

眼瞼悪性腫瘍浸潤部における MUC 1 および ケラチン 14 分布の免疫組織化学的検索

上原 文行¹⁾, 大庭 紀雄¹⁾, 米澤 傑²⁾, 佐藤 栄一²⁾

¹⁾鹿児島大学医学部眼科学教室, ²⁾鹿児島大学医学部第二病理学教室

要 約

眼瞼悪性腫瘍の浸潤部における MUC 1 (最初に cDNA がクローニングされたムチン) およびケラチン 14 (K 14) の発現・分布の特徴について, その他の組織学的マーカーの分布と対比させながら免疫組織化学的に解析した。MUC 1 陽性の腫瘍細胞は, 低分化型癌腫では上皮下の深層部に位置し, 浸潤性に増大しているように連なってみえる, 複数の小腫瘍塊に検出されるとともに, 皮脂腺癌では T 細胞などのリンパ球の集積部との間の境界部に連続的に検出された。一方, K 14 陽性の腫瘍細胞は低分化型癌腫, 扁平上皮癌および皮脂腺癌において, 大

きな腫瘍塊の辺縁部や腫瘍塊の滑らかな辺縁部に分布している像が一部, MUC 1 陽性の腫瘍細胞と重複しながら観察された。一般に, MUC 1 は浸潤性の腫瘍細胞に, K 14 は局所的に安定して増殖している腫瘍塊の辺縁部の細胞に, それぞれ発現することが示唆された。(日眼会誌 101: 866-873, 1997)

キーワード: 眼瞼悪性腫瘍, 浸潤, MUC 1, ケラチン 14, 免疫組織化学

Immunohistochemical Localization of MUC 1 and Keratin 14 in the Invasive Regions of Malignant Eyelid Tumors

Fumiyuki Uehara¹⁾, Norio Ohba¹⁾, Suguru Yonezawa²⁾ and Eiichi Sato²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kagoshima University Faculty of Medicine

²⁾Department of Pathology, Kagoshima University Faculty of Medicine

Abstract

The distributional patterns of MUC 1 (the mucin whose cDNA was first cloned) and Keratin 14 (K14) in the invasive regions of malignant eyelid tumors were immunohistochemically examined by comparing with other histochemical markers. The MUC 1-positive tumor cells were detected in several serial, small, invasive tumor masses in the deep subepithelial region of the low differentiated carcinoma. They were also continuously detected in the border region between accumulated lymphocytes including T cells and tumor masses of the sebaceous carcinoma. On the other hand, K14-positive tumor cells were detected in the marginal regions of large

tumor masses or those with smooth edges, some of which overlapped the distribution of MUC 1-positive cells in the tissues of undifferentiated carcinoma, squamous cell carcinoma, and sebaceous carcinoma. In general, MUC 1 may be expressed in the invasive tumor cells, whereas K14 may be expressed in the marginal cells of the stable, proliferating tumor masses. (J Jpn Ophthalmol Soc 101: 866-873, 1997)

Key words: Malignant eyelid tumor, Invasion, MUC 1, Keratin 14, Immunohistochemistry

I 緒 言

細胞表面の複合糖質は, 細胞間および細胞-細胞外基質間の種々の相互作用において重要な役割を果たしてい

る。腫瘍学の領域では, 腫瘍細胞の増殖, 浸潤, 転移, アポトーシスなどの様々な病態に複合糖質が関与していることが指摘されている^{1)~3)}。例えば, O-結合型複合糖質に属する MUC 1 (最初に cDNA がクローニングされたムチ

別刷請求先: 890 鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1 鹿児島大学医学部眼科学教室 上原 文行
(平成 9 年 5 月 6 日受付, 平成 9 年 6 月 10 日改訂受理)

Reprint requests to: Fumiyuki Uehara, M.D. Department of Ophthalmology, Kagoshima University Faculty of Medicine. 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima-shi, Kagoshima-ken 890, Japan

(Received May 6, 1997 and accepted in revised form June 10, 1997)

ンであることを表す略語)⁴⁾は膀胱癌などにおいて、その発現率が腫瘍の転移率と相関することから、悪性度を判定するための腫瘍マーカーとして有用であると報告³⁾されている。著者らも先に、眼瞼悪性腫瘍における MUC 1 の発現・分布について免疫組織化学的に検索して、MUC 1 が臨床的に悪性度の低いとされている基底細胞癌(18 例検索)には全く発現しなかったのに対し、浸潤・転移能が高いとされている皮脂腺癌(6 例検索)と扁平上皮癌(11 例検索)には、全例に発現像が観察されたという研究結果を得ている(第 100 回日本眼科学会総会で報告)。この研究では、それぞれの病理組織型の腫瘍組織における MUC 1 の発現の有無と程度について検索しただけで、個々の腫瘍組織において具体的にどのような腫瘍細胞が MUC 1 を発現するのか、という点に関しては検討していなかった。

一方、著者らは上皮系細胞の中間径線維であるケラチンの眼瞼悪性腫瘍における発現分布について検索し、基底細胞に特異的なケラチン 14(K 14)⁵⁾が安定な構造を維持しているようにみえる腫瘍塊の辺縁部の細胞に検出される傾向が高いのに対し、腫瘍細胞が間質へ浸潤しつつあるようにみえる部位には検出されないことを観察している⁶⁾。この研究結果から、K 14 の発現は腫瘍細胞の浸潤に対して抑制的に働くことが示唆され、K 14 と悪性度の高い腫瘍に発現する MUC 1 とは逆の動態を示す可能性がある。この場合、腫瘍組織における K 14 の分布と MUC 1 の分布は、相補的な位置関係を示す可能性があるが、眼瞼腫瘍だけでなく、他の臓器の腫瘍においても、未だこの視点からの検索は行われていない。そこで、本研究においては、この両者間の相補性が実際に観察されるのかどうかを検討する目的で、先に MUC 1 陽性であることを確認した眼瞼皮脂腺癌、扁平上皮癌および低分化型癌腫の腫瘍組織における MUC 1 および K 14 の発現・分布の特徴について、特に腫瘍細胞の間質への浸潤部に注目し、その他の組織学的マーカーの分布と対比させながら、免疫組織化学的に解析した。

II 方 法

鹿児島大学医学部附属病院眼科において手術を行い、病理組織学的診断の確定した眼瞼悪性腫瘍の中から、MUC 1 陽性であることを確認した低分化型癌腫(64 歳男性、眼瞼上皮原発と考えられ、一部の腫瘍組織で皮脂腺への分化傾向がみられたが、明らかな細胞質の空胞化などの所見は観察されなかったことから、低分化型癌腫と病理診断された)、扁平上皮癌(85 歳女性、胞巣中心性の成熟傾向と単一細胞性の角化がみられたことから、中等度分化型扁平上皮癌と病理診断された)および皮脂腺癌(83 歳女性、細胞質の空胞化を伴う皮脂腺への分化傾向がみられる腫瘍細胞が主体をなしていたことから、皮脂腺癌と病理診断された)の組織を本研究の対象とした。扁

平上皮癌と皮脂腺癌の症例には、経過観察中に頸部リンパ節転移が観察されている。

腫瘍組織を 10% ホルマリン液を用いて浸漬固定した後、アルコール脱水、パラフィン包埋し、5 μ m の厚さの光学顕微鏡用の連続組織切片を作製した。そのうち、1 枚ずつをヘマトキシリン・エオジン(HE)染色した。残りの連続組織切片をクエン酸緩衝液に浸漬、加圧・加熱処理して抗原賦活した後、0.2% 過酸化水素/メタノールに浸漬して内因性ペルオキシダーゼ活性を抑制した。さらに、燐酸緩衝液(PBS: 0.01 M, pH 7.4)に 2% になるように溶解したウマ血清に浸漬して抗体の非特異的吸着を抑制した。次に、2% ウマ血清/PBS に 100 倍希釈溶解したモノクローナル抗体を一次抗体として組織切片に反応させた。すなわち、MUC 1 に対する抗体(MUC-1: Novocastra 社, Newcastle, 英国)、K 14 に対する抗体(LL 002: Novocastra 社)、リンパ球の T 細胞に対する抗体(CD 3-PS 1: Novocastra 社)、B 細胞に対する抗体(CD 20-MJ 1: Novocastra 社)、単球/マクロファージに対する抗体(LN 5: Novocastra 社)、細胞分裂期に細胞核に出現する Ki 67 抗原⁷⁾に対する抗体(MM 1: Novocastra 社)および Tn 抗原(N-アセチルガラクトサミン α 1-O-セリン/スレオニン)⁸⁾に対する抗体(HB-Tn 1: Dako 社, Glostrup, Denmark)を、それぞれ室温で 1 時間ずつ反応させた。対照としては、非免疫マウス血清を同様に反応させた。組織切片を PBS を用いて洗浄した後、二次抗体として 2% ウマ血清/PBS に 100 倍希釈溶解したビオチン標識抗マウス IgG(免疫グロブリン G: Vector 社, Burlingame, CA, 米国)を室温で 1 時間反応させた。PBS を用いて洗浄後、Vectastain Elite ABC Kit(Vector 社)とジアミノベンチジンをを用いてペルオキシダーゼ発色させた。

腫瘍細胞が間質へ浸潤しつつある部分、あるいはリンパ球の T 細胞、B 細胞および単球/マクロファージに対する抗体が結合する免疫細胞が腫瘍塊周囲に集積している部分に関し、連続組織切片上のそれぞれ対応する部分の MUC 1 と K 14 の発現・分布の特徴について比較、解析した。

III 結 果

まず、低分化型癌腫の連続組織切片に 3 種類の抗体を反応させた免疫染色像の結果を示す。細胞増殖の指標となる Ki 67 抗原に対する抗体は、健常部眼瞼上皮細胞の基底側の核に結合するとともに、腫瘍塊を構成する腫瘍細胞の核の半数以上に結合した(図 1 A, B)。MUC 1 に対する抗体は、観察される腫瘍塊のうち、上皮下の深層部に位置し、いかにも浸潤性に増大しているように連なってみえる、複数の小さな腫瘍塊を構成する腫瘍細胞の表面あるいは細胞質に比較的びまん性に結合した(図 1 C の右下側、図 1 D)。一方、上皮下の深層部に位置する比較

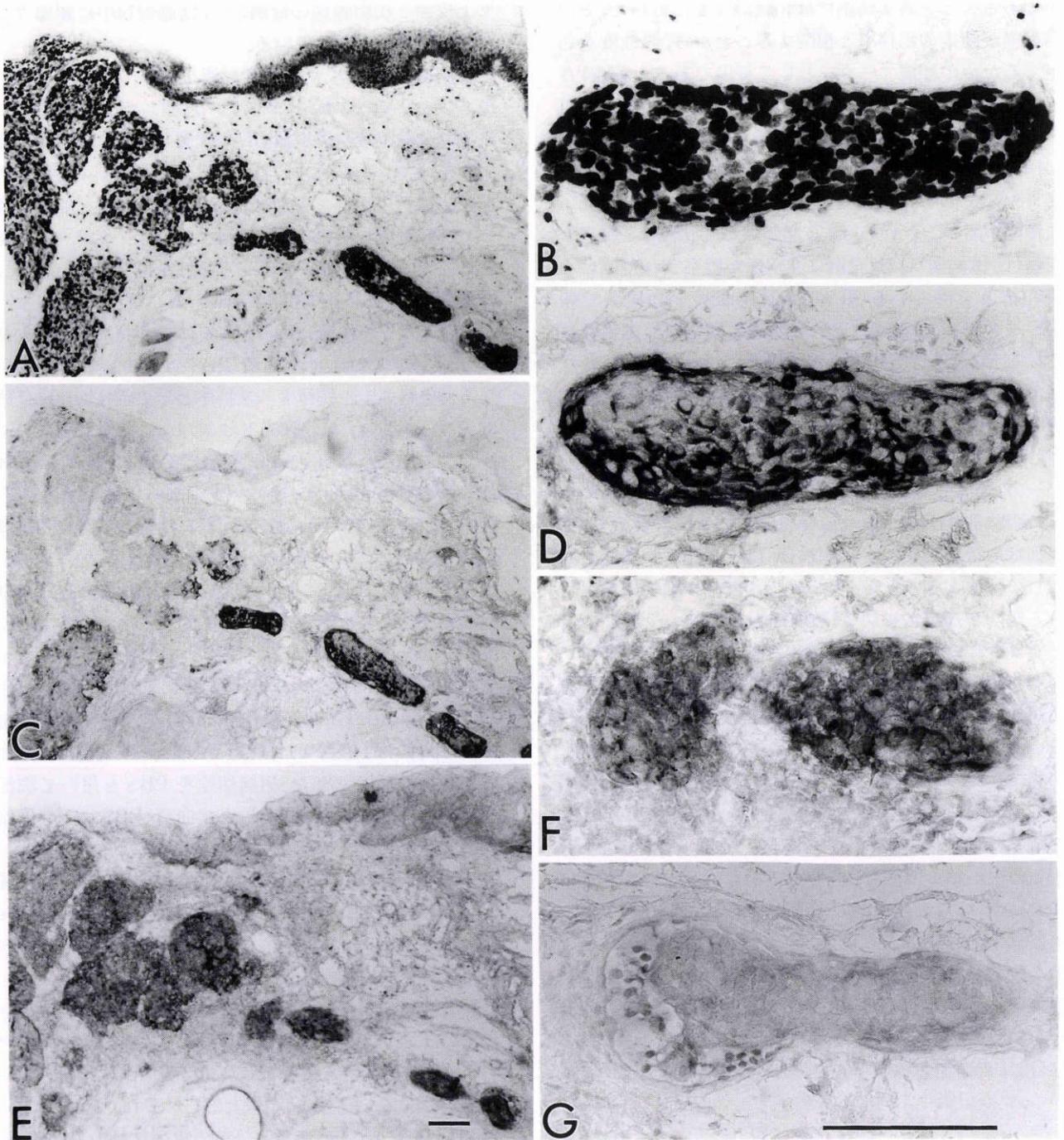


図1 低分化型癌腫の免疫組織染色像。

A: 抗 Ki 67 抗原抗体結合像, B: 抗 Ki 67 抗原抗体結合像, C: 抗 MUC 1(最初に cDNA がクローニングされたムチン)抗体結合像, D: 抗 MUC 1 抗体結合像, E: 抗 Tn 抗原抗体結合像, F: 抗 Tn 抗原抗体結合像, G: 非免疫血清反応像. バーは 100 μ m

的大きな腫瘍塊には, MUC 1 に対する抗体は, その辺縁部に局在する腫瘍細胞だけに結合するとともに, 表層に位置する腫瘍塊にはほとんど結合しなかった(図 1 C の左側). Tn 抗原に対する抗体は, 観察されるすべての腫瘍塊を構成する腫瘍細胞の細胞質に比較的びまん性に結合した(図 1 E, F). 非免疫血清を反応させた組織切片には, 微弱なペルオキシダーゼ発色像しか観察されなかった(図 1 G).

次に, MUC 1 と K 14 の分布の位置関係を示すための連続組織切片の免疫染色像の結果を示す. 低分化型癌腫において, MUC 1 に対する抗体は小さな腫瘍塊に対しては, ほぼ全体にわたって結合したものと辺縁部だけに結合したものとが観察された(図 2 A の右側)のに対し, 大きな腫瘍塊に対しては腫瘍塊内部の腫瘍細胞に散在性に結合した(図 2 A の左側). K 14 に対する抗体は, 小さな腫瘍塊にはほとんど結合せず, 大きな腫瘍塊の辺縁部

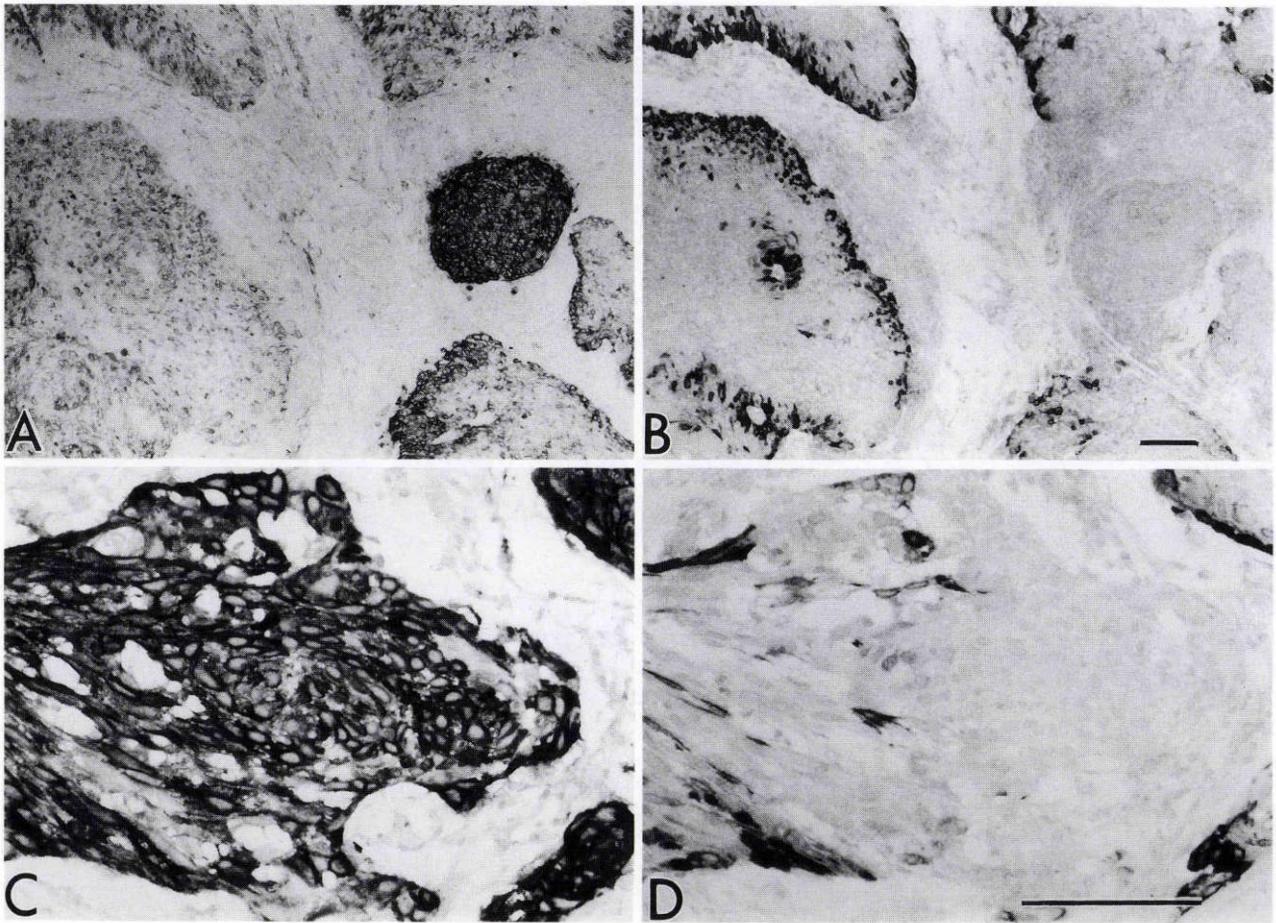


図2 低分化型癌腫と扁平上皮癌の免疫組織染色像。

A: 低分化型癌腫の抗 MUC 1 抗体結合像, B: 低分化型癌腫の抗 K 14 (ケラチン 14) 抗体結合像, C: 扁平上皮癌の抗 MUC 1 抗体結合像, D: 扁平上皮癌の抗 K 14 抗体結合像. バーは 100 μ m

を縁どるように分布している腫瘍細胞に結合した(図2 B). 扁平上皮癌においては, MUC 1 に対する抗体は不規則な辺縁部を含め, 腫瘍塊を構成する腫瘍細胞のほぼ全体にわたって結合した(図2 C)のに対し, K 14 に対する抗体は主に腫瘍塊の比較的平滑な辺縁部に分布している腫瘍細胞に結合した(図2 D).

皮脂腺癌の HE 染色した組織切片には, 腫瘍塊に接して多数のリンパ球様小細胞が集積している部分が観察された(図3 A の上方). これらの集積細胞には, T 細胞に対する抗体が比較的びまん性に(図3 B), B 細胞に対する抗体がびまん性から一部, 散在性に(図3 C), 単球/マクロファージに対する抗体が散在性に(図3 D), それぞれ結合した. MUC 1 に対する抗体は, これらの集積細胞群と腫瘍塊群との境界部分の腫瘍細胞に数層にわたって連続的に結合するとともに, そこから索状に集積細胞群中へ入り込んでいる腫瘍細胞群にも結合した(図3 E の上方)のに対し, 腫瘍塊が密集している部分には散在性には結合しなかった(図3 E の下方). K 14 に対する抗体が結合した腫瘍細胞は, 腫瘍塊存在部に比較的一様に全体にわたって検出された(図3 F). Tn 抗原に対する抗体が結合した腫瘍細胞は, 腫瘍塊存在部に疎らに散在性に

検出された(図3 G). 非免疫血清を反応させた組織切片には, 微弱なペルオキシダーゼ発色像しか観察されなかった(図3 H).

上記の皮脂腺癌の MUC 1, K 14 および Tn 抗原に対する抗体の結合像の細部を示すために図3の強拡大の染色像を示す(図4). MUC 1 に対する抗体は, 集積細胞群と腫瘍塊群との境界部分に分布する腫瘍細胞には, それらの細胞質から細胞表面に連続的に結合した(図4 A)のに対し, 腫瘍塊が密集している部分においては, 散在性に腫瘍細胞の細胞質から細胞表面に結合した(図4 B). K 14 に対する抗体は, 集積細胞群との境界部分においては, 散在性に腫瘍細胞の細胞質に結合した(図4 C)のに対し, 腫瘍塊の密集部分においては, 主に腫瘍塊の辺縁部に位置する腫瘍細胞の細胞質に結合した(図4 D). Tn 抗原に対する抗体は, 集積細胞群との境界部分(図4 E)から腫瘍塊の密集部分(図4 F)にかけて, 何ら規則性はなく, 疎らに腫瘍細胞の細胞質に結合した.

一方, 皮脂腺癌の腫瘍塊群から離れて, 小球状の腫瘍塊が複数, HE 染色像で確認された(図5 A). これらの腫瘍塊は, 辺縁部だけでなく, 腫瘍塊内部に位置する腫瘍細胞にも MUC 1 に対する抗体が結合した(図5 B). これらの

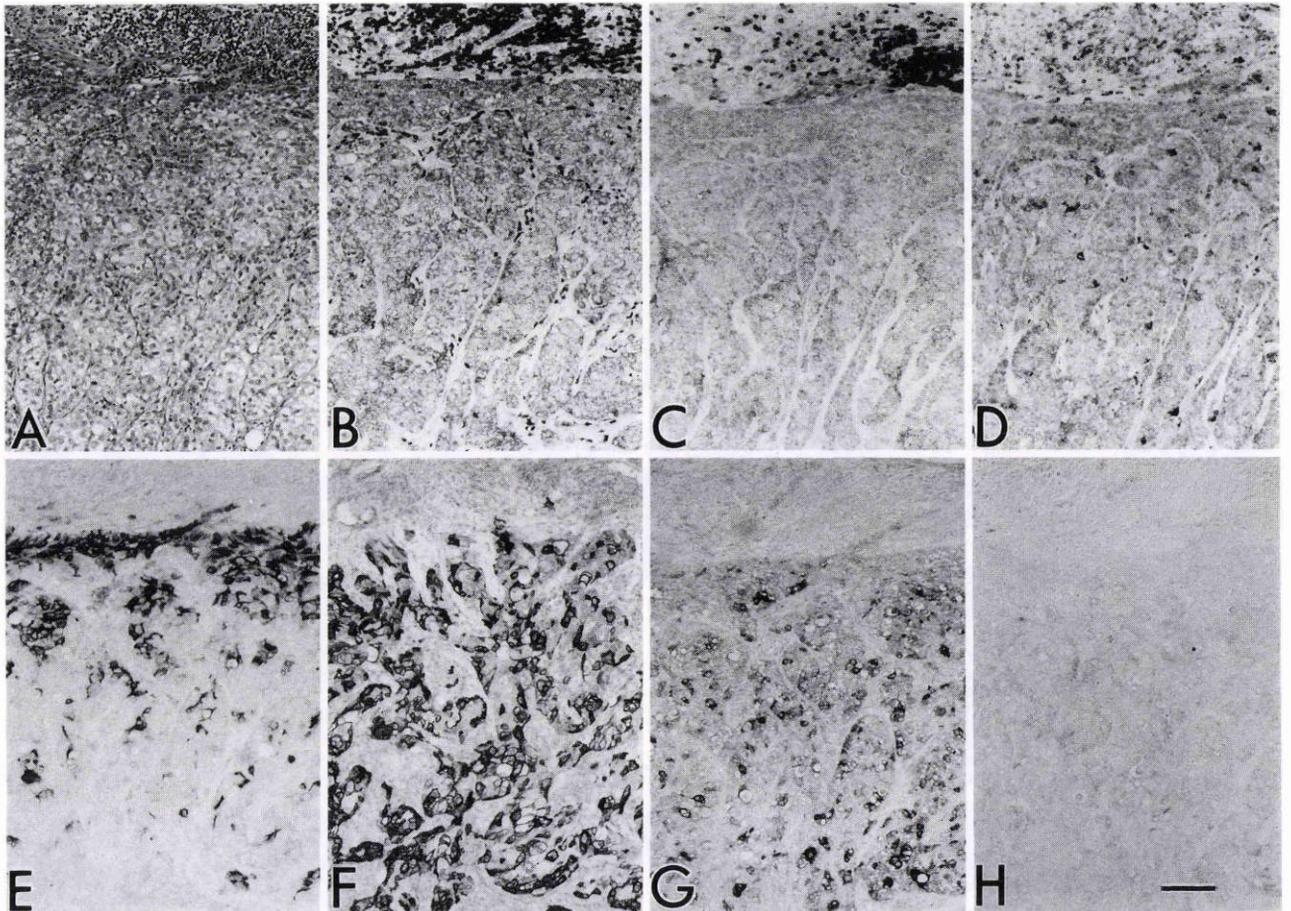


図3 皮脂腺癌の免疫組織染色像。

A: ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色像, B: 抗T細胞抗体結合像, C: 抗B細胞抗体結合像, D: 抗単球/マクロファージ抗体結合像, E: 抗MUC 1抗体結合像, F: 抗Ki 67抗体結合像, G: 抗Tn抗原抗体結合像, H: 非免疫血清反応像, バーは100 μ m

腫瘍塊の周囲には, T細胞に対する抗体が結合する細胞が多数集積していた(図5C). 非免疫血清を反応させた組織切片には, 微弱なペルオキシダーゼ発色像しか観察されなかった(図5D).

IV 考 按

まず, 本研究の免疫染色像の中で, MUC 1の役割を推定する上で最も説得力に富む組織像を示していると考えられる, 低分化型癌腫の観察結果について考察する. この腫瘍の低倍率の観察像は, 一つの顕微鏡視野内に腫瘍細胞が浸潤しつつあるようにみえる部分と, 非浸潤部分とがともに現われている(図1). すなわち, Ki 67抗原⁶⁾陽性の増殖能に富んだ腫瘍細胞で構成される腫瘍塊(図1A)のうち, 比較的大きな腫瘍塊で, 眼瞼の表層に位置するものにはMUC 1がほとんど検出されず, それよりも少し深層寄りに位置するものには, 辺縁部に散在性にMUC 1陽性の腫瘍細胞が検出され, それらの腫瘍塊から離れるようにして間質のさらに深層部へ向かって, 連続して観察される複数の小さな腫瘍塊には, 比較的びまん性にMUC 1陽性の腫瘍細胞が検出されている(図1C).

腫瘍の発生起源を考えた場合, 最表層に位置する腫瘍塊は腫瘍の原発巣と考えられる眼瞼上皮に近い, 膨脹性に増殖し続けている腫瘍細胞群であるとみなすことができるのに対し, 間質の深層部に位置するMUC 1陽性の腫瘍塊は原発巣から遠く, 大きさもまだ小さいことから, いわゆる浸潤して間もない腫瘍細胞群であるとみなすことができるであろう. これらの観察結果は, MUC 1が浸潤部の腫瘍細胞に発現することを示しているものと考えられる. それに対して, 浸潤能の有無に無関係に膀胱癌などの悪性腫瘍に高率に発現すると報告されているTn抗原³⁾は, 腫瘍細胞だけに分布が観察された(図1E)ものの, どの腫瘍塊にも一様に分布しており, 同様の傾向はこの低分化型癌腫だけでなく, 皮脂腺癌(図3G)にも観察されたことから, 腫瘍細胞の浸潤などの機能発現には関与していない可能性が高い. 低分化型癌腫の症例には, 現在までのところリンパ節や他臓器への転移はみられていないが, 浸潤性に富む腫瘍であると考えられ, 今後とも注意深い経過観察が必要であろう.

次に, 皮脂腺癌の組織において, T細胞を初めとするリンパ球がびまん性に集積している部分に隣接して,

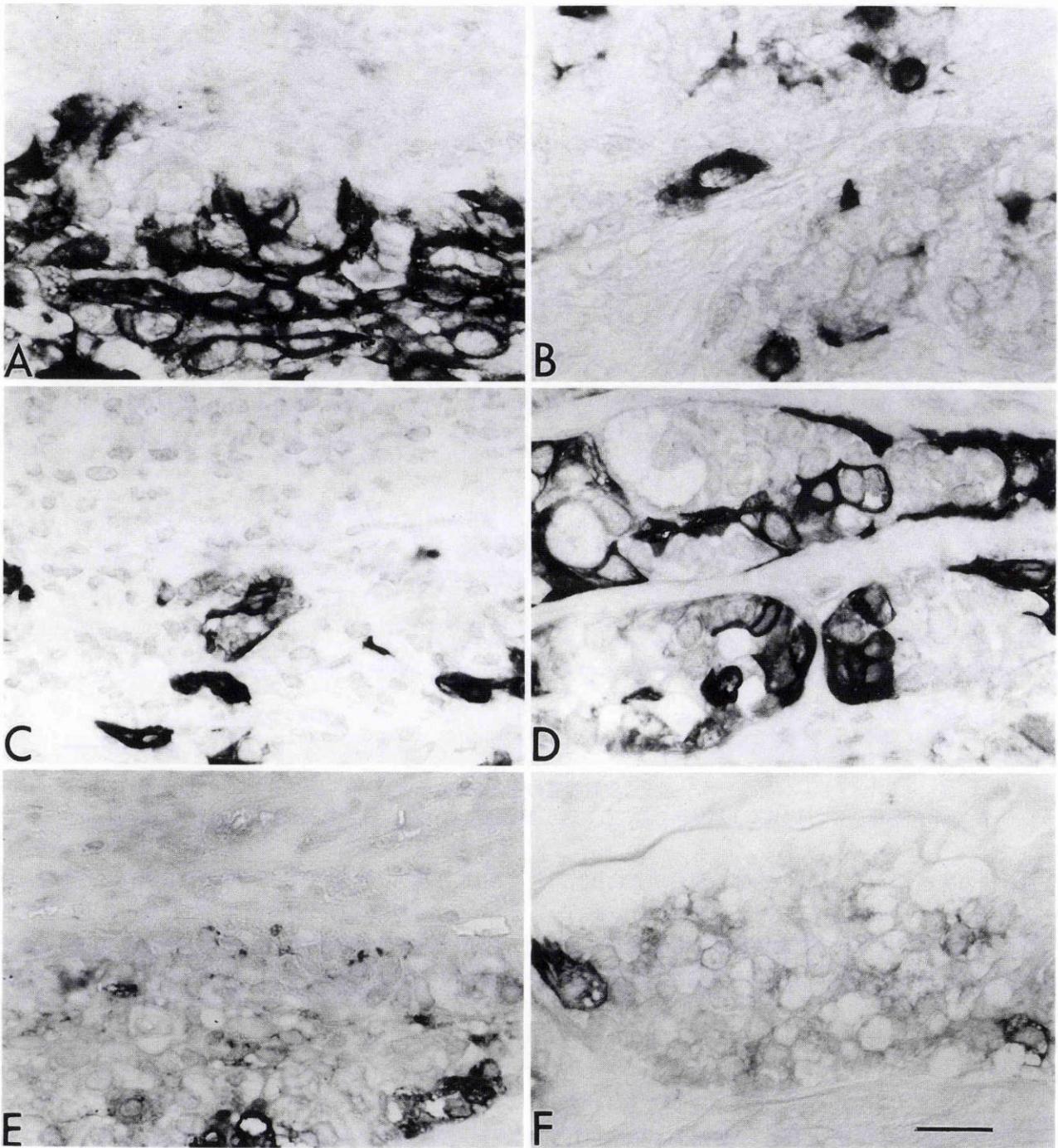


図4 皮脂腺癌の免疫組織染色像。

A: 免疫細胞集積部との境界領域における抗 MUC 1 抗体結合像, B: 腫瘍塊密集部における抗 MUC 1 抗体結合像, C: 免疫細胞集積部との境界領域における抗 K 14 抗体結合像, D: 腫瘍塊密集部における抗 K 14 抗体結合像, E: 免疫細胞集積部との境界領域における抗 Tn 抗原抗体結合像, F: 腫瘍塊密集部における抗 Tn 抗原抗体結合像. バーは 25 μ m

MUC 1 陽性の腫瘍細胞が連続的に検出され, 免疫細胞と腫瘍塊との間に境界壁を形成しているように観察された像(図 3 E, 4 A)は, いかにも MUC 1 が免疫細胞と腫瘍細胞との間の障壁としての役割を果たしているように思わせる所見である. それに対して, 皮脂腺癌の組織において, 腫瘍塊が密集している部分にはリンパ球の浸潤の程度も軽く, MUC 1 が散在性にしか発現していなかった観

察像(図 3 E, 4 B)は, 腫瘍細胞が免疫細胞との間の相互作用を行う必要のない部分には, MUC 1 を発現しにくいことを表しているように思われる. 一方, リンパ球は MUC 1 を標的として浸潤してきている可能性も考えられる. MUC 1 陽性の腫瘍細胞が全体にわたって検出された複数の腫瘍塊の周囲に T 細胞が多数集積している像(図 5 C)は, このことを示しているのかも知れない. 事

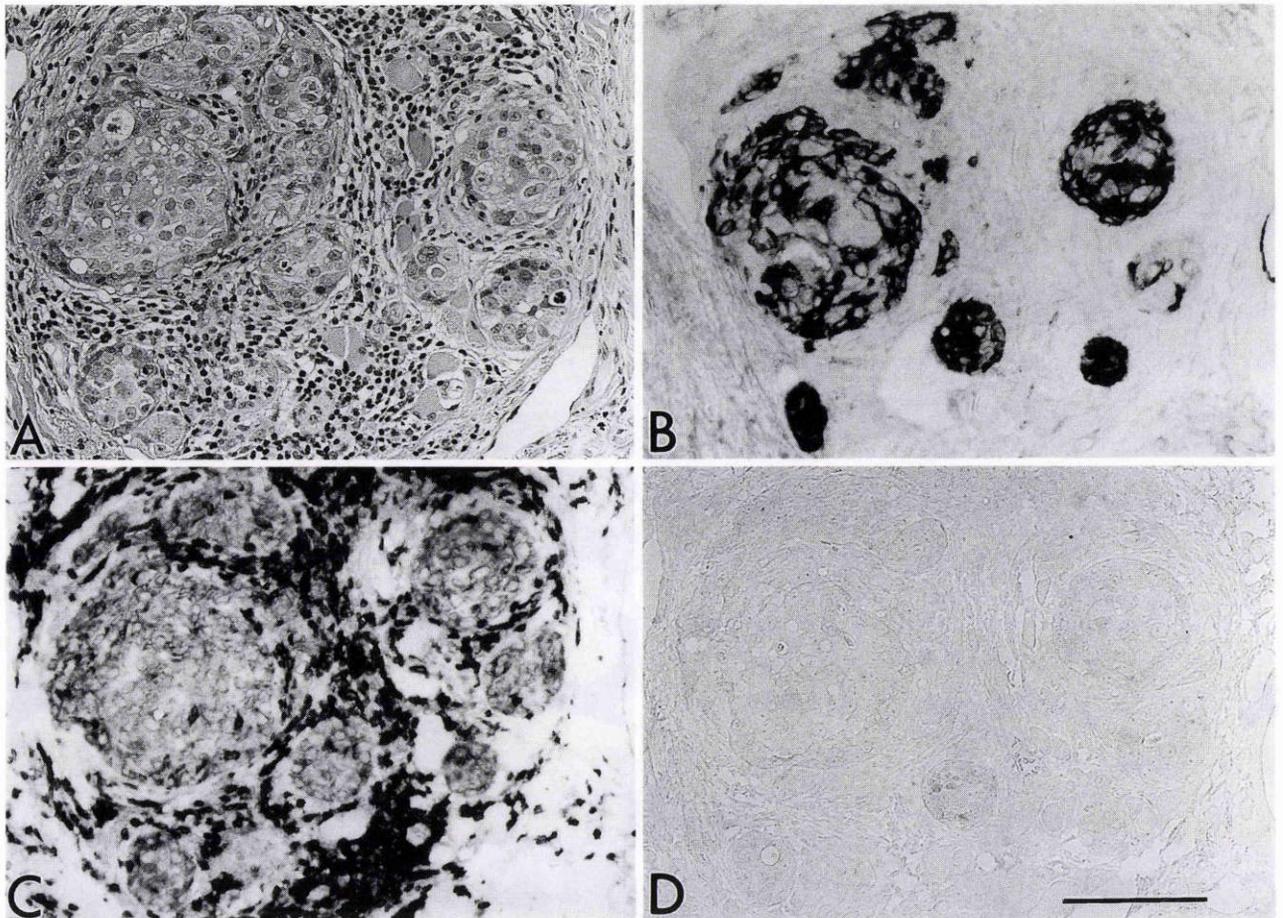


図5 皮脂腺癌の免疫組織染色像。

A: HE 染色像, B: 抗 MUC1 抗体結合像, C: 抗 T 細胞抗体結合像, D: 非免疫血清反応像. バーは 100 μ m

実, ある種の腺癌では, MUC1 の内部の蛋白が表に出てきて, MUC1 反応性の細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) によって認識されることが知られている⁸⁾. このように, T 細胞の集積像が浸潤性の腫瘍細胞における MUC1 発現の原因か結果かは明確ではないが, MUC1 が腫瘍細胞浸潤部に発現することだけは確かなようである.

ところで, 著者らは当初, 基底細胞に特異的な K14⁹⁾ の発現は, 腫瘍細胞の浸潤に対して抑制的に作用し, MUC1 の発現と逆の動態を示すのではないかと予想した. そこで, 次に, この点について考察してみたい. まず, 皮脂腺癌の症例のリンパ球がびまん性に集積している部分に接し, MUC1 陽性の腫瘍細胞が帯状に検出された領域に, K14 陽性の腫瘍細胞は散在性にしか検出されなかった (図 3 F, 4 C) ことから, 少なくとも K14 と MUC1 が同じ動態を示すという事は否定的である. また, 皮脂腺癌で, 腫瘍塊が密集していて, かつ MUC1 が散在性にしか観察されない領域では, 腫瘍塊の辺縁部に K14 陽性の腫瘍細胞が検出される傾向がみられた (図 3 F, 4 D) ことから, K14 陽性の腫瘍細胞で囲まれた腫瘍塊は, 安定した構造を維持しているように思われる. 低分化型癌腫と扁平上皮癌の症例でも, K14 陽性の腫瘍細胞と

MUC1 陽性の腫瘍細胞は, 一般的には異なった領域に検出される傾向がみられた (図 2) が, 両者は完全に相補的な位置関係にあるとはいえないようで, 腫瘍塊の辺縁部において, 両者が重複して観察される部分も存在した (図 2). しかしながら, K14 陽性の腫瘍細胞は大きな腫瘍塊の辺縁部か, 腫瘍塊の滑らかな辺縁部に分布する傾向が観察されたのに対し, MUC1 陽性の腫瘍細胞は腫瘍塊の辺縁部が不規則な形の, いかにも間質へ向かって浸潤しつつあるようにみえる部分にも分布する傾向が観察されたことから, 次のような作業仮説が成り立つのではなからうか. すなわち, K14 陽性の基底細胞様の腫瘍細胞で辺縁部を囲まれた腫瘍塊は, 免疫細胞により認識されず, 局所的に安定して増殖するのに対し, K14 陽性の腫瘍塊辺縁部の腫瘍細胞が MUC1 を発現するように変化した場合, 腫瘍は間質へ向かって浸潤し始めるのではないかと考えたい. その移行型として, 一部の腫瘍塊辺縁部には K14 と MUC1 の両方も発現する腫瘍細胞が分布しているのではなからうか. 著者らは, 基底細胞癌の腫瘍塊を構成するほとんどすべての腫瘍細胞に K14 が分布する⁹⁾ のに対し, MUC1 は全く発現しない像を観察している (第 100 回日本眼科学会総会で報告). 基底細胞癌は, K14 陽性の基底細胞様の腫瘍細胞だけで構成され, 膨張

性に増大するだけで周囲の間質組織へ浸潤していくよう
に変化することはないので, MUC 1 を発現することはない
のであろうと考えられる. このような基底細胞癌や悪
性度が高い眼瞼腫瘍の中の比較的安定な腫瘍塊におい
ては, K 14 陽性の腫瘍細胞によって免疫細胞による攻撃を
避けているのではないかと考えられるが, K 14 そのもの
は細胞質内の成分である⁵⁾ことから, いわゆる基底細胞
様の腫瘍細胞の表面には, MUC 1 以外の, 恐らく基底細胞
に特異的な複合糖質が存在することによって安定な構
造を維持しているのであろう. 著者らは現在, 健常眼瞼上
皮の基底細胞周囲に分布する O-結合型複合糖質に関す
る基礎的研究⁹⁾を進めているが, 将来, この基底細胞に特
異的な複合糖質を利用して, 腫瘍細胞を局所に封じ込め
ることが可能になるかも知れない.

本研究は, 文部省科学研究費(基盤 C 07671928)の補助に
よって行った.

文 献

- 1) Warren L, Buck CA, Tuszynski GP: Glycopeptide changes and malignant transformation. A possible role for carbohydrate in malignant behavior. *Biochem Biophys Acta* 516: 97-127, 1978.
- 2) 上原文行, 大庭紀雄, 宮城妙子: 眼瞼腫瘍に観察されたアポトーシス小体の糖鎖組織化学的解析. *日眼会誌* 101: 611-616, 1997.
- 3) Yonezawa S: Application of immunohistochemistry for diagnosis of neoplasms: Mucin antigens expression and biological behavior of neoplasms. *Acta Histochem Cytochem* 27: 561-566, 1994.
- 4) Gum JR Jr: Mucin genes and the proteins they encode: Structure, diversity, and regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7: 557-564, 1992.
- 5) 北島康雄: 細胞骨格と細胞接着の構造・機能とその異常としての皮膚疾患. 月田承一郎(編): 分子医科学シリーズ 2 細胞構造と機能. メジカルビュー社, 東京, 89-116, 1996.
- 6) 上原文行, 大庭紀雄: 眼瞼悪性腫瘍のケラチン分布に関する免疫組織化学的検索. *日眼会誌* 101: 677-683, 1997.
- 7) 上原文行, 大庭紀雄: 眼瞼腫瘍の Ki 67 抗原発現分布の免疫組織化学. *あたらしい眼科* 13: 1411-1413, 1996.
- 8) Finn OJ, Jerome KR, Henderson RA, Pecher G, Domenech N, Magarian-Blander J, et al: MUC-1 epithelial tumor mucin-based immunity and cancer vaccines. *Immunol Rev* 145: 61-89, 1995.
- 9) 上原文行, 柳田豊子, 岩切直人, 大庭紀雄: ラット眼瞼上皮の糖鎖組織化学的解析. *日眼会誌* 101: 385-388, 1997.