

D-13 肺癌におけるGAP遺伝子の解析

産業医科大学第二外科¹，Karolinska Institutet²，
Simmons cancer center, UT Southwestern Medical Center³
○光富徹哉¹，E. Friedman²，小山倫浩¹，大崎敏弘¹，
中西良一¹，白日高歩¹，A. Gazdar³

我々は、肺癌において*ras* 遺伝子突然変異を検索し、非小細胞肺癌において変異は約30%に認められ独立した予後不良因子であること、小細胞肺癌には*ras*変異は例外的であること等を報告してきた。*ras*p21の関与する信号伝達系において、*ras*GAP (GTPase activating protein)は GTPの結合した活性型*ras*p21を非活性型であるGDP結合型へと変換し*ras*p21を負に制御している。また、GAP遺伝子の存在する染色体5q12-13領域は肺癌においてしばしば異常が認められる。そこで、我々はGAP遺伝子が特に*ras*突然変異をもたない肺癌において癌抑制遺伝子として働いている可能性について検討した。53例の肺癌細胞株（非小細胞肺癌 33、小細胞肺癌 23）を用いてSouthern blottingにより遺伝子再配列をSSCP法 (single strand conformation polymorphism) およびDGGE法 (denaturing gradient gel electrophoresis) によってGAPのcatalytic domainの点突然変異を検索した。検索し得た範囲において、GAP遺伝子の異常は検出されず、肺癌の病理発生において突然変異によるGAP遺伝子の不活化は重要でないと考えられた。

D-15 蛍光 in situ hybridization (FISH) 法によるヒト肺癌細胞の染色体異常の検出

北海道大学医学部第1内科¹，同 第2外科²
○加藤政和¹，宮本 宏¹，秋江研志¹，木下一郎¹，
藤野通弘¹，石黒昭彦¹，秋田弘俊¹，岡安健至²，
川上義和¹

〔目的〕ヒト染色体特異的プローブを用い肺癌細胞に対してFISHを行ない、細胞間期における染色体数異常の検出を試みた。〔方法〕手術または剖検で得た肺癌組織を細切、細胞を単離し、酢酸メタノールにて固定しスライドガラス上に展開した。70%フォルムアミドで変性後、染色体特異的DNAプローブ(3, 7, 17, X, Y)にて、一昼夜ハイブリダイゼーションし、FITC-avidinによって蛍光を付け、蛍光顕微鏡で核1個当たりのスポット数を数えた。〔結果と考察〕対照である成人男性白血球においては、3番，7番，17番染色体プローブに対するスポット数は2個，X，Y染色体プローブに対するスポット数は1個がそれぞれ約95%認められた。肺癌細胞ではどの染色体プローブに対しても、異数性を示し、3個，4個，5個と染色体数増加を示すものや、逆に、0個，1個と染色体数減少を示すものもあった。FISHを用いることにより肺癌細胞の細胞間期において、染色体異常を検出することが可能であった。しかし、症例あるいはプローブによっては、非特異的反応のためスポットが判別できない例や、まったくスポットが検出できない例があるなど技術的問題もあり、今後の改善を要する。

D-14 肺癌における nm 23 発現の検討

長崎市立市民病院内科¹，長崎大学第二内科²，同腫瘍医学³
○木下明敏¹，中野正心¹，広瀬清人²，早田 宏²，
岡三喜男²，原 耕平²，珠玖 洋³

【目的】nm 23 遺伝子は最近発見された遺伝子で、肺癌を中心に研究され、リンパ節転移や予後との関連が報告されてきている。今回我々は、肺癌の切除標本を用いてnm 23 mRNA 発現について臨床的な検討を行った。

【対象】手術にて切除された新鮮標本が得られた肺癌62症例を対象にした。内訳は、男性44例，女性18例で、組織型分類では、腺癌39例，扁平上皮癌18例，大細胞癌2例，小細胞癌1例，カルチノイド1例，癌肉腫1例である。

【方法】肺癌組織よりRNAを抽出し、nm23 mRNAの発現をNorthern blot hybridizationにて解析した。また、一部の肺癌症例については原発巣およびリンパ節転移巣のバラフィンブロックから免疫組織染色も行った。nm 23 mRNA 発現量と、性、腫瘍組織型、分化度、腫瘍のサイズ、pTNM因子、CEAとの関連について統計学的検討を行った。

【結果】nm 23 mRNA 発現量は、腫瘍のサイズ、pT因子と関連したが、性、腫瘍組織型、pN、pM因子とは、関連はなかった。また免疫染色とも、関連性は認められなかった。

【結語】肺癌においては、nm23 mRNAの発見は、リンパ節転移よりも腫瘍量に関連すると考えられた。

D-16 ヒト肺腺癌細胞株(OZ-1)および胚細胞腫細胞株(OZ-3)の樹立とMMP(matrix metalloprotease)産生能に関する検討

防衛医大生化学第一¹，同 第2外科²
○尾関雄一¹，高木啓吾²，間宮群二¹，尾形利郎²

悪性腫瘍の浸潤、転移機構にMMPが重要な役割を果たしていることが知られている。今回、我々は肺腺癌および縦隔胚細胞腫症例の手術材料から細胞株を樹立し、そのMMP産生能とTNF α 、IL-1 α 刺激がMMP活性におよぼす影響についてzymogramを用いて検討した。また、これらのサイトカインが浸潤能に及ぼす影響についてBoyden Chamberを用いた in vitro invasion assayにより検討した。

結果：

1. OZ-1にMMP-2, 3, 9の産生を、また、OZ-3にMMP-2, 9の産生を認めた。
2. TNF α 、IL-1 α (10ng/ml, 24hr)刺激によりOZ-1, 3のMMP-2およびMMP-9 活性の上昇が認められた。
3. OZ-1にはTIMP (tissue inhibitor of metalloprotease)の産生は認められず、また、これらのサイトカインによる刺激でもその産生は誘導されなかった。
4. in vitro invasion assayでは、OZ-1, 3はTNF α 、IL-1 α 刺激により浸潤能が著しく亢進した。

結語：悪性腫瘍細胞のMMP産生とサイトカインによる産生の制御が悪性腫瘍の浸潤、転移機構に深く関わっている可能性が示唆された。