

子宮頸癌における CEA (carcinoembryonic antigen) の組織 内局在の免疫ペルオキシダーゼ (PAP) 法による検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 竹内正七教授)

小 幡 憲 郎 児 玉 省 二
半 藤 保 竹 内 正 七

Tissue Localization of CEA(carcinoembryonic antigen) in Cervical Carcinoma of the Uterus Utilizing Immunoperoxidase Technique (PAP method)

Norio OBATA, Shoji KODAMA, Tamotsu HANDO and Shoshichi TAKEUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine Niigata University, Niigata

(Director: Prof. Shoshichi Takeuchi)

概要 子宮頸部扁平上皮癌における CEA (carcinoembryonic antigen) の局在を免疫ペルオキシダーゼ法 (PAP 法) で検討した。

CEA は扁平上皮癌細胞, 腺癌細胞の細胞膜に局在しており, mucoepidermoid carcinoma の一例では細胞質と細胞膜の両者に CEA が局在していた。Keratinizing 型扁平上皮癌での CEA の組織内局在は, 角化癌細胞に限局しており, 非角化癌細胞に CEA の局在はみられなかった。

扁平上皮癌 (浸潤癌) 30例中21例, 頸部腺癌 4例中3例, 頸部 intraepithelial neoplasia 6例中2例で組織内 CEA 陽性であった。

組織内 CEA 陰性14例の術前血中 CEA 値は正常範囲 ($<2.5\text{ng/ml}$) であり, 組織内 CEA 陽性26例中19例の血中 CEA は 2.5ng/ml 以下であり, 7例の血中 CEA 値は, 上昇していた。血中 CEA 値が 2.5ng/ml 以下の33例中19例 (57.6%) は, 組織内 CEA 陽性であった。

扁平上皮癌の組織型による CEA の陽性率は, large cell non-keratinizing 型81%, keratinizing 型67%, small cell 型50%であり, small cell 型で最も CEA 陽性率が低い傾向を認めた。

頸部異型上皮と上皮内癌, 浸潤扁平上皮癌の CEA 陽性率は, 有意に異型上皮で低い ($p<0.01$) が, 上皮内癌と浸潤扁平上皮癌の CEA 陽性率に差を認めなかった。

組織内 CEA 陽性率と頸部扁平上皮癌の進展の程度 (進行期) との間には, 相関は認めなかった。

Synopsis Tissue localization of CEA (carcinoembryonic antigen) in uterine cervical carcinoma was studied by immunoperoxidase technique (PAP method).

CEA-activity in tissue specimens was found in 21 of 30 squamous cell carcinomas (70%), in 3 of 4 cervical adenocarcinomas (75%), and 2 of 6 cervical intraepithelial neoplasias. The CEA-activity rate in CIS and invasive squamous cell carcinoma was higher than that in severe dysplasia, while there was no difference of CEA-activity rate between CIS and invasive squamous cell carcinoma.

The serum CEA concentration was normal ($<2.5\text{ ng/ml}$) in cases where the tumors were CEA negative (14 cases), whereas the serum CEA was normal in 19 and elevated in 7 among 26 CEA active tumors.

In squamous cell carcinoma and adenocarcinoma, the total cell surfaces seemed to demonstrate CEA, whereas in one case of mucoepidermoid carcinoma both cytoplasm and cell membrane showed CEA-activity. In keratinized squamous cell carcinoma, it was almost exclusively keratinized tumor cells that showed CEA-activity.

The CEA-activity rate was 50% in small cell type, 81% in large cell non-keratinized type and 67% in keratinized type of cervical squamous cell carcinoma.

There was no correlation between the CEA-activity rate in tissue specimens and the clinical stage of cervical squamous cell carcinoma.

Key words: Immunoperoxidase technique•CEA•Cervical carcinoma

緒 言

CEA は、最も広範に研究されている腫瘍関連物質の一つであるが、炎症、良性腫瘍^{18) 23)}、および前癌病変²⁴⁾で血中 CEA が増加することが報告され、また正常大腸粘膜上皮⁶⁾に CEA が局在している。このように今日では、CEA はかならずしも悪性腫瘍に特異的な物質でないことが明らかとなつて¹⁾いる。

CEA は、血中へ積極的に分泌される蛋白である AFP (α_1 -fetoprotein) と異なり、細胞表面^{8) 16)}に糖皮 (glycocaryx⁹⁾) として存在し、外分泌される一種の粘液糖質であり、したがって癌組織中に含まれる CEA 量に比べ血中 CEA 量は極めて少ない¹⁰⁾。血中 CEA 量は腫瘍内 CEA 量 (腫瘍内 CEA 濃度×腫瘍量)、血中への漏出の程度、および肝機能 (CEA クリアランス²⁰⁾) 等に影響される。血中 CEA 量が正常範囲内であることと、その腫瘍組織が CEA を産生していないことは、平行でない^{16) 17)}。腫瘍組織での微量な CEA 産生は、抗 CEA 抗体を用いて免疫組織化学的方法で証明できる¹⁵⁾。

免疫組織化学的方法として、酵素抗体法、蛍光抗体法があるが、酵素抗体法は蛍光抗体法に比べ多くの優れた特徴を有している²²⁾。さらに酵素抗体法のうち、ペルオキシダーゼ・抗ペルオキシダーゼ抗体複合物を用いた PAP 法 (Sternberger et al. 1970)²¹⁾ は従来用いられている sandwich 法に比べ感度が優れている⁵⁾。

CEA の腫瘍組織内局在を検索することは、癌

の臨床的マーカーとしての CEA の意義を解明するうえで、また、前癌病変、上皮内癌および浸潤癌の組織型による CEA 局在の差異を検討することは腫瘍の oncogenesis を知るうえで重要な示唆を与えるものと期待される¹⁰⁾。

今回、CEA の腫瘍組織内局在を子宮頸癌の組織型および血中 CEA との相関で PAP 法を用いて検討し興味ある知見を得たので報告する。

研究対象および方法

研究対象

高度異型上皮 1 例、上皮内癌 5 例、扁平上皮癌 (浸潤癌) 30 例、および子宮頸部腺癌 4 例を研究対象とした。扁平上皮癌 (浸潤癌) の進行期は、I 期 9 例、II 期 17 例、III 期 4 例であり、また頸部腺癌は、adenoma malignum 1 例、分化型腺癌 3 例である。なお、mucoepidermoid carcinoma は扁平上皮癌に含めて検討した。

血清 CEA

血清 CEA は RIA 法で測定し、<2.5ng/ml (正常値群)、2.5~5.0ng/ml、>5.0ng/ml 群の 3 群に分けた。

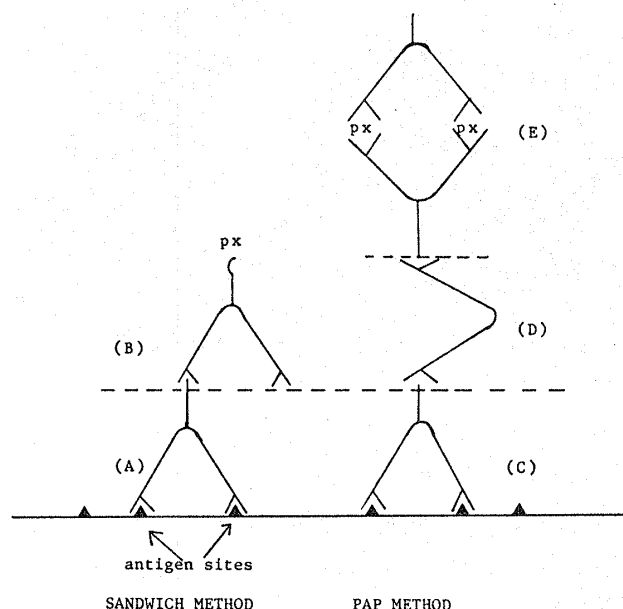
酵素抗体法

酵素抗体法は Sternberger et al. (1970)²¹⁾ が開発した PAP 法を使用した。PAP 法はペルオキシダーゼ・抗ペルオキシダーゼ複合物を用いる間接酵素抗体法の 1 種である。その原理は組織細胞中の抗原と第一次抗体を反応させ、次に未標識の第二次抗体を作用させると 2 価の第二次抗体の中には第一次抗体と結合しながらなお free の抗原

表 1 PAP method

- 1) Paraffin sections——xylol——alcohol
- 2) Block endogenous peroxidase activity with methanol containing 0.5% hydrogen peroxide, for 30 min.
- 3) Normal swine serum, 1/5 in 0.5 M tris buffer (pH 7.6), for 5 min.
- 4) Optimally diluted rabbit antisera, incubation for 30 min. at 37°C in moist chamber: rabbit anti-AFP 1/50, rabbit anti-CEA 1/50 in tris buffer (pH 7.6)
- 5) Washing in two 5-minute changes of tris saline buffer
- 6) Swine anti-rabbit serum IgG, 1/20 in tris buffer, incubation for 30 min. at 37°C in moist chamber
- 7) Washing in two 5-minute changes of tris saline buffer
- 8) PAP, 1/50 in tris buffer, incubation for 30 min. at 37°C in moist chamber
- 9) Washing in two 5-minute changes of tris saline buffer
- 10) Karnovskys solution, for 5-10 min. at room temperature
- 11) Dehydrate and mount in DPX

図1 Immunoperoxidase Procedure: (A), Rabbit anti- Δ ; (B), Peroxidase-conjugated goat anti-rabbit serum IgG; (C), Rabbit anti- Δ ; (D), Swine anti-rabbit serum IgG; (E), Peroxidase-rabbit antiperoxidase antibody immune complex; px, peroxidase antigen



結合基を残しているものが必ず存在するので、これをさらに第一次抗体と同種の動物で作製したペルオキシダーゼ・抗ペルオキシダーゼ抗体複合物 (soluble horseradish peroxidase-antiperoxidase complex, PAP) と反応結合させ、最後に酵素活性の呈色反応を行なうことによつて抗体の所在を検出するというものである (図1)。本法施行の実際を表1に示した (表1)。

各症例4枚以上のホルマリン固定、パラフィン包埋標本で PAP 法を施行した。抗 CEA 抗体は、Dakopatts (Denmark) 社製 rabbit anti-human

CEA 抗体をヒト白血球で吸着後使用した。

PAP 法のコントロールは第一次抗体のかわりに同種動物 (rabbit) の非免疫血清を用いた。表1に示すように background staining を非免疫 swine serum で、また組織中の内因性ペルオキシダーゼ活性、偽ペルオキシダーゼ活性を0.5%過酸化水素水加メタノール液で除去した。

結 果

A) 子宮頸部病変と CEA の組織内局在 (表2)

高度異型上皮、上皮内癌、浸潤癌 (扁平上皮癌)、腺癌の組織内局在陽性率 (CEA) はそれぞれ100% (1/1), 20% (1/5), 70% (21/30), 75% (3/4) であった。前癌病変である高度異型上皮ならびに上皮内癌組織で CEA 産生を認め、陽性率は腺癌、次いで浸潤癌で高率であった。正常子宮頸部腺組織ならびに結合織は陰性であった。

扁平上皮癌細胞、異型細胞、腺癌細胞の細胞膜に CEA が限局しており、ことに扁平上皮癌細胞、異型細胞では、細胞膜全周で CEA 陽性であった (写真1, 2)。Mucoepidermoid carcinoma の1例では、癌細胞膜と細胞質内に CEA が局在していた。

CEA 陽性例の血中 CEA 値は、高度異型上皮1例、上皮内癌1例、扁平上皮癌16例、腺癌1例が 2.5ng/ml 未満であり、扁平上皮癌3例、腺癌1例が 2.5~5.0ng/ml、さらに扁平上皮癌2例、腺癌1例が、5.0ng/ml 以上の高値を示した。

CEA 陰性14例の血中 CEA 値は総て 2.5ng/ml 未満であった。

血中 CEA 値と CEA の組織内局在の関係は、

表2 Tissue CEA activity and serum CEA concentration in 40 patients with cervical neoplasms

Serum CEA concentration	Tissue CEA activity								Total
	Positive				Negative				
	Dys.	CIS	Inv. sq. car.	Adenocar.	Dys.	CIS	Inv. sq. car.	Adenocar.	
<2.5 (ng/ml)	1	1	16	1	0	4	9	1	33
2.5~5.0	0	0	3	1	0	0	0	0	4
>5.0	0	0	2	1	0	0	0	0	3
Total	1	1	21	3	0	4	9	1	40

Dys.: dysplasia, CIS: carcinoma in situ, Inv. sq. car.: invasive squamous cell carcinoma, Adenocar.: adenocarcinoma

写真1 CEA の組織内局在 (子宮頸部扁平上皮癌, PAP 法, $\times 100$)

扁平上皮癌細胞膜に一致して CEA が局在している。細胞質は CEA 陰性である。Large cell non-keratinizing 型扁平上皮癌。

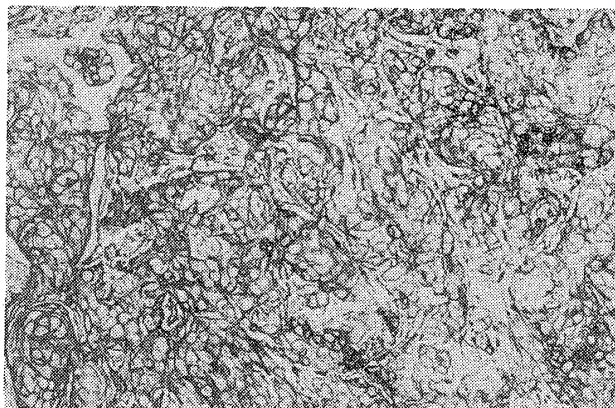
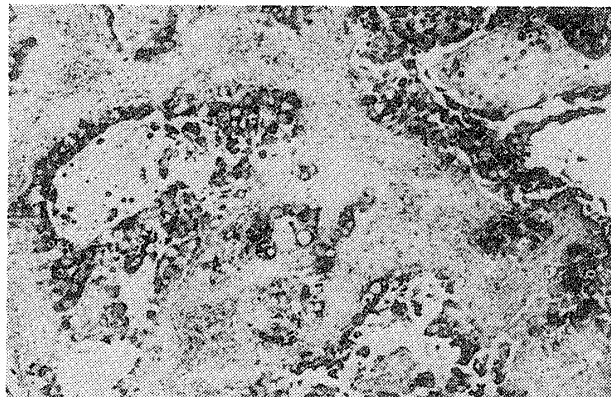


写真2 CEA の組織内局在 (子宮頸部腺癌, PAP 法, $\times 40$)

CEA 陽性部位は腺癌細胞膜に一致して認められる。Background staining はほとんどみられない。



血中 CEA が2.5ng/ml 未満33例中19例 (57.6%) が CEA 陽性, 14例 (42.4%) が CEA 陰性であった。血中 CEA 値が 2.5~3.0ng/ml の4例, 5.0ng/ml 以上の3例は全例 CEA 陽性であった。

B) 扁平上皮癌の組織型と CEA の組織内局在 (表3)

扁平上皮癌 (浸潤癌) 30例について, その組織型と CEA の組織内局在の相関を検討した。扁平上皮癌の組織型は WHO 分類により, small cell, large cell non-keratinizing, keratinizing の3型に分類した。

組織型別の組織内 CEA 陽性率は small cell 型50% (4/8), large cell non-keratinizing 型81.3% (13/16), keratinizing 型66.7% (4/6) であり,

large cell non-keratinizing 型は small cell 型に比べ CEA 陽性率が高率であった。Keratinizing 型での CEA の組織内局在は例外なく角化型癌細胞に限られ非角化成分は CEA 陰性であった (写真3)。

組織型, 組織内 CEA および血中 CEA 値の相関をみると, 組織内 CEA 陽性21例では, small cell 型4例全例の血中 CEA 値は 2.5ng/ml 未満と正常値であったのにたいして, large cell non-keratinizing 型9例の血中 CEA 値は 2.5ng/ml 未満, 2例は 2.5~5.0ng/ml, 2例は 5.0ng/ml 以上であり, また keratinizing 型3例の血中 CEA は 2.5ng/ml 未満であり1例の血中 CEA 値は 2.5~5.0ng/ml であった。組織内 CEA 陰性9例の血中 CEA 値は組織型にかかわらず全例正常範

表3 Tissue CEA activity and serum CEA concentration in 30 patients with invasive squamous cell carcinoma of uterine cervix according to tumor cell type

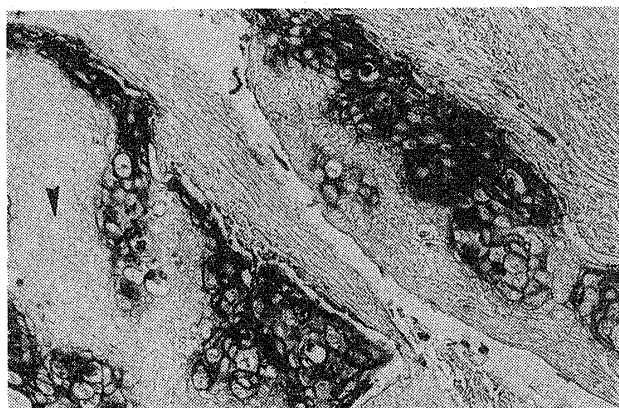
Serum CEA concentration	Tissue CEA activity						Total
	Positive			Negative			
	Small cell	Large cell nonkerat.	Kerat. sq. cell	Small cell	Large cell nonkerat.	Kerat. sq. cell	
<2.5 (ng/ml)	4	9	3	4	3	2	25
2.5~5.0	0	2	1	0	0	0	3
>5.0	0	2	0	0	0	0	2
Total	4	13	4	4	3	2	30

Tumor cell type; small cell, large cell nonkeratinizing, keratinizing squamous cell

表4 Tissue CEA activity and clinical stage of invasive squamous cell carcinoma according to tumor cell type

Clinical stage	Tumor cell type						Total
	Small cell		Large cell nonkerat.		Kerat. sq. cell		
	Positive	negative	Positive	Negative	Positive	Negative	
I	$\frac{1}{1/2} \quad 1$		$\frac{4}{4/5} \quad 1$		$\frac{1}{1/2} \quad 1$		6/9 (66.7%)
II	$\frac{3}{3/6} \quad 3$		$\frac{7}{7/8} \quad 1$		$\frac{2}{2/3} \quad 1$		12/17 (70.6%)
III	— —		$\frac{2}{2/3} \quad 1$		$\frac{1}{1/1} \quad 0$		3/4 (75.0%)
Total	$\frac{4}{4/8} \quad 4$ (50.0%)		$\frac{13}{13/16} \quad 3$ (81.3%)		$\frac{4}{4/6} \quad 2$ (66.7%)		21/30 (70%)

写真3 Keratinizing 型扁平上皮癌と CEA の組織内局在 (PAP 法)



CEA は角化型腫瘍細胞膜に局在しており，非角化型腫瘍細胞 (▲) には CEA の局在はみられない。

冊 (<2.5ng/ml) であつた。

C) 組織内 CEA 局在と臨床進行期 (表4)

臨床進行期別にみた組織内 CEA 活性の陽性率はⅠ期66.7% (6/9), Ⅱ期70.6% (12/17), Ⅲ期75.0% (3/4) であり, 進行期による組織内 CEA 活性の陽性率に差を認めなかつた。

組織内 CEA 陽性率と臨床進行期の相関を組織型別に比較すると, small cell 型では, Ⅰ期50% (1/2), Ⅱ期50% (3/6), large cell non-keratinizing 型では, Ⅰ期80% (4/5), Ⅱ期87.5% (7/8), Ⅲ期66.7% (2/3), keratinizing 型では, Ⅰ期50% (1/2), Ⅱ期66.7% (2/3), Ⅲ期100% (1/1) であり, 組織型別に比べても臨床進行期による

CEA の陽性率に差を認めなかつた。

考 案

悪性腫瘍における carcinoembryonic antigens の動態に関する研究は多数報告されており, 婦人科悪性腫瘍では, 子宮頸癌 および卵巣 mucinous cystadenocarcinoma で血中 CEA^{3) 7) 26)} が, 卵巣胚細胞悪性腫瘍で血中 AFP, HCG (human chorionic gonadotropin) が臨床的^{13) 14)} マーカーとして日常用いられている。卵巣胚細胞悪性腫瘍では α_1 -fetoprotein (AFP), HCG の腫瘍組織内局在^{2) 19)} が明らかとなっており, これらの carcinoembryonic antigens の臨床的マーカーとしての意義が解明されている。ところで, CEA は細胞膜上に glycocaryx (糖皮) として存在⁹⁾ しており血中へ積極的に分泌される蛋白である α_1 -fetoprotein, HCG とは異なり腫瘍組織中の CEA 量と比べ血中 CEA 量は極めて少ない¹⁰⁾。また血中に入つた CEA は肝で速やかに代謝されると推定され²⁰⁾, 患者血中 CEA 値の意味は肝における CEA のクリアランスを考慮に入れなければならない¹⁾。このように血中 CEA 値は腫瘍組織での CEA の産生とかならずしも平行しないことが知られている¹⁰⁾。

CEA の生物学的役割は現在なお不明な点が多いが, 酵素抗体法あるいは蛍光抗体法などで CEA の組織内局在をみると CEA は大腸癌細胞^{8) 16)} のみならず正常大腸腺細胞⁹⁾ の apical border に局

在しており、電顕的には、glycocaryx (糖皮) として存在している⁹⁾こと等から、CEA は細胞を消化液や細菌性の蛋白質の攻撃から防御しているとも考えられる。子宮頸部扁平上皮癌細胞では細胞膜全周に CEA が存在している¹⁰⁾。CEA は、sialic acid を相当量含有している¹¹⁾²⁸⁾こと等から、CEA の免疫保護物質としての役割が注目され今後の検討がまたれる。

組織レベルでの CEA 産生の有無を子宮頸癌で検索した報告は少ない。酵素抗体法を用いて多数例を検索した Wahlström et al. (1979)²⁷⁾ は、高度異型上皮の32% (9/28)、上皮内癌の68% (19/28)、浸潤癌の67.3% (72/107) で、組織内 CEA が陽性であったと報告している。酵素抗体法を用いた CEA の組織内局在の検索は、著者らの他に Goldenberg et al. (1976)¹⁰⁾、山崎ら (1977)⁴⁾、Rutanen et al. (1978)¹⁷⁾ が報告しており各報告者の浸潤癌での CEA の陽性率は著者らの成績とほぼ同様であった。子宮頸部腺癌組織の CEA 陽性率は、100% (2/2)⁴⁾、77.8% (7/9)¹⁷⁾ と報告されており、著者らの検索では75% (3/4) であった。子宮頸部腺癌組織の CEA 陽性率が扁平上皮癌と比べ高率であるとする報告はみられない。

各報告者⁴⁾¹⁰⁾¹⁷⁾²⁷⁾の成績と著者の成績をまとめて子宮頸部病変での CEA 陽性率をみたのが表5

表5 CEA activity in tissue specimen of uterine cervical neoplasia by immunoperoxidase technique

Type of neoplasia	Tissue CEA activity		Total
	Positive	Negative	
Dysplasia	20	45	65
Carcinoma in situ	23	18	41
Invasive squamous cell carcinoma	115	55	170
Total	158	118	276

である。異型上皮の30.8% (20/65)、上皮内癌の56.1% (23/41)、浸潤癌の67.6% (115/170) で CEA 陽性であった。異型上皮の30.8%が CEA 陽性であることは CEA が悪性腫瘍に特異的物質でないことを示唆している。異型上皮の24% (11/45) で血中 CEA レベルが 2.5ng/ml 以上で

あるとする報告²⁴⁾がみられ、また、良性疾患で血中 CEA レベルが上昇するという報告¹⁵⁾もみられる。上皮内癌と浸潤癌の組織内 CEA の陽性率に差がみられず ($p>0.05$)、異型上皮と上皮内癌あるいは浸潤癌の CEA 陽性率に差がみられた ($p<0.01$)。上皮内癌と浸潤癌の CEA 陽性率に差がないことは、扁平上皮癌の進行の程度 (進行期) による CEA の陽性率に全く差がないとする Wahlström et al. (1979) および著者らの成績と同様に CEA の産生という点では、上皮内癌細胞と浸潤癌細胞に細胞生物学的差がないことを示唆している。これらの事実は、CEA が癌に特異的なものではないとしても腫瘍細胞の癌化と CEA 産生が密接に関連していることを強く示唆している。CEA 陽性異型上皮 (前癌病変) が CEA 陰性異型上皮にくらべより癌化しやすいか否かは、oncogenesis における CEA の役割を明らかにするうえで興味深いものがある¹⁰⁾。

CEA 陽性腫瘍は CEA 陰性腫瘍に比べより aggressive であるとする報告があるが、Wahlström et al. (1979) は、子宮頸癌の5年後生存率に CEA の組織内局在の有無による差を認めなかったとしている。

癌の進行にともない血中 CEA 陽性率が増加する³⁾⁷⁾がこれは腫瘍量の増大による腫瘍内 CEA 量の増加によるもので、癌の進行により組織内 CEA 陽性率の増加はみられない²⁷⁾。

子宮頸部扁平上皮癌の組織型と、腫瘍内 CEA 陽性率の関連をみた報告はほとんどない。著者らの検討では、large cell non-keratinizing 型で最も CEA 陽性率が高く、small cell 型で最も低く、Goldenberg et al. (1976) は、未分化扁平上皮癌の CEA 陽性率は、中等度分化型扁平上皮癌に比べ低いと報告している。胃、大腸等の内胚葉由来組織では分化癌で¹⁾、子宮内膜癌、卵巣腺癌では未分化癌²⁵⁾²⁶⁾で血中 CEA 陽性率が高く、組織発生の違いによる CEA 産生と組織分化度との相関の差の理由は不明である¹⁷⁾。

免疫ペルオキシダーゼ法による CEA の検出感度は、ホルマリン固定パラフィン包埋標本では

3.0~5.0ng/g (組織内 CEA 濃度) であり, メタノール固定標本では検出感度はこれよりやや良好である¹⁰⁾.

血中 CEA 値は, 腫瘍組織内 CEA 量 (腫瘍量×CEA 濃度) の他に多くの因子により影響される. したがって, 血中 CEA 値が正常範囲内であることは, その腫瘍が CEA を産生していないことと平行でない. 著者らの検討では, 血中 CEA が正常値 (<2.5ng/ml) の33例中19例 (57.6%) で組織内 CEA が陽性であった. 子宮頸癌を含めた悪性腫瘍で, 血中 CEA 値と CEA の局在の有無を検討した報告¹⁶⁾¹⁷⁾では, 血中 CEA が 2.5ng/ml 未満例の20~30%で組織内 CEA の局在が認められたとしている. これらの報告の組織内 CEA 陽性率は著者らの成績に比べて低いが, これは, 検索対象の違いおよび PAP 法と sandwich 法という免疫ペルオキシダーゼ法の方法論の違いによる検出感度の差⁵⁾²²⁾によるものと考えられる.

文 献

1. 平井秀松: Carcinoembryonic antigen (CEA). 総合臨床, 27: 429, 1978.
2. 小幡憲郎, 児玉省二, 半藤 保, 竹内正七: 酵素抗体法による 卵巣悪性胚細胞腫における AFP, HCG 及び CEA の細胞内局在の研究. 日産婦誌, 32: 757, 1980
3. 佐藤芳昭, 鳥取孝成, 樋口 朗, 半藤 保, 竹内正七: 婦人科癌での癌胎児抗原 Carcinoembryonic antigen の動態とその臨床的意義に関する考察. 日産婦誌, 29: 515, 1977.
4. 山崎正人, 上田外幸, 佐藤安子, 井上正樹, 平松恵三, 倉智敬一: 子宮頸癌における Carcinoembryonic antigen の免疫組織学的研究. 日産婦誌, 30: 345, 1978.
5. Burns, J.: Background staining and sensitivity of the unlabelled antibody-enzyme (PAP) method. Comparison with the peroxidase labelled antibody sandwich method using formalin fixed paraffin embedded material. Histochem., 43: 291, 1975.
6. Burtin, P., Sabine, M.C. and Chavanel, G.: A comparative study of the localization of CEA and NCA2 in cancerous and normal gastrointestinal tissues. Int. J. Cancer, 19: 634, 1977.
7. DiSaia, P.J., Morrow, C.P., Haverback, B.J. and Dyce, B.J.: Carcinoembryonic antigen in cancer of the female reproductive system; serial plasma values correlated with disease state. Cancer, 39: 2365, 1977.
8. Gold, P., Gold, M. and Freedman, S.O.: Cellular location of carcinoembryonic antigens of the human digestive system. Cancer Res., 28: 1331, 1968.
9. 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, 1970.
10. 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, 1976.
11. Krupey, J., Gold, P. and Freedman, S.O.: Physicochemical studies of the carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J. Exp. Med., 128: 387, 1968.
12. Levin, L., McHardy, J.E., Poulton, T.A., Curling, O.M., Kitau, M.J., Neville, A.M. and Hudson, C.N.: Tumor-associated immune responses and isolated carcinoembryonic antigen and alpha fetoprotein level related to survival in ovarian cancer patients. Br. J. Cancer, 33: 363, 1976.
13. Norgaard-Pedersen, B. and Teilum, G.: Serum alpha-fetoprotein as a marker for endodermal sinus tumor (yolk sac tumor) or a vitelline component of 'teratocarcinoma'. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. A, 83: 573, 1975.
14. Perlin, E., Engeler, J.E., Edson, M., Karp, D., McIntire, K.R. and Waldman, T.A.: The value of serial measurement of both human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein for monitoring germinal cell tumor. Cancer, 37: 215, 1976.
15. Primus, F.J., Wang, R.H., Sharkey, R.M. and Goldenberg, D.M.: Detection of carcinoembryonic antigen in tissue sections by immunoperoxidase. J. Immunol. Methods, 8: 267, 1975.
16. Rogalsky, V.Y.: Variations in carcinoembryonic antigen localization in tumors of the colon. J. Natl. Cancer Inst., 54: 1061, 1975.
17. Rutanen, E.M., Lindgren, J., Sipponen, P., Stenman, U.H., Saksela, E. and Seppälä, M.: Carcinoembryonic antigen in malignant and nonmalignant gynecologic tumors. Circulating levels and tissue localization. Cancer, 42: 581, 1978.
18. Seppälä, M., Pihko, H. and Ruoslahti, E.: Carcinoembryonic antigen and alpha-fetoprotein

- in malignant tumors of the female genital tract. *Cancer*, 35: 1377, 1975.
19. Shirai, T., Itoh, T., Yoshiki, T., Noro, T., Tomino, T. and Hayasaka, T.: Immunofluorescent demonstration of alpha-fetoprotein and other plasma proteins in yolk sac tumor. *Cancer*, 38: 1661, 1976.
 20. Shuster, J., Silverman, M. and Gold, P.: Metabolism of human carcinoembryonic antigen in xenogeneic animals. *Cancer Res.*, 33: 65, 1973.
 21. Sternberger, L.A., Hardy, P.H., Cuculis, J.J. and Meyer, H.G.: The unlabelled antibody enzyme method of immunochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.*, 18: 315, 1970.
 22. Taylor, C.R.: Immunoperoxidase techniques. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 102: 113, 1978.
 23. van Nagell, J.R. Jr., Meeker, W.R., Parker, J.C. Jr. and Harralson, J.D.: Carcinoembryonic antigen in patients with gynecologic malignancy. *Cancer*, 35: 1372, 1975.
 24. van Nagell, J.R. Jr., Meeker, W.R., Parker, J.C. Jr., Kashmiri, R. and McCollum, V.: Carcinoembryonic antigen in intraepithelial neoplasia of the uterine cervix. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 126: 105, 1976.
 25. van Nagell, J.R. Jr., Donaldson, E.S., Wood, E.G., Sharkey, R.M. and Goldenberg, D.M.: The prognostic significance of carcinoembryonic antigen in the plasma and tumors of patients with endometrial adenocarcinoma. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 128: 308, 1977.
 26. van Nagell, J.R. Jr., Donaldson, E.S., Gay, E.C., Sharkey, R.M., Rayburn, P. and Goldenberg, D.M.: Carcinoembryonic antigen in ovarian epithelial cystadenocarcinoma; The prognostic value of tumor and serial plasma determinations. *Cancer*, 41: 2335, 1978.
 27. Wahlström, T., Lindgren, J. and Seppälä, M.: Presence of carcinoembryonic antigen in tumor cells lacks prognostic significance in epidermoid carcinoma of the uterine cervix.: in *Carcino-Embryonic Proteins*, vol. II. (ed. Lehmann, E.G.), 181, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.
 28. Westwood, J.H., Bessell, E.M., Bukhari, M.A., Thomas, P. and Walker, J.M.: Studies of the structure and function of carcinoembryonic antigen (CEA). I. Some deductions on the basis of chemical degradations. *Immunochemistry*, 11: 811, 1974.

(No. 4651 昭55・2・7 受付)