

365 G分染法およびfluorescence in situ hybridization (FISH)法を用いた子宮筋腫における染色体異常の検討

広島大, 広島市立安佐市民病院*

林 聡, 三春範夫, 中野正明, 佐村 修,
児玉尚志, 原 鐵晃, 大濱紘三, 岡本悦治*

【目的】近年, 子宮筋腫をはじめとする良性腫瘍において12番染色体の異常が証明されている。我々も子宮筋腫と染色体異常の関連について報告してきたが, 今回, G分染法による検討を行うとともに, 分裂中期細胞が得られなかった症例についてはFISH法を用いて12番染色体の関与を検討した。

【方法】子宮筋腫の診断で摘出された48例の子宮より79個の筋腫核を採取し, 組織培養により染色体標本を作製し, G分染法を用いてInternational System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN)に基づいて核型分析を行った。また核型分析可能であった25個および不可能であった10個の計35個の筋腫核では, 分裂中期細胞に対して12番染色体に特異的なwhole painting probeとalpha-satellite probeを同時に用いたdual color FISH法を行い, 蛍光顕微鏡下に両probeのシグナルのパターンより12番の構造異常および数異常の有無を検討した。【成績】G分染法による核型分析は46個(58.2%)の筋腫核において可能で, うち8個(17.4%)に異常を認め, その内訳は, t(1;13), t(4;12), t(6;10), del(6), del(7), -14/-14, -22, mar, polyploidyが各1例であった。FISH法による分析の結果, 核型分析可能であった2個の筋腫核に12番染色体の構造異常を認め, 分析不可能であった1個の筋腫核にも12番染色体の構造異常を認めた。【結論】今回の検討より, 子宮筋腫の発生には12番染色体をはじめとする染色体異常が関与している可能性が示唆された。また, FISH法は分裂中期細胞が十分に得られない症例の細胞遺伝学的検討にも有用であることが判明した。

366 培養筋腫細胞におけるGn-RH analogueの細胞周期調節因子の発現抑制

信州大学

小林弥生子, 翟 雅麗, 小口 治, 清水元彦,
二階堂敏雄, 藤井信吾

【目的】Gn-RH analogue (Gn-RHa) を長期間子宮筋腫患者に投与すると筋腫の縮小を見るが, その作用機序は卵巣機能の抑制によるものと考えられてきた。しかし筋腫培養細胞に蛍光ラベルしたLH-RHが結合すること, またGn-RHaの添加で細胞形態変化が起こることにより, Gn-RHaの筋腫への直接作用の存在が示唆された。そこで正常細胞で営まれている細胞周期調節因子, 発癌遺伝子, 腫瘍抑制遺伝子との協調による細胞増殖の調節機構にGn-RHaがいかなる影響を及ぼしうのかということを子宮及び筋腫培養細胞にて検索することによって, Gn-RHaの筋腫への直接作用があるか否かを検討した。【方法】筋腫患者(8例)より得られた子宮筋と筋腫組織をexplant culture し, 得られた細胞を 1×10^6 個をフラスコに植え, Gn-RHa (Buserelin Acetate; Hoe 766) 10^{-7} M を1日3回3日間添加した細胞よりタンパクを抽出して, SDS-ポリアクリルアミドゲルで分離し, ウェスタンブロッティング法でニトロセルロースフィルターに移し, 細胞周期G1期調節因子(cyclinE, cyclinD1, p34cdc2, p33cdk2, p34cdk4), 腫瘍抑制遺伝子(p53, p21), 発癌遺伝子 *c-raf* のモノクローナル抗体を用いてそれらの発現を比較検討した。【成績】子宮筋においては, Gn-RHa添加により細胞周期調節因子, 腫瘍抑制遺伝子のいずれの変化も認められなかった。しかし筋腫細胞は *c-raf*, cyclinE, cyclinD1, p33cdk2, p21の著明な発現の抑制が観察されたが, p34cdk4, p34cdc2, p53 はほとんど抑制されなかった。【結論】Gn-RHaは筋腫細胞に対して選択的かつ直接的に作用し, cyclinE などの細胞周期G1期調節因子の発現を抑制することから, 細胞周期G1期に作用し増殖抑制をする可能性が示唆された。