尿路腫瘍関連抗原に関する検討

膀胱腫瘍における尿剝離細胞 TPA (Tissue Polypeptide Antigen),

ABH 抗原の免疫細胞学的検討

近畿大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 栗田孝教授)

辻橋 宏典 松田 久雄 上島 成也

秋山 隆弘 栗田 孝

A STUDY OF UROLOGICAL TUMOR ASSOCIATED ANTIGENS

IV. Immunocytochemical Study of TPA, ABH Antigen by Using Urothelial Exfoliated Cells in Bladder Tumors

Hironori Tsujihashi, Hisao Matsuda, Shigeya Uejima,

Takahiro Akiyama and Takashi Kurita

Department of Urology, Kinki University, School of Medicine

(Director: Prof. T. Kurita, M.D.)

For the purpose of early diagnosis of bladder tumor and its malignant potential, immunocytochemical demonstration of TPA and ABH antigen by using urothelial exfoliated cells was performed. Indirect immunoperoxidase technique was utilized for detecting urinary TPA and ABH staining, which was compared with tissue TPA, ABH and RIA urinary TPA.

The resected specimens were composed of 45 bladder tumors and 10 non-cancerous tissues. In individual cells, urinary TPA and ABH were present in the cytoplasm and cell membrane. The positive rate of urinary TPA staining was related to RIA urinary levels, but not to localization of tissue TPA. The positive rate of urinary TPA staining for bladder tumors was 75.6% (34/45), which was superior to that (62.2%) of conventional urinary cytology. There was a good correlation between the positive rates of urinary TPA staining and tumor growth (grade, stage).

On the other hand, the incidence of recurrence following radical TUR-bt was significantly correlated to tissue ABH antigens, but not to pathological grade. Though independent interpretation was performed, loss of ABH antigens by exfoliated cells was accordant with that on tissue sections.

Detection of TPA and ABH antigens by urothelial exfoliated cells is a non-invasive, reliable test that could be used for screening and surveillance of outpatients with bladder tumors. It seems, therefore, that this method enables us to monitor patients with bladder tumors by prospective screening.

要旨: 膀胱腫瘍の早期診断および生物学的悪性度把握の指標としての、TPA, ABH 抗原の意義を、尿剝離細胞を用いた免疫細胞学的手技にて検討した。染色は酵素抗体間接法を用い、組織 TPA, ABH 抗原, RIA 尿 TPA と比較した。対象は膀胱腫瘍45例, 非腫瘍10例にて行った。尿 TPA, ABH 抗原は尿剝離細胞の細胞質, 細胞膜に存在した。尿 TPA 染色陽性率は RIA 尿 TPA 値と相関し、組織の局在部位とは明らかな関係はなかった。尿 TPA 染色の感受性は膀胱腫瘍で75.6% (34/45) であり、尿細胞診 (62.2%) に比し高値であった。また尿 TPA 染色陽性率は、異型度、深達度が高くなるにつれて上昇した。一方、根治的経尿道的腫瘍切除後の腫瘍腔内再発は、異型度ではなく、組織 ABH 抗原と関連した。また尿 ABH 抗原の結果は、組織 ABH 抗原と一致した。

尿剝離細胞による TPA, ABH 抗原の検出は、非侵襲的で簡単な方法であり、膀胱腫瘍のスクリーニング, TUR 後の患者の監視に有用であると思われる。

緒 言

膀胱腫瘍はわが国では尿路性器腫瘍の中では最も多い腫瘍である。また、生活環境の変化や平均寿命の延長による高齢者の増加などにより、その発生頻度はさらにふえつつある。膀胱腫瘍は易再発生、多中心性の性格を有しており、早期に腫瘍を診断し、生物学的悪性度を把握することが重要であることは諸家の一致した見解である。われわれはすでに血清、尿 TPA の腫瘍マーカーとしての意義¹⁾、および ABH 抗原の有用性について報告した²⁾。今回尿剝離細胞を用い TPA、ABH 抗原を検出し、細胞診に対する付加的有用性について検討したので報告する。

対象および方法

I. TPA 抗原

1) 尿剝離細胞 TPA

症例は1985年から1986年にかけての膀胱腫瘍患者45例を対象とした。40例は随時尿を用い、良好に細胞を採取出来なかった3例は膀胱洗浄液、2例はパパニコロー染色標本を脱色して用いた³⁾。Sternheimer-Malbin 染色の検鏡とは別に、ポリエチレングリコール1540 (和光) を4%含む90%アルコールにて尿3:固定液1の割合で固定した。詳細は既報に述べたが³⁾、沈渣をオートスメア (サクラ精機、東京) を用い、スライドガラスに付着させた (Fig. 1)。

染色は Avidin-biotin-peroxidase-complex (ABC 法) を用いた酵素抗体間接法にて行った (Fig. 2)。1次抗体は Swdedn の Sangtec 社により提供された抗 TPA 家兎血清を用い、核染色はヘマトキシリン液を用いた。なお半乾燥標本であるため内因性ブロック施行後、低濃度 (0.01%) の蛋白処理酵素プロナーゼ (Sigma, USA) にて短時間 (40秒) 処理した。判定は全視野において1コ以上の陽性細胞が存在する場合を陽性とした。

2) 組織 TPA および尿 TPA 値

対象症例は尿と同様である。すべて PLP 固定後の凍結切片を用いたが、その詳細は既報に述べた⁴⁾。同時に行った RIA 尿 TPA の測定は随時尿を用い、RIA 2抗体法にて測定した¹⁾。

II. ABH 抗原

1) 尿剝離細胞 ABH

上述の症例を対象とし、標本固定までの方法は尿 TPA と同様である。染色方法の詳細はすでに述べたが³⁾、血液型 A, B, AB は酵素抗体間接法の PAP 法、O 型はレクチン物質を使用した HRP 標準抗体による

Fig. 1 Fixation of urothelial exfoliated cells

Fig. 2 Indirect immunoperoxidase method for TPA

- ① PBSで洗浄後内因性ペルオキシダーゼ除去、PBS洗浄 (0.3% H₂O₂含むメタノール)
- ② 0.01%蛋白処理酵素 (プロナーゼ) にて処理 (40秒) 後PBS洗浄
- ③ 正常山羊血清にて非特異反応阻止
- ④ 1次抗体 (抗 TPA 家兎血清) と反応
- ⑤ PBSで洗浄
- ⑥ 2次抗体 (ビオチン化抗家兎 IgG) と反応
- ⑦ PBSで洗浄
- ⑧ アビジン、ビオチン化ワサビペルオキシダーゼ複合体と反応
- ⑨ PBSで洗浄
- ⑩ DAB 基質液で呈色し核染後脱水封入

中根法を用いた。なお尿 ABH のみ呈色反応はピロニンを用いた。

2) 組織 ABH 抗原

上記の症例と共に、1981年から1983年の根治的経尿道的腫瘍切除46例をも対象とした。組織はすべてホルマリン固定、パラフィン切片を用いた。染色法は尿と同様であり、陽性率の判定は30%を境とした⁵⁾。

結 果

1. TPA 抗原

正常人65名、膀胱腫瘍26名、膀胱炎などの良性腫瘍22名、尿管腫瘍などの他尿路性器腫瘍20名を対象とし、随時尿にて尿 TPA 値を測定した。正常、良性腫瘍群に比し膀胱腫瘍患者の尿 TPA は有意に高値を呈した (Fig. 3)。

次いで免疫細胞学的に尿剝離細胞 TPA の染色を行った (Fig. 4)。左は均一に膀胱腫瘍組織に存在する TPA 抗原を示し、右は class IV の剝離細胞に存在する TPA 抗原を示す。Fig. 5 は class IIIa の移行上皮細胞における抗原の存在を示す。塩類などの背景の非

Fig. 3 Urine TPA in each group

特異反応や、白血球細胞の影響は認めなかった。なおその局在部位は核ではなく、細胞質を中心として均一に存在し、一部細胞膜にも観察された。RIA 尿 TPA 値と尿 TPA 染色とを比較したところ、陽性細胞の TPA 値は $3,208.8 \pm 417.2$ S.E. (U/L)、陰性細胞は 823.6 ± 35.7 S.E. (U/L) と有意に前者が高値を呈した (Fig. 6)。

膀胱腫瘍、良性疾患を対象として、同時採取の尿細

胞診と比較した (Table 1)。なお尿の細胞診は class IIIb 以上を陽性とした。尿 TPA 染色は膀胱腫瘍45例中35例 (75.6%) において陽性であり、尿の細胞診 (62.2%) に比べ特異性ととも高値を呈した。異型度、深達度との比較では尿 TPA 染色は低異型度群 ($\leq G_2$) 66.7%, 高異型度群 ($> G_2$) 88.9%, 低深達度群 ($< pT_2$) 67.6%, 高深達度群 ($\geq pT_2$) 100% であり、ともに両者と相関しある程度腫瘍の性格を把握できると思われた (Table 2)。また尿 TPA 染色の感受性は低異型度群 (67%) においても尿細胞診 (51%) より優れると同時に、膀胱腫瘍に対する TUR の経過観察にも応用し得ると考えられた。Fig. 7 は48歳男性表在性腫瘍の TUR 前後の尿剝離細胞を示す。尿細胞診はともに class IIIa であるが、尿 TPA 染色は術前陽性、術後陰性であった。続いてさらに詳細に細胞診と比較した (Fig. 8)。class IV, class V の細胞尿 TPA 染色陽性率は高いが、各々1例づつ陰性例も認めた。一方 class III の判断は細胞士にとっても比較的困難ではあるが、class IIIa の8例中6例において尿 TPA 染色は陽性であり、class III の診断にも有用と思われた。

腫瘍組織における陽性率は71% (32/45) であった。その局在は既報のごとく3つに分けられた⁴⁾。すなわち上皮表面にのみ存在する (Type I)、上皮表面と腫瘍組織内に存在する (Type II)、上皮表面には含まれず腫瘍細胞と一致して認められる (Type III) の3型である。組織の局在型と尿 TPA 染色の陽性率を比較したところ、組織の局在型による明確な差は認められなかった (Table 3)。

II. ABH 抗原

Fig. 4 TPA staining was found in tumor tissue section and exfoliated cell

Fig. 5 Exfoliated tumor cells as positive

Fig. 6 Relationship between RIA TPA levels and urinary TPA staining

Table 1 Urinary TPA staining as screening

		cytology	urinary TPA staining
BT	low grade (G_1, G_2)	14/27	18/27
	high grade (G_3)	14/18	16/18
		28/45	34/45
post TUR (radical)		0/5	0/5
benign disease		1/5	0/5

Table 2 Correlation between urinary TPA staining and stage

		cytology	Urinary TPA staining
BT	low stage ($\leq pT_1$)	18/34	23/34
	high stage ($\geq pT_2$)	10/11	11/11

Table 3 Correlation between tissue localization and urinary TPA staining

Tissue type	urinary TPA staining	
	positive	negative
Type I	9	3
II	8	2
III	9	1

Fig. 9 左図は grade II, B 型の膀胱組織であるが、腫瘍に均一にかつ血管内皮細胞にも陽性であることを示す。右図は class IV の尿剥離細胞内の同種抗原陽性像をあらわす。その局在は尿 TPA と同様、核ではなく細胞質を中心とし一部細胞膜にも観察された。なお TPA に比べやや不均一に存在した。Fig. 10 は A 型 ABH 抗原陰性の grade II の腫瘍である。組織は内皮細胞、赤血球のみ陽性で、腫瘍は陰性である。尿剥離

Fig. 7 Urinary TPA staining during pre (left) and post (right) TUR

Fig. 8 Comparison cytology and urinary TPA staining

細胞の細胞質はすべて陰性であり、炎症性細胞も同様に陰性である。

1981年から1983年までに施行した根治的経尿道的腫瘍切除群46例を対象に、腫瘍の再発と同種抗原、異型度との関係を腫瘍組織にて検討した (Table 4)。表在性腫瘍の再発と異型度とは明確な関係はみられなかった。一方、同種抗原陽性例の再発率は43%、陰性例81%と有意に同種抗原陰性例の方が再発率が高かった。ついで1985年から1986年にかけての膀胱腫瘍45例、非腫瘍10例を対象に、尿と切除組織の同種抗原を比較した (Table 5)。正常、良性疾患においてはともに陽性を呈した。腫瘍群では2例は判断不能、2例で組織陽性、尿陰性であった。有茎性の単発性腫瘍においてやや有効な細胞を得るのに苦慮し、また細胞質の少ない class V の細胞において判定が困難であったものの、組織、尿の ABH 抗原は他例において相一致する結果を得

Fig. 9 Bladder tumor and intimal cells as positive (left) and exfoliated urinary cells as positive (right)

Fig. 10 Negative staining was found in tumor tissue section and exfoliated cells as well as inflammatory cells

Table 4 Relationship between recurrence and ABH antigen, grade

	ABH(+)	ABH(-)	Total	
low grade (G ₁)	6/10 (60%)	3/4 (75%)	9/14 (64%)	n.s
high grade (G ₂ , G ₃)	7/20 (35%)	10/12 (83%)	17/32 (53%)	
Total	13/30(43%)	13/16(81%)		

P<0.05 n.s = not significant

Table 5 Analysis of tissue, urinary ABH antigen

	Tissue ABH		Urinary ABH	
	positive	negative	positive	negative
Normal	6	0	6	0
Benign disease	4	0	4	0
Bladder tumor	29	16	26*	17*

(*, 2 cases : equivocal)

た。

考 察

近年細胞工学の発達により種々のモノクローナル抗体の開発が進み、ミサイル療法などへの応用が試みられているが、いまだ臨床応用には至っていない。化学療法や進歩の著しい免疫療法の有用性は向上しているものの、腫瘍の治療がいまだ早期診断および生物学的活性の早期の把握に基づいていることは膀胱腫瘍においても例外ではない。

膀胱腫瘍は無症状に進展することが多く、出来るだけ早期に診断し治療を行うことが望まれる。TUR後の腔内再発は約20%と云われ⁶⁾、また浸潤性腫瘍の5年生存率は約40%であり⁷⁾、膀胱腫瘍の早期の診断および生物学的活性の把握の必要性が痛感される。

早期診断の一助としての尿細胞診の有用性はPapanicolaouら(1945)⁸⁾により発表され、現在最も診断価値の高い検査法であることは諸家の一致する見解である。しかしEl-Bolkainyら(1980)⁹⁾の述べるようにその診断率は必ずしも高くなく、検査士による形態学的判定の差異、結石などによる細胞変性に基づく偽陽性の問題など、解決すべき問題点も多いと思われる。以上の理由から膀胱腫瘍の尿剥離細胞に対し、flow cytometry¹⁰⁾、染色体分析¹¹⁾、電子顕微鏡¹²⁾などの応用が試みられているが、必ずしも臨床応用には至っていない。

ところで、細胞診に対して腫瘍関連抗原を蛍光抗体

法、酵素抗体法にて検出し、臨床診断に応用しようとする試みはすでに他科領域にて行われている¹³⁾。Menardら(1985)¹⁴⁾は胸水、腹水に対してモノクローナル抗体を用い免疫細胞学的検索を行い、偽陰性率を減少させ得たとし、子宮頸部細胞診における有用性の報告なども散見される¹⁵⁾。一方膀胱腫瘍においては、WahrenらのCEAに関する報告と¹⁶⁾、Chopinら(1985)¹⁷⁾のマウスにて作製したモノクローナル抗体を利用した報告などが散見されるにすぎない。今回使用したTPAはBjörklundら(1957)¹⁸⁾により発見された腫瘍関連抗原の一つであり、肺癌、乳癌などにて有用といわれている¹⁹⁾。膀胱腫瘍においては腫瘍のスクリーニング、臨床経過観察に有用であるとすでに報告した¹⁾。TPAは腫瘍にて産生されRIA尿TPAは早期診断として有用であるが、尿路疾患に付随する血尿、膿尿にて約22%の偽陽性を呈することも事実である¹⁾。ゆえに客観性を有しない細胞診に対する補足的診断およびRIA法の偽陽性率の低下を目的として、尿剥離細胞を用いTPAを免疫細胞学的に検索した。RIA尿TPAは正常人で膀胱腫瘍患者より著しく低値を示し、非腫瘍群では尿TPA染色は陰性であった。これは正常組織に少量のTPAは存在するが⁴⁾、腫瘍に比べ尿中には剥離しにくいとめと考えられる。個々の細胞レベルでみると尿TPAは腫瘍の尿剥離細胞の細胞質を中心に、一部細胞膜にも観察された。これはWahrenら(1978)¹⁶⁾の蛍光抗体法によるCEAの局在とほぼ同様である。尿TPA染色の陽性率は76%であり、細胞診の陽性率より高値であった。今回対象症例が比較的低異型度(≤G₂)、低深達度(≤pT₁)が多いことを考慮すれば、諸家の細胞診に比しても感受性はすぐれており²⁰⁾、ほぼ満足すべき結果とは考えられる。しかしRIA尿TPAの感受性には劣っており、将来TPA抗原にたいするモノクローナル抗体の応用など、さらに検討すべきと考えられる。一方経尿道的腫瘍切除後の症例を含めた10例において、偽陽性例は認めなかった。しばしば尿細胞診では、結石などの刺激による細胞の変性などが判定に問題となるが、本法ではTPAの抗原性自身は変化しないため、客観的に判断が可能であった。

ついで、手技的な問題についていくつかふれてみたが、詳細は既報にて述べた³⁾。本法の利点は従来の細胞診と同じ固定で行え、パパニコロー標本を脱色した標本で施行しても判定可能であった。また細胞診は組織に比べその性格上、半乾燥標本であるためプロナー

ぜにて抗原性の劣化を防いだが、抗原性に変化をあたえぬ様に低濃度および短時間の処理とした。尿剝離細胞の場合、塩類、血尿、膿尿などによる非特異的反応は必須であり、抗原抗体反応の前段階における内因性ブロックの吟味は、組織よりはるかに重要である²¹⁾。また尿剝離細胞の場合、今回用いた酵素抗体法は蛍光抗体法に比し、核染色などのため細胞の形態保持にすぐれていた²²⁾。

ところで、尿細胞診は上皮内癌を含む高異型度腫瘍($>G_2$)において陽性率は高いが、低異型度腫瘍($\leq G_2$)において陽性率は低いといわれている²³⁾。この理由の一つとして低異型度腫瘍は細胞相互の結合力が強く、尿中に剝離しにくいためと思われる²⁴⁾。今回低異型度腫瘍における尿細胞診が51%であるのに対して、尿TPA染色は67%と高値を呈し、低異型度腫瘍の検出に有用と思われた。一方血清TPA値は組織の深層にTPAが存在する程高値を呈したが⁴⁾、尿TPA染色と組織の局在部位とは明らかな関係はみいだせなかった。また低異型度腫瘍でTPAが比較的組織の表面に存在する場合にも、尿TPA染色が陽性を示したことから、尿TPAは腫瘍から剝離し放出されと考えられる。またRIA尿TPAと尿TPA染色が相関を示したことは、尿TPA染色が抗原の絶対量に影響されるためと思われる。

ところで尿細胞診においてclass IIIをどう判断するかは難しい問題である。現在、単なる炎症性変化や乳頭腫、低異型度腫瘍から剝離した細胞をclass IIIと判定する傾向にある²⁰⁾。尿細胞診陰性と判断したclass IIIaの8例中6例において、尿TPA染色が陽性を示したことは、本法はclass IIIの判定にも今後有用ではないかと考えられる。

ABH抗原は癌化に伴う細胞膜糖鎖の変化を表すとされており²⁵⁾、膀胱腫瘍の再発、浸潤性などに対する生物学的悪性度の指標として、組織ABH抗原はすでに一定の評価を得、臨床応用が施行されている²⁾²⁶⁾。しかし組織ABH抗原の検出手術標本により行った場合、抗原の有無の結果は治療法などの選択に対して、やや遑及的な方法であることは否定できない。生検組織を用いるのは一つの方法であるが、早期診断として外来患者の経過観察に適用する際、侵襲的であり出血なども問題となり必ずしも安易な検査法ではない。本法は再現性にすぐれており、尿TPA染色と併用しスクリーニングなどに有用と思われる。また従来乳頭状腫瘍の生検で組織学的悪性度と予後が一致しない場合

があるが²⁷⁾、生検部位以外の異なる生物学的悪性度病変をみのがす可能性があげられる。Steinら(1981)²⁸⁾は主病巣と生検粘膜における血液型抗原の一致率は89%と述べ、井川ら(1986)²⁹⁾は63%とも述べている。また摘除標本のABH抗原陽性陰性の境界は30%といわれているが⁵⁾、生検組織で判断するには限界がある。細胞診を利用した場合、生検のように局所(点)としてではなく、粘膜全体(面)としてとらえる利点を有する。

尿剝離細胞におけるABH抗原の検出はSadoughiら(1980)³⁰⁾の報告があるが、SRCA法を用いているため染色部位が上皮細胞から剝離した部分にも存在し、必ずしも臨床応用には至っていない。なお尿ABH抗原の場合、陽性陰性の判定にDABを用いた場合、やや不鮮明でありピロニンを用いた。これがTPAとABHの抗原性の差に基づくものかは更なる検討を要する。

以上のごとく、尿剝離細胞を用いたTPA、ABH抗原の検討は、細胞の判定にやや熟練を要するものの、特殊な装置を要せず簡便で非侵襲的な方法であり、今後広く臨床応用されると考えられる。

結 語

膀胱腫瘍の早期診断、生物学的悪性度指標としてのTPA、ABH抗原の検索を、尿剝離細胞を用いた免疫細胞学的手技にて行った。標本採取は随時尿、膀胱洗浄液、ババニコロー標本を用い、アルコール固定にて行い、同時に組織TPA、ABH抗原と比較検討した。尿剝離細胞を用いたTPA抗原の検索は尿細胞診に比較し、感受性、特異性にすぐれ、尿ABH抗原は組織と相一致する結果を得た。本法は簡便で、非侵襲的な方法であり、膀胱腫瘍のスクリーニングや早期の治療法の選択、経過観察への応用など今後広く臨床応用可能と考えられる。

なお本論文の要旨は第36回泌尿器科学中部連合会総会にて発表した。本研究の一部は文部省科学研究費、一般研究B-60480364の補助による。

文 献

- 1) 辻橋宏典, 松浦 健, 秋山隆弘, 栗田 孝, 井口正典, 宮本 力: I. 尿路悪性腫瘍における血清, 尿TPA. 日泌尿会誌, 77, 243-250, 1986.
- 2) 井口正典, 松浦 健, 秋山隆弘, 八竹 直, 栗田 孝: 膀胱腫瘍におけるABO(H) antigen. 日泌尿会誌, 73, 1444-1451, 1982.
- 3) 辻橋宏典, 松浦 健, 秋山隆弘, 栗田 孝, 井口正典: II. 膀胱腫瘍における尿中剝離細胞ABH抗原の検討. 日泌尿会誌, 78, 661-666, 1987.

- 4) 辻橋宏典, 上島成也, 朴 英哲, 秋山隆弘, 栗田孝, 井口正典: III, 膀胱腫瘍における TPA の免疫組織学的検討. 日泌尿会誌, (投稿中).
- 5) Flanigan, R.C., King, C.T. and Primus, F.J.: Immunohistochemical demonstration of blood group antigens in neoplastic and normal human urothelium. *J. Urol.*, 130, 499—503, 1983.
- 6) Srinivas, V., Orihuela, E., Lloyd, K.O., Old, L.J. and Whitmore, W.F.: Estimation of ABO(H) isoantigen expression in bladder tumors. *J. Urol.*, 133, 25—28, 1985.
- 7) Herr, H.W.: Preoperative irradiation with and without chemotherapy as adjuvant to radical cystectomy. *Urology*, XXV, 127—134, 1985.
- 8) Papanicolaou, G.N. Andmarshall, U.F.: Urine sediment smears as a diagnostic procedure in cancer of the urinary tract. *Science*, 101, 519, 1945.
- 9) El-Bolkainy, M.N.: Cytology of bladder carcinoma. *J. Urol.*, 120, 20—22, 1980.
- 10) 松浦 健, 辻橋宏典, 神田英憲, 秋山隆弘, 栗田孝: 尿路悪性腫瘍における Flow cytometry の応用. 第3報 DNA ヒストグラム定量化による膀胱腫瘍剝離細胞診の試みおよび治療効果判定, 経過観察への応用. 日泌尿会誌, 76, 89—95, 1985.
- 11) 三橋裕行: 尿中剝離細胞の細胞遺伝学的検索. 染色体観察の意義について. 日泌尿会誌, 74, 576—595, 1983.
- 12) 鈴木 徹, 高井計弘, 新島端夫: 尿路疾患者に於ける走査電顕での尿中剝離細胞診. 日泌尿会誌, 77, 233—242, 1986.
- 13) Chess, Q. and Hajdu, S.: The role of immunoperoxidase staining in diagnostic cytology. *Acta Cytol.*, 30, 1—7, 1986.
- 14) Ménard, S., Rilke, F. and Colnaghi, M.I.: Sensitivity enhancement of the cytologic detection of cancer cells in effusions by monoclonal antibodies. *Am. J. Clin. Pathol.*, 83, 571—576, 1985.
- 15) Harlozinska, A., Kula, J., Richter, R. and Slesak, B.: Cervical carcinoma antigen. carcinoembryonic antigen and nonspecific cross-reacting antigen in appraisal of uterine cervix smears. *Am. J. Clin. Pathol.*, 83, 301—307, 1985.
- 16) Wahren, B.: Cellular content of carcinoembryonic antigen in urothelial carcinoma. *Cancer*, 42, 1533—1539, 1978.
- 17) Chopin, D.K., Rosenthal, D.L. and Fahey, J.L.: Monoclonal antibodies against transitional cell carcinoma for detection of malignant urothelial cells in bladder washing. *J. Urol.*, 134, 260—265, 1985.
- 18) Björklund, B. and Björklund, V.: Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cytoimmunological technique. Presence of an insoluble, heat-labile tumor antigen. *Int. Arch. Allergy*, 10, 153—184, 1957.
- 19) 松原義人, 二宮和子, 池田貞雄, 桑原正喜: 肺癌における腫瘍マーカーの臨床的評価. TPA を中心として. 日癌治, 21, 744—751, 1986.
- 20) 淡河洋一, 滝川 浩, 香川 征, 黒川一男: 膀胱腫瘍における尿細胞診の臨床的検討. 西日泌尿, 48, 1797—1803, 1986.
- 21) Keshgegian, A.A. and Kline, T.S.: Immunoperoxidase demonstration of prostatic acid phosphatase in aspiration biopsy cytology. *Am. J. Clin. Pathol.*, 82, 586—589, 1984.
- 22) 渡辺慶一, 中根一穂: 酵素抗体法. 第2版. p. 217—229, 学際企画, 東京, 1985.
- 23) Rosa, B., Cazin, M. and Dalian, G.: Urinary cytology for carcinoma in situ of the urinary bladder. *Acta Cytol.*, 29, 117—124, 1985.
- 24) Shenoy, U.A., Colby, T.V. and Schumann, G.B.: Reliability of urinary cytodagnosis in urothelial neoplasms. *Cancer*, 56, 2041—2045, 1985.
- 25) Kovarik, S., Davidsohn, I. and Stejskal, R.: ABO antigens in cancer. Detection with the mixed cell agglutination reaction. *Arch. Pathol.*, 86, 12—21, 1968.
- 26) 公文裕巳, 朝日俊彦, 森岡政明, 松村陽右, 大森弘之: 膀胱腫瘍における malignant potential の指標としての ABH isoantigen. 日泌尿会誌, 71, 767—774, 1980.
- 27) 山田 喬: 泌尿器科領域の細胞診(4). 膀胱腫瘍細胞の形態とその病理組織学的背景. 臨泌, 33, 969—976, 1979.
- 28) Stein, B.S., Reyes, J.M. and Kendall, A.R.: Specific red cell adherence. Immunologic evaluation of random mucosal biopsies. In carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 126, 37—40, 1981.
- 29) 井川幹夫: 膀胱粘膜多部位生検組織における ABH 抗原の検討. 泌尿紀要, 32, 1649—1662, 1986.
- 30) Sadoughi, N., Rubenstone, A., Mlsan, J. and Davidsohn, I.: The cell surface antigens of bladder washing specimens in patients with bladder tumors, a new approach. *J. Urol.*, 123, 19—21, 1980.

(1987年4月5日受理)