

前立腺疾患における γ -Seminoprotein の臨床的研究第2報： γ -Seminoprotein の免疫組織化学的検討

国立東京第二病院泌尿器科（医長：木村 哲）

中島 淳・長谷川親太郎・中島 洋介

中村 聡・木村 哲

慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室（主任：田崎 寛教授）

橘 政昭・出口 修宏・田崎 寛

CLINICAL STUDIES OF γ -SEMINOPROTEIN IN
PROSTATIC DISEASEII. IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF γ -SEMINOPROTEINJun NAKASHIMA, Shintaro HASEGAWA, Yosuke NAKASHIMA,
SO NAKAMURA and Satoru KIMURA*From the Department of Urology, The Second Tokyo National Hospital
(Chief: Dr. S. Kimura)*

Masaaki TACHIBANA, Nobuhiro DEGUCHI and Hiroshi TAZAKI

*From the Department of Urology, School of Medicine, Keio University
(Director: Prof. H. Tazaki)*

Localization of γ -seminoprotein (γ -Sm) was examined using horseradish peroxidase-labeled anti- γ -Sm antibody (Chugai Corp. Ltd., Tokyo, Japan) by the enzyme-labeled antibody method in paraffin embedded specimens of 18 benign prostatic hyperplasias and 32 untreated prostatic cancers. The level of serum γ -Sm was also determined by enzyme immunoassay in 10 untreated patients with prostatic cancer and 18 with benign prostatic hyperplasia.

Specific γ -Sm staining was detected in prostatic glandular epithelial cells and prostatic secretion of all specimens of benign prostatic hyperplasias and a half of the specimens of prostatic cancers. Specific γ -Sm staining was shown to correlate with histological differentiation of the prostatic cancer, but no correlation was found between specific γ -Sm staining and the level of serum γ -Sm.

Key words: Prostatic cancer, γ -seminoprotein, Immunohistochemistry

緒 言 対 象

ヒト精漿より抽出された γ -seminoprotein(γ -Sm)^{1,2)}が前立腺酸性フォスファターゼ(PAP)とは異なった前立腺特異抗原として注目されて以来、前立腺癌の血清学的診断に有用であることが示唆されている^{3~7)}。

今回私達は酵素抗体法を用いて、前立腺肥大症および前立腺癌における γ -Smの組織内局在を観察し、組織学的分化度との関連性および血清 γ -Sm値との関係につき検討を加えた。

国立東京第二病院泌尿器科を受診した患者54例で、平均年齢は69.6歳であった。疾患別では未治療前立腺癌38例、前立腺肥大症11例、および原発性前立腺癌以外の悪性腫瘍7例（副腎癌、腎細胞癌、腎肉腫、尿管腫瘍、膀胱腫瘍、睪丸腫瘍、転移性前立腺癌（大腸癌）各1例）であった。

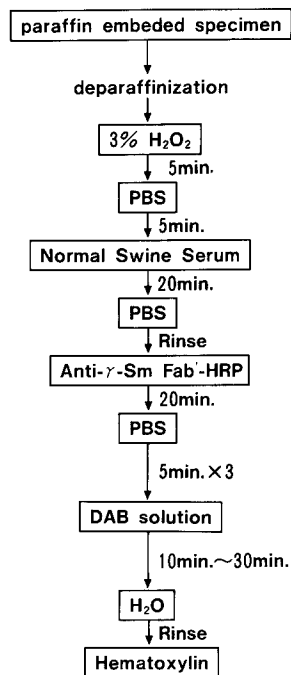


Fig. 1. Immunohistochemical technique using enzyme-labeled antibody.

方 法

各症例から得られた手術材料のパラフィン包埋標本について、horseradish peroxidase 標識抗 γ -Sm 家兎 Fab' 抗体 (anti- γ -Sm Fab'-HRP; 中外製薬) を用いて酵素抗体法を行なった (Fig. 1).

キシロールにてパラフィン切片標本の脱パラフィンを行ない、内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止するための 3% H_2O_2 を室温にて 5 分間作用させた後、標本を phosphate buffer solution (PBS, 0.01 M, pH 7.4) にて振盪、洗浄した。非特異的反応のブロックのため normal swine serum を室温にて 20 分間接触させ、PBS にて洗浄した。そこで anti- γ -Sm Fab'-HRP を室温にて 20 分間作用させた後、再度 PBS にて振盪、洗浄した。発色剤としての DAB (3,3'-diamino-benzidine) 溶液を室温 20 分間反応させ、水洗して反応を停止させる。核染色は、ヘマトキシリンを用いた。

なお対照試験には horseradish peroxidase 標識非免疫家兎 Fab' 抗体を用いた。

前立腺癌については、前立腺癌取り扱い規約の組織学的分類²⁾に従い、それぞれの分化度における γ -Sm の局在について検討した。

また、未治療前立腺癌 10 例および前立腺肥大症 18 例

については、EIA⁵⁾ (第 1 報参照) を用いて血清 γ -Sm 値を測定し、組織内 γ -Sm の局在と血清 γ -Sm 値に関して比較検討を加えた。

結 果

1. 前立腺肥大症組織の腺上皮細胞および腺腔内分泌物に γ -Sm の染色が観察されたが、間質細胞には認めなかった。腺上皮細胞においては細胞質内に染色物質が散在して認められるが、核は染色されなかった。一部の腺上皮細胞において腺腔に面した細胞頂部が強く染色された (Fig. 2)。

2. 未治療前立腺癌に関して対象となった 32 症例の組織型は、高分化型腺癌 4 例、中分化型腺癌 11 例、低分化型腺癌 14 例であった。

高分化型腺癌組織における γ -Sm の分布は、腫瘍細胞の細胞質内に顆粒状を呈して認められ、特に細胞頂部が強く染色される傾向があった。個々の腫瘍細胞における染色態度についてはほとんど差を認めなかった (Fig. 3)。

中分化型腺癌組織では、腫瘍細胞の細胞質には顆粒状に染色され、細胞質内に顆粒が集積して濃染されている像も観察された (Fig. 4)。

低分化型腺癌組織については、染色されない腫瘍細胞が多く認められた。染色が陽性であった腫瘍細胞では細胞質内がほぼ均一に染色された (Fig. 5)。

3. 前立腺癌組織における γ -Sm の染色性に関して、標本内の染色陽性腫瘍細胞の出現率が 2/3 以上のもの (+), 2/3 以下 1/3 以上のもの (+), 1/3 以下のもの (-), に分類し組織内 γ -Sm の局在と分化度との関係を検討した。尚、染色の強弱は考慮しなかった。Fig. 6 に示すように高分化型腺癌では 4 例中全例 (100%) に γ -Sm の染色を認めたが、中分化型腺癌では 11 例中 7 例 (64%) に、低分化型腺癌では 14 例中 6 例 (35%) に認めたにすぎなかった。組織の分化度と γ -Sm の局在陽性率に関して、正の相関傾向を認めた。

なお前立腺肥大症では、18 例全例 (100%) に γ -Sm の染色を認めたが、原発性前立腺癌以外の悪性腫瘍においてはいずれも γ -Sm の局在は認められなかった。

4. 血清 γ -Sm 値を測定し得た未治療前立腺癌 13 例、前立腺肥大症 18 例に関して、 γ -Sm の組織内局在と血清 γ -Sm 値との関連性について検討を加えた (Fig. 7)。なお、血清 γ -Sm 値の cut off value は γ -Sm 研究会⁷⁾の提唱する 4 ng/ml とした。

前立腺肥大症においては、血清 γ -Sm 値が陽性を

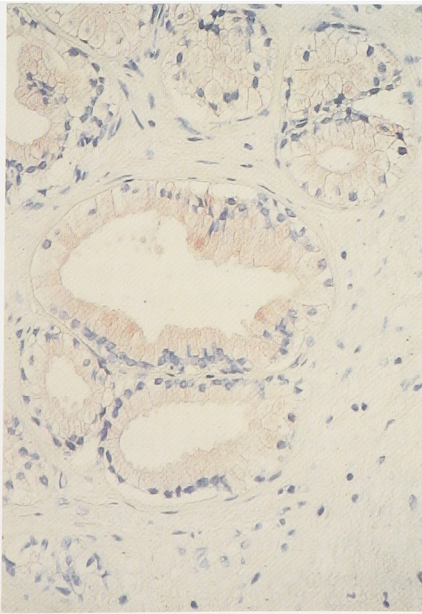


Fig. 2. Immunohistologic localization of γ -Sm in benign prostatic hyperplasia ($\times 400$).

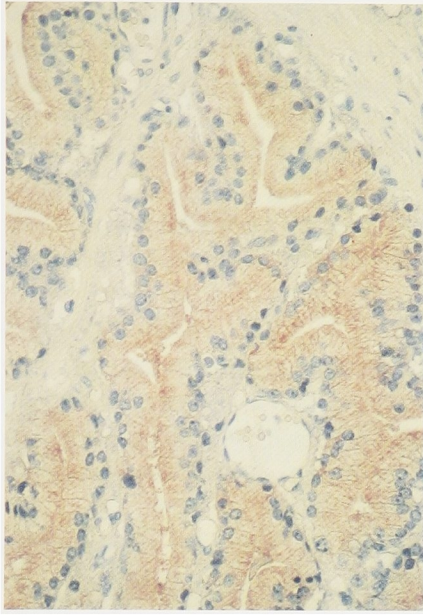


Fig. 3. Immunohistologic localization of γ -Sm in well differentiated adenocarcinoma ($\times 400$).

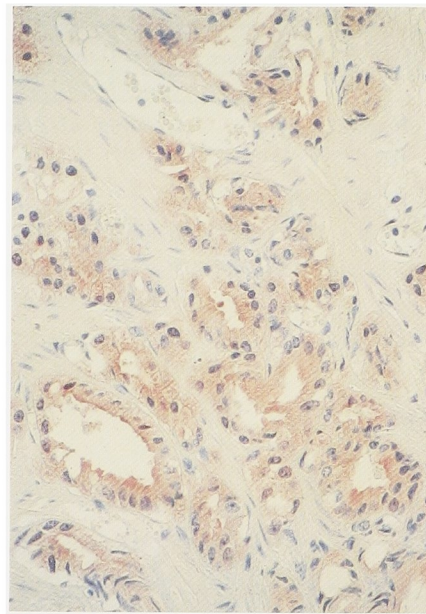


Fig. 4. Immunohistologic localization of γ -Sm in moderately differentiated adenocarcinoma ($\times 400$).

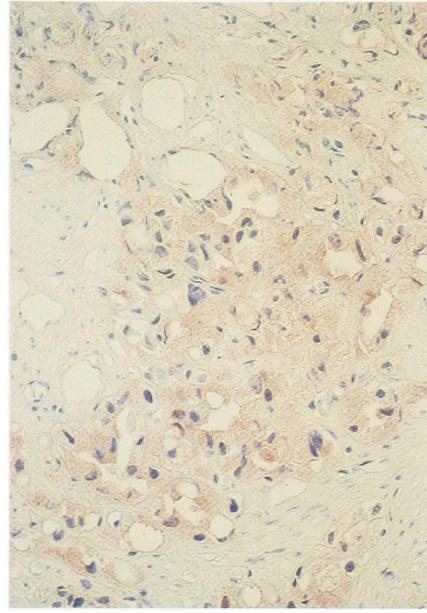


Fig. 5. Immunohistologic localization of γ -Sm in poorly differentiated adenocarcinoma ($\times 400$).

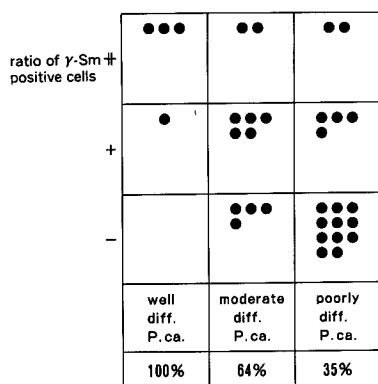


Fig. 6. Specific staining ratio of γ -Sm relative to the differentiation of prostatic cancer.

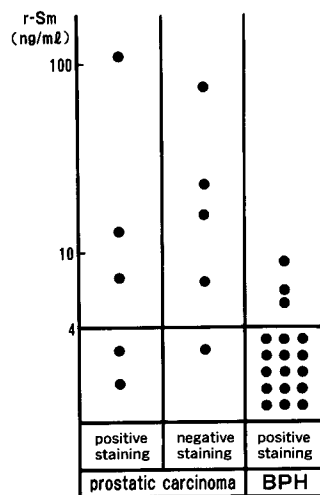


Fig. 7. Immunohistologic localization of γ -Sm and the level of serum γ -Sm.

示したのは11例中3例(17%)であった。

前立腺癌に関しては γ -Sm の組織内局在を認めた5例について血清 γ -Sm 値が陽性を示したのは3例(60%)であり、 γ -Sm の組織内局在を認め得なかった5例では、血清 γ -Sm 値が陽性を示したものは4例(80%)であった。前立腺癌においては、 γ -S の組織内局在と血清 γ -Sm 値の相関に関して明らかな傾向は見出せなかった。

考 察

γ -Sm は原らによりヒト精漿より分離された糖蛋白であり^{1,2)}、その局在は免疫組織化学的検討^{9,10)}により前立腺上皮およびその分泌物に限られ前立腺以外の男性生殖器には局在を認められておらず、前立腺特異抗原であることがすでに確認されている。最近では従来の代表的な前立腺腫瘍マーカーである PAP とは異なる

った前立腺癌の新しい腫瘍マーカーとして注目されており、EIA 法⁵⁾あるいはRIA 法³⁾による血清 γ -Sm 値の測定が可能となり、血清 γ -Sm 値は前立腺癌患者において有意の血中増加を認められており^{3,5)}、血清 PAP 値との併用により前立腺癌の診断率が向上するなど⁷⁾診断面におけるその有用性が報告されている。

本研究で、私達は酵素抗体直接法により γ -Sm の組織内局在を検討した。 γ -Sm の局在は前立腺肥大症では全例において確認され、前立腺癌については高分化型腺癌においても全例認められたが、未分化型腺癌においては γ -Sm の局在は14例中6例に認められたにすぎず、その局在陽性率と分化度に関して正の相関傾向が認められた。血清 γ -Sm 値と組織内 γ -Sm の局在との比較検討では、両者の間に明らかな傾向を見出せなかった。

前立腺癌において、血清 γ -Sm 値上昇をきたす組織構築学的要因として、PAP で示唆されているよう^{11,12)}に前立腺癌が導管を欠くため γ -Sm が間質に放出されたり、癌による組織構築の破壊による γ -Sm の周囲への流出、あるいは癌細胞の cell cycle の速度との関連性などが考えられる。なおすでに血清 γ -Sm 値上昇に病期の進行が関与している可能性は示唆されている⁷⁾。

ところで瀬戸ら^{13,14)}は γ -Sm が前立腺細胞内の testosterone, 5 α -dihydrotestosterone, androstenediol など何らかの受容体を介して合成された特殊蛋白の一つであると解し、組織内 γ -Sm の局在は、ホルモン受容体の存在、更には内分泌療法感受性の予知に利用し得る可能性を示唆している。しかし一方では内分泌療法感受性と組織内 γ -Sm の局在との関連性に否定的な報告¹⁵⁾もあり治療面における γ -Sm の組織内局在の意義はなお不明である。今後、予後や各種治療に対する反応性との関連につきさらに検討の必要があると思われる。

結 語

1. 酵素抗体直接法にて前立腺肥大症全例において、腺上皮細胞内に γ -Sm の局在を認めた。
2. 原発性前立腺癌以外の悪性腫瘍においては、いずれも γ -Sm の組織内局在は認められなかった。
3. 前立腺癌については、 γ -Sm の組織内局在は53%に認められ、組織の分化度と γ -Sm の局在陽性率に関して正の相関傾向が認められた。
4. γ -Sm の組織内局在と血清 γ -Sm 値に関して明らかな傾向を見出せなかった。

本論文の要旨は第440回日泌尿学会東京地方会で報告した，

文 献

- 1) 原 三郎・井上徳治・小柳嘉子・後藤 恂・山崎春生・福山 武：抗ヒト精漿の作製並びにその免疫電気泳動学的検討。（体液の法医免疫学的研究Ⅶ）日法医誌 **20**(4)：356, 1966
- 2) 小柳嘉子：ヒト精漿の特異成分 γ -seminoprotein 「仮称」の分離精製並びに化学的物理解析的性状について。医学研究 **44**(5)：529～548, 1974
- 3) 岡部 勉・江藤耕作：前立腺特異抗原 (γ -seminoprotein, β -microseminoprotein) に関する臨床的研究。第2報，前立腺癌患者血清中の γ -seminoprotein および β -microseminoprotein の測定。日泌尿会誌 **74**：1320～1325, 1983
- 4) 布施秀樹・榊鏡年清・片海善吾・島崎 淳：前立腺癌患者血清中 γ -セミノプロテイン。泌尿紀要 **31**：81～85, 1985
- 5) 岡部 勉・野田進士・江藤耕作・佐川公矯・横山三男・浦池信一： γ -Seminoprotein（前立腺特異抗原）の臨床的応用。モノクローナル抗体を用いた血中 γ -Seminoprotein 値の測定。日泌尿会誌 **76**：165～173, 1985
- 6) 石川眞也・戸塚一彦・石山俊次・後藤健太郎・大場修司・徳江章彦・米瀬泰行・浦池信一・櫻林郁之介・河合 忠：前立腺癌における血清 γ -Seminoprotein の意義。泌尿紀要 **31**：961～967, 1985
- 7) γ -Sm 研究会・江藤耕作・河合 忠・石井 勝・大倉久直・大森弘之・斉藤 泰・島崎 淳・関田孝夫・土田 正義・新島端夫・西浦常雄・原 三郎・町田豊平・松本恵一・山中英寿・米瀬泰行：ガンマーセミノプロテイン [γ -Seminoprotein (γ -Sm)] 血清中濃度測定の前立腺癌診断への応用。日泌尿会誌 **76**：1836～1842, 1985
- 8) 泌尿器科・病理前立腺癌取扱い規約：編者 日本泌尿器科学会，日本病理学会，第1版 65～77，金原出版株式会社，東京都，1985
- 9) 津田亮一・原 三郎・井上徳治・岡部 勉：酵素抗体法による精漿特異抗原 γ -Seminoprotein (γ -Sm) ならびに β -Microseminoprotein (β -MSP) の男性生殖器における局在について。体液分泌液の法医免疫学的研究（第19報）日法医誌 **37**(1)：16～19, 1983
- 10) 岡部 勉・江藤耕作：前立腺特異抗原 (γ -Seminoprotein β -Microseminoprotein) に関する臨床的研究。第一報 免疫組織化学的検討。日泌尿会誌 **74**：1313～1319, 1983
- 11) 島崎 淳・布施秀樹・秋元 晋・角谷秀典：前立腺癌の組織分化度と γ -Sm。臨床病理特集第68号 前立腺癌の診断と臨床検査，113～122, 1986
- 12) 吉田正林・三木 誠：前立腺の酸フォスファターゼに関する免疫組織化学的研究。日泌尿会誌 **74**：514～522, 1983
- 13) 瀬戸輝一：前立腺癌の病理。日泌尿会誌 **73**：14～17, 1982
- 14) 石山昱夫：抗原の局在性について。日法医誌 **36**(1)：70～84, 1982
- 15) Ito H, Yamaguchi K, Sumiya H, Matsuzaki O, Shimazaki J and : Histochemical Study of R1881-Binding Protein, Prostatic Acid Phosphatase, Prostate-Specific Antigen, and γ -Seminoprotein in Prostatic Cancer. Eur Urol **12**: 49～53, 1986

(1986年12月22日受付)