

審査の結果の要旨

氏名 林 幸子

本研究では最新の免疫学や遺伝子学の手法を病理組織染色に取り入れるため、技術の開発を行った。これらの方法を病理組織学に応用、以下の新しい知見を得ている。

1. 正常肺および女性生殖器におけるアミラーゼの証明

肺癌や卵巣癌にアミラーゼを産生する症例が知られていたが、それは癌細胞の”異所産生”であると考えられていた。しかし、正常の肺や女性生殖器にもアミラーゼを産生する細胞があるのではないかと考え、組織化学、免疫組織化学、免疫電子顕微鏡の三法を用い、これらの正常組織のアミラーゼ染色を行った。その結果、肺では気管支上皮細胞、気管支漿液細胞に、女性生殖器には子宮体部および頸部の腺細胞に陽性細胞が認められた。組織化学的方法ではアミラーゼ活性の、免疫染色ではアミラーゼ蛋白の組織学的証明であり、原理の異なる方法で、同一細胞にアミラーゼの局在を証明した。これらの所見は肺癌や卵巣癌の腫瘍細胞が産生するアミラーゼは異所産生ではなく eutopicであることを支持するものであった。

2. 増殖細胞抗原の同定

腫瘍細胞の増殖能の分析は腫瘍の悪性度、患者の予後の判定に有用であることが知られている。古くはラジオアイソトープを標識した thymidine を細胞に取り込ませる方法が用いられていたが、病理組織診断に応用することが困難であった。近年、増殖細胞抗原に対するモノクローナル抗体が種々開発され、増殖細胞の陽性率を求めることが容易になり、病理標本への応用に道が開けた。しかし、抗体により、得られるデータが異なり、病理診断に有用な抗体の選択を図ることは重要なテーマであった。thymidine のアナログである bromodeoxyuridine (BrdU) に対する抗体を用いる方法は、細胞の S 期を同定する優れた方法であるが、あらかじめ細胞に BrdU を取り込ませる操作が必要とされる (標

識法)。一方、細胞内在性の核内増殖細胞抗原であるKi-67、DNA polymerase α 、あるいはProliferative cell nuclear antigen (PCNA)に対する抗体を用いる染色は増殖細胞に異種物質を取り込ます必要がない(非標識法)。そこで、上記3種の内在性核内増殖細胞抗原に対する抗体を用いた方法で得られた増殖細胞陽性率とBrdU標識法で得られた標識率を比較検討し、BrdU標識法に変わらうる増殖細胞抗体の選択を試みた。その結果、Ki-67染色がBrdU標識法で得られた値とよく一致したため、Ki-67染色を肺癌に応用した。その結果、Ki-67陽性率が患者の予後判定に有効であることが判明した。

3. *Pneumocystis carinii* (Pc)の *in situ* hybridization法による検出

カリニ肺炎の病原体であるPcの特異的染色法を開発した。ribosomal RNA (rRNA)は生物に多量に存在し、しかも種特異性が高いという点に着目し、PcのrRNAを標的とした新しい *in situ* hybridization法を考案した。種特異性の高い部位・3カ所に対しピオチン標識anti-sense oligonucleotideを合成、プローブとし、ホルマリン固定パラフィン標本でのPc検出法を検討、確立した。Pc以外の病原体であるウイルス(サイトメガロ、ヘルペス)、マイコバクテリウム(*M. tuberculosis*、*M. kansasii*)、原虫(赤痢アメーバ、クルプトスポリジウム、トキソプラズマ)、真菌(カンジダ、ムコール、クルプトコッカス、アスペルギルス)にはすべて陰性であった。また、Pcに対するモノクローナル抗体による免疫染色でも *in situ* hybridization法と同様の結果を得た。以上の結果より、本法は特異的なPcの染色法であり病理組織診断に有用な方法であると考えられた。

以上、免疫染色および *in situ* hybridization法の改良、開発を行い、病理組織診断への応用を図り、①アミラーゼは膵、唾液腺以外の肺や女性生殖器にも微量ながら存在する、②増殖細胞抗原Ki-67染色の有用性、③病原体のrRNAを標的とした、*in situ* hybridization法という新しい試みに成功した事など新知見を得た。これらの研究は病理診断への寄与に多大に貢献し、学位の授与に値するものと考えられる。