

P-135 two-color fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を用いた着床前診断

名古屋市大

川村真奈美, 岡田英幹, 生田克夫, 鈴森 薫,
八神喜昭

〔目的〕近年, 生殖医学の発展に伴い, 着床前診断への関心が高まり, 試みられるようになってきた。体外受精・胚移植法を受ける患者は高齢の傾向にあるため, トリソミーやモノソミーなどの染色体の数的異常の配偶子が発生するリスクが高く, それらについての着床前診断が重要であると考えられる。そこで今回我々は, ヒト受精卵の分割球を用い, トリソミーの頻度の高い, 18番染色体と21番染色体およびX染色体とY染色体の二種類ずつを, two-color FISH法を用いて同時に検出することを試み, その着床前診断における有用性について検討を行った。〔方法〕患者の同意のもとに, 体外受精で得られた余剰受精卵の8細胞期胚より, micromanipulatorにて単一の分割球を摘出し, スライドグラス上に漸進固定・空気乾燥法で標本を作製した。two-color FISH法では, ジゴキシングニン標識したプローブの検出は抗ジゴキシングニン抗体FITCを用い, ビオチン標識したプローブの検出はアビジンローダミンを用い, 落射式蛍光顕微鏡でトリプルバンドパスフィルターにてシグナルを観察した。〔成績〕18番染色体特異的プローブと21番染色体特異的プローブの使用ではそれぞれの染色体を, X染色体特異的プローブとY染色体特異的プローブの使用では性染色体を確認できた。〔結論〕two-color FISH法を用いて, 受精卵の分割球より, 数的異常の中で最も頻度の高い, 18番染色体と21番染色体およびX染色体とY染色体の二種類ずつの染色体を同時に検出し, 性別判定のみならず染色体の数的異常の診断が可能であることを示した。今後は, multi-color FISH法を用いた多数の染色体の同時検出の確立が期待される。

P-136 in situ hybridization法を用いた, ヒト脱落膜におけるプロラクチン受容体遺伝子発現の解析

獨協医大, 同第一生理*

田中壮一郎, 田所 望, 大川浩司, 河津 剛,
鯉淵典之*, 大竹英樹*, 熊坂高弘

〔目的〕我々は, ヒト脱落膜におけるプロラクチン(PRL)遺伝子の発現について, 第44, 45回日産婦学会で報告した。今回は, ヒト子宮内組織におけるPRL受容体遺伝子の発現を, in situ hybridization (ISH)法を用いて検討した。

〔方法〕患者の同意のもとに, 自然または人工流産手術時に脱落膜および絨毛を, 子宮外妊娠手術時に脱落膜を採取し, 液体窒素中に保存した。各組織の凍結切片(10 μ m)を作製し, 4%ホルマリンで固定した。ヒトPRL受容体のcDNA断片(200bp)をベクターpBluescript SK II (+)に組み込み, ³⁵S UTP標識 sense および antisense RNAプローブを作製した。また前回と同様にして, ヒトPRLに対するプローブも作製した。室温で約3時間の prehybridization後, 50℃ 24時間 hybridizationを行った。4℃で10日から1ヶ月間オートラジオグラフィーを行い, 現像後H-E染色した。

〔成績〕妊娠初期脱落膜(9週, 人工流産)および子宮外妊娠脱落膜(7週)において, 脱落膜細胞の細胞質にPRL受容体mRNAの局在を示すgrainの集積を認めた。壁脱落膜, 被包脱落膜, 床脱落膜を比較すると, 滑平絨毛膜直下の被包脱落膜で最も濃密なgrainの集積を認めた。内膜腺上皮細胞や絨毛, 羊膜の細胞にはPRL受容体mRNAの局在を認めなかった。また隣接切片によるPRLmRNAの局在と比較すると, PRL受容体mRNAはPRLmRNAが局在する細胞と同一あるいは近接する細胞に局在していた。

〔結論〕ISH法により, PRL受容体遺伝子が妊娠初期脱落膜に発現していることを初めて証明した。その分布はPRL遺伝子発現細胞の分布とよく似ていた。