25例では、13例(52%)にAFPの組織局在を認め、その組織局在は同様の所見を示した。以上の我々のAFPの組織局在性の検討においてもAFPは必ずしもyolk sac tumor

にのみその産生をみるものではないと考えられ、embryonal carcinoma から extraembryonic tissue である yolk sac tumor への分化の過程において、組織学的にははっきりとはしないが、yolk sac tumor の初期段階にある細胞ですでに AFP を産生していると思われる。Teratocarcinoma element を含む 9 例では 4 例 (44.4%) に組織局在を認めたが、teratocarcinoma を Mostofi ら²³⁾²⁴⁾の言うように、embryonal carcinoma と teratoma と解釈すれば、embryonal carcinoma の組織を示す細胞に AFP の組織局在が認められた。しかし一部では、teratoma にみられるいわゆる enteric glands の壁細胞にも AFP の局在を認めた。これら島谷ら³³⁾の所見とも一致しており、今後の検討を要するところである。

Teratoma と診断した症例 (mature teratoma) では、AFP の局在は証明しえず、Kurman ら¹⁵⁾、Taylor ら¹⁶⁾、Javadpour⁴⁵⁾などの所見と一致していた。これは teratoma という組織がすでに完全に分化してしまい、AFP 産生という点からみれば、すでにその能力を失った不活性な腫瘍であるといえよう。

血清 AFP と組織局在との間には、我々の症例ではある程度の相関は認められたものの、症例13のように血清 AFP 値が 5,100ng/ml と高値を示したにもかかわらず AFP の局在を証明しえなかった症例も存在した。これは標本の採取部位や切片の数に限界があるためであろうと考えているが、今後さらに検討を加える必要があると考えている。

しかしながら逆に AFP の組織局在を認めた症例では、RIA 法による血清 AFP 値が上昇しており、もし AFP の組織局在を証明しえた症例で血清 AFP 値が上昇していなければ、再度 RIA 法で血清 AFP の測定をする必要があると考えている。これらについては Mostofi⁴⁶⁾も指摘しており、実際的には困難ではあるが、広く標本を採取し、すべての切片について染色を行えば、必ず血中マーカーとその組織局在は相関すると思われ、これは後述の HCG についても同様である。

2. HCG について

HCG は α および β -subunit からなる糖蛋白ホルモンで、正常には胎盤絨毛の syncytiotrophoblast で合成される。 α と β の subunit は別々に細胞内で生成されており、非共有結合によってホルモン活性をもつ HCG が形成され⁴⁸⁾⁴⁹⁾、血中に分泌されて卵巣に作用し、プロゲステロンの分泌を刺激し、妊娠の維持に重要な役割を演じている。 α -subunit は種属特異性をも

ち、ヒトでは LH、FSH、TSH などとほぼ同様の構造をもっており、 β -subunit によりその生物学的および免疫学的特異性が決定される⁸⁾¹⁸⁾⁵⁰⁾。

HCG 産生腫瘍としては、まず子宮原発の絨毛性腫瘍があげられるが、非絨毛性腫瘍としては発生学的に近系にある睾丸腫瘍や卵巣腫瘍を含めた、いわゆる胚細胞性腫瘍 (germinal cell tumor) があげられよう⁵¹⁾。その他肺癌、消化器癌、肝癌、乳癌、腎癌、脳腫瘍などさまざまな性腺以外の悪性腫瘍においても少数であるが、HCG を産生することが指摘されている^{51)~54)}。

睾丸腫瘍における血清 β -HCG の陽性率は、NSGT ではほぼ60%前後といわれ^{8)11)~13)45)52)}、RIA 法による測定が行なわれていなかった以前には、HCG の産生がみられないとされていた seminoma でも血清 HCG の上昇が認められるようになり、その陽性率は Javadpour⁴⁵⁾は160例中15例、10%と報告しているが、Mauch ら⁵⁵⁾は28例中 6 例、21.4%、さらに Vaitukaitis ら⁵⁶⁾は16例中 6 例、38.4%、著者ら¹³⁾は20例中 8 例、40%、増田ら⁵⁷⁾は23例中11例47.8%と諸家の報告によりかなり差があるようである。しかしこれらの諸家の報告をみると、seminoma における血清 β -HCG 値は NSGT にくらべて低値であることが多いといえよう。

ところで睾丸腫瘍の組織を検索してみると HCG を産生しているといわれる choriocarcinoma の element を NSGT で60%もみつけることはまずできないであろう。まして seminoma の組織中で40%もの choriocarcinoma の element を捜しだすことは不可能であろう。Mostofi⁵⁸⁾によれば、6,000例の睾丸腫瘍で choriocarcinoma やそれに類似する syncytiotrophoblastic like giant cell の微巣病巣をみだしたものは500例 (8.3%) にすぎないとしている。

しかしながら PAP 法を用いれば、容易に HCG 産生細胞の同定が可能となり、血清 HCG 値の上昇例とその組織局在性との関連が明確になりうる。今回の我々の症例でも、NSGT 40例について検討すれば、明らかな choriocarcinoma element を認めたのは 8 例 (20%) にすぎないが、PAP 法による HCG の組織局在は17例 (42.5%) で証明しえた。また seminoma 27例では、明らかな choriocarcinoma element は 1 例も認めなかったが、PAP 法により 3 例 (11.1%) で HCG の局在を認めた。これらの症例は、症例27を除き全例血中または尿中での HCG 値の上昇を認めた症例であった。しかしながら血中の β -HCG 値が上昇してい

るにもかかわらず、HCGの組織局在を証明しえなかった症例も9例あったが、これらはほとんどが血清 β -HCG値が200ng/ml以下の低値を示す症例であり、HCG産生細胞が少なく発見が困難であったものと思われる。これらの症例についても連続切片でさらに再検討すればHCGの局在を証明しようと考えている。

HCG産生細胞については、Javadpour²⁷⁾⁴⁵⁾、Kurmanら¹⁵⁾、Taylorら¹⁶⁾、Mostofi⁴⁶⁾、島谷ら³³⁾がPAP法を用いて検討しており、choriocarcinomaのsyncytiotrophoblast、および他の組織中に認められるsyncytiotrophoblastic like giant cellとされており、今回のわれわれの症例の検討においてもそれが再確認された。以下に各組織型におけるHCGの組織局在を検討してみる。

組織学的にchoriocarcinomaのelementを含む8例では、当然のことながら全例でHCGの局在がsyncytiotrophoblastに認められた。またembryonal carcinomaでは13例中5例(38.5%)に、teratocarcinomaでは5例中2例(40%)にHCGの組織局在を認め、いずれもsyncytiotrophoblastic like giant cellに限局していた。ただしteratocarcinomaでは一部に小型の細胞にHCGの局在を認めたが、これはsyncytiotrophoblastic like giant cellの一部とみなしてよいかどうかは明らかでなく、今後さらに検討してゆきたい。

Teratomaおよびyolk sac tumorではHCGの組織局在は認めず、これらは前述の諸家の報告とも一致するものである¹⁵⁾¹⁶⁾²⁷⁾³³⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾。

Seminomaに関しては、RIA法が開発されるまでは血清HCGの上昇はないものとされていたが、前述したように、近年seminomaにおいても血清HCGの上昇が認められることが明らかになってきた¹³⁾¹⁷⁾⁴⁵⁾⁵⁵⁾⁵⁶⁾⁵⁹⁾⁶⁰⁾。我々の27例のpure seminomaの症例においても血清 β -HCGを測定した22例中7例(31.8%)で上昇を認めたが、3例でHCGの組織局在をseminoma細胞中に散在するsyncytiotrophoblastic like giant cellに認めたにすぎない。Seminomaにおける血清 β -HCG値は上昇するとはいえ100ng/ml以下の低値を示すものが多く、その産生細胞は少なく、散在しているためHCGの局在を認める症例が少なかったのではないと思われる。これらの症例はpure seminomaと分類するよりは、もっと正確に表現するならばseminoma+syncytiotrophoblastic like giant cellと分類されねばならないであろう²⁷⁾⁴⁵⁾。これは

PAP法を用いてはじめて可能なことであり、通常のH-E染色標本の病理組織学的検索のみでは困難であり、PAP法の重要性をうかがわせるものである⁵⁵⁾⁴⁶⁾。

また最近増田ら⁵⁷⁾は、pure seminoma 25例中10例でHCGの組織局在をsyncytiotrophoblastic like giant cellに認め、さらにそのうち2例においてseminoma細胞自身にHCGの局在を認めたと報告しており、必ずしもsyncytiotrophoblastic like giant cellのみがHCGを産生するものではないとしているが、その意義については明らかでなく、今後の検討が待たれるところである。

臨床的には、pure seminomaと診断した症例で血清 β -HCGが上昇していたり、PAP法でHCGの組織局在を認めた場合は、stage Iもしくはstage IIでbulky metastasisが存在しない場合は通常の放射線療法でも予後はかわらないが、少なくとも、stage IIでbulky metastasisが存在する場合や、stage IIIの場合はNSGTとして化学療法が必要であろう⁵⁵⁾。我々もTable 3の症例25で血清 β -HCGが352.8ng/mlでstage IIであったため化学療法を行い、良好な結果をえたことをつけ加えておく。

3. CEAについて

carcinoembryonic antigen (CEA)は、1965年にGold and Freedman⁶¹⁾によって結腸組織から分離された分子量約20万の糖蛋白であるが、その糖鎖による不均一性ゆえに、CEAと部分的に交叉反応を示す関連抗原が存在することが示された⁶²⁾。その主なものは、von Kleistら⁶³⁾が正常のヒトの肺や脾組織に見いだしたnon specific cross-reacting antigen (NCA)、また正常ヒト糞便中より見いだしたnormal fecal antigen (NFA)⁶⁴⁾や新生児胎便中より見いだされたNCA-2⁶⁵⁾であり、さらには正常ヒト胆汁中よりSvenberg⁶⁶⁾が見いだしたbiliary glycoprotein (BGP)である。ただし血中NCA値は、von Kleistら⁶⁷⁾によれば、疾患別による差はほとんど認められず実際の血清CEA値に及ぼす影響は少ないと考えられる。それゆえに現在一般的に「CEA」と呼ばれているものは、広義のCEAすなわちNFAとCEAをあわせたCEA族抗原物質群と考えられている⁶⁸⁾。現在NFAなどを除外した狭義のCEAのRIA法も開発されつつあるが⁶⁹⁾、今回我々が血清CEA値測定に用いたアボット社のCEA-EIAキットも、黒木ら⁷⁰⁾が示すごとく広義のCEAであることを付記しておく。

血清CEA値は、大腸癌をはじめとする消化器癌、膵

癌、肺癌など内胚葉性由来の組織の癌で陽性率が高く⁷¹⁾⁷²⁾、さらに卵巣癌⁷³⁾や乳癌⁷⁴⁾の進行癌においても血清マーカーとして有用であるとされており、当初 Gold ら⁶¹⁾が報告していたように必ずしも消化器癌に特異的でないことがわかってきた。

睪丸腫瘍における血清 CEA 値の陽性率は低く^{3)11)~13)31)}、マーカーとしての意義は低いとされてきた。今回我々が血清 CEA 値を測定しえた26例の睪丸腫瘍においてもわずか3例で上昇を認めたにすぎない。すなわち睪丸腫瘍においては、CEA は臨床的意義は低く、その存在は考えられないとされてきた。

ところで胎児組織における CEA の局在を検討すると、CEA は妊娠 9 週齢の胎児大腸粘膜上皮および妊娠 14 週齢頃の胃粘膜上皮で認められ、妊娠 24 週齢頃から検出されなくなり、生後は正常な胃腸粘膜では証明できないとされている^{75)~77)}。これは成人の消化器癌などの主に内胚葉性由来の組織の癌で認められる CEA が、正常の発生過程をたどる胎児の腸としての性格を残した未分化な胃粘膜に一時期にのみ存在するという癌胎児性蛋白としての性格を示すものである⁶²⁾⁷⁵⁾⁷⁶⁾。

一方睪丸腫瘍は、その腫瘍発生を考えるうえで正常胎児の発育過程と強い類似性をもつことが指摘されている^{78)~80)}。Melicow⁷⁸⁾によれば、睪丸腫瘍の発生過程で trigeriminal potential を失うと seminoma となり、それを正常胎児のように保持しているのが embryonal carcinoma であるという。また Dixon and Moore⁷⁹⁾や Pierce and Abell⁸⁰⁾の仮説では、いわゆる totipotent cell から embryonal carcinoma が発生し、それが extraembryonic tissue と embryonic tissue に分化し、さらに embryonic tissue が、内、中、外胚葉性の 3 胚葉の成分に分化し teratoma になると述べている。この 3 胚葉性の成分へと分化する過程が、前述の正常胎児発生の過程と類似したものであれば、内胚葉性由来の腸粘膜に類似した組織も存在するはずであり、そこに CEA の存在が認められるのではないかと考えられる。

以上のような仮説にもとづいて PAP 法により睪丸腫瘍組織の CEA の組織局在を検討したのであるが、Table 5 に示すように、seminoma, choriocarcinoma では CEA の組織局在はまったく認めず teratocarcinoma, teratoma, embryonal carcinoma, yolk sac tumor で CEA の組織局在が認められた。しかも teratoma や teratocarcinoma では enteric glands にほ

ぼ100%に CEA の組織局在を認め、一方 embryonal carcinoma では約50%に CEA の組織局在が認められた。これは、embryonal carcinoma が teratocarcinoma や teratoma へと分化してゆく過程において、embryonal carcinoma の組織内にすでに、CEA の局在を認めるような内胚葉性成分へと分化しはじめた細胞群があることを示しているのではないかと考えられる。

さらにその組織像における CEA の局在性を検討してみると、teratoma や teratocarcinoma では主に enteric glands と呼ばれる cyst の壁細胞に CEA の局在を認め、しかも内腔に面した細胞の粘膜面に顕著であった。また embryonal carcinoma では腺腔形成を示す細胞や solid 状配列を示す細胞に CEA の局在を認めた。これら teratoma や teratocarcinoma の CEA 局在の所見は、大腸癌^{81)~83)}や胃癌⁸⁴⁾⁸⁵⁾における CEA の局在と類似し、また胎児の胃、腸管粘膜における CEA の局在とも類似しており^{75)~77)}、いわゆる腸粘膜の glycocalyx 領域に CEA が存在するという所見を思わせるものである。ただし消化器癌とくらべるとその局在性は、glycocalyx にのみ限定されているものではないと思われる。また消化器癌では、CEA の組織局在は分化型腺癌に多く認められ、中等度に分化した腺癌ではその頻度は低くなり、低分化腺癌や未分化腺癌では認められないとされている⁸⁶⁾⁸⁷⁾。すなわち未分化であるほど CEA の局在性は認められないのである。これは embryonal carcinoma を未分化から中等度分化癌と考え、teratoma を分化癌と考えれば、teratoma にはほぼ100%で CEA の局在を認め、embryonal carcinoma で約50%に CEA の局在を認めたという我々の所見と類似するものではないかと考えられる。すなわち睪丸腫瘍においては、embryonal carcinoma から teratoma へと分化してゆく過程において、その内胚葉性の成分のうち、腸粘膜上皮に類似した線組織へと分化した細胞群や組織に CEA の局在が認められるといえよう。

ただここで検討しておかなければならないことは、それではなぜ CEA の組織局在を認める睪丸腫瘍患者の血清 CEA 値が上昇しないかということである。これは消化器癌においても指摘されていることで、かならずしも血清 CEA 値の上昇を認めない症例があり、その解釈として、CEA は細胞表面の glycocalyx を構成する成分であり血中に分泌されるものではないので⁸⁸⁾、癌組織が血管やリンパ管などに侵襲しなければ

Table 7 Cell origin of testicular tumor markers

STGC : syncytiotrophoblastic like giant cell
modified from Javadpour's chart ⁴¹⁾

CEA の血中移行がおこらず、血清 CEA の上昇を認めないであろうとされている⁷²⁾⁸¹⁾⁸³⁾⁸⁹⁾⁹⁰⁾。さらに Lindgren⁷⁷⁾は、胎児の消化管に CEA の局在を認めるのにもかかわらず母体血清中の CEA の上昇を認めなかったことを報告し、これは CEA が腸管内へ分泌され、母体の血中へ移行しないからだとして述べている。

睾丸腫瘍においても、消化器癌と同様に CEA が血中へ移行しないのか、もしくは CEA の存在が消化器癌からみて少ないことから考えると、CEA の産生そのものが少ないので血清 CEA 値が現在の測定法ではとらえがたいのではないかと考えられるが、今後さらに検討しなければならないと考えている。

また yolk sac tumor で部分的に reticular pattern を示す細胞に CEA の局在を認めたが、この意義については現時点ではっきりとした解釈を述べることはできない。しかし yolk sac が発生学的に内胚葉由来であることを考慮すれば embryonal carcinoma から extra embryonic tissue である yolk sac tumor へと分化してゆく過程において CEA 産生細胞が残存しているために CEA の局在を認めるのではないかと考えられる。

4. 腫瘍マーカーと組織型のまとめ

以上 AFP, HCG, CEA の睾丸腫瘍の各組織型における局在性を検討してきたが、最後にこれらのマーカーを総合的に考えていくうえで、各組織型とその局在の関係を示したい。すでに AFP, HCG を加味した免疫組織学的分類が Kurman ら¹⁵⁾、Taylor ら¹⁶⁾、Javadpour²⁷⁾⁴⁵⁾によって示されているが、我々はさらに CEA をこの分類に加えて Table 6 に示した (teratocarcinoma は、embryonal carcinoma with teratoma として考えた)。すなわち AFP, HCG について

は Kurman ら¹⁵⁾と同様であり、さらに CEA は seminoma, choriocarcinoma では陰性であり、embryonal carcinoma, teratoma, yolk sac tumor で陽性である。さらに発生学的に各マーカーの産生細胞を考えると、1978 年 NIH conference で Javadpour⁹¹⁾が示した模式図に、さらに CEA を加えて Table 7 に示すようになろう。すなわち totipotential な germ cell から seminoma および seminoma + syncytiotrophoblastic like giant cell が発生し、embryonal carcinoma が分化してくる。embryonal carcinoma は AFP, HCG, CEA を産生する能力をもち、さらに extraembryonic tissue と embryonic tissue に分化してゆく。Extraembryonic tissue は trophoblast と yolk sac に分化し、それぞれ HCG を産生する choriocarcinoma と AFP や時に CEA を産生する yolk sac tumor に分化する。また embryonic tissue は 3 胚葉性に分化し、endoderm は CEA を産生、その究極的な組織として teratoma となり、CEA の産生が高頻度に認められるというものである。

このように各マーカーの局在性を PAP 法にて証明すれば、睾丸腫瘍の組織分類やその発生過程はより明確になることがわかった。今後さらに新たなマーカーが発見され、睾丸腫瘍の組織学的分類は単なる形態学的な分類から脱皮し、免疫組織化学を取り入れた系統的な分類が確立されてゆくであろうと考えられる。

今回我々が検討を加えた、AFP, HCG, CEA は、正常の胎児発生過程および成体の癌化によって再び現われ、いわゆる癌胎児性蛋白質²⁴⁾または oncodevelopmental gene products¹⁾という概念でとらえられている。ただし CEA については最近癌胎児性の性格が疑問視されてきている⁴⁾⁹²⁾。AFP は embryoblasts prod-

ucts, HCG は trophoblasts products と考えられ⁹³⁾, これら両者の products を高頻度に産生する腫瘍は少なく⁹³⁾, 睪丸腫瘍や卵巣腫瘍などの胚細胞性腫瘍はこの両者を産生するものとしてこの分野では特異的であり, 今後新たな oncodevelopmental gene products の発見される可能性も大きい. 今後我々も, AFP や HCG などの血中マーカーを巢に臨床的に有用なマーカーとしてとらえるだけでなく, 癌胎児共通蛋白質という観点からも検討を加え, 睪丸腫瘍発生のメカニズムの解明に取りくんでゆかなければならないと考えている.

結 語

Seminoma 27例および non-seminomatous germinal testicular tumor (NSGT) 40例を対象として, AFP, HCG, CEA の血清値を測定するとともに, PAP 法によりその組織局在性を検討し, 以下の結果を得た.

① Seminoma 22例で血清 β -HCG 値を測定し, 7例 (31.8%) で上昇を認めた. また PAP 法により, 27例中 3例で HCG の組織局在を syncytiotrophoblastic like giant cell に認めた. 臨床的に pure seminoma と診断した症例で β -HCG の上昇を認めれば, PAP 法による HCG の局在を検索し, seminoma+syncytiotrophoblastic like giant cell とすべきで, high stage であれば non-seminoma として治療すべきであることを示した. 血清 AFP の上昇および AFP の組織局在を示した症例は認めなかった. 血清 CEA 値を11例で測定し 2例で軽度の上昇を認めたが, 組織局在性は27例中 1例も認めなかった.

② NSGT 40例で AFP の組織局在を証明しえたのは, 21例 (52.5%) であった. 各組織別では, embryonalcarcinoma element を含む25例中13例 (52%) で AFP の組織局在を認め, 血清 AFP は25例中 14例 (56%) で上昇を示した. 組織学的には, 腺腔形成細胞, solid 状配列を示す細胞, papillary pattern を示す細胞に AFP の局在を認めた. teratocarcinoma element を含む 9例中 4例 (44.4%) で AFP の局在を認め, 血清 AFP も 4例で上昇を認めたが両者の一致は 1例で認めたにすぎなかった. 組織学的には, teratocarcinoma を embryonal carcinoma と teratoma と考えれば, embryonal carcinoma を示す solid 状配列の細胞に AFP の局在を認めた. yolk sac tumor では 4例全例に AFP の局在を tubular あるいは reticular pattern を示す細胞のほとんどに認めた. teratoma の 2例では AFP の組織局在は認めなかった. これらは, AFP はかならずしも yolk sac tumor にの

み産生を認めるものではなく, embryonal carcinoma から extraembryonic である yolk sac tumor へと分化してゆく過程の初期の細胞においても AFP が産生されていることを示唆すると考えられる.

③ HCG の組織局在は NSGT 40例中17例 (42.5%) で認められた. 各組織別には choriocarcinoma element をもつ 8例では全例に HCG の局在を syncytiotrophoblastic giant cell に認め, 血清 β -HCG は測定しえた 6例全例で上昇を示した. embryonal carcinoma では13例中 5例 (38.5%) で認められ, そのうち 4例で血清 β -HCG および尿中の HCG の上昇を認めた. Teratocarcinoma の 5例では 2例で HCG の局在を認め, 2例とも β -HCG の上昇を認めた. 組織学的には, いずれも syncytiotrophoblastic like giant cell に HCG の局在を認めた. Teratoma の 2例および yolk sac tumor の 4例では HCG の局在は認めなかった.

④ CEA の組織局在は NSGT 40例中23例 (57.5%) で認められたが, 血清 CEA 値の上昇は16例中 1例で認められたにすぎない. 各組織別には embryonal carcinoma 13例では 6例 (46.1%) で, 腺腔形成を示す細胞, solid 状配列を示す細胞, さらに一部では散在性に CEA の局在を認めた. Teratocarcinoma element を含む 9例では 8例 (88.9%) と高率に CEA の局在を認め, 組織学的には, enteric glands の腺腔を形成する壁細胞のほとんどに CEA の局在を認めた. teratoma の 2例では enteric glands の壁細胞の腺腔面のほとんどすべてに CEA の局在を認めた. これらは胎児腸管組織や消化器癌の CEA の局在と組織学的に類似していた. yolk sac tumor では 4例中 3例に部分的に reticular pattern を示す細胞に CEA の局在を認めた.

CEA は embryonal carcinoma から teratoma へと分化してゆく過程においてその内胚葉性の組織内に局在を示してくるのではないかと思われる.

⑤ AFP, HCG, CEA の組織局在を含めた組織分類を示すとともに, 睪丸腫瘍の発生を考えるうえでのこれらマーカーの重要性について述べた.

本論文の要旨は第70回日本泌尿器科学会総会にて発表した. なお本研究の一部は厚生省癌研究班(課題番号356-37)の助成金により施行された.

稿を終えるにあたり, 御指導御校閱を賜った大阪大学泌尿器科学教室園田孝夫教授, 大阪府立成人病センター古武敏彦部長に深謝の意を表します. また症例提供に御協力

いただいた市立箕面病院長船匡男部長、大阪大学医学部泌尿器科学教室松田稔先生、中野悦二先生、並木幹夫先生、多田安温先生、岡聖次先生、大阪府立病院新武三部長、門脇照雄先生、東大阪市立中央病院武本征人部長に感謝いたします。さらに組織学的検索に際し御指導いただいた大阪府立成人病センター病理石黒信吾先生、野瀬邦憲技官および吉田光良博士に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) Sell, S.: The Handbook of Cancer Immunology, Vol. 3. Part A, p. 6—49, Garland STPM Press, New York & London, 1978.
- 2) 平井秀松: 癌胎児性蛋白質. 臨床病理, 23, 787—794, 1975.
- 3) 平井秀松: ガン胎児性タンパク質. 生化学, 48, 364, 1976.
- 4) 平井秀松: 癌胎児性共通抗原. 蛋白質・核酸・酵素, 23, 579—593, 1978.
- 5) 上田外幸: 癌胎児性蛋白による腫瘍診断. 産科と婦人科, 46, 1—6, 1979.
- 6) Javadpour, N., McIntire, K.R., Waldmann, T. A., Scardino, P.T., Bergman, S. and Anderson, T.: The role of the radioimmunoassay of serum alphafetoprotein and human chorionic gonadotropin in the intensive chemotherapy and surgery of metastatic testicular tumors. J. Urol., 119, 759—762, 1978.
- 7) Javadpour, N.: Improved staging for testicular cancer using biologic tumor markers: A prospective study. J. Urol., 124, 58—59, 1980.
- 8) Javadpour, N.: Tumor markers in urologic cancer. Urology, 16, 127—136, 1980.
- 9) Scardino, P.T., Cox, H.D., Waldmann, T.A., McIntire, K.R., Mittermeyer, B. and Javadpour, N.: The value of serum tumor markers in the staging and prognosis of germ cell tumors of the testis. J. Urol., 118, 994—999, 1977.
- 10) Bosl, G.J., Lange, P.H., Fraley, E.E., Goldman, A., Nochomovitz, L.E., Rosai, J., Waldmann, T. A., Johnson, K. and Kennedy, B.J.: Human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein in the staging of nonseminomatous testicular cancer. Cancer, 47, 328—332, 1981.
- 11) Bosl, G.J., Lange, P.H., Nochomovitz, L.E., Goldmann, A., Fraley, E.E., Rosai, J., Johnson, K. and Kennedy, B.J.: Tumor markers in advanced nonseminomatous testicular cancer. Cancer, 47, 572—576, 1981.
- 12) 守殿貞夫, 荒川創一, 増田宗義, 浜見 学, 島谷昇, 伊藤 登, 中塚栄治, 藤井昭男, 大野三太郎, 石神襄次, 服部正宏, 吉本祥生, 藤田拓男, 岡田聡: 辜丸腫瘍における血清 marker の意義. 日泌尿会誌, 71, 352—362, 1980.
- 13) 三木恒治, 織田英昭, 亀井 修, 細木 茂, 木内利明, 黒田昌男, 吉田光良, 清原久和, 宇佐美道之, 長船匡男, 古武敏彦: 辜丸腫瘍における血清 AFP, HCG, CEA の検討. 日泌尿会誌, 74, 1236—1247, 1983.
- 14) Sternberger, L.A., Hardy, P.H., Cuculis, J.J. and Meyer, H.G.: The unlabelled antibody enzyme method of immunocytochemistry. 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.
- 15) Kurman, R.J., Scardino, P.T., McIntire, K.R., Waldmann, T.A. and Javadpour, N.: Cellular localization of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in germ cell tumors of the testis using an indirect immunoperoxidase technique. Cancer, 40, 2136—2151, 1977.
- 16) Taylor, R.C., Kurman, R.J. and Warner, N.E.: The potential value of immunohistologic techniques in the classification of ovarian and testicular tumors. Human Pathology, 9, 417—427, 1978.
- 17) Javadpour, N., McIntire, K.R. and Waldmann, T.A.: Human chorionic gonadotropin (HCG) and alpha-fetoprotein (AFP) in sera and tumor cells of patients with testicular seminoma. Cancer, 42, 2768—2772, 1978.
- 18) Javadpour, N.: Serum and cellular biologic tumor markers in patients with urologic cancer. Human Pathology, 10, 559—568, 1979.
- 19) Bosman, F.T., Giard, R.W.M., Kruseman, A.C. N., Knijnenburg, G. and Spaander, P.J.: Human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein in testicular cell tumors: A retrospective immunohistochemical study. Histopathology, 4, 673—684, 1980.
- 20) Woltering, E.A., Knox, R.D., Javadpour, N., Soares, T. and Chen, H.: Detection of human chorionic gonadotropin in fresh and formalin-fixed testicular tumor tissue. Urology, XVI, 215—218, 1980.
- 21) Wagener, C., Menzel, B., Breuer, H., Wessbach, L., Tschubel, K., Henkel, K. and Gedigk, P.: Immunohistochemical localization of alpha-fetoprotein (AFP) in germ cell tumors: Evidence for AFP production by tissues different from endodermal sinus tumor. Oncology, 38, 236—239, 1981.
- 22) 島谷 昇, 荒川創一, 大野三太郎, 守殿貞夫, 吉本

- 祥生, 前田 盛: 辜丸腫瘍における β -subunit human chorionic gonadotropin, alpha-feto-protein および β_1 -pregnancy specific glyco-protein の組織局在性とその意義. 日泌尿会誌, 71, 1438—1445, 1980.
- 23) Mostofi, F.K. and Price, E.B.: Tumors of the Male Genital System. Atlas of Tumor Pathology, Second Series, p. 16, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., 1973.
 - 24) Mostofi, F.K. and Sobin, L.H.: Histologic typing of testicular tumors. International Histological Classification of Tumors No. 16. Geneva, World Health Organization, 1977.
 - 25) 古本 勝, 岸本敦子, 浦野順文: 病理組織片の PAP 法染色. 検査と技術, 9, 489—492, 1981.
 - 26) Javadpour, N.: The national cancer institute experience with testicular cancer. J. Urology, 120, 651—659, 1978.
 - 27) Javadpour, N.: Tumor markers in urologic cancer. Urology, 16, 127—136, 1980.
 - 28) Skinner, D.G. and Scardino, P.T.: Relevance of biochemical tumor markers and lymphadenectomy in management of non-seminomatous testis tumors: Current perspective. J. Urology, 123, 378—382, 1980.
 - 29) 坂下茂夫, 黒田一秀, 井平秀松: 尿路性器腫瘍の免疫学的診断法. 臨泌, 30, 463—471, 1976.
 - 30) 藍沢茂雄, 古里征国: 辜丸腫瘍の組織分類. 臨泌, 35, 727—738, 1981.
 - 31) Talerman, A., van der Pompe, W.B., Haije, W. G., Baggerman, L. and Boekestein-Tjahjadi, H. M.: Alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen in germ cell neoplasms. Br. J. Cancer, 35, 288—291, 1977.
 - 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) 島谷 晃, 荒川創一, 増田宗義, 守殿貞夫: 辜丸腫瘍組織における human chorionic gonadotropin, β_1 -pregnancy specific protein および alpha-feto-protein 産生細胞に関する研究. 日泌尿会誌, 72, 1164—1176, 1981.
 - 34) 渡辺慶一郎編: 酵素抗体法—理論・手技解説とその応用. p. 15—80, 学際企画, 1980.
 - 35) 森 茂郎, 毛利 昇, 板倉淑子, 小沼利光, 須山貞子, 田代雅子, 浦野順文: 病理組織片の酵素抗体法. 検査と技術, 8, 147—151, 1980.
 - 36) 小幡憲郎, 児玉省二, 半藤 保, 竹内正七: 酵素抗体法による卵巢悪性胚細胞腫における AFP, HCG, および CEA の細胞内局在の研究. 日産婦誌, 32, 757—766, 1980.
 - 37) Talerman, A. and Haije, W.G.: Alpha-feto-protein and germ cell tumors: A possible role of yolk sac tumor in production of alpha-feto-protein. Cancer, 34, 1722—1726, 1974.
 - 38) Talerman, A.: The incidence of yolk sac tumor (Endodermal sinus tumor) elements in germ cell tumors of the testis in adults. Cancer, 36, 211—215, 1975.
 - 39) Talerman, A., Haije, W.G. and Baggerman, L.: Serum alphafetoprotein (AFP) in patients with germ cell tumors of the gonads and extragonadal sites: Correlation between endodermal sinus (yolk sac) tumor and raised serum AFP. Cancer, 46, 380—385, 1980.
 - 40) Talerman, A., Haije, W.G. and Baggerman, L.: Serum alpha-fetoprotein (AFP) in diagnosis and management of endodermal sinus (yolk sac) tumor and mixed germ cell tumor of the ovary. Cancer, 41, 272—278, 1978.
 - 41) 坂下茂夫, 黒田一秀, 辻 一郎: 辜丸腫瘍と AFP (第 2 報 ラット実験奇型腫と AFP について). 日泌尿会誌, 67, 731, 1976.
 - 42) Sakashita, S., Tsukada, Y., Nakamura, K., Tsuji, I. and Hirai, H.: Experimental yolk-sac tumors produced by fetectomy without virus infection in rats. Int. J. Cancer, 20, 83—86, 1977.
 - 43) Itoh, T., Shirai, T., Naka, A. and Matsumoto, S.: Yolk-sac tumor and α -fetoprotein: Clinicopathological study of four cases. Gann, 65, 215—226, 1974.
 - 44) Kurman, R.J. and Norris, H.J.: Embryonal carcinoma of the ovary. A clinicopathological entity distinct from endodermal sinus resembling embryonal carcinoma of the adult testis. Cancer, 38, 2420—2433, 1976.
 - 45) Japadpour, N.: Immunocytochemical localization of various markers in cancer cells and tumors: Urology, XXI, 1—7, 1983.
 - 46) Mostofi, F.K.: Pathology of germ cell tumors of testis, a progress report. Cancer, 45, 1735—1754, 1980.
 - 47) Mostofi, F.K.: Testicular tumors, epidemiologic, etiologic and pathologic features. Cancer, 32, 1186—1201, 1973.
 - 48) Landefeld, T.D., McWilliams, D.R. and Boime, I.: The isolation of mRNA encoding the alpha subunit of human chorionic gonadotropin. Biochem. Biophys. Res. Commun., 72, 381—390, 1976.
 - 49) 林茂一郎: 人絨毛の機能分化に関する HCG および HPL の免疫組織化学的研究. 日産婦誌, 32,

- 94—102, 1980.
- 50) 吉本祥生, 森寺邦三郎, 服部正宏, 井村裕夫: 糖蛋白ホルモン β -subunit. 最新医学, 30, 748—753, 1975.
 - 51) 川生 明: 糖蛋白ホルモンの免疫組織化学—とくに HCG について—. 臨床病理, 47, 78—90, 1981.
 - 52) Braunstein, G.D., Vaitukaitis, J.L., Carbone, P. P. and Ross, G.T.: Ectopic production of human chorionic gonadotropin by neoplasms. Ann. Intern. Med., 78, 39—45, 1973.
 - 53) Gailani, S., Chu, T.M., Nussbaum, A., Ostrander, M. and Christoff, N.: Human chorionic gonadotropins (HCG) in nontrophoblastic neoplasms. Assessment of abnormalities of HCG and CEA in bronchogenic and digestive neoplasms. Cancer, 38, 1684—1686, 1976.
 - 54) Hattori, M., Fukase, M., Yoshimi, H., Matsukura, S. and Imura, H.: Ectopic production of human chorionic gonadotropin in malignant tumors. Cancer, 42, 2328—2333, 1978.
 - 55) Mauch, P., Weichselbaum, R. and Botnick, L.: The significance of positive chorionic gonadotropins in apparently pure seminoma of the testis. Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 5, 887—889, 1979.
 - 56) Vaitukaitis, J.L., Ross, G.T., Braunstein, G.D. and Rayford, P.L.: Gonadotropins and their subunits: Basic and clinical studies. Recent Prog. Horm. Res., 32, 289—331, 1976.
 - 57) 増田宗義: 睾丸 Seminoma における Human Chorionic Gonadotropin の意義. 泌尿紀要, 28, 1—12, 1982.
 - 58) Mostofi, F.K.: Testicular tumors epidemiologic, etiologic and pathologic features. Cancer, 32, 1186—1200, 1973.
 - 59) Javadpour, N., McIntire, K.R., Waldmann, T.A. and Bergman, S.M.: The role of alpha-feto-protein and human chorionic gonadotropin in seminoma. J. Urol., 120, 687—690, 1978.
 - 60) Javadpour, N.: Management of seminoma based on tumor markers. Urologic Clinics of North America, 7, 773—781, 1980.
 - 61) Gold, P. and Freedman, S.O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinoma by immunological tolerance and absorption techniques. J. Exp. Med., 121, 439—462, 1965.
 - 62) 森 武貞, 李 伯権, 淡田勝久, 稲治英生, 神前五郎: α -Fetoprotein と CEA. 臨床化学, 15, 1467—1478, 1979.
 - 63) von Kleist, S., Chavanel, G. and Burtin, P.: Identification of an antigen from normal human tissue that cross-reacts with the carcinoembryonic antigen. Proc. Natl. Acad. Sci., 69, 2492—2494, 1972.
 - 64) 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.
 - 65) Burtin, P., Chavanel, G. and Hirsch-Marie, H.: Characterization of a second normal antigen that cross-react with CEA. J. Immunol., 111, 1926—1928, 1973.
 - 66) Svenberg, T.: Carcinoembryonic antigen-like substances of human bile. Isolation and partial characterization. Int. J. Cancer, 17, 588—596, 1976.
 - 67) von Kleist, S., Tropel, S. and King, M.: A clinical comparison between nonspecific cross-reacting antigen (NCA) and CEA in patient's sera. Br. J. Cancer, 35, 875—880, 1970.
 - 68) 森 武貞, 奥田 博, 中尾照逸, 稲治英生, 神前五郎: 腫瘍マーカー: Carcinoembryonic Antigen (CEA). 臨床科学, 818—824, 1983.
 - 69) 神前五郎, 森 武貞, 藤本直樹, 島野高志, 季 伯権, 山本孝紀: CEA の不均一性とその生物学的意義. 癌と化学療法, 5, 323—334, 1978.
 - 70) 黒木政秀, 松岡雄治: CEA—基礎—, 免疫と疾患, 4, 723—735, 1982.
 - 71) Carcinoembryonic Antigen: Its role as a marker in the management of cancer-National institutes of health consensus development conference statement. Cancer Research, 41, 2017—2018, 1981.
 - 72) 谷内 昭, 川原田信: Carcinoembryonic Antigen (CEA) —その臨床的意義—. 免疫と疾患, 4, 737—746, 1982.
 - 73) Seppälä, M., Pihko, H. and Ruoslahti, E.: Carcinoembryonic antigen and alpha-feto-protein in malignant tumors of the female genital tract. Cancer, 35, 1377—1381, 1975.
 - 74) Steward, A.M., Nixon, D., Zamcheck, N. and Aisenburg, A.: Carcinoembryonic antigen in breast cancer patients: Serum levels and disease progress. Cancer, 33, 1246—1252, 1974.
 - 75) Mori, T., Shimano, T., Lee, P.K., Fujimoto, N. and Kosaki, G.: Antigenic differences of CEA in colonic cancer, gastric cancer, and fetal tissue. Scand. J. Immunol., 8, 439—446, 1978.
 - 76) Mori, T., Lee, P.K., Nakajo, Y., Awata, K. and Kosaki, G.: Biological features of CEA-positive cells in gastric cancer and fetal tissues. Carcino-Embryonic Proteins (Lehmann, F.G., ed.), Vol. II. p. 23—28, Elsevier, North-Holland

- Biochemical Press, 1979.
- 77) Lindgren, J.: Carcinoembryonic antigen in fetal tissues and in maternal serum. *Act. Path. Microbial. Scand. Sect A*, **88**, 49—53, 1980.
 - 78) Melicow, M.M.: Tumors of the testis. In the forefront of oncology: A review and preview. *Urology*, **17**, 54—59, 1981.
 - 79) Dixon, F.J. and Moore, R.A.: Testicular tumors. *Cancer*, **6**, 427—454, 1953.
 - 80) Pierce, G.B. Jr. and Abell, M.A.: Embryonal carcinoma of the testis. p. 27—60, *Pathology Annual*, Sheldon C. Sommers, Series ed., N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1970.
 - 81) Goslin, R., O'brien, M.J., Steele, G., Mayer, R., Wilson, R., Corson, J.M. and Zamcheck, N.: Correlation of plasma CEA and CEA tissue staining in poorly differentiated colorectal cancer. *American Journal of Medicine*, **71**, 246—253, 1981.
 - 82) Primus, F.J. and Wang, R.H.: Detection of carcinoembryonic antigen in tissue sections by immunoperoxidase. *Journal of Immunological Methods*, **8**, 267—276, 1975.
 - 83) Isaacson, P. and Le Vann, H.P.: The demonstration of carcinoembryonic antigen in colorectal carcinoma and colonic polyps using immunoperoxidase technique. *Cancer*, **38**, 1348—1356, 1976.
 - 84) Wagener, C., Müller-Wallraf, R., Nisson, S., Gröner, J. and Breuer, H.: Localization and concentration of carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal tumors: Correlation with CEA levels in plasma. *J.N.C.I.*, **67**, 539—547, 1981.
 - 85) Nagura, H., Tsutsumi, Y., Shioda, Y. and Watanabe, K.: Immunohistochemistry of gastric carcinoma and associated disease. *J. Histochemi. Cytochemi.*, **31**, 193—198, 1983.
 - 86) 神前五郎, 森 武貞: CEA—その基礎と臨床—。医学のあゆみ, **106**, 242—250, 1978.
 - 87) Denk, H.: Carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal and extragastrointestinal tumors and its relationship to tumor cell differentiation. *Int. J. Cancer*, **10**, 262—272, 1972.
 - 88) 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.
 - 89) 宮崎 勝, 藤本 茂, 橘川征夫, 伊藤健次郎: 胃癌患者における組織内 Carcinoembryonic antigen (CEA) 値の検討—とくに血中 CEA 値および腫瘍組織像との関連について—。癌の臨床, **25**, 1470—1474, 1979.
 - 90) 成木行彦, 中野 実, 大塚幸雄: 胃癌患者の血中 CEA の胃癌組織の関連について。日消誌, **76**, 17—26, 1979.
 - 91) Javadpour, N.: Immunocytochemistry of testicular tumor, pp. 377—380 in Anderson, T. (moderator): Testicular germ-cell neoplasms: Recent advances in diagnosis and therapy. *Ann. Intern. Med.*, **90**, 373—385, 1979.
 - 92) 平井秀松: 癌胎児共通表現形質。代謝, **17**, 1501—1518, 1980.
 - 93) Fishman, W.H. and Singer, R.M.: Regulatory controls of oncotrophoblast proteins and developmental alkaline phosphatase in cancer cells. *Cancer Research*, **36**, 4256—4261, 1976.

(1983年10月7日受付)