

〔原 著〕

口腔前癌病変，扁平上皮癌における血液型H物質の検討(予報)

賀来 亨，館山 美樹，奥山 富三，
岩井 正行，* 鏑原 茂，** 有坂 一夫，**
新保 亮一**

東日本学園大学歯学部口腔病理学講座
*札幌医科大学口腔外科学講座
**岩手医科大学歯学部口腔病理学講座

(主任：奥山 富三 教授)
*(主任：小浜 源郁 教授)
**(主任：鈴木 鐘美 教授)

Study on Blood Group Substance H in Oral Precancerous Lesions
and Squamous Cell Carcinomas : A Preliminary Report

Tohru KAKU, Miki TATEYAMA, Tomizo OKUYAMA,
Masayuki IWAI*, Shigeru TSUBAHARA**, Kazuo ARISAKA**,
and Ryoh-ichi SHIMPO**

Department of Oral Pathology, School of Dentistry
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

*Department of Oral Surgery,
SAPPORO MEDICAL COLLEGE

**Department of Oral Pathology, School of Dentistry,
IWATE MEDICAL UNIVERSITY

(Chief : Prof. Tomizo OKUYAMA)
*(Chief : Prof. Gen-iku KOHAMA)
**(Chief : Prof. Atsumi SUZUKI)

Abstract

The distribution of blood group substance H in oral precancerous lesions and squamous cell carcinomas was studied. The Ulex europeus agglutinin I was used as a marker of blood group substance H in the immunoperoxidase method. Formalin fixed and paraffin embedded tissues were employed.

The cell membranes of the spinous layer stained positively in normal oral mucosa, whereas the basal cells reacted negatively. Both the spinous cells and basal cells in

the dysplastic epithelium in a oral premalignant lesion showed a positive reaction. Blood group substance H was present in all of the squamous cell carcinomas. The staining intensity in cancerous lesions showed a considerable variation.

The present finding suggests that the difference of distribution of blood group substance H between normal squamous epithelium and dysplastic epithelium is a valuable marker for the initial change of malignant transformation in oral mucosa.

Key word: Blood group substance H, squamous cell carcinoma, precancerous lesion, immunohistochemistry, *Ulex europeus* agglutinin I

緒 言

血液型物質 A, B, O (H) は赤血球細胞膜のみならず, 血管内皮細胞, 多くの組織の上皮細胞膜に存在することが知られている¹⁻⁹⁾。血液型物質の部分的あるいは完全な消失は, 血液型物質が正常に存在する上皮から生ずる悪性腫瘍, 例えば, 膀胱癌^{5, 10-18)} 胃癌^{4, 8, 9)} 子宮頸部癌^{5, 7, 19, 20)} 喉頭癌^{21, 22)} 前立腺癌²³⁾ 乳癌²⁴⁾ 肺癌⁶⁾ などにおこる。血液型物質の消失が悪性変化の早期診断に役立ち, また血液型物質の存在の有無が膀胱癌などの悪性腫瘍の予後因子となることが知られている¹⁰⁻¹⁸⁾。また, これらの血液型物質は口腔粘膜上皮に正常に存在し, その局在は主に棘細胞層に存在し, 基底細胞には存在しない^{1, 2, 5, 9, 25-37)}。これらの血液型物質がエナメル上皮腫, 口腔前癌病変, 扁平上皮癌あるいは口腔粘膜上皮の創傷部の再生上皮において完全あるいは部分的消失することが報告されている^{5, 9, 26, 28-31, 33, 34)}。口腔粘膜上皮の血液型H物質の分布は血液型H物質のマーカーとして, 血液型H物質結合性レクチン *Ulex europeus* の抽出物を用いて, 特異的赤血球付着試験 specific red cell adherence test (SRCA) あるいは赤血球凝集反応 mixed cell agglutination reaction (MCAR) や蛍光抗体法によって検索されている^{30, 33-36)}。*Ulex europeus* レクチンは必ずしもO型赤血球のみを凝集するのではなく, 程度の差

あるが他の型の赤血球をも凝集する能力を有している。血液型物質 A, B は血液型H物質特異性をもっている前駆物質に糖を加えることによって合成され, A, B型赤血球にはH型抗原性をもった糖鎖が残っており, これらの糖鎖が *Ulex europeus* レクチンとの結合に関与するからである³⁸⁻⁴⁰⁾。

最近, 佐藤ら⁴¹⁾ は食道粘膜上皮の異型上皮, 上皮内癌に関する基準の指標を *Ulex europeus* 結合性血液型H物質を用い酵素抗体法で検索を行い, *Ulex europeus* の染色態度が正常と異なることを見出し, 食道の癌化の初期像を認定するうえで有力な方法であることを報告している。

今回, われわれは酵素抗体法である peroxidase antiperoxidase (PAP) 法⁴²⁾ を用いて, 口腔粘膜前癌病変, 扁平上皮癌のレクチン *Ulex europeus* agglutinin I 結合性血液型H物質の局在の有無を検索し, 口腔粘膜上皮の悪性化の指標となりうるかどうか検討を加えた。

材料ならびに方法

検索材料は口腔扁平上皮癌15例, 異型上皮5例, 他病変のために切除された組織に付随した正常口腔粘膜上皮5例である。

免疫組織化学的検索は Sternberger ら⁴²⁾ の PAP法に準じて, Table 1 の方法により行った。概略を記すと, ホルマリン固定, パラフィ

ン包埋組織標本を用いて行った。標本を5 μ に薄切し、脱パラフィンを行い、アルコールを通し、水洗した後、10%正常ウサギ血清で0.004 mg/mlの濃度に希釈した *Ulex europaeus* agglutinin I (UEA-I) レクチンを反応させた後、非特異的 back ground staining を減弱させる目的で、正常ウサギ血清を用い、抗 UEA-I 抗体・ヤギ血清 (1:1000)、抗ヤギ免疫グロブリン・ウサギ血清 (1:20) を反応させ、peroxidase antiperoxidase complex (1:50) との反応を行い、Graham and Karnovsky⁴³⁾ の方法に準じて 3,3'-diaminobenzidine (DAB, Sigma) 50mg/100mlにて茶かっ色に反応させ、Bioleit封入を行い鏡検した。核染色はヘマトキシリンを用いた。

PAP法の陰性対照は以下の通りである。1) UEA-Iは α -L-fucoseに特異性を有するので、UEA-Iのかわりに、UEA-I, 0.2 M α -L-fucose 混合液を反応させ、以下同様の方法を行った、2) 抗 UEA-I 抗体・ヤギ血清のかわりに、正常ヤギ血清を用いた。陽性対照としては UEA-I は症例の組織切片の中に存在する赤血球、血管内皮細胞に局在が認められる。

組織学的検索はヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

Table 1. The immunoperoxidase technique for the detection of blood group substance H

1. Deparaffinize sections with 2 changes of xylene, and then hydrate through graded alcohol solutions in running tap water.
2. Place sections in cold phosphate buffered saline (PBS) pH 7.1 for 10 minutes.
3. Incubate the section in purified agglutinin I from *Ulex europaeus* *at a concentration of 0.004[mg/ml diluted in 10% normal rabbit serum(NRS) in PBS for 2 hours at room temperature in a moist chamber.
4. Wash the sections in three changes of PBS for 5 minutes each.

5. Incubate the sections with 10% NRS in PBS for 10 minutes at room temperature in a moist chamber, then shake off and blot off excess serum. Do not wash.
6. Incubate the sections with goat anti-Ulex antibody* at a dilution of 1:1000 in 1% NRS in PBS overnight in a moist chamber. The incubation should be carried out at 4°C.
7. Wash the sections as in step 4.
8. Incubate these sections with rabbit anti-goat IgG** diluted 1:20 in PBS with 1% NRS for 30 minutes at room temperature in a moist chamber.
9. Wash the sections as in step 4.
10. Incubate the sections with goat peroxidase anti-peroxidase complex (PAP)** diluted 1:50 in PBS with 1% NRS for 30 minutes at room temperature in a moist chamber.
11. Wash the sections as in step 4.
12. Incubate the sections for 2 minutes with freshly prepared diaminobenzidine solution:
3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride 50 mg.
0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.6 100 ml.
13. Wash thoroughly in running tap water for several minutes.
14. Counterstain with Carazzi's hematoxylin for 2 minutes.
15. Wash in running tap water for several minutes.
16. Dehydrate the sections by conventional histologic technique and coverslip with Bioleit.

* Vector Laboratories, Burlingame, California, U.S.A.

** Dakopatts A/S, Copenhagen, Denmark.

結 果

正常口腔粘膜上皮では UEA-I 結合性血液型 H 物質、すなわち UEA-I は棘細胞層の細胞で陽性で、基底細胞層および角化層には認められなかった (Fig. 1, 2)。異型上皮では UEA-I は基底細胞で陽性となり (Fig. 4B)、扁平上皮癌では UEA-I は全症例陽性であったが、染色性の強さは様々で、すべての癌細胞に陽性ではなく、多くの症例では部分的に陽性であった (Fig. 3B, 5B, 6, 7)。UEA-I は赤血球、血管内皮細胞で陽性で、一方、結合織、

筋線維は陰性であった。UEA-I のかわりに、 α -L-fucose (0.2M) と UEA-I の混合液では UEA-I の特異的染色は認められなかった。

Fig. 1 は他病変のために切除された組織に付随した正常口腔粘膜上皮で、UEA-I は棘細胞層に強陽性で、基底細胞層で陰性であった。Fig. 2 は扁平上皮癌の患者の組織で、癌組織に付随したやや肥厚した、異型性のない口腔粘膜上皮で、棘細胞層に強陽性で、基底細胞層で陰性であった。Fig. 3A は Fig. 2 症例の癌組織の部分で、初期浸潤像を示し、UEA-I はほとんどの癌細胞は陰性であるが、部分的に陽性を示した (Fig. 3B)。Fig. 4A は異型上皮の組織像で、UEA-I が基底細胞層で明らかな陽性所見を示した (Fig. 4B)。Fig. 5 の左半分は癌組織に近接した異型性のない上皮で、右半分は癌真珠の認められる扁平上皮癌で、UEA-I はほとんどの癌細胞に陽性で、非癌部では基底細胞層に陽性所見を示した (Fig. 5B)。Fig. 6 は高分化型の扁平上皮癌を示す組織像で、癌組織が粘膜下に浸潤し、被覆している正常口腔粘膜上皮は UEA-I は基底細胞層に陰性で、癌組織では癌真珠周囲に弱陽性ないし強陽性を示した。Fig. 7 は高分化型の扁平上皮癌で UEA-I は癌組織に部分的に強陽性を示した。

考 察

細胞が悪性化するときおこる変化が長年注目され、一般的に細胞表面抗原やとくに血液型物質に強い関心がよせられている。Kovarik ら⁵⁾ は MCAR を開発し、種々のホルマリン固定・パラフィン包埋組織切片を用いて、血液型物質の局在を検索した。肺癌⁶⁾、子宮頸部癌^{5,7)}、膵癌⁴⁾、胃癌^{8,9)}、膀胱癌^{5,11,14)}、口腔癌^{5,9)} の検索を行い、多くの原発性、続発性癌は血液型物質の消失を示した。Davidsohn 一派^{8,11,14)} は血液型物質の有無、癌の分化度、転移傾向との間に相関関係があると報告している。すなわち、血液型物質の消失

は診断、予後因子に役立つと述べ、この見解はとくに膀胱癌の長期観察の研究により支持されている^{9,16,18)}。しかし、Denk ら⁴⁵⁾ は MCAR を用いて、血液型物質と胃・大腸癌の分化度との間に相関関係はなかったと報告し、Slocombe ら⁴⁶⁾ は胃癌組織の検索を行い、血液型物質は 33 例中 27 例、87% に認められ、癌組織の分化度と血液型物質との間には相関関係が認められず、血液型 O 患者では 16 例中 13 例、血液型 A 患者では 16 例中 14 例、血液型 B 患者では 3 例中 2 例に、血液型 H 物質が認められ、血液型 A 患者、および血液型 B 患者のそれぞれ 1 例において、血液型 A あるいは B 物質の局在が胃癌組織に認められない時、血液型 H 物質の局在が認められたと報告している。Szulman²⁾ は血液型 A, B 患者の種々の組織における H 物質の組織学的分布を検索し、血液型物質 A, B の分布とまったく同じであり、数名の血液型 A, AB, B において、血液型 H 物質の存在が認められなかったと報告している。Slocombe ら⁴⁶⁾ は、Davidsohn ら^{4,8,9)} の胃癌組織の血液型物質の局在の結果と比較すると Slocombe ら⁴⁶⁾ の結果は高率に血液型物質の局在が認められ、この差は MCAR より酵素抗体法の方が鋭敏な方法による結果であろうと述べ、悪性変化における血液型物質の有無は以前考えられたほど診断的または予後に価値があることを疑問視している。Dabelsteen and Rygaard⁴⁷⁾ は血液型物質 A, B の局在を口腔粘膜上皮を用いて、MCAR と蛍光抗体法とを比較し、蛍光抗体法の方が鋭敏であると述べている。口腔粘膜上皮あるいは歯原性上皮から由来する種々の病変で血液型物質 A, B の分布に差があり、エナメル上皮腫、口腔扁平上皮癌、前癌病変において血液型物質の消失あるいは正常と比べ染色性が低下するといわれている^{26,28-34,36,37)}。また口腔粘膜上皮の創傷部の再生上皮において血液型物質の局在の消失が認められている²⁹⁾。Vedofte and Dabelsteen³⁶⁾ はエナメル上皮腫の血液型物質の検索におい

て、血液型A, B, ABの全症例において蛍光抗体法によりそれぞれに一致する血液型物質の局在は認められず、血液型H物質の局在は患者の血液型と関係なく15例中14例に認められ、エナメル上皮腫において、血液型H物質と血液型A, B物質を合成する能力に差があるのではないかと述べている。血液型H物質は血液型A, Bの前駆物質と考えられており、³⁸⁻⁴⁰⁾ 血液型A, B物質より、口腔粘膜上皮の分化において早期に出現するようである。³⁷⁾ 細胞や組織には多様な複合糖質が存在し、糖鎖の変化は成熟した組織内での細胞の更新に際しみられる分化、例えば、重層扁平上皮細胞の基底細胞から棘細胞、顆粒細胞、角化細胞への分化、すなわち基底細胞には前駆糖鎖が多く、分化に応じてH型やA型の糖鎖が現われ、これらの糖鎖は重層扁平上皮細胞の分化を規定していると考えられている。^{48, 49)}

今回、われわれは血液型に関係なく、口腔前癌病変、扁平上皮癌のUEA-I結合性血液型H物質の局在をPAP法により検索を行い、扁平上皮癌全例に局在が認められ (Fig. 3B, 5B, 6, 7), 従来の報告ではH物質を含む血液型物質の検索において、口腔の前癌病変、癌病変において血液型物質局在は多くの症例において認められなかった。^{5, 9, 26, 28, 30-34)} 佐藤ら⁴¹⁾ は食道の異型上皮、上皮内癌をUEA-I結合性血液型H物質のPAP法で検討した結果、異型上皮、上皮内癌の基底細胞が陽性を示す傾向を示し、食道の癌化の初期像を認定するうえで有力な方法であると報告している。われわれの結果は症例は少ないが佐藤ら⁴¹⁾ の結果とほぼ一致し口腔粘膜癌の初期像をとらえるうえで有用な方法であると思われる。今後UEA-I結合性血液型H物質の局在は血液型物質という観点からではなく、悪性化に際しておこる複合糖質の糖鎖の変化という観点から検索していくとともに、血液型A, B, AB患者の血液型物質A, Bの局在を検索し、血液型H物質の局在の差を比較し、口腔粘

膜上皮の悪性化とその分化度との関係、扁平上皮癌と予後との関係をとらえることができないかを検討する予定である。

結 論

UEA-I結合性血液型H物質の検索をUEA-1を用いてPAP法により口腔粘膜前癌病変、扁平上皮癌の血液型H物質の局在を検索した。扁平上皮癌全症例に局在を認め、染色性の強さは様々で、すべての癌細胞に存在するのではなく、多くの症例で部分的に局在が認められ、正常口腔粘膜上皮ではUEA-Iは棘細胞層に強陽性で、基底細胞層で陰性で、異型上皮では基底細胞層に陽性を示した。本染色は口腔粘膜癌の初期像をとらえるうえで有用な方法と思われる。

参 考 文 献

1. Szulman, A. E.: The histological distribution of blood group substances A and B in man, *J. exp. Med.*, 111:785-799, 1960.
2. Szulman, A. E.: The histological distribution of the blood group substances in man as disclosed by immunofluorescence, II. The H antigen and its relation to A and B antigens, *J. exp. Med.*, 115:977-996, 1962.
3. Szulman, A. E.: The histological distribution of the blood group substances in man disclosed by immunofluorescence, III. The A, B, and H antigens in embryos and fetuses from 18 mm in length, *J. exp. Med.*, 119:503-516, 1964.
4. Davidsohn, I., Kovarik, S., and Lee, C. L.: A, B and O substances in gastrointestinal carcinomas, *Arch. Path.*, 81:381-390, 1966.
5. Kovarik, S., Davidsohn, I., and Stejskal, R.: ABO antigens in cancer, Detection with the mixed cell agglutination reaction, *Arch. Path.*, 86:12-21, 1968.
6. Davidsohn, I., Ni, L. Y., and Stejskal, R.: Loss of isoantigens A, B, and H in carcinoma of the lung, *Am. J. Path.*, 57:307-334, 1969.
7. Davidsohn, I., Kovarik, S., and Ni, L. Y.: Isoanti-

- gens A, B, and H in benign and malignant lesions of the cervix. *Arch. Path.*, 87:306-314, 1969.
8. Davidsohn, I., Ni, L. Y., and Stejskal, R.: Tissue isoantigens A, B, and H in carcinomas of the stomach, *Arch. Path.*, 92:456-464, 1971.
 9. Davidsohn, I.: Early immunologic diagnosis and prognosis of carcinoma, *Am. J. Clin. Path.*, 57:715-730, 1972.
 10. Decenzo, J. M., Howard, P., and Irish, C. E.: Antigenic detection and prognosis of patients with stage A transitional cell bladder carcinoma, *J. Urol.*, 114:874-878, 1975.
 11. Alroy, J., Teramura, K., Miller, A. W. III., Pauli, B. U., Gottesman, J. E., Flanagan, M., Davidsohn, I., and Weinstein, R. S.: Isoantigens A, B and H in urinary bladder carcinomas following radiotherapy, *Cancer* 41:1739-1745, 1978.
 12. Bergman, S., and Javadpour, N.: The cell surface antigen A, B or O(H) as an indicator of malignant potential in stage A bladder carcinoma: preliminary report, *J. Urol.*, 119:49-51, 1978.
 13. Lange, P. H., Limas, C., and Fraley, E. E.: Tissue blood-group antigens and prognosis in low stage transitional cell carcinoma of the bladder, *J. Urol.*, 119:52-55, 1978.
 14. Weinstein, R. S., Alroy, J., Farrow, G. M., Miller, A. W., and Davidsohn, I.: Blood group isoantigen detection in carcinoma in situ of the urinary bladder, *Cancer*, 43:661-668, 1979.
 15. Limas, C., Lange, P., Fraley, E. E., and Vessella, R. L.: A, B, H antigens in transitional cell tumors of the urinary bladder. Correlation with the clinical course, *Cancer* 44:2099-2107, 1979.
 16. Emmott, R. C., Javadpour, N., Bergman, S. M., and Soares, T.: Correlation of the cell surface antigens with stage and grade in cancer of the bladder, *J. Urol.*, 121:37-39, 1979.
 17. Coon, J. S. and Weinstein, R. S.: Detection of ABH tissue isoantigen by immunoperoxidase methods in normal and neoplastic urothelium, Comparison with the erythrocyte adherence method, *Am. J. Clin. Path.*, 76:163-171, 1981.
 18. Wiley, E. L., Mendelsohn, G., Droller, M. J., and Eggleston, G.: Immunoperoxidase detection of carcinoembryonic antigens and blood group substances in transitional cell carcinomas of the bladder, *Lab. Invest.*, 44:75A-76A, 1981.
 19. Bonfiglio, T. A., and Feinberg, M. R.: Isoantigen loss in cervical neoplasia, Demonstration by immunofluorescence and immunoperoxidase techniques. *Arch. Path. Lab. Med.*, 100:307-310, 1976.
 20. Gupta, S. Gupta, Y. N., Singh, I. J., Sanyal, B., Khanna, S., and Rani, A.: Tissue isoantigens A, B, and H in carcinoma of the cervix uteri: Their clinical significance, *J. Surg. Oncol.*, 16:71-77, 1981.
 21. Dabelsteen, E., Mugind, N., and Henriksen, B.: Blood group substance A in carcinoma of the larynx, *Acta Otolaryngol.*, 77:360-367, 1974.
 22. Lin, F., Liu, P. I., and McGregor, D. H.: Isoantigens A, B, and H in morphologically normal mucosa and in carcinoma of the larynx, *Am. J. Clin. Path.*, 68:372-376, 1977.
 23. Gupta, R. K., Schuster, R., and Christian, W. D.: Loss of isoantigens A, B and H in prostate, *Am. J. Path.*, 70:439-448, 1973.
 24. Gupta, R. K., and Schuster, R.: Isoantigens A, B and H in benign and malignant lesion of breast, *Am. J. Path.*, 72:253-257, 1973.
 25. Brandzaeg, P.: Localization of blood-group substances A and B in alcohol-fixed human gingivae by indirect immunofluorescence technique, *Acta Odont. Scand.*, 23:335-345, 1965.
 26. Dabelsteen, E. and Fulling, H.: A preliminary study of blood group substances A and B in oral epithelium exhibiting atypia, *Scand. J. Dent. Res.*, 79:387-393, 1971.
 27. Dabelsteen, E.: Quantitative determination of blood group substances A of oral epithelial cells by immunofluorescence and immunoperoxidase method, *Acta path. microbial. scand. Section A*, 80:847-853, 1972.
 28. Dabelsteen, E., and Pindborg, J. J.: Loss of epithelial blood group substance A in oral carcinomas, *Acta path. microbiol. scand. Section A*, 81:435-444, 1973.
 29. Dabelsteen, E., and Fejerskov, O.: Loss of epithelial blood group antigen-A during wound

- healing in oral mucous membrane, *Acta path. microbiol. scand. Section A*, 82 ; 431-434, 1974.
30. Liu, P. I., McGregor, D. H., Liu, J. G., Dunlap, C. L., Jinks, W. L., Lin, F., Przybylski, C., and Miller, L. A. : Carcinoma of the oral cavity evaluated by specific red cell adherence test, *Oral Surg.*, 38 ; 56-64, 1974.
 31. Dabelsteen, E., Roed-Petersen, B., and Pindborg, J. J. : Loss of epithelial blood group antigens A and B in oral premalignant lesions, *Acta path. microbiol. scand. Section A*, 83 ; 292-300 1975.
 32. Vedtofte, P., and Dabelsteen, E. : Blood group antigens A and B in ameloblastomas, odontogenic keratocysts and non-keratinizing cysts, *Scand. J. Dent. Res.*, 83 ; 96-102, 1975.
 33. Stejskal, R., Lill, P. H., Mlsna, J., and Davidsohn, I. : A, B and H isoantigens in atypical oral epithelium. *Cancer Immunol. Immunother.*, 3 ; 195-199, 1978.
 34. George, D. I., Burzynski, N. J., and Miller, R. L. : Reactive properties of oral lesions to the specific red cell adherence test, *Oral Surg.*, 47 ; 51-57, 1979.
 35. Vedtofte, P., Hansen, H. E., and Dabelsteen, E. : Distribution of blood group antigen H in human buccal epithelium of secretors and non-secretors, *Scand. J. Dent. Res.*, 89 ; 188-195, 1981.
 36. Vedtofte, P., and Dabelsteen, E. : Distribution of blood group antigens A, B and H in ameloblastomas, *Scand. J. Dent. Res.*, 89 ; 424-432, 1981.
 37. Vedtofte, P., and Matthiessen, M. E. : Distribution of blood group antigens A, B and H in human fetal oral mucosa and odontogenic epithelium, *Scand. J. Dent. Res.*, 89 ; 463-474, 1981.
 38. Watkins, W. M. : Blood-group substances. In the ABO system the genes control the arrangement of sugar residues that determines blood-group specificity, *Science*, 152 ; 172-181, 1966.
 39. Lill, P. H., Stejskal, R., and Mlsna, J. : Distribution of H antigen in persons of blood groups A, B, and AB, *Vox Sang.*, 36 ; 159-165, 1979.
 40. 辻 勉, 大沢利昭 : レクチンとその糖結合性, 蛋白質核酸酵素, 28 ; 118-131, 1983.
 41. 佐藤英一, 丸田憲三, 米沢 傑, 中村敬夫, 清水 健 : 食道上皮内血液型H物質の検討—異型上皮と癌における所見—*日病会誌72補冊* ; 59, 1983.
 42. Sternberger, L. A., Hardy, P. H. Jr., Cuculis, J. J., and Meyer, H. J. : The unlabelled antibody enzyme method of immunohistochemistry ; Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-anti-horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes, *J. Histochem. Cytochem.*, 18 ; 315-333, 1970.
 43. Graham, R. C. Jr., and Karnovsky, M. T. : The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney. Ultrastructural cytochemistry by a new technique, *J. Histochem. Cytochem.*, 14 ; 291-302, 1966.
 44. Davidsohn, I., Ni, L. Y., and Stejskal, R. : Tissue isoantigens A, B and H in carcinoma of the pancreas, *Cancer Res.*, 31 ; 1244-1250, 1971.
 45. Denk, H., Tappeiner, G., Davidovits, A., Eckerstorfer, R., and Holzner, J. H. : Carcinoembryonic antigen and blood group substances in carcinomas of the stomach and colon. *J. Natl. Cancer Inst.*, 53 ; 933-942, 1974.
 46. Slocombe, G. W., Berry, C. L., and Swettenham, K. V. : The variability of blood group antigens in gastric carcinoma as demonstrated by the immunoperoxidase technique. *Virchows Arch. A. Path. Anat. and Histol.*, 387 ; 289-300, 1980.
 47. Dabelsteen, E. and Rygaard, J. : A sensitive immunofluorescence technique for detecting blood group substances A and B, *Acta path. microbial. scand. Section A*, 80 ; 433-439, 1972.
 48. 村松 喬 : 細胞分化と糖蛋白質, *医学のあゆみ*, 121 ; 467-477, 1982.
 49. 箱守仙一郎 : 細胞表面複合糖質と細胞認識, 細胞認識と動物レクチン, 大沢利昭編, 1-28, 講談社サイエンティフィク, 東京, 1982.

Explanation of Figures.

- Fig. 1.** Immunoperoxidase staining of normal mucosa for blood group substance H using UEA-I.
Spinous cells showed positive reaction and basal cells and one or two suprabasal cells gave no reaction (arrow).
Counterstain with hematoxylin. Magnification X 45.
- Fig. 2.** Immunoperoxidase staining of normal mucosa near the cancerous lesion for blood group substance H using UEA-I.
Spinous cells showed positive reaction while basal cells and one or two suprabasal cells gave no reaction (arrow). Positive reaction in endothelium of capillary or small vessels serves as a built-in control (arrow head).
Counterstain with hematoxylin. Magnification X 112.
- Fig. 3.** Early invasive squamous cell carcinoma from the patient shown in Fig. 2.
A. Hematoxylin-eosin staining. Magnification X 45.
B. Immunoperoxidase staining of the neighboring section shown in Fig. 3A for blood group substance H using UEA-I.
The cancerous lesion showed almostly negative, but positive reaction was shown focally in the cancerous lesion. Counterstain with hematoxylin. Magnification X 45.
- Fig. 4.** Dysplastic epithelium.
A. Hematoxylin-eosin staining. Magnification X 112.
B. Immunoperoxidase staining of the neighboring section shown in Fig. 4A for blood group substance H using UEA-I.
Both spinous cells and basal cells showed positive reaction. Counterstain with hematoxylin. Magnification X 112.
- Fig. 5.** Normal squamous epithelium adjacent to the cancerous lesion on the left and well differentiated cell carcinoma on the right.
A. Hematoxylin-eosin staining. Magnification X 45.
B. Immunoperoxidase staining of the neighboring section shown in Fig. 5A for blood group substance H using UEA-I.
Cancerous lesion showed a clear cut positive reaction. Spinous cells and basal cells showed a positive reaction in normal mucosa adjacent to the cancerous lesion. Counterstain with hematoxylin. Magnification X 45.
- Fig. 6.** Immunoperoxidase staining of well differentiated squamous cell carcinoma extending beneath the normal squamous epithelium for blood group substance H using UEA-I.
Normal mucosa showed positive reaction except for basal cells. Cancerous lesions revealed positive reaction around the cancer pearls. Counterstain with hematoxylin. Magnification X 45.
- Fig. 7.** Immunoperoxidase staining of invasive well differentiated squamous cell carcinoma for blood group substance H using UEA-I.
Focally strong positive reaction was shown in cancerous lesions. Counterstain with hematoxylin. Magnification X 45.









