Japan Society of Histochemistry and Cytochemistry (JSHC)

I-C-13
粘液産生胆管癌における胃幽門型ムチンの発現：コア蛋白 MUC6 と HIK1083 で認識される糖鎖抗原の発現の差異

後藤　正道[1)]、玉田　修吾[1)]、柴原　弘明[2)]、
東　美智代[1)]、野元　三治[1)]、小田　高司[2)]、
榔野　正人[2)]、長坂　徹郎[3)]、二村　雄次[2)]、
米澤　傑[1)]

[1]鹿児島大学　大学院医歯学総合研究科　腫瘍学講座人体がん病理学、[2]名古屋大学　大学院　器官調節外科、[3]名古屋大学　医学部　附属病院検査部病理

【目的】我々の最近の研究によって、胆管の粘液産生腫瘍（MPBTs）の病理学的特徴が明らかになり、膵の膵管内乳頭粘液性腫瘍（IPNN）との類似性が明確となった。MPBTs は予後良好の cuboidal type (CB) と予後不良の columnar type (CL)との２種類から成り、免疫組織化学的検索で、胃型ムチンのうち MUC5AC は、CB、CL 双方に強く発現するが、MUC6 は CB に有意に強く発現することも明らかとなった (*Am J Surg Pathol* 28:327)。今回我々は、胃幽門型ムチンコア蛋白である MUC6 と、単クローン抗体 HIK1083 で認識される胃幽門型ムチン糖鎖抗原（以下、CA/HIK1083 と呼ぶ）の発現を MPBTs で比較したところ、興味深い結果が得られたので報告する。【方法】外科的に切除された MPBT 20 例 (CB 15 例, CL 5 例)のパラフィン切片を用いて、MUC6 と CA/HIK1083 の発現を ABC 法(Vector)を用いた免疫染色で検索した。染色結果は腫瘍中の染色陽性細胞の割合で評価し、10%未満を“-”、10%-50%を“+”、50%以上を“++”とした。【結果】CB の 15 例においては、MUC6 は全例陽性（++:13, +:2, -: 0）であったが、CA/HIK1083 は全例陰性（++:0, +:0, -: 15）であった。一方、CL の 5 例においては、MUC6 は 2 例に陽性（++:1, +:1, -: 3）であったが、CA/HIK1083 は全例陰性（++:0, +:0, -:5）であった。【考察】正常胃粘膜では MUC6 と CA/HIK1083 は幽門腺に全く同一のパターンで発現を示すにもかかわらず、MPBTs のうち、CB では、MUC6 は全例陽性であるが CA/HIK1083 は全例陰性という際だった対照的発現を示した。CL においても、MUC6 は 40%に陽性であるが CA/HIK1083 は全例陰性であった。子宮頸部の minimum deviation adenocarcinom (adenoma malignum)では CA/HIK1083 が陽性になるという報告から、MPBTs にも CA/HIK1083 が発現するものと予想していたが、CA/HIK1083 は CB と CL 共に全例陰性であった。このような胃幽門型ムチンのコア蛋白と糖鎖抗原の MPBTs における発現の解離は、腫瘍の発生・分化の過程で生ずるものと推測される。

I-C-14
骨髄間質細胞の幹細胞因子発現動態 定量的 RT-PCR とフローサイトメトリーによる検討

杉本　幸隆[1)]、　長門　俊一[1)]、　小路　武彦[2)]

[1]福岡歯科大学　基礎医歯学部門　生体構造学講座、[2]長崎大学　大学院医歯薬学総合研究科　発生分化機能再建学講座

【目的】骨髄には間葉系と血球系の両方の幹細胞が存在して、多くのサイトカインが分泌され相互に影響を与えている。なかでも幹細胞因子（SCF, c-kit ligand）は必須の役割を果たし、その発現の変動は骨髄幹細胞を起源とする細胞の構成に影響を与え、またそのフィードバックとしてマスト細胞による間葉系細胞の構成も変化させる可能性を持っている。そこで骨髄における２つのフォームの SCF の発現動態と、さまざまなサイトカインの影響を明らかにするために定量的 RT-PCR と flow cytometry で検討した。【材料・方法】骨髄細胞：C57BL/J マウスより骨髄を採取し、10%FBS 含有 α-MEM で６週間以上培養して、長期培養骨髄細胞を得た。サイトカイン：recombinant TGFb_, rbFGF, rTNFa, rIL-4, rLIF（それぞれ, 0.1, 1, 10 ng/mL）を培養骨髄細胞に 24 時間作用した。定量的 PCR：細胞から Isogen を用いて total RNA を抽出し、SuperScript を用いて逆転写して cDNA を作製した。この cDNA を template として、新設計の分離型 SCF1 および膜結合型 SCF2 を認識できる primer pairs をそれぞれ用いて PCR 増幅。agarose 電気泳動ゲルを cyber green で染色後、イメージアナライザー蛍光測光で定量した。別に real time PCR（Smart Cycler System）を用いて定量的 PCR を行った。flow cytometry：培養骨髄細胞を非酵素的に培養皿から回収して、FITC 標識抗マウス SCF 抗体を室温 30 分間反応させ、FACS で解析した。【結果・考察】膜結合型 SCF2 は分離型 SCF1 の約 5%であった。検討したサイトカインのうち TGFb_だけが全ての濃度で両方のフォームの発現を強く抑制した。しかし、TGFb_と bFGF または TNFa の共作用では、膜結合型 SCF2 だけが発現を回復し、TGFb_と IL-4 または LIF の共作用では TGFb_の抑制効果は打ち消された。FACS 解析で骨髄細胞は SCF を強く膜発現する画分と弱い画分に分かれた。TGFb_は SCF の膜発現を著しく促進した。bFGF, TNFa との共刺激でもこの発現促進は維持された。しかし、bFGF, TNFa, IL-4, LIF はこの細胞表面発現にほとんど影響を与えなかった。【結論】TGFb_は SCF2 の mRNA 発現に多面的に関わり、膜発現も促進する事が明らかになった。しかし、TGFb_による SCF 膜発現刺激は mRNA の生産とは別の機構による可能性がある。

NII-Electronic Library Service