

膀胱腫瘍における Thomsen-Friedenreich antigen に関する研究

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）

小 田 芳 経

THE STUDY ON THOMSEN-FRIEDENREICH ANTIGEN IN BLADDER TUMOR

Yoshinori Oda

From the Department of Urology, School of Medicine, Kobe University

(Director: Prof. J. Ishigami)

The presence of Thomsen-Friedenreich antigen (T-Ag) against bladder mucosa in bladder tumor cases and control individuals was examined by the immunoperoxidase and the immunofluorescein method using labelled lectin.

T-Ag was negative in all 15 cases of non-malignant bladder epithelium, and positive on the cell surface after sialidase treatment (cryptic T-Ag positive). In the 37 out of 72 bladder tumor cases, however, cryptic T-Ag was positive, and in the remaining 35 cases T-Ag was positive or negative after sialidase treatment. Furthermore 55 cases which had received the first treatment by TUR-Bt were investigated. Thirteen of the 31 cryptic T-Ag positive cases recurred during observation after operation whereas 22 of the 24 T-Ag positive or cryptic T-Ag negative cases recurred, the rate being significantly higher for the latter. In addition, the disease-free interval was absolutely longer in the cryptic T-Ag positive cases than in T-Ag positive or cryptic T-Ag negative cases.

The exploration of T-Ag in bladder cancer may be valuable for predicting the clinical course after TUR-Bt.

Key words: Bladder tumor, T-Ag, PNA-FITC, PNA-HRP

緒 言

近年における腫瘍 marker 研究の発展は目覚ましく、とくに radioimmunoassay (RIA) 法などの測定技術の改良にとともに、血中微量物質の定量が可能となり、数多くの研究がなされ、かつそれらの特異性の向上などにより、腫瘍 marker のもつ意義は重要となってきた。泌尿生殖器腫瘍においてもさまざまな marker が検討され、なかでも睾丸腫瘍における human chorionic gonadotropin (hCG) や α -fetoprotein (AFP)¹⁻⁴⁾ はその血清中濃度変化、あるいは組織局在の証明により患者の clinical course

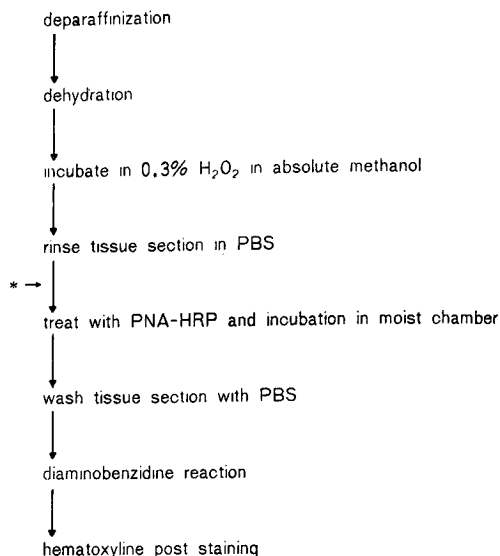
を予測する貴重な情報を提供することから、臨床面でひろく応用されるようになっている。しかし膀胱腫瘍においては、診断にきわめて有用な、あるいは clinical course を予測しうる血清学的腫瘍 marker は現在のところなく、非特異的ながら血中 carcino-embryonic antigen (CEA)⁵⁾ がわずかに評価されているにすぎない。そのため膀胱腫瘍では、腫瘍 marker としての chromosome の解析あるいは ABO isoantigen の検索など⁶⁻¹⁵⁾ 腫瘍細胞と密に関連する細胞 marker が注目されている。これらのうち ABO isoantigen を marker とする考えは、血液型を決定する抗原物質は赤血球の表面のみならず、各組

織細胞にも存在することを利用し、腫瘍細胞表面の血液型決定抗原物質の抗原転換を marker とするものである。血液型を決定する抗原物質は細胞の悪性変化にともない、癌性糖鎖不全あるいは糖鎖変異のため、その抗原性が減弱あるいは消失するとされている。これらの考えから、腫瘍細胞からの ABO 型抗原物質の消失が膀胱腫瘍の malignant potential の指標として臨床に應用され、表在性膀胱腫瘍における clinical course の予測に有用とされている。今回著者はこの ABO isoantigen とは別に膀胱腫瘍の細胞 marker のひとつとして、ほかの血液型抗原である MN 型抗原の precursor, すなわち Thomsen-Friedenreich antigen (以下 T-Ag と略す) の腫瘍 marker としての有用性を標識レクチンを用いた蛍光法および酵素法により検討し、若干の知見を得たので報告する。

対象と方法

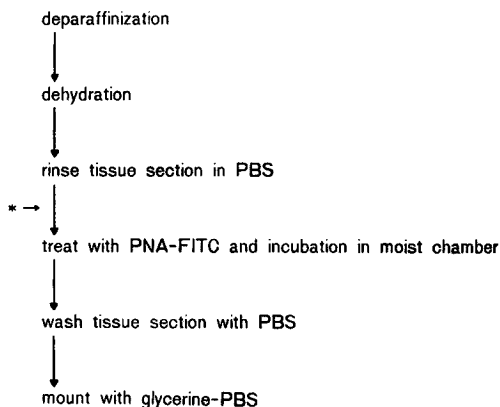
対象は1977年より1981年の間に、神戸大学医学部付属病院泌尿器科において、膀胱腫瘍と診断され、初回治療が膀胱保的手術によりなされた症例のうち、病理組織学的に移行上皮癌で、初回治療後少なくとも2年以上経過し、当科にて経過観察がなされた72例（性別：男62例，女10例，年齢30歳～87歳，平均62.8歳）である。なおこれら対象のなかで初回治療が TUR-Bt によるものは55例（性別：男49例，女6例，年齢30歳～86歳，平均61.7歳）で、ほかの17例は膀胱部分切除術による。術後の再発に関しては、初回治療が TUR-Bt にて施行されたもののみを対象として検討された。対象の病理組織学的異型度を日本泌尿器科学会膀胱癌取り扱い規約に従って分類すると、grade I 26例，grade II 25例および grade III 21例（TUR-Bt 症例は grade I 22例，grade II 23例，grade III 10例）であった。さらにこれら TUR-Bt 施行症例のうち、TUR-Bt と同時に膀胱粘膜多部位生検が施行された33例の111カ所の生検粘膜についても T-抗原のおこなった。対照としては15例の非悪性腫瘍患者の検索膀胱粘膜を用いた（以下対照群と略す）。以上の組織はいずれも、ホルマリン固定され、パラフィン包埋にて保存されていたものである。

方法はレクチン的一种である peanut agglutinin (以下 PNA と略す) を horseradish peroxidase (以下 HRP と略す)，あるいは fluorescein isothiocyanate (以下 FITC と略す) にて標識した PNA-HRP および PNA-FITC (EY Laboratory Inc 社製 U. S. A.) を用いた 酵素法 および 蛍光法 であ



* sialidase treatment

Fig. 1. PNA-HRP method



* sialidase treatment

Fig. 2. PNA-FITC method

り、従来法に若干の改良を加え施行された¹⁶⁻¹⁸⁾ (Fig. 1, 2)。まず、厚さ 5 μ のパラフィン切片を作製し、それをキシロール、エチルアルコールを用いた通常法にて脱パラフィン化する。酵素法においては、phosphate buffer saline (以下 PBS と略す) にて洗浄後、0.3%過酸化水素水をふくむメタノールにて、内因性ペルオキシダーゼをブロックし、PBS 洗浄後 PNA-HRP (0.1 mg/ml) を 20 μ l-100 μ l を組織片の大きさに応じて滴下し、湿潤箱中にて incubation する。ついで、PBS および tris buffer にて洗浄し、di-

amino benzidine および過酸化水素を含む tris buffer 中にて発色させ、さらにヘマトキシリンにて後染色を施行後、エチルアルコール、キシロールを用いた通常法にて透徹、封入し観察した。T-Ag は正常組織中では sialic acid により mask された crypt-antigen の形で存在し、その antigen は sialidase 処理をおこなうことにより出現する。すなわち、crypt-antigen の検出時には、PNA-HRP で incubation-する前に 0.02 unit sialidase (neuraminidase, 半井化学社製) を含む sodium acetic acid にて脱シアル化し、その後は同様手順により染色を施行した。

蛍光法は既報¹⁹⁻²⁰⁾のごとく、通常法による脱パラフィン後、PBS 洗浄し PNA-FITC を滴下、湿潤箱中にて incubation、さらに PBS 洗浄後、グリセリン-PBS にて封入し蛍光顕微鏡下に観察した。cryptantigen の検出時には酵素法と同様に、PNA-FITC にて incubation する前に sialidase による処理をした。

なお、両方法の反応特異性を確認するために、阻止試験 (blocking test; 標識 PNA による処理前に無標識 PNA による処理をおこなう) および吸収試験 (absorption test; lactose 添加による) を施行した。

結 果

本反応の特異性に関しては、対照実験での阻止試験および吸収試験によって、その特異性が確認された。

T-Ag の判定は Coon ら²¹⁻²³⁾にならい、切片上の全体の10%以上の反応のみられたものを T-Ag 陽性、それ未満を陰性とし、cryptantigen の判定においても、10~20%以上を陽性、それ未満を陰性とした。

今回実施した酵素法と蛍光法の2方法を比べると、蛍光法においては蛍光の消退現象があり、酵素法では、edge effect による非特異染色が若干みられ、また、観察時のコントラストは蛍光法ではきわめて明瞭で光学顕微鏡レベルの微小抗原の観察に好適であるのにくらべ、酵素法ではコントラストが不明瞭なことがあるなどそれぞれに短所がみられた。しかし、その陽性率はほぼ同様の結果であった。今回の成績は原則として酵素法により判定され、その判定が陽性、陰性の境界域の場合には両者の成績が勘案され決定された。

対照群の sialidase 無処理の T-Ag の検索において、全例 PNA-HRP、あるいは PNA-FITC による反応はみられず T-Ag 陰性であった。sialidase 処理にて、その潜在性抗原である cryptic T-Ag が全例出現し、その反応は Fig. 3 にしめすように、ほぼ全層

にわたって100%にベンチジンによる発色反応あるいは FITC による蛍光反応がみられ cryptic T-Ag 陽性であり、T 抗原はシアル酸にてマスクされた通常の潜在性抗原の形で存在していた。

腫瘍症例に関しては、全72例中37例 (51.4%) の症例において、対照群同様 cryptic T-Ag 陽性と判断されたが、ほかの35例では sialidase 未処理ですでに T-Ag が unmask され出現していた T-Ag 陽性か、または sialidase 処理にても T-Ag が出現せず、T 構造自体が消失あるいは変性したものと考えられる cryptic T-Ag 陰性の2つのタイプが観察された (Fig. 4, 5)。全症例を、T-Ag の反応性を基準とした biological malignant potential と、従来よりの grade 分類における histological malignant potential 別に分類、対比すると (Table 1) grade I 26例中10例 (38.5%), grade II 25例中11例 (44%), grade III 21例中14例 (66.7%) が通常の抗原性を消失したと考えられる T-Ag 陽性、または cryptic T-Ag 陰性であり、T-Ag を marker とした癌性糖鎖変化と組織学的悪性度との間に相関傾向がみられた。初回治療が TUR-Bt によりなされた55例では、grade I 22例中9例 (40.9%), grade II 23例中9例 (39.1%), grade III 10例中6例 (60%) で通常の抗原性が消失していた。初回治療が TUR-Bt になされた表在性膀胱腫瘍 (移行上皮癌) 55例における再発と biological malignant potential および histological malignant potential の関係や術後の状態が Table 2 に示されている。TUR-Bt 後の再発は術後短期間に同一部位に再発がみられたものは取り残しの可能性があるため今回の対象から除外した。術後に再発がみられたのは55例中35例であり (Table 2, 3)、これを T-Ag あるいは cryptic T-Ag の状態と比較すると、対照群と同様 cryptic T-Ag 陽性と判断された31例においては、再発13例、非再発18例で cryptic T-Ag 陽性症例群の再発率は41.9%であった。いっぽう、これに対し、通常の抗原性が消失、あるいは変性していると考えられる T-Ag 陽性、または cryptic T-Ag 陰性では24例中再発は22例、非再発2例であり、再発率92.7%と cryptic T-Ag 陽性群に比べて、T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性群では高率の再発が観察された、これらの差は推計学的処理にて有意の差がみられた (Table 3)。また、再発35例を biological malignant potential 別にみると、cryptic T-Ag 陽性例が13例 (37.1%), T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性例が22例 (62.9%) であった。再発症例35例における TUR-Bt 後から初回再

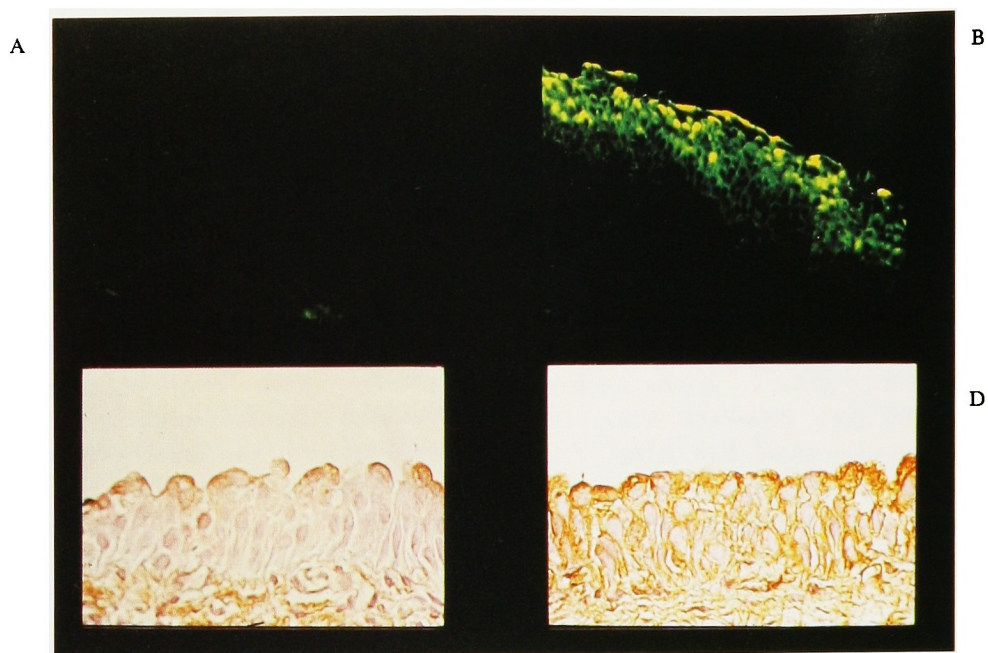


Fig. 3. Cryptic T-Ag positive (control case)
 A, B: PNA-FITC method C, D: PNA-HRP method
 A, no treatment with sialidase (180 seconds exposure)
 B, treatment with sialidase (90 seconds exposure)
 C, no treatment with sialidase (hematoxyline poststaining)
 D, treatment with sialidase (hematoxyline poststaining)

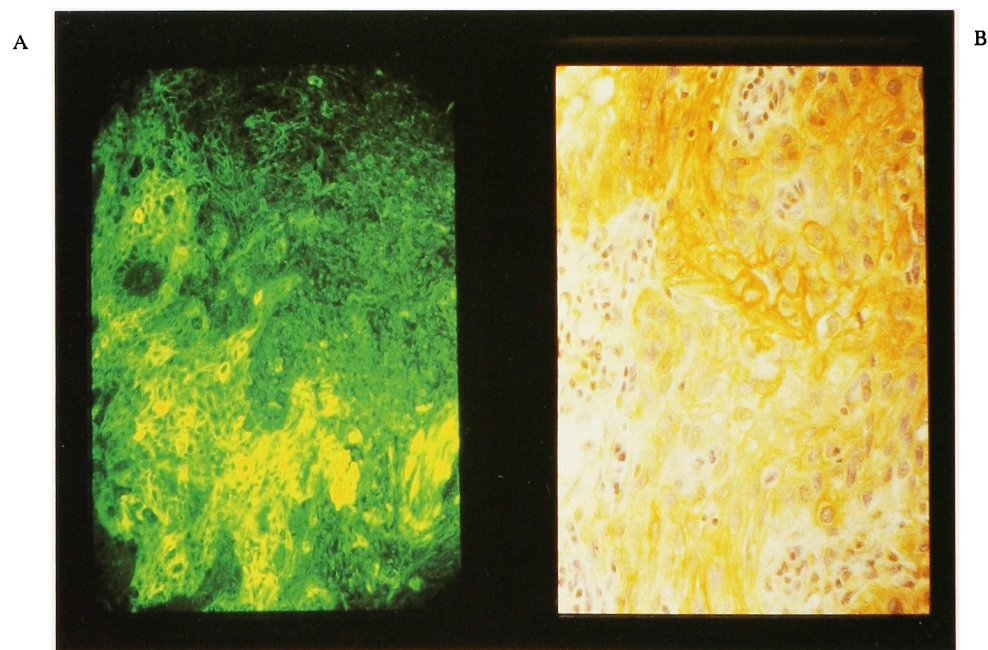


Fig. 4. T-Ag positive (cancer case)
 A, PNA-FITC method (120 seconds exposure) B, PNA-HRP method (homatoxyline poststaining)

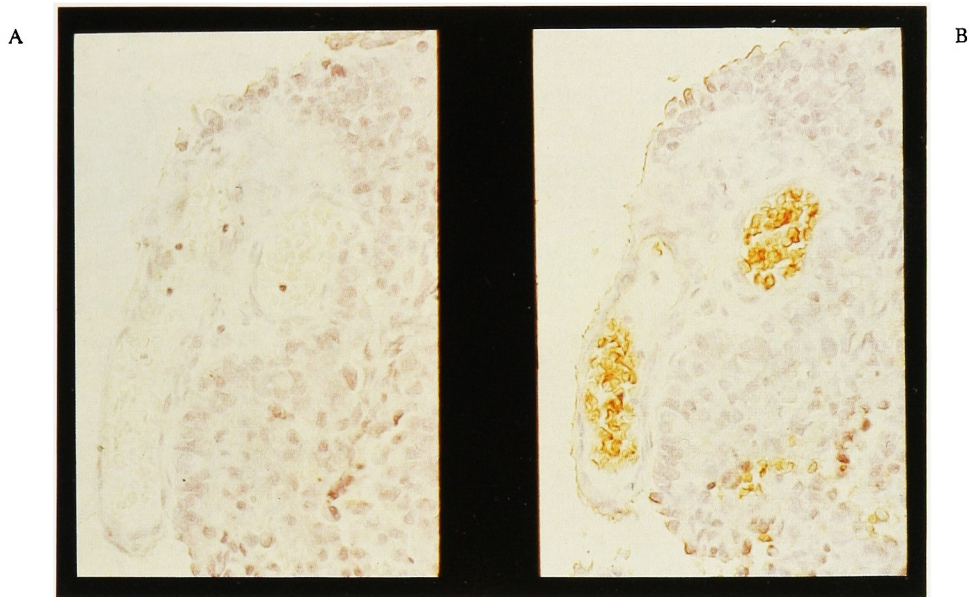


Fig. 5. Cryptic T-Ag negative (cancer case)

A, B: PNA-HRP method

A, no treatment with sialidase (hematoxyline poststaining)

B, treatment with sialidase (hematoxyline poststaining)

T-Ag were seen only in red blood cells after sialidase treatment

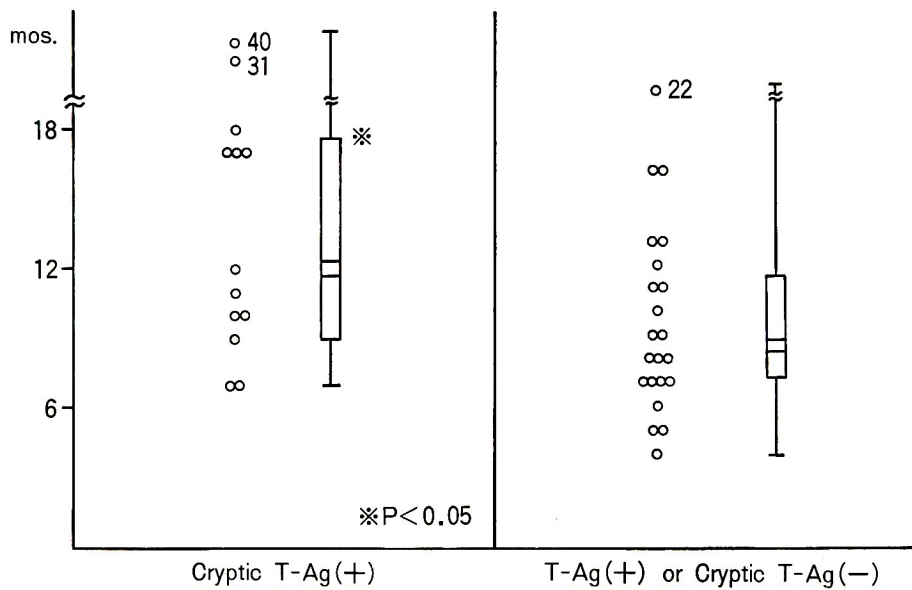


Fig. 6. Disease-free interval after TUR-Bt

Table 1. Relationship between T antigen status and histological grade

	control	grade I	grade II	grade III
cryptic T Ag+	15(100)	16(62)	14(56)	7(33)
T Ag— or cryptic T Ag—	0(0)	10(38)	11(44)	14(67)
total	15(100)	26(100)	25(100)	21(100)

(%)

Table 2-1. Cases of cryptic T-Ag positive

case No.	sex	age (yrs)	grade	clinical course		grade
				recurrence	disease free interval (mos)	
1. K. T	M	54	I	—	65	
2. Y. K.	M	69	I	+	11	I
3. S. I.	M	69	I	—	24	
4. T. K.	M	63	I	+	10	I
5. T. H.	M	68	I	—	28	
6. K. I	M	61	I	+	18, 49	II, I
7. A. M.	M	52	I	—	51	
8. K. U.	M	65	I	+	12	I
9. T. M.	F	62	I	+	17	I
10. H. N.	M	52	I	—	32	
11. T. H.	M	38	I	—	29	
12. T. F	M	65	I	+	17, 19	II, III
13. T. K.	M	62	I	—	60	
14. S. K.	M	63	II	—	30	
15. S. I	M	57	II	+	10	II
16. S. S.	M	61	II	+	7	II
17. S. I	M	59	II	—	24	
18. R. M.	M	75	II	—	25	
19. T. O.	F	65	II	—	24	
20. K. S.	M	50	II	—	53	
21. R. Y	M	73	II	—	48	
22. S. M.	M	59	II	—	36	
23. S. H.	M	66	II	+	31	I
24. H. O.	M	56	II	—	37	
25. S. M.	M	81	II	—	48	
26. T. S.	M	50	II	+	7	II
27. H. Y	M	68	II	+	17, 25, 35	I, I, II
28. H. T	M	48	III	—	30	
29. G. Y	M	77	III	+	9	III
30. B. K.	M	66	III	+	40	II
31. S. Y.	M	72	III	—	53	

Table 2-2. Cases of cryptic T-Ag positive

case No.	sex	age (yrs)	grade	clinical course		grade
				recurrence	disease free interval (mos)	
32. K. O.	M	30	I	+	8, 16, 28	I, I, I
33. A. Y	F	78	I	+	5	I
34. T. Y	M	66	II	+	16	III
35. T. F	M	63	II	+	16, 23	I, I
36. M. H.	F	75	III	+	5	III

Table 2-3. Cases of cryptic T-Ag negative

case No.	sex	age (yrs)	clinical course			
			grade	recurrence	disease free interval (mos)	grade
37.M.N.	M	59	I	+	13	I
38.Y.S.	M	36	I	+*	11, 14	I, II
39.T.O.	M	34	I	+	7	I
40.K.K.	M	38	I	—	53	
41.I.N.	M	63	I	+*	9, 27, 31	I, III, III
42.S.N.	M	58	I	+	13	II
43.Y.K.	M	86	I	+	4	II
44.Y.O.	M	69	II	+	8, 14	II, I
45.S.T	M	69	II	+	9	III
46.T.Y	F	68	II	+	7	II
47.K.M.	M	38	II	+	6, 16	I, I
48.T.Y	M	68	II	+	8	III
49.H.M.	M	72	II	+*	7, 12	III, III
50.T.K.	M	58	II	—	26	
51.T.M.	M	69	III	+*	7, 12, 26, 37	II, III, III, III
52.J.S.	M	69	III	+	11	I
53.Y.T.	M	70	III	+	12, 17, 32	II, I, II
54.R.M.	M	54	III	+	22	II
55.Y.S.	F	76	III	+	6, 9	II, II

* cystectomy was performed

Table 3. T antigen status in relation to recurrent rate after TUR-Bt. %

	grade I	grade II	grade III	total
cryptic T Ag +	46 (6/13)	36 (5/14)	50 (2/4)	42 (13*/31)
T Ag + or cryptic T Ag +	89 (8/9)	89 (8/9)	100 (6/6)	92 (22**/24)

() : No. of recurrent case/No. of case

* : 1 case out of 13 cystectomy was performed

** : 5 cases out of 22 cystectomy were performed

Table 4. Results of multiple random mucosal biopsy

T Ag status of primary lesion	biopsy sample		total
	cryptic T Ag +	T Ag + or cryptic T Ag —	
cryptic T Ag + (16cases)	40	4	44
T Ag + or cryptic T Ag — (17cases)	26	41	67

発のみられた時点までの期間を中央値でみると (Fig. 6), cryptic T-Ag 陽性13例の再発までの期間は12カ月であるのに対し, T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性例 22 例は 8.5 カ月で, 大半は 1 年以内の再発と, TUR-Bt 後短 期間内に再発がみられ, 両群間に推計学的に有意の差が認められた. 上記 55 例のうち (Table 2-1~3), 症例 29, 36 および 51 は再発時に筋層への浸潤があり, 症例 38, 41 および 49 は再発時に grade up し, かつそのうち症例 38 と 49 は浸潤性増殖を, 症例 41 は 2 回目の再発時の膀胱粘膜多部位生検にて carcinoma in situ の像を認めたため膀胱全摘

された. ところで以上の 6 症例のうち 4 例は初回 TUR-Bt 時 cryptic T-Ag 陰性であり, 1 例が T-Ag 陽性と 6 例中 5 例が初回治療時より, すでに通常の抗原性の変性あるいは消失が観察され, 癌性糖鎖変化の状態が示唆された. この事実から T-Ag の抗原性と clinical course との密接な関係が推察された. 膀胱粘膜多部位生検が施行された 33 例 111 カ所についての結果は, Table 4 に示されている. 生検粘膜は主腫瘍部と同様の抗原性を示すものが多かった. すなわち, cryptic T-Ag 陽性例では, 44 サンプル中 40 サンプルが cryptic T-Ag 陽性で, 生検部にお

いても抗原性が保たれており、T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性では組織学的に悪性化をみとめない67サンプル中41サンプルがすでに正常の抗原性を消失していた。

考 察

生体組織の基本単位は細胞であり、その構成成分のひとつである細胞膜は、細胞の情報伝達および細胞の成長と分化の制御などきわめて重要な役割を演じ、また細胞膜上の糖蛋白や糖脂質の糖分子が細胞の悪性化に関与するとされている。このことから、細胞膜上のそれらの糖鎖の変化は細胞の悪性変化の marker として、その有用性が示唆される²⁴⁻²⁶⁾。

近年、細胞膜上の糖鎖の変化を知る手段のひとつとして、ABO isoantigen を利用した研究がなされてきた。これは血液型を決定するのは赤血球膜上の糖複合体の末端に位置する糖鎖構造によるため、この血液型抗原決定物質は赤血球表面のみならず、各組織細胞膜上にも存在するという現象を応用したものである。すなわち細胞はその悪性化にともない、組織学的変化とともに、あるいは組織学的変化に先立ち、その細胞膜に機能分化異常がおこり、細胞膜上に存在する ABO 血液型抗原決定物質が消失、または変性するとの考えである。悪性腫瘍細胞において、細胞膜上の ABO 血液型決定抗原物質が、消失あるいは減弱することが、Davidsohn²⁷⁾により報告された。彼は45例の胃癌患者を対象とし、specific red celloadherence test (SRCA 法)によりその抗原性を検索し、28例(62%)に ABO isoantigen の消失あるいは減弱がみられたと述べている。その後各臓器腫瘍の ABO isoantigen に関する研究がすすめられており、とくに膀胱腫瘍では、組織の悪性化と ABO isoantigen の消退との間にはきわめて密接な関係があるものとして注目されてきた。そのため膀胱腫瘍は従来の grade 分類による histological malignant potential 面のみならず、biological malignant potential 面からも捉えられるようになり、その clinical course、とくに low grade, low stage 症例の malignant potential をいち早く知る手段として、ABO isoantigen の抗原性は重要な意義を持つものとして認識されるようになっていく²⁸⁾。

表在性膀胱腫瘍は膀胱保存的手術である TUR-Bt により治療される場合が多いが、この術後の再発率は比較的高く、かつ一部症例では low grade 腫瘍であったものが再発時に high grade 腫瘍へ移行したり (Table 2: case No.12, 34, 41, etc.), さらには浸潤

性増殖をきたすなど、術後経過をみるうえで問題点が多々あり、一般には予後良好とされる表在性膀胱腫瘍も、必ずしも良好とはいえない⁶⁸⁾。このような背景から、従来の histological malignant potential による診断だけでなく、biological な面での malignant potential の判定も必要であり、膀胱腫瘍の clinical course を予測するには両方面からの malignant potential を決定することが重要である。

細胞膜上の ABO isoantigen の消失は、細胞膜での糖複合体合成時における glycosyltransferase 活性の変化による糖鎖の合成不全に基づくものと考えられる³²⁾。したがって癌化にともなう ABO isoantigen の消長は細胞膜表面抗原の糖鎖不全あるいは糖鎖変異の一連の変化の一断面を示しているものと推測される。

今回検索した T-Ag の構造も細胞膜上の糖複合体の末端に位置する Gal β 1-3GalNAc 糖鎖を含むため、癌化による一連の糖鎖変化によってその構造の変化が推察される。一般に細胞膜糖複合体の中の O-グリコシド結合糖鎖は、小胞体とゴルジ装置において、基本構造のアミノ酸配列のセリン、トレオニン残基に逐次、glycosyltransferase の働きにより、GalNAc, Gal, NeuAc が転送され形成される。T-Ag の癌性糖鎖変化は上記過程のなんらかの異常により発生するものと考えられる。

現在 T-Ag の検出には、ピーナッツより抽出された植物性レクチンの一種である PNA が広く用いられている。これは PNA の糖鎖特異性が Gal β 1-3GalNAc であり、cryptic T-Ag はセリンまたはトレオニンに Gal β 1-3GalNAc が結合し、さらに NeuAc がついたものと互いの糖鎖特異性が共通しているためである。そのため前述の合成過程における糖鎖不全の状態、すなわち脱シアル化されれば Gal β 1-3GalNAc が露出するため PNA の binding site が出現し T-Ag 陽性となる。さらにこの糖鎖不全が Gal よりさらに内面におよんだり、あるいは糖鎖変異が生じ、PNA 非結合性糖鎖の出現をみた場合などは、PNA の binding site が消失し、cryptic T-Ag 陰性となるものと推察される。

T-Ag に関する諸家の報告をみると、Springer³⁴⁾は、乳癌あるいは消化器癌で T-Ag の出現を見出し、その構造から T-Ag は MN 型抗原の precursor とした。Newman³⁵⁾は蛍光法にて、未分化型乳癌40例、分化型乳癌20例および10例の正常乳腺組織を用いて、乳癌における T-Ag の意義を検討し、正常組織では PNA の binding site は腺腔面の細胞膜にのみみられるのに対して、癌症例では

分化型癌に比べて、未分化型癌では PNA-FITC による反応がごくわずかしかなかったか、あるいは分化型ではみられなかった細胞質に蛍光反応があり、その分化の程度と PNA binding site に関連がみられたとしている。同様に、Howard ら³⁶⁾は酵素法にて、22例の良性乳腺組織と22例の乳癌組織を対象にし、PNA binding site に基づき T-Ag を検索し、良性乳腺組織では22例中19例は腺腔面の細胞膜のみに T-Ag が、1例は細胞質内に T-Ag がみられ、他の2例では T-Ag が証明されなかったのに対して、悪性乳腺組織では22例中17例がさまざまな程度に細胞質内に T-Ag がみられ、さらにこれらのうち分化型のものでは大半の良性組織と同様に腺腔面での T-Ag が観察され、病理組織学的に未分化型とされた5例は T-Ag が細胞質にも細胞膜にも欠如していたとして、T-Ag の存在部位と細胞の分化度との間に関係がみられたことにより、腫瘍症例における T-Ag 検索の有用性を示唆した。

膀胱腫瘍に関して、Limas ら³⁷⁾は RCA 法にて、浸潤性とされた6例の腫瘍のうち、4例に T-Ag の出現をみたとの報告に始まり、Javadopour ら³⁸⁾は17例の膀胱腫瘍の本抗原性を RCA 法による ABO isoantigen とともに検索し、14例の ABO isoantigen 陰性症例中28%に T-Ag 出現があり、膀胱腫瘍の予後推測において ABO isoantigen を補足するものとして位置づけ、膀胱腫瘍の予後推測因子として両抗原検索の有用性を示唆した。さらに、Coon ら²¹⁻²³⁾は酵素法にて93例の膀胱腫瘍の T-Ag および ABO isoantigen を検索し、grade との関係において、grade III では21例中20例(96%)が T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性であったのに対して、grade II 以下では72例中23例(32%)が T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性であり、grade との相関関係を見出し、さらに術後の再発においても T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性例では、浸潤性再発をきたしやすく、clinical course の予測に有用とした。そして、ABO isoantigen との間には明瞭な相関関係はないが、両者を組み合わせることにより、予後をより確実に予測できるとした。いっぽう Lehman ら³⁹⁾は蛍光法にて、同じく膀胱腫瘍を検索し、T-Ag を検索することにより膀胱上皮の neoplastic transformation を判断できると報告している。

組織細胞中 T-Ag の検出には、RCA 法、酵素法および蛍光法があり、後2者においては直接法、間接法がある。これらのうち RCA 法は感度、再現性に

おとるとされるため、酵素法あるいは蛍光法がより有用と考えられる。両方法の直接法と間接法を比較した場合、直接法は間接法に比べ特異性、簡便性ですぐれているものの、感度でおとるとされるが、著者の本実験においては直接法で施行したが、感度においても酵素法と蛍光法とも問題はないものと思われた。酵素法と蛍光法を比べると、本実験においてはともに特異性、再現性に関しては満足すべき結果が得られた。また、蛍光法はより簡便かつ短時間で施行可能で染色標本のコントラストが良好であり、判定がきわめて明確であるが、永久標本として利用できない。永久保存が可能な酵素法は成績の項で述べたように蛍光法に比べコントラストの点で少しおとるとされる。このような事実から、現状では両方法の併用により、より正確な判断ができるものと推察される。

さて、今回の T-Ag, cryptic T-Ag の検索において、前述のごとく grade との相関がみられ、さらに clinical course との関係をみれば、TUR-Bt 後の再発に関しては、通常の抗原性の消失した症例群は、通常の抗原性が保たれている症例群に比べ、有意に高率の再発がみられ、再発症例においても disease free interval は通常の抗原性が保たれていればより長期間再発が認められなかった。さらに浸潤性再発などの原因のため、TUR-Bt 後に全摘された6例中5例は、初発時の表在性膀胱腫瘍の時点ですでに、通常の cryptantigen は消失し細胞膜の分化退行がみられた。膀胱粘膜多部位生検の結果からも、形態学的悪性変化に先立ち、膜の異常な機能分化がすでに始まっていることを示唆する成績が得られた。以上のことより、clinical course と T-Ag との密接な関係が示唆されるが、通常の抗原物質が保たれているものでも浸潤性増殖をきたした症例もあることから、すべての問題が解決されてはいないが、本抗原の存否は術後の経過観察における予後推測の一指標として有用と考えられる。

結 語

MN 型血液型抗原の precursor である Thomsen-Friedenreich antigen (T-Ag) の膀胱腫瘍におけるマーカーとしての有用性を検討し、以下の結果を得た。

1. 非悪性腫瘍症例は、全例 T-Ag 陰性であったが、sialidase 処理により脱シアル化することにより、T-Ag の出現をみた、すなわち cryptic T-Ag 陽性であった。

2. 膀胱腫瘍症例では72例中37例は非悪性腫瘍症例

と同様 cryptic T-Ag 陽性であったが、ほかの35例は T-Ag 陽性または cryptic T-Ag 陰性で、癌性の細胞膜上の糖鎖不全が示唆された。

3. 腫瘍症例においては、T-Ag 陽性あるいは cryptic T-Ag 陰性例は high grade ほど高頻度にみられ、grade との間に相関傾向がみられた。

4. 腫瘍症例中、初回治療が TUR-Bt によりなされた55例における再発は、cryptic T-Ag 陽性例に比べ、T-Ag 陽性あるいは cryptic T-Ag 陰性例は有意に高率で、さらに再発までの期間、すなわち disease free interval が短期間であった。

5. TUR-Bt 後に最終的に、膀胱全摘術がなされた6例中5例は、初回 TUR-Bt 時よりすでに通常の T-Ag 抗原性が消失していた。

以上より、T-Ag およびその潜在性抗原 cryptic T-Ag は、膀胱腫瘍の TUR-Bt 後の clinical course を予測する一指標として有用と考えられた。

稿をおえるにあたり終始御指導ならびに御校閲を賜りました恩師石神襄次教授に深謝致します。本研究に際し直接御指導いただきました守殿貞夫助教授に感謝の意を表します。

本論文の要旨は第72回日事泌尿器科学会総会にて発表した。

文 献

- 1) 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・岡田 聰：睪丸腫瘍における血清 marker の意義—血清 β -subunit human chorionic gonadotropin および α -fetoprotein について—。日泌尿会誌 71: 352~362, 1980
- 2) 島谷 昇・荒川創一・大野三太郎・守殿貞夫・吉本祥生・前田盛：睪丸腫瘍における β -subunit human chorionic gonadotropin, alphafetoprotein および β_1 -pregnancy specific glycoprotein の組織内局在性とその意義。日泌尿会誌 71: 1438~1455, 1980
- 3) 島谷 昇・荒川創一・増田宗義・守殿貞夫：睪丸腫瘍組織における human chorionic gonadotropin, β_1 -pregnancy specific glycoprotein および alphafetoprotein 産生細胞に関する研究。日泌尿会誌 72: 1164~1176, 1981
- 4) 守殿貞夫・荒川創一・浜見 学・梅津敬一・藤井昭男・石神襄次：腫瘍マーカーを指標とした睪丸腫瘍 (stage I, II) の治療について。日泌尿会誌 74: 1383~1393, 1983
- 5) Reynoso G, Chu TM, Guinan P and Murphy GP: Carcinoembryonic antigen in patients with tumors of the urinary tract. Cancer 30: 1~4, 1972
- 6) Veenema RJ, Fingerhut B and Graff S: Nucleic acid synthesis in bladder tumors. J Urol 105: 392~396, 1971
- 7) Falor WH and Ward RM: Prognosis in early carcinoma of the bladder based on chromosomal analysis. J Urol 119: 44~48, 1978
- 8) Davidsohn I, Stejskal R and Lill P: The loss of isoantigen A, B and H in carcinoma of the urinary bladder. Lab Invest 28: 382, 1973
- 9) 加藤哲郎：特異性赤血球吸着法 (SRCA) による尿路移行上皮の ABH (O) 同種抗原の観察。日泌尿会誌 68: 71~81, 1977
- 10) Lange PH, Limas C and Fraley EE: Tissue blood group antigens and prognosis in low stage transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol 119: 152~155, 1978
- 11) Younge AK, Hammond E and Middleton AM: The prognosis value cell surface antigens in low stage, noninvasive, transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol 122: 462, 1979
- 12) 公文裕己・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
- 13) Cumming KB: Carcinoma of the bladder. Predictor Cancer 45: 1849~1855, 1980
- 14) Vallancien G, Rouger P, LeClerc JP and Kuss R: Immunofluorescence study of the distribution of A, B and H cell surface antigens in bladder tumors. J Urol 130: 67~70, 1983
- 15) Alroy J, Szoka FC, Heaney JA and Ucci AA: Lectins as a probe for carbohydrate residue in non-neoplastic urothelium of human urinary bladder. J Urol 128: 189~193, 1982
- 16) Thoss K and Roth J: The use of fluorescein isothiocyanate labelled lectins for immuno-

- histological demonstration of saccharides. *Exp Path Bd* 14: 215~219, 1977
- 17) Watanabe M, Muramatsu T, Shirane H and Ugai K : Discrete distribution of binding sites for dolichos biflorus agglutinin (DBA) and for peanut agglutinin (PNA) in mouse organ tissues. *J Histochem Cytochem* 29 : 779~790, 1981
 - 18) Kondo M, Watanabe M, Takada Z and Urano Y : Histochemical and histological studies of gastric carcinomas with special reference to cancer cell differentiation by peanut agglutinin. *Kobe J Med Sci* 28:241~259, 1982
 - 19) 小田芳経・森下真一・小川隆義・守殿貞夫・石神襄次：膀胱腫瘍と血液型抗原に関する研究一第1報，表在性膀胱腫瘍における T-Ag の意義一。西日泌尿 46 : 1023~1026, 1984
 - 20) 小川隆義・藤井 明・小田芳経・守殿貞夫・石神襄次：膀胱腫瘍と血液型抗原に関する研究，一第2報，表在性膀胱腫瘍における ABO isoantigen と Thomsen-Friedenreich antigen. 西日泌尿掲載予定
 - 21) Coon JS, Weinstein RS and Summers JL : Combination of ABH and T antigen detection in prognosis of urinary bladder carcinoma. *Lab Invest* 46: 15, 1982
 - 22) Coon JS, Weinstein RS and Summers JL : Blood group precursor T antigen expression in human urinary bladder carcinoma. *Am J Clin Pathol* 77: 692~699, 1982
 - 23) Summers JL, Coon JS, Ward RM, Falor WH, Miller AW and Weinstein RS : Prognosis in carcinoma of the urinary bladder based upon tissue blood group ABH and Thomsen-Friedenreich antigen status and karyotype of the initial tumor. *Can Res* 43: 934~939, 1983
 - 24) Prout GJ and Weinstein RS : Cell membrane and blood group antigens AUA monograph, Bonney, W,M 1:65~79, Williams & Wilkins, Baltimore, 1982
 - 25) 箱守仙一郎：癌細胞膜。代謝 17 : 1403~1416, 1980
 - 26) 石井良文・松浦晃洋・湯浅博夫：細胞抗原とその解析方法。Oncologia 1 : 132~147, 1982
 - 27) Davidsohn I, Kovarik S and Lee CL: A,B, and O substances in gastrointestinal carcinoma. *Arch Pathol* 81: 381~390, 1966
 - 28) 公文裕巳・那須保友・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 ABO isoantigen. その2. 長期 follow up の成績と検出法。日泌尿会誌 75 : 731~738, 1984
 - 29) England HR, Paris AMI and Blandy JP : The correlation of T₁ bladder tumour history with prognosis and follow-up requirements. *Brit J Urol* 53: 593~597, 1981
 - 30) 辻 勉・大沢利昭：レクチンとその糖結合特異性。蛋白質核酸酵素 28 : 118~131, 1983
 - 31) Jeanking M and Holburn AM : Radioassay of blood group M,N and T antigen. *Immunology* 38: 129~136, 1979
 - 32) Limas C and Lange P : A,B,H antigen detectability in normal and neoplastic urothelium. *Cancer* 49: 2476~2484, 1982
 - 33) Beyer TA, Rearich JI, Paulson JC, Prieels JP, Sadler JE and Hill RL: Biosynthesis of mammalian glycoprotein. *J Biochem* 254 : 12531~12541, 1979
 - 34) Springer GF, Desai PR and Scanlon EF : Blood group MN precursors as human breast carcinoma-associated antigens and "naturally" occurring human cytotoxins against them. *Cancer* 37: 169~176, 1976
 - 35) Newman RA, Klein PJ and Rudland PS : Binding of peanut lectin to beast epithelium human carcinomas, and a cultured rat mammary stem cell : Use of the lectin as a marker of mammary differentiation. *JNCI* 63: 1339~1346, 1979
 - 36) Howard DR and Batsakis JG: Cytostructural localization of a tumor-associated antigen. *Science* 210: 201~203, 1980
 - 37) Limas C and Lange P : Altered reactivity for A,B,H antigens in transitional cell carcinomas of the urinary bladder. *Cancer* 46: 1366~1373, 1980
 - 38) Javadopour N : Current concepts on tumor markers in urologic. *Current trends in urology* 2: 45~58, 1983
 - 39) Lehman JP, Coopen HS and Mulholland

SG : Peanut lectin binding sites in transitional cell carcinoma of the urinary bladder.

Cancer 53: 272~277, 1984

(1984年10月19日迅速掲載受付)