デスモゾーム関連34kD 蛋白を認識するモノクローナル抗体の作製 と膀胱移行上皮癌の悪性度に関する免疫組織学的検討

1) 神戸大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 守殿貞夫教授)

2) 国立神戸病院病理部

3) 神戸大学医学部第二病理学教室 (主任: 前田 盛教授)

武中 篤¹⁾³⁾ 北沢 莊平²⁾ 小山 隆司³⁾ 藤盛 孝博³⁾
後藤 章暢¹⁾³⁾ 郷司 和男¹⁾ 前田 盛³⁾ 守殿 貞夫¹⁾

MONOCLONAL ANTIBODY TO DESMOSOME ASSOCIATED 34kD PROTEIN AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY IN RELATION TO THE MALIGNANCY OF TRANSITIONAL CELL CARCINOMAS OF URINARY BLADDER

Atushi Takenaka¹⁾³⁾, Sohei Kitazawa²⁾, Takashi Koyama³⁾, Takahiro Fujimori³⁾,
Akinobu Gotoh¹⁾³⁾, Kazuo Gohji¹⁾, Sakan Maeda³⁾ and Sadao Kamidono¹⁾

1) Department of Urology, Kobe University School of Medicine
(Director: Prof. Sadao Kamidono)

2) Laboratory of Pathology, Kobe National Hospital

3) 2nd Department of Pathology, Kobe University School of Medicine
(Director: Prof. Sakan Maeda)

A mouse monoclonal IgG1 antibody (B-11) that recognizes desmosomes in some human tissues was isolated and characterized. By Western blotting, B-11 recognized 34 kD protein only in squamous and transitional epithelium. By avidin-biotin complex (ABC) and immunofluorescence method, B-11 was reactive to squamous and transitional epithelium, but was not reactive to simple columnar epithelium from stomach and colon, simple cuboidal epithelium from urinary tubule and thyroid, and pseudostratified ciliated epithelium from trachea and ductus epididymidis.

ABC method of B-11 was performed in 47 patients with transitional cell carcinoma of bladder. The higher positive staining was observed in well differentiated (83% in Grade (G) 1, 73% in G2 and 20% in G3), superficial (76% in non-invasive and 20% in invasive) and expansive growth (68% in Infiltration (INF) α , 24% in INF β and 18% in INF γ) carcinomas.

34 kD protein recognized by a new monoclonal antibody (B-11) is a new cell-type-specific desmosomal component which relates to the histological grade, stage and invasive manner of the transitional cell carcinoma of bladder.

The transitional cell carcinoma of bladder obtained by operation or surgical biopsy from 47 patients was stained by ABC method using B-11.

Key words: transitional cell carcinoma of bladder, desmosome, monoclonal antibody

要旨: 抗デスモゾーム抗体 B-11 を作製し, その認識抗原の形態学的および生化学的解析を行うとともに, 膀胱癌における組織学的分化度との相関を免疫組織学的に検討した。

BALB/c nu/nu マウスに移植継代していたヒト食道扁平上皮癌を, BALB/c マウスに免疫し B-11 を得た。B-11 は IgG1 抗体で, Western blot 法で 34kD 蛋白を認識し, ABC 法, 蛍光抗体法および免疫電顕で, 正常扁平上皮, 移行上皮およびそれらの癌のデスモゾームのみを特異的に認識し, 従来報告されている抗デスモゾーム抗体とは異なるものと思われた。

ついでこの B-11 を用い, 47 例の膀胱移行上皮癌について ABC 法による免疫組織染色を行った。その

結果 B-11陽性率は、組織学的異型度別では、Grade 1および2がそれぞれ5/6 (83%) および8/11 (73%) と、Grade 3の6/30 (20%) に比べ高く、組織学的浸潤度別では、非浸潤癌が13/17 (76%) と浸潤癌の6/20 (20%) に比べ高率で、組織学的浸潤様式別では、 $\text{INF}\alpha$ が13/19 (68%) と $\text{INF}\beta$ および γ の4/17 (24%) および2/11 (18%) に比べ高率であった。

B-11抗体による免疫組織学的検討は、膀胱移行上皮癌の有用な分化度の指標となり得ることが示唆された。

キーワード：膀胱移行上皮癌，デスモゾーム，モノクローナル抗体

緒 言

デスモゾームは、広く上皮細胞に存在する細胞間接着装置で、種々の癌細胞におけるその分布と浸潤様式および転移との関連性が報告されている^{1)~3)}。膀胱移行上皮癌においても、その浸潤様式とデスモゾーム数との相関について電顕的に検討がなされ、浸潤癌でその数が有意に減少することが報告されている⁴⁾。

一方、デスモゾームは数種の蛋白より構成され、これらを認識するいくつかのモノクローナルおよびポリクローナル抗体が作製されている^{4)~7)}。これらの抗体が認識する抗原のほとんどは、すべての正常上皮のデスモゾームに存在し、さらにその癌組織においてもその分化度をとわず存在することが報告されている⁴⁾。

今回我々は、扁平上皮および移行上皮のデスモゾームを特異的に認識し、さらにホルマリン固定パラフィン切片標本でもこれらを認識するモノクローナル抗体、B-11を作製した。更に B-11が認識するデスモゾーム関連蛋白と、膀胱腫瘍の大部分を占める移行上皮癌の分化度との関係を免疫組織学的に検討した。

方 法

1. モノクローナル抗体の作製

BALB/c nu/nu マウスに移植継代していたヒト食道扁平上皮癌を摘出し、これに等量の phosphate lysis buffer (1% Triton, 0.1% SDS, 0.01M NaH_2PO_4 [pH 7.5], 0.1M NaCl) を加え、Polytron (Kinematica, F.R.G.) にて細胞を単離した。これに等量の Adjuvant complete Freund (Difco Lab., U.S.A.) を加え乳濁化したものを、BALB/c マウスの腹腔内に注入、免疫した。さらに1週間ごとに2回追加免疫 (Adjuvant incomplete Freund 使用) を行った。最終免疫後3日目に BALB/c マウスの脾細胞とマウスミエローマ細胞 P3/X63-Ag8. U1 を 8 : 1 の比率で混合し、50% ポリエチレングリコール (PEG, 4000, Merk, F.R.G.) にて細胞融合を行った。細胞融合後、96 well plate 中、HAT 培地で14日培養後、約2,000個のハイブリドーマ

を得た。

このハイブリドーマを ELISA 法で1次スクリーニング後、軟寒天コロニー形成法にて2回クローニングを行い、ついで2次スクリーニングとしブアン固定パラフィン包埋食道扁平上皮癌標本に対する免疫染色 (Avidin Biotin Complex method: ABC 法) を行い、細胞間隙に特異的に陽性所見を有するものを選別した。抗体のサブクラスは、Mouse monoclonal typing kit (ICN immuno Biologicals, U.K.) を用い決定した。

2. 抗原解析

1) 形態学的解析

a) ABC 法

ホルマリン固定後パラフィン包埋した各種の正常組織につき検討した。

すなわち、0.3% H_2O_2 / メタノールで10分、内因性ペルオキシダーゼ除去を行った後、正常馬血清で20分ブロッキングし、次いで10倍希釈ハイブリドーマ上清を30分、ビオチン化抗マウス Ig 血清を30分および ABC 溶液を30分反応させ、0.02% H_2O_2 , 1.0mg/ml DAB (3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) を10分間反応させ発色させた。

b) 蛍光抗体法

ホルマリン固定後パラフィン包埋した各種の正常組織につき検討した。5倍希釈ハイブリドーマ上清を30分、次いで FITC 標識抗マウス Ig 血清を30分反応させ、蛍光顕微鏡にて観察した。

c) 免疫電顕法 (Pre-embedding method)

経尿道的に採取された正常膀胱粘膜を約1mm 角とし、4% パラフォルムアルデヒド溶液 (0.1M phosphate buffer [pH 7.4], 8% sucrose) にて固定後、8 μ の凍結切片を作製し、光顕に準じて免疫染色を行った。ABC 溶液反応後、2% グルタルアルデヒドで20分、前固定し、1.0mg/ml DAB 単独溶液を15分、0.02% H_2O_2 加 DAB 溶液を5分反応させ、1% オスミウム溶

液 (0.1M phosphate buffer [pH 7.4]) にて1時間、後固定した。アルコール系列にて脱水後、Quetol-812, Dodecenyl succinic anhydride, Methyl nadic anhydride (以上日新 EM 社), DMP-30 (TAAB, U.K.) にてエポキシ樹脂包埋し、超薄切片を作製した。これをウラン単染色した後、JEM-1200EX 透過型電顕 (日本電子, 東京) にて観察した。

2) 生化学的解析

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) による Western blot 法を用い、分子量を決定した。すなわち、phosphate lysis buffer 中で、食道、膀胱および大腸粘膜を、Polytron, および Sonifier (Heat systems-ultrasonic, inc., U.S.A.) にて粉碎し、次いで等量の sample buffer (10% glycerol, 5 % β -mercaptoethanol, 2.3% SDS, 0.0625M Tris-HCl [pH 6.8], 0.001% bromphenolblue) を加えた。これに98℃, 3 分の高熱処理を施した。

これらを10%polyacrylamide gel にて、20mA, 約 3 時間泳動し、ついで Horizen blot (ATTO, 東京) にて Trans-Blot (BIO-RAD, U.S.A.) に2.0mA/cm², 1 時間通電し転写した。このフィルターに対し、5 倍希釈ハイブリドーマ上清を1次抗体とする ABC 法による免疫測定法を施行した。

3. 膀胱癌の免疫組織染色

1) 対象

昭和61年1月から63年6月迄に神戸大学泌尿器科を受診し治療した膀胱癌患者47例を対象とした。これらの年齢、性別、異型度、深達度および浸潤様式を表1に示す。組織型はすべて移行上皮癌であったが、症例18および症例41に扁平上皮癌、また症例30に腺癌が混在していた。深達度については、基底膜の破綻の有無で浸潤癌および非浸潤癌に分けた。

2) 判定方法

外科的に切除された標本を緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋後、ABC 法による免疫組織染色を行った。DAB 発色時間は10分間とした。判定は5カ所の腫瘍発育先進部周辺を選び陽性細胞数を数えその平均値を求め、50%以上を(+), 1%~49%を(±)および0%を(-)とした。

結 果

スクリーニングの結果、細胞間橋特異抗体を産生するハイブリドーマ B-11を得た。培養上清の B-11抗体は、IgG1抗体であった。

1. B-11抗体とヒト正常組織 (表2)

表 1 症例

症例	年齢	性別	異型度	深達度	浸潤様式	B-11との反応
1	59	♀	G 1	pTa	α	+
2	73	♂	G 1	pTa	α	+
3	32	♂	G 1	pTa	α	+
4	54	♂	G 1	pTa	α	+
5	84	♀	G 1	pTa	α	+
6	60	♂	G 1	pTa	α	-
7	83	♂	G 2	pTa	α	+
8	58	♂	G 2	pTa	α	+
9	59	♂	G 2	pTis	α	+
10	46	♂	G 2	pTa	α	+
11	85	♂	G 2	pTa	α	+
12	68	♂	G 2	pTa	α	+
13	86	♂	G 2	pTa	α	+
14	69	♂	G 2	pTa	α	+
15	72	♂	G 2	pTa	α	±
16	72	♀	G 2	pTa	α	±
17	73	♀	G 2	pTa	α	-
18	47	♂	G 3	pT3b	β	+
19	69	♂	G 3	pT1b	β	+
20	82	♂	G 3	pT3b	β	+
21	35	♂	G 3	pT3b	β	+
22	66	♂	G 3	pT3b	γ	+
23	77	♂	G 3	pT1a	β	+
24	74	♂	G 3	pT1a	β	±
25	78	♂	G 3	pT3a	γ	-
26	70	♂	G 3	pT3b	γ	-
27	75	♀	G 3	pT1a	β	-
28	87	♂	G 3	pT1b	γ	-
29	83	♀	G 3	pT1b	γ	-
30	69	♀	G 3	pT3b	γ	-
31	71	♂	G 3	pT 2	β	-
32	54	♂	G 3	pT1b	γ	-
33	68	♀	G 3	pT1b	β	-
34	73	♀	G 3	pT1b	β	-
35	71	♂	G 3	pT 2	β	-
36	67	♂	G 3	pT 2	γ	-
37	83	♂	G 3	pT1a	α	-
38	61	♀	G 3	pT3b	β	-
39	67	♀	G 3	pT 2	β	-
40	83	♂	G 3	pT3a	γ	-
41	71	♀	G 3	pT3a	β	-
42	39	♂	G 3	pT3b	γ	-
43	69	♂	G 3	pT1b	β	-
44	75	♀	G 3	pT3a	β	-
45	61	♂	G 3	pT1b	β	-
46	57	♂	G 3	pT1b	γ	-
47	73	♂	G 3	pT1a	α	-

表 2 正常組織と B-11

Tissue	Positive rate
Hematopoietic	
spleen	0/2
Muscle	
cardiac	0/2
Respiratory tract	
bronchi	0/2
lung	0/2
Gastrointestinal tract	
esophagus	5/5
stomach	0/6
colon	0/2
liver	0/1
gall bladder	0/2
Genitourinary tract	
kidney	
glomerulus	0/2
proximal & distal tubules	0/2
collecting ducts	0/2
urinary bladder	5/5
testis	0/2
epididymis	0/2
prostate	1/2
vagina	2/2
Endocrine system	
pancreas	0/2
thyroid	0/2
adrenal cortex	0/2
Nervous system	
brain	0/2
adrenal medulla	0/2

・：前立腺肥大症のため扁平上皮化生した部分。

a) ABC 法による反応

B-11は食道、腔 (図1) および膀胱上皮 (図2) の細胞間隙に陽性所見を呈し、特に食道および腔では有

図1 正常腔扁平上皮, B-11陽性(ABC法, 対物×20)

図2 正常膀胱移行上皮, B-11陽性(ABC法, 対物×20)

棘層に特異的に陽性で, 角化層に移行するにつれて陰性となった。また前立腺で, 扁平上皮化生を呈していた部位でも陽性所見を呈した(図3)。一方, 胃, 大腸などの単層円柱上皮, 腎尿細管, 甲状腺濾胞などの単層立方上皮および気管, 精巢上体管などの多列線毛上皮は陰性であった。

b) 蛍光抗体法による反応

B-11抗体は食道(図4), 腔および膀胱上皮(図5)の細胞間隙に陽性所見を呈した。その分布は, ABC法と同様であった。

c) 免疫電顕法による反応

B-11抗体は膀胱移行上皮の細胞間隙に存在するデスモゾームに特異的に反応した(図6)。

2. Western blot 法による抗原解析

ヒト食道扁平上皮および膀胱移行上皮で, 分子量34,000の部位に単一バンドを認めた。しかしヒト大腸粘膜ではこの部位にバンドを認めなかった。また3検

図3 正常前立腺単層円柱上皮(C)と扁平上皮化生(S), (C)はB-11陰性, (S)はB-11陽性(ABC法, 対物×20)

図4 正常食道扁平上皮, B-11陽性(蛍光抗体法, 対物×20)

図5 正常膀胱移行上皮, B-11陽性(蛍光抗体法, 対物×20)

図6 正常膀胱移行上皮に対する免疫電顕(×50,000).
↓: B-11と特異的に反応したデスモゾーム.

図7 B-11を用いたSDS-PAGEによるWestern blot 法. 1:サイズマーカー, 2:正常食道粘膜, 3:正常膀胱粘膜, 4:正常大腸粘膜, ←:内因性ビオチン

体とも分子量68,000付近に2本の内因性ビオチンのバンドを認めた(図7).

3. ABC法による膀胱移行上皮癌との反応

a) 膀胱移行上皮癌

47例のうち19例(44%)に陽性所見を認めた. 膀胱移行上皮癌におけるB-11陽性率と, 異型度, 深達度および浸潤様式との相関を表3, 4および5に示す. 組織学的異型度(Gと略す)別陽性率は, G1が5/6(83%), G2が8/11(73%)と, G3の6/30(20%)に比べ高率であった. 組織学的浸達度別陽性率は, 非浸潤癌が13/17(76%)と, 浸潤癌の6/30(20%)に比べ高率であっ

表3 組織学的異型度とB-11

判定 異型度	+	±	-	陽性率(%)
Grade 1	5	0	1	5/6 (83)
Grade 2	8	2	1	8/11 (73)
Grade 3	6	1	23	6/30 (20)
Total	19	3	25	19/47 (44)

表4 組織学的深達度とB-11

判定 深達度	+	±	-	陽性率(%)
non-invasive	13	2	2	13/17 (76)
invasive	6	1	23	6/30 (20)
Total	19	3	25	19/47 (44)

表5 組織学的浸潤様式とB-11

判定 INF	+	±	-	陽性率(%)
α	13	2	4	13/19 (68)
β	4	1	12	4/17 (24)
γ	2	0	9	2/11 (18)
Total	19	3	25	19/47 (44)

図8 症例7. B-11陽性(ABC法, 対物×20)

た. 組織学的浸潤様式(INFと略す)別陽性率は, INFαが13/19(68%)と, INFβ4/17(24%)およびINFγ2/11(18%)に比べ高率であった(図8, 9).

b) 扁平上皮癌および腺癌

膀胱癌47症例中, 2例に扁平上皮癌成分および1例に腺癌成分が混在していた. ABC法により前者2例はともに陽性(図10), 後者1例は陰性所見を呈した.

図9 症例26, B-11陰性 (ABC法, 対物×20)

図10 症例41, (扁平上皮癌成分) B-11陽性 (ABC法, 対物×20)

考 察

上皮細胞には, 細胞結合のための3種の特殊な構造が存在し, 超微形態的に desmosome (接着斑, デスモゾーム), zonula adherence (接着帯) および tight junction (癒着帯) と呼ばれている⁸⁾. これらのうち最も重要とされているのがデスモゾームである. 電顕的には, 相接する細胞膜が0.3~0.5 μ m にわたり25~35 nmの間隙を持ち, その中央に intercellular contact layer が見られ, 一方細胞質側には15~20nmの高電子密度の attachment plaque が存在し, この部位に tonofilament が集合している⁹⁾.

D.R. Garrod ら¹⁰⁾によれば, デスモゾームは4つの蛋白 (desmosomal proteins, dp) および4つの糖蛋白 (desmosomal glycoproteins, dg) から構成され, それぞれ dp1~4 および dg1~4 と呼ばれている. dp1 および dp2 は, 従来 desmoplakin I および desmoplakin II と呼ばれていたもので, tonofilament が attach-

ment plaque に集合する部位に局在し両者を結合する機能を有するとされている¹⁰⁾. また dp3 および dp4 は attachment plaque 自身を構成していると考えられている¹⁰⁾. 特に dp4 は扁平上皮, 移行上皮, 多列上皮およびそれらの癌組織のみにしか存在せず, 細胞の重層化に関与していると考えられている¹⁰⁾. dg1 は intercellular contact layer から attachment plaque にかけて広く存在し, 両者を結合する蛋白と考えられている¹⁰⁾. 他方, dg2 および dg3 は intercellular contact layer 自身を構成しており, 本来の接着能に関与していると考えられている¹⁰⁾. dg4 も intracellular contact layer の構成要素であるが, 詳細は不明である¹⁰⁾.

今回我々が作製した B-11 抗体の認識する34kD 蛋白は, 免疫組織染色や Western blot 法により, 食道や腔などの正常重層扁平上皮, 正常膀胱移行上皮およびそれらの癌組織のみに存在することが示され, 前述したいずれの構成蛋白とも異なることが示唆された. デスモゾーム構成蛋白に関する従来の研究方法は, ウシ鼻表皮等から種々の方法¹¹⁾¹²⁾によりデスモゾームを分離し, これを抗原とする抗体を作製することによって解析を行うというものであった. 今回我々は, デスモゾームを分離するという操作を行わず, 食道扁平上皮癌をそのまま BALB/c マウスに免疫することにより, これまで認識されなかった新しいデスモゾーム関連蛋白に対するモノクローナル抗体を得ることができた.

癌細胞におけるデスモゾーム数の検討は, すでに食道扁平上皮癌¹⁾, 膀胱移行上皮癌³⁾および子宮頸癌²⁾等で行われている. 食道扁平上皮癌では, 正常扁平上皮に比べ明らかにデスモゾーム数が減少し, さらに低分化でより浸潤性の増殖様式をとり転移を有する症例ほど減少していることから, 予後との相関も指摘されている¹⁾. 膀胱移行上皮癌では, 非浸潤癌のデスモゾーム数は正常移行上皮のそれに比べ増加しているが, 浸潤癌では正常移行上皮よりもむしろ減少していると報告されている³⁾.

しかし, 上皮性腫瘍ならばその分化度により多寡はあるものの, デスモゾームを有していることは当然のことである. それゆえ主要なデスモゾーム構成蛋白である dp1 や dg1 を認識するモノクローナル抗体を用いた免疫染色では, 各種上皮性腫瘍はその分化度にかかわらず全例陽性所見を呈しており, M.J. Vilela ら⁴⁾は, 膀胱癌症例において検討した40例全てに陽性所見が得られたと報告している. この事実は, これらの抗体が組織の上皮性由来を決定するマーカーとして有用であ

ることを示唆している。

一方、今回の B-11 抗体は膀胱移行上皮癌のうち高分化な非浸潤癌で比較的高率に陽性所見を呈し、低分化な浸潤癌で陰性所見を呈する傾向にあった。これは低分化癌になるにつれてデスモゾーム数が減少することも確かに一因ではあるが、我々はむしろデスモゾーム関連 34kD 蛋白そのものが量的に減少あるいは消失した結果と考えている。つまり低分化癌ではこの 34kD 蛋白を有さないか、あるいは僅かにしか有さないデスモゾームの存在が推定される。したがってこの 34kD 蛋白は膀胱移行上皮癌の分化に関連した蛋白であることが示唆され、B-11 抗体による免疫組織学的検討は膀胱移行上皮癌の分化度の有用な指標となり得ることが考えられた。

結 語

デスモゾーム関連蛋白に対するモノクローナル抗体 B-11 を作製し、抗原解析を行うとともに膀胱移行上皮癌における存在様式を免疫組織化学的に検討した。

1) 認識抗原は Western blot 法にて、34kD 蛋白であった。

2) この 34kD 蛋白は、正常な扁平上皮、移行上皮およびそれらの癌組織にのみ存在し、従来報告されているデスモゾーム構成蛋白と異なることが示唆された。

3) 膀胱移行上皮癌において、G1 および G2 で、また $\text{INF}\alpha$ の非浸潤癌で、高率に B-11 陽性所見を認め、34kD 蛋白は膀胱移行上皮癌の分化に関連する蛋白であることが示唆された。

本論文の要旨は第 27 回日本臨床細胞学会秋期大会（広島）および第 77 回日本泌尿器科学会総会（大阪）にて発表した。

稿を終えるにあたり電顕標本作成に御協力いただいた第二病理学教室新穂智子技師に御礼申し上げます。

文 献

- 1) 小山隆司：食道癌におけるデスモゾームと転移、浸潤様式に関する臨床的研究。日外会誌，90，1—10，1989。
- 2) Schindler, A.M., Amaudruz, M.A., Kocher, O., Riotton, G. and Gabbiani, G.: Desmosomes and gap junctions in various epidermoid preneoplastic lesions of the cervix uteri. *Acta Cutol.*, 26, 466—470, 1982.
- 3) Alroy, J., Pauli, B.U. and Weinstein, R.S.: Correlation between numbers of desmosomes and the aggressiveness of transitional cell carcinoma in human urinary bladder. *Cancer*, 47, 104—112, 1981.
- 4) Vilela, M.J., Parrish, E.P., Wright, D.H. and Garrod, D.R.: Monoclonal antibody to desmosomal glycoprotein 1-A new epithelial marker for diagnostic pathology. *J. Pathol.*, 153, 365—375, 1987.
- 5) Osborn, M. and Weber, L.: A monoclonal antibody recognizing desmosomes: Use in human pathology. *J. Invest. Derm.*, 85, 385—388, 1985.
- 6) Kapprell, H.P., Owaribe, K. and Franke, W.: Identification of a basic protein of Mr 75,000 as an accessory desmosomal plaque protein in stratified and complex epithelia. *J. Cell Biol.*, 106, 1679—1691, 1988.
- 7) Schmelz, M., Duden, R., Cowin, P. and Franke, W.W.: A constitutive transmembrane glycoprotein of Mr 165,000 (desmoglein) in epidermal and non-epidermal desmosomes. I. Biochemical identification of the polypeptide. *Europ. J. Cell Biol.*, 42, 177—183, 1986.
- 8) WHO 電子顕微鏡診断学研究研修センター編：医学・生物学研究のための電子顕微鏡学 II。第 1 版，p. 10—13，藤田企画，1987。
- 9) Miller, K., Matthey, D., Measures, H., Hopkins, C. and Garrod, D.: Localization of the protein and glycoprotein components of bovine nasal epithelial desmosomes by immunoelectron microscopy. *EMBO. J.*, 6, 885—889, 1987.
- 10) Garrod, D.R., Parrish, E.P. and Marston, J.E.: The structure of desmosomes and their role in malignant disease. *Biochem. Soc. Trans.*, 15, 802—804, 1987.
- 11) Skerrow, C.J. and Matoltsy, G.: Isolation of epidermal desmosomes. *J. Cell Biol.*, 63, 515—523, 1974.
- 12) Gorbsky, G. and Steinberg, M.S.: Isolation of the intercellular glycoproteins of desmosomes. *J. Cell Biol.*, 90, 243—248, 1981.

（1989年 7 月 19 日受理）