

475

逆転写酵素 (RT) と遺伝子増幅法 (PCR) による胸水癌細胞アミラーゼ発現の解析

順天堂大学呼吸器内科

○瀬山邦明, 大和田明彦, 瀬戸口靖弘, 高橋さつき, 高橋英気, 貫和敏博, 吉良枝郎

目的: 肺癌細胞は ADH, ACTH, アミラーゼ等の生理活性物質を異所性あるいは過剰に産生する場合がある。これらの生理活性物質の発現・産生は癌細胞の clonality marker として注目される。今回、我々は微量の検体で、放射性同位元素を用いず短時間で感度よく遺伝情報を解析できる PCR の有用性に着目し、アミラーゼ産生肺癌例で胸水癌細胞の mRNA からその発現の有無を解析した。方法: class V と診断された癌性胸膜炎症例 (肺腺癌一例、乳癌一例) の胸水癌細胞から CsCl 法で RNA を抽出した。アミラーゼ遺伝子より exon2-3 接続部20mer, exon4一部18mer の合成単鎖 DNA を、それぞれ sense 及び antisense primer として使用した。抽出した RNA に RT を反応させて cDNA とし、Saiki らの方法に従い PCR を行った。反応産物中の392bp 長の DNA band の有無をもってアミラーゼ遺伝子の発現を検討した。対照には γ -actin mRNA の一部 (364bp) を同一方法で増幅した。

結果: 肺腺癌例ではアミラーゼの強い発現を、乳癌例ではごく微量の発現を認めた。一方、恒常発現遺伝子対照である γ -actin は両例で同程度の増幅を示し、アミラーゼ遺伝子の発現は癌細胞種による差が顕著であった。RT/PCR 法は従来の方法論に比し簡便で、微量の検体から短時間で腫瘍細胞由来物質の遺伝情報を感度よく解析するのに有用な方法と考えられた。

477

Fluorescent in situ hybridization を利用した肺癌細胞染色体異常の検出

長崎大学第一外科

○安武 亨, 田川 泰, 宮下光世, 岡田代吉, 石川 啓, 原 信介, 岡 忠之, 辻 博治, 謝 家明, 川原克信, 綾部公懿, 富田正雄

(はじめに) 染色体特異的反復 DNAプローブを利用した。Fluorescent in situ hybridization は染色体分染法と比較して容易にしかも interphase の細胞にて染色体異常を検出できる新しい方法であるが、今回、肺癌細胞に対して本法を行ない染色体の数的異常の検出を試みたので報告する。(材料と方法) 1989年4月以降に当科にて切除された肺癌のうち現在6例について施行した。プローブは固形癌において比較的異常が多いとされる染色体の1つである11番染色体のプローブでビオチン標識したものをを用いた。方法はまず細切した細胞を低張液処理後酢酸エタノールにて固定しスライドガラス上に展開した。次に、プローブと標的染色体を heat denature した後 overnight で hybridization した。検出は FITC-avidin によって行い、蛍光顕微鏡にて核1個当りの spot 数を400個の細胞につき数えた。(結果) 全例とも2個の spot を最も多く認めたが、3個、4個の spot を比較的多く認めるものもみられた。(おわりに) さらに症例数を重ね、臨床的悪性度やDNA量との関連を検討したい。

476

原発性肺癌における ras 癌遺伝子産物の発現及び核 DNA 量の予後因子としての評価

北海道大学医学部第一内科

○原田真雄, 磯部宏, 羽田均, 石黒昭彦, 清水透, 荒谷義和, 宮本宏, 川上義和

原発性非小細胞肺癌における ras 癌遺伝子産物の発現を調べると共に、核 DNA 量を測定し、術後予後との関係について検討した。

術死及び他病死を除く96例のホルマリン固定パラフィン包埋組織を材料とした。ras 癌遺伝子産物 p21 の発現は、p21 に対するモノクローナル抗体 rp-35 を用いた免疫染色 (ABC法) の反応性により (-), (+), (++) の3群に分けた。核 DNA 量は、組織を単離裸核化した後、PI染色した核 DNA をフローサイトメトリーにて測定した。

p21 の発現が強い群は有意に予後不良であり (3群の5生率は各々64.1%, 38.0%, 11.5%)、またDNA diploidy 群に比べて、DNA aneuploidy 群は有意に予後不良であった (5生率は各々69.0%, 37.2%)。重回帰分析により、p21 の発現及び核 DNA 量はいずれも有意な予後因子であった。

さらに、p21 の発現と核 DNA 量とによる組み合わせについて検討した。DNA diploidy であり且つ p21 の発現が (-) あるいは (+) の群は10例全員が生きているのに対して、DNA aneuploidy であり且つ p21 の発現が (++) の群は12例中5年生存は1例のみであった。重回帰分析でも、この組み合わせによる分類は、病期分類と並んで最も重要な予後因子となることが示された。

478

各種測定装置を用いた肺癌の核DNA量の測定及び機器の比較検討

東京医科大学病院外科¹、同病院病理部²

○鬼頭隆尚¹、池田徳彦¹、三浦弘之¹、河手典彦¹、小中千守¹、加藤治文¹、早田義博¹、海老原善郎²

肺癌は生物学的活性が高く、臨床的に悪性度が高く予後は未だかなり不良である。これらには種々の因子が関与している。核DNA量の測定はその一因子として各方面で研究されている。但しその測定法をめぐり未だ論議は尽くされていない。今回肺癌40例 (扁平上皮癌13例、腺癌22例、小細胞癌3例、転移性肺癌2例) の手術材料をスウェーデン・カロリンスカ病院腫瘍病理学教室にて顕微分光測光法 (MSP)、イメージ分析装置 (SAMBA 200, CAS 100) 及びFCMにて核DNA量測定し比較検討してみた。FCM (Leitz MPV) は手術で得られた材料を冷凍保存したもの10例について、その他の測定は手術材料のスタンプを Feulgen 染色したもの40例中38例が Aneuploidy pattern で、個々の histogram pattern は類似型を示した。FCM において僅か10例測定したのみであったが2例に於いてMSP等でAneuploidyを示したものがDiploidyとして測定された。これは測定法が基本的に異なっているために生じたものと考えられた。これらの測定法の長所、短所を考察すると共に今後の在り方を検討した。