

【 125 】

|         |                              |
|---------|------------------------------|
| 氏名      | 松原義人<br>まつばらよしと              |
| 学位の種類   | 医学博士                         |
| 学位記番号   | 論医博第541号                     |
| 学位授与の日付 | 昭和48年5月23日                   |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当                 |
| 学位論文題目  | 肺癌組織中にみられる腫瘍特異抗原に関する免疫組織学的研究 |

論文調査委員 (主査) 教授 安平公夫 教授 花岡正男 教授 寺松 孝

論 文 内 容 の 要 旨

肺癌抽出液から硫酸 2.73 M 飽和, pH 3.7 で沈澱し, DEAE セルローズカラムでは第2分画に含まれ, ゲル拡散法で腫瘍特異性を示した異常抗原に対する家兎抗血清を用いて, 肺癌, 胃癌などの癌組織において腫瘍特異性をさらに確認すると共に, その局在部位を明らかにする目的で免疫組織学的研究を行った。

1. 蛍光抗体法による検討

材料としては手術時に得た新鮮な組織を用い, 凍結切片ならびにアルコール固定した組織のパラプラスチック切片を作製した。

蛍光抗体染色は家兎抗血清を10倍希釈し, Fluorescent-conjugated goat anti-(rabbit globulin)-globulin を用い間接法で行った。

肺癌組織では癌細胞のみに特異蛍光が認められ, 間質等には全く認められなかった。この特異蛍光は癌細胞の細胞質, とりわけ細胞膜表面近くに存在し, 組織型による所見の変化はなかった。しかし, 正常な気管支粘膜, 粘液腺, 血管, 肺胞などの正常肺組織には特異蛍光は全く認められなかった。

特異蛍光は肺癌50例中30例 (60%) に認められた。その内訳は, 腺癌18例中16例, 扁平上皮癌18例中7例, 未分化癌14例中7例に各々特異蛍光が認められた。

胃癌12例, 結腸癌2例および直腸癌1例では全例に特異蛍光が認められた。肺癌例と同様に, いずれの場合にも癌細胞の細胞質にのみ, その特異蛍光は存在していた。正常な胃粘膜, 腸粘膜には特異蛍光は全く認められなかった。

絨毛上皮腫, 甲状腺癌では特異蛍光を認めなかった。

胎盤, 妊娠3カ月の胎児の肺, 肝, 腎および妊娠5カ月の胎児の肝, 腸では, いずれも特異蛍光を認めなかった。

細胞表面のシアル酸を取除くため Neuraminidase で癌組織を処理して特異蛍光の変化を検討した。

Neuraminidase 処理によって特異蛍光が消失または出現することはなかったが、特異蛍光陽性例ではその蛍光が増強される所見を得た。

## 2. 酵素抗体法による検討

蛍光抗体法により癌細胞の細胞膜表面近くに異常抗原が存在することが明らかになったので、さらに酵素抗体法による電顕的な局在部位を追求した。

Peroxidase 標識抗体は星野の方法に従って作製した。

Glutaraldehyde (GA) を用いて、精製した Anti-(rabbit globulin)-goat globulin に Horseradish Peroxidase を標識した。硫酸半飽和後、Bio-Gel P 300 Column で Peroxidase-labeled anti-(rabbit globulin)-goat globulin を精製した。

酵素抗体染色は間接法で行ない、内在性の Peroxidase は窒化ソーダで不活化し、Graham & Karnovsky の方法で発色させた。その結果、光顕的には蛍光抗体法による成績と全く同一で、癌細胞が周囲の間質と比較して明瞭に茶褐色に濃染していた。しかも癌細胞の細胞質、特に細胞膜表面が濃染されていた。

電顕標本は 2% GA で固定した組織片を薄切、窒化ソーダで処理した後、家兎抗血清を 4°C、15時間、さらに Peroxidase 標識抗体を室温で30分間反応させた。2% GA で後固定した後、Graham & Karnovsky の方法で発色させ、2%オスミウム酸でさらに後固定した。電顕の観察では癌細胞の細胞膜表面のみが黒く明瞭に染色されていたが、このような所見は癌細胞内部には全く認められなかった。この抗原抗体結合物と考えられるものは約 50 Å の厚さで細胞膜表面に附着しているように見えた。

肺癌組織から抽出され、ゲル拡散法で腫瘍特異的と考えられる異常抗原が、免疫組織学的には肺癌、胃癌、結腸癌などに存在し、その局在部位は癌細胞の細胞膜表面にあることを明らかにした。この異常抗原は腫瘍特異抗原の一つであるといえよう。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、人の肺癌組織から腫瘍特異抗原を抽出、その免疫学的特異性を確認すると共に、免疫組織学的に、その抗原が癌細胞の細胞膜に局在することを明らかにしたものである。

先づ組織学的には非角化扁平上皮癌であることを確かめられた人の肺癌の水抽出液から、硫酸分画、次で DEAE カラムによる分画で抗原の精製を行う。本物質は、免疫電気泳動による検索で、 $\alpha$ -グロブリンであることが判明した。

本抗原を家兎に注射して抗血清を得、非特異反応部を除去した後、ゲル拡散法で特異性を検討すると、肺癌、胃癌抽出液とのみ 1 本の沈降線を生じ、肺を含めて正常人及び胎児の組織抽出液とは反応しない。

次に本特異抗体を使用し、蛍光抗体法及びペルオキソゲンによる酵素抗体法によって、本特異抗原の組織局在について検討した。その結果、本抗原は原発性肺癌の60%に陽性で、とくにその腺癌に陽性率が高く、加えて胃癌、結腸癌の全例が陽性を示し、反応は癌細胞にのみ出現した。尚、電子顕微鏡による検索で、反応陽性部、従って抗原局在部は、癌細胞膜と判明した。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。