

子宮内膜の癌化に伴う Lewis 抗原群の変化

大阪大学医学部産科婦人科学教室

*大阪府立母子保健総合医療センター病理部

井上 正樹 笹川 寿之 清水千賀子 清水 廣
斉藤 淳子 上田 外幸 谷沢 修 中山 雅弘*

Altered Expression of Lewis Antigens Associated with Malignant Transformation in Endometrial Tissues

Masaki INOUE, Toshiyuki SASAGAWA, Chikako SHIMIZU,
Hiromu SHIMIZU, Junko SAITO, Gaiko UEDA,
Osamu TANIZAWA and Masahiro NAKAYAMA*

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University Medical School, Osaka

**Department of Pathology, Osaka Medical Center and Research Institute
for Maternal and Child Health, Osaka*

概要 近年、種々の臓器で癌化に伴う細胞表面の糖鎖抗原の変化が報告されている。われわれは代表的な糖鎖抗原である Lewis 抗原群の発現を胎児子宮内膜22例、成人正常子宮内膜49例、子宮内膜癌67例について、酵素抗体 Avidin-Biotin-Complex (ABC) 法を用いて免疫組織学的に検討し、次の結果を得た。

内膜癌組織には、正常組織と比較し Lewis-a, Lewis-b, Lewis-Y 抗原の発現頻度の増加と Lewis-X 抗原の発現頻度の低下を認めた。さらに、Lewis-b 抗原の発現が Lewis-a 抗原のそれより著明であることより、癌における fucose 転移の亢進が示唆された。さらに、癌組織における Lewis-b 抗原の発現増加は Lewis-Y 抗原のそれよりも著明であること、また Lewis-a 抗原の発現は癌組織に著明であるが、Lewis-X 抗原の発現は極めて低いことより、癌性変化として I 型糖鎖の重要性が示唆された。胎児子宮内膜には成人正常内膜に比し、Lewis-b, Lewis-Y 抗原の発現頻度の増加が認められた。また、Lewis 抗原群の発現は成人正常内膜と癌組織との中間の様式を示した。これらのことより、癌組織が糖鎖抗原の発現上からも胎児性格を有することが示された。

以上のように、子宮内膜の癌化に伴う Lewis 抗原群の変化が示されたが、その細胞生物学的な意味については今後の検討課題である。

Synopsis Fetal, normal adult, and malignant tissues of the uterine endometrium were examined by immunoperoxidase staining for Lewis antigens. Pronounced expression of Lewis-a, Lewis-b, and Lewis-Y antigens in malignant tissues was observed, compared with that in normal adult tissues. Moreover, the amplified expression of Lewis-b antigen was considerably higher than that of Lewis-a and Lewis-Y antigens. On the other hand, Lewis-X antigen was less expressed in malignant tissues than in normal adult tissues. These results suggest that fucose-transferase activity might be increased in malignant tissues and that the type I carbohydrate chain may play a role in the malignant transformation. In addition, Lewis-b and Lewis-Y antigens can be considered to be oncofetal antigens since they were frequently expressed in fetal and malignant tissues, but not in normal adult tissues. However, the functional significance of these changes in the expression of Lewis antigens remains to be investigated.

Key words: Tumor marker • Lewis antigen • Blood group antigen • Carbohydrate antigen • Endometrial cancer

緒 言

細胞融合法によるモノクローナル抗体の作製の確立以来、癌細胞をマウスに免疫して多くのモノクローナル抗体が作られてきた。しかし、これら

の抗体の認識抗原の多くは癌特異的ではなく、正常組織にしばしば存在する血液型物質およびその関連の糖鎖抗原であることが判明し、癌特異抗原に関する側面では、当初期待されたほどの結果は

得られなかつた。しかし、反面、これらモノクローナル抗体の導入は細胞相互間の認識、細胞の増殖、分化に重要な役割をになうとされる細胞表面の糖鎖抗原の解析に大きな進歩をもたらした⁶⁾⁷⁾。

代表的な糖鎖抗原である血液型抗原の癌性変化は比較的早くより種々の臓器で検討されてきたが⁶⁾⁷⁾、最近では、子宮内膜組織にもモノクローナル抗体を用いた Avidin-Biotin-Complex (ABC) 法による特異性の高い免疫染色⁸⁾が導入され、癌化に伴う、不適合型抗原の出現、前駆体 H 抗原の蓄積、T 抗原の出現、Lewis-a, Lewis-b 抗原が著明に発現することが報告されている¹⁾⁹⁾。さらに Lewis-b, H 抗原は胎児子宮内膜にも強く発現することから、これら抗原の癌胎児性格も指摘されている⁹⁾。

今回の研究では、Lewis-a, Lewis-b 抗原に加えて、それらの立体異性体である Lewis-X, Lewis-Y 抗原の胎児子宮内膜、成人子宮内膜、および子宮内膜癌組織について免疫染色を施し、癌化に伴う Lewis 抗原群の相互変化を立体的に検証した。

材料と方法

子宮内膜癌および成人正常子宮内膜組織は、それぞれ大阪大学医学部産婦人科で手術された67例の子宮内膜癌症例、49例の子宮筋腫症例の摘出子宮より採取した。胎児子宮内膜組織は大阪府立母子保健総合医療センター病理部による22例（妊娠16週～25週）の流早産児の剖検材料より採取した。これら標本より10%ホルマリン固定、パラフィン包埋薄切切片を作成し、Avidin-Biotin-Complex (ABC) 法による免疫染色を施した⁸⁾。使用した抗 Lewis-a, 抗 Lewis-b 抗体は Biomedical 社(カナダ)より購入し、抗 Lewis-X, 抗 Lewis-Y 抗体は箱守仙一郎博士(米国)より提供を受けた。抗

Lewis-a, 抗 Lewis-b 抗体は200倍、抗 Lewis-X, 抗 Lewis-Y 抗体は10倍希釈し、第1抗体として用いた。免疫染色は VECTASTAIN ABC Kit (Vector 社, 米国) を利用した。発色には 0.1%3.3-diaminobenzidine-tetrahydrochloride-0.02% H_2O_2 を用い、ヘマトキシリン液により軽い核染を加えた。陰性コントロールとして、第1抗体としてマウス血清を用いた。陽性コントロールとして唾液腺組織を用いた。

抗原の発現程度は、染色切片を光学顕微鏡で観察し、下記のごとく0～4点に分類し、スコア化した。組織中の全細胞が陰性；0点、0～10%の細胞が陽性；1点、10～50%の細胞が陽性；2点、50～90%の細胞が陽性；3点、90～100%の細胞が陽性；4点とした。また各症例群の平均スコアは各群の症例のスコアの総和を症例数で除したものとした。さらに、xy座標軸上に Lewis 抗原群の染色スコアを取り、各症例の染色スコアをプロットし、症例群間における変化を検討した。

結 果

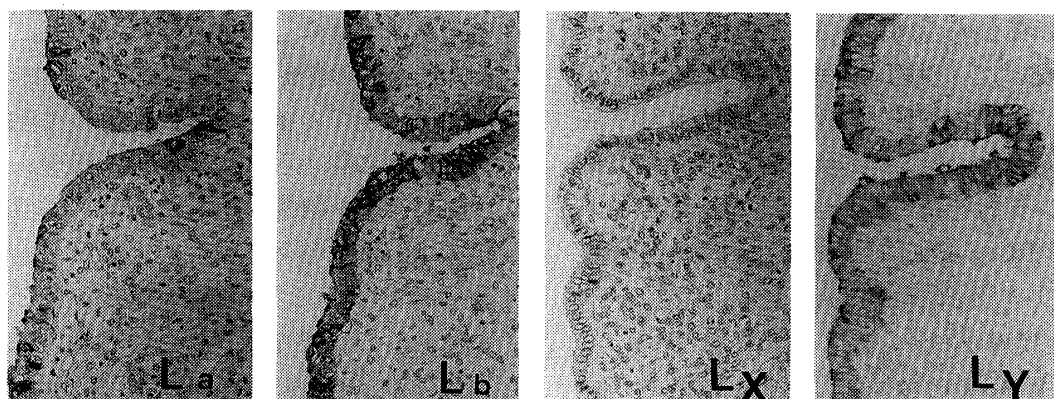
1. 胎児正常子宮内膜

Lewis-a 抗原は22例中9例の腺上皮細胞の先端部に認められたのに反し、Lewis-b 抗原は22例中21例と陽性率が高く、主として腺細胞質全体に認められた。Lewis-X 抗原は21例で陰性であったが、Lewis-Y 抗原は全症例で認められ、22例中17例で50%以上の腺上皮細胞が陽性を示し、通常は細胞質全体が陽性であった(表1, 写真1)。抗原の発現が強くみられた Lewis-b と Lewis-Y 抗原とを比較すると、すべての症例でII型糖鎖の Lewis-Y 抗原の発現がI型糖鎖の Lewis-b 抗原の発現と同等あるいは、それ以上を示した(図1A)。

表1 Lewis 抗原群の胎児子宮内膜、成人正常内膜および内膜癌組織における反応性。

抗原	胎児子宮内膜 (22例)					成人正常内膜 (49例)					子宮内膜癌 (67例)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Lewis-a	13	5	4	0	0	26	16	6	1	0	11	7	18	24	6
Lewis-b	1	10	10	1	0	27	17	5	0	0	7	9	7	15	29
Lewis-X	21	1	0	0	0	14	16	11	6	2	40	7	16	4	0
Lewis-Y	0	1	4	4	13	8	17	10	7	7	1	3	13	20	30

*: 染色スコアは“材料と方法”参照のこと。各カラムの数字は症例数を示す。

写真1 胎児子宮内膜の免疫染色像, 酵素抗体 ABC 法, $\times 66$.

La : Lewis-a 抗原, Lb : Lewis-b 抗原, LX : Lewis-X 抗原, LY : Lewis-Y 抗原

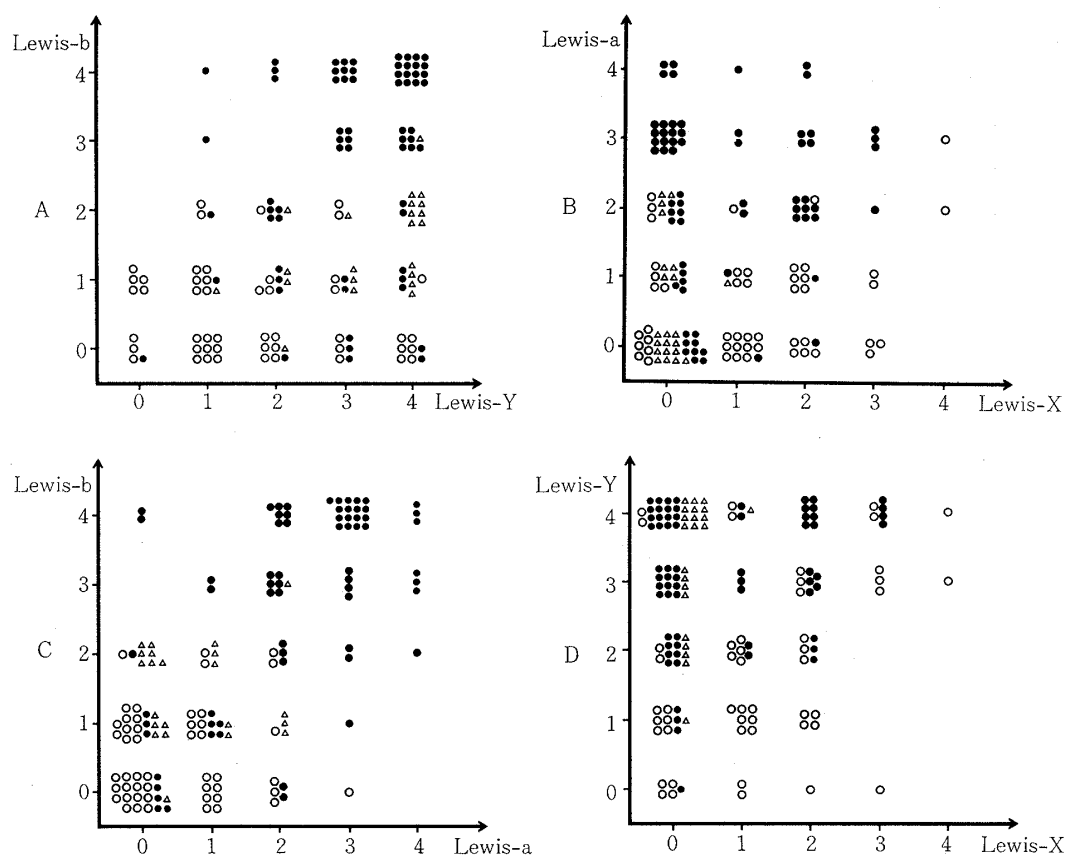


図1 座標軸の横軸および縦軸に各種抗原の染色スコアを目盛り, 各症例(Δ:胎児子宮内膜, ○:成人正常内膜, ●:子宮内膜癌)をその染色スコアが示す座標軸上の位置にプロットした.

A: 横軸 Lewis-Y, 縦軸 Lewis-b, B: 横軸 Lewis-X, 縦軸 Lewis-a,

C: 横軸 Lewis-a, 縦軸 Lewis-b, D: 横軸 Lewis-X, 縦軸 Lewis-Y

染色スコアは“材料と方法”を参照のこと.

2. 成人正常子宮内膜

Lewis-a, Lewis-b 抗原は49例中それぞれ23例, 22例が陽性であつたが, 陽性症例中の陽性細胞は一樣に少なく, 主として腺上皮の先端部のみが弱

く染色されるにすぎなかつた. Lewis-X, Lewis-Y 抗原は, それぞれ35例, 41例に認めたが(表1), 染色態度は症例によつて大きく異なり, 少数の腺上皮の先端部のみ陽性症例から大多数の腺上皮の

細胞質全体が陽性を示す症例まで認めた。また、Lewis 抗原群は、一般的に、増殖期内膜、分泌期内膜基底層、および被蓋上皮の腺細胞が比較的強く染色される傾向を認めた(写真2)。抗原相互間の検討では、II型糖鎖の Lewis-X, Lewis-Y 抗原が I 型糖鎖の Lewis-a, Lewis-b 抗原よりも強く発現する傾向を認めた(図1A, B)。

3. 子宮内膜癌

Lewis-a, Lewis-b, および Lewis-Y 抗原は67例

中それぞれ順に、56例、60例、66例と多くの症例にかつ多くの細胞に陽性であつた。特に Lewis-Y 抗原は、全ての抗原が陰性を示した一症例を除いて全症例に認められ、50症例(75%)で50%以上の腺癌細胞が陽性を示した。これに反し、Lewis-X 抗原は67例中40例が陰性で、陽性を示す細胞も少数であつた(表1)。抗原の局在は主として細胞質全体あるいは腺腔内容物に認められたが、陽性細胞の分布は症例により異なり、大きな陽性細胞集

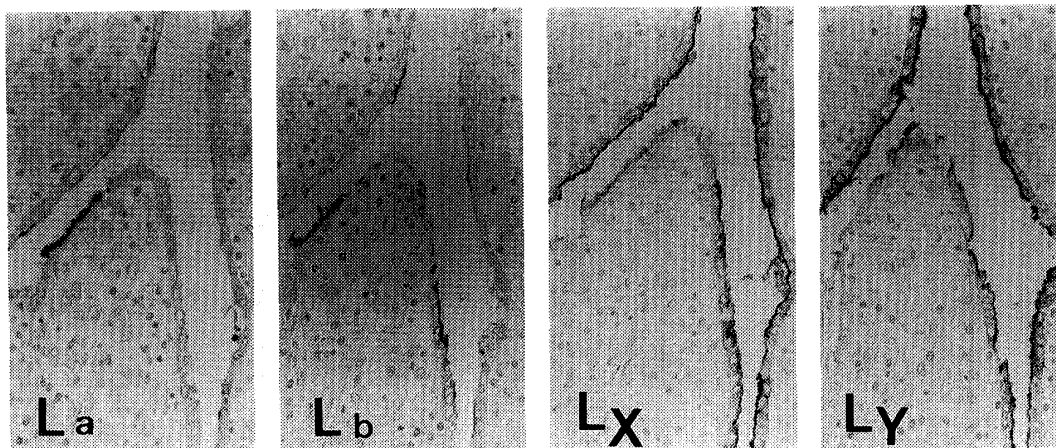


写真2 成人正常内膜(被蓋上皮)の免疫染色像。酵素抗体ABC法, ×15.

La: Lewis-a 抗原, Lb: Lewis-b 抗原, LX: Lewis-X 抗原, LY: Lewis-Y 抗原

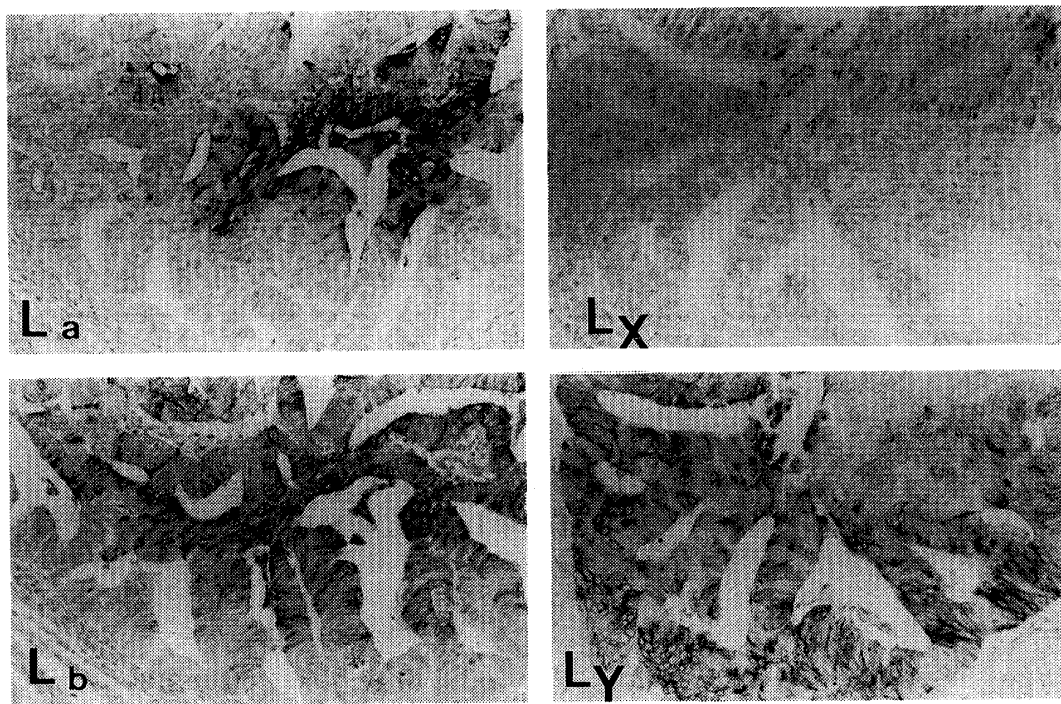


写真3 子宮内膜癌の免疫染色像。酵素抗体ABC法, ×66.

La: Lewis-a 抗原, Lb: Lewis-b 抗原, LX: Lewis-X 抗原, LY: Lewis-Y 抗原

団が一塊となつて存在するものから、少数の陽性細胞よりなる小集団が散在するものまで変化に富んでいた(写真3)。Lewis-a, および Lewis-b 抗原の発現を比較すると、両者ともに陰性から強陽性症例まで分布し、発現程度は相互に相関する傾向を認めた(図1C)。Lewis-X と Lewis-Y 抗原との関係では Lewis-Y 抗原の発現が著明であつた(図1D)。発現の強くみられた Lewis-b と Lewis-Y 抗原との比較では両抗原ともに相互に相関する傾向を認めた(図1A)。

4. 胎児および成人正常内膜と内膜癌における抗原発現の比較

各種抗原の発現の平均スコアを症例群別に図2に示した。胎児子宮内膜では Lewis-b および Lewis-Y 抗原は強く発現したが、正常成人内膜では弱く、癌組織ではこれより強く発現していた。Lewis-a 抗原は胎児および成人正常内膜ではほとんど発現しないが、癌組織では明らかな発現を認めた。Lewis-X 抗原は胎児組織にはほとんど認めなかつたが、成人正常内膜では一部の症例で比較的強い発現を認め、癌組織ではこれより弱く発現する傾向を認めた。

次に、Lewis-a, Lewis-b 抗原の二つのパラメーターで検討すると、正常内膜は両抗原の発現が低く座標軸上左下方に位置するが、癌組織では両抗

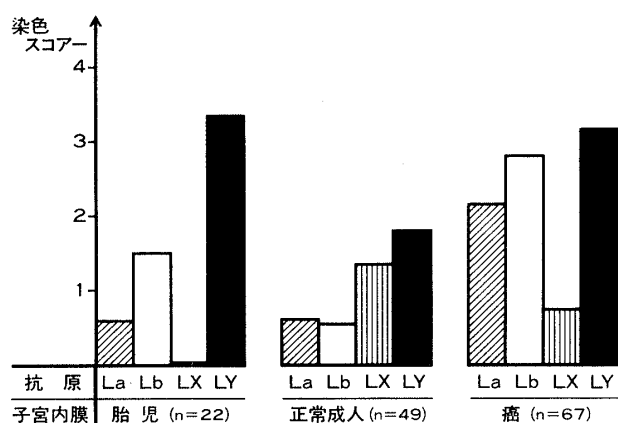


図2 Lewis 抗原群の各種症例群別の平均染色スコアを示した。

La: Lewis-a 抗原, Lb: Lewis-b 抗原,

LX: Lewis-X 抗原, LY: Lewis-Y 抗原

染色スコア, およびその平均値に関しては“材料と方法”を参照のこと。n: 症例数

原ともに発現が強く右上方に移行する傾向を認めた。胎児子宮内膜はその中間に位置する傾向を認めた(図1C)。

Lewis-X, Lewis-Y 抗原との関係では、正常内膜は座標軸上中央部に位置するが、癌組織では座標軸上左上方に位置した。胎児子宮内膜も同様に左上方に位置し、子宮内膜癌組織との重なりが強くみられた(図1D)。I型糖鎖の Lewis-a 抗原とその立体異性体であるII型糖鎖の Lewis-X 抗原を比較すると、正常内膜は座標軸中央下方に位置するが、癌組織では、Lewis-a 抗原が著明に発現し、Lewis-X 抗原の欠落のため左上方に移行した。胎児組織は癌と成人正常組織との重なり部分に存在し、左下方に位置した(図1B)。次に、I型糖鎖の Lewis-b 抗原とII型糖鎖の Lewis-Y 抗原を比較すると、正常内膜は座標軸上の下方に位置するが、内膜癌では右上方に位置した。胎児子宮内膜は癌と成人正常組織の中間で、座標軸上中央右に位置する傾向を認めた(図1A)。

考 案

Lewis 抗原群はラクト系(I型糖鎖)およびネオラクト系(II型糖鎖)骨格糖鎖末端に合成される血液型糖鎖で、そのうち Lewis-a 抗原は、I型糖鎖末端から2番目の N-acetylglucosamine に 4→1 で fucose が付いたもの、Lewis-b 抗原はさらに末端の galactose に 2→1 で fucose が付いたものである。Lewis-X, Lewis-Y 抗原はII型の糖鎖末端にそれぞれ Lewis-a, Lewis-b 抗原の立体異性体の型で fucose の付着したものである⁶⁾⁷⁾¹⁷⁾。これらの Lewis 抗原群は正常上皮にも存在するが、癌化に伴って著明に発現する^{2)~5)9)11)14)15)18)}あるいは逆に消失する¹⁰⁾ことが種々の臓器で報告されている。子宮内膜においても、われわれによつて Lewis-a, Lewis-b 抗原が癌化に伴い著明に発現してくることが報告されているが⁹⁾、Lewis 抗原群に関する系統的な研究報告はみられない。

今回の結果においても、Lewis-a, Lewis-b 抗原は正常子宮内膜にはほとんど認めないが、内膜癌に強い発現を認めた。Lewis-b 抗原は胎児子宮内膜腺上皮にも強い発現を認め、われわれがすでに

指摘しているように⁹⁾この抗原は癌胎児性格を有していると考えられる。卵巣癌および大腸癌でも、われわれと同様にLewis-b抗原の著明な発現が報告されている⁴⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁸⁾。しかし、膵臓癌においては、むしろLewis-a, Lewis-b抗原の発現がみられないものが報告され、このことが予後不良の指標ともなるとされている¹⁰⁾。また肝臓においては、この抗原は癌関連抗原というよりむしろ胆管上皮への分化抗原の可能性が示唆されている¹²⁾⁽¹³⁾。このように発現様式は臓器によって異なるが、多くの論文でLewis-b抗原の発現と癌との相関が指摘されている⁴⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁸⁾。子宮内膜におけるLewis-aとLewis-b抗原の発現を比較すると、癌組織では明らかにLewis-b抗原のほうが強く発現されており、Hakomori et al.も指摘しているように癌におけるfucose転移の亢進が示唆される⁶⁾⁽⁷⁾。

Lewis-X抗原は胎児子宮内膜にはほとんど認めず、内膜癌でも少数の症例に認めたにすぎなかった。これに反し、成人正常内膜では個人差はあるものの分泌期内膜の基底層、増殖期内膜、それに被蓋上皮が広範に陽性を示した。われわれのこの結果は、癌組織でLewis-X抗原が著明に発現するとする報告⁵⁾⁽¹¹⁾とは大きく異なる。しかし、大腸癌で正常と抗原の発現に差がないとする報告¹⁵⁾や、正常胆管上皮には発現しないが、外傷後の肝再生の増殖中の胆管上皮には発現することより、増殖、分化に関連する抗原であるとする報告¹²⁾もあり、また、Lewis-X抗原は元来Stage-Specific Embryonic Antigenとして発見され、胎生期の分化抗原と考えられている¹⁶⁾。これらの報告とわれわれの結果を考え合わせると、Lewis-X抗原は子宮内膜でも癌化よりむしろ増殖分化に関連すると推論しうる。肝臓で増殖分化抗原の可能性が指摘されているLewis-aとLewis-X抗原とを比較すると、両者には逆相関がみられ、癌化に伴ってLewis-a \ominus , Lewis-X \oplus からLewis-a \oplus , Lewis-X \ominus のパターンへの移行が認められた。このことは、癌化に伴いI期糖鎖が増量してくることを示唆している。

Lewis-Y抗原は胎児子宮内膜および子宮内膜癌の大多数の症例に著明に発現していたが、正常

内膜には比較的少なく、Lewis-b抗原と同様な癌胎児性抗原と考えることができる。同様の所見は遠位大腸組織でも報告されている²⁾。同じII型糖鎖であるLewis-XとLewis-Y抗原とを比較すると、正常内膜では両抗原とも一部の症例で強い発現を認めたものの、全体として比較的少なく、内膜癌ではLewis-X抗原の発現頻度はより少くなりLewis-Y抗原の発現頻度は逆に多く認められた。すなわち、癌化に伴いLewis-X \oplus , Lewis-Y \oplus からLewis-X \ominus , Lewis-Y \oplus のパターンに変化すると考えられる。これらの現象は癌組織にfucose転移の亢進を推測することより理解できる。Lewis-Y抗原と立体異性体であるLewis-b抗原との比較では、正常内膜はLewis-b \ominus , Lewis-Y \oplus で、癌ではLewis-b \oplus , Lewis-Y \oplus を示し、癌化に伴う変化としては、I型糖鎖のfucose転移のほうが著明に亢進している傾向がうかがえる。

今回の結果を要約すると、Lewis抗原群の癌性変化として、Lewis-a, Lewis-b, Lewis-Y抗原の著明な発現、Lewis-X抗原の欠落が認められたことより、fucose転移の亢進およびI型糖鎖の発現増加が示唆された。また、胎児組織は癌と正常との中間的な発現様式を示した。これは癌が糖鎖抗原の発現上からも胎児性格を有することを示すものである。しかし、これら末端の糖鎖構造の癌性変化が正常と同じように転移酵素の作用で順次付加合成されたものか、合成不全によるものか、あるいは全く新しい糖鎖物質が合成されることによつておこるのか定かではない。さらに、これらの変化の細胞生物学的な意味や今回は検討できなかったが、個体のLewis表現型の影響については今後の研究に残されている。

文 献

1. 小笠原利忠：子宮内膜癌に於ける血液型抗原の発現に関する免疫組織化学的研究—特にH型抗原の発現について—。産婦進歩，39：223，1987。
2. Abe, K., Hakomori, S. and Oshiba, S.: Differential expression of difucosyl type 2 chain (Le^y) defined by monoclonal antibody AH-6 in different locations of colonic epithelia, various histological types of colonic polyps and adenocarcinomas. Cancer Res., 46: 2639, 1986.
3. Brown, A., Ellis, I.O., Embleton, M.J., Baldwin,

- R.W., Turner, D.R. and Hardcastle, J.D.: Immunohistochemical localization of Y hapten and the structurally related H type-2 blood group antigen on large bowel tumors and normal adult tissues. *Int. J. Cancer*, 33: 727, 1984.
4. Ernst, C., Atkinson, B., Wysocka, M., Blaszczyk, M., Herlyn, M., Sears, H., Steplewski, Z. and Koprowski, H.: Monoclonal antibody localization of Lewis antigens in fixed tissue. *Lab. Invest.*, 50: 394, 1984.
 5. Gong, E., Hirohashi, S., Shimosato, Y., Watanabe, M., Ino, Y., Teshima, S. and Kodaira, S.: Expression of carbohydrate antigen 19-9 and stage-specific embryonic antigen 1 in nontumorous and tumorous epithelia of the human colon and rectum. *J.N.C.I.*, 75: 447, 1985.
 6. Hakomori, S.: Tumor-associated carbohydrate antigens. *Ann. Rev. Immunol.*, 2: 103, 1984.
 7. Hakomori, S. and Kannagi, R.: Glycosphingolipids as tumor-associated and differentiation markers. *J.N.C.I.*, 71: 231, 1983.
 8. Hsu, S.M., 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, 1981.
 9. Inoue, M., Sasagawa, T., Saito, J., Shimizu, H., Ueda, G., Tanizawa, O. and Nakayama, M.: Expression of blood group antigens A,B,H, Lewis-a, and Lewis-b in fetal, normal and malignant tissues of the uterine endometrium. *Cancer*, 60: 2985, 1987.
 10. Itzkowitz, S.H., Yuan, M., Fercell, L.D., Ratcliffe, R.M., Chung, Y.S., Satake, K., Ueyama, K., Jones, R.T. and Kim, Y.S.: Cancer-associated alterations of blood group antigen expression in human pancreas. *J.N.C.I.*, 79: 425, 1987.
 11. Itzkowitz, S.H., Yuan, M., Fukushima, Y., Palekar, A., Phelps, P.C., Shamsuddin, A.M., Trump, B.F., Hakomori, S. and Kim, Y.S.: Lewis^x- and sialylated Lewis^x-related antigen expression in human malignant and nonmalignant colonic tissues. *Cancer Res.*, 46: 2627, 1986.
 12. Kanai, T., Hirohashi, S., Upton, M.P., Ino, Y. and Shimosato, Y.: Expression of lewis blood group antigens in cancerous and non-cancerous liver. *Jpn. J. Cancer Res.*, 78: 968, 1987.
 13. Okada, Y., Arima, T., Togawa, K., Nagashima, H., Jinno, K., Moriwaki, S., Kunimoto, T., Thurin, J. and Koprowski, H.: Neoexpression of ABH and Lewis blood group antigens in human hepatocellular carcinomas. *J.N.C.I.*, 78: 19, 1987.
 14. Ordonez, N.G., Freedman, R.S. and Herlyn, M.: Lewis and related tumor-associated determinants on ovarian carcinomas. *Gynecol. Oncol.*, 26: 1, 1987.
 15. Sakamoto, J., Furukawa, K., Cordon-Cardo, C., Yin, B.W.T., Retting, W.J., Oettgen, H.F., Old, L.J. and Lloyd, K.O.: Expression of Lewis-a, Lewis-b, X and Y blood group antigens in human colonic tumors and normal tissues and in human tumor-derived cell lines. *Cancer Res.*, 46: 1553, 1986.
 16. Solter, D. and Knowles, B.B.: Monoclonal antibody defining a stage-specific mouse embryonic antigen (SSEA-1). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 75: 5565, 1978.
 17. Watkins, W.M.: Biochemistry and genetics of ABO, Lewis and P blood group systems. *Adv. Hum. Genet.*, 10: 1, 1980.
 18. Yuan, M., Itzkowitz, S.H., Palekar, A., Shamsuddin, A.M., Phelps, P.C., Trump, B.F. and Kim, Y.S.: Distribution of blood group antigens A,B,H, Lewis-a and Lewis-b in human normal, fetal and malignant colonic tissue. *Cancer Res.*, 45: 4499, 1985.

(No. 6383 昭63・6・7 受付)