



EXPRESSION OF A HEPATOCYTE MEMBRANE ANTIGEN DURING HEPATOCARCINOGENESIS AND IN THE DEVELOPING LIVER OF THE RAT

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松本, 正廣 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/902

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 49号	学位授与年月日	昭和62年 3月26日
氏 名	松 本 正 廣		
論文題目	<p>EXPRESSION OF A HEPATOCYTE MEMBRANE ANTIGEN DURING HEPATOCARCINOGENESIS AND IN THE DEVELOPING LIVER OF THE RAT (発癌過程および発生過程におけるラット肝細胞膜抗原の表出)</p>		

医学博士 松本正廣

論文題目

EXPRESSION OF A HEPATOCYTE MEMBRANE ANTIGEN DURING HEPATOCARCINOGENESIS AND IN THE DEVELOPING LIVER OF THE RAT

(発癌過程および発生過程におけるラット肝細胞膜抗原の表出)

論文の内容の要旨

〔目的〕

発癌過程にみられる細胞膜抗原の変化の解析は発癌機序を明らかにする上できわめて重要と考えられる。われわれはラット正常肝細胞膜蛋白に対するモノクローナル抗体(HAM. 4)を作成し、その性状および正常組織での分布について検討を行ってきた。今回はラットの肝癌モデルをもちい、発癌過程における細胞膜抗原の変化ならびに腫瘍の分化度による膜抗原表出の相違をHAM. 4によって解析した。また胎児肝をもちい、肝の成熟過程におけるHAM. 4の表現様式についても検討を加えた。

〔方法〕

肝過形成結節はFarberらの方法によって作製した。すなわちF-344雄ラットにdiethylnitrosamine 200 mg/kgおよび0.02%の2-acetylaminofluorene(2-AAF)含有飼料を投与し、さらに67%部分肝切除を加えた。また上記の処置を行ったラットにさらに2-AAFを持続投与し、肝癌を作製した。組織学的検索は組織をPLP固定後パラフィン包埋して連続切片を作製し、間接酵素抗体法によるHAM. 4抗原の同定を行った。正常肝組織の免疫電顕はPLP固定後の凍結組織切片を用いて同様に行った。

〔成績〕

HAM. 4抗原は正常肝組織では光顕上肝細胞膜の毛細胆管遊離面および胆管上皮の管腔遊離面に認められ、電顕では毛細胆管のmicrovilli表面に強く表出されており、類洞面および結合面にもわずかに存在した。癌化過程において、HAM. 4抗原は過形成結節では肝細胞の拡張した毛細胆管遊離面に残存していたが、経過とともに結節内の一部でHAM. 4抗原の表出が減弱していた。肝癌組織においては、分化型索状肝細胞癌ではHAM. 4抗原は細胞膜上に表出されていたが、未分化型索状肝細胞癌および未分化な充実性肝細胞癌では表出されなかった。胎生期における肝細胞膜上へのHAM. 4抗原の発現は胎齢18日より明瞭に認められ、時間とともに次第に増強し、生後4週でほぼ成熟ラットと同程度になった。

〔考察〕

HAM. 4抗原は前癌病変と考えられる過形成結節では細胞膜上に残存し、肝癌でも高分化型索状肝癌では表現されていたものの、未分化型肝癌では表現されていなかった。HAM. 4抗原は肝細胞索構造、特に毛細胆管の分化に関与する抗原であり、索状構造の破壊を伴う未分化型肝癌で消失することより発癌機序の解析に有用と思われた。

論文審査の結果の要旨

従来から、肝細胞癌は早期診断のもっとも難しい癌の1つとされ、その対策はきわめて重要である。また、前癌状態や早期癌の本態も不明の点が多いところである。そこで、申請者は肝細胞の発癌過程を明らかにするため癌化に伴い正常肝細胞膜成分がどのように変化するかを単クローン性抗体を用いて免疫組織化学的方法で研究した。

肝過形成結節及び肝細胞癌はFarberらの方法(F-344雄ラットにdiethylnitrosamine 腹腔投与、2-acetylaminofluorene 経口投与、67%部分肝切除を施した)により作製した。ラット肝特異

的単クローン抗体（HAM-4）はTamakoshiらの準備したものを用い、肝組織切片に対し間接型酵素抗体法によってHAM-4抗原の局在性を検索した。

研究結果は次の通りであった。

1. 単クローン抗体（HAM-4）は正常ラット肝細胞の毛細胆管遊離面膜抗原に対し選択的に反応した。
2. HAM-4抗原は胎齢18日目より検出されはじめ、生後4週でほぼ成熟ラット肝と同程度となった。
3. 発癌誘導後、前癌病変と考えられる初期の過形成結節では拡張した毛細胆管面に検出されたが、経過とともに次第に結節内に陰性部分が出現した。さらに高分化型肝細胞癌では陽性部分が残存し、未分化型肝細胞癌では大部分が陰性となりHAM-4抗原は消失した。

以上のように、HAM-4抗原は正常肝細胞索の特有な立体構造、特に毛細胆管面に出現する一種の分化抗原であり、癌化に伴い次第に消失することから、申請者は、HAM-4抗原は肝細胞の癌化過程を解析する上で極めて有用なマーカーであると結論した。

本研究は方法論的に信頼できるものであり、また、その結論も肝における胆管系構造の分化と癌化過程を解析する上で示唆に富む新しい知見を提示するものであるところから、審査委員全員から本研究に対し高い評価が与えられた。

次に、審査委員から次のような質問がなされた。

1. 発癌モデルの適確性と再現性について
2. 肝部分切除単独における肝細胞のHAM-4抗原の変化
3. 遊離肝癌細胞や皮下移植癌におけるHAM-4抗原の分布
4. ウイルス肝炎時の肝細胞におけるHAM-4抗原の分布
5. HAM-4の種特異性、ヒト肝細胞との交叉反応性
6. 未分化癌と分化癌のHAM-4抗原発現の相違
7. 毛細胆管構築の分化機構

以上の質問に対する申請者の回答はおおむね適切であった。また、残された問題点については今後さらに追求する旨の回答があった。

以上の結果、本研究論文は学位授与に値するものと全審査委員が判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山下 昭

副査 教授 金子 昌生 副査 教授 吉見 輝也

副査 助教授 吉澤 浩司 副査 講師 中村 達