

腎尿細管基底膜抗原の基礎的研究

(課題番号 56480265)

昭和57年度科学研究費補助金(一般研究B)

研究成果報告書

昭和58年9月

研究代表者 黒田一秀

(旭川医科大学学長)

は し が き

昭和56年度より2年間にわたり、「腎尿細管基底膜抗原の基礎的研究」という研究課題に対して科学研究費補助金の交付を受け、研究を行ってきました。この間、基底膜抗原の研究は飛躍的な発展のみられた領域であって、単に基底膜だけの問題に限らず、現在は細胞の分化・増殖、癌細胞の浸潤・転移の重要な因子として基底膜抗原はとらえられております。私共もこの領域の研究に微力ながら貢献できた事を嬉しく思っております。

科学研究費補助金交付の終了に当たり、2年間の成果を研究成果報告書としてまとめさせていただきました。

研 究 組 織

研究代表者 黒 田 一 秀 (旭川医科大学学長)
研究分担者 坂 下 茂 夫 (旭川医科大学講師)
出 村 孝 義 (旭川医科大学助手)

研 究 経 費

昭和56年度	3,000千円
昭和57年度	500千円
総 計	3,500千円

研 究 発 表

I 学 会 誌 等 (*:別冊を本報告書末尾にとじ込み)

- (1) Teshima S., Sakashita S., Kikuchi Y. and Aizawa M.
Histogenesis of yolk sac carcinoma induced by fetectomy.
GANN, 72, 524-530, 1981
- (2)*坂下茂夫、塚田 裕、平井秀松
Rat yolk sac tumor と laminin. 癌と化学療法 9, Suppl 1, 211-217,
1982
- (3)*坂下茂夫、橋本 博、黒田一秀
尿路性器悪性腫瘍における基底膜蛋白. laminin と fibronectin の局在
日泌尿会誌 77, 777-789, 1983

(4)* Sakashita S.

Laminin: Its structure and pathophysiology.

Hokkaido University Medical Library 15, 75-102, 1983.

II 口頭発表

(1) 坂下茂夫、高村孝夫、黒田一秀

マウス睪丸腫瘍培養株によるラミニン (laminin) 産生について

第69回日本泌尿器科学会総会 1981. 5. 22

(2) 坂下茂夫、橋本 博

ヒト膀胱腫瘍の細胞間基質について

第40回日本癌学会総会 1981. 10. 5

(3) 坂下茂夫、塚田 裕、平井秀松

シンポジウム — ヨークサック腫瘍の基礎と臨床 — ラット・ヨークサック腫瘍の産生蛋白
と分化 第40回日本癌学会総会 1981. 10. 5

(4) 坂下茂夫、高村孝夫、黒田一秀

尿細管発生に関する実験的研究

第70回日本泌尿器科学会総会 1982. 5. 11

(5) 橋本 博、坂下茂夫、高村孝夫、黒田一秀

膀胱基底膜の組織化学的研究

第70回日本泌尿器科学会総会 1982. 5. 11

(6) Kuroda, K. Hashimoto, K. Sakashita, S.

Histological studies on basement membranes of bladder carcinomas.

The XIX International Congress of the Société Internationale

d'urologie 1982. 9. 5

(7) 坂下茂夫

シンポジウム: 尿路性器癌の実験的アプローチ — 臨床との関連において —

尿路性器腫瘍における基底膜特異蛋白 laminin の意義

第71回日本泌尿器科学会総会 1983. 4. 6

(8) 橋本 博、坂下茂夫、高村孝夫、黒田一秀

浸潤性膀胱癌の基底膜の組織化学

第71回日本泌尿器科学会総会 1983. 4. 6

(9) 坂下茂夫、橋本 博、中西正一郎、黒田一秀

腎癌より分離した laminin fragment とその組織内局在様式

第42回日本癌学会総会 1983.10 発表予定

研 究 成 果

1 ヒト基底膜抗原の精製

fibronectin は、collagen との化学的親和性を利用した gelatin-Sephrose[®] affinity chromatography により、健康人の血漿から分離精製した。同上抗原を家兎に免疫して抗 fibronectin 抗血清を調整した。

laminin は、手術的に剔出したヒト腎細胞癌のホモジネートの不溶性分画から、酸に可溶性分画から除いた後に、pepsin 処理後 laminin fragment として分離した。この fragment は分子量 20 万前後と 9 万前後の蛋白であって、抗マウス laminin 抗血清と反応した。この laminin fragment に対する抗血清も家兎に免疫する事によって調整した。

2 ラット胎仔の腎尿管発生過程における laminin の発現

ウイスター今道系ラットを用いて実験した。雌雄ラットを mate させ、翌朝陰内に精子を認めるか、vaginal plug を認めた時、その日を妊娠 0 日として雌ラットを隔離した。妊娠 11 日目から 20 日目まで毎日ラットを 3 匹づつ殺し、胎仔の腎の凍結標本及びホルマリン固定パラフィン包埋標本を作成した。それぞれの標本を、抗 laminin 抗血清を用いた間接法による蛍光抗体法及び HE 染色にて観察した。妊娠 13 日目から内胚葉性の尿管芽が樹枝状に次々と 2 分して伸びてゆき、その 2 分した尿管芽の先端に中胚葉性の腎芽細胞が集合してついにネフロンを誘導する過程を観察できた。この過程をさらに詳しく観察すると、1 度集合した腎芽細胞は落果するように尿管芽先端から離れ、中に S 字状の管腔を作った後に再び一方の端が尿管芽と結合し互いの管腔は癒合し連続し尿管を形成し、他方の端には血管が侵入し糸球体を形成するのがわかる。このようなネフロンの誘導は、ラットでは数時間に 1 回行なわれる。さて、このネフロンの誘導過程で、集合した腎芽細胞には laminin の局在は全く見られず、1 度尿管芽の先端から離れ S 字状管腔構造を形成する際の内腔の生じた腎芽細胞に laminin の局在が観察出来た。この現象は間葉系の腎芽細胞が上皮性の尿管上皮細胞へと分化した直後に laminin 産生能を獲得する事を意味していると思われる、尿管上皮細胞の基本的な形質として laminin 産生があると言えよう。また成熟した腎における laminin の局在は、糸球体の血管基底膜を含め尿管・ボーマン嚢・間質の血管の基底膜にみられるが、胎生期の場合とは異なり laminin 産生細胞の細胞質には局在を確認し得なかった。これは尿管上皮細胞によるラ

ミニン産生量は、組織化学的な方法により検出する感度以下であるためと考えられた。

3 尿路性器腫瘍と laminin の局在

尿路性器腫瘍（睪丸腫瘍4、腎細胞癌6、膀胱癌14）および正常睪丸・腎・膀胱組織における laminin の局在様式を間接法蛍光抗体法で検討した。基底膜特異蛋白 laminin は、正常組織では上皮基底膜及び血管基底膜に限って存在していた。腫瘍では起源細胞の種類により、laminin の局在様式は異なっていた。yolk sac tumor は laminin 産生量の多い腫瘍で、腫瘍細胞及び細胞外基質に laminin の蓄積のある事が観察された。膀胱腫瘍は laminin 産生の少ない腫瘍で、腫瘍細胞・細胞外基質共に laminin 陰性であった。しかし、浸潤癌を含めたすべての膀胱腫瘍で、腫瘍細胞塊と間質は laminin 陽性の膜構造で境されていた。laminin は基底膜の lamina lucida に存在する基底膜特異蛋白である事から、膀胱腫瘍は lamina lucida に包まれたまま浸潤する事が示唆された。なお、腎細胞癌では laminin の局在が腫瘍細胞には認められなかったが、細胞周囲の基質に laminin が検出された。以上の現象は癌細胞による laminin 産生量の違いに起因するものと思われ、癌における laminin の意義について引き続き研究を継続する必要があると考えられた。