

Biliary Tract Disease and Compound Carbohydrates: Immunohistochemical and Collagen Gel Culture Studies

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Nakanuma, Yasuni メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/48284

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



胆道系疾患の病態と複合糖質との関連性
：免疫組織化学とコラーゲンゲル内培養
を用いて

研究課題番号：02670135

平成4年度文部省科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書

平成5年3月

研究代表者 中沼 安二
（金沢大学医学部第教授）

KAKEN
1992
24

平成4年度科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書
（研究課題番号：02670135）

胆道系疾患の病態と複合糖質との関連性：免疫組織化学と
コラーゲンゲル内培養を用いて

研究組織

研究代表者 中沼安二
（金沢大学医学部第教授）
研究分担者 寺田忠史
（金沢大学医学部助教授）

研究経費

平成2年度	1, 800千円
平成3年度	400千円
平成4年度	300千円
計	2, 500千円



8000-24315-6

金沢大学附属図書館

はしがき

平成2年度、3年度、4年度に担当した文部省科学研究費補助金一般C「胆道系疾患の病態と複合糖質との関連性：免疫組織化学とコラーゲンゲル内培養を用いて」（課題番号02670135）についての研究がほぼ終了したので、その研究報告を10編の論文と現在印刷中（3編）および投稿中の論文（2編）の内容と合わせて以下にまとめた。

肝内胆管系は解剖学的に肝内大型胆管、隔壁胆管、小葉間胆管、細胆管、それに肝内胆管付属腺に区分され、各々の区分での胆管上皮の分泌する粘液糖蛋白に種々の違いが知られている。本研究は胆管上皮での複合糖質の分泌あるいは産生異常と胆道系疾患の発生、進展との関連性を免疫組織化学とコラーゲンゲル内培養法により検討した。

研究発表

ア 学会誌発表

- 1) K.Saito, Y.Nakanuma. Lectin binding of intrahepatic bile ducts and peribiliary glands in normal livers and hepatolithiasis. *Tohoku J Exp Med* 160:81-92, 1990
- 2) T.Terada, Y.Nakanuma, N.Kono, K.Ueda, M.Kadoya, O.Matsui. Ciliated hepatic foregut cyst. A mucus histochemical, immunohistochemical, and ultrastructural study in three cases in comparison with normal bronchi and intrahepatic bile ducts. *Am J Surg Pathol* 14:356-363, 1990.
- 3) T.Terada, Y.Nakanuma. Pathological observations of intrahepatic peribiliary glands in 1,000 consecutive autopsy livers. II. A possible source of cholangiocarcinoma. *Hepatology* 12:92-97, 1990.
- 4) H.Kurumaya, T.Terada, Y.Nakanuma. 'Metaplastic lesions' in intrahepatic bile ducts in hepatolithiasis: A histochemical and immunohistochemical study. *J Gastroenterol Hepatol* 5:530-536, 1990.
- 5) T.Terada, Y.Nakanuma. Pathological observations of intrahepatic peribiliary glands in 1,000 consecutive autopsy livers. III. Survey of necroinflammation and cystic dilatation. *Hepatology* 12:1229-1233, 1990
- 6) T.Terada, Y.Nakanuma, K.Saito, N.Kono. Biliary sludge and microcalculi in intrahepatic bile ducts. Morphologic and X-ray microanalytical observations in 18 among 1,179 consecutively autopsied livers. *Acta Pathol Jpn* 40:894-901, 1990.
- 7) 中沼安二. 肝内結石症の病理. *日消外会誌* 23:107-111, 1990.

- 8) T.Terada, Y.Nakanuma, Ohta T, Nagakawa T, Motoo Y, Harada A, Hamato N, Inaba T. Mucin-histochemical and immunohistochemical profiles of epithelial cells of several types of hepatic cysts. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 419:499-504, 1991
- 9) 車谷宏、中沼安二. 肝内胆管系の解剖、組織、発生. *病理と臨床* 9:1394-1399, 1991
- 10) 細正博、中沼安二、原田憲一、河野尚子. 細胆管反応. *病理と臨床* 9:1400-1406, 1991
- 11) 中沼安二、湊 宏、佐々木素子、斉藤勝彦. 肝内胆管系での血液型関連糖鎖の分布：正常肝と2,3の胆道系疾患での検討. *病理と臨床* 9:1412-1417, 1991
- 12) 寺田忠史、石田文生、中沼安二. 肝内胆管付属腺とその病理. *病理と臨床* 9:1422-1432, 1991
- 13) T.Terada, Y.Nakanuma. Cell kinetics analyses and expression of carcinoembryonic antigen, carbohydrate antigen 19-9 and DU-PAN-2 in hyperplastic, pre-neoplastic and neoplastic lesions of intrahepatic bile ducts in livers with hepatoliths. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 420:327-335, 1992
- 14) T.Terada, Y.Nakanuma. Pathologic observations of intrahepatic peribiliary glands in 1,000 consecutive autopsy livers: IV. Hyperplasia of intramural and extramural glands. *Hum Pathol* 23:483-490, 1992
- 15) T.Kida, Y.Nakanuma, T.Terada. Cystic dilatation of peribiliary glands in livers with adult polycystic disease and livers with solitary nonparasitic cysts: An autopsy study. *Hepatology* 16:334-340, 1992
- 16) 斉藤勝彦、河野尚子、中沼安二. マウス胆嚢上皮細胞のコラーゲン・ゲル上 microexplant培養法の確立. *日消会誌* 89:503-510, 1992
- 17) 斉藤勝彦、吉田一晴、河野尚子、中沼安二. コラーゲン・ゲル上 microexplant培養法を用いた胆道系上皮細胞の継代純粋培養法. *日消会誌* 89:2693-2699, 1992

イ 口頭発表

- 1) 川辺 圭一, 中沼 安二:家兎胆嚢粘膜上皮細胞のコラーゲン・ゲル内初代培養の試み. 第76回日本消化器病学会総会 1990年
- 2) 寺田 忠史, 中沼 安二:肝内胆管付属腺の異型性過形成と癌化:剖検肝での検討 第26回日本肝臓学会総会 1990年
- 3) 斉藤 勝彦, 行木 瑞雄, 河野 尚子, 中沼 安二:コラーゲン・ゲル上 microexplant継代培養による胆道系上皮細胞の純粋培養法の確立 第27回日

本肝臓学会総会 1991年

- 4) 佐々木 素子, 斉藤 勝彦, 寺田 忠史, 中沼 安二:肝内胆管系での血液型
関連糖鎖の分布—肝内結石症を中心に—. 第26回日本肝臓学会西部会
1991年
- 5) 吉田 一晴, 中沼 安二:コラーゲンゲル内培養家兎胆嚢上皮細胞の極性発現
と糖鎖の変化:経時的観察. 第81回日本病理学会総会 1992年
- 6) 佐々木 素子, 河野 尚子, 中沼 安二:肝細胞におけるLewisY抗原発現—各
種慢性肝疾患における検討—. 第27回日本肝臓学会西部会 1993年

ウ 出版物

なし

研究成果

研究目的：肝内胆管系は解剖学的に肝内大型胆管、隔壁胆管、小葉間胆管、細胆管、それに肝内胆管付属腺に区分され、各々の区分での胆管上皮の分泌する粘液糖蛋白に種々の違いが知られている。本研究は胆管上皮での複合糖質の分泌あるいは産生異常と胆道系疾患の発生、進展との関連性を免疫組織化学とコラーゲンゲル内培養法により検討した。

研究成果

1. ヒト肝内胆管系での血液型関連糖鎖発現の検討：A, B, H型物質は、正常の肝内の大型胆管系に分布しているが、小型の胆管系には分布していない。I型糖鎖のルイス a と b は、正常肝の肝内胆管系に非特異的に広汎に分布していた。II型糖鎖のルイス X と Y の発現は、正常肝の肝内大型胆管の一部を除き、殆ど発現がなかった。胎児肝の肝内胆管系ではA, B, H型物質の発現はなく、成人肝の胆管系とは異なっていた。ルイス a, b, X, Y の発現には一定の傾向は見られなかったが、小型の胆管系には発現はなかった。なお、癌関連糖鎖抗原であるCA19-9, DUPAN II, CEAは正常の胆管系では殆ど発現が見られなかった。

2. 炎症性胆管障害での複合糖質の変化：A, B, H型物質は、胆道系疾患に強く非特異的、非連続的に、また肝硬変等の進行性の肝疾患の肝内胆管でも同様の新たな発現がみられた。しかし、I型糖鎖のルイス a と b は、病的肝の肝内胆管系に広汎に分布しており、正常の胆管系との間に差は見られなかった。一方、II型糖鎖のルイス Y の発現は、病的肝（胆道系、非胆道系疾患を問わず）で非特異的にルイス Y が高率に胆道系上皮に、非連続的に病変部に強く、発現していた。免疫電顕で、これら糖鎖はゴルジ体と管腔面の微絨毛や細胞膜に発現し、これらの部位で糖タンパク質や糖脂質の成分になっていると考えられた。ルイス Y 陽性の肝内胆管系ではフコシルトランスフェラーゼの活性亢進（H型物質のN-アセチルグルコサミニル基へのフコース添加）が示唆されが、その機序を明かにし得なかった。一方、同じII型糖鎖のルイス X は、病的肝でも殆ど発現は見られなかった。

3. 肝内胆管系の癌化に伴う複合糖質の変化：癌関連糖鎖抗原であるCA19-9, DUPAN II, CEAは、肝内胆管癌で高率に発現することが知られている。今回、20例の肝内結石症と肝内胆管癌合併例（肝内結石症では胆管被覆上皮に種々の異型像の出現し、胆管癌の前癌性病変であることが明かとなっている）を検討し、癌と前癌病変であるatypical hyperplasiaの部位でこれらの癌関連糖鎖抗原の発現がみられた。A, B, H型物質に関しては、癌化例で強く発現する例、陰性化する例、また癌の部位による違いがあり、CA19-9, DUPAN II, CEAでも同様の結果が得られ、癌のclonalityに依存すると考えられた。ルイス a, b, X, Y型物質に関しても同様にclonalityに依存する傾向があった。なお、前癌性病変である胆管上皮の種々の異型性を伴った過形成病変ではこの様なheterogeneityは見られなかった。

4. 家兎胆嚢粘膜より単離した粘膜上皮をコラーゲンゲル内で培養すると、これらの培養上皮には一過性にin vivoでみられた糖鎖の発現や極性の消失がみられた。しかし、培養12時間から上皮細胞内に微絨毛を持つ微小嚢胞が形成され、24時間で多細胞性の嚢胞の形成が見られた。この嚢胞の成熟に比例して、in vivoの家兎胆嚢粘膜にみられる種々の糖鎖(ダイズマメレクチン、コムギハイガレクチン、ドリコマメレクチンやルテニユウムレッドへの親和性)が発現し、免疫電顕による検討では、これらの糖鎖の親和性はゴルジ体や細胞膜、微絨毛にみられ、培養後の上皮細胞の細胞の極性の形成や獲得に糖鎖が重要な役割を演ずることが示唆された。

5. 今回の3年間の研究で、いくつかの肝胆道系疾患で、疾患特異的な血液関連糖鎖の発現や増強、消失が見い出された。特に、肝内胆管上皮の癌化、それに胆管系の発生過程での糖鎖関連抗原の変化は明瞭であった。しかし、炎症性胆道系疾患に関しては、量的、質的な違いはあっても、その糖鎖関連抗原の発現の違いは軽度であり、これらの糖鎖の違いは炎症に伴う二次的変化の可能性が示唆された。今後、病的肝、特に炎症性胆道系疾患での肝内胆管および付属腺上皮を区分別に分離し、コラーゲンゲル内で培養し、さらに培地中にサイトカインや粘液糖蛋白の分泌亢進物質等の種々の物質を加える等して、胆道系の病態と複合糖質発現との関連性を詳細に検討する必要があると考えられた。さらに、ヒト肝内胆管癌は症例数が少なく、癌化と糖鎖関連抗原の検索には、動物実験を用いた検討も必要と考えられた。