

II-B-13

微小病変部における細胞核DNA量の定量

—顕微蛍光測光法による—

中西和夫、細川洋平、浜田新七、
高松哲郎、藤田哲也
(京都府立医大・病理)
福田 優
(福井医大・病理)

II-B-14

顕微蛍光DNA定量法を用い Liver Cell Dysplasiaの解析

香川恵造、富増寛夫、奥田健治
高橋示人、瀧野辰郎
(京府医大・3内)
蒲池正浩、日高 硬、芦原 司
竹岡 成
(滋賀医大・1病)

パラフィン切片より得た単離細胞の核DNA量を顕微蛍光定量する方法は、組織像との对比が可能という利点があるが、一方細胞質に非特異蛍光が存在し、また微小採取部位から得た単離細胞を回収するのが困難なことがあった。この非特異蛍光の問題はAzocarmine Gブロック法(高松ら)により改善された。

今回、切除胃パラフィンブロックから20μ切片を作製し、Azocarmine G染色の後、ヘマトキシリン染色を行なった。この標本の組織像を顕微鏡下で観察しながら、目的部分を取り出した。この採取試料を新たにスライドグラス上に移し、グラス上で0.05% collagenaseで37°C、60分間処理し顕微鏡下で細胞を単離し、再に2%Na-EDTA溶液で37°C、120分間処理した後、メタノールで再固定した。Acriflavine-Feulgen染色(5N-HCl, 25°C18分間加水分解の後7°CでAcriflavine-Schiff反応10分間)を行なった。Blue励起($\lambda = 437\text{ nm}$)により細胞核Acriflavine蛍光($\lambda_{\text{max}} = 530\text{ nm}$)を定量した。その結果、Azocarmine G-ヘマトキシリン染色で観察した微小部位と同一の細胞における核DNA量の定量性が示された。

肝癌発生との関連性で注目されているLiver Cell Dysplasia(LCD)を核DNA量変動の面から把握することを目的とし、フォイルゲンDNA顕微蛍光測光法を用いて解析した。対象としては肝硬変20例(うち原発性肝癌を伴ったもの12例)の剖検肝組織を用い、得られたパラフィン包埋組織より、非LCD・LCD領域、及び肝癌領域の構成細胞をそれぞれ単離し、塗抹標本を作製した。フォイルゲン染色後、落射型顕微蛍光測光装置(NIKON SPM-RF ℓ)を用い、肝細胞核DNA量を蛍光測光した。なお、標本作製過程でフォイルゲンDNA定量の精度を高める処置を施した。肝硬変の非LCD領域では核DNA量が倍加を重ねた大型肝細胞、すなわちポリプロイド細胞の占める比率が正常同年代人の肝に比べて増加していた。一方、LCD領域ではポリプロイド細胞の占める比率がさらに著しく増加しており、高度にポリプロイド化した細胞集団であることが判明した。肝癌部での核DNA量の頻度分布はLCD領域とは全く異なり、1峰性で幅広い分布を示し、多数のDNA合成期中の細胞の存在、すなわち旺盛な増殖活性の亢進が示唆された。