

P-281 肺癌に対するアミノレブリン酸を用いた術中光化学診断の試み

筑波大学 臨床医学系 外科¹⁾，筑波大学 大学院 医学研究科²⁾，筑波大学 附属病院 呼吸器外科³⁾，筑波大学 基礎医学系 病理⁴⁾ ○石川成美¹⁾，南 優子²⁾，小澤雄一郎³⁾，鈴木久史³⁾，酒井光昭³⁾，佐藤幸夫¹⁾，山本達生¹⁾，鬼塚正孝¹⁾，榊原 謙¹⁾，飯島達生⁴⁾，野口雅之⁴⁾

【目的】腫瘍親和性光感受性物質を用いた肺癌の術中蛍光診断の可能性を検討することを目的とする。【方法】本臨床研究計画は本学の医の倫理委員会の承諾を得ており，更にインフォームドコンセントを得られた開胸術予定患者を対象とする。光化学診断 (Photodynamic diagnosis; PDD) 施行 5 時間前に 5-アミノレブリン酸 (ALA; 10 mg/kg 体重) を経口投与。開胸術野にファイバーにて誘導した 405 nm を中心とした青色光を照射，励起された 635 nm をピークとする赤色蛍光像を高感度カメラ (浜松ホトニクス) にて観察記録し，術中所見および病理組織学的所見と対比検討する。【結果】術中診断計画に先立ち，肺癌に対する左肺下葉切除後に認められた声門下腔の 3 mm の異時多発扁平上皮癌病巣を ALA 投与後に LIFE-lung system で観察した。この際に認められた赤色蛍光は，その後，本例に対する光線力学的治療施行時に観察したフォトリン投与後の赤色蛍光像より鮮明であった。現在までの術中 PDD 施行例は 2 例。80 才女性，術前 CT にて胸膜播種が疑われたため，まず小開胸下に胸腔内を観察。1~2 mm 大の白色小結節は，青色光で励起され赤色蛍光を呈した。迅速病理診断で播種巣と確認，原発巣のみの切除を施行した。61 才女性。上下葉間に跨り存在した腫瘍の局在は胸膜から透見される赤色蛍光で確認できた。胸水，播種はないが胸腔洗浄細胞診 class V，腫瘍以外の胸膜に異常蛍光を検知できなかった。2 例とも術後経過に問題はなかった。【結論】ALA を用いた PDD は手術中の腫瘍の局在，胸膜浸潤・播種の有無などの肺癌の広がり診断にとって有用な一つの補助手段となりうる。転移リンパ節同定への応用も期待できる。

P-283 2 種の肺癌細胞株における微小管形成中心と染色体分配の対比研究

佐世保市立総合病院¹⁾，長崎大学 第一外科²⁾ ○近藤正道¹⁾，赤嶺晋治²⁾，岡 忠之²⁾，南 寛行¹⁾，綾部公懿²⁾

【目的】中心体は細胞の染色体分配や極性に関与するが，癌細胞では種々の異常が報告され始めている。今回我々は 2 種の肺癌細胞株における M 期の microtubule organizing center (MTOC) の数，形態学的異常と染色体の動態を観察し検討したので報告する。(対象と方法) 肺癌細胞株 A549 と NCI-H520 を単離浮遊し，それぞれ DMEM と RPM1640 培地内で 48 時間培養後，thymidine と nocodazole を用いて同調培養し，スライドをメタフル固定した。そこに γ -tubulin と α -tubulin に対して二重免疫蛍光染色を施行し，M 期の前期~前中期，中期前半の MTOC の数，形態的な観察を行い，それに続く終期の染色体の動態を蛍光顕微鏡にて観察した。M 期内の各時点は核の状態で判定した。(結果) 前期~前中期，中期前半の MTOC 数 3 個異常の出現頻度は，普通培養時で A549 は 4.8%，0%，NCI-H520 では 10.2%，3.5% であった。thymidine 付加 (17 時間付加，リリース後 7 時間) のみで培養した場合，A549 は 10.3%，5.4%，NCI-H520 では 28.6%，17.9% であった。nocodazole 付加 (3 時間) のみの場合，A549 は 16.8%，8.5%，NCI-H520 では 30.7%，8.5% であった。thymidine を 17 時間付加しリリース後 6 時間で nocodazole 付加 3 時間の場合，A549 は 79.2%，20.5%，NCI-H520 では 80.9%，60.9% であった。終期で 3 極分裂以上の頻度は，普通培養時で A549 は 0.7%，NCI-H520 では 1.9%。thymidine 付加のみの場合，A549 で 0.4%，NCI-H520 で 8.3%。nocodazole 付加のみの場合，A549 は 0%，NCI-H520 では 0.5%。thymidine 付加しリリース後 nocodazole 付加の場合，A549 は 0.5%，NCI-H520 では 4.6%。いずれも場合も 2 極分裂は，A549 ではマイクロ核や核サイズの不均等の頻度が多く，NCI-H520 では核の断片化が多く観察された。(まとめ) 肺癌細胞の集団は MTOC 異常に続く分裂異常と細胞死のバランスにより形成されると考えられる。

P-282 ヒト肺がんの悪性化に関与する第 22 染色体上のがん抑制遺伝子の探索

国立がんセンター研究所 生物学部¹⁾，徳島大学医学部第三内科²⁾ ○西岡真輔^{1,2)}，河野隆志¹⁾，大塚綾香¹⁾，曾根三郎²⁾，横田 淳¹⁾ 肺小細胞がん及び進行肺非小細胞がんでは第 22 染色体長腕 (22q) の LOH が高頻度 (>60%) に検出されるため，22q には肺がんの悪性化に関与するがん抑制遺伝子の存在が示唆される。しかし，肺がんにおける 22q 欠失の標的遺伝子はまだ同定されていない。そこで，22q に存在する未知のがん抑制遺伝子の単離を目的として，肺がん細胞株 46 例を対象に，22q 上の 58 個の STS マーカーを用いてホモ欠失を探索したところ，Lu24 小細胞がん細胞株において 22q12.1 にホモ欠失が検出された。ホモ欠失のサイズは 428kb と推定され，欠失領域内には部分的に単離されていた *SEZ6L* 遺伝子と *bk125H2.1* 遺伝子が存在していた。そこで，ゲノム配列から GENSCAN プログラムを用いて，エクソンを推定し，RT-PCR 法により，*SEZ6L* の全長 cDNA の塩基配列を決定した。その結果，*SEZ6L* は 1024 アミノ酸からなる膜タンパク質をコードしていた。*SEZ6L* 遺伝子は，正常肺を含めた様々なヒト組織で発現していたが，肺がん細胞株では 46 例中 14 例 (30%) にのみ発現していた。肺がん細胞株 46 例と肺がん手術検体 46 例を対象に *SEZ6L* 遺伝子変異の検索を行ったところ，細胞株 3 例 (7%) でミスセンス変異が，手術検体 1 例 (2%) でエクソン 4 のスプライス受容部位の近傍に 1 塩基欠失変異が検出された。以上の結果は一部の肺がんの発生や進展に *SEZ6L* 遺伝子の genetic あるいは epigenetic な変化が関与していることを示している。しかし，22q へミ欠失の頻度に比べ，*SEZ6L* 遺伝子の変異の頻度が低いことから，Lu24 ホモ欠失領域には他の遺伝子が，がん抑制遺伝子として機能している可能性がある。現在，*bk125H2.1* 遺伝子の全長 cDNA のクローニング及び肺がん細胞における変異の解析を行っている。

P-284 肺癌における腫瘍内 CEA 濃度の測定意義について

県立愛知病院胸部外科 ○内田達男，東村恭輔

【目的】肺癌組織内の CEA 濃度を測定し，血中濃度と組み合わせることにより予後因子となり得るかを検討した。【対象・方法】平成 6 年 8 月から 12 年 12 月までに当院で行った肺癌切除症例 192 例中病理病期 1 期の 44 例を対象とした。切除時に腫瘍に切開を加え流出した血液中の CEA 濃度を腫瘍内濃度とし，術後血行性再発との関係を検討した。年齢は 44 歳から 77 歳。男性 34 例，女性 10 例。組織型は腺癌 25 例，扁平上皮癌 16 例，腺扁平上皮癌 3 例であった。【結果】44 例中術前血中 CEA 濃度は 32 例が 5.0ng/ml 以下であったが，腫瘍内 CEA 濃度は 32 例が 5.1ng/ml 以上 (6.9~1538 平均 200.5ng/ml) であった。10 例に血行性再発が認められたが，A 群 (12 例)：血中，腫瘍内ともに CEA5.0ng/ml 以下，B 群 (20 例)：血中 CEA 5.0ng/ml 以下，腫瘍内 CEA5.1ng/ml 以上，C 群 (12 例)：血中，腫瘍内ともに CEA5.1ng/ml 以上の 3 群に分けた場合，再発率は A 群 33% (4/12)，B 群 5% (1/20)，C 群 42% (5/12) で，B 群と A+C 群間に有意差 ($P < 0.05$) を認めた。【考察】肺癌組織内の CEA 濃度が高値にもかかわらず，血中 CEA 濃度が正常値である場合，なんらかのバリエーションが保たれている状態が示唆され，この様な症例では血行性再発が少ないことより，血中・腫瘍内 CEA 濃度の組み合わせは 1 期症例の予後因子になり得ると思われる。