

471 Thymidylate synthaseの婦人悪性腫瘍における細胞生物学的意義

自治医大

鈴木光明, 大和田倫孝, 関口 勲, 本松 茂,
玉田太郎

〔目的〕Thymidylate synthase (TS) は、dUMPのmethylationによりdTMP合成を触媒する酵素で、de novo系におけるDNA合成のkey enzymeである。細胞増殖能とTSとの関連に注目し、婦人悪性腫瘍組織中のTS活性を測定し、その細胞生物学的意義について検討した。〔方法〕婦人悪性腫瘍80例（頸癌38, 体癌21, 卵巣癌21）、良性卵巣腫瘍33例、正常組織77例（頸部27, 内膜31, 卵巣19）の手術摘出組織を対象とした。TS活性の測定は、新鮮凍結組織をhomogenize, sonicate等の前処置後、Spearsらの方法に準じて行った。また同組織を対象に、Flow Cytometryによる核DNAヒストグラムの解析も施行した（平均CV値4.86%）。〔成績〕1. 増殖期内膜を除く婦人正常組織におけるTS活性値の平均は、 1.00 ± 0.52 p mol/g tissueであり、mean + 2SDより基準値を2.0p mol/gと設定した。2. 悪性腫瘍組織におけるTS活性は有意に高値を示し、とくに頸癌で高値例が多く、平均10.9p mol/g、82%が基準値を上回った。尚、組織型による差はみられなかった。3. 体癌では組織分化度により差がみられ、G2 + G3（平均5.76）では、G1（1.10）に比べ有意に高活性を示した。4. 卵巣癌では組織型による有意な差はみられなかった。5. TS活性とDNA ploidyとの関係では、全悪性腫瘍のうちTS活性が高値（2.0以上）を示した症例のうち78%がaneuploidyを示し、低値例（37%）に比べ有意に高率であった。またTS高値例では、S期細胞の占める割合、proliferative indexも高値を示した。〔結論〕組織中TS活性の測定は悪性腫瘍のマーカーになるとともに、癌の細胞生物学的悪性度の指標のひとつになることが示された。

472 共焦点レーザー顕微鏡を用いた光学的細胞断層像による細胞内蛍光の局在に関する研究（特に臨床応用への可能性について）

佐々木研究所附属杏雲堂病院、婦人科

杉田道夫、室谷哲弥、杉下 匡、天神美夫

〔目的〕共焦点レーザー顕微鏡（Confocal Laser Scanning Microscopy）の登場により、細胞をスライスせずに細胞個々の断層像が得られるようになった。また、断層像の3次元構築から立体像としても観察できる。我々はPropidium Iodide (PI) 染色による核内蛍光の局在、あるいは腫瘍マーカー、FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) におけるFITC局在の観察から臨床応用への可能性を検討した。〔方法〕正常子宮内膜細胞に対してPI濃度0.5 ~ 50 μ g/mlで染色し、核内DNA分布観察の最適条件を検討した。次に卵巣癌培養株 KK CELLに対して、CDDP 0.5 ~ 10 μ Mを接触させPI染色し、0.6 ~ 1.0 μ 毎の深さで連続的に断層像を検討した。同様にCA-125の細胞内局在についてもCA-125 (FITC)/PI染色から検討した。さらに正常リンパ球に対して、17番アルファサテライトDNAプローブを用いてFISHを行い断層像を検討した。〔成績〕PI濃度変化では5 μ g/ml以上の濃度では、内部構造がはっきりしなかった。一方、1.0 μ g/ml以下では、核膜付近、核小体に強い蛍光が認められ、核内の弱い蛍光も検出できた。CDDPによるKK CELLの変化では、巨核、多核とともに、核膜、核小体以外の部分の蛍光がほとんどなくなった像、変性してクロマチンの凝縮した像などが認められた。CA125の局在では、核には局在がないことが確認された。また、DNAプローブでも17番クロモソーム上のセントロメアがコントラストよく鮮明に観察された。

〔結論〕レーザー顕微鏡により細胞毎の極めて鮮明な光学的断層像あるいは立体像がえられ、化学療法の効果判定、マーカーの局在、FISHなど幅広い細胞生物学的臨床応用が可能である。