



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Expression of $\alpha$ -Amylase Isozymes in Human Thyroid Tissue   |
| Author(s)    | 土居, 貞幸   |
| Citation     | 大阪大学, 1991, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37823">https://hdl.handle.net/11094/37823</a>  |
| rights       |  |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|                  |   |
|------------------|---|
| 氏 名              | 土 居 貞 幸   |
| 博士の専攻分野<br>の 名 称 | 博 士 (医 学)   |
| 学 位 記 番 号        | 第 9979 号  |
| 学 位 授 与 年 月 日    | 平 成 3 年 12 月 24 日   |
| 学 位 授 与 の 要 件    | 学位規則第4条第2項該当  |
| 学 位 论 文 名        | Expression of $\alpha$ -Amylase Isozymes in Human Thyroid Tissue<br>(ヒト甲状腺組織における $\alpha$ -Amylase isozyme の発現) |
| 論文審査委員           | (主査) 教 授 森 武貞<br>(副査) 教 授 松原 謙一 教 授 萩原 俊男   |

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔目 的〕

ヒト  $\alpha$ -amylase の isozyme は、唾液腺型 (amy1) と脾臓型 (amy2A) に加えて、新しく cDNA が単離された amy2B の三種よりなる。これら三種の amylase isozyme は、三種の異なる遺伝子 AMY1, AMY2A, AMY2B にそれぞれコードされている。amylase は主として唾液腺と脾臓で産生されているが、肺癌、卵巣癌、形質細胞腫などの悪性腫瘍組織での産生も報告されている。悪性腫瘍組織における amylase 産生は、腫瘍細胞の組織発生および細胞の癌化と関連して議論してきた。

さらに、正常甲状腺と甲状腺腺腫にも amylase が存在する事は酵素化学的手法や免疫組織化学的手法によって示してきた。本研究は、甲状腺で実際に amylase が産生されるのか、あるいは他臓器由来の amylase が単に甲状腺に蓄積されるのかを明らかにするとともに、甲状腺組織の amylase はいかなる isozyme か、癌化とともに甲状腺の amylase はどのように変化するのかを検討することを目的とした。

## 〔方法ならびに成績〕

- 1) 甲状腺組織標本：甲状腺疾患外科手術患者より甲状腺標本を得た。総症例数は25例で、内訳は Graves'病7例、高分化癌（乳頭腺癌、濾胞腺癌）11例、低分化癌2例、未分化癌1例、髄様癌4例である。正常甲状腺組織は甲状腺癌13例の非癌部甲状腺より得た。
- 2) 甲状腺組織 amylase 活性と術前血清 amylase 活性：甲状腺組織 amylase 活性は blue starch polymer を使用し測定した。正常甲状腺組織 amylase 活性は  $30.6 \pm 14.2$  IU/g wet tissue ( $N = 13$ )、

甲状腺癌組織 amylase 活性は  $14.8 \pm 11.7$  IU/g wet tissue ( $N = 18$ ) と、癌組織では有意に低値であった ( $p < 0.01$ )。Graves' 病の甲状腺組織 amylase 活性は  $20.4 \pm 11$  IU/g wet tissue ( $N = 7$ ) で正常甲状腺に比べ低値を示したが、有意差はなかった。術前血清 amylase 活性は、高値を示した乳頭腺癌 1 例を除き、正常範囲内であった。

- 3) 免疫組織化学：家兔抗ヒト amylase polyclonal 抗体を使用して immunoperoxidase 法で解析した。正常甲状腺 2/2 例と高分化癌 9/11 例で濾胞細胞の細胞質に比較的強い amylase 免疫反応性を認めた。一方低分化癌 2/2 例、未分化癌 1/1 例、髓様癌 4/4 例では免疫反応性は弱いか、全く認められなかった。
- 4) Northern blot；プローブとして AMY1 cDNA を用いて組織より精製した mRNA  $5 \mu\text{g}$  を解析した。正常甲状腺 2/2 例、Graves' 病 7/7 例、高分化癌 9/9 例で AMY1 と考えられるバンドを認めた。一方、低分化癌 2/2 例、未分化癌 1/1 例、髓様癌 2/2 例ではバンドは認めなかった。
- 5) 甲状腺で発現している amylase isozyme 遺伝子の同定；精製した mRNA  $1 \mu\text{g}$  より 1 本鎖cDNA pool を作製し、polymerase chain reaction (PCR) 法により甲状腺で発現している amylase cDNA を特異的に増幅した。そして増幅された amylase cDNA 断片を Southern blot 解析した。amylase isozyme 遺伝子の同定には、三種の amylase isozyme cDNA に特異的なプローブを使用した。正常甲状腺 2/2 例、Graves' 病の甲状腺 7/7 例、高分化癌 11/11 例では AMY1 と AMY2B ののバンドを認めたが、AMY2B の発現量は AMY1 の約 1/10 であった。低分化癌 2/2 では AMY1 の発現量は低下し、AMY2B と同様 PCR 法によってのみ確認できた。未分化癌 1/1 例、髓様癌 4/4 例では AMY1 のバンドは認めなかっただが、AMY2B はなお発現していた。AMY2A のバンドは全標本で認めなかった。

#### 〔総括〕

1. 正常甲状腺の濾胞細胞で AMY1 遺伝子が発現していた。また AMY2B 遺伝子も甲状腺組織で発現していたがその発現量は低く、AMY1 の約 1/10 量であった。一方、AMY2A の発現は認められなかった。
2. 正常甲状腺と Graves' 病の甲状腺では amylase 発現量に差がなく、甲状腺ホルモン合成能と amylase 産生能には関連がない事が示唆された。
3. 濾胞細胞由来の甲状腺癌では、その分化度と AMY1 の発現量は相関していた。また C 細胞由来の髓様癌では AMY1 の発現は認められなかった。しかし、AMY2B はいずれの甲状腺癌組織においても正常甲状腺と同様に低いレベルで発現していた。これらの成績は、AMY1 の発現量が甲状腺癌の組織発生、ならびに分化度の指標となり得ることを示している。

## 論文審査の結果の要旨

ヒトアミラーゼのアイソザイムは、唾液腺型(AMY1)と胰臓型(AMY2A)に加えて、新しくcDNAが単離されたAMY2Bの三種よりなる。アミラーゼは主として唾液腺と胰臓で産生されているが、他の組織での産生も報告されており、甲状腺にもアミラーゼが存在することは酵素化学的手法や免疫組織化学的手法によって示されてきた。しかし甲状腺のアミラーゼはいかなるアイソザイムか、甲状腺にアミラーゼmRNAは存在するのか、癌化とともに甲状腺のアミラーゼはどのように変化するのかなどは明らかにされていない。

本論文は、正常甲状腺の濾胞細胞でAMY1遺伝子が発現しており、濾胞細胞由来の甲状腺癌では、その分化度とAMY1の発現量は相関していることを明らかにするとともに、全甲状腺組織標本でAMY2B遺伝子が低いレベルで発現しているのに対して、AMY2A遺伝子は発現していないことを明らかにした。以上のこととは、AMY1の発現量が甲状腺癌の組織発生、ならびに分化度の指標となり得ることを示し、AMY2AとAMY2Bの発現は異なる組織特異性を持っていることを示したもので意義深く、今後の研究に多大な貢献をもたらすものと考えられる。故に本論文は学位に値すると判断した。