前立腺組織における前立腺性酸性ホスファターゼ (PAP) の局在について

日本大学医学部泌尿器科学教室 遠藤 克則
(主任: 岸本 孝教授)

LOCALIZATION OF PROSTATIC ACID PHOSPHATASE IN THE PROSTATIC TISSUE

Katsunori Endo

Department of Urology Nihon University School of Medicine
(Director: Prof. T. Kishimoto)

Localization of prostatic acid phosphatase (PAP) in the prostatic tissue was observed by immunohistochemical techniques. Anti-PAP antibody was obtained from rabbits immunized with purified PAP that was derived from human ejaculate. Immunohistochemical techniques were carried out by direct and indirect immunoperoxidase methods.

In 20 cases of adenomatous prostate, positive reactions against PAP were recognized on glandular epithelial cells and luminal secretions. Positive materials were observed as granularfashioned matters in the cytoplasm of glandular epithelial cell and accumulated at the apical area of cell.

Localization of acid phosphatase (ACP) activity in the adenomatous prostatic tissue was also investigated by the conventional method of Gomori. The site of ACP by enzymatical reactions were the same as that by immunohistochemical findings. But stronger reactions were seen in the basal part of some glandular epithelial cells by Gomori's method. These findings were suggested to represent lysosomal ACP activity.

In 20 cases of prostatic cancer, localization of PAP was observed as granular-fashioned matters in cytoplasm of cancer cells but it differed to the findings of adenomatous tissue. Positive reactions were also detected in the tissue of primary as well as metastatic prostatic cancer fixed by formalin, embedded in paraffin. cancer grades were classified according to the method of Gaeta. These were compared with the pattern of PAP stains. The results were as follows:

In propotion to cancer grade, (1) PAP localization tended to lose its polarity in cancer cell especially at the apical area, (2) concentration of PAP varied increasingly from cell to cell, and (3) irregularity of PAP positive granule was depicted in terms of its size and shape in the cancer cell.

要旨: 前立腺組織における前立腺性酸性ホスファターゼ (PAP) の局在を, 免疫組織化学的手段にて観察した。ヒト精漿より得られた精製 PAP にて家兎を免疫し, 抗 PAP 血清を得た。免疫組織化学的手段として, 酵素抗体直接法および間接法を施行した。前立腺腺腫20症例において, 腺腔内分泌物および腺上皮細胞に PAP を認めた。腺上皮細胞では PAP は顆粒状を呈して存在し, 細胞頂部に集塊を形成する傾向があった。前立腺腺腫では, Gomori 法を施行し酸性ホスファターゼ (ACP) の活性を検出し, 局在を観察した。Gomori 法における ACP の局在は PAP の局在とほとんど同一部位であったが, 一部に Gomori 法において腺上皮細胞基底部に強い反応が認められた。ライソゾームにおける ACP 活性の影響によるものであろうと推測された。前立腺癌20症例において PAP は癌細胞の細胞質内に顆粒状を呈して存在したが, 腺腫における所見とは異った。ホルマリン固定, パラフィン包埋切片において, 前立腺癌原発巣, 転移巣とも PAP は認められた。癌の組織学的悪性度の分類は, Gaeta の方法に従っておこない, PAP の局在様式との比較を行った。前立腺癌の組織学的悪性度が増すに従い, 1) PAP の細胞頂部の集塊形成に代表される極性の減弱, 2) 個々の細胞間における PAP 含量のバラツキの増大, 3) 癌細胞内の PAP の顆粒の大小不同の傾向が認められた。

緒 言

前立腺組織には多量の酸性ホスファターゼ（以下 ACP と略す）が含有されており、精液中に分泌されていることはよく知られている¹⁾。血中 ACP は、前立腺癌においてはとくに浸潤や転移を生じると上昇し、前立腺癌の有力な示標となっている^{1)~3)}。近年、前立腺由来の ACP である前立腺性酸性ホスファターゼ（以下 PAP と略す）の抽出と精製が可能となり⁴⁾⁵⁾、従来の酵素学的測定法に加えて、抗 PAP 抗体を用いる PAP の測定が行なわれるようになってきた^{1)~3)5)}。一方、前立腺組織内の ACP の局在については Gomori 法⁶⁾などを用いた酵素組織化学的検討がなされているが⁷⁾⁸⁾、これは PAP を含めた全ての ACP の検索をしていると考えられ、さらに Gomori 法は通常のホルマリン固定の検体では施行できない。これに対し免疫組織学的方法を用いた PAP の検索は、通常のホルマリン固定の検体でも施行できるという利点を有している。本研究は、前立腺腺腫組織および前立腺癌組織における PAP の局在を酵素抗体法を用いて観察し、とくに、1) 前立腺腺腫組織における PAP の局在、2) 前立腺腺腫組織における PAP の局在と従来の Gomori 法⁶⁾における ACP の局在との比較、3) 前立腺癌組織における PAP の局在と組織学的悪性度との関連性、以上の3点について検討したものである。

材料と方法

1) 対象症例および組織

前立腺腺腫20症例、未治療前立腺癌20症例より生検

または手術（TUR は含まない）により得られた前立腺組織を用いた。前立腺腺腫は、全例被膜下摘出術で得られたものであり、前立腺癌は、被膜下摘出術（腺腫に癌が合併、1例）、経直腸生検術（16例）、リンパ節生検術（4例）、および前立腺全摘術（4例）で得られたものである。組織の固定方法は、通常の10%緩衝ホルマリン液による固定の他に、0.5%グルタルアルデヒド加ザンボン液にて3時間から24時間固定後、アルコール又はアセトンにて脱水、パラフィン包埋し、4 μ に薄切して使用した。病理組織学的前立腺癌悪性度の分析は、Gaeta et al.⁹⁾の方法にておこなった。

2) PAP の純化

Pontes ら⁴⁾、および Lee ら⁵⁾の方法を用いてヒト精漿より PAP の精製を行なった。すなわち、ヒト精漿50 ml を3,000rpm で20分間遠沈し、得られた上清を硫酸塩析法による40~75%飽和分画沈殿物を0.01M Phosphate Buffer pH 7.2 (PBS) にて再溶解し、PBS にて透析して粗 PAP 分画を得た。この粗 PAP 分画を column chromatography によりさらに精製した。Chromatography 法は、1) Sephadex G-200 column (2.5 $\times$ 96cm) ゲル濾過法で、緩衝液は PBS とし、流速 20ml/hr にて3ml 分画とした。各分画の蛋白は、吸光度 O.D. 280nm で測定し、ACP 活性は、Kind-King 法（ヤトロニキット）にて測定した。図1に示した。PAP の豊富な分画を集め、次のカラムの緩衝液にて透析し濃縮した。次に、2) Con A Sepharose-4B column (2 $\times$ 40cm) で、はじめ緩衝液は、1mM の CaCl₂, MgCl₂,

図1 Sephadex G-200 column

MnCl₂を含む pH 5.0, 0.1M の酢酸緩衝液とし、カラムに検体を入れた後に、24時間 incubation した。Con A に附着しない蛋白をまず流出し、Con A に結合する PAP や他の糖蛋白を α -methyl-D-mannopyranoside を酢酸緩衝液に 0.1M から 0.5M までの直線勾配にて添加して溶出した。流速 40ml/hr で 3ml の分画とした。蛋白、ACP 活性を測定した。図 2 に示した。PAP の豊富な分画を集め、0.02M, pH 7.0 のリン酸緩衝液にて透析し、濃縮した。次に、3) DEAE-cellulose column (2×46cm) で、緩衝液は 0.02M, pH 7.0 のリン酸緩衝液とし、検体をカラムに充填後に緩衝液に、0 から 0.5

M の NaCl を直線勾配にて添加する事により pH 7.0 から pH 6.0 に変化させながら流出した。流速は 30ml/hr で 3ml の分画とした。蛋白、ACP 活性を測定した。図 3 に示した。PAP の豊富な分画を集め 0.01M, pH 6.0 蔞酸緩衝液にて透析し、濃縮した。次に、4) Sephadex G-100 column (2.5×96cm) ゲル濾過法で、緩衝液は 0.01M, pH 6.0 の蔞酸緩衝液とし、流速 20ml/hr で、3ml の分画とした。蛋白、ACP 活性を測定した。図 4 に示した。PAP の豊富な分画を集め濃縮した。蛋白濃度を Bio-Rad Protein Assay にて測定し、また ACP 活性を測定し、mg 当りの ACP 活性を求めた。得

図 2 Con A Sepharose 4B column

図 3 DEAE-cellulose column

図4 Sephadex G-100 column

られた PAP は、蛋白総量として 25mg, ACP 活性として 1,100 King-Armstrong 単位/mg であった。得られた PAP の純度は Disc 電気泳動法で検査した。アミノブラックで蛋白染色を行なうと、バンドは 1 本であったが、sodium α -naphtyl acid phosphatase および fast garnet GBC を用いた酸性ホスファターゼ染色¹⁰⁾では、蛋白染色と一致して 2 本のバンドがみられた (Fig. 1)。

3) 抗 PAP 抗血清の作製

精製した PAP (2mg/ml) を用いて 2mg の PAP と等量の complete Freund's adjuvant と乳濁化し 2kg の家兎に初回 foot pad で免疫し、以後 2 週間隔で背部

皮下に 2 回追加免疫して得た。作製した抗 PAP 血清を免疫電気泳動でチェックした。精漿、前立腺腺腫ホモジネイト上清、および前立腺癌ホモジネイト上清に対して沈降線は各々 2 本認められた (Fig. 2)。そこで Barbitol buffer pH 8.6 で室温 48 時間透析した精漿と 2 M glycine-NaOH buffer pH 9.2 で室温 24 時間透析後アセトン抽出した前立腺腺腫ホモジネイト、および女性血清にて抗 PAP 血清の吸収を行なった。吸収後の抗 PAP 血清では、免疫電気泳動による沈降線は 1 本となり (Fig. 3)、この抗血清を以下の免疫組織化学に用いた。

4) 酵素抗体法¹¹⁾

酵素抗体法直接法では、得られた家兎抗 PAP 血清

Fig. 1 Disc 電気泳動法、蛋白染色 (右) では、バンドは 1 本であるが、酸性ホスファターゼ染色 (左) では、バンドは 2 本認められる。

Fig. 2 免疫電気泳動法、吸収操作前では抗 PAP 血清は精漿、前立腺腺腫および癌ホモジネイト上清に対し、沈降線を各々 2 本認める。

Fig. 3 免疫電気泳動法, 吸収操作後では抗 PAP 血清は精漿, 前立腺腺腫および癌ホモジネイト上清に対し, 沈降線を各々 1 本のみ認める。

を IgG 分画に精製し, この IgG をペプシン消化法¹¹⁾にて (Fab')₂ に切断し, Nakane and Kawaoi 法¹¹⁾, または Periodate 法¹²⁾にて Horseradish peroxidase (HRP) を標識した。酵素抗体間接法では, 抗 PAP 血清反応後に, HRP 標識山羊抗ウサギ IgG を反応させた。HRP の反応基質は 4-Cl-1 naphthol を用いた。酵素抗体法の染色法は表 1 のごとく施行した。対照として吸収試験を行なった。すなわち直接法にては, 先に HRP 未標識抗 PAP 血清を反応させた後に直接法を施行した。間接法では, 精製 PAP にて抗 PAP 血清を吸収し, その抗血清を一次抗体として間接法を施行し

表 1 酵素抗体法

パラフィン切片 (4 μm に薄切)	
↓	
脱パラフィン	
↓	
洗 浄	↓
(直接法)	↓ (間接法)
↓	↓
HRP-抗 PAP 血清	抗 PAP 血清
室温にて 30' 反応	室温にて 30' 反応
↓	↓
洗 浄	洗 浄
↓	↓
4-Cl-1 naphthol にて反応	HRP-山羊抗ウサギ IgG
↓	室温にて 30' 反応
洗 浄	洗 浄
↓	
鏡 検	洗浄は pH 7.2 0.1M phosphate saline buffer または 0.1M pH 7.4 Cacodylate buffer にて施行した。

表 2 Gomori 法反応液

1. 硝酸鉛 P6 (NO ₃) ₂	3mM
2. 蔗 糖	8 %
3. 0.05M 酢酸緩衝液	45.5mM
4. β-グリセロリン酸ソーダ溶液	10mM

た, またさらに, 肝, 腎, 腎腫瘍, 精囊の組織にて同様に PAP を検索した。

5) Gomori 法⁶⁾

組織における ACP 活性の検出は Gomori 法にて行なった。反応液は表 2 のごとく作製し, 最終 pH は 5.0 に調整して施行し, 反応時間は 1 時間とした。発色は 1 % 黄色硫化アムモニウム液を用いた。対照としては, 基質ぬき溶液を用いた。酵素抗体法における PAP の局在との比較は, 酵素抗体法を施行した同一切片にて Gomori 法を行った。

結 果

1) 前立腺腺腫組織における PAP の局在

前立腺腺腫には多数の腺腔があり, 腺腔内にはともに Corpora Amylacea を認める。腺上皮は 2 種の細胞より形成され, 基底膜に接して平坦な横に広い基底細胞と, 円柱状に発達した明るい胞体を有し円形の核をもつ腺細胞よりなる。腺腔内分泌物と腺細胞に PAP は認められ, 基底細胞と間質には認められなかった。Fig. 4 は直接法, Fig. 5 は間接法の PAP の局在を示している。これらにみられるように, PAP は腺上皮細胞において細胞質内に顆粒状を呈して存在し, 核は陰性であった。また, PAP は腺上皮細胞の頂部に集塊を形成する傾向が認められた。全体的には, 個々の細胞間における PAP 含量はほぼ均一であったが, 一部においては, PAP が細胞頂部や基底部あるいは核の周囲の

Fig. 4 酵素抗体直接法, 前立腺腺腫 (×400) 腺腔内分泌物と腺上皮細胞に PAP を認める。

Fig. 5 酵素抗体間接法, 前立腺腺腫(×800)腺上皮細胞の細胞質に PAP は顆粒状を呈して存在する。

みに偏在したり, ほとんど含有しない腺上皮細胞も認められた。酵素抗体直接法と間接法との比較では, 間接法に比して直接法は反応が弱い, PAP はより細かな顆粒として細胞質内に認められた (Fig. 4)。対照としての吸収試験では, 直接法と間接法とも前立腺組織において反応の著しい減弱を認めた (Fig. 6)。一方, 肝, 腎, 腎腫瘍, 精囊の組織において, 酵素抗体法による PAP は全く陽性反応は認められなかった。

2) 前立腺腺腫組織における PAP の局在と従来の Gomori 法における ACP の局在との比較

前立腺腺腫における Gomori 法による ACP の局在は, 分泌物および腺上皮細胞に反応産物が認められ, 間質は陰性であった。腺上皮細胞では, 細胞質内に反応産物は認められるが, 核は陰性であった。さらに腺上皮細胞頂部では, 強い反応が塊状に認められ, 一部基底部分においても強い反応が認められた (Fig. 7)。酵素抗体法における PAP の局在と Gomori 法における

Fig. 7 Gomori 法, 前立腺腺腫(×400)腺上皮細胞および腺腔内分泌物に反応産物の沈着を認める。細胞基底部分にも強い反応が認められる。

Fig. 8 酵素抗体直接法, 前立腺腺腫(×400) Fig. 7 と同一切片, 同一部位での PAP の局在を示している。

Fig. 6 酵素抗体間接法, 吸収試験(×200)精製 PAP にて抗 PAP 血清を吸収しその抗血清を一次抗体として前立腺腺腫で反応をみた。反応は著しく減弱している。

ACP の局在を同一切片上で比較すると (Fig. 7, Fig. 8), ほぼ同一部位に反応が認められた。しかし, 一部の腺上皮細胞の基底部分において Gomori 法の反応産物が酵素抗体法に比して強く認められた。Gomori 法の対照では反応は認められなかった。

3) 前立腺癌組織における PAP の局在と組織学的悪性度との関連性

対象とした前立腺癌20症例において Gaeta et al.⁹⁾の方法にて行なった grade 分類では, grade-1: 1例, grade-2: 4例, grade-3: 11例, grade-4: 4例であり, 全例において PAP の局在が認められた。PAP は原発病巣, 転移病巣とも認められ, 癌細胞の細胞質内に顆粒状を呈して存在した。核は陰性であった。一般に, 前立腺腺腫組織に比して, 癌組織においては PAP に対する陽性反応は弱かった。また腺腫組織においては PAP は比較的一様な局在様式を示したのに対し, 癌組

織においては癌の grade により PAP の局在様式に差を認めた。

Grade-1は Fig. 9に示した。癌細胞に囲まれた腺腔が多数認められ、個々の腺腔は密に隣接し、核はほぼ円形で細胞基底部に近くに位置している。PAP はすべての癌細胞の細胞質に認められるが、個々の細胞間において PAP の含量の差は余り認められなかった。癌細胞内 PAP の極性に関して、細胞頂部に PAP の集塊形成を認めるが、腺腫組織に比すれば減弱している。一方、核の周囲や細胞基底部に PAP が偏在し、極性をなくしている細胞もあるが、その数は少ない。

Grade-2では Fig. 10のごとく不規則な腺腔形成が認められ、間質への浸潤がみられた。癌細胞の PAP の極性に関して、細胞頂部における PAP の集塊形成は

少く、核周囲や細胞基底部に PAP が偏在する細胞が多く存在する。個々の癌細胞間における PAP の含量のバラツキは grade-1 (Fig. 9) と比較すると多くなっていた。

Grade-3 (Fig. 11)は、癌細胞の集塊中に未熟な腺腔形成が認められる。腺腔形成部においても、細胞頂部における PAP の集塊形成は全く認められない。個々の癌細胞間における PAP 含量のバラツキも grade-2 (Fig. 10)と比較して著しく、また細胞質内 PAP 陽性を示す顆粒に大小不同が認められた。

Grade-4を Fig. 12に示す。癌組織中に腺腔形成をまったく認めず、個々の癌細胞間における PAP の含量のバラツキは最も著しい。そして細胞質内の PAP 陽性顆粒の大小不同も grade-3 (Fig. 11) より多く、

Fig. 9 酵素抗体直接法, 前立腺癌 Grade-1 (×200)
腺腔面の細胞頂部には PAP の集塊形成が認められる。

Fig. 10 酵素抗体直接法, 前立腺癌 Grade-2 (×200)
各々の癌細胞において PAP の含量にバラツキが認められる。腺腔面における PAP の集塊形成はあきらかに減弱しており、癌細胞の基底部や核周囲に PAP が偏在する。

Fig. 11 酵素抗体直接法, 前立腺癌 Grade-3 (×400)
PAP は顆粒状を呈して存在するが、腺腔面細胞頂部における PAP の集塊形成はほとんど認めていない。

Fig. 12 酵素抗体直接法, 前立腺癌 Grade-4 (×400)
癌細胞間における PAP 含量のバラツキは著しい。細胞質全体が PAP で充満されている癌細胞も認められる。(矢印の細胞)

Fig. 13 H.E. 染色, 前立腺癌 Grade-4 (×400) Fig. 12と同一切片, 同一部位における H.E. 染色で, 矢印の細胞は Fig. 13における矢印の細胞と同一細胞である。癌細胞における PAP の含量と H.E. 染色における染色性とは関連が認められない。

とくに細胞質全体が PAP に濃染される癌細胞も認められた (矢印の細胞)。

前立腺癌における grade と PAP の局在様式の関連は, grade が進行するにしたがい, 細胞頂部の PAP の集塊形成に代表される PAP の極性の減弱, 個々の癌細胞間における PAP の含量のバラツキの増大, および PAP 陽性を示す顆粒の大小不同が著明となった。

Fig. 13は Fig. 12と同一切片, 同一部位の H.E. 染色である。Fig. 12において癌細胞は個々の細胞間において PAP の含量に著しい差を示すが, Fig. 13において癌細胞の細胞質は淡明, エオジン好性など雑多な細胞が認められた。しかしながら Fig. 12と Fig. 13を比較しても (矢印の細胞は同一の細胞である), 両者は全く一致せず, PAP を多く持った癌細胞と H.E. 染色における細胞質の染色性とは相関がなかった。

考 察

前立腺性酸性ホスファターゼ (PAP) は, 前立腺腺組織あるいは精漿より抽出精製され, 分子量は約 100,000で dimer protein と考えられている¹⁾。

PAP に対する抗 PAP 血清の特異性は最も重要な問題である。前立腺組織より PAP を抽出精製した場合は, PAP 以外の前立腺組織抗原の混入の可能性がある, また精漿より PAP を抽出精製した場合は, 精囊液やその他の臓器からの分泌物の混入の可能性がある。それらの抗原をもちいて抗血清を作製すると, 抗血清も当然 PAP 以外の抗原に対する抗体を含むため, それらを除去するのに吸収操作を必要とする¹³⁾。本研究で使用した抗 PAP 血清は, 精漿より抽出精製を行

なった PAP を用いて作製した。得られた抗血清に種々の吸収操作を加えた。吸収後の抗血清では免疫電気泳動法にて, 精漿, 前立腺腺腫および癌抽出液に対して各々 1 本の沈降線を生じること, 免疫組織学的に前立腺上皮細胞に特異的に染まり, 肝, 腎, 腎腫瘍, 特に精囊に対して陽性反応をまったく認めないことより, この抗血清が PAP に特異的な抗体であると判断した。しかしながら, Li ら¹⁴⁾, Yam ら¹⁵⁾は, 抗 PAP 血清によって前立腺以外の組織にも陽性反応が認められたと報告している。それ故に, 本研究にて今回使用した抗 PAP 血清においても PAP 様物質との交叉反応性を完全に否定することはできない。

前立腺腺腫において, Pontes⁴⁾, Burns¹⁶⁾, Aumüller¹⁷⁾らが腺上皮細胞に PAP の局在を認め, 細胞頂部に集塊状に PAP が存在すると報告している。本研究でも同様の結果であり, また腺上皮細胞の細胞質内において PAP を顆粒状に認めたが, 一方では細胞質内にびまん性に PAP が局在するという報告¹⁸⁾もある。この染色性の違いは, PAP を抽出精製とした原料の違いによるものか, 免疫組織学的手段の違いによるものかは不明である。

酵素抗体直接法と間接法を用いたが, 直接法の方が間接法より反応は弱い, より細かな顆粒状に PAP が認められた。細胞内のより細かな情報を得るためには, 間接法より直接法の方が適しているものと考えられた。

酵素活性を利用した Gomori⁶⁾法は, PAP を含めたすべての ACP を検出する。ゆえに Gomori 法は, 前立腺以外の臓器にも陽性反応が認められる。これに対し酵素抗体法¹¹⁾は, 抗原抗体反応を利用して PAP を検出する方法であり, 今回用いた抗 PAP 血清では, 前立腺以外の臓器では陽性反応は認められなかった。本研究では, 前立腺腺腫において Gomori 法による ACP および酵素抗体法による PAP の染色部位は, ほとんど同じとの結果をえたが, Gomori 法において腺上皮細胞の基底部の一部に酵素抗体法より強い反応が認められた部位もあった。この現象は以下のごとく考える。前立腺腺腫の腺上皮細胞基底部には, ライソゾームが豊富でありライソゾームにおける ACP と細胞頂部における分泌型の ACP とは異なる¹⁹⁾²⁰⁾と言われている。本研究で細胞基底部に, Gomori 法にて酵素抗体法より強い反応が認められたのは, ライソゾームの ACP 活性の影響であると推測した。

前立腺癌においては, 治療方針の決定や予後の判定

には, stage²¹⁾と grade²²⁾が重要な因子であり, 血中の PAP の測定は, 前立腺癌の早期発見, 治療経過のマーカー, 病巣の広がりなど¹⁾の有力な手がかりとなっている。

前立腺癌における PAP の局在は, 原発巣, 転移巣にかかわらずすべて認められている^{14)17)18)23)~25)}。とくに転移巣における PAP の局在は, 原発巣不明癌の鑑別診断には有力である¹⁴⁾²⁵⁾。前立腺癌と前立腺腺腫とを比較した場合, 癌組織中の ACP 含量が低下していることは, 生化学的にも組織化学的にもすでに報告¹⁸⁾²⁶⁾され, 本研究においても腺腫組織より癌組織の方が一般的に PAP の陽性反応が弱い。しかし一部の癌細胞においては, 細胞質全体が PAP に強く濃染される場合も認められた。それ故かならずしも全ての癌細胞における PAP の含量が腺腫の細胞に比して低下しているのではない。

前立腺癌の組織型と PAP の局在に関する報告^{17)18)23)~25)27)}は, 主として PAP の染色の強さと組織型との関連につき述べられているが, さまざまな意見に別れている。しかし PAP の組織における染色の強さは, 組織の固定をはじめとする種々の条件によって異なるとの報告²³⁾もあり, 著者も同意見であるため, 本研究では癌の分化度と PAP の染色の強さの相関は論じていない。癌組織内 PAP の局在様式と癌の組織型との比較についてのみ考察した。その結果, 前立腺癌の grade が進行するに従い, 1) 癌細胞頂部の PAP の集塊形成に代表される PAP の極性の減弱, 2) 個々の癌細胞間における PAP 含量のバラツキの増大, 3) PAP 陽性を示す顆粒の大小不同が認められた。この所見は癌の分化度と癌組織内 PAP の局在様式が相関することを示し, 高分化型の癌では PAP の局在様式は比較的前立腺本来の姿を保ち, 低分化型の癌においては癌の組織構築の乱れと細胞異型性の増大を反映し, PAP の局在も乱れ, 細胞によってさまざまな状態を示すようになると考えられる。また逆に, 癌における PAP の局在を知ることは, 癌の分化度を知る一つの指標になり得るものと信じる。

結 語

前立腺組織における PAP の局在を酵素抗体法を用いて検索した。

1) 前立腺腺腫における PAP の局在は, 腺腔内分泌物および腺上皮細胞に PAP を認めた。腺上皮細胞では顆粒状を呈して PAP は局在し, 細胞頂部に集塊を形成する傾向があった。

2) 前立腺腺腫における PAP の局在と従来の Gomori 法における PAP の局在との比較では, ほとんど同じ部位に反応産物を認めたが, 一部の細胞の基底部では, Gomori 法で酵素抗体法より若干強い反応を認めた。

3) 前立腺癌組織における PAP の局在と組織学的悪性度との関連性については, PAP は原発巣, 転移巣共に認められ, 癌細胞質内に顆粒状を呈して局在した。癌の grade が進行するに従い, 細胞頂部の集塊形成に代表される PAP の極性の減弱, 個々の癌細胞間における PAP の含量のバラツキの増大, および PAP 陽性を示す顆粒の大小不同が著明となった。

本論文の要旨は, 第70回日本泌尿器学会総会にて発表した。

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜った恩師岸本孝教授に深甚なる感謝の意を表します。また直接の御指導を頂いた岡田清己助教授, 北島清彰講師に深謝するとともに, 御協力をいただいた佐藤安男博士ならびに教職員各位に感謝します。

文 献

- 1) Romas, N.A., Rose, N.R. and Tannenbaum, M.: Acid phosphatase, New developments. Hum. Pathol., 10, 501—512, 1979.
- 2) Bruce, A.W., Mahan, D.E., Morales, A., Clark, A.F. and Belville, W.D.: An Objective look at acid phosphatase determinations. Brit. J. Urol., 51, 213—217, 1979.
- 3) Murphy, G.P., Karr, J. and Chu, T.M.: Prostatic acid phosphatase: Where are we? Ca. A. Cancer J. Clinic., 28, 258—264, 1978.
- 4) Pontes, J.E., Choe, B., Rose, N. and Pierce, J. M. Jr.: Indirect immunofluorescence for identification of prostatic epithelial cell. J. Urol., 117, 459—463, 1977.
- 5) Lee, C.I., Wang, M.C., Murphy, G.P. and Chu, T. M.: A solidphase fluorescent immunoassay for human prostatic acid phosphatase. Cancer Res., 38, 2871—2878, 1978.
- 6) 横山正夫: Acid phosphatase, Alkaline phosphatase 組織細胞化学, 1980, 40—69, 学際企画, 1975.
- 7) 岡田清己: 前立腺のフォスファターゼ活性に関する細胞化学。基礎的研究と臨床応用。臨泌, 29, 841—844, 1975.
- 8) Brandes, D. and Bovrue, G.H.: Histochemistry of the human prostate; normal and neoplastic. J. Path. Bact., LXXI, 33—36, 1956.
- 9) Gaeta, J.F.: Glandular profiles and cellular payyerns in prostatic cancer grading:

- National prostatic cancer project system. *Suppl. Urol.*, 17, 33—37, 1981.
- 10) Paris, V.M., Mongold, A.W. and Mahoney, S. A.: Fractionation and purification of prostatic acid phosphatase. *Invest. Urol.*, 12, 13—16, 1979.
 - 11) 川生 明：酵素抗体法の基礎的技術。組織細胞化学, 1980, 183—201, 学際企画, 1979.
 - 12) Boorsma, D.H. and Streefkerk, J.G.: Periodate or glutaraldehyde for preparing periodate conjugates? *J. Immun. Meth.*, 30, 245—255, 1979.
 - 13) 浜島義博, 安田健二郎：抗体グロブリンの標識と精製。蛍光抗体法・酵素抗体法, 第1版, 16—25, 医学書院, 東京, 1974.
 - 14) Li, C.Y., Lam, W.K.W. and Yam, L.T.: Immunohistochemical diagnosis of prostatic cancer with metastasis. *Cancer*, 46, 706—712, 1980.
 - 15) Yam, L.T., Janckila, A.J., Li, C.Y. and Lam, W. K.W.: Presence of "Prostatic" acid phosphatase in human neutrophils. *Inv. Urol.*, 19, 34—38, 1981.
 - 16) Burns, J.: Prostatic acid phosphatase in tissue sections revealed by the unlabelled antibody peroxidase-antiperoxidase method. *Biomedicine*, 27, 7—10, 1977.
 - 17) Aumüller, G., Poh, I.C., von Etten, R.L. and Seitz, J.: Immunohistochemistry of acid phosphatase in the human prostate; normal and pathologic. *Virchow Archiv. B.*, 35, 249—262, 1981.
 - 18) 吉田正林, 三木 誠：前立腺の酸性ファ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.
 - 19) Serrano, J.A., Wasserkrug, H.L., Serrano, A.A., Paul, B.D. and Seligman, A.M.: The histochemical demonstration of human prostatic acid phosphatase with phosphorylcholine. *Invest. Urol.*, 15, 123—136, 1981.
 - 20) Seitz, J. and Aumüller, G.: Cytochemistry and biochemistry of acid phosphatases of the rat ventral prostate. *Bas. Appl. Histochem.*, 25, 95—104, 1981.
 - 21) Zincke, H., Fleming, T.R., Furlow, W.L., Myers, R.P. and Utz, D.C.: Radical retropubic prostatectomy and pelvic lymphadenectomy for highstage cancer of the prostate. *Cancer*, 47, 1901—1910, 1981.
 - 22) Mostofi, F.K.: Grading of prostatic cancer. *Cancer Chemotherapy Reports Part I*, 57, 111—117, 1975.
 - 23) Nadj, M., Tabei, S.Z., Castro, A., Chu, T.M. and Morales, A.R.: Prostatic origine of tumors. *Am. J. Clin. Pathol.*, 73, 735—739, 1980.
 - 24) Jobis, A.C., Devries, G.P., Anholt, R.R.H. and Sander, G.T.B.: Demonstration of the prostatic origin of metastasis. *Cancer*, 41, 1788—1793, 1980.
 - 25) Yam, L.T., Janckila, A.J., Lam, W.K.W. and Li, C.Y.: Immunohistochemistry of prostatic acid phosphatase. *Prostate*, 2, 97—107, 1981.
 - 26) Müntzing, J. and Nilsson, T.: Enzyme activity and distribution in hyperplastic and cancerous human prostate. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 6, 107—111, 1972.
 - 27) Pontes, J.E., Rose, N.R., Ercol, C. and Pierce, J.M.: Immunofluorescence for prostatic acid phosphatase, clinical applications. *J. Urol.*, 126, 187—189, 1981.

(1984年6月28日受付, 特別掲載)