

原 著

## ヒト内分泌腺における insulin-like growth factor I の免疫組織学的検討

東京女子医科大学 第一病理学教室, \*同 糖尿病センター, \*\*同 第二内科学教室

フ	キヨウ	コバヤシ	マキオ	オオモリ	ヤスエ	ヒズカ	ナオミ
付	強	小林	楨雄	大森	安恵*	肥塚	直美**
トヨダ	チサト	カネダ	ヨシオ	モリカワ	トモコ	カトウヨウイチロウ	
豊田	智里	金田	良夫	森川	智子	加藤陽一郎	

(受付 平成4年8月14日)

### Immunohistochemical Localization of Insulin-Like Growth Factor I in Human Endocrine Tissues

**Qiang FU, Makio KOBAYASHI, Yasue OMORI\*, Naomi HIZUKA\*\*,  
Chisato TOYODA, Yoshio KANEDA, Tomoko MORIKAWA  
and Yoichiro KATO**

Department of Pathology,

\*Diabetes Center,

\*\*Department of Medicine II, Institute of Clinical Endocrinology,  
Tokyo Women's Medical College

Insulin-like growth factor I (IGF-I) is a polypeptide that stimulates a number of growth-associated processes in various tissues. Immunolocalization of IGF-I in human endocrine tissues from autopsied cases were studied by immuno-enzyme method using anti human IGF-I antisera. To elucidate the relationship between expression of IGF-I in pancreatic tissues and age, we used formalin-fixed normal human pancreatic tissue from subjects of varying age, ranging from premature infants to adults.

High IGF-I immunoreactivity was observed in adrenal cortex (particularly in zona fasciculata and zona reticularis), in oxyphilic cells of parathyroid gland and in follicular epithelium of thyroid gland. IGF-I was also stained in spermatocytes of testis and in some acidophilic cells of pars principalis of hypophysis, whereas no immunoreactivity in ovary.

In pancreatic tissues, it was found that islets of Langerhans (particularly in  $\beta$  cells) showed positive immunoreactivity for IGF-I and which gradually increased in intensity during late gestation, neonatal and childhood. The present results showed that IGF-I was located in human endocrine tissues. The localization of IGF-I shows the close correlation with the certain cell function of secretory processes and also suggests that IGF-I might influence on the human development.

## はじめに

Insulin-like growth factor I (以下 IGF-I) はペプチド性成長因子であり、細胞の増殖、分化、蛋白合成に関与している。また、IGF-I には insulin 様作用があり、IGF-I の投与により血糖降下作用が認められ、ラットにおいては IGF-I の持続皮下投与により個体の成長を促進するという報告がある<sup>1)2)</sup>。

生体の多くの細胞で IGF-I を産生する事実が明らかにされ、Hansson らはラットの各組織における IGF-I の免疫局在を観察している<sup>3)</sup>。副腎皮質腺腫、癌、および褐色細胞腫などの種々の腫瘍組織における IGF-I の免疫局在を観察した Kamio らは、腫瘍細胞の発生、分化との関連性についても考察している<sup>4)</sup>。

一方、胎児、新生児の発育に関連して、巨大児

における IGF-I の役割が注目されている。大森らは糖尿病妊婦に見られる巨大児においては、C-peptide immuno-reactivity (CPR) の増加と共に IGF-I も増加していることを初めて観察した<sup>5)</sup>。Heinze らはラット胎児血中の insulin と IGF-I との関連性を検討して、insulin 注射による IGF-I の増加を認めている<sup>6)</sup>。しかし、生体内特にヒトの内分泌腺組織における IGF-I の詳細な組織学的分布に関する研究はまだ少ない。今回、我々は人体剖検例を用いて、内分泌腺組織の IGF-I の免疫局在を観察し、膵組織については加齢による局在の変動を検討したので報告する。

### 材料と方法

#### 1. 対象

対象は東京女子医科大学病理学教室における内分泌腺疾患を除外した4例(表1)の剖検材料(下垂体, 上皮小体, 副腎, 甲状腺および性腺)であり, 加えて胎児(22~36週)4例, 新生児(出生28日以内)2例, 幼児(5カ月~6歳)2例, 成人(31歳)1例を用いて, 加齢に伴う膵臓における IGF-I の免疫局在の変動を観察した。検索した剖検材料は胎内死亡の例を除いて, 死後時間は3時間以内であった。

#### 2. 免疫組織学的検索

剖検材料(下垂体, 上皮小体, 副腎, 膵, 甲状腺および性腺)は採取後直ちに10~50%のホルマリン液で固定し, アルコール系列で脱水後, パラフィン包埋として薄切, 3 $\mu$ m 切片を作製, IGF-I 免疫局在を免疫染色で観察した。また, 膵組織は IGF-I とそれぞれ insulin, glucagon, somatostatin とを連続切片により染色し, 膵島内の各細胞におけるペプチド免疫活性と IGF-I 局在を観察した。免疫染色の方法は酵素抗体法(PAP法)<sup>7)</sup>で, 薄切した切片は3%の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に10分間浸し, 内因

性 peroxidase 活性を除去した後, 豚血清に室温30分反応させた。IGF-I はポリクロナール抗体を一次抗体として4℃にて12時間反応させた。Miyakawa らが radioimmunoassay (RIA) 法を用いて精製された IGF-I は multiplication stimulating activity (MSA), human growth hormone (hGH), insulin との交叉反応を示さず, IGF-I の抗血清の特異性を確認している<sup>8)</sup>。対照には家兎血清(DAKO社)を用いた。insulin, glucagon, somatostatin (DAKO社)の一次抗体は市販抗血清を用いた。

二次抗体は抗家兎豚血清(DAKO社, 1:100)を用いて37℃にて1時間反応させた。反応後, PAP複合液(DAKO社, 1:100)に37℃にて30分反応させた。また切片は各反応ごとに0.1M PBSにて15分間洗浄した。反応後の呈色は0.02% diaminobenzidine (DAB)を用い, Mayer's hematoxylin 液で核染色を行った。

膵組織内の IGF-I の免疫局在は, その陽性所見の程度に応じて, 陰性(-), 弱陽性(+), 強陽性(++)の3段階で, 半定量的に評価し検討した。

### 結果

#### 1. ヒト内分泌腺組織における IGF-I の局在

IGF-I は下垂体では後葉と中間部において陰性であったが, 前葉の一部の細胞が染色され, 連続切片で観察すると陽性細胞は好酸性細胞に一致していた。上皮小体の好酸性細胞および副腎皮質, 特に束状帯と網状帯の細胞はいずれも強陽性であったが, 副腎髄質には陰性であった。甲状腺の一部の濾胞上皮細胞は陽性で, 性腺については精巢間質の間細胞と精細管の精上皮細胞には弱い染色性が見られるが, 卵巣においては陰性であった(表2, 図1a~e)。すべての IGF-I の対照染色は陰性であった。

#### 2. 膵組織における IGF-I の局在

膵外分泌腺においては, 腺房細胞, 介在管, 導管に IGF-I 陽性細胞が散在性に認められ, 内分泌腺細胞においてはより強い陽性所見を認めた(表3)。

insulin, glucagon, somatostatin の染色性と IGF-I の局在との関連性を連続切片で観察する

表1 検索症例

番号	年齢	性	病理診断
1	6歳	男	心血管奇形
2	27歳	男	悪性リンパ腫
3	39歳	女	慢性腎不全
4	42歳	男	末梢神経炎

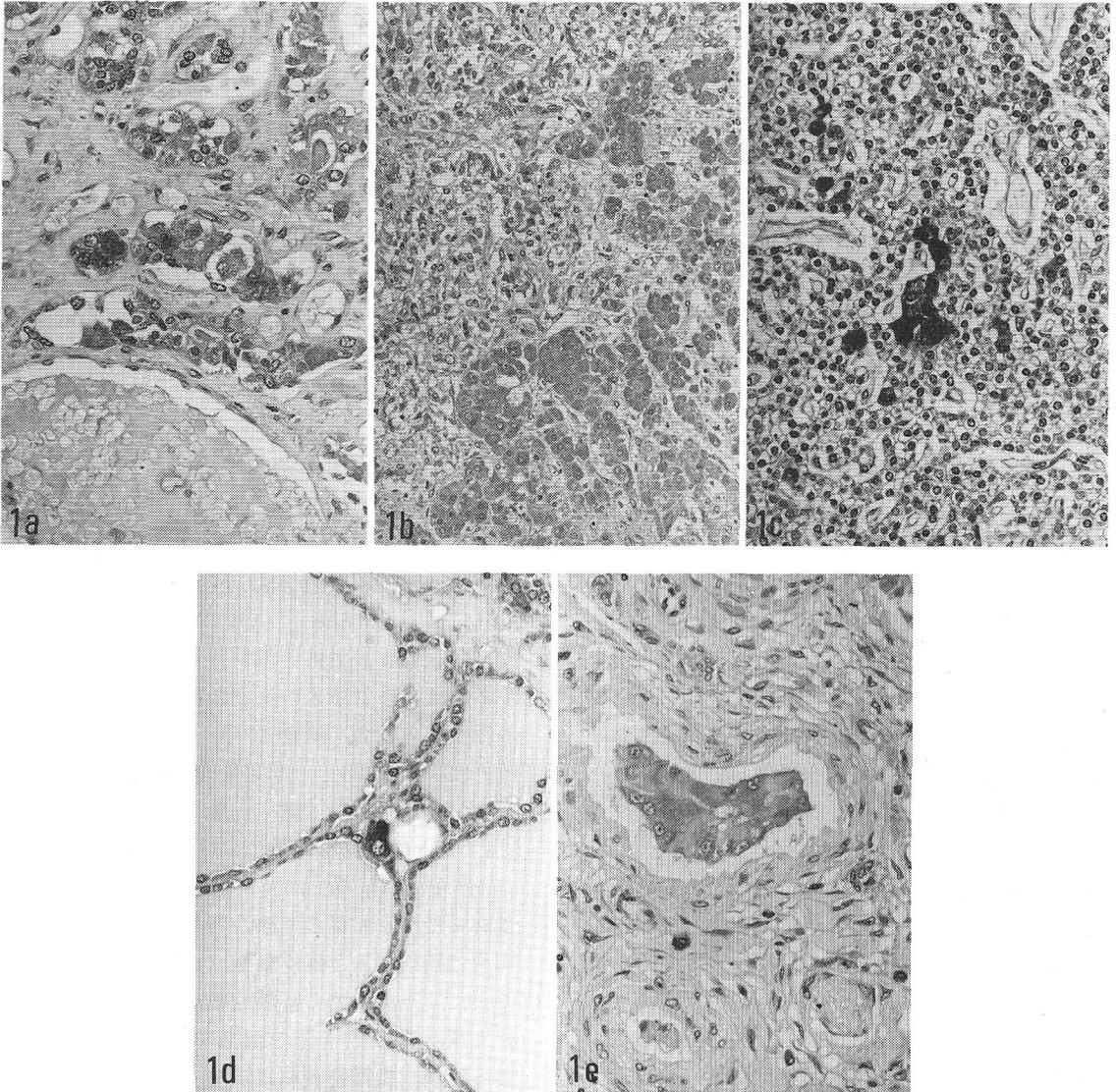


図1 ヒト下垂体 (a), 副腎 (b), 上皮小体 (c), 甲状腺 (d), 精巣 (e) における IGF-I の免疫局在

下垂体前葉の好酸性細胞と上皮小体の好酸性細胞, 副腎皮質の束状帯と網状帯には強い陽性構造を示し, 甲状腺の濾胞上皮細胞と精巣の精上皮細胞, 間細胞にも染色性を認めた (PAP 法, a, d, e は400倍, b, c は200倍)。

と, IGF-I は主に  $\beta$  細胞に局在したが,  $\alpha$ ,  $\delta$  細胞にも染色性を認めた (図 2a~d)。ヒト内分泌腺および膵臓における IGF-I の局在は表 2, 3 に示した通りである。

### 3. 加齢による膵臓内の IGF-I の免疫局在変化

図 3a, b に示すように, 胎盤22週では IGF-I は

膵外分泌腺の腺房細胞と導管, および膵内分泌腺細胞に弱い染色性を認めた。同じ時期に膵島における insulin, glucagon, somatostatin の染色は陽性であった。妊娠後期以後 (36週) では膵内, 外分泌腺における IGF-I 陽性細胞は恒常的に認められた (図 4a, b)。成人においては膵内, 外分泌

表2 ヒト内分泌腺における IGF-I の免疫組織学的局在

下垂体	
前葉好酸性細胞	±
後葉 (神経葉)	-
中間部	-
甲状腺	
濾胞上皮細胞	±
上皮小体	
好酸性細胞	+
主細胞	-
副腎	
皮質	
束状帯	+
網状帯	+
球状帯	±
髄質	-
精巣	
間細胞	±
精上皮細胞	±
卵巣	-

+ : 染色陽性, - : 染色陰性,  
± : 染色されない場合もある。

表3 ヒト臓腑における IGF-I 免疫組織化学的局在

細胞	IGF-I
外分泌腺	
腺房細胞	±
腺房中心細胞	+
介在導管	±
導管	+
内分泌腺	
α細胞	±
β細胞	+
δ細胞	±

+ : 染色陽性, - : 染色陰性,  
± : 染色されない場合もある。

腺では明瞭な染色性が認められた。ヒト胎児, 新生児, 幼児, 成人における膵 IGF-I の免疫組織学的局在は表4に示した通りである。

### 考 察

IGF-I は主として, 肝臓で産生され, また下垂体の成長ホルモン (GH) により, その産生が調節されていることが臨床的にまた動物実験から明らかにされている。培養したラットの膵, 線維芽細胞がいずれも IGF-I を産生することから多くの組織が IGF-I 産生能を持つことが証明されている<sup>9)10)</sup>。

表4 胎児, 新生児, 幼児, 成人の臓腑における IGF-I の免疫組織学的局在

番号	年 齢	性	腺房細胞	導管	腺房中心細胞	膵島
1	胎内22週	女	±	+	±	±
2	30週	女	±	+	±	±
3	36週	女	+	+	+	+
4	36週	男	±	±	-	+
5	出生12時間	女	±	+	++	+
6	3日	女	+	+	++	+
7	28日	女	+	+	+	+
8	5ヵ月	女	+	++	++	+
9	6週	男	+	+	±	++
10	31歳	女	±	+	++	++

- : 陰性, ± : 微弱陽性, + : 弱陽性, ++ : 強陽性。

また IGF-I の産生, 分泌には GH の他, 下垂体のプロラクチン (PRL), 甲状腺ホルモン, 胎盤のラクトゲンおよび性腺ホルモンの関与も指摘されている<sup>11)</sup>。今回の検索により下垂体, 甲状腺濾胞上皮細胞および精巣の間細胞, 精上皮細胞ではわずかでありながら, IGF-I の免疫局在が証明され, また, 副腎皮質の細胞と上皮小体好酸性細胞に強い陽性構造が認められたことは, IGF-I がそれぞれの内分泌腺組織のペプチドの産生, 分泌に関与することを示唆している。

insulin も IGF-I の産生を調節する因子の一つであると考えられる。in vitro においては IGF-I は insulin と同様に glucose の酸化と輸送等の作用をもっている<sup>12)</sup>。streptozotocin 投与によるラットの実験糖尿病では血中の IGF-I は低下し, さらに insulin で治療すると, 増加するという報告もあり, IGF-I の分泌と insulin との関連性を示唆する報告がみられる<sup>13)</sup>。今回の検索では, IGF-I は膵の内, 外分泌腺に陽性細胞を認め, 特に膵島においては, 主として β 細胞に局在し, insulin の分泌との関連性を強く示唆するものである。

ヒト胎児, 新生児の成長, 発育は内分泌腺における各種のホルモンと成長因子の産生の分泌と関連があることから, IGF-I は insulin と同様に胎児, 新生児の発育, 成長に重要な役割を果たしていると想定されている<sup>14)</sup>。我々の検索では IGF-I

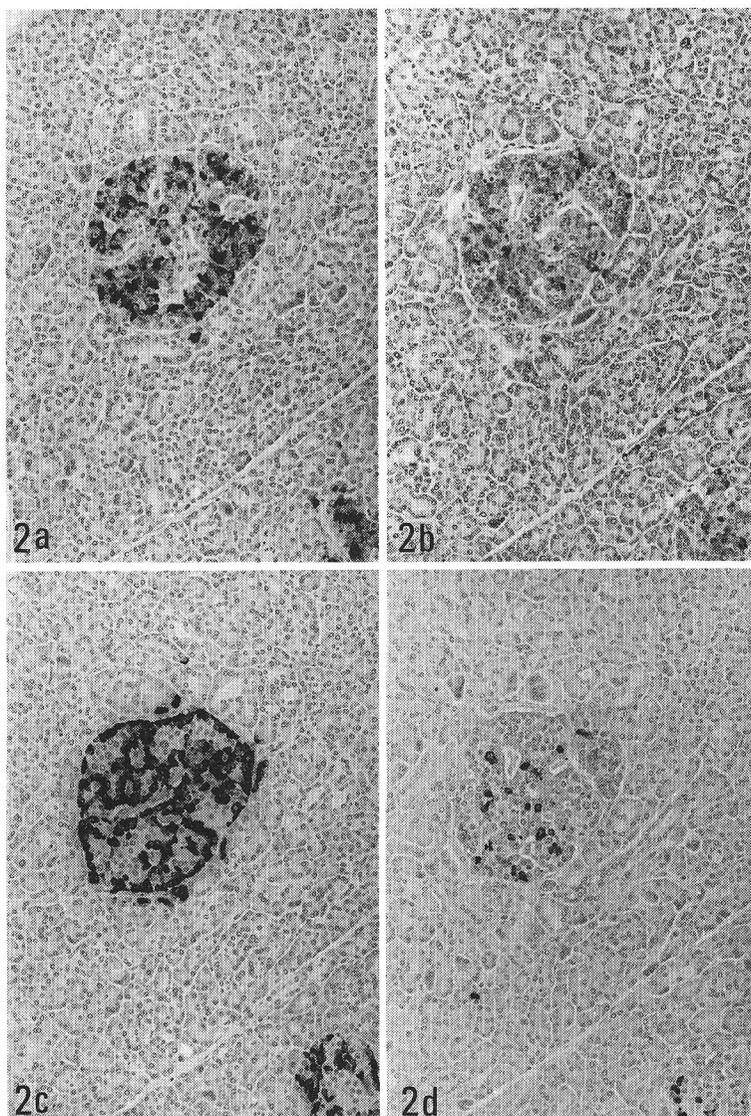


図2 ヒト膵組織における insulin (a), IGF-I (b), glucagon (c), somatostatin (d) の免疫局在  
 IGF-Iは膵内分泌腺においては主に $\beta$ 細胞に局在し, $\alpha$ , $\sigma$ 細胞にも染色性も認められた。外分泌腺にも染色性を認めた (PAP法,  $3\mu$ 連続切片, 200倍)。

局在は22週齢の膵内分泌腺ですでに発現しており、妊娠末期の胎児の膵には、より強い染色性を認めている。妊娠後期における IGF-I の染色性の増加は、IGF-I が生体の発育に重要な役割を担っているというこれまでの学説を支持する所見である。

#### まとめ

1) 免疫組織学的にヒト内分泌腺における IGF-I の局在を観察した。下垂体の好酸性細胞と甲状腺濾胞上皮細胞の一部に陽性細胞が認められ、副腎皮質の束状帯、網状帯、上皮小体の好酸性細胞に強い陽性構造を認めた。性腺内分泌腺では精巣の間細胞と精上皮細胞に弱い局在が示さ

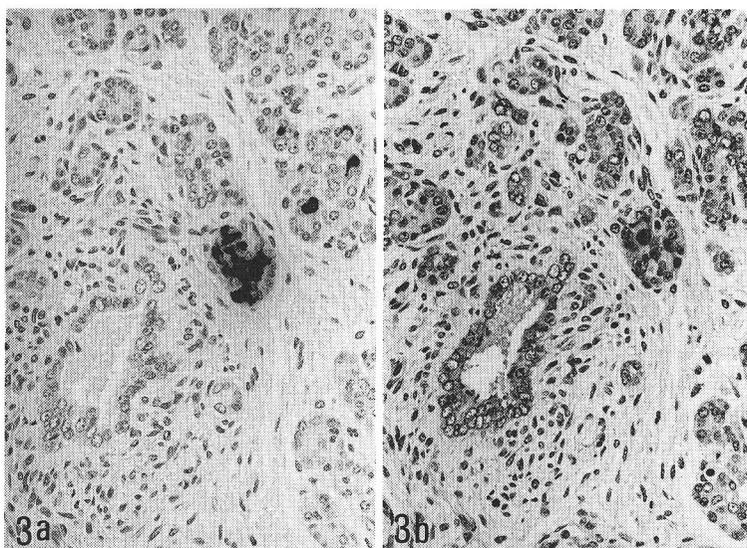


図3 22週の胎児の膵組織における insulin (a), IGF-I (b) の免疫局在  
IGF-Iは膵内, 外分泌腺において弱い染色性を認め, 膵島における insulin 染色は明瞭であった (PAP法, 100倍).

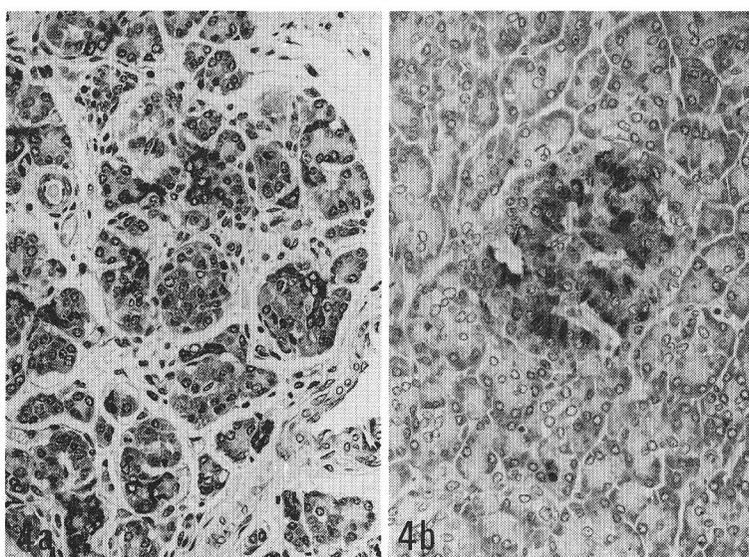


図4 36週の胎児 (a), 6歳の幼児 (b) の膵組織における IGF-I の免疫局在  
膵内, 外分泌腺における染色性が強く認められた (PAP法, 100倍).

れ, 卵巣において陰性であった。

2) 膵内分泌腺においては, IGF-Iは主に $\beta$ 細胞に局在していることが明らかになった。また, 外分泌腺においては腺房細胞, 介在管, 導管に散在性に認められた。

3) 加齢による膵 IGF-I の免疫局在の変化に関しては, 胎齢22週で膵内, 外分泌腺細胞に弱い染色性を認め, 妊娠後期に増強される傾向があり, 成人においては膵内, 外分泌腺で恒常的な陽性細胞が認められた。

## 文 献

- 1) Zapf J, Schmid CH, Froesch ER et al: Biological and immunological properties of insulin-like growth factor (IGF) I and II. Clin Endocrinol Metab 131 : 3-30, 1984
- 2) Hizuka N, Takano K, Shizume K et al: Insulin-like growth factor I stimulates growth in normal growing rats. Eur J Pharmacol 125 : 143-146, 1986
- 3) Hansson HA, Nilsson A, Isgaard J et al: Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor I in the adult rat. Histochemisjtry 89 : 403-410, 1988
- 4) Takihiro K, Kazuto S, Kioko K et al: Immunoreactivity and receptor expression of insulin-like growth factor I and insulin in human adrenal tumors. Am J Pathol 138 : 83-91, 1991
- 5) Omori Y, Minei S, Shimizu M et al: Insulin-like growth factor I and CPR levels in the umbilical cord blood of newborns from diabetic mothers. 東女医大誌 55(10・11) : 971-978, 1985
- 6) Heinze E, Thi NC, Vetter U et al: Interrelationship of insulin and somatomedin activity in fetal rats. Biol Neonate 41 : 240-245, 1982
- 7) 川生 明 : 組織細胞化学。(第9回組織細胞化学講習会編) pp89-110, 学際企画, 東京 (1984)
- 8) Mirakawa M, Hizuka N, Takano K et al: Radioimmunoassay for insulin-like growth factor I (IGF-I) using biosynthetic IGF-I. Endocrinol Jpn 33(6) : 795-801, 1986
- 9) Swenne I, Hill DJ, Srain AJ et al: Growth hormone regulation of somatomedin-C/insulin-like growth factor I production and DNA replication in fetal rat islets in tissue culture. Diabetes 36 : 288-294, 1987
- 10) Clemmons DR, Underwood LE, Van Wyk JJ et al: Hormone control of immunoreactive somatomedin production by cultured human fibroblast. J Clin Invest 67 : 10, 1981
- 11) 對馬敏夫 : ソマトメジンの生物学的作用, 「成長ホルモン・GRF・IGF」(鎮目和夫編) pp166, 朝倉書店, 東京 (1989)
- 12) Froesch ER, Schmid C, Schander J et al: Actions of insulin-like growth factors. Annu Rev Physiol 47 : 443, 1985
- 13) Maes JM, Ketelslegers JM, Underwood LE: Low plasma somatomedin-C in streptozotocin-induced diabetes. Diabetes 32 : 1060, 1983
- 14) Kerstin H, Vicki RS: Somatomedin levels in childhood, adolescence and adult life. Clin Endocrinol Metab 13 : 91-112, 1984