

甲状腺腫瘍における MUC1 糖蛋白の発現に関する検討

長 沼 廣, 高 屋 潔*

はじめに

粘液は生物の気管, 消化管, 生殖腺などの内腔を覆う物質で, 粘液内には巨大分子の糖蛋白であるムチンが含まれている。ムチンには分泌型ムチンと膜結合型ムチンの2種類があり, 現在まで MUC1 から MUC9 のムチンが知られている¹⁾。これらのムチンは呼吸器, 消化器, 乳腺, 生殖器, 腎臓などの上皮に存在するが, 甲状腺濾胞細胞にも発現することが報告された²⁾。近年, 膜結合型ムチンの過剰発現が悪性腫瘍の浸潤・転移と関わることを示され, 肺癌や消化器癌では多くの研究がなされている³⁻⁷⁾。甲状腺乳頭癌においても DNA, RNA 解析及び免疫染色により通常型乳頭癌で MUC1 が発現していることが示され, 乳頭癌では high-risk 群により発現すると報告された²⁾。

本研究では炎症性病変, 良悪性を含む腫瘍性病変など様々な甲状腺疾患における MUC1 糖蛋白の発現の有無, 悪性腫瘍では浸潤部での過剰発現, また組織型による発現程度の相違などを検討したので報告する。

対象及び方法

対象は濾胞腺腫 10 例, 濾胞癌 10 例, 濾胞型乳頭癌 10 例, 高分化型乳頭癌 48 例, 髄様癌 10 例で, 非腫瘍性病変として腺腫様甲状腺腫 12 例, 橋本病 2 例, 限局性慢性甲状腺炎, 亜急性甲状腺炎 2 例を選んだ。正常として各腫瘍性病変の周囲甲状腺 88 例を用いた。

10% ホルマリン固定後, パラフィン包埋した組織の主病巣部分の 4 μm パラフィン切片を用い, 膜結合型糖蛋白 MUC1 に対する抗体による免疫染色を施行した。高分化型乳頭癌 5 例の症例におい

ては分泌型ムチンである MUC2, MUC5AC, MUC6 の免疫染色も行った。本検索では表 1 に示す抗体を用いた。免疫染色方法は切片を脱パラ後, 内因性ペルオキシダーゼを失活させ, それぞれの抗体を室温 1 晩免疫反応させ, AEC にて発色させ, 検鏡した。

結果判定には細胞膜にわずかでも陽性反応を見る症例は陽性例とした。染色強度については判定しなかった。

結 果

各腫瘍周囲に見られた正常甲状腺では 88 例中 79 例で濾胞上皮に MUC1 陽性像を認め, 一部のコロイドも陽性であった (図 1)。橋本病 (図 2),

表 1. 使用抗体一覧

抗原	抗体	希釈率
MUC1	NCL-clone Ma695	1:100
MUC2	NCL-clone Ccp58	1:100
MUC5AC	NCL-clone CLH2	1:100
MUC6	NCL-clone CLH5	1:100

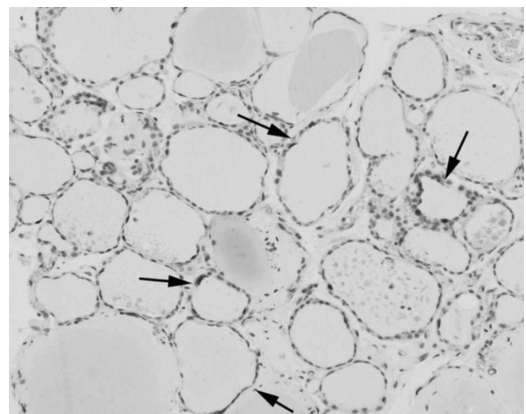


図 1. 正常甲状腺における MUC1 染色像: →部に陽性像を見る。

限局性慢性甲状腺炎 (図 3), 亜急性甲状腺炎 (図 4) の症例においては強いリンパ球浸潤を伴う部分に存在する甲状腺濾胞細胞に比較的強い陽性像を認めた。過形成性病変である腺腫様甲状腺腫 12 例では, 陽性 8 例, 陰性 4 例であった (図 5)。甲状腺腫瘍の中では濾胞腺腫 10 例中, 陽性 1 例, 陰性 9 例で, 濾胞癌 10 例中, 陽性 3 例, 陰性 7 例であった。濾胞癌の浸潤部では陽性像を見るが (図 6), 脈管侵襲部では陰性であった (図 7)。濾胞型乳頭癌では 15 例中, 陽性 8 例 (図 8), 陰性 7 例であった。高分化型乳頭癌 48 例では陽性 13 例 (図 9), 陰性 35 例で, 髄様癌 10 例においては陽性 0 例, 陰性 10

例であった。MUC2, MUC5AC, MUC6 に関しては正常濾胞細胞, 癌細胞は全く陰性であった。

表 2 に示すように正常濾胞においては 90% で陽性像を認め, 腺腫様甲状腺腫でも 67% の症例に陽性を認めた。これに対して腫瘍性病変では陽性率が低下し, 良性である腺腫では 10% しか陽性を示さなかった。濾胞癌, 乳頭癌を含める悪性腫瘍では約 30% 前後に陽性を示したが, 浸潤部における陽性像はほとんど確認されなかった (図 10)。浸潤部の癌細胞が陰性であったのに対して浸潤部に接する正常濾胞上皮に比較的強い陽性像を示す例が多かった (図 10)。

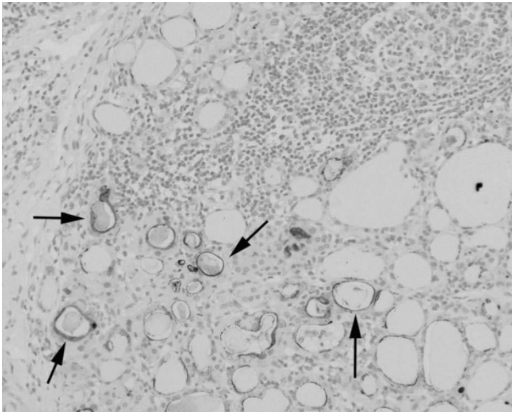


図 2. 橋本病における MUC1 染色像: 再生濾胞細胞に陽性像 (→) を見る。

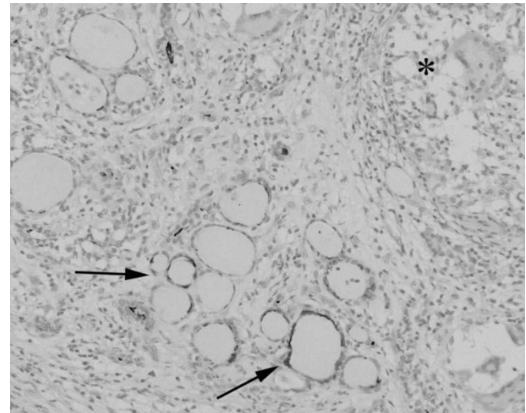


図 4. 亜急性甲状腺炎における MUC1 染色像: 一部の濾胞に陽性像 (→) を見る。*部に巨細胞を見る。

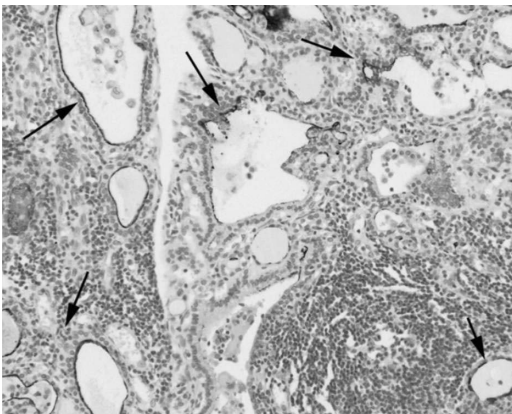


図 3. 限局性慢性甲状腺炎における MUC1 染色像: 濾胞の破壊がない炎症部位でも濾胞細胞に陽性像 (→) を見る。

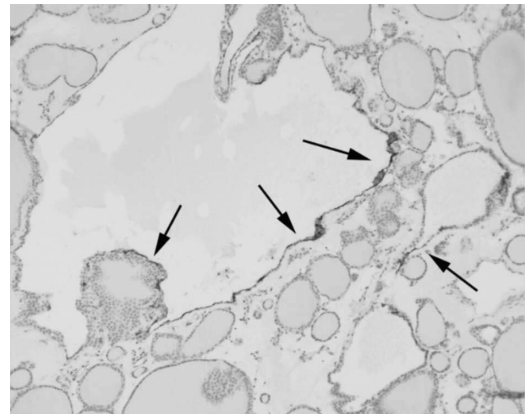


図 5. 腺腫様甲状腺腫における MUC1 染色像: 拡張し, やや乳頭状に増生する濾胞に陽性像を見る (→)。

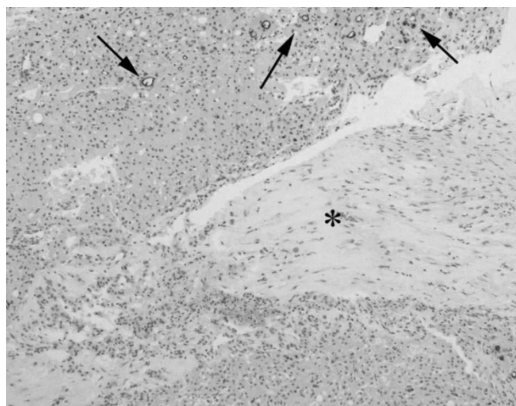


図6. 濾胞癌における浸潤部の MUC1 染色像：小型の濾胞腔内に陽性像（→）を見る．*は被膜。

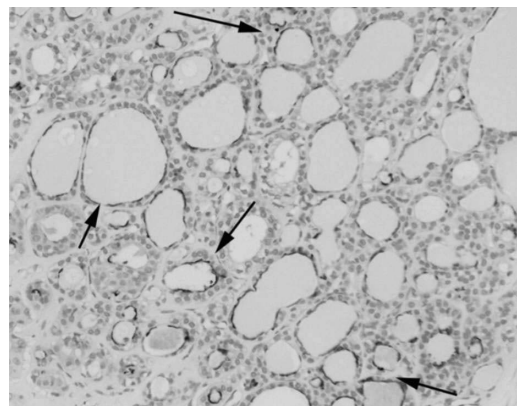


図8. 濾胞型乳頭癌における MUC1 染色像：濾胞内腔に陽性像（→）を見る。

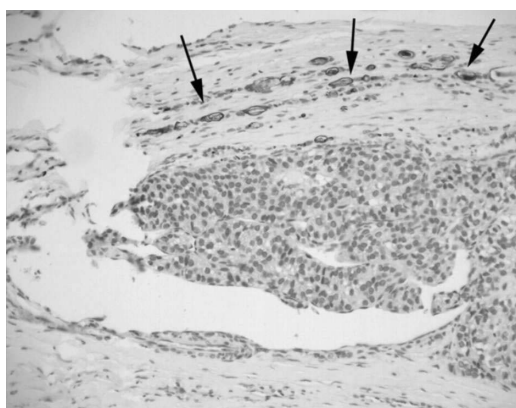


図7. 濾胞癌における脈管侵襲部の MUC1 染色像：周囲の正常濾胞に陽性像（→）を見るが、濾胞癌は陰性である。

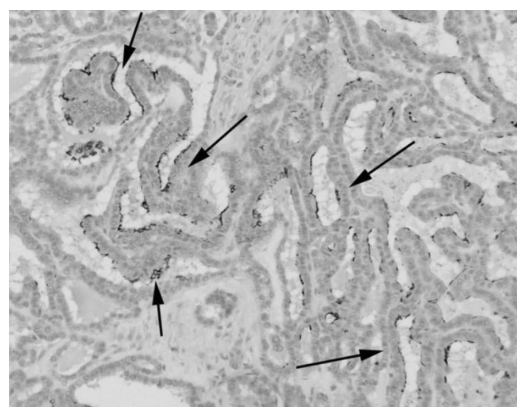


図9. 通常型高分化型乳頭癌における MUC1 染色像：乳頭構造を示す癌に陽性像（→）を見る。

考 察

細胞の表面を覆う粘液は細胞の保護, 乾燥防止, 潤滑剤などの働きを持ち, 生物にとって重要な物質である。正常細胞の分泌する粘液の主成分であるムチンは糖蛋白で, さまざまな種類がある。近年, これらのコア蛋白の cDNA が得られ, その共通する構造や特徴が次第に明らかになり, 以前に考えられていた以外の働きがあることが分かってきた⁸⁻¹³⁾。

ムチン型糖蛋白は非常に巨大な分子であり, その分子構造が多様で, 細胞膜に結合している「膜

表2. 各疾患における MUC1 陽性率

疾患	MUC1 陽性率 (%)
正常濾胞細胞	79/88 (90%)
髄様癌	0/10 (0%)
高分化型乳頭癌	13/48 (27%)
濾胞型乳頭癌	8/15 (53%)
濾胞癌	3/10 (30%)
濾胞腺腫	1/10 (10%)
腺腫様甲状腺腫	8/12 (67%)

結合型ムチン」と, 細胞外へ分泌され, ゲルを形成する「分泌型ムチン」の2つに大別される¹⁾。ムチン型糖蛋白の生合成は Golgi 装置 cis 部におい

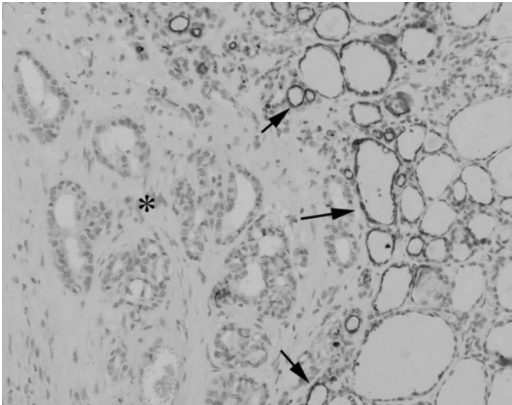


図 10. 高分化型乳頭癌浸潤部における MUC1 染色像：浸潤最深部では MUC1 は陰性（*）で、浸潤部に接する濾胞は正常甲状腺濾胞と比較してやや強い陽性像（→）を示す。

て、コア蛋白に一連の特異的糖転移酵素が連続的に働き、glycosylation により行われる。膜結合型ムチンには MUC1, MUC4 があり、分泌型ムチンには MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7 があり⁹⁾、詳細が分かっているのは MUC1 から MUC9 であるが、これまでに MUC20 までが報告されている^{1,8-13)}。

近年、ムチン型糖蛋白と癌化との関連が注目され、癌における MUC 発現の意義について多くの研究が見られる³⁻⁷⁾。特に膜結合型ムチンである MUC1 と腫瘍の悪性度との関連が報告されているが、未だ不明な点も多い^{3,5-7)}。MUC1 は正常では多くの上皮細胞の管腔側細胞表面に発現している。正常上皮細胞では糖転移酵素が MUC1 コア蛋白に系統的に働き、膜表面に厚い糖側鎖をまとったムチン型糖蛋白が表出している。これに対して癌細胞では糖転移酵素の働きに異常を来し、糖衣にも異常を来していると考えられる¹⁾。MUC1 コア蛋白への glycosylation が、癌の悪性度や浸潤性性格にどのように関わっているかについては不明な点が多い。

一般に乳腺や膵の癌では糖側鎖の付加量の少ない未熟 MUC1 ムチンの陽性率も、糖側鎖が十分に付加された成熟 MUC1 ムチンの陽性率も高い¹⁾。消化器癌、ことに膵胆道系や胃癌において膜結合

型ムチンである MUC1 の発現は癌の悪性度や浸潤性発育に関連があり、胃癌、大腸癌では MUC1 発現癌細胞を持つ患者は、MUC1 を発現していない癌細胞を持つ患者より生存率は悪い¹⁾。MUC1 の発現の有無が予後を推測する上で、重要な因子である可能性が高い。

癌化や悪性度とは別に、MUC1 に対する抗体産生と cytotoxic T 細胞誘導が明らかにされ、さらに最近では健常人における抗 MUC1 免疫応答の存在が、癌発症に対して予防的に働く可能性も指摘され¹⁾、特異的免疫療法の研究も始まっている¹⁴⁾。何らかの免疫反応に関与している可能性がある。

前述のように MUC1 は消化器、乳腺など様々な臓器の上皮細胞に発現するが、内分泌臓器である甲状腺濾胞細胞においても発現し、甲状腺乳頭癌では悪性度、浸潤に関与すると報告されている。1997 年 Bieche らが甲状腺乳頭癌において DNA, RNA 解析及び免疫染色により、甲状腺及び通常型乳頭癌で MUC1 が発現していることを示し、乳頭癌では high-risk 群により発現すると報告した²⁾。更に予後の良好な通常型の乳頭癌と予後不良な高円柱上皮型の乳頭癌の間では MUC1 発現異常が関係していると報告された¹⁵⁾。

今回の検討では正常濾胞細胞にも 90% の例に MUC1 の発現を認め、甲状腺濾胞細胞が内分泌細胞でありながら、外分泌的上皮としての特徴も示していると考えられた¹⁶⁾。検討症例の中に腫瘍以外に橋本病、亜急性甲状腺炎、限局性慢性甲状腺炎を加えたが、これらの症例では炎症が強い部分の濾胞細胞が正常細胞よりも強い MUC1 陽性像を示していた。MUC1 が免疫との関連も注目されていると述べたが、炎症部分では濾胞上皮に過剰発現していることから、濾胞細胞の障害、再生過程で MUC1 が過剰発現し、リンパ球浸潤が誘導された可能性が示唆される¹⁾。

本研究では腫瘍化、癌化と MUC1 の発現程度を見る目的があった。過去の報告に従えば、乳頭癌では高率に MUC1 が発現し、特に浸潤部では癌細胞に過剰発現していることが予想された。しかし、正常或いは過形成性変化において 80-70% 程度の

発現をみるのに対して腺腫では10%、濾胞癌及び乳頭癌では30%前後と低い発現率しか認められなかった。すなわち、過形成性病変と考えられる腺腫様甲状腺腫では正常甲状腺濾胞細胞とほぼ同程度に発現し、濾胞腺腫ではほとんど発現を見なかったことから、腫瘍化に伴うMUC1発現の消失を意味していると推察された。これに対して形態的に良悪性の鑑別が難しい濾胞癌の一部ではMUC1の過剰発現を示す例があり、やはり悪性化に伴う過剰発現も考えられた。更に明らかな浸潤性濾胞癌では被膜外浸潤部において過剰発現を示す例が見られ、浸潤部における過剰発現と考えられた。しかし、脈管侵襲部での過剰発現は見られず、被膜浸潤と脈管侵襲の機序に違いがあるのではないかと推測された。同じ甲状腺癌の中でも内分泌細胞の性格が強い髄様癌では過剰発現は全く見られず、内分泌細胞の腫瘍全般の癌化や悪性度にMUC1は関与しない可能性もある。

消化器癌におけるMUC1の発現の意義は悪性度及び癌の浸潤との関連にあるが、高分化型乳頭癌では癌細胞における発現率は予想より低く、浸潤部ではまったく癌細胞に過剰発現を見なかった。今回の検討では従来との報告と異なる結果が得られたが、実際にはRNA、DNAの発現の有無も検討しなければならず、今後の課題である。

最後に本研究において興味深い結果は浸潤部と接する正常濾胞にMUC1の過剰発現が見られたことである。検討した浸潤癌のほとんどの癌浸潤部で正常濾胞細胞に過剰発現が見られたことから癌に対する何らかの反応か癌浸潤部の炎症反応に起因する結果と考えられ、前述の甲状腺炎における濾胞上皮の過剰発現と癌に接する濾胞上皮の過剰発現が同じメカニズムで起こっているのか、検討しなければならない課題が多い。今後の研究に期待される。

文 献

- 1) 野元三治 他: 消化管癌の悪性度とMUC1蛋白発現. 病理と臨床 **23**: 954-959, 2005
- 2) Bieche I et al: MUC1 mucin gene, transcripts, and protein in adenomas and papillary carcinoma of the thyroid. *Thyroid* **7**: 725-731, 1997
- 3) Yonezawa S et al: Expression of mucin antigens in human cancers and its relationship with malignancy potential. *Pathol Int* **47**: 813-830, 1997
- 4) 伊藤英人 他: 非浸潤部がMUC1強陽性を示した浸潤性膵管内乳頭腺癌の1例—ムチン発現形質と浸潤性に関する考察を加えて—。膵臓 **18**: 517-523, 2003
- 5) 内藤善久, 清水道生: Pancreatic Intraepithelial Neoplasia (PanIN)および浸潤性膵管癌におけるMUC1, MUC2, CD10の発現について。膵臓 **18**: 155, 2003
- 6) Hebbar V et al: Differential expression of MUC genes in endometrial and cervical tissues and tumors. *BMC Cancer* **5**: 124, 2005
- 7) Byrd JC, Bresalier RS: Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* **23**: 77-99, 2004
- 8) Batra SK et al: Expression of the human MUC1 mucin cDNA in a hamster pancreatic tumor cell line HP-1. *Int J Pancreatol* **12**: 271-283, 1992
- 9) Devine PL et al: Monoclonal antibodies reacting with the MUC2 mucin core protein. *Br J Cancer* **67**: 1182-1188, 1993
- 10) Hinoda Y et al: Molecular biological analyses of mucin core protein and their clinical application. *Gan To Kagaku Ryoho* **21**: 150-156, 1994
- 11) Bobek LA et al: Molecular cloning, sequence, and specificity of expression of the gene encoding the low molecular weight human salivary mucin (MUC7). *J Biol Chem* **268**: 20563-20569, 1993
- 12) Shankar V et al: Chromosomal localization of a human mucin gene (MUC8) and cloning of the cDNA corresponding to the carboxy terminus. *Am J Respir Cell Mol Biol* **16**: 232-241, 1997
- 13) Lapensee L et al: Allelic polymorphism and chromosomal localization of the human oviductin gene (MUC9). *Fertil Steril* **68**: 702-708, 1997
- 14) 有賀 淳 他: MUC1を標的とした特異的免疫療法の研究. *Biotherapy* **14**: 485, 2000
- 15) Wreesmann VB et al: Genome-wide profiling

- of papillary thyroid cancer identifies MUC1 as an independent prognostic marker. *Cancer Res* **64**: 3780-789, 2004
- 16) Hudson MJ et al: Human MUC1 mucin: a potent glandular morphogen. *J Pathol* **194**: 373-383, 2001
- a) Lluçia Alos et al: Expression of membrane-bound mucins (MUC1 and MUC4) and secreted mucins (MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6 and MUC7) in mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. *Am J Surg Pathol* **29**: 806-813, 2005