

# 婦人科悪性腫瘍における Tissue Polypeptide Antigen (TPA) の血清学的ならびに免疫組織学的研究

新潟大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 竹内正七教授)

上 田 昌 博

Serological and Immuno-Histological Study of Tissue Polypeptide  
Antigen (TPA) in Gynecological Malignancies

Masahiro UEDA

*Department of Obstetrics and Gynecology, Niigata University*

*School of Medicine, Niigata*

*(Director: Prof. Shoshichi TAKEUCHI)*

Histological localization of Tissue Polypeptide Antigen (TPA) was studied by immunohistochemical technique as well as measurement of serum TPA levels by radioimmunoassay in various gynecological malignancies including uterine precancerous lesions and trophoblastic disease.

Measurement of serum TPA levels in 75 patients revealed that serum levels and positive rates of TPA in invasive cancer were significantly higher than those in normal women, but those in precancerous lesions were low.

In 82 cases, the overall positive rates for tissue TPA immunostaining was 49%. There was no definite difference between the histological types and progress of malignancy and the positive rate for tissue TPA staining.

In all of 15 patients with positive TPA, serum TPA levels were significantly reduced and turned negative after appropriate effective treatments. In 11 cases of them searched for immunohistological reactivity, a higher positive result was shown in 9 cases (82%).

Furthermore, serum TPA level of 160 U/l was considered critical value for predicting immunohistological positivity.

In conclusion, TPA could be a useful subordinate tumor marker in many patients with gynecological malignancies from serological and immunohistological points of view.

---

Key words: Tissue Polypeptide Antigen, Gynecological malignancy, Immunohistochemical localization, Tumor-related antigen, Tumor marker  
婦人科悪性腫瘍, 免疫組織学的の局在, 腫瘍関連抗原, 腫瘍マーカー

---

Reprint requests to: Masahiro UEDA,  
Department of Obstetrics and Gynecology,  
Prefectural Yoshida Hospital,  
Yoshida, Niigata, 959-02, JAPAN.

別刷請求先:  
〒959-02 新潟県吉田町大字吉田1,001番地  
新潟県立吉田病院産婦人科 上田昌博

## 緒 言

Tissue polypeptide antigen (TPA) は、腫瘍関連抗原 tumor-related antigen の一つとして、Björklund et al. によって報告され<sup>1)</sup>、radioimmunoassay (RIA) 法が確立された<sup>2)-5)</sup>。以来、TPA は各科領域において研究が重ねられ、腫瘍 marker として臨床応用されるに至った。著者らは前回の研究において、TPA の婦人科領域の悪性腫瘍における臨床的有用性とその問題点について、血清学的見地から報告した<sup>6)</sup>。

TPA の免疫組織学的局在については、Björklund et al. の報告<sup>7)</sup>をはじめいくつかの報告<sup>4)</sup>があるが、TPA は腫瘍細胞内のみ存在すると理解されている。

本研究では、良性・境界病変および絨毛性疾患を含む婦人科悪性腫瘍について血清 TPA 値を測定するとともに、間接標識酵素抗体法を用いて TPA の組織内局在を明らかにし、前癌病変と癌の差異について比較検討を行い、また、TPA の腫瘍 marker としての有用性を免疫組織学的見地から検討した。

## 研 究 方 法

### 1. 血清 TPA 値の測定

良性、境界病変および絨毛性疾患を含む前癌および癌患者75例(内訳は表 2 に示した)より採取した血清について、TPA 値を測定した。血清 TPA は RIA (二抗体法)により測定された。前回の研究結果<sup>6)</sup>から、110 U/l 以下を正常とし、健常女性 65.5±21.3U/l (n=31, mean±SD, 以下同)、妊婦 122.0±36.9U/l (n=8)を対照として差の検定を行った。

### 2. TPA の免疫組織学的局在

組織材料：1)良性、境界病変および絨毛性疾患を含む前癌病変および癌患者82例(内訳は表 3 に示した)の組織切片、および 2)前項75症例中、治療前 TPA 高値陽性を示し、適切な治療により TPA が陰性化した11例(内訳は表 4 に示した)の組織切片で、いずれもホルマリン固定され、アルコール・キシレン処理を経て、パラフィン包埋されたものを用いた。

試料：1)ウサギ TPA 抗体(抗 TPA 血清)は Swedish Company Sangtec Medical (Sweden)より提供を受けた。2)Protease (DispaseI, 10,000Protease Units/ampoule)は合同酒精(日本)のもので、TPA の特異的抗原決定基を露出させるために用いた。3)ヤギ全血清は Cappel Laboratories (USA)のもので、背景の染色阻害に用いた。4)ウサギ IgG Biotin-Avidin-Horseradish

Peroxidase Conjugates に対するヤギ抗体は Vector Laboratories, Inc. (USA)より取寄せ、Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC)法<sup>8)-10)</sup>に用いた。5)0.05 M リン酸緩衝食塩水 (PBS, pH7.2)を緩衝液として用いた。

染色法：組織切片をゼラチン加工スライドガラスに密着させ、0.3%過酸化水素加メタノール溶液で処理し、内因性 peroxidase を阻害する。エタノールで脱水後、室温にて15分間新鮮な0.004% Dispase 溶液で処理、TPA の抗原決定基を露出させる。切片を PBS にて充分に洗浄、0.3%ヤギ全血清を加え、湿室中で30分間反応させ

表 1 Procedures of immunostaining for TPA

Step 1.	Deparaffinize in xylene.
Step 2.	Inhibit endogenous peroxidase with freshly prepared 0.3% metanolic hydrogen peroxide for 30 min.
Step 3.	Treat with graded alcohol series.
Step 4.	Treat with fresh solution of 0.004% Dispase in PBS, at room temperature for 15 min.
Step 5.	Rinse slides fully with PBS, at 4°C.
Step 6.	Incubate sections with 0.3% normal goat serum in PBS for 30 min. at room temperature.
Step 7.	Blot excess serum from sections.
Step 8.	Incubate sections with anti-TPA serum for 30 min. at room temperature.
Step 9.	Rinse slides in PBS, at 4°C.
Step 10.	Incubate sections with biotin-labeled secondary antibody diluted 1:100 in PBS for 30 min. at room temperature.
Step 11.	Rinse slides in PBS, at 4°C.
Step 12.	Incuatate sections with avidin-biotin-peroxidase complex diluted 1:100 in PBS for 30 min. at room temperature.
Step 13.	Rinse slides in PBS, at 4°C.
Step 14.	Incubate sections in 0.01% hydrogen peroxide and 0.05% diaminobenzidine tetrahydrochloride in PBS at room temperature.
Step 15.	Wash sections in tap water, dehydrate through graded alcohol series, xylene, and mount.

る。ABC法はビタミンの一種である biotin と卵白蛋白である avidin の間に形成させる特異的結合を利用するもので、その手順を表 1 に示した。まず、切片を湿室中で30分間抗 TPA 血清と反応させる。それから PBS 中で100倍希釈したヤギ抗ウサギ IgG biotin 抗体で処理、ついで100倍希釈した avidin-horseradish peroxidase conjugate で処理する。

対照：1)妊娠6週自然流産の絨毛組織切片を陰性の、2)正常妊娠の胎盤の組織切片を陽性の対照標本とした。

尚、免疫染色標本は光学顕微鏡低倍率下で観察、比較した。

### 研究成績

#### 1. 75例の良性、境界病変および絨毛性疾患を含む前

癌病変および癌患者における血清 TPA 値および陽性率を表 2 に示した。子宮頸部病変については、CIN (cervical intraepithelial neoplasia) までの病変では血清 TPA 値は  $82.5 \pm 25.8$  U/l (n=11)、陽性率は 1/11 (9%) で、健常女性との間に差はみられなかった ( $P > 0.05$ )。一方、腺癌を含む浸潤癌ではそれぞれ  $138.8 \pm 70.0$  U/l (n=28)、16/28 (57%) でこれらはいずれも健常女性、CIN 症例に比して有意に高かった (いずれも  $P < 0.001$ )。

子宮内膜病変については、cystic hyperplasia の2例はいずれも血清 TPA 陰性であったが、浸潤内膜腺癌では  $116.7 \pm 48.7$  U/l (n=10)、4/10 (40%) で、健常女性に比して有意に高かった ( $P < 0.005$ )。

卵巣腫瘍については、良性および中間群腫瘍では  $167.2$

表 2 Positive rates of TPA and serum TPA levels in 75 cases with precancerous lesions and cancers

Histology		Positive rate	Serum TPA level* (U/l)
<u>Cervix</u>			
Dysplasia	Mild	0/ 2	$74.0 \pm 8.5$ (n= 2)
	Moderate	0/ 3	$76.0 \pm 14.5$ (n= 3)
	Severe	1/ 3	$92.7 \pm 50.3$ (n= 3)
Carcinoma in situ		0/ 3	$84.3 \pm 16.0$ (n= 3)
Early invasive carcinoma		2/ 3	$151.0 \pm 68.3$ (n=20)
Invasive carcinoma		11/20	$141.0 \pm 77.0$ (n=20)
Invasive adenocarcinoma		2/ 4	$120.8 \pm 53.3$ (n= 4)
Adenoma malignum		1/ 1	130 (n= 1)
<u>Endometrium</u>			
Hyperplasia		0/ 2	$62.0 \pm 11.3$ (n= 2)
Invasive adenocarcinoma		4/10	$116.7 \pm 48.7$ (n=10)
<u>Ovary</u>			
Mucinous type	Benign	0/ 1	77 (n= 1)
	LMP**	0/ 1	76 (n= 1)
	Malignant	1/ 3	$99.0 \pm 27.6$ (n= 3)
Serous type	Benign	1/ 2	$101.5 \pm 26.2$ (n= 2)
	LMP**	1/ 1	480 (n= 1)
	Malignant	3/ 5	$303.6 \pm 279.6$ (n= 5)
Clear cell carcinoma		0/ 1	110 (n= 1)
Undiff. adenocarcinoma		3/ 4	$252.5 \pm 235.1$ (n= 4)
Embryonal carcinoma		1/ 1	180 (n= 1)
<u>Trophoblastic disease</u>			
Hydatidiform mole		2/ 3	$276.7 \pm 191.4$ (n= 3)
Choriocarcinoma		2/ 2	$675.0 \pm 601.0$ (n= 2)

\* mean  $\pm$  SD \*\* Low malignant potential

±175.8 U/l (n=5), 2/5 (40%) で、これは健常女性に比して有意に高かった (P<0.001). 一方、悪性腫瘍は 222.5±210.7 U/l (n=14), 8/14 (57%) で健常女性、良性・中間群腫瘍に比して有意に高かった (いずれも P<0.001).

絨毛性疾患の症例数は少ないが、正常妊婦に比して高い血清 TPA 値および陽性率を示した。

2. 82例の良性、境界病変および絨毛性疾患を含む前癌病変および癌についての免疫染色の結果を表 3 に示した。組織の TPA 陽性率は各組織型ごとに大きな差は認められなかった。reserve cell hyperplasia (RCH) や異形成、胞状奇胎などの良性病変でも、TPA の局在が認められた。TPA の染色性は良性細胞より癌細胞に強い傾向がみられたが、染色性と細胞異型の程度や浸潤の有無との間に明らかな相関は認められなかった。

TPA の組織内局在は上皮に限られ、症例ごとに局在の状態に差が認められた。TPA の細胞内局在は細胞質 (diffuse pattern) および細胞膜 (linear pattern) に限られ、核には局在が認められなかった (図 1)。また、正常な頸管内膜腺上皮、扁平上皮、子宮内膜腺上皮の細胞には TPA の局在はみられなかった。

3. 血清 TPA 高値陽性を示し、適切な治療が行われた15例 (子宮頸癌 7例, 子宮内膜癌 4例, 卵巣癌 4例)

表 3 Positive rates of tissue TPA in 82 cases with precancerous lesions and cancers

Histology	Positive rate
<u>Cervix</u>	
Reserve cell hyperplasia	2/ 2
Dysplasia Mild	7/11
Moderate	2/ 8
Severe	2/ 4
Carcinoma in situ	0/ 5
Early invasive carcinoma	3/ 6
Adenocarcinoma in situ	2/ 4
Invasive adenocarcinoma	7/15
Adenoma malignum	3/ 4
<u>Endometrium</u>	
Hyperplasia	0/ 3
Invasive adenocarcinoma	4/ 8
<u>Trophoblastic disease</u>	
Hydatidiform mole	5/ 7
Choriocarcinoma	3/ 5
Total	40/82(49%)

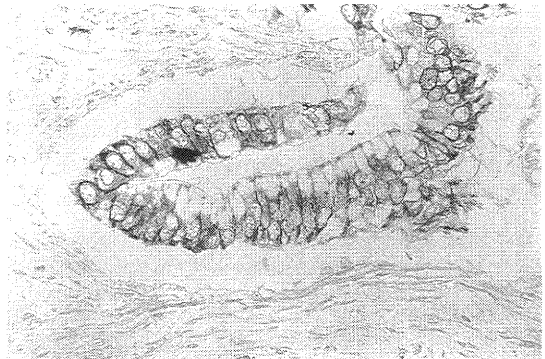


図 1 A case with adenoma malignum, TPA is localized on cytoplasmic membrane with linear pattern and in cytoplasm with diffuse pattern. (ABC method for TPA, × 200)

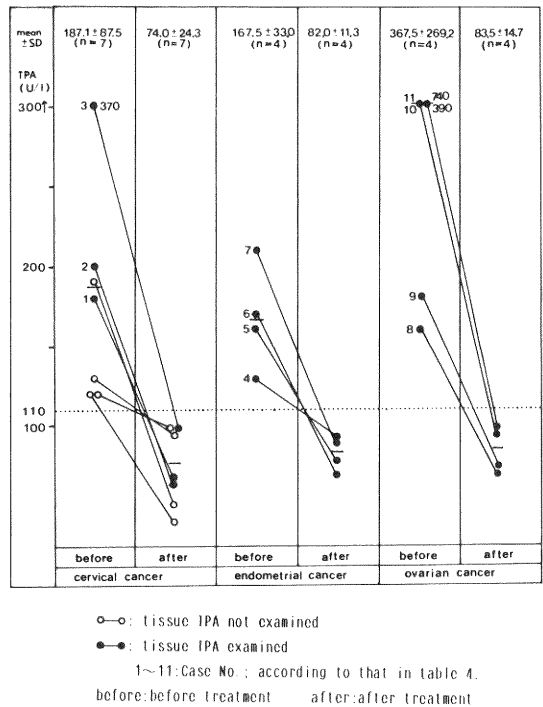


図 2 Changes of serum TPA level after treatment in 15 cases with cancers

の血清 TPA 値は、治療後有意に低下し (P<0.01), 全例が陰性化した (図 2)。

4. これら15例のうち、適切な組織材料が得られた11例の TPA の組織局在と血清 TPA 値の関係について、表 4 に示した。これらの治療前に高値陽性を呈した11

表4 Correlation between positivity of tissue TPA and serum TPA level

Case No.*	Histology	Serum TPA level**(U/I)	Tissue TPA
<u>Cervix</u>			
(1)	Squamous cell carcinoma	180	+
(2)	Squamous cell carcinoma	200	+
(3)	Squamous cell carcinoma	370	+
<u>Endometrium</u>			
(4)	Adenocarcinoma	130	-
(5)	Adenocarcinoma	160	+
(6)	Adenocarcinoma	170	+
(7)	Adenocarcinoma	210	+
<u>Ovary</u>			
(8)	Undiff. adenocarcinoma	160	+
(9)	Embryonal carcinoma	180	+
(10)	Serous cystadenocarcinoma	390	+
(11)	Serous cystadenocarcinoma	740	+

\* This case No. is according to that in fig. 2.

\*\* Maximal serum TPA level before treatment.

例については、9/11 (82%) と高い組織 TPA 陽性率を示した。

組織 TPA 陽性例中、血清 TPA の最低値は 160U/l であった。

染色性の強さと血清 TPA の値の間には相関はみられなかった。

## 考 案

TPA は部位特異性、臓器特異性なく悪性腫瘍全般にわたって比較的高い陽性率を示すとされ<sup>13)-16)</sup>、血清 TPA 値は悪性腫瘍の臨床的病勢を反映すると考えられているが<sup>3)-7)11)12)</sup>、早期例の陽性率は一般に低い<sup>6)12)14)</sup>とされている。

TPA は癌細胞の細胞膜および小胞体に存在し、増殖中の腫瘍細胞によって産生され放出される<sup>4)</sup>と理解されているが、細胞内における産生部位は明らかとなっていない。また、悪性腫瘍における血清 TPA 値と組織 TPA の局在に関する報告はいくつかみられるが<sup>3)-5)7)</sup>、前癌病変についての報告はない。

本研究では、子宮頸部・内膜の浸潤癌や卵巣癌については、従来の報告どおり、高い血清 TPA 値および陽性率を示し、腫瘍 marker としての条件を備えていることが確認された。しかし、RCH や CIN, endometrial hyperplasia, 低悪性度腫瘍などの良性ないし境界病変または前癌病変での血清 TPA 値は低く、陽性率も低

かった。

一方、82例の良性、境界病変および絨毛性疾患を含む前癌病変ないし癌組織における TPA 陽性率は49%(40/82)で比較的高かった。この組織 TPA 陽性率は各組織型ごとにはほぼ等しく、悪性度の高さ、浸潤による陽性率の差異はみられず、RCH, dysplasia, 胎状奇胎などのいくつかの例においても、組織 TPA の局在が確認された。Björklund は、炎症反応を伴う dysplasia において、血清 TPA が高値を呈する傾向があると指摘したが<sup>3)</sup>、本研究においては、異型細胞および過形成を示す reserve cell そのものに TPA 局在が確認された。これらの症例の血清 TPA 値は不明(測定されていない)であるが、前癌病変を含む良性増殖性病変においても、TPA が産生されていることが確認され、微量ながら血清中に放出されているであろうことが示唆された。

組織における TPA の染色性と細胞異型の程度や浸潤の有無との間には、明らかな相関はみられなかった。

TPA の細胞内局在に関しては、細胞境界に linear pattern として、細胞質内に diffuse pattern としてとらえられたが、その局在は組織ごとに異なり、また同一切片でも場所によって異なった。

治療前に TPA が高値陽性を示した15例の婦人科悪性腫瘍患者の血清 TPA 値は、適切な治療により有意に低下し、全例が陰性化した。このことは、TPA が腫瘍 marker として有用であることを、血清学的見地か

ら示唆するものであると考えられた。さらに、このうち11例については、82%という高い組織 TPA 陽性率が得られ、免疫組織学的見地からも腫瘍 marker としての有用性が確認された。

また、少ない症例のなかからの推察であるが、血清 TPA 値 160U/l が免疫組織学的な TPA 陽性の閾値と考えられた。

## 総 括

婦人科領域の良性、境界病変ないし前癌病変における血清 TPA 値、陽性率は低いが、いくつかの例で組織 TPA が確認され、TPA の産生されていることが示唆された。

一方、婦人科悪性腫瘍患者においては、血清 TPA を測定することは有意義であり、治療前に高値陽性を示す症例においては、腫瘍 marker として有用であることを、血清学的ならびに免疫組織学的に確認した。

また、血清 TPA 値 160U/l が、免疫組織学的見地から組織 TPA 陽性の閾値と考えられた。

稿を終えるにあたり、終始懇篤な御指導を賜りました長岡赤十字病院病理五十嵐俊彦先生ならびに竹内正七教授に深謝致します。

## 参 考 文 献

- 1) Björklund, B. and Björklund, V.: Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cyto-immunological technique: Presence of an insoluble, heat-labile tumor antigen, *Int. Arch. Allergy*, **10**: 153, 1957.
- 2) Björklund, B., Wiklund, B., Lüning, B., Andersson, K., Kallin, E. and Björklund, V.: Radioimmunoassay of TPA laboratory test in cancer, *Tumor Diagnostik*, **2**: 78, 1980.
- 3) Björklund, B.: On the nature and clinical use of tissue polypeptide antigen (TPA), *Tumor Diagnostik*, **1**: 9, 1980.
- 4) Björklund, B.: Tissue polypeptide antigen. review and recent progress. In *Critical Evaluation of Tumor Markers*, *Contr. Oncol.*, Vol. 7 (eds. S. von Kleist and H. Breuer), 73, Karger, Basel, 1981.
- 5) Lüthgens, M. and Schlegel, G.: Combined use of carcinoembryonic antigen and tissue polypeptide antigen in oncologic therapy and surveillance, *Cancer Detection and Prevention*, **6**: 51, 1983.
- 6) 上田昌博, 須藤寛人, 古谷元康, 荒川 修, 五十嵐俊彦: 婦人科悪性腫瘍患者における Tissue Polypeptide Antigen (TPA) 測定の臨床的意義, *日産婦誌*, **37**: 2361, 1985.
- 7) Björklund, V., Björklund, B., Wittekind, C. and von Kleist, S.: Immunohistochemical localization of tissue polypeptide antigen (TPA) and carcinoembryonic antigen (CEA) in breast cancer, *Acta. Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A*, **90**: 471, 1982.
- 8) Childs, G. and Unabia, G.: Application of the Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) method to the light microscopic localization of pituitary hormones, *J. Histochem. Cytochem.*, **30**: 713, 1982.
- 9) Hsu, S., Raine, L. and Fanger, H.: Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure, *J. Histochem. Cytochem.*, **29**: 577, 1981.
- 10) Hsu, S., Raine, L. and Fanger, H.: A comparative study of the peroxidase-anti-peroxidase method and an Avidin-Biotin Complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies, *A.J.P.C.*, **75**: 734, 1981.
- 11) 井上正樹, 井上由之助, 平松恵三, 田中善章, 山崎正人, 上田外幸, 南川淳之祐, 尾崎公巳, 柳田隆穂, 西野英男, 河田 優, 井手辰夫: 婦人科腫瘍患者における Tissue Polypeptide Antigen (TPA) の測定意義, *日産婦誌*, **36**: 779, 1984.
- 12) 中島裕史, 平田貴夫, 杉村輝彦, 古野健児, 池畑信正, 宇都宮篤司, 小林一彦, 根岸 清: 婦人科領域における Tumor Marker としての Tissue Polypeptide Antigen (TPA) の検討, *日産婦誌*, **36**: 1877, 1984.
- 13) Einert, Y.: Cryosurgical treatment of dysplasia and carcinoma in situ of cervix uteri, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, **37**: 361, 1978.
- 14) Hagbard, L. and Sorbe, B.: Preliminary

- experience of TPA (tissue polypeptide antigen) in cancer of the ovary, *Läkartidningen*, **75**: 3433, 1978.
- 15) Lüthgens, M. and Schlegel, G.: CEA+TPA in der Klinischen Tumordiagnostik, insbesondere des Mamma-Karzinom, *Tumor Diagnostik*, **1**: 63, 1980.
- 16) Menendez-Botet, C.J., Oettgen, H.F., Pinsky, C.M. and Schwartz, M.K.: A preliminary evaluation of tissue polypeptide antigen in serum or urine (or both) of patients with cancer or benign neoplasms, *Clin. Chem.*, **24**: 868, 1978.

(平成元年 2月 2日受付)

---