

氏 名（本籍）
ぬま 沼 はた 畑 けん 健 じ 司

学位の種類 博 士 （医 学）

学位記番号 医 第 3056 号

学位授与年月日 平 成 10 年 3 月 4 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 浸潤性膀胱癌における Sialyl Le^x の発現と
Selectin を介した細胞接着について

（主 査）

論文審査委員 教授 折 笠 精 一 教授 名 倉 宏

教授 堀 井 明

論文内容要旨

研究目的

膀胱癌は、90%以上が移行上皮癌であるが、発育増殖様式の違いから、膀胱粘膜下にとどまる表在性膀胱癌と筋層浸潤を認める浸潤性膀胱癌に分類される。浸潤性膀胱癌は多くが非乳頭状癌で、早期にリンパ行性転移、血行性転移を来しやすく、予後の良い表在性膀胱癌とは biological behavior が著しく異なっている。細胞膜糖鎖は癌化に伴って変化することが知られているが、この糖鎖抗原の出現は癌の進展と深く関連しており、膀胱癌の著しい biological behavior の違いが糖鎖抗原の違いに反映されている可能性がある。これまで我々は、膀胱癌組織の糖脂質発現の検討から表在性膀胱癌での Ganglio-series である GM3 の発現増加、浸潤性膀胱癌での GM3 発現減少と GM3 より長鎖の酸性糖脂質が増加していることを報告してきた。

そこで今回、増加していた酸性糖脂質を同定し、その糖脂質は血管内皮細胞との接着分子として機能性を持つのか検討を加えた。

研究結果

手術にて摘出した膀胱癌組織（表在性3例、浸潤性3例）より酸性糖脂質を抽出し、TLC 免疫染色を行った。表在性膀胱癌3例は SNH3 (anti-Sialyl Le^x) の発現は認めず、浸潤性膀胱癌3例では Sialyl Le^x の繰り返し構造の発現が認められた。表在性、浸潤性膀胱癌いずれにも、CA19-9 (anti-sialyl Le^a), FH6 (anti-sialyl Le^x), RM1 (anti-MSGG), RM2 (anti-DSGG) の有意な発現は認めなかった。以上より浸潤性膀胱癌における長鎖の酸性糖脂質は、Sialyl Le^x 抗原を多く含むことがわかった。

未治療の浸潤性膀胱癌組織44例を用い免疫組織学的検討を行ったところ、SNH3 陽性例は SNH3 陰性例に比べ、明らかに生存率が低下していた ($p < 0.05$)。初診時リンパ節転移 ($p = 0.00947$) と術後経過中の遠隔転移 ($p = 0.00026$) も多く認められ、このように SNH3 の染色性は、浸潤性膀胱癌の臨床的な予後規定因子と考えられた。

次いで、膀胱癌細胞を用い Sialyl Le^x の発現と機能的側面について検討した。flowcytometry では、SNH3, CSLEX (anti-Sialyl Le^x) とともに、KK-47 は、ほとんど Sialyl Le^x が発現しておらず、YTS-1, J-82 は強陽性であった。FH6, CA19-9, Rm1, RM2 は発現をみとめなかった。また fluourescence intensity 上今回の膀胱癌細胞で、PSGL-1 は発現していなかった。

RT-PCR によるフコシルトランスフェラーゼの発現の検討では、YTS-1, J-82 ではフコシルトランスフェラーゼ IVVI が認められ、ヒト浸潤性膀胱癌由来細胞でも一般に他の Sialyl Le^x

を発現している癌細胞と同様に、key enzyme を介した Sialyl Le^x 合成が行われている可能性が考えられた。

selectin dependent の接着実験では、YTS-1, J-82 において P-selectin, E-selectin とも強い接着が認められた。これらの接着は、SNH3, anti-P-selectin, anti-E-selectin で有意に接着が阻害された。さらに recombinant IL-1 β により E-selectin が誘導された HUVEC との接着も同様の結果が得られ、膀胱癌細胞と末梢血管内皮との接着で Sialyl Le^x と selectin が介されている可能性が十分考えられた。ただし我々の前立腺癌細胞についての検討で、YTS-1 と同程度 Sialyl Le^x 発現がみられる DU145 では selectin dependent な接着は認めていない。このことから、必ずしも Sialyl Le^x 発現と selectin dependent な接着性は相関せず、癌腫による特異性があることも念頭におかなければならないと思われた。

最近まで PSGL-1 は、唯一の P-selectin のリガンドのコア蛋白とされているが、癌細胞株に PSGL-1 を発現する株は見られないと言われていた。しかし、PSGL-1 を発現していないヒト大腸癌由来株で P-selectin との接着を証明した報告もあることから、膀胱癌においても PSGL-1 以外の未知の蛋白が接着に関与しているものと考えられた。

本 研 究 の 意 義

浸潤性膀胱癌における SNH3 (anti-Sialyl Le^x) の発現は、病理学的悪性度とは独立した予後規定因子である事を初めて示し、また膀胱癌において血行性転移の一機序として P, E-selectin の糖鎖を介した接着が関与している可能性を初めて検討した。

審査結果の要旨

膀胱癌は、発育増殖様式の違いから表在性膀胱癌と浸潤性膀胱癌に分類されるが、浸潤性膀胱癌は多くが非乳頭状癌で、早期にリンパ行性転移、血行性転移を来しやすく、予後の良い表在性膀胱癌とは biological behavior が著しく異なっている。細胞膜糖鎖は癌化に伴って変化することが知られているが、膀胱癌組織の糖脂質発現の検討から、表在性膀胱癌では Ganglio-series である GM3 の発現が増加し、浸潤性膀胱癌では GM3 が発現減少するとともに GM3 より長鎖の酸性糖脂質が増加していることを報告してきた。浸潤性膀胱癌で増加していた酸性糖脂質を同定し、その糖脂質が血管内皮細胞との接着分子として機能性を持つのか検討する事は、膀胱癌の転移の機序や治療法の解明に必要と考えられる。

方法 浸潤性膀胱癌で増加している酸性糖脂質の性状を TLC 免疫染色にて検定し、その臨床的意義を未治療膀胱癌全層生検組織を用いて免疫組織学的に検討した。また、その糖鎖が機能性を持つかどうか、膀胱癌細胞を用いてセレクチンとの細胞接着実験を行った。

研究結果 TLC 免疫染色において、浸潤性膀胱癌では SNH3 (anti-Sialyl Le^x) の発現が認められ、浸潤性膀胱癌における長鎖の酸性糖脂質は、Sialyl Le^x 抗原を多く含むことがわかった。浸潤性膀胱癌組織の免疫組織学的検討では、SNH3 陽性例は SNH3 陰性例に比べ、明らかに生存率が低下し、初診時リンパ節転移と術後経過中の遠隔転移も多く認められた。SNH3 の染色性は、浸潤性膀胱癌の臨床的な予後規定因子と考えられた。

浸潤性膀胱癌細胞を用いた検討では、flowcytometry 上、anti-Sialyl Le^x 強陽性で、RT-PCR においても通常の Sialyl Le^x 合成の key enzyme であるフコシルトランスフェラーゼが発現していた。セレクチン依存の接着実験では、P-セレクチン、E-セレクチンとも強い接着が認められ、これらの接着は SNH3、抗 P-セレクチン、抗 E-セレクチンで有意に阻害された。これより膀胱癌細胞と末梢血管内皮との接着で Sialyl Le^x とセレクチンが介されている可能性が考えられた。**本研究の意義、独創的な点** 浸潤性膀胱癌における SNH3 (anti-Sialyl Le^x) の発現は、病理学的悪性度とは独立した予後規定因子である事を初めて示した。また膀胱癌における血行性転移の一機序として P、E-セレクチンの糖鎖を介した接着が関与している可能性が示唆された。この検討は膀胱癌転移の一機序を解明する手がかりになるものと考えられ、さらに膀胱癌における糖鎖抗原をターゲットにした糖鎖治療の開発の可能性も期待される。以上より、本研究は学位として十分ふさわしいと考えられる。