

氏 名（本籍） 伊 藤 明 宏

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 2 9 3 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 9 年 3 月 5 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 平 成 2 年 3 月 28 日  
東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 腎 癌 に 発 現 す る 新 し い グ ロ ボ シ リ ー ズ ガ ン グ リ オ  
シ ド に 対 す る モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 の 作 成 お よ び 臨 床 的 意 義 の 検 討

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 折 笠 精 一 教 授 松 野 正 紀

教 授 名 倉 宏

# 論文内容要旨

## 【研究目的】

monosialosyl galactosyl globoside (MSGG) および disialosyl galactosyl globoside (DSGG) を代表とする長鎖のグロボシリーズガングリオシドの腎癌における発現増加が、臨床上の転移と相関すること、そして DSGG が肺組織との接着に関与している可能性があることをこれまで報告してきた。今回、腎癌に発現する長鎖のガングリオシドの中で、TLC プレート上 DSGG と同移動度だが、抗 DSGG 抗体 (RM2) には反応しないガングリオシドを新たに見い出した。このガングリオシドの発現の意義を解明するため、その性状解析とこれを特異的に認識するモノクローナル抗体の作成を試みた。

## 【方法】

生化学的手法および NMR にてこのガングリオシドの構造解析を行い、その一方で、このガングリオシドを発現している腎癌転移巣由来細胞株 ACHN をマウスに免疫して、特異的なモノクローナル抗体を作成した。この抗体を用いて、腎癌ならびに全身正常諸臓器に組織免疫染色を施行し、更に、腎癌組織での染色性と臨床像との関連について検討した。

## 【結果と考察】

性状解析により、このガングリオシドはグロボシリーズのガングリオシドであり、DSGG とはシアル酸の結合位置のみ異なるアノマー構造をとる新しいガングリオシドであると考えられた。(以下 DSGG anomer と称す)

得られたモノクローナル抗体 5F3 (IgM) は、ELISA では、構造の類似する DSGG, MSGG とも交差反応を示さない DSGG anomer に特異的な抗体であり、TLC 免疫染色でも同移動度のガングリオシドのなかで DSGG anomer に特異的に反応することが確認された。

5F3 による組織免疫染色の結果、腎癌では、原発巣 41 例中 19 例、転移巣 7 例中 2 例が陽性であった。腎癌における長鎖のグロボシリーズガングリオシド発現の臨床的意義を探るため、3 種類のグロボシリーズガングリオシド (MSGG, DSGG, DSGG anomer) に対する抗体 (RM1, RM2, 5F3) で腎癌組織の染色性と臨床像との関連について検討した結果、Stage (T 分類) は、3 種の抗原を発現している症例で高くなる傾向が認められ、転移に関しては、MSGG, DSGG, DSGG anomer の 3 種全てを発現している症例 8 例中 6 例 (75%) で転移が認められ、いずれも発現していないものとの間には有為な差が認められた ( $p < 0.02$ )。このことから、長鎖のグロ

ボシリーズガングリオシド3種を同時に発現している腎癌は、転移能が高い腫瘍であると推察され、MSGG, DSGG, DSGG anomerの発現が腎癌の転移に関与している可能性が示唆された。

また、正常諸臓器では、腎の近位尿細管の他に大脳の神経膠細胞にもDSGG anomerが発現していることが認められた。ヒト大脳に存在するガングリオシドは、ガングリオシリーズのものが大部分であり、グロボシリーズガングリオシドが存在するという報告はこれまでなされていない。また、今回、脳転移を有する腎癌症例の原発巣が3例中2例で染色されており、糖鎖の接着には糖鎖糖鎖の相互作用が関与しているという報告があることから、DSGG anomerの大脳での存在は腎癌の脳転移に関与している可能性が推察されたが、これについては更なる検討が必要である。

これまでの研究でDSGGが肺転移の接着に関与している可能性が示唆されており、今回の知見から、DSGG anomerも腎癌の転移に関与している可能性が推察された。それがどのような機能によるものなのか、今後検討を重ねて明らかにしていく予定である。

## 審査結果の要旨

複合糖質は、細胞間の相互認識に深く関わっており、細胞の発生・分化における細胞間相互作用、免疫における細胞認識機構、癌細胞における浸潤・接着・転移への関わりなど、多方面にわたって重要な役割を担っていることが近年明らかとなってきている。

このような複合糖質の中でも、特に糖脂質に着目して行ってきた著者らの研究では、腎癌では、転移巣や臨床上早期に転移を来した症例の原発巣で、糖鎖の長い酸性糖脂質（以下ガングリオシドと称す）の発現増加が認められ、このうち monosialosyl galactosyl globoside（以下 MSGG と略す）、および disialosyl galactosyl globoside（以下 DSGG と略す）という二種のグロボシリーズガングリオシドを同定している。

著者は今回、この長鎖のガングリオシドを更に分析したところ、DSGG と TLC プレート上の移動度が同一であるのに抗 DSGG 抗体（RM2）とは反応しないバンドを新たに見出した。長鎖のガングリオシドの発現増加と転移との関連を考えると、この未知のガングリオシドの性状解析および発現の意義を検討することは、腎癌の転移能を含めた悪性度の理解につながるものと推察される。

そこで、まず、このガングリオシドの構造解析を行った。その結果、酵素処理で脱シアル化することによりガラクトシルグロボシドを基本骨格に持つことが確認され、NMR での構造分析では DSGG と同一のシグナルを呈しているが、シアル酸の結合位置のみ異なるものと考えられたことから、このガングリオシドは、DSGG とはシアル酸の結合位置のみ異なる新しいガングリオシドであると考えられた。（以下 DSGGanomer と称す）

また著者の作成したモノクローナル抗体 5F3（IgM）は、構造の類似する DSGG、MSGG とも交差反応を示さない DSGGanomer に特異的な抗体であり、TLC 免疫染色でも同移動度のガングリオシドの中で DSGGanomer だけに特異的に反応することが確認されている。

5F3 による組織免疫染色で DSGGanomer の発現を検討した結果、腎癌では、原発巣 41 例中 19 例、転移巣 7 例中 2 例で発現が見られ、正常組織では、近位尿細管上皮、神経膠細胞、大腸杯細胞などで発現が認められた。さらに、腎癌での長鎖のグロボシリーズガングリオシド発現と臨床像との関連について検討した結果、MSGG、DSGG、DSGGanomer の発現が腎癌の転移に関連している可能性が示唆された。

以上、これまで報告されていない新しいガングリオシドである DSGGanomer に着目し、これを特異的に認識するモノクローナル抗体 5F3 を作成した点でオリジナリティーに優れた研究であり、今後、この抗体（あるいは抗原）は腎癌の転移の存在を予測させる腫瘍マーカーとなり得るものであり、十分学位に値するものと考えられる。