

論文内容要旨

【目的】

細胞の癌化にともない、細胞膜の重要な構成成分である糖脂質が、質的、量的に大きく変化することが知られており、いわゆる癌抗原として注目を集めている。本研究は、ヒト精巣腫瘍の糖脂質発現パターンを、その発生母地である正常精巣組織と比較し、腫瘍化にともなう糖脂質発現の変化について検討することを目的とした。

【対象】

対象は、手術的に摘出された精巣腫瘍の原発巣19例 (seminoma12例, embryonal carcinoma 3例, embryonal carcinoma+teratoma 4例) と正常精巣組織 4例である。正常精巣組織は、前立腺癌のcastrationによって得られたものが2例で、他の2例は精巣腫瘍の辺縁に存在した正常部分を用いた。

【方法】

摘出した組織から、クロロホルム-メタノール系およびイソプロパノール-ヘキサン-水系にて糖脂質を抽出し、thin-layer chromatography (TLC) で展開して腫瘍組織と正常組織のパターンを比較した。

次いで、腫瘍組織で著明に増加している糖脂質をhigh-performance liquid chromatography (HPLC) で精製し、糖鎖構造を分析するために、 α -galactosidase, β -galactosidase, β -N-acetyl glucosaminidaseによる酵素分解を行ない、TLCで展開した。

さらに、globotriaosyl ceramide (Gb_3) に対するモノクローナル抗体 (MAb) (1A4) を用いてTLC免疫染色を行ない、また1A4, 抗lacto-N-triaosyl ceramide (Lc_3) MAbであるJ1, 抗ganglio-N-triaosyl ceramide (asialo GM_2) MAbである2D4を用いてsolid-phase radioimmunoassayによる抗原稀釈試験を行った。

また、ホルマリン固定パラフィン包埋切片で、1A4による免疫組織染色を行ない、組織における Gb_3 の抗原性について検討した。

【結果および考察】

TLCパターンの比較では、正常精巣組織に比し、腫瘍組織ではceramide trihexoside (CTH) が著明に増加しており (19例中18例)、最も大きな癌性変化としてとらえられた。

酵素分解の結果では、腫瘍組織から精製したCTHの末端の糖分子は、 α -galactosidaseで処理したときのみ分解された。従って、この糖脂質はceramide dihexoside (CDH) にgalactoseが α 結合したもの、つまりglobotriaosyl ceramide, Gb₃ (Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-ceramide)であることが判明した。

1A4によるTLC免疫染色では、正常精巣組織のCTHは1A4とは極めて弱い反応を認めるのみであったが、腫瘍組織のCTHは1A4と強く反応し、太いバンドとして検出された。

solid-phase radioimmunoassayでは、腫瘍組織のCTHはJ1, 2D4とは反応せず、コントロールのGb₃と同様に1A4とのみ反応した。これらのことから、精腫瘍組織で著明に増加していたCTHはGb₃であることが確認された。

1A4による免疫組織染色では、精巣腫瘍組織が全例陽性であるのに対し、正常精巣組織は全例陰性であった。

以上の結果より、精巣腫瘍組織にはGb₃が大量に蓄積していることが明らかになった。Gb₃は精巣腫瘍の新たなマーカー、とりわけ、有用なマーカーの存在しないseminomaのマーカーとしての応用が大いに期待される。

審査結果の要旨

細胞の癌化にともない、細胞膜の重要な構成成分である糖脂質が質的、量的に大きく変化することが知られている。1975年、KöhlerとMilsteinによってハイブリドーマの手法が確立されて以来、癌細胞や癌関連物質に対する多くのモノクローナル抗体が樹立された。しかし、これらのモノクローナル抗体の多くは、実は抗原物質の糖鎖構造を認識していることが明らかとなってきており、糖脂質は癌関連抗原として注目を集めている。一方、精巣組織は様々な分化段階にある細胞を含み、そこから発生する腫瘍は病理組織学的に多彩な像を呈し、分化と腫瘍化の研究対象として非常に興味深いものがある。

本論文は、精巣腫瘍組織の糖脂質発現パターンを正常精巣組織と比較し、癌化にともなう変化を検討したものである。従来、この種の研究は培養細胞株を用いたものが多く、実際にヒト腫瘍組織を分析した論文は少ない。本論文は、ヒト精巣腫瘍組織および正常精巣組織の糖脂質発現パターンについて検討した世界初の報告である。

ヒト精巣腫瘍組織および正常精巣組織から糖脂質を抽出し、thin-layer chromatography (TLC) で両者の発現パターンを比較したところ、腫瘍組織におけるceramide trihexoside (CTH) の著明な増加が明らかとなった。酵素分解によってこの糖脂質の構造決定を行い、globotriaosyl ceramide (Gb₃), Gal α1-4Gal β1-4Glc β1-cer.であることを明らかにした。さらに抗Gb₃モノクローナル抗体を用いて、TLC免疫染色、solid-phase radioimmunoassayを行い、腫瘍組織におけるGb₃の蓄積を確認し、免疫組織染色で組織切片における抗原性を明らかにした。

本研究により、ヒト精巣腫瘍組織にGb₃が大量に蓄積していることが初めて明らかになった。これが、様々な組織像を呈する精巣腫瘍に普遍的な変化であることも興味深い。臨床的にはGb₃を精巣腫瘍の新たな腫瘍マーカーとして応用する基礎研究として大きく評価される。精巣腫瘍のなかで最も頻度の高いセミノーマは、現在のところ臨床的に有用な血清マーカーが存在せず、新たなマーカーの開発が待たれている。Gb₃はセミノーマを含めた精巣腫瘍の新たなマーカーとして大いに期待される。

本研究は、腫瘍の糖脂質研究に新たな知見をもたらしたのみならず、臨床応用の可能性をも示唆するものであり、学位論文に値すると思われる。