

氏名(本籍)	佐藤 信
学位の種類	医学博士
学位記番号	医第 2291 号
学位授与年月日	平成 3 年 2 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 5 条第 2 項該当
最終学歴	昭和 59 年 3 月 23 日 弘前大学医学部医学科卒業
学位論文題目	ヒト前立腺組織における糖脂質の研究

(主 査)

論文審査委員 教授 折笠 精 一 教授 名 倉 宏

教授 林 典 夫

論文内容要旨

近年、細胞表面膜微量構成成分である糖脂質が、細胞の発生、分化、生理活性物質の受容体機能、細胞社会学的機能などを担う重要な物質として注目されてきたことに着目し、前立腺組織における糖脂質の発現パターンの比較、及び前立腺組織より抽出した糖脂質を免疫源にして、前立腺組織に特異性を示すマウスモノクローナル抗体APG1の作成を行った。

前立腺癌6例（Stage C 4例, Stage D₁ 2例）（中分化腺癌2例, 低分化腺癌4例）、前立腺肥大症2例、正常前立腺組織1例より糖脂質をクロロホルム-メタノール系、イソプロパノール-ヘキサン-水系を用いて抽出し、Upper Phase, Lower Phaseに分けた。さらにUpper Phaseに関しては、ガングリオシド成分と、中性糖脂質成分に分け、その糖脂質発現パターンを比較した。また、前立腺組織より抽出した糖脂質を酸処理したサルモネラミネソタとconjugate、マウスに免疫し、前立腺組織に特異的に存在する、シアル酸を含む糖鎖抗原を認識するモノクローナル抗体APG1を作成した。そこで、ニトロセルロース膜上での免疫染色や酵素処理、過ヨウ素酸ナトリウム処理による前立腺組織の免疫組織化学的検討、ELISA、TLC-immunostaining等を用いて、APG1と反応する抗原の生化学的解析を行い、さらに種々のヒト組織、および種々のgradeの前立腺癌組織（パラフィン包埋切片20例；高分化2例, 中分化10例, 低分化8例）（凍結切片14例；高分化2例, 中分化6例, 低分化6例）を用いて、組織上におけるAPG1認識抗原発現の検討を行った。

糖脂質発現パターンの検討では前立腺癌組織では、前立腺肥大症、正常前立腺に比して、ラクトシル系、グロボシド系ともに全体的に減少することが確認されたが、ガングリオシド系においては、GM3, GD3の減少は認められず、GD2及びそれよりも長い鎖の糖脂質の減少が認められた。

APG1は免疫組織学的検討において、前立腺組織にのみ特異的に反応し、しかもノイラミダーゼ処理、過ヨウ素酸ナトリウム処理にてその反応性が消失した。またパラフィン包埋切片では、凍結切片に比べ、染色性が減弱することが確認された。前立腺癌組織の凍結切片を用いた検討では、高分化から低分化になるに連れて、その染色率が低下した。ELISA、ニトロセルロース膜上での免疫染色、TLC-immunostainingの結果、APG1は前立腺組織より抽出した、ガングリオシドとのみ反応し、またGM2, GD2付近に存在する微量のガングリオシドとのみ反応することが確認されたが、既知の標準ガングリオシド系ガングリオシドのいずれとも反応しなかった。

以上より、前立腺癌組織では、腫瘍化に伴う糖脂質の変化として、特殊な糖脂質の増加や、糖脂質合成経路の中間産物の蓄積等は認められないが、癌組織における全体的な糖脂質の減少が認められ、また、ガングリオシド系において、GD2より長鎖の糖脂質が減少していることは、癌化

により、骨格をなす糖鎖の延長が阻害され、sialylationのみ正常に進んだ結果と思われた。

APG1はヒト前立腺組織に臓器特異性を有する抗体と考えられ、ノイラミニダーゼ処理、過ヨウ素酸ナトリウム処理にてその反応性が消失することよりシアル酸を有する糖鎖抗原を認識するものと考えられた。さらにAPG1は、前立腺組織より抽出した糖脂質のうちガングリオシドフラクションとのみ反応し、TLC上では、GD2、GM2付近のバンドにのみ反応する。しかしGD2、GM2を含めガングリオシドのどのガングリオシドとも反応しない。以上より、APG1認識抗原は、ガングリオシド以外のガングリオシドと反応する新たな抗原構造を有する極微量の抗原と思われた。また、前立腺癌組織では、Gradeが上昇するに連れて、反応率が低下することより、本抗原は、前立腺組織に特異的に存在する糖鎖抗原で、しかも分化抗原の形で存在することが示唆された。今後APG1が、腫瘍の悪性度や、患者の予後予測に利用できる可能性があり、今後多くの前立腺癌や、胎児組織においても検討を重ね、さらに抗原の構造決定についても検討を行う予定である。

審査結果の要旨

細胞表面膜微量構成成分である糖脂質が、細胞の発生、分化、生理活性物質の受容体機能、細胞社会学的機能などを担う重要な物質として注目されているが、本研究は、前立腺組織における糖脂質の発現パターンの比較、及び前立腺組織より抽出した糖脂質を免疫源にして、前立腺組織に特異性を示すマウスモノクローナル抗体APG1の作成を行ったものである。

方法としては、前立腺癌6例、前立腺肥大症2例、正常前立腺組織1例より糖脂質を抽出し、その糖脂質発現パターンを比較した。また前立腺組織より抽出した糖脂質を免疫源とし、前立腺組織に特異的に反応するモノクローナル抗体APG1を作成。さらにAPG1認識抗原の生化学的解析、種々のヒト組織、前立腺癌組織上における抗原発現の検討を行っている。

糖脂質発現パターンの検討では、前立腺癌組織は前立腺肥大症、正常前立腺に比して、ラクトシル系、グロボシド系ともに全体的に減少することが確認されたが、ガングリオシド系においては、GM3、GD3の減少は認められず、GD2及びそれよりも長い鎖の糖脂質の減少が認められている。APG1は免疫組織化学的検討において、前立腺組織にのみ特異的に反応し、しかもノイラミニダーゼ処理、過ヨウ素酸ナトリウム処理にてその反応性が消失した。前立腺癌組織では、高分化から低分化になるにつれて、その染色率が低下している。またAPG1は前立腺組織より抽出したガングリオシドとのみ反応し、そのうちGM2、GD2付近に存在する微量のガングリオシドとのみ反応することが確認されたが、既知の標準ガングリオシド系ガングリオシドのいずれとも反応しないことが明らかとなっている。

本研究により前立腺癌組織では、腫瘍化に伴い特殊な糖脂質の増加等は認められないことや、ガングリオシド系においては、GD2より長鎖の糖脂質が減少していることで、癌化により、骨格をなす糖鎖の延長が阻害され、sialylationのみ正常に進んでいることが示唆された。またAPG1はヒト前立腺組織に臓器特異性を有する抗体で、シアル酸を有する糖鎖抗原を認識するものと考えられ、さらに既知のガングリオシド以外のガングリオシドと反応する新たな抗原構造を有する極微量の抗原を認識するものと思われた。また前立腺癌組織での検討から、分化抗原の形で存在する可能性も示唆されている。以上より本研究は前立腺組織に関する糖脂質の研究として、本邦、欧米にもない研究であり、学位論文に十分値するものと考えられる。