副甲状腺組織のレクチンの局在 —原発性副甲状腺機能亢進症症例の検討—

1) 東京大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 阿曾佳郎教授)

2) 東京大学医学部付属病院分院泌尿器科

土井 直人¹⁾ 森山 信男²⁾ 保坂 義男¹⁾

村橋 勲²⁾ 東原 英二¹⁾ 阿曾 佳郎¹⁾

LECTINS EXPRESSION OF PARATHYROID GLANDS WITH PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM

Naoto Doi¹⁾, Nobuo Moriyama²⁾, Yoshio Hosaka¹⁾, Isao Murahashi²⁾,
Eiji Higashihara¹⁾ and Yoshio Aso¹⁾

1) Department of Urology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan
(Chairman: Prof. Y. Aso)

2) Department of Urology, Branch Hospital, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan
(Chairman: Associate Prof. I. Murahashi)

The binding sites of lectins in parathyroid glands were determined by an immunohistochemical method in normal parathyroid gland, hyperplasia, adenoma and carcinoma. the used lectins were commercially available Glycine max (SBA), Concanavalina enciformis (Con A), Triticum vulgaris (WGA), Ricinus communis (RCA), Banderiaea simplicifolia II (BSA II) and Arachis hypogaea (PNA). For normal parathyroid glands (2 cases) and hyperplasia (2 cases), WGA and BSA II were stained in cytoplasm and cell membrane. For carcinoma (1 cases), all lectins but BSA II were positively stained. In particular, SBA revealed more stronger stain than any other histological types. From the staining patterns of lectins, it was suggested that adenomas (22 cases) be divided into one group similar to carcinoma and the others to normal parathyroid gland and hyperplasia. But there was no difference in clinical data of patients between the two groups.

Key words: primary hyperparathyroidism, lectin, histochemistry

要旨: 原発性副甲状腺機能亢進症と診断され摘出された副甲状腺においてレクチンの結合部位を免疫組織学的に検討した。レクチンとしては市販の Glycine Max (SBA), Concanavalina Enciformis (Con A), Triticum Vulgaris (WGA), Ricinus Communis (RCA), Banderiaea Simplicifolia II (BSA II), Arachis Hypogaea (PNA) を用いた。正常副甲状腺 (2 例) および過形成 (2 例) では, WGA, BSA II が胞体及び細胞膜に染まった。癌 (1 例) では BSA II 以外全てが陽性に染まり, 特に SBA は他の組織型よりも強染した。腺腫 (22 例) は, 各種レクチンの染色パターンの上から癌に類似する群と正常副甲状腺および過形成に類似する群に分けられる可能性が示唆された。しかし, この 2 群の副甲状腺腫患者の臨床データには有意差が認められなかった。

キーワード: 原発性副甲状腺機能亢進症, レクチン, 組織化学

緒 言

原発性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺は病理学的に腺腫, 過形成, 癌の 3 タイプがある。病理組織学的にこの 3 タイプの鑑別は容易でない¹⁾。

レクチンは特定の糖と特異的に結合する糖結合タン

パク質で, 細胞膜表面の Glycocalyx を構成する glycoprotein や polysaccharide の同定ならびに糖鎖の検出に用いられる²⁾。今回, 我々は各種レクチンを用いて原発性副甲状腺機能亢進症の各副甲状腺組織型で細胞膜や胞体の糖蛋白の相違, ならびにその染色態

度に特色があるか否かを検討した。

対象および方法

対象：対象は1977年から1989年までの13年間に東京大学泌尿器科学教室（本院，分院）にて原発性副甲状腺機能亢進症の診断で摘出された27症例の副甲状腺組織である。症例の内訳は正常副甲状腺2例，過形成2例，腺腫22例，癌1例であった。各症例の年齢，性別，術前及び術後の血清カルシウム値，無機リン値，摘出副甲状腺重量は表1に要約した。血中副甲状腺ホルモン値は測定可能でない時期の症例が含まれているため，今回は検討から除外した。腺腫は男性11例，女性11例で平均年齢は39.8±13.8歳であった。なお，正常副甲状腺組織は副甲状腺ホルモンが測定不可能な時期に，血清カルシウム値がやや高値を示し，一方リン値が低下していたため，原発性副甲状腺機能亢進症の疑いで試験的検索にてえられたものである。

方法：レクチンは市販の6種類のビオチン化レクチ

ン；Glycin Max (SBA)，Concanavalina Enciformis (Con A)，Triticum Vulgaris (WGA)，Richinus Communis (RCA)，Arachis Hypogaea (PNA)（以上 Vector 社），Banderiaea Simplicifolia II(BSA II)（Bio Science Products 社）を用いた。

免疫組織染色法は，Avidin-Biotin Complex 法を用いた。ホルマリン固定後のパラフィンプロックから5 μm の連続切片を作製した。キシレン，エタノール系列による脱パラフィン後，0.3%過酸化水素水加メタノール液にて内因性ペルオキシダーゼ活性をブロックした（室温30分）。非特異的結合部位は正常山羊血清でブロックした（室温20分）。なお，PNA に関しては一次抗体反応前に neuraminidase (0.02U/ml) にて30分間標本を処理し，脱シアル化を行った標本も検討した（これを PNA-N とする）。一次抗体としてビオチン化レクチンを室温で60分間反応させた後，Avidin-Biotin complex (Vector ABC Kit) を30分間反応させた。最

表1 対象症例

	Case No.	年齢	性別	Serum Ca(mg/dl)		Serum IP(mg/dl)		副甲状腺重量(g)
				術前	術後	術前	術後	
正常	1 M. M.	37	M	10.0	9.9	2.3	2.9	0.02
	2 M. I.	56	M	10.2	9.6	2.0	3.5	0.03
過形成	1 Y. S.	45	M	10.5	8.7	1.8	4.5	0.08
	2 T. K.	21	F	12.6	11.3	2.7	3.2	0.10
腺腫	1 H. O.	24	F	12.0	10.0	2.2	3.0	1.20
	2 M. Y.	45	F	10.7	9.0	1.4	2.5	6.00
	3 M. Y.	60	M	10.7	9.4	1.7	3.0	0.30
	4 K. U.	23	M	11.1	9.2	2.4	2.9	0.50
	5 O. T.	38	M	11.6	8.8	2.3	3.2	0.30
	6 M. A.	35	F	10.9	8.1	2.2	3.7	1.00
	7 T. M.	43	M	11.0	9.5	2.0	3.2	0.30
	8 S. S.	37	M	11.7	9.6	3.0	3.8	0.22
	9 K. T.	45	F	13.1	8.7	1.8	4.5	2.70
	10 S. I.	50	M	11.3	8.2	2.0	2.4	5.00
	11 T. K.	37	F	11.2	9.0	2.1	3.1	0.82
	12 M. I.	57	F	10.9	7.8	2.0	2.7	0.54
	13 T. S.	46	M	11.4	9.2	2.3	3.1	0.90
	14 Y. K.	25	F	10.6	8.9	2.5	3.7	0.20
	15 I. T.	30	M	13.0	9.2	2.1	3.5	1.40
	16 H. I.	75	F	11.0	9.0	2.9	3.9	0.50
	17 S. Y.	43	M	13.4	8.0	2.5	3.0	1.12
	18 R. T.	61	F	10.0	8.7	2.5	3.5	0.83
	19 Y. S.	52	M	10.2	9.1	2.3	3.5	1.70
	20 S. S.	44	M	13.4	8.9	2.5	3.4	1.12
	21 M. K.	19	F	11.7	8.7	2.5	3.8	0.40
	22 M. S.	46	F	10.7	8.6	2.3	3.4	0.40
癌	1 K. K.	38	M	14.5	10.7	2.4	1.9	30.00

終反応物は diaminobenzidine で発色させ 1% 硫酸銅液にて強調した。ヘマトキシリンによる核染後、脱水、マウントを行って検鏡した。各ステップ間の洗浄には pH 7.4 に調整した PBS 緩衝液（生食加リン酸緩衝液）を使用した。

判定：所見は半定量的に標本の 10% 以上が染色されている場合を陽性とし、それに満たないものを陰性とした。変性細胞、壊死細胞は判定から除外した。

解析：腺腫の各種レクチンの染色態度をパラメーターとして陰性を 1、陽性を 2 とスコア化しクラスター分析を行った。クラスター化した各群での臨床データ（性別、年齢、血清カルシウム値、血清リン値、摘出腺腫重量）の比較は t 検定を用いて検討した。

結 果

1) 副甲状腺各組織におけるレクチンの染色パターン（図 1～6）

陽性例における各レクチンの染色態度は正常副甲状腺、過形成、腺腫、癌で質的な差はなかった。SBA 陽

性細胞は巣状に散見され、胞体が均一に淡染していた。細胞膜に明らかな局在は認められなかった。Con A も同様に胞体が均一に染まった。WGA では、腺構造を示す部分の腔面細胞膜が強く染まり、細胞質も染まった。血管内皮細胞の腔面細胞膜も陽性であった。RCA,

図 3 WGA 染色，副甲状腺腺腫，強拡大

図 4 RCA 染色，副甲状腺腺腫，強拡大

図 5 BSA II 染色，副甲状腺腺腫，強拡大

図 1 SBA 染色，副甲状腺癌，強拡大

図 2 Con A 染色，副甲状腺腺腫，弱拡大

図6 PNA 染色, 副甲状腺腺腫
上図: neuraminidase 未処理, 下図: 処理, 弱拡大

BSA II とも副甲状腺細胞の細胞膜に局在を認めたが, RCAの方がより強い染色性を示した。BSA II は一部胞体が細顆粒状に染まった。PNA, PNA-N は陽性例でみると, その局在は主に細胞膜に強く認められた。PNA-N では血管内皮も均一に染まった。PNA は巣状ないしパッチ状に局在していた。一方, neuraminidase 処理をした場合, 全体的に均一に陽性であった。

各症例の染色パターンは表 2 に示す。

a. 正常副甲状腺 (2 例)

SBA, Con A, WGA, BSA II は陽性であり, PNA, PNA-N は陰性であった。RCA は 1 例で陽性であった。

b. 副甲状腺過形成 (2 例)

WGA, BSA II は陽性であり Con A, RCA, PNA, PNA-N は陰性であった。SBA は 1 例で陽性であった。

c. 副甲状腺腺腫 (22 例)

SBA は 36.4% と陽性率が最も低く, 逆に WGA は 81.8% と高率に陽性であった (表 3)。Con A では 63.6%, RCA では 40.9%, BSA II では 63.6% が陽性

であった。RNA に関しては, neuraminidase 処理で 54.5%, 未処理で 27.3% が陽性であった。

d. 副甲状腺癌 (1 例)

癌では BSA II と PNA 以外全て陽性であった。SBA は他の組織型に比べて強く染まった。全体に胞体が均一に染まっていたが, 巣状に胞体が強く染まる細胞が散見された (図 1)。

2) 副甲状腺腺腫 22 例の各種レクチン染色態度の解析

腺腫 22 例の染色の傾向をとらえるためにクラスター分析を行った。ウォード法によるデンドログラムを示す (図 7)。縦軸はクラスターが融合する距離を, 横軸は各標本の症例番号を示す。デンドログラム中の数字は各グループ間の距離を示す。いくつかの小さなクラスターが形成され, それがだんだんと融合し最終的に一つのクラスターになる様子が観察された。クラスターの第一段階で融合する No. 2 と No. 13, No. 4 と No. 5, No. 3 と No. 8 と No. 21, No. 6 と No. 7 の症例では全ての染色パターンが一致した。No. 2 から No. 17 のサブグループが融合し最終的に No. 3 から No. 19 の群が融合してくる。以上より No. 2 から No. 17 (○印) と No. 3 から No. 19 (×印) の 2 つのサブグループに分けられる印象を得た。

前者の群を A 群, 後者を B 群とした場合, 各レクチンの陽性率を比較検討すると, 5% の危険率で RCA, PNA, PNA neuraminidase 処理群に有意差が認められた。標本モデルに算入されていない各症例の年齢, 性別, 血清カルシウム値, リン値および摘出腺腫重量の平均値を t 検定した場合, 両群間に有意差は認めなかった (表 3)。

考 察

副甲状腺の増殖性病変としては腺腫, 過形成及び癌腫の 3 種類があり, その比率はそれぞれ 81.7%, 15.4%, 2.9% である¹⁾。他の文献でもほぼ同様の比率を示す³⁾。3 組織型とも類似しているため, 組織学的診断は必ずしも容易でない。腺腫はほとんどが主細胞型であり, 好酸性細胞型は腺腫の約 7.8% にみられる⁴⁾。自験例はいずれも主細胞型であった。過形成は 4 腺が腫大しており組織型は主細胞型が約 85% と多い¹⁾。副甲状腺癌の組織診断は難しく, 再発, 転移などにより診断されることが多い。自験癌症例でも, 術後頸部リンパ節転移をきたして確診された⁵⁾。

細胞膜は多様な複合糖鎖で構成されており, その構造が組織形成や細胞レベルでの認識過程で重要な役割

表2 副甲状腺の各種レクチンによる染色パターン

	Case No.	SBA	Con A	WGA	RCA	BSA II	PNA-N	PNA
正常	1	—	+	+	+	+	—	—
	2	—	+	+	—	+	—	—
過形成	1	+	—	+	—	+	—	—
	2	—	—	+	—	+	—	—
腺腫	1	—	+	+	—	+	—	—
	2	—	+	+	—	—	—	—
	3	—	+	+	—	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+	+
	6	+	—	+	—	—	+	—
	7	+	—	+	—	—	+	—
	8	—	+	+	—	+	+	+
	9	+	—	—	—	—	+	—
	10	—	+	+	+	—	+	—
	11	—	+	+	—	—	+	+
	12	—	+	+	+	—	—	—
	13	—	+	+	—	—	—	—
	14	+	—	—	—	+	+	+
	15	+	—	+	+	+	—	—
	16	—	+	+	+	+	—	—
	17	—	—	+	+	+	—	—
	18	—	—	—	—	+	—	—
	19	+	—	+	+	+	+	+
	20	—	+	+	+	+	—	—
	21	—	+	+	—	+	+	+
	22	—	+	—	—	+	—	—
癌	1	+	+	+	+	—	+	—

表3 副甲状腺腺腫全体およびクラスター分析により分類された2群の臨床データと各種レクチン陽性率

	腺腫(22)	A群(13)	B群(9)
性別(男:女)	11:11	7:6	4:5
年齢	42.5±13.4	44.7±14.0	39.2±11.9
血清 Ca(mg/dl)	11.4±0.96	11.6±10.3	11.2±0.81
血清 IP(mg/dl)	2.25±0.36	2.26±0.34	2.23±0.38
摘出腺腫重量(g)	1.25±1.47	1.52±1.73	0.85±0.80
SBA	36.4%	23.1%	55.6%
Con A	63.6	76.9	44.4
WGA	81.8	84.6	77.8
RCA*	40.9	61.5	11.1
BSA II	63.6	69.2	55.8
PNA-N*	54.5	23.1	100.0
PNA*	27.3	0.0	66.7

*P<0.05にて有意差あり

をはたす事が知られている⁶⁾。また分化や加齢、細胞の変化や悪性化に際しても、これら細胞膜を形成する糖

蛋白が変化することが知られており⁷⁾、この変化は各種レクチンを用いて、広く免疫組織化学の分野で検討されている⁸⁾⁹⁾。

副甲状腺組織に対するレクチンの局在はほとんど検討されていない。今回我々はレクチンにより各副甲状腺機能亢進症の組織型の特徴や差異をとらえる試みを行った。

副甲状腺癌はSBA, Con A, WGA, RCA, WGAが陽性であった。甲状腺髄様癌においても同様のレクチンの染色性が認められている¹⁰⁾。副甲状腺ホルモンとカルシトニンはカルシウム代謝において相反する作用をする。しかし各々のカルシウム代謝に關与するホルモン産生癌が同じレクチンの染色性を示すことは興味ある所見である。SBAは乳腺の粘液産生癌細胞とその粘液でも証明されている¹¹⁾。また、甲状腺では正常及び過形成に比べて腫瘍はSBA, WGA, UEA-I(Ulex europaeis agglutinin I)が強い染色性を呈する。特にUEA-Iは良性腫瘍より悪性腫瘍で強染する¹⁰⁾。しか

図7 副甲状腺腺腫の各種レクチンの染色態度によるクラスター分析（ウォード法）

し、甲状腺腺腫と甲状腺癌の鑑別に対するレクチンの有用性は報告されていない¹²⁾¹³⁾。今回、我々はUEA-Iに関しては検討しなかった。本癌症例では、SBAは他組織型よりも強く染まった。SBAはあるいは副甲状腺癌の診断・鑑別に有用なマーカーとなりうるかも知れない。今後の検討と症例の追加を待ちたい。

副甲状腺の過形成は2例であった。正常副甲状腺と同様に、WGAとBSA IIは陽性であった。また、PNAはneuraminidase処理の有無にかかわらず陰性であった。甲状腺では、腺腫よりも過形成でSBA、WGAが強く染まるが¹²⁾、副甲状腺ではその傾向は認められなかった。BSA IIは、腸管の腺癌で特異的に陽性となる¹⁴⁾が、このレクチンが正常ならびに過形成の副甲状腺組織に陽性であり、副甲状腺癌では陰性であった。内分泌臓器、少なくとも副甲状腺は腸管上皮と比較して細胞膜の糖蛋白に差異があるのかも知れない。

腺腫は22例を検討したが、レクチンの染色パターンはクラスター分析によって、大きく2つのグループに分けられる可能性が示唆された。この分類の主たる因子はRCAとPNAの染色性であった。Horiら¹⁵⁾は下垂体腺腫において、プロラクチンおよび成長ホルモン産生腫瘍では細胞膜がRCAで染色されるが、非機能性腫瘍では染色されないと報告している。副甲状腺腺腫は細胞の機能がより正常に近いものとそうでないものの2つに分けられる可能性がある。また膀胱癌など

では、neuraminidase未処理ならびに処理後のPNAを対とした染色パターンはThomsen-Friedenrich抗原(MN物質の前駆体)(以下T抗原)の有無をみるマーカーとして利用されてきた。正常膀胱上皮ではneuraminidase処理によってT抗原が発現するが、この抗原の消失、すなわちneuraminidase未処理のPNA染色が陽性か、neuraminidase処理後のPNA染色が陰性かの場合、膀胱腫瘍の予後が悪いとの報告がある¹⁶⁾。今回の副甲状腺腺腫22例ではレクチンの染色態度からはほぼ2つのカテゴリーに分類された。PNA染色(neuraminidase処理、未処理)とRCA染色はあるいは腺腫をより悪性のものとそうでないものの2つに分けうるのかもしれない。実際、この分類で癌がA群のNo. 18の染色態度に最も類似し、正常副甲状腺及び過形成はB群のNo. 9及びNo. 7に類似性を示した(表1)。

一方この分類では臨床データとの相関は無く、病型の分類が可能であるとはいいいがたい。しかしながら、現在のところ、臨床データから副甲状腺機能亢進症の組織型を鑑別しようとの報告はない。

今後、臨床症状、検査データも含めたより総合的な見地から、症例を重ね検討する予定である。

結 語

- 1) 癌腫でSBAは強陽性を示した。
- 2) 腺腫は各種レクチン染色パターンから大きく2

つのグループに分けられた。臨床データの検討ではこの2群間に有意差が認められなかった。しかし、レクチンの免疫組織学的検討では腺腫が癌に近いものと正常副甲状腺、過形成に近いものに分けられる可能性が示唆された。

本論文の要旨は第30回日本組織細胞化学会総会(京都)および第78回日本泌尿器科学会総会(札幌)において発表した。

本論文の一部は文部省科学研究助成費(一般研究(C)02670700号)によるものであることを付記する。

文 献

- 1) Castleman, B. and Roth, S.I.: Tumors of the parathyroid glands, Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C., 24, 1978.
- 2) Sharon, N. and Lis, H.: Lectins: cell agglutination and surar specific protein. Science, 177, 949—969, 1972.
- 3) Williams, R., H.: Textbook of endocrinology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.,15, 962—964, 1981.
- 4) Bedetti, C.D., Deeker, A. and Watson, C.G.: Functioning oxyphil cell adenoma of the parathyroid gland: A clinicopathologic study of ten patients with hyperparathyroidism. Hum. Pathol., 15, 1121—1126, 1984.
- 5) Obara, T., Fujimoto, Y., Yamaguchi, K., Takanashi, R., Kino, I., and Sasaki, Y.: Parathyroid carcionoma of the oxyphil cell type. A report of two cases, light and electron microscopic study. Cancer., 55, 1482—1489, 1985.
- 6) 箱守仙一郎: 細胞表面複合糖鎖と細胞認識, 細胞認識と動物レクチン. 講談社, '1—28, 1982.
- 7) Nicotson, G. L. and Poste, G.: The cancer cell: Dynamic aspects and modification in cell-surface organization. N. Engl. J. Med., 295, 197—204, 1976.
- 8) Coon, J.S. and Weinstein, R.S.: Detection of ABH tissue isoantigens by immunoperoxidase methods in normal and neoplastic urothelium. Am. J. Clin. Pathol.,76, 163—171, 1981.
- 9) Cooper, H.S. and Reuter, V.E.: Peanut lectin-binding sites in polyps of the colon and rectum. Adenomas, hyperplastic polyps and adenomas with in situ carcinoma. Lab. Invest.,- 49, 655—661, 1983.
- 10) Martin, L.I., Gonzalez, C.R., and Moreno, A.: Mucosubstances in medullary carcinoma of the thyroid. Histopathology, 13, 55—56, 1988.
- 11) Franklin, W.A.: Tissue binding of lectins in disorders of the breast. Cancer, 51, 295—300, 1983.
- 12) Sasano, H., Rojas, M. and Silverberg, S.G.: Analysis of lectin binding in benign and malignant thyroid nodles. Arch. Pathol. Lab. Med., 113, 186—189, 1989.
- 13) Gonzalz-Campora, R., Gallego, F.S., Lacave, I. M., Marin, J.M., Linares, C.M. and Galera-Davidson, H.: Lectin histochemistry of the thyroid gland. Cancer, 62, 2354—2362, 1988.
- 14) Nakayama, J., Katsuyama, T., Ono, K. and Honda, T.: Large bowel carcinoma-specific antigens detected by the lectin, griffonia simplicifolia agglutinin-II. JPN. J. Cancer, Res (Gann), 76, 1078—1084, 1985.
- 15) Hori, T., Nishiyama, F., Teramoto, A., Takakura, K., Sano, K. and Hirano, H.: Lectin-binding sites of the human pituitary adenoma cells by means of the ferritin-labeling technique. Acta. Neuropathol. (Berl), 56, 67—74, 1982.
- 16) Coon, J.S., Weinstein, R.S. and Summers, J.L.: Blood group precursor T-antigen expression in human urinary bladder carcinoma. Am. J. Clin. Pathol.,77, 692—699, 1982.

(1990年12月18日受理)