

**Vergleichende Untersuchungen über Auftreten
und Lokalisation
des carcinoembryonalen Antigens (CEA) und eines normalen
perchlorsäureextrahierbaren Dickdarmschleimhaut-Antigens
(NC)
in Carcinomen und Polypen des Dickdarmes**

Gerhard Tappeiner, Helmut Denk, Romana Eckerstorfer
und J. Heinrich Holzner

Pathologisch-Anatomisches Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. J. H. Holzner)

Eingegangen am 19. April 1973

Occurrence and Localization of the Carcino-Embryonic Antigen (CEA)
and of a Perchloric Acid-Soluble Antigen of Normal Colonic Mucosa (NC)
in Carcinomas and Polyps of the Large Bowel

Summary. Occurrence and localization of the carcinoembryonic antigen (CEA) and of a perchloric acid-soluble antigen of normal colonic mucosa (NC) were compared in polyps and carcinomas of the colon using the indirect immunofluorescence technique. NC is located in the secretory part of the goblet cells and diffusely distributed in the mucus. Therefore, it can be considered as a marker of large-bowel mucus. NC is found in all mucus-producing tumors regardless of their degree of differentiation in intra- and extracellular mucus deposits. Tumor cells which closely resemble normal goblet cells produce and secrete NC. With respect to their NC content, there is no immunologically detectable qualitative difference between the secretions of normal and of neoplastic large bowel mucosa. It is clearly shown that production and secretion of CEA is independent of mucus production and secretion. In contrast to earlier results, CEA was found in polyps and in normal mucosa surrounding the carcinoma, confirming the observations of Burtin *et al.* (1972a).

Zusammenfassung. Auftreten und Lokalisation eines aus normaler Colonmucosa mit Perchlorsäure extrahierbaren Antigens (NC) in benignen und malignen Colontumoren wurden mittels indirekter Immunfluoreszenz untersucht und mit dem carcinoembryonalen Antigen (CEA) verglichen. In der normalen Dickdarmschleimhaut trat das NC intracellulär im sekretorischen Anteil der Becherzellen, extracellulär diffus im Schleim auf. Es kann somit als Schleimantigen angesehen werden. In Tumoren fand es sich unabhängig vom Differenzierungsgrad immer im intra- und extracellulären Schleim. In hochdifferenzierten Tumoren wurde es reichlich in Zellen gefunden, die normalen Becherzellen ähnelten. Diese Zellen sezernierten NC ins Lumen. Bezüglich des NC verhält sich der Schleim verschiedener Tumoren und der normalen Schleimhaut gleich. Es zeigt sich deutlich, daß die vom Differenzierungsgrad des Tumors abhängige CEA-Produktion von der Schleimproduktion und vom Auftreten des NC unabhängig ist. Entgegen früheren Befunden konnte CEA auch in Polypen und in der normalen Schleimhaut in der Umgebung von Carcinomen nachgewiesen werden, womit die Befunde von Burtin *et al.* (1972a) bestätigt werden.

Das carcinoembryonale Antigen (CEA) wurde von Gold und Freedman (1965) aus Carcinomen des Magen-Darm-Traktes isoliert und auch im GI-Trakt von Feten zwischen dem 2. und 6. Gestationsmonat nachgewiesen. Nach Krupey *et al.* (1968) ist CEA ein Protein-Polysaccharid-Komplex, der in der Elektrophorese ähnlich den Beta-Globulinen wandert. Immunhistochemisch ist das Antigen an der dem Drüsenlumen zugewandten Tumorzellmembran (Glycocalyx) lokalisiert, findet sich aber auch im Lumen der Carcinomdrüsen (Gold *et al.*, 1968, 1970; v. Kleist *et al.*, 1969; Norland *et al.*, 1969; Denk *et al.*, 1972). Untersuchungen über die Korrelation des CEA-Gehaltes eines Tumors zu seiner geweblichen Differenzierung ergaben, daß die CEA-Produktion eine Funktion höher differenzierter Neoplasmen ist (Denk *et al.*, 1972). In anaplastischen Carcinomen konnte CEA mit Hilfe der Immunfluoreszenz nicht nachgewiesen werden. Die ursprünglich von Gold *et al.* (1965a, b) postulierte Carcinomspezifität des CEA wurde später von einigen Untersuchern in Frage gestellt. Burtin *et al.* (1972a, b) wiesen mit Hilfe der Immunfluoreszenz CEA in gutartigen Dickdarmschleimhautpolypen, in Dickdarmmucosa von Kindern, in entzündlich veränderter Darmschleimhaut sowie auch in Mucosa aus der unmittelbaren Umgebung von Adenocarcinomen des Dickdarmes nach. In der Colonschleimhaut von Gesunden war CEA mit der Immunfluoreszenzmethode nicht nachweisbar. Martin *et al.* (1970) extrahierten jedoch aus nicht krebsig veränderter Dickdarmschleimhaut eine immunologisch dem CEA identische Substanz. Freed und Taylor (1972) fanden CEA in einem von elf Extrakten aus normaler Dickdarmmucosa. Rosai *et al.* (1972) konnten ebenfalls ein dem CEA immunologisch gleiches Glykoproteid aus nicht carcinomatöser Dickdarmmucosa extrahieren. Abeyounis und Milgrom (1972) bestätigten das Vorhandensein von CEA in normaler Colonmucosa. Diesen Befunden stehen die Arbeiten von Egan *et al.* (1972) und Coligan *et al.* (1972) entgegen, die nach Extraktion normaler Colonschleimhaut CEA mit Hilfe radioimmunologischer Methoden *nicht* fanden, sowie die Befunde von Crichlow and White (1970), die mittels des Ouchterlony-Tests CEA in Perchlorsäureextrakten dreier verschiedener Dickdarmpolypen *nicht* nachweisen konnten.

Untersuchungen über die in normaler Colonmucosa vorkommenden Antigene liegen von Nairn *et al.* (1962a, b) und von Burtin *et al.* (1971) vor. Nairn *et al.* (1962a, b) extrahierten ein wasserlösliches Mucopolysaccharid aus einer mikrosomenreichen Fraktion der Dickdarmschleimhaut. Diese Substanz fand sich im Magen unregelmäßig, ließ sich aber stets im Cytoplasma der Becherzellen des Dickdarmes nachweisen und wird nach Nairn *et al.* (1962a) sezerniert. In Polypen des Colon war das Antigen vermindert, in maligne degenerierten Polypen fehlte es fast völlig. Wohl aber fanden sich einzelne stark antigenpositive Zellen, die jedoch von Nairn *et al.* (1962a) nicht näher charakterisiert wurden. In einem hohen Prozentsatz der Carcinome des Dickdarmes fehlte das Antigen, nur in „mucoiden“ Tumoren konnte es in großer Menge im Schleim nachgewiesen werden. In diesen Tumoren wurde von Nairn *et al.* (1962b) auf einige antigenhaltige Zellen hingewiesen, die aber nicht näher bezeichnet wurden. Nairn's Befunde wurden von Burtin *et al.* (1971) teilweise bestätigt, teilweise dahin erweitert, daß von diesen Autoren auf ein zusätzliches in der seitlichen Zellmembran normaler Dickdarmepithelzellen lokalisiertes Antigen (CMA) hingewiesen wurde. Bei maligner Entartung verschwand CMA ungefähr parallel mit dem Auftreten von CEA.

In der vorliegenden Studie wird die Lokalisation eines aus normaler Dickdarmmucosa mit Perchlorsäure extrahierbaren Antigens (NC) in gutartigen und bösartigen Geschwülsten des Dickdarmes beschrieben und mit der des CEA verglichen. Besonderes Augenmerk gilt dabei den morphologischen Verhältnissen und der Zuordnung der Antigene zu bestimmten Strukturen des Tumors.

Material und Methodik

1. Untersuchungsmaterial

Untersucht wurde Operationsmaterial, das 3–6 Std nach der Entnahme in Trockenis-Aceton eingefroren und entweder sofort aufgearbeitet oder bei -80°C aufbewahrt wurde. Untersucht wurden 42 Dickdarmcarcinome und 4 Colonschleimhautpolypen unterschiedlicher histologischer Typen und Differenzierungsgrade. Die histologische Beurteilung erfolgte wie früher beschrieben (Denk *et al.*, 1972).

2. Antigenpräparation

a) *CEA*. CEA wurde nach der von Thomson *et al.* (1969) angegebenen Methode mit 1 M Perchlorsäure aus Dickdarmcarcinomen oder aus Lebermetastasen von solchen extrahiert. Die Herstellung des Extraktes erfolgte wie früher beschrieben (Denk *et al.*, 1972). Der Proteingehalt des lyophilisierten Extraktes betrug 60%, bezogen auf Trockengewicht.

b) *NC*. Extrakte aus histologisch normaler Dickdarmschleimhaut wurden in analoger Weise bereitete. Das Material stammte entweder von Patienten, die wegen eines Dickdarmcarcinoms operiert worden waren (mindestens 7 cm proximal des Tumors), oder wurde in einigen Fällen bei der Obduktion tumorfreier Leichen gewonnen. In jedem Fall wurde das Material vor der Verwendung histologisch auf Tumorfreiheit geprüft. Der Proteingehalt betrug ebenfalls 60%, bezogen auf Trockengewicht des lyophilisierten Extraktes.

3. Antisera

Kaninchen wurde in einwöchigen Abständen 4mal roher Perchlorsäureextrakt (entsprechend 6 mg Protein) in komplettem Freund-Adjuvans (CFA) s.c. injiziert. Eine Woche nach der letzten Injektion wurde Blut durch Herzpunktion gewonnen, die Globuline mit 40% Ammonsulfat gefällt (s. Denk *et al.*, 1972). Der in der Folge verwendete Ausdruck „Antiserum“ bezieht sich auf diese Globulinfractionen. Antikörpergehalt und Spezifität wurden, wie früher beschrieben (Denk *et al.*, 1972), mit Hilfe der Ouchterlony-Doppeldiffusionsmethode getestet. Der Titer der unverdünnten Sera betrug 4 Präzipitationseinheiten (PE) pro mg Protein/ml. Für die indirekte Immunfluoreszenz (IIF) wurde das Anti-CEA-Serum mit 20 mg NC, 20 mg gepooltem Fibrinogenreferenzplasma und mit einem Perchlorsäureextrakt aus normaler Lunge entsprechend 40 mg Trockensubstanz absorbiert. Das Anti-NC-Serum wurde mit 20 mg/ml gepooltem Fibrinogenreferenzplasma absorbiert.

Das CEA-Antiserum wurde mit einem spezifischen CEA-Antiserum, das uns von Dr. von Kleist freundlicherweise überlassen worden war, verglichen. Dabei zeigte es im Ouchterlony-Test vollständige Identität.

4. Indirekte Immunfluoreszenz (IIF)

Die Markierungen der Gefrierschnitte wurden wie früher beschrieben durchgeführt (Denk *et al.*, 1972). Die absorbierten Antisera wurden in einer Verdünnung von 1:15 (entsprechend $1/2-1/4$ Präzipitationseinheit) verwendet. Zum Nachweis der Bindung des CEA-Antikörpers an das Antigen verwendeten wir ein FITC-gekoppeltes Anti-Kaninchen-Globulin-Serum (Ziege, Behring-Werke) in einer Verdünnung von 1:16 (entsprechend $1/2$ Präzipitationseinheit/ml). Das molare Fluorescein-Protein-Verhältnis war 3,8. Die jeweils optimalen Serumverdünnungen wurden in Vorversuchen in einer Schachbretttitration ermittelt.

Als Kontrollansätze dienten: a) Inkubation mit einem normalen Kaninchenserum anstatt des spezifischen Antiserums. Das Kaninchenserum wurde mit 20 mg Fibrinogenreferenzplasma

(Hyland)/ml und mit 20 mg/ml NC absorbiert. b) Inkubation mit 0,9% NaCl-Lösung anstatt des Anti-CEA-Serums. c) Inkubation mit einem spezifischen Anti-CEA-Serum nach Absorption desselben mit CEA (10 mg lyophilisiertes Pulver/ml Serum).

Die Fluoreszenzpräparate wurden in einem Leitz-Orthoplan-Mikroskop mit einem Quecksilberhochdruckbrenner (Philips CS 200-4), einem Wärmeschutzfilter BG 12, einem Cardioid-Dunkelfeldkondensor, einem Erregerfilter KP 490 und einem Sperrfilter K 510 ausgewertet.

Ergebnisse

1. Verteilung und Lokalisation des CEA und des NC bei Carcinomen des Dickdarmes

CEA läßt sich in höher differenzierten drüsenbildenden Cylinderzellcarcinomen des Dickdarmes in größerer Menge sowohl an der dem Lumen zugewandten Zelloberfläche als granulärer Oberflächenbelag, als auch häufig im Lumen der Tumordrüsen in granulärer oder wolkiger Form nachweisen. In das Lumen abgestoßene Zellen oder Detritusmassen sind oft von CEA umgeben, zeigen aber selbst nur in wenigen Fällen eine spezifische Fluoreszenz. Bei drüsenbildenden Carcinomen mit geringerer cellularer und geweblicher Differenzierung, die sich in einer Verschiebung der Kern-Plasma-Relation, in Mehrstufigkeit des Epithels, in einer Unregelmäßigkeit der Drüsenlumina, in der Ausbildung papillärer Strukturen und von Sekundärdrüsen äußert, findet sich CEA in wesentlich geringerer Menge vor allem in Form des granulären Oberflächenbelages. Bei anaplastischen, größtenteils soliden Carcinomen läßt sich CEA bei Anwendung der indirekten Immunfluoreszenz nicht mit Sicherheit und distinkt darstellen.

Die Behandlung von Dickdarmcarcinomschnitten mit einem NC-Antiserum stellt spezifisch fluoreszierende, schleimähnliche Massen in wechselnder Menge dar, die in den Lumina der Tumordrüsen gelegen sind, aber auch einen Oberflächenbelag der Drüsen bilden können. Das Vorkommen von NC korreliert im Gegensatz zum CEA nicht ohne weiteres mit dem Differenzierungsgrad des Tumors und bisweilen fehlt NC auch in höher differenzierten Carcinomen, die CEA enthalten. Es fällt aber auf, daß sich in Tumoren mit hohem NC-Gehalt häufig Tumorzellen finden, die morphologisch normalen Becherzellen ähneln und ebenso wie jene in normaler Mucosa reichlich NC im Cytoplasma enthalten (Abb. 1 a, b, c).

In wenig differenzierten, anaplastischen Carcinomen mit Tendenz zur Verschleimung, in denen sich kein CEA nachweisen läßt, findet sich NC in Form kleinerer und größerer „Seen“ zwischen den Tumorzellen. Bisweilen entsteht auch der Eindruck, daß einzelne Tumorzellen NC in ihrem Cytoplasma in Form kleinerer und größerer Tropfen enthalten (Abb. 2 a, b).

Unabhängig von dem extracellulär und an der Zelloberfläche darstellbaren CEA und dem Differenzierungsgrad der Carcinome zeigt das Tumorgewebe nach Färbung mit Anti-CEA eine gegenüber der Umgebung stärkere diffuse bis feingranuläre cytoplasmatische Fluoreszenz, die im Farbton einer spezifischen Fluoreszenz entspricht. Diese Fluoreszenz fehlt nach Markierung mit Anti-NC (Abb. 3 a, b).

Bei Carcinomen mit ausgeprägter Verschleimung zeigt sich nach Inkubation mit einem spezifischen Anti-CEA-Serum eine granuläre bis fädige Fluoreszenz im Schleim, wenn es sich um höher differenzierte Tumoren handelt. Bei anaplastischen, verschleimenden Carcinomen läßt sich CEA im Schleim nicht nachweisen.

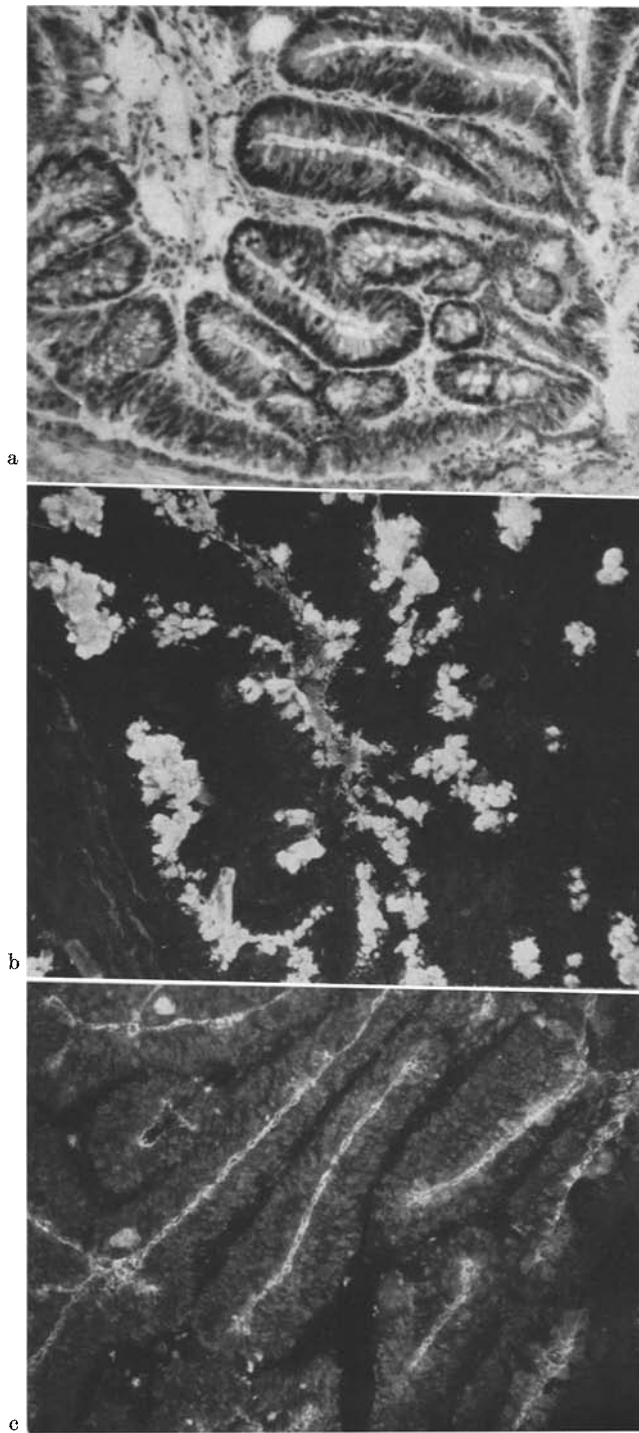


Abb. 1 a—c. Höher differenziertes Adenocarcinom des Dickdarms. a Gefrierschnitt, Hämatoxylin-Eosin; $32\times$. Zahlreiche Tumorzellen, die Becherzellen imitieren. b Gefrierschnitt, NC-Antiserum; $32\times$. Vergleichbare Stelle des gleichen Tumors. Spezifisch fluorescierende schleimähnliche Massen in den Drüsenlumina und im Cytoplasma der Zellen, die Becherzellen imitieren. Keine Fluoreszenz der Tumorzellmembranen. c Gefrierschnitt, CEA-Antiserum; $32\times$. Vergleichbare Stelle des gleichen Tumors. Lineare bis körnige Fluoreszenz an der lumenzugewandten Tumorzelloberfläche

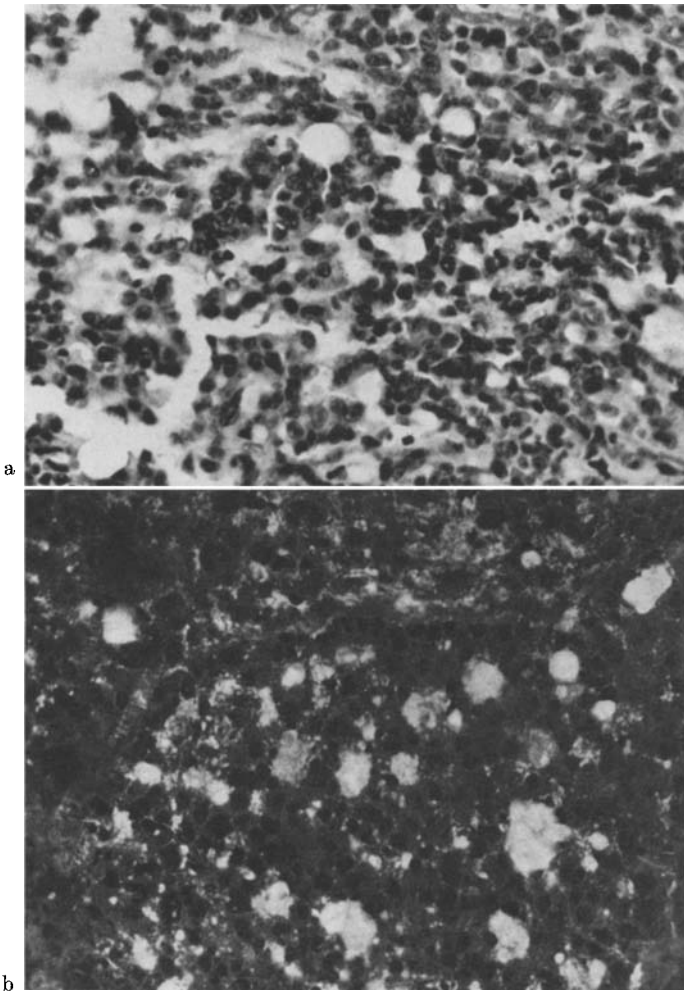


Abb. 2 a u. b. Undifferenziertes, teils solides Dickdarmcarcinom. a Gefrierschnitt, Hämatoxylin-Eosin; 80 \times . b Gefrierschnitt, NC-Antiserum; 80 \times . Kleinere und größere „Seen“ NC-spezifischer Fluoreszenz zwischen den Tumorzellen. Einzelne Tumorzellen enthalten kleinere und größere Tropfen von NC im Cytoplasma. Die Kerne der Tumorzellen sind ausgespart

Mit Anti-NC-Serum zeigt der Schleim aller dieser Tumoren unabhängig vom Differenzierungsgrad eine intensive wolkig-diffuse Fluoreszenz (Abb. 4 a, b).

In normaler Dickdarmmucosa in unmittelbarer Umgebung des Carcinoms findet sich eine stärker oder schwächer ausgeprägte, linienförmige bis feingranuläre, spezifische Fluoreszenz an der lumennahen Oberfläche der Becherzellen, die mit CEA spezifisch absorbierbar ist (Abb. 5 b). Nach Inkubation mit Anti-NC leuchten das Cytoplasma der Becherzellen und die Inhaltsmassen der Drüsen. Die Fluoreszenz unterscheidet sich weder in der Lokalisation noch in der Menge von dem an normaler Colonmucosa zu erhebenden Befund (Abb. 5 a).

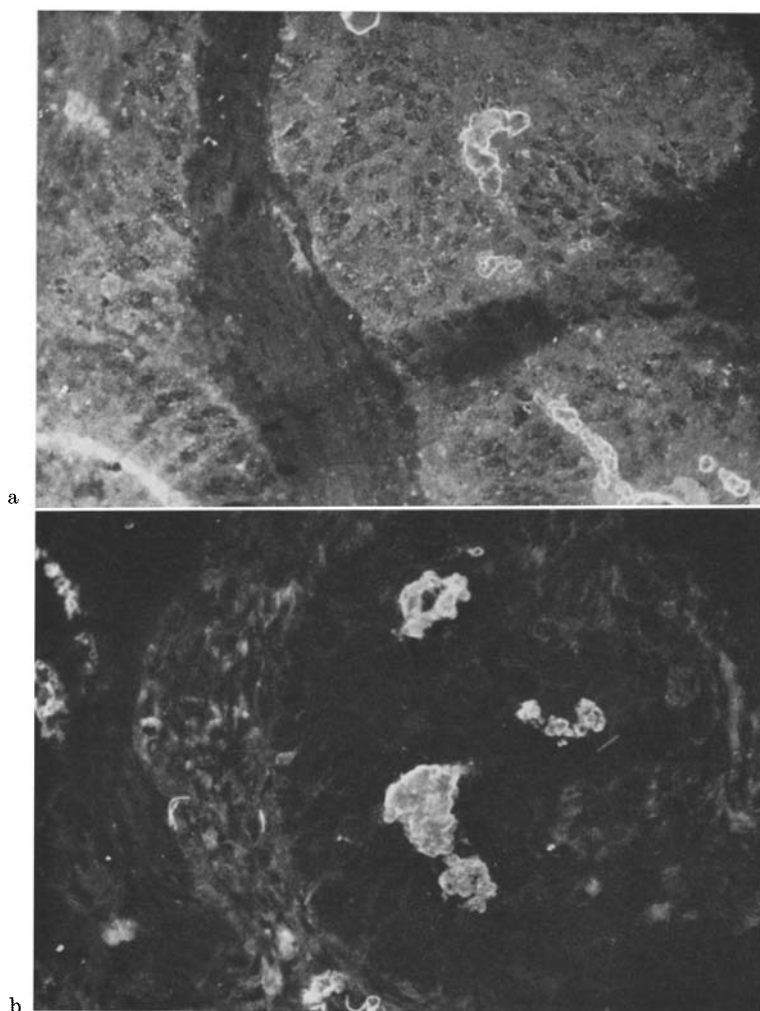


Abb. 3a u. b. Wenig differenziertes Dickdarmcarcinom. a Gefrierschnitt, CEA-Antiserum; $80\times$. Das Tumorgewebe hebt sich vom umgebenden Bindegewebe durch eine erhöhte diffuse cytoplasmatische Fluoreszenz ab. Im Zentrum Ausbildung eines Lumens, das CEA enthält. b Gefrierschnitt, NC-Antiserum; $80\times$. Vergleichbare Stelle des Tumors. Das Tumorgewebe zeigt gegenüber der Umgebung keine erhöhte Fluoreszenz. NC im Lumen der Drüse nachweisbar

2. Verteilung und Lokalisation von CEA und NC in Dickdarmpolypen

In Polypen tritt nach Inkubation mit einem spezifischen Anti-CEA-Serum in unregelmäßiger Verteilung eine oberflächliche, linienförmige bis feingranuläre Fluoreszenz auf, die an die in der Umgebung von Colonicarcinomen in normaler Mucosa gefundene erinnert. Bei benignen Polypen ist die Intensität dieser fluoreszierenden Linien gering, und positive Areale wechseln mit negativen ab. Bei Polypen in carcinomatöser Entartung erscheint die Fluoreszenz der noch benignen

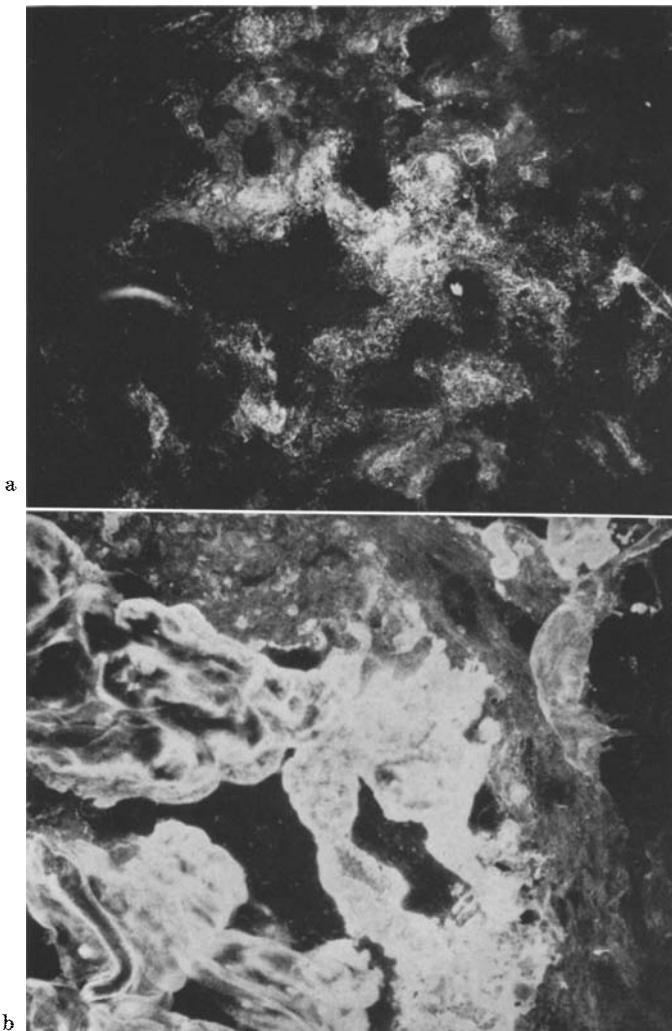


Abb. 4a u. b. Höher differenziertes, stark verschleimendes Dickdarmcarcinom. a Gefrierschnitt, CEA-Antiserum; 32 \times . Granuläre und fädige spezifische Fluoreszenz im Schleim. b Gefrierschnitt, NC-Antiserum; 32 \times . Intensive wolkig-diffuse Fluoreszenz im Schleim

Anteile verstärkt. Die umgebende normale Dickdarmmucosa ist ausnahmslos negativ. Die oberflächliche spezifisch fluorescierende Linie des Polypen läßt sich ähnlich wie die der peritumoralen Colonschleimhaut und die des Carcinoms durch Absorption des Antiserums mit CEA beseitigen (Abb. 6b).

Die mit Anti-NC-Serum darstellbare Fluoreszenz ist weitgehend an Becherzellen im Polypen gebunden und ähnelt entweder der normalen Colonmucosa oder beschränkt sich auf die oberflächlichen, Becherzellen ausbildenden Zellagen (Abb. 6a). Becherzellfreie Areale reagieren mit Anti-NC nicht.

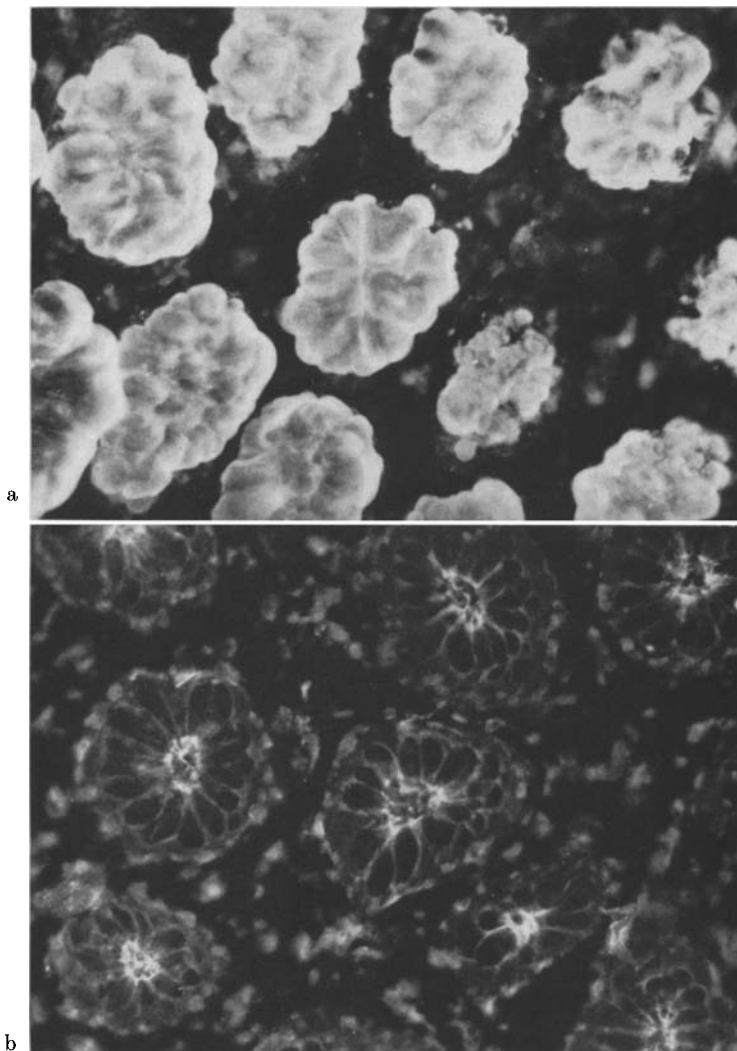


Abb. 5 a u. b. Normale Colonmucosa aus unmittelbarer Umgebung eines Carcinoms. a Gefrierschnitt, NC-Antiserum; 80 \times . NC im Drüsenlumen und im Cytoplasma der Becherzellen. b Gefrierschnitt, CEA-Antiserum; 80 \times . Linienförmige bis feingranuläre CEA-spezifische Fluoreszenz an der lumenzugewandten Oberfläche der Becherzellen

Eine ausschließliche Fluoreszenz der Zellmembranen kommt bei Markierung mit Anti-NC weder in normaler Colonschleimhaut noch in Carcinomen oder Polypen zur Darstellung.

Diskussion

Untersuchungen über das Verhalten intestinaler Antigene bei nicht neoplastischen Erkrankungen und bei Neoplasmen liegen von Burtin *et al.* (1971, 1972a) und von Nairn *et al.* (1962a, b) vor. Nairn *et al.* (1962a) extrahierten ein gastro-

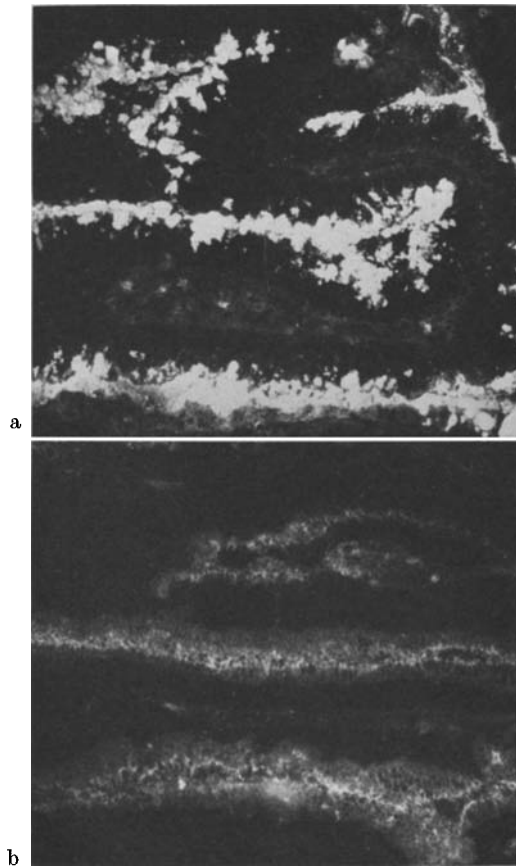


Abb. 6 a u. b. Colonschleimhautpolyp (adenomatös). a Gefrierschnitt, NC-Antiserum; $32\times$. Fluoreszenz des Lumeninhaltes der Drüsen und des Cytoplasma der Becherzellen. Einzelne Zellen enthalten NC in kleinen Tropfen im Cytoplasma. b Gefrierschnitt, CEA-Antiserum; $32\times$. Lineare bis feingranuläre Oberflächenfluoreszenz der Becherzellen ähnlich der der peritumoralen Colommucosa

intestinales Antigen aus der Mikrosomenfraktion der Dickdarmmucosa. Das Antigen ließ sich mit Hilfe der IIF in den sezernierenden Arealen der Mucosa lokalisieren, schien daher eher ein Sekretionsprodukt zu sein und paßte also nicht in das Konzept echter organspezifischer Antigene.

In unseren Untersuchungen wurde auf die Beziehung zwischen einem aus normaler Colommucosa extrahierbaren Antigen (NC) und dem CEA mit besonderer Berücksichtigung ihrer histologischen Lokalisation eingegangen. Um von vergleichbaren Substanzen ausgehen zu können, wurden nach der Methode von Thomson *et al.* (1969) NC aus normaler Colommucosa und CEA aus Coloncarcinomen oder ihren Metastasen mit 1 M Perchlorsäure extrahiert. Diese Methode begünstigt die Extraktion von Mucoproteiden.

Das *intracelluläre* NC ist auf Becherzellen beschränkt, gleichgültig, ob in normaler Colonschleimhaut, in Polypen oder in Coloncarcinomen. *Extracellulär*

findet es sich im Sekret normaler und neoplastisch veränderter Dickdarmmucosa. Die Lokalisation des NC in den Becherzellen der normalen Colonmucosa entspricht der des von Nairn *et al.* (1962a) beschriebenen Antigens. Ebenso kann das Vorhandensein der von Nairn *et al.* (1962b) vereinzelt in Carcinomen beschriebenen antigenhaltigen Zellen bestätigt werden, die wir als *becherzelllimitierende* Tumorzellen identifizierten. Die in solchen Carcinomdrüsen vorhandenen fluoreszierenden Schleimmassen werden möglicherweise von diesen Zellen sezerniert. Während Nairn *et al.* (1962b) aber auf eine häufig fehlende Fluoreszenz des Schleimes im Tumor hinweisen, war der Schleim unter unseren Versuchsbedingungen in jedem Falle NC-positiv. Dies zeigt, daß NC als „Schleimantigen“ anzusehen ist. Nairn *et al.* (1962b) erklären das Fehlen ihres „gastrointestinalen“ Antigens in manchen Tumoren mit einer genetischen Veränderung der Tumorzelle oder einer „Verdünnung“ cytoplasmatischer Faktoren bei der „überschießenden Zellteilung“ im Carcinom. Diese Ansicht kann auf Grund unserer Ergebnisse nicht bestätigt werden. Die Diskrepanzen zwischen unseren Befunden und den Ergebnissen von Nairn *et al.* (1962b) könnten dadurch erklärt werden, daß im Rahmen der von Nairn *et al.* (1962a) durchgeführten Extraktion des Antigens aus der Mikrosomenfraktion der Mucosa lösliche Mucoproteide eliminiert werden. Burtin *et al.* (1971) wiesen mittels IIF sowohl ein cytoplasmatisches als auch ein Membranantigen in der Epithelzelle des Dickdarmes nach. Beide Antigene sind bei benignen (Polypen) oder malignen Neoplasmen des Dickdarmes beträchtlich vermindert oder fehlen. Die von Burtin *et al.* (1971) beschriebenen Antigene sind wasserlöslich und mit gepufferter Kochsalzlösung oder Butanol aus dem Gewebe extrahierbar. Das Verschwinden des Membranantigens geht dem Auftreten des CEA im Tumor voraus. Verglichen mit den Ergebnissen Burtins *et al.* (1971) läßt sich in unseren Untersuchungen ein spezifisches Membranantigen weder in Colonschleimhautzellen noch in Carcinomzellen nachweisen. Es ist allerdings zu betonen, daß die Fluoreszenz des Cytoplasmas der Becherzellen der normalen Mucosa stets so intensiv war, daß eine Membranfluoreszenz überdeckt worden sein könnte.

In einer früheren Untersuchung (Denk *et al.*, 1972) wurde auf das Vorkommen von CEA in granulärer Form im Schleim hochdifferenzierter schleimproduzierender Adenocarcinome hingewiesen und an die Möglichkeit eines ähnlichen Sekretionsmechanismus für Schleim und CEA gedacht. In der vorliegenden Studie wurden mit Hilfe spezifischer Antisera Schleim und CEA differenziert. Dabei zeigte sich deutlich, daß Schleim- und CEA-Produktion im Dickdarm voneinander unabhängige Phänomene sind.

Im Gegensatz zu unseren früheren Befunden (Denk *et al.*, 1972), aber im Einklang mit den Ergebnissen Burtins *et al.* (1972a) konnten wir eine schwache spezifische Fluoreszenz des lumennahen Anteiles der Becherzellen in peritumorale normaler Mucosa, aber auch in benignen oder maligne degenerierten Polypen nachweisen. Diese Fluoreszenz war mit CEA spezifisch absorbierbar. Ob es sich dabei um eine CEA-Produktion noch normaler Dickdarmepithelzellen oder um eine Ablagerung von CEA aus dem benachbarten Tumor handelt, bleibt ungewiß.

Die in Dickdarmcarcinomen unabhängig von ihrer Differenzierung bei Markierung mit Anti-CEA vorhandene, sehr schwache, diffuse bis feingranuläre, anscheinend spezifische Fluoreszenz der Tumorzellen läßt die Spekulation zu, daß in allen Dickdarmcarcinomen CEA gebildet, aber nur von bestimmten Carcinomen sezerniert wird.

Diese Untersuchung wurde unterstützt durch den österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Projekt Nr. 1543.

Literatur

- Abeyounis, C. J., Milgrom, E.: Studies on carcinoembryonic antigen. *Int. Arch. Allergy* **43**, 30—38 (1972).
- Burtin, P., Kleist, S. v., Sabine, M. C.: Loss of a normal colonic membrane antigen in human cancers of the colon. *Cancer Res.* **31**, 1038—1041 (1971).
- Burtin, P., Martin, E., Sabine, M. C., Kleist, S. v.: Immunological study of polyps of the colon. *J. nat. Cancer Inst.* **48**, 25—32 (1972a).
- Burtin, P., Sabine, M. C., Chavanel, G.: Presence of carcinoembryonic antigen in children's colonic mucosa. *Int. J. Cancer* **10**, 72—76 (1972b).
- Coligan, J. E., Lautenschleger, J. T., Egan, M. L., Todd, C. W.: Isolation and characterisation of the carcinoembryonic antigen. *Immunochemistry* **9**, 377—386 (1972).
- Crichlow, R. W., White, R. R.: Search for carcinoembryonic antigen (CEA) in adenomas of the colon. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **11**, 18 (1970).
- Denk, H., Tappeiner, G., Eckerstorfer, R., Holzner, J. H.: Carcinoembryonic antigen (CEA) in gastrointestinal and extragastrointestinal tumors and its relationship to tumor-cell differentiation. *Int. J. Cancer* **10**, 262—272 (1972).
- Egan, M. L., Lautenschleger, J. T., Coligan, J. E., Todd, C. W.: Radioimmune assay of carcinoembryonic antigen. *Immunochemistry* **9**, 289—299 (1972).
- Freed, T. L. J., Taylor, G.: Carcinoembryonic antigen in faeces. *Brit. med. J.* **1972I**, 85—87.
- Gold, P.: Circulating antibodies against carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *Cancer (Philad.)* **80**, 1663—1667 (1967).
- Gold, P., Freedman, S. O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J. exp. Med.* **121**, 439—462 (1965a).
- Gold, P., Freedman, S. O.: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. exp. Med.* **122**, 467—481 (1965b).
- Gold, P., Gold, M., Freedman, S. O.: Cellular location of carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *Cancer Res.* **28**, 1331—1334 (1968).
- Gold, P., Krupey, J., Ansari, H.: Position of the carcinoembryonic antigens of the human digestive system in ultrastructure of tumor cell surface. *J. nat. Cancer Inst.* **45**, 219—222 (1970).
- Krupey, J., Gold, P., Freedman, S. O.: Physicochemical studies of the carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. exp. Med.* **128**, 387—398 (1968).
- Martin, F., Martin, M. S.: Demonstration of antigens related to colonic cancer in the human digestive system. *Int. J. Cancer* **6**, 352—360 (1970).
- Nairn, R. C., Fothergill, J. E., McEntegard, M. G., Porteous, I. B.: Gastro-intestinal-specific antigen: an immunohistological and serological study. *Brit. med. J.* **1962aI**, 1788—1790.
- Nairn, R. C., Fothergill, G. E., McEntegard, M. G., Richmond, H. G.: Loss of gastro-intestinal-specific antigen in neoplasia. *Brit. med. J.* **1962bI**, 1791—1793.
- Norland, C. C., Maass, E. G., Kirsznern, J. B.: Identification of colonic carcinomata by immunofluorescent staining. *Cancer* **23**, 730—739 (1964).
- Rosai, J., Tillack, T. W., Marchesi, V. T.: Membrane antigens of human colonic carcinoma and nontumoral colonic mucosa: results obtained with a new isolation method. *Int. J. Cancer* **10**, 357—367 (1972).
- Thomson, D. M. P., Krupey, J., Freedman, S. O., Gold, P.: The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **64**, 161—167 (1969).
- v. Kleist, S., Burtin, P.: Localisation cellulaire d'un antigène embryonnaire de tumeurs coliques humains. *Int. J. Cancer* **4**, 874—879 (1969).

Dr. Gerhard Tappeiner
 Pathologisch-Anatomisches Institut
 der Universität Wien
 Spitalgasse 4
 A-1090 Wien
 Österreich