

氏名(本籍) 齋 藤 俊 博

学位の種類 医学博士

学位記番号 医第2052号

学位授与年月日 平成元年2月22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52年3月
弘前大学医学部医学科卒業

学位論文題目 進行胃癌のペプシノーゲン産生に関する研究

(主査)
論文審査委員 教授 松野正紀 教授 涌井 昭
教授 豊田隆謙

論文内容要旨

【目 的】

ペプシノーゲンはgroup I pepsinogen (以下PG I), group II pepsinogen (以下PG II), Slow moving protease (以下SMP) のアイソザイムがあり, PG I, PG IIは主細胞と副細胞の他に, 幽門腺に存在していることが判明している。著者は, 胃癌を構成する細胞のうち大半を占める印環細胞が細胞学的に副細胞や幽門腺細胞に類似する点に着目し, 胃癌組織のペプシノーゲン産生について生化学的ならびに形態学的方法により行い, 胃癌の発育, 進展との関係を検討した。

【対象と方法】

材料は手術により摘出された進行胃癌で, 男性36例, 女性24例の計60例である。1) 抽出: 胃体部粘膜, ならびに筋層より, また癌組織は粘膜を除去したものをそれぞれ1g採取し, 遠心分離して, その上清を抽出液とした。2) 酸性プロテアーゼ比活性: ペプシン活性は胃液測定法検討委員会の方法に準じて行い, 蛋白質の定量はLowry法で測定した。以上より, 酸性プロテアーゼ比活性を求め, 単位は $\mu\text{g}/\text{mg protein}/\text{min}$ で表した。3) polyacrylamide gel electrophoresis (以下PAGE) によるペプシン活性: 7.5%ポリアクリルアミドゲルを作成後, 抽出液を添加し, 電気泳動後, ペプシン活性を測定した。さらにImmunoblotting法により, 抗体は電気泳動上PG I, PG IIに相当するbandと特異的に結合することを確認した。4) 酵素抗体法: ヒトPG I, PG IIに対する家兎抗体を用い, PAP法による免疫組織染色を行った。標本はパラフィン切片を用い, PG I抗体は500倍に, PG II抗体は1000倍に希釈して施行した。

【結 果】

I. 1) 酸性プロテアーゼ比活性: 癌組織の酸性プロテアーゼ比活性は平均 $23.6 \pm 14.1 \mu\text{g}/\text{mg protein}/\text{min}$ で, 正常胃体部粘膜 (平均 $76.3 \pm 36.2 \mu\text{g}/\text{mg protein}/\text{min}$) に比し活性は低いが, 対照とした正常部筋層 (平均 $1.63 \pm 1.53 \mu\text{g}/\text{mg protein}/\text{min}$) と比較すると, 十数倍の高値を示し, 有意差 ($P < 0.01$) が認められた。2) PAGEによるペプシノーゲン・アイソザイムの泳動パターン: Samloffの分類同様, 右側よりband 1~5がPG I, 6, 7がPG II, 最左端のbandがSMPで, SMPとband 7の間にもう一本の不明のbandがある。3) 酵素抗体法: 胃癌組織において, 赤褐色に染色されている部分がペプシノーゲンの局在を示している。

II. 酵素抗体法とPAGEによるペプシノーゲン陽性例の臨床病理学的検討:

1) 胃癌組織のペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では53%，SMPを含むPAGEでは78%と正常胃粘膜同様，ペプシノーゲン産生が認められた。2) ペプシノーゲン・アイソザイム陽性率：酵素抗体法ではPG I 陽性43%，PG II 陽性48%，PAGEでは，PG I 陽性38%，PG II 陽性43%，SMP陽性58%であり，PG I，PG II の陽性は酵素抗体法，PAGEともほぼ同率であった。3) 性別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では男性56%，女性50%，PAGEでは81%，女性75%と有意差は認められなかった。4) 年齢別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では60歳以下67%，60歳以上37%，PAGEでは60歳以下91%，60歳以上63%，と60歳以下が酵素抗体法，PAGEとも有意に ($P<0.05$) 高率を示した。5) 腫瘍の占居部位別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では幽門部44%，体部66%，噴門部75%，PAGEでは幽門部65%，体部94%，噴門部100%と，胃の上方に向かうに従って高率を示し，PAGEでは噴門部と幽門部の間に有意差 ($P<0.05$) が認められた。6) Borrmann 分類別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では2型25%，3型43%，4型77%，PAGEでは2型75%，3型73%，4型86%と，4型が最も高率を示し，酵素抗体法ではIV型と2，3型の間に有意差 ($P<0.05$) が認められた。7) 組織型別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では高分化腺癌50%，中分化腺癌50%，低分化腺癌55%，印環細胞癌56%，PAGEでは高分化腺癌63%，中分化腺癌86%，低分化腺癌79%，印環細胞癌78%と，各組織型間に有意差は認められなかった。8) 腫瘍の壁深達度別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法ではpm~ss β 群38%，ss γ ~si群59%，PAGEではpm~ss β 群69%，ss γ ~si群82%とss γ ~si群が高率を示した。9) リンパ節転移別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法では n_0 ~ n_1 群38%， n_2 ~ n_3 群68%，PAGEでは n_0 ~ n_1 群66%， n_2 ~ n_3 群90%と， n_2 ~ n_3 群が n_0 ~ n_1 群に比し，酵素抗体法，PAGEとも有意に ($P<0.05$) 高率を示した。10) stage 分類別によるペプシノーゲン陽性率：酵素抗体法ではI~II群43%，III群46%，IV群72%，PAGEではI~II群79%，III群71%，IV群89%と，IV群が他群に比し高率を示した。

【結 語】

- 1) 癌組織の酸性プロテアーゼ比活性は対照とした正常部筋層と比較すると有意に高かった。
- 2) 癌組織のペプシノーゲン産生は酵素抗体法では53%，SMPを含むPAGEでは78%に認められた。
- 3) 癌の進行とともに，癌組織のペプシノーゲン産生は増加する傾向を示した。

審査結果の要旨

胃癌の発育，進展に際し，最近組織内のプロテアーゼのなんらかの関与が注目されている。ペプシノーゲンは酸性プロテアーゼである胃ペプシンの不活性前駆体であり，現在group I pepsinogen (以下PG I)，group II pepsinogen (以下PG II)，Slow moving protease (以下SMP)のアイソザイムが判明し，PG Iは，胃底腺の主細胞と副細胞に，PG IIは，体部胃粘膜では主細胞と副細胞に，前庭部では幽門腺に存在することが報告されている。

本研究では，胃癌を構成する細胞のうち大半を占める印環細胞が細胞学的に副細胞や幽門腺細胞に類似する点に着目し，胃癌組織のペプシノーゲン産生について，生化学的には酸性プロテアーゼ比活性とPolyacrylamide gel electrophoresis (以下PAGE)を用いたペプシン活性の測定を行い，さらに形態学的にはPG I，PG IIに対する抗体を用いた酵素抗体法による免疫組織染色法を行い，癌組織において産生したペプシノーゲンと胃癌の進展との関係を検討し，以下の知見を得ている。

はじめに，酸性プロテアーゼ比活性についてみると，胃癌組織の酸性プロテアーゼ比活性は平均 $23.6 \pm 14.1 \mu\text{g}/\text{mg protein}/\text{min}$ で，対照とした正常部筋層（平均 $1.63 \pm 1.53 \mu\text{g}/\text{mg protein}/\text{min}$ ）に比べて十数倍の高値を示し，有意（ $P < 0.01$ ）に高く，次に酵素抗体法とPAGEによる胃癌組織のペプシノーゲン産生は酵素抗体法では53%に，SMPを含むPAGEでは78%に認められ，正常胃粘膜同様，癌組織においてもペプシノーゲン産生が確認された。ペプシノーゲン・アイソザイムについては，酵素抗体法，PAGEともにPG I，PG IIの陽性率は40%前後で，ほぼ同率の傾向を示した。

ペプシノーゲンの陽性例を臨床病理学的に検討し，年齢別では60歳以下のペプシノーゲン陽性率が60歳以上と比較し，酵素抗体法，PAGEとも有意に高く，腫瘍占居部位別についてみるとPAGEではペプシノーゲン陽性率が幽門部，体部，噴門部と胃の上方に向かうに従って高率を示した。Borrmann分類については酵素抗体法では，4型が2，3型に比し有意に高率を示したが，組織型別では各組織間に有意差は認められなかった。癌の進行度別にみると，ペプシノーゲン陽性率は壁深達度別ではss $\gamma \sim \text{si}$ 群が，stage別ではstage IV群が他の群より高く，またリンパ節転移別では $n_2 \sim n_3$ 群が $n_0 \sim n_1$ 群に比し，酵素抗体法，PAGEとも有意に高率を示し，癌の進展とともに，癌組織のペプシノーゲン産生は増加することが確認された。

本研究はペプシノーゲンの胃癌組織よりの産生を生化学的ならびに形態学的に3つの独立した方法により検討したもので，極めて独創的であり，今後胃癌の浸潤，転移の解明にも可能性を与えたもので高く評価される。よって学位授与に値すると認める。