

膀胱癌症例に対する膀胱粘膜多部位生検に関する研究

第4編：膀胱粘膜多部位生検組織における
Thomsen-Friedenreich 抗原の検討

広島大学医学部泌尿器科学教室（主任：仁平寛巳教授）

井 川 幹 夫

STUDIES ON THE MULTIPLE MUCOSAL BIOPSY IN
PATIENTS WITH BLADDER CANCER4. EVALUATION ON THOMSEN-FRIEDENREICH ANTIGEN IN MULTIPLE
MUCOSAL BIOPSY AND TRANSITIONAL CELL
CARCINOMA OF THE BLLEDER

Mikio IGAWA

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine
(Director: Prof. H Nihira)*

The significance of Thomsen-Friedenreich antigen (T-Ag) in bladder carcinomas and multiple mucosal biopsies was studied. The T-antigen, a precursor of MN blood group antigen, is not found in normal cells, in which T-antigen is cryptic (cryptic T-Ag) but can be unmasked with neuraminidase digestion. Specimens of 27 main tumors and 201 mucosal biopsies from 23 patients with carcinoma in situ or microinvasion of carcinoma in situ were examined for the expression of T-antigen by Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) method with peanut agglutinin (PNA).

The T-Ag-positive rate was 22 % for G2 tumors, 56 % for G3 tumors, while cryptic T-Ag-positive rate was 86% for G2 tumors and 50% for G3 tumors. The correlation between T-antigen, cryptic T-antigen and histologic grade was not statistically significant.

The T-Ag-positive rate in mucosal biopsies was 43% in microinvasion of carcinoma in situ, 11% in carcinoma in situ, 17% in transitional cell carcinoma, 8% in dysplasia, 33 % in squamous metaplasia, 33% in proliferative cystitis and 13% in normal epithelium. Of histological findings, microinvasion of carcinoma in situ showed a significantly higher T-Ag-positive rate than carcinoma in situ and normal epithelium ($P<0.005$, $P<0.001$).

The cryptic T-Ag-positive rate in mucosal biopsies was 38% in microinvasion of carcinoma in situ, 74% in carcinoma in situ, 100 % in transitional cell carcinoma, 82 % in dysplasia, 100% in squamous metaplasia, 100% in proliferative cystitis and 96% in normal epithelium. Of the histological findings, carcinoma in situ, proliferative cystitis and normal epithelium showed a significantly higher cryptic T-Ag-positive rate than microinvasion of carcinoma in situ ($P<0.025$, $P<0.05$, $P<0.001$).

Microinvasion of carcinoma in situ expressed the T-Ag (43%), the cryptic T-Ag (21%) and lacked the cryptic T-Ag (36%). Microinvasion of carcinoma in situ showed statistically significant difference in the mode of T-Ag and cryptic T-Ag expression than other histological

types in mucosal biopsies, including carcinoma in situ ($P<0.001$).

The recurrence-free rate at the same area of biopsy site after transurethral resection (TUR) for visible tumor was analyzed according to the T-Ag and cryptic T-Ag status of mucosal biopsies. The Kaplan-Meier's method was used for the estimation of recurrence-free rate and logrank test for testing the significance of difference in recurrence-free rate. The recurrence-free rate was 27.7% 11 months postoperatively in T-Ag-positive areas, 76.2% 20 months postoperatively in T-Ag-negative areas, the difference being statistically significant ($P<0.001$).

The recurrence-free rate was 77.2% 20 months postoperatively for cryptic T-Ag-positive areas, and 50% 7 months postoperatively for cryptic T-Ag-negative areas with no significant difference.

The recurrence-free rate was 77.2% 20 months postoperatively in cryptic T-Ag-positive areas, 36.3% 11 months postoperatively in T-Ag-positive areas or cryptic T-Ag-negative areas, the difference between the 2 groups being significant ($P<0.005$).

In areas with carcinoma in situ, the recurrence-free rate was significantly higher in T-Ag-negative areas than in T-Ag-positive areas ($P<0.001$). In areas with normal epithelium, no significant difference in recurrence-free rate was recognized as to the presence or absence of T-antigen.

T-Ag and cryptic T-Ag in mucosal biopsy may express the malignant potential of bladder mucosa, but these results do not prove that T-Ag and cryptic T-Ag are significant predictors of invasive recurrence.

Key words: Thomsen-Friedenreich antigen, Multiple mucosal biopsy, Carcinoma in situ

緒 言

膀胱の上皮内癌は、尿路上皮が浸潤癌へ転換する際の癌性変化の初期段階を表現しており¹⁾、膀胱粘膜多部位生検（以下粘膜生検法と略記）により上皮内癌が証明された膀胱は将来は浸潤性腫瘍を生じる危険性、すなわち潜在的悪性度が高いと考えられる。これに対して膀胱上皮内癌は必ずしも浸潤癌へと進行するものではないとの意見もあるが²⁾、一般に上皮内癌症例は早期に根治的手術が行なわれることが多いので本病変の自然史には不明の点がかなり存在する。また上皮内癌が浸潤癌へと進行を開始した初期の状態を示す上皮内癌の微小浸潤が粘膜生検法により認められるが、この場合の癌細胞には浸潤に伴う何らかの機能的変化が生じている可能性が推定される。さて膀胱癌においては細胞の機能的変化を推定し、浸潤性再発を予測するマーカーとして組織内 ABH 血液型抗原がよく用いられている。ところが第3編³⁾における検討では、上皮内癌と上皮内癌の微小浸潤との間で ABH 血液型抗原の陽性率に有意差は認められていない。そこで本編では MN 式血液型抗原の前駆体である Thomsen-Friedenreich 抗原（以下 T 抗原と略記）について、

上皮内癌の浸潤開始に伴う機能的変化、つまり潜在的悪性度を反映するマーカーとしての有用性の検討を目的とした。すなわち粘膜生検法によって上皮内癌、あるいは上皮内癌の微小浸潤が認められた潜在的悪性度が高いと考えられる症例を対象とし、腫瘍切除後における再発、ないしは浸潤傾向という予後に重大な影響をもたらす因子の予測に関する T 抗原の臨床的有用性の評価を行なった。

対 象 と 方 法

1. 対象

1980年3月より1984年7月までの期間の広島大学医学部附属病院泌尿器科において加療した膀胱癌 111 症例に対して、165回の粘膜生検法を施行した。このうち28症例、35回の粘膜生検法で、1カ所以上の生検粘膜に上皮内癌、あるいは上皮内癌の微小浸潤が認められた。35回の粘膜生検法によって得られた生検粘膜組織のうち、201検体を対象として Avidin-Biotin-Peroxidase Complex 法 (ABC 法) を用いて T 抗原、および cryptic T 抗原を検出した。対象とした生検粘膜201検体の内訳は上皮内癌の微小浸潤28検体、上皮内癌47検体、移行上皮癌6検体、上皮異形成12検体、扁平上

皮化生3検体，増殖性膀胱炎9検体，炎症細胞浸潤を含む正常組織96検体である。

2. 方法

ホルマリン固定，パラフィン包埋された組織ブロックより厚さ5 μ の切片を作製し，キシレン・エタノール系列によって組織切片を脱パラフィンする。組織切片を0.01 M phosphate buffered saline, pH 7.2（以PBSと略記）洗滌後，0.3%過酸化水素加メタノールに室温で30分間浸漬して内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止する。20分間PBSで組織切片を洗滌し，20倍希釈正常ウサギ血清を滴下して抗体の組織切片への非特異的吸着を防ぐ。以後の反応は湿室内で行ない，次の反応に移る前には15分間PBSで組織切片を洗滌した。T抗原検出に用いる抗体，およびその濃度はCoonら⁴⁾の方法に従い，一次抗体としてPNAレクチン（Vector Lab.）をPBSで0.001mg/mlの濃度に調整して4°C overnight 反応させ，二次抗体はヤギ抗PNA（Vector Lab.）をPBSで1,000倍希釈して室温で1時間反応させた。次にベクタスチンABCキット（Vector Lab.）のビオチン化ウサギ抗ヤギIgGを30分間室温で反応，続いて使用30分前に調整したAvidin-Biotin-Peroxidase Complex（ABC）を45分間室温で反応させた。0.02%過酸化水素水と，0.1 M トリス緩衝液，pH 7.2 で調整した0.1%四塩酸ジァミノベンチジン液との等量混合液に組織切片を約5分間浸漬してDAB反応を行ない，冷PBSで洗滌して反応を停止した。PBSで充分組織切片を洗滌した後，メイヤーのヘマトキシリン液により核染色を行なった。組織切片をエタノール系列で脱水後，キシレンで透徹し，オイキットで封入した。判定はCoonら⁴⁾の基準に準じ，腫瘍組織，あるいは粘膜の10%以上に染色が認められた場合をT抗原陽性とした。

T抗原陰性と判定した場合に cryptic T 抗原を検索するため，同一ブロックよりの組織切片を脱パラフィンし，内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止後，10mMのCaCl₂を含む tris saline, pH 5.5 で0.02 units/mlの濃度に調製したノイラミダーゼType V（Sigma Chem. Co.）を組織切片に滴下してノイラミダーゼ処理を行なった。以下の操作はT抗原検出法と同様である。Cryptic T抗原の判定はCoonら⁴⁾の基準に従い，粘膜あるいは腫瘍組織の10~20%以上に染色が観察された場合を陽性とした。ノイラミダーゼ処理後に赤血球，血管内皮はT抗原陽性となるので built in positive control，結合組織，筋肉組織はT抗原陰性であるので built in negative control とした。

本法の特異性は一次抗体の代りに PBS を用いた対照試験，PNA レクチンに過剰量の D-ガラクトースを添加した吸収試験により確認した。

なお結果について有意差の検定は χ^2 test により行なった。

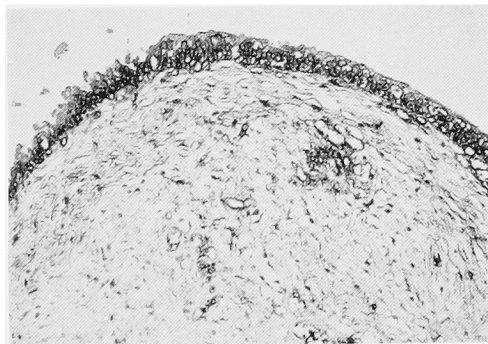


Fig. 1. Normal epithelium stained for the cryptic T antigen. High background staining was observed after neuraminidase digestion. $\times 100$.

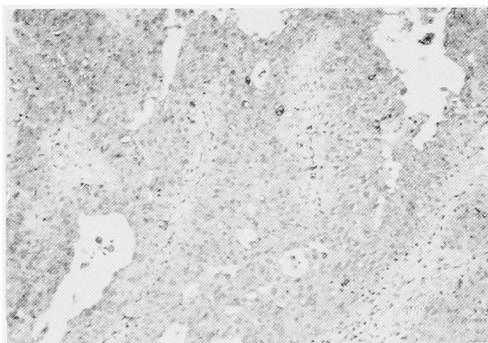


Fig. 2. Grade 2 transitional cell carcinoma stained for the T antigen. $\times 100$.

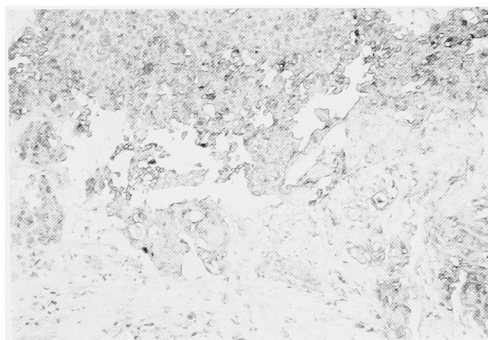


Fig. 3. Grade 3 transitional cell carcinoma stained for the T antigen. $\times 100$.

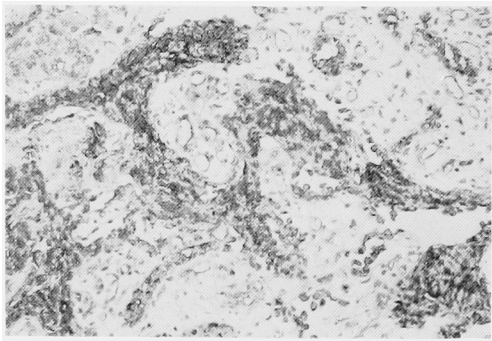


Fig. 4. Microinvasion of carcinoma in situ stained for the T antigen. $\times 100$.

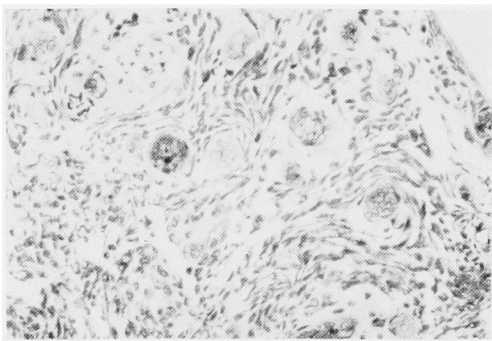


Fig. 5. Grade 3 transitional cell carcinoma showed negative staining for the cryptic T antigen. Erythrocytes stained for the cryptic T antigen. $\times 200$.

結 果

1. 主腫瘍の組織学的異型度とT抗原, cryptic T抗原

主腫瘍の生検組織27検体を対象としてT抗原, cryptic T抗原を検出し, 主腫瘍の組織学的異型度別にそれぞれ陽性率を比較した. 本編では生検粘膜に上皮内癌, あるいは上皮内癌の微小浸潤が認められた症例を対象としたため, 主腫瘍の組織学的異型度がG1のものはみられず, G2が9検体, G3が18検体である.

a. T抗原 (Table 1)

T抗原陽性率はG2では22%, G3では56%で, G2よりもG3の腫瘍が高値であるが統計学的には有意差は認められなかった.

b. Cryptic T抗原 (Table 1)

T抗原が陰性であったG2の7検体, G3の8検体についてcryptic T抗原の陽性率をみると, G2が86%, G3が50%で, T抗原とは逆にG3よりもG2

の腫瘍が高値であったが統計学的には有意差は認められなかった.

c. T抗原と cryptic T抗原の組み合わせ (Table 2)

正常膀胱粘膜では通常はT抗原陰性・cryptic T抗原陽性とされている^{5,6)}. 主腫瘍の組織学的異型度別にT抗原, cryptic T抗原の有無の組み合わせ, すなわち正常膀胱粘膜と同じT抗原陰性・cryptic T抗原陽性の組み合わせ(正常型)と, 正常膀胱粘膜では通常みられないT抗原陽性(異常I型), あるいはT抗原陰性・cryptic T抗原陰性の組み合わせ(異常II型)がみられる頻度を比較した. G2では正常型67%, 異常I型22%, 異常II型11%, G3ではそれぞれ22%, 56%, 22%であった. G2の腫瘍ではG3の腫瘍に比較して正常型であるT抗原陰性・cryptic T陽性の頻度が高かったが, 統計学的には有意差は認められなかった.

2. 生検粘膜の組織学的所見とT抗原, cryptic T抗原

粘膜生検法によって得られた上皮内癌の微小浸潤28検体, 上皮内癌47検体, 移行上皮癌6検体, 上皮異形成12検体, 扁平上皮化生3検体, 増殖性膀胱炎9検体, 正常粘膜96検体を対象としてT抗原, cryptic T抗原の検出を行なった. 組織学的所見別にT抗原, cryptic T抗原の陽性率を比較し, さらにT抗原とcryptic T抗原の有無の組み合わせについて検討を加えた.

a. T抗原 (Table 3)

組織型別のT抗原陽性率は上皮内癌の微小浸潤43%, 上皮内癌11%, 移行上皮癌17%, 上皮異形成8%, 扁平上皮化生33%, 増殖性膀胱炎33%, 正常粘膜13%で上皮内癌の微小浸潤が最も高く, 上皮異形成が最も低いT抗原陽性率を示した. 各組織型間のT抗原陽性率を比較すると, 上皮内癌の微小浸潤が上皮内癌, 正常粘膜よりも有意に高値であった ($P < 0.005$, $P < 0.001$).

b. Cryptic T抗原 (Table 3)

T抗原が陰性であった上皮内癌の微小浸潤16検体, 上皮内癌42検体, 移行上皮癌5検体, 上皮異形成11検体, 扁平上皮化生2検体, 増殖性膀胱炎6検体, 正常粘膜84検体, 総計166検体を対象としてcryptic T抗原を検出した. 組織型別のcryptic T抗原陽性率は上皮内癌の微小浸潤38%, 上皮内癌74%, 移行上皮癌100%, 上皮異形成82%, 扁平上皮化生100%, 増殖性膀胱炎100%, 正常粘膜96%で, 上皮内癌の微小浸潤がcryptic T抗原陽性率が最も低値であった. 組織型

Table 1. Correlation among grade of main tumor, T antigen and cryptic T antigen

Histological grade of main tumor	T.Pos. No./Total(%)	CrypticT.Pos. No./Total(%)
G2	2/9 (22)	6/7 (86)
G3	10/18 (56)	4/8 (50)
Total	12/27 (44)	10/15 (67)

Table 2. Correlation between grade of main tumor and combination of T and cryptic T antigen status

Grade of main tumor	T(-)&CrypticT(+) No./Total(%)	T(+) No./Total(%)	T(-)&CrypticT(-) No./Total(%)
G2	6/9 (67)	2/9 (22)	1/9 (11)
G3	4/18 (22)	10/18 (56)	4/18 (22)
Total	10/27 (37)	12/27 (44)	5/27 (19)

Table 3. Correlation among histological type of mucosal biopsy, T antigen and cryptic T antigen.

Histological type	T.Pos. No./Total(%)	CrypticT.Pos. No./Total(%)
Microinvasion of CIS	12/28 (43) ^{a, b}	6/16 (38) ^{c, d, e}
CIS	5/47 (11) ^a	31/42 (74) ^c
TCC	1/6 (17)	5/5 (100)
Dysplasia	1/12 (8)	9/11 (82)
Squamous metaplasia	1/3 (33)	2/2 (100)
Proliferative cystitis	3/9 (33)	6/6 (100) ^d
Normal	12/96 (13) ^b	81/84 (96) ^e
Total	35/201 (17)	140/166(84)

^aP<0.005, ^{b, e}P<0.001, ^cP<0.025, ^dP<0.05

Table 4. Correlation between histological type of mucosal biopsy and combination of T and cryptic T antigen status.

Histological type	T(-)&CrypticT(+) No./Total(%)	T(+) No./Total(%)	T(-)&CrypticT(-) No./Total(%)
Microinvasion of CIS*	6/28 (21)	12/28 (43)	10/28 (36)
CIS	31/47 (66)	5/47 (11)	11/47 (23)
TCC	5/6 (83)	1/6 (17)	
Dysplasia	9/12 (75)	1/12 (8)	2/12 (17)
Squamous metaplasia	2/3 (67)	1/3 (33)	
Proliferative cystitis	6/9 (67)	3/9 (33)	
Normal	81/96 (84)	12/96 (13)	3/96 (3)
Total	140/201(70)	35/201 (17)	26/201 (13)

*P<0.001

間で cryptic T抗原陽性率と比較すると、上皮内癌の微小浸潤が上皮内癌、増殖性膀胱炎および正常粘膜よりも有意に低値であった (P<0.025, P<0.05, P<

0.001).

c. T抗原と cryptic T抗原の有無の組み合わせ (Table 4)

201 検体の生検粘膜を対象として T 抗原と cryptic T 抗原の有無の組み合わせ、すなわち正常膀胱粘膜と同様の T 抗原陰性・cryptic T 抗原陽性(正常型)と、正常膀胱粘膜では通常みられない T 抗原陽性(異常 I 型)、あるいは T 抗原陰性・cryptic T 抗原陰性(異常 II 型)に分類して、生検粘膜の組織学的所見との関連性を検討した。組織型別に各型の頻度をみると、上皮内癌の微小浸潤28検体では異常 I 型が43%、異常 II 型が36%で、正常型は21%と低値であり、上皮内癌を初めとして他の組織型の結果との間に有意の差が認められた($P < 0.001$)。上皮内癌47検体では異常 I 型11%、異常 II 型23%、正常型66%であり、上皮内癌の微小浸潤とは明らかに異なる傾向を示した。上皮異形成は上皮内癌に近い結果を示した。正常粘膜では正常型84%、異常 I 型13%、異常 II 型3%で、通常は正常粘膜ではみられないとされている T 抗原陽性、あるいは T 抗原陰性・cryptic T 抗原陰性の型が合計で16%認められた。

3. 生検粘膜組織の T 抗原, cryptic T 抗原と生検部位と同一領域への再発

主腫瘍の TUR 後に経過観察が可能であった15症例について、生検粘膜組織のうち主腫瘍の近接部位を除く70検体を対象として T 抗原, および cryptic T 抗原の有無と生検部位と同一領域における腫瘍再発との関係を検討した。生検粘膜組織70検体の内訳は上皮内癌の微小浸潤3検体、上皮内癌17検体、移行上皮癌3検体、上皮異形成7検体、扁平上皮化生2検体、増殖性膀胱炎1検体、炎症を含む正常粘膜37検体である。再発は生検率の算出法である Kaplan-Meier 法を利用し、腫瘍再発を死亡と見なして累積非再発率を計算して比較した。なお累積非再発率の統計学的な有意差は logrank test により検討した。

a. T 抗原 (Fig. 6)

主腫瘍に対する TUR 後、生検部位と同一領域への累積非再発率は T 抗原陽性9検体の領域においては手術後11か月より31か月までの期間では27.7%、T 抗原陰性61検体の領域においては手術後20か月より31か月までの期間では76.2%であり、一部の期間を除き累積非再発率は T 抗原陽性よりも T 抗原陰性の領域が高く統計学的にも有意であった($P < 0.001$)。再発腫瘍の組織学的異型度は T 抗原陽性の領域では G2 が1, G3 が4, T 抗原陰性の領域では G2 が3, G3 が8であり、T 抗原の有無による一定の傾向は認められなかった。再発腫瘍の組織学的深達度は pT2 以上のものは T 抗原陽性5領域のうち4領域、T 抗原陰性11領域のうち5領域であり、T 抗原陽性領域の再発腫瘍が組織学的深達度が高い傾向がみられたが、統計学的には有意の差は認められなかった。

b. Cryptic T 抗原 (Fig. 7)

生検粘膜70検体のうち T 抗原陽性の9検体を除く61検体を対象として、cryptic T 抗原の有無別に生検部位と同一領域における再発を検討した。主腫瘍の TUR 後に生検部位と同一領域における累積非再発率は、生検粘膜の cryptic T 抗原が陽性であった59検体の領域においては手術後11か月より20か月までの期間では82.4%、20か月以降31か月までの期間は77.2%であった。これに対して生検粘膜の cryptic T 抗原が陰性であった2検体では手術後7か月目に1検体の領域に再発がみられ、手術後7か月より19か月までの期間は累積非再発率は50%であり、cryptic T 抗原の有無により累積非再発率に統計学的な有意差は認められなかった。再発腫瘍の組織学的異型度は cryptic T 抗原が陽性の領域では G2 が2, G3 が8, cryptic T 抗原が陰性の領域では G2 が1であった。再発腫瘍

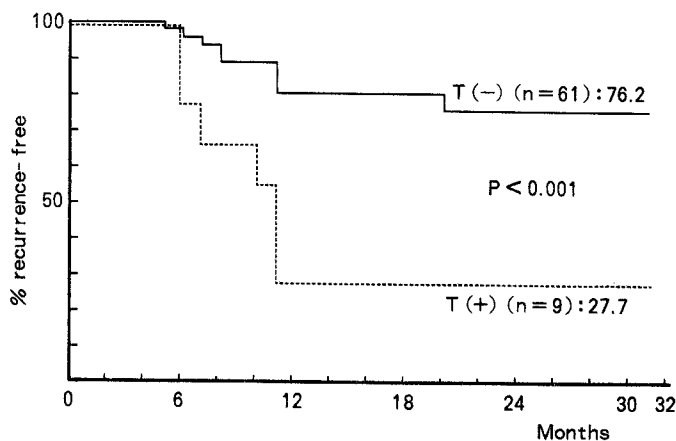


Fig. 6. Recurrence-free rate at the area of biopsy site according to T antigen status.

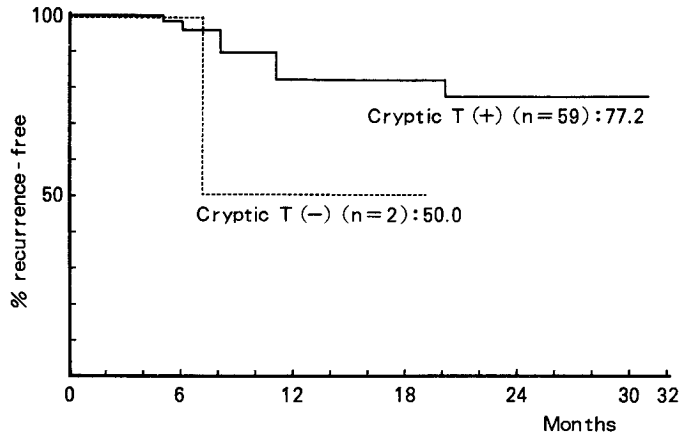


Fig. 7. Recurrence-free rate at the area of biopsy site according to cryptic T antigen status

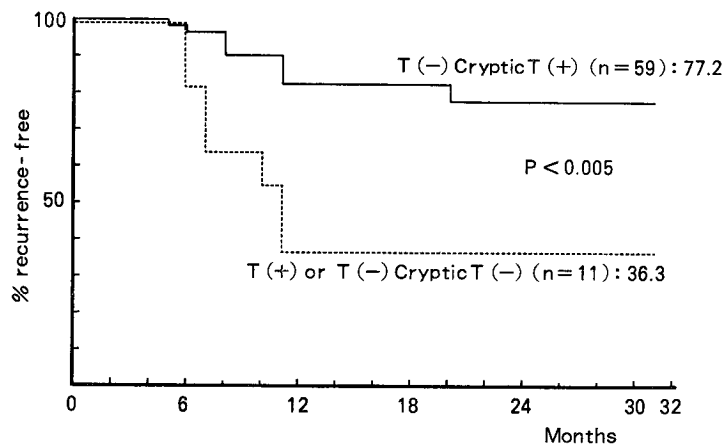


Fig. 8. Recurrence-free rate at the area of biopsy site according to T and cryptic T antigen status

の組織学的深達度は cryptic T 抗原陽性10領域のうち半数の5領域が pT2 以上, cryptic T 抗原陰性1領域では pT1 であった。再発腫瘍の組織学的異型度, 深達度はともに cryptic T 抗原の有無により一定の傾向はみられず, 統計学的にも有意の差は認められなかった。

c. T 抗原, cryptic T 抗原有無の組み合わせ (Fig. 8)

生検粘膜組織70検体を正常膀胱粘膜で通常みられる T 抗原陰性・cryptic T 抗原陽性 (正常型) と, 正常膀胱粘膜ではみられないとされている T 抗原陽性 (異常Ⅰ型), あるいは T 抗原陰性・cryptic T 抗原陰性 (異常Ⅱ型) とに分類し, 各組み合わせ型と生検部位と同一領域における再発との関連について検討した。累積非再発率は正常型の59検体の領域では手術後20ヵ月より31ヵ月までの期間は77.2%, 異常Ⅰ型, あるいは

は異常Ⅱ型の11検体の領域では手術後11ヵ月より31ヵ月までの期間は36.3%であり, はば全期間を通じて累積非再発率は正常型と異常型との間に有意の差が認められた ($P < 0.005$)。再発腫瘍の組織学的異型度は正常型の領域では G2 が2, G3 が8, 異常Ⅰ型, あるいは異常Ⅱ型の領域では G2 が2, G3 が4 であった。再発腫瘍の組織学的深達度について pT2 以上のものは正常型10領域のうち5領域, 異常Ⅰ型, あるいは異常Ⅱ型の6領域のうち4領域の再発腫瘍に認められた。再発腫瘍の組織学的異型度, 深達度はともに T 抗原, cryptic T 抗原の有無の組み合わせによる有意の差は認められなかった。

d. 組織学的所見別の検討

生検粘膜における組織学的異常の有無により生検部位と同一領域の累積非再発率に有意の差が認められているため⁷⁾, 生検粘膜の組織学的所見別に T 抗原の有

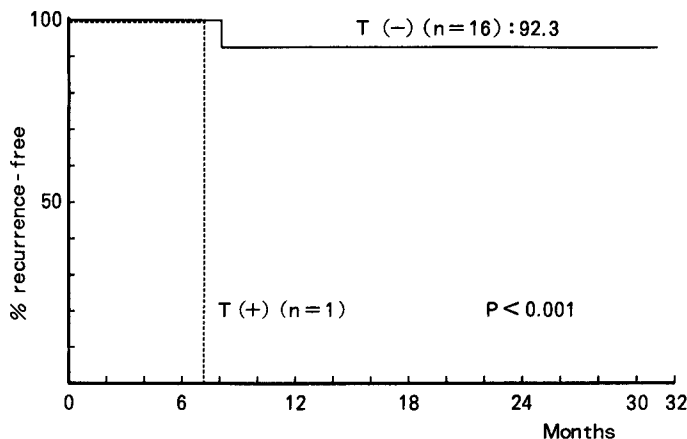


Fig. 9. Recurrence-free rate at the area of biopsy site according to T antigen status (CIS).

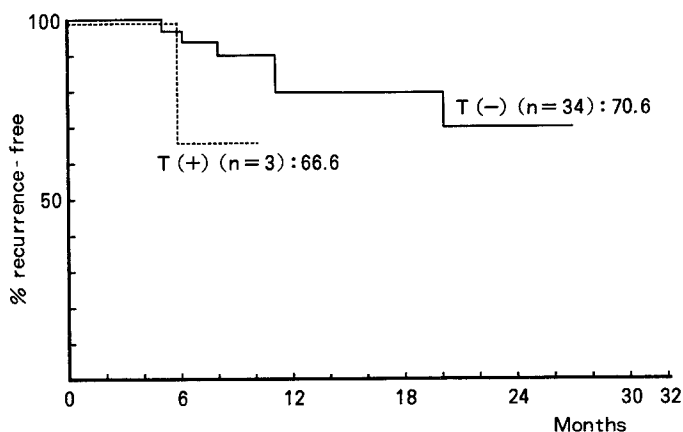


Fig. 10. Recurrence-free rate at the area of biopsy site according to T antigen status (Normal).

無と再発との関係について累積非再発率を算出して検討を行なった。検体数に限りがあるため検討を行ない得たのは上皮内癌の17検体、正常粘膜の37検体である。また同様の理由で cryptic T 抗原およびT抗原、cryptic T 抗原有無の組み合わせも検討より除いた。

1) 上皮内癌 (Fig. 9)

生検粘膜の組織学的所見が上皮内癌であった17領域では、T 抗原陽性の1検体の領域で主腫瘍のTUR施行後7カ月目に再発腫瘍 (G2, pT1) の発生がみられ、T 抗原陰性の16検体の領域では主腫瘍のTUR施行後8カ月目に1領域に再発腫瘍 (G3, pT1) の発生がみられ、以後31カ月までの累積非再発率は92.3%であり、累積非再発率はT 抗原が陰性の領域が陽性の領域よりも有意に高値であった ($P < 0.001$)。

2) 正常粘膜 (Fig. 10)

主腫瘍のTUR施行後に生検粘膜が正常であった

領域における累積非再発率は、T 抗原陽性の3領域では手術後6カ月より10カ月までの期間66.6%、T 抗原陰性の34領域では手術後8カ月より11カ月までは90.8%、11カ月より20カ月までは80.7%、20カ月より27カ月までの期間では70.6%で、T 抗原の有無により累積非再発率に有意の差は認められなかった。再発腫瘍の組織学的異型度はT 抗原陽性領域ではG3が1、T 抗原陰性領域ではG2が2、G3が5であった。組織学的深達度はpT2以上のものがT 抗原陽性の1領域、T 抗原陰性の7領域のうち4領域にみられた。すなわち再発腫瘍の組織学的異型度、深達度はともにT 抗原の有無による一定の傾向は認められなかった。

考 察

粘膜生検法などにより膀胱の広い範囲に上皮内癌の存在が明らかとなった症例に対しては、治療法として

膀胱全摘除術が選択されるべきと考えられるが、患者の合併疾患などから根治手術の適応とはならず、保存的治療で経過観察を行なう場合がある。膀胱の上皮内癌は浸潤癌へと進行する考え方が一般的であるが⁸⁻¹³⁾、上皮内癌から浸潤癌への進展には長い期間を要するという報告もあり¹⁴⁻¹⁶⁾、また一方では上皮内癌が必ずしも浸潤癌とはならない可能性も示されており²⁾、膀胱上皮内癌の自然史に関しては不明の点が多い。膀胱の上皮内癌症例において膀胱温存による保存的治療で経過観察を行なう場合に、上皮内癌が浸潤癌へと進行する潜在的能力、あるいはこの病変が微小浸潤を開始する時期の推定などに関する情報が得られれば、このような症例に対する治療方針の決定、あるいは根治手術の時期決定などの問題解決に非常に参考になる。

膀胱癌において腫瘍組織内 ABH 血液型抗原の消失は腫瘍組織における脱分化の指標となることが示され¹⁷⁾、浸潤性再発を予測するマーカーとしてその有用性が認められている¹⁸⁻²²⁾。粘膜生検法によって認められる上皮内癌の微小浸潤は、上皮内癌が浸潤癌へ進行を開始した段階と考えられ、この時の腫瘍細胞は上皮内癌のみの場合よりは悪性度が増加していることが推測される。第3編²³⁾において SRCA test、および酵素抗体直接法により検出した生検粘膜組織の ABH 血液型抗原陽性率は、上皮内癌と上皮内癌の微小浸潤との間に有意の差は認められなかったことより、ABH 血液型抗原は上皮内癌の浸潤傾向を予測するマーカーとしては不十分なものと考えられる。一方で膀胱癌組織について MN 式血液型抗原の前駆体である T 抗原を Coonら⁴⁾ (1982) が PAP 法により検出し、以後は種々の検出方法の発表とともに T 抗原の意義について報告されている^{5,6,23-25)}。著者は粘膜生検法によって上皮内癌、あるいは上皮内癌の微小浸潤を証明した high risk の症例を対象として、生検粘膜組織内の T 抗原を ABC 法により検索し、上皮内癌の浸潤傾向の予測を含めた T 抗原の臨床的意義について検討を加えた。

本編で T 抗原の検出に用いた ABC 法は Hsuら^{26,27)} によって開発され、卵白中に存在する分子量 68,000 の avidin と分子量 244.3 のビタミン H である bintin が解離定数 10^{-15} M と強い親和性を有していることを利用した方法である。Avidin は biotin に対して 4 つの結合部位を有し、avidin と biotin 化 peroxidase を 4 : 1 の比に混合すると最も染色性が高く、background staining が低い結果が得られている²⁸⁾。これは avidin と biotin 化 peroxidase を

混合した場合、avidin が biotin 化 peroxidase 間の bridge として働いて、peroxidase を多数含む格子状の avidin-biotin-peroxidase complex を形成するためと考えられている²⁶⁾。尿路上皮腫瘍における血液型抗原の検出において ABC 法は SRCA test よりも感度が高く、background staining も低く、より特異的であるとされている²⁸⁾。一方、PAP 法も高感度であるが一次抗体と PAP の橋渡しを二次抗体で行なうため、抗原過剰状態でしばしば偽陰性を生じることが指摘されており、他方 ABC 法はこのような欠点もなく PAP 法よりも簡単でかつ PAP 法同様に高感度であると述べられている²⁹⁾。

抗 T 抗体として用いた PNA レクチンは *Arachis hypogaea* (ピーナッツ) より抽出された凝集素で分子量 110,000, 27,500 ダルトンのサブユニットよりなる四量体である³⁰⁾。PNA レクチンはノイラミニダーゼ処理赤血球に対して強い凝集を生じることが見出され、特異性および活性が高い抗 T 凝集素であることが認められており³¹⁾、ガラクトシル β -1,3-N-アセチルガラクトサミンに高い親和性を有している^{32,33)}。

1920年代後半に Thomsen³⁴⁾、Friedenreich³⁵⁾ によってヒト赤血球が *in vitro* での細菌感染によりすべての正常ヒト血清と凝集反応を生じることが観察され、この現象は Thomsen-Friedenreich phenomenon と呼ばれている。この現象の機序は細菌、あるいは virus に存在する酵素のノイラミニダーゼによって赤血球膜に潜んでいた T 抗原が顕性化し、この T 抗原に対する特異抗体はすべての正常ヒト血清中に存在しているため凝集が生じると説明されている³⁶⁾。ヒト赤血球より分離される T 抗原は分子量 550,000 で約 40% の糖質を含み、そのなかでもガラクトースと N-アセチルガラクトサミンが多く、残りはスレオニン、セリンとグルタミン酸に富む蛋白である³⁷⁾。T 抗原は M および N 血液型抗原の生合成の過程においてその前駆体として存在し、正常では常にシアル酸によってマスクされており^{38,39)}、N 血液型抗原の直接の前駆体となっている³⁹⁾ (Fig. 11)。T 抗原の特異性は末端

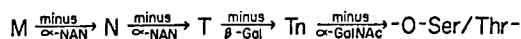


Fig. 11. Relationship of human blood group M antigen to its precursors. Based on stepwise enzymatic degradation, periodic oxidation, immunochemistry, and biosynthesis. (Cited from Springer GF et al³⁹⁾) NAN: sialic acid; Gal: D-galactose; GalNAc: N acetyl-d-galactosamine; Ser: serine; Thr: threonine.

の β -D-ガラクトースによって決定され⁴⁰⁾, これは PNA レクチンのリセプターとされている⁴¹⁾. M, N 血液型抗原, その前駆体の T 抗原は赤血球のみならず肝, 脾, 腎その他の各組織の細胞表面に存在することが知られている⁴²⁾. T 抗原は正常な状態では常に末端のシアル酸によってマスクされているが, 乳癌, 胃癌, 大腸癌などの組織において T 抗原が顕在化していることが Springer ら (1977) によって示され^{38, 39)}, 一方, 膀胱癌組織における T 抗原は Coon ら (1982) によって最初に検索されている⁴⁾.

癌組織に T 抗原が表出される機序については, 細胞表面構造の不完全な生合成により癌細胞の膜に露出されたものか, 過度のグリコシダーゼ活性によって膜の構成物が露出された結果と考えられている³⁷⁾. 癌組織における ABH 血液型抗原消失の機序についても T 抗原と同様の機転が考えられているが⁴⁴⁾, 同一組織における T 抗原と ABH 抗原の状態については相関がみられなかった報告がある⁴⁾. したがって T 抗原と ABH 血液型抗原の表出は, それぞれ細胞の悪性転換に伴う膜構成物における変化の別の側面を反映しているものと推測される.

膀胱癌の組織学的異型度と腫瘍組織内 T 抗原との関係について, 報告では T 抗原の陽性率は PAP 法では異型度が低い腫瘍が 28%, 異型度が高い腫瘍が 67%⁴⁾ 蛍光抗体法では G1 が 30.8%, G2 が 38.5%, G3 が 71.4% であり⁶⁾, いずれも膀胱癌の組織学的異型度と T 抗原陽性率との間に相関が認められている. これに対して SRCA test による検索では, T 抗原陽性率と組織学的異型度との相関はみられていない²⁴⁾. 本編では粘膜生検法によって上皮内癌, あるいは上皮内癌の微小浸潤が認められた症例を対象としたため, 主腫瘍の組織学的異型度が G1 と低い症例は検討例には入っていない. 検討症例の主腫瘍は G2, G3 で, G2 の 9 例, G3 の 18 例について T 抗原の陽性率をみると G2 が 22%, G3 が 56% と G2 よりも G3 が高い傾向がみられたが, 統計学的には有意の差は認められていない. T 抗原陰性の主腫瘍における cryptic T 抗原の陽性率は G2 が 86%, G3 が 50% で, T 抗原とは逆に G2 が G3 よりも高い傾向がみられたが, 統計学的には有意ではなかった. 報告例では T 抗原陰性の腫瘍における cryptic T 抗原の陽性率は, 異型度が低い腫瘍では 94%, 異型度が高い腫瘍では 14% と明らかな差が認められている⁴⁾. 主腫瘍における T 抗原および cryptic T 抗原の有無の組合せの中で, 正常膀胱粘膜に通常みられる T 抗原陰性・cryptic T 抗原陽性型が占める頻度は自験例において, G2 では 67%, G3

では 22% と差が認められ, 腫瘍の組織学的異型度と T 抗原の表現型との間には相関が存在することを示唆する結果であった.

主腫瘍の組織学的深達度と組織内 T 抗原との関係については報告では相関は認められず²⁴⁾, 自験例における検討でも T 抗原, cryptic T 抗原のいずれにおいても一定の傾向はみられていない.

生検粘膜の組織型別の検討では, T 抗原陽性率は上皮内癌の微小浸潤 43%, 上皮内癌 11%, 移行上皮癌 17%, 上皮異形成 8%, 扁平上皮化生 33%, 増殖性膀胱炎 33%, 正常粘膜 13% であり, 上皮内癌の微小浸潤組織が上皮内癌, 正常粘膜組織などよりも陽性率が高い結果が得られた. 一方で cryptic T 抗原についての同様の検討では, 上皮内癌の微小浸潤組織が上皮内癌, 増殖性膀胱炎, 正常粘膜組織などよりも陽性率が有意に低い結果であった. さらに T 抗原と cryptic T 抗原の有無の組み合わせでは, 正常膀胱粘膜型とされる T 抗原陰性・cryptic T 抗原陽性型は上皮内癌の微小浸潤では 21% と低値であり, 他の組織型とは明らかに異なる結果を示した. 上皮内癌の微小浸潤組織が移行上皮癌, 上皮異形成, 正常粘膜組織などと比較して T 抗原, cryptic T 抗原の表現様式が異なっていることの理由の一つとして組織学的異型度が高いことが考えられる. しかし上皮内癌の微小浸潤と上皮内癌とは細胞の組織学的異型度は同等であるにもかかわらず, T 抗原と cryptic T 抗原の組み合わせの型に差がみられたことは, 形態学的変化では示し得ない潜在的悪性度が T 抗原, cryptic T 抗原などと関連することを示唆するものと考えられる. また正常膀胱粘膜では T 抗原の表出は全くみられず, ほとんどが cryptic T 抗原陽性とされているが^{35, 43)}, 自験例では生検膀胱粘膜が正常組織であっても T 抗原陽性が 13%, cryptic T 抗原陰性のものが 3% の頻度で認められている. これは対象が膀胱癌症例で, かつ主腫瘍以外の膀胱粘膜に上皮内癌, 上皮内癌の微小浸潤などの変化が認められた, 言えば悪性度が高い膀胱であり, したがって生検粘膜が形態的には正常であっても, 潜在的悪性度の表現として T 抗原, cryptic T 抗原などに正常粘膜とは異なる変化が認められたと解釈することができるであろう.

T 抗原と再発との関係については腫瘍組織内 T 抗原の有無は臨床経過と相関せず, 予後を推測する上で有用でないとの意見がある²⁴⁾. しかし腫瘍の cryptic T 抗原が陽性の症例は, 腫瘍の T 抗原が陽性, あるいは cryptic T 抗原が陰性の症例よりも浸潤, 再発などの頻度が低く⁴⁾, また腫瘍の組織学的異型度とは関係なく T 抗原陽性, あるいは cryptic T 抗原陰性の症例

の80%に2年以内に腫瘍再発がみられた報告がある⁵⁾。本編で対象とした症例は上皮内癌、あるいは上皮内癌の微小浸潤が認められた症例であるから、治療としては根治手術である膀胱全摘除術の施行例が多く、腫瘍のT抗原、cryptic T抗原の有無による膀胱内再発の症例ごとの検討は困難であった。そこでこれに代るものとして生検粘膜組織のT抗原、cryptic T抗原の有無と、生検部位と同一領域における腫瘍再発について累積非再発率を算出して検討した。この結果では累積非再発率は生検粘膜の組織学的所見とは無関係にT抗原陰性の領域がT抗原陽性の領域よりも高いことが示された。また通常は正常膀胱粘膜型といわれるT抗原陰性・cryptic T抗原陽性の領域が、正常粘膜にはみられないT抗原陽性型、あるいはT抗原陰性・cryptic T抗原陰性型の領域よりも累積非再発率が高い傾向認められ、これらの所見は統計学的にも有意であった。しかし再発腫瘍の組織学的異型度、深達度などにT抗原、cryptic T抗原の有無による差はみられなかった。また累積非再発率を生検粘膜の組織学的所見により層別に検討すると、正常粘膜ではT抗原の有無による有意差が認められていない。これらの成績からT抗原は再発、さらに浸潤性再発を予測する指標としては不十分と思われるが、その臨床的有用性は今後多数例による検討から評価されるべきものと考えられる。

さて膀胱の正常粘膜は通常はT抗原陰性、cryptic T抗原陽性とされている。そこで本研究の粘膜生検法で上皮内癌の微小浸潤を証明した生検粘膜と、上皮内癌のみに止まっていた生検粘膜についてT抗原、cryptic T抗原の検出結果を比較検討した。この成績では微小浸潤を証明した粘膜は上皮内癌のみの粘膜に比較してT抗原陽性率が有意に高く、cryptic T抗原陽性率は有意に低く、T抗原とcryptic T抗原の組み合わせでは正常型が少なく異常型が多いという所見が有意に認められた。上皮内癌に止まっている部分に比較すると、すでに微小浸潤をきたした上皮内癌は悪性度がより高いと考えるならば、上述のT抗原とcryptic T抗原の検出結果の差は潜在的悪性度の表現の一つとみなし得るであろう。

また生検粘膜に上皮内癌を証明した17検体の採取領域における再発を検討すると、累積非再発率はT抗原陰性の領域がT抗原陽性の領域よりも有意に高値を示した。ところがこのT抗原陽性領域における再発腫瘍の組織学的異型度はG2まで、深達度はpT1であった。すなわち再発したのは比較的低異型度、低浸潤の腫瘍で、上皮内癌のような高異型度の病変から生じた腫瘍とは考え難い。

以上の成績から組織内のT抗原とcryptic T抗原の検索は、膀胱粘膜の潜在的悪性度に関する情報の一つとなり得ることが示唆された。しかしながら再発腫瘍の浸潤傾向の予測などの具体的な問題、すなわち臨床的有用性ということになると必ずしも十分とはいえない。これに関してはT抗原は組織のみでなく、血清の抗T抗体価測定によっても評価され得る利点を有している。すなわち抗T抗体はすべてのヒト血清に存在するが、乳癌患者でその低下がみられ、抗T抗体価の低下は乳癌の細胞膜に露出したT抗原、あるいは血中へ逸脱したT抗原と抗T抗体が結合するためとする報告⁴⁵⁾がある。膀胱癌症例においても組織内のT抗原とともに血清の抗T抗体価測定という、局所的ならびに全身的な検索により本検査の臨床的有用性の向上が期待されるであろう。

結 語

1980年3月より1984年7月までの期間に111例の膀胱癌症例に対して165回の粘膜生検法を施行し、28症例、35回の検索において1カ所以上の生検粘膜に上皮内癌、あるいは上皮内癌の微小浸潤が認められた。この35回の粘膜生検法により得られた生検粘膜201検体、および主腫瘍の生検組織27検体を対象としてABC法を用いてT抗原およびcryptic T抗原を検出し、その臨床的意義について検討を行なった。

1. 主腫瘍の組織学的異型度別による検討では、T抗原陽性率はG2が22%、G3が56%とG3が高く、cryptic T抗原の陽性率はG2が86%、G3が50%とG2が高い傾向がみられたが、いずれも有意の差は認められなかった。また正常膀胱粘膜の表現型であるT抗原陰性・cryptic T抗原陽性の頻度はG2が67%、G3が22%で、G2が高い傾向がみられたが有意の差は認められなかった。

2. 生検粘膜の組織学的所見別によるT抗原陽性率は上皮内癌の微小浸潤43%、上皮内癌11%、移行上皮癌17%、上皮異形成8%、扁平上皮化生33%、増殖性膀胱炎33%、正常粘膜13%で、上皮内癌の微小浸潤が上皮内癌、正常粘膜などよりも有意に高かった ($P < 0.005$, $P < 0.001$)。

3. 生検粘膜の組織学的所見別によるcryptic T抗原陽性率は上皮内癌の微小浸潤38%、上皮内癌74%、移行上皮癌100%、上皮異形成82%、扁平上皮化生100%、増殖性膀胱炎100%、正常粘膜96%で、上皮内癌の微小浸潤が上皮内癌、増殖性膀胱炎、正常粘膜などよりも有意に低値であった ($P < 0.025$, $P < 0.05$, $P < 0.001$)。

4. T抗原および cryptic T抗原の有無による各種組み合わせの頻度は、上皮内癌の微小浸潤ではT抗原陽性43%, T抗原陰性・cryptic T抗原陰性36%, T抗原陰性・cryptic T抗原陽性が21%で、上皮内癌の微小浸潤が他の組織型と比較して正常型が少なく異常型が多いという所見が有意に認められた ($P<0.001$).

5. 生検部位と同一領域における累積非再発率は、T抗原陰性の領域が陽性の領域よりも有意に高く ($P<0.001$), また T抗原陰性・cryptic T抗原陽性の領域がT抗原陽性、あるいはT抗原陰性・cryptic 抗原陰性の領域よりも有意に高値であった ($P<0.005$) 生検粘膜における組織学的所見の層別の検討では、上皮内癌はT抗原陰性の領域が陽性の領域よりも累積非再発率が有意に高かった ($P<0.001$) が、正常粘膜の領域ではT抗原の有無による有意の差は認められなかった.

本論文の要旨は第36回日本泌尿器科学会西日本総会(出張)において発表した.

稿を終るにあたり、終始御指導、御校閲を賜った恩師仁平寛已教授に深謝いたします.

文 献

- 1) Babayan RK and Krane RJ: Carcinoma in situ of the bladder. *World J Urol* 1 : 70~73, 1983
- 2) Weinstein RS, Miller III AW and Pauli BU: Carcinoma in situ : Comments on the pathobiology of a paradox. *Urol Clin North Am* 7: 523~531, 1980
- 3) 井川幹夫: 膀胱癌症例に対する膀胱粘膜多部位生検に関する研究. 第3編: 膀胱粘膜多部位生検組織におよび ABH 抗原の検討. *泌尿紀要* 32 : 1649~1662, 1986
- 4) 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
- 5) Ohoka H, Shinomiya H, Yokoyama M, Ochi K, Takeuchi M and Utsumi S:Thomsen-Friedenreich antigen in bladder tumors as detected by specific antibody : A possible marker of recurrence. *Urol Res* 13: 47~50, 1985
- 6) 小田芳経・森下真一・小川隆義・守殿貞夫・石神襲次: 膀胱腫瘍と血液型抗原に関する研究. 第1報: 表在性膀胱腫瘍における T-Ag の意義. *西日泌尿* 46 : 1023~1026, 1984
- 7) 井川幹夫: 膀胱癌症例に対する膀胱粘膜多部位生検に関する研究. 第2編: 膀胱粘膜多部位生検の所見と臨床経過. *泌尿紀要* 32 : 1633~1647, 1986
- 8) Althausen AF, Prout GR Jr and Daly JJ : Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol* 116: 575~580, 1976
- 9) Farrow GM, Utz DC, Rife CC and Greene LF: Clinical observation on sixty-nine cases of in situ carcinoma of the urinary bladder. *Cancer Res* 37: 2794~2798, 1977
- 10) Utz DC, Hanash KA and Farrow GM : The plight of the patient with carcinoma in situ of the bladder. *J Urol* 103 : 160~164, 1970
- 11) Yates-Bell AJ : Carcinoma in situ of the bladder. *Brit J Surg* 58: 359~364, 1971
- 12) Chisholm GD and Wallace DM : In situ carcinoma of the bladder, *Bladder Tumors and Other Topics in Urological Oncology*, Pavone-Macaluso M, Smith PH and Edsmyr F, pp.83~86, Plenum Press, New York, 1980
- 13) De Voogt HJ : Primary and secondary carcinoma-in-situ, *Bladder Tumors and Other Topics in Urological Oncology*, Pavone-Macaluso M, Smith PH and Edsmyr F, pp.87~89, Plenum Press, New York, 1980
- 14) Melicow MM: Intra-urothelial cancer : Carcinoma in situ, Bowen's disease of the urinary system : Discussion of thirty cases. *J Urol* 68: 763~772, 1952
- 15) Farrow GM, Utz DC and Rife CC : Morphological and clinical observations of patients with early bladder cancer treated with total cystectomy. *Cancer Res* 36: 2495~2501, 1976
- 16) Melamed MR, Vousta NG and Grabstald H: Natural history and clinical behavior of in situ carcinoma of the human urinary bladder. *Cancer* 17: 1533~1545, 1964
- 17) Das G, Buxton NJC and Glashan RW : Invasive potential of superficial bladder can-

- cer. A study of the relative merits of predictive parameters. *Brit J Urol* 57: 32~36, 1985
- 18) Limas C, Lange P, Fraley EE and Vessella RL: A,B,H antigens in transitional cell tumors of the urinary bladder. Correlation with the clinical course. *Cancer* 44: 2099~2107, 1979
- 19) 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: 52~55, 1978
- 20) Johnson JD and Lamm DL: Prediction of bladder tumor invasion with the mixed cell agglutination test. *J Urol* 123: 25~28, 1980
- 21) Decenzo JM, Howard P and Irish CE: Antigenic deletion and prognosis of patients with stage A transitional cell bladder carcinoma. *J Urol* 114: 874~878, 1975
- 22) Finan PJ, Anderson JR, Doyle PT, Lennox ES and Bleehen NM: The prediction of invasive potential in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Brit J Urol* 54: 720~725, 1982
- 23) Javadpour N: Immunocytochemical localization of various markers in cancer cells and tumors. *Urology* 21: 1~7, 1983
- 24) Vafier LJA, Javadpour N, Worsham CGF and O'connell CKJ: Double blind comparison of T-antigen and ABO(H) cell surface antigens in bladder cancer. *Urology* 23: 348~351, 1984
- 25) 佐々木絹子・丸 彰夫・坂下茂夫・小柳知彦: 膀胱の Carcinoma in situ の臨床と Thomsen-Friedreich antigen の検討. *日泌尿会誌* 75: 269~277, 1984
- 26) Hsu SM, Raine L and Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29: 577~580, 1981
- 27) Hsu SM, Raine L and Fanger H: A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Am J Clin Pathol* 75: 734~738, 1981
- 28) 佐々木絹子: Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) 法を用いた表在性尿路腫瘍及び膀胱の Carcinoma in situ の ABH 同種抗原の検索. *日泌尿会誌* 74: 1326~1338, 1983
- 29) 猪野義典・広橋説雄・佐藤雄一・熊坂時子・手島伸一・下里 幸雄: Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) 法を用いた免疫およびレクチン組織化学. *病理と臨床* 1: 637~640, 1983
- 30) Lotan R, Skutelsky E, Danon D and Sharon N: The purification, composition, and specificity of the anti-T lectin from peanut (*Arachis hypogaea*). *J Biol Chem* 250: 8518~8523, 1975
- 31) Bird GWG: Anti-T in peanuts. *Vox Sang* 9: 748~749, 1964
- 32) Howard DR and Batsakis JG: Peanut agglutinin: A new marker for tissue histiocytes. *Am J Clin Pathol* 77: 401~408, 1982
- 33) Pereira MEA, Kabat EA, Lotan R and Sharon N: Immunochemical studies on the specificity of the peanut (*Arachis hypogaea*) agglutinin. *Carbohydr Res* 51: 107~118, 1976
- 34) Thomsen O: Ein vermehrungsfähiges Agens als Veranderer des isoagglutinatorischen Verhaltens der roten Blutkörperchen, eine bisher unbekannte Quelle der Fehlbestimmung. *Z Immun Forsch* 52: 85~107, 1927
- 35) Friedenreich V: Investigations into the Thomsen hemagglutination phenomenon. *Acta Pathol Microbiol Scand* 5: 59~101, 1928
- 36) 山口英夫: ABO血液型, 輸血管理, 織田敏次ら, 第1版, p.21, 永井書店, 大阪, 1978
- 37) Springer GF, Desai PR, Murthy MS, Yang HJ and Scanlon EF: Precursors of the blood group MN antigens as human carcinoma-associated antigens. *Transfusion* 19: 233~249, 1979
- 38) Springer GF and Desai PR: Cross-reacting carcinoma-associated antigens with blood group and precursor specificities. *Transplant Proc* 9: 1105~1111, 1977
- 39) Springer GF, Desai PR, Yang HJ and

- Murthy MS: Carcinoma-associated blood group MN precursor antigens against which all humans possess antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 7: 426~441, 1977
- 40) Springer GF and Desai PR: Human blood-group MN and precursor specificities: Structural and biological aspects. *Carbohydr Res* 40: 183~192, 1975
- 41) Uhlenbruck G, Pardoe GI and Bird GWG: On the specificity of lectins with a broad agglutination spectrum. II. Studies on the nature of the T-antigen and the specific receptors for the lectin of *Arachis hypogaea* (ground-nut). *Z Immun Forsch* 138: 423~433, 1969
- 42) Boorman KE and Dodd BE: The group-specific substances, A, B, M, N and Rh. Their occurrence in tissues and body fluids. *J Path Bact* 55: 329~339, 1943
- 43) Coon JS, McCall A, Miller III AW, Farrow GM and Weinstein RS: Expression of blood-group-related antigens in carcinoma in situ of the urinary bladder. *Cancer* 56: 797~804, 1985
- 44) Limas C and Lange P: A,B,H antigen detectability in normal and neoplastic urothelium. Influence of methodologic factors, *Cancer* 49: 2476~2484, 1982
- 45) 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

(1986年7月17日迅速掲載受付)