

氏 名 (本籍) 佐 藤 秀 隆

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 9 6 6 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 63 年 2 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 53 年 3 月
 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 中 皮 腫 に お け る ヒ ア ル ロ ン 酸 の 定 性 と 定 量 な ら び
 に ア ミ ノ 酸 分 析 の 意 義

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 今 野 淳 教 授 滝 島 任

 教 授 立 木 蔚

論 文 内 容 要 旨

中皮腫は漿膜組織に由来する腫瘍で、限局性とびまん性に大別され、切除可能な限局性中皮腫を除けば、一般に予後が悪い。また、その診断は主に病理組織診断によってなされるが、通常の光顕による観察では、種々の肉腫や肺腺癌等と鑑別困難な場合もある。中皮腫では腫瘍組織中のヒアルロン酸が増加し、ヒアルロン酸の定量が診断に役立つことが知られている。本実験では、腫瘍組織中のグリコサミノグリカン（GAG）を分析し、腫瘍組織中のヒアルロン酸がどの程度あれば中皮腫と診断できるかを検討した。また、組織化学的にヒアルロン酸量を検討し、生化学的検討とどのように対応するかを検討した。

さらに、中皮腫では、癌が転移した漿膜組織に比べ、ヒアリンが多くみられ、両者のアミノ酸組成が異なるものと考え、アミノ酸分析を行ない、そのアミノ酸組成の特徴を検討した。

I GAGの分析

肉眼および光顕による病理診断で中皮腫と診断された23例の腫瘍組織について分析を行ない、対照として、癌が転移した胸膜あるいは腹膜組織9例と胸膜肥厚組織3例を用いた。

生化学的検討：標本を細切し、エタノール、アセトン、エーテルで脱脂乾燥後、プロナーゼ消化し、ついでトリクロル酢酸で除蛋白した。得られた上清に食塩飽和エタノールを加えて沈殿画分を得、これを0.02 M食塩水に溶解後、塩化セチルピリジニウム複合体として粗GAG画分を得た。GAGサブタイプ比は、児島ら、榎村らの方法を改良して、ストレプトミセスヒアルロニダーゼ、鞏丸ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼABCの基質特異性を利用して、4ヶの粗GAG試料を前述の酵素と緩衝液を別々に入れて分解し、カルバゾール反応で試料中のウロン酸を測定して算出した。

組織化学的検討：生化学的分析の対象とした全例の10%ホルマリン固定標本を5~6 μ mの切片とし、1枚に酢酸緩衝液（PH 5.0）を、他の1枚にストレプトミセスヒアルロニダーゼ液を加えて酵素消化した後、0.1%トルイジンブルー（PH 5.0）で染色した。

結 果

- (1) 生標本では、乾燥組織重量1 g当たり0.2 mg ウロン酸量以上のヒアルロン酸を含むのは中皮腫のみで、対照は乾燥組織重量1 g当たり0.2 mg ウロン酸量未満であった。
- (2) ホルマリン標本では、乾燥組織重量1 g当たり0.1 mg ウロン酸量以上のヒアルロン酸を含むのは、中皮腫のみで、対照は乾燥組織重量1 g当たり0.1 mg ウロン酸量未満であった。但し、中皮腫と診断されたものの、ヒアルロン酸量が乾燥組織重量1 g当たり0.1 mg ウロン酸量未満のものが1例みられた。

(3) GAGサブタイプ比でみると、生標本、ホルマリン標本とも、対照のヒアルロン酸は20%未満であり、false positive を除外するためにも、20%以上のヒアルロン酸を含むものを中皮腫とするのが妥当と考えられた。

(4) 生化学的にヒアルロン酸増加が明らかな中皮腫22例で、組織化学的にもヒアルロン酸の増加が確認された。対照の組織化学ではヒアルロン酸の増加は認められなかった。

II アミノ酸分析

びまん性中皮腫8例と、肺癌が転移した胸膜組織5例、胃癌の転移した腹膜組織3例を用いた。標本を細切し、エタノール、アセトン、エーテルで脱脂乾燥し、ついで共沸塩酸中で110°C、20時間加水分解し、日立アミノ酸分析機にかけてアミノ酸組成を分析した。各アミノ酸はアミノ酸1,000残基当たりで表わした。

結 果

(1) 中皮腫ではグリシンが200残基以上のものは、199残基以下のものに比べ生存期間が長かった。

(2) 中皮腫と癌の転移した漿膜組織の全体でみると、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリンと生存期間の間に正の相関がみられた。

結 論

組織標本は一般にホルマリン中に保存するので、ホルマリン標本の腫瘍組織中のヒアルロン酸量が乾燥組織重量1g当たり0.1mgウロン酸量以上のもの、ヒアルロン酸のGAGに対する比でみる場合は20%以上のものを中皮腫とするのが妥当と考えられた。また、組織化学の結果から、生化学的定量には不十分な標本（例えば胸膜生検標本等）でも中皮腫の診断が組織化学的に可能であると考えられた。

アミノ酸分析の結果から、中皮腫では腫瘍間質のコラーゲンが増加しており、コラーゲンの多いものは予後が良く、コラーゲンが腫瘍の増殖・進展を抑制していると思われた。

審査結果の要旨

中皮腫は、胸膜や腹膜等の漿膜組織に由来する腫瘍で、概ね切除可能な限局性のものと、悪性像が強く、極めて予後の悪いびまん性のものがある。通常、その診断は光顕下の病理組織診断によってなされるが、とりわけ、胸膜中皮腫では、肺腺癌や肺胞上皮癌等の肺癌および骨肉腫などと鑑別困難な場合がある。

この鑑別のために、腫瘍組織中のヒアルロン酸の定量が行なわれたり、抗CEA抗体や抗HMFG抗体を応用した免疫組織化学が行なわれている。

従来、中皮腫組織中のヒアルロン酸が高値を示し、他の腫瘍との鑑別に役立つことが指摘されているので、症例を重ねて、具体的にヒアルロン酸がどの程度あれば中皮腫と診断できるかを調べた。また、この生化学的検討とストレプトミセス ヒアルロニダーゼ消化を利用した組織化学的検討がどう対応するかを調べた。

生標本では、ヒアルロン酸量が乾燥組織重量1g当たり0.2mgウロン酸量以上、ホルマリン標本では、ヒアルロン酸が乾燥組織重量1g当たり0.1mgウロン酸量以上の場合に中皮腫と診断可能であった。

組織化学によってヒアルロン酸の増加をみると、生化学によって中皮腫と診断した例で増加しており、両者による鑑別診断は一致していた。したがって、胸膜生検標本等の小さな標本でも、組織化学による診断が可能と考えられる。

上記のヒアルロン酸による鑑別診断能は、抗CEA抗体や抗HMFG抗体を応用した免疫組織化学的方法のそれに匹敵した。また、中皮腫の組織標本を光顕下に観察すると、他の悪性腫瘍が転移した漿膜組織に比べると、ヒアリンが多いので、両者のアミノ酸組成の違いを検討した。

その結果、両者でアミノ酸組成は同じであった。アミノ酸種では、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリンが多く、コラーゲンが増加していることが判った。また、両者とも、グリシンが、アミノ酸1000残基当たり200残基以上のものは、200残基未満のものに比べ、有意に生存期間が長いことが判った。これは、コラーゲンが腫瘍の浸潤増殖を抑制しているためであると思われる。

本論文は、中皮腫の鑑別診断における組織中のヒアルロン酸の定量ならびに定性の有用性を再確認し、さらに、腫瘍間質の一方の構成成分であるコラーゲンが腫瘍の進展を抑制し、コラーゲンの多いものは予後が良いことを示したもので、博士論文に値すると考える。