短 報

甲状腺腫瘍における 17 番染色体数的異常の検索

福井医科大学附属病院検査部¹⁾, 同 第 1 病理²⁾, 同 臨床検査医学³⁾
森 正樹¹⁾ 前川 秀樹¹⁾ 法木 左近¹⁾ 今村 好章²⁾
宮保 進³⁾

I. はじめに

細胞診材料を用いた腫瘍細胞核の染色体 DNA 異常を検出するには、顕微測光、フローサイトメトリーによる DNA 定量が主に行われてきた。近年、染色体特異的 DNA プローブを用いた *in situ* hybridization 法により分裂期の染色体標本を必要とせずに間期細胞核においても特定の染色体の数的レベルでの検出が可能になってきた^{1,2)}。

今回、われわれは甲状腺腫瘍について、p53 など癌抑制遺伝子や増殖因子の遺伝子が存在する 17 番染色体のセントロメア領域に特異的な DNA プローブを用いて *in situ* hybridization 法により、染色体数的異常の検索を行った。

この論文の目的は、この方法を用いて細胞診材料で、濾胞腺腫・濾胞癌・乳頭癌の診断に有用かどうかを検討することである。

II. 材料と方法

対象は、甲状腺乳頭癌3例、濾胞癌3例、濾胞腺腫3例を用いた。手術中迅速で提出された腫瘍組織のスタンブ標本を作成し、ただちに 95% エタノールで固定を行った。標本は、水洗後、70% Formamide/2×SCC 中で 73°C、5 分の DNA 熱変性を行い、-20°C の 70%

エタノールで急冷した。その後、上昇エタノール系列を経て乾燥後、hybridization 溶液を載せカバーガラスをかけて、37°C の湿潤箱中で 48~72 時間の hybridization を行った。DNA プローブはビオチン化 17 番染色体特異的 DNA プローブ (chromosome 17 α Satellite D 17 Z 1: ONCOR 社) を用いた。検出は、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンによる DAB 反応で行い、核染色はヘマトキシリンで行った。約 100 個の細胞核のシグナルを計測しその割合を比較した。コントロールとしてヒト正常リンパ球の染色体標本を用いた。さらに内部コントロールとして腫瘍スタンブ標本中に散在したリンパ球核のシグナルを数えた。

III. 結 果

ヒト正常リンパ球標本のシグナルは分裂前期、間期ともに 2 個であった (写真 1 a, b)。

濾胞癌では、3 例すべてに染色体数的異常細胞を認め、特に 1 例については 5 個/核以上のシグナルを有する細胞を 38.7% 認めた (写真 2 b)。濾胞腺腫では、3 例中 1 例において 3 個/核以上のシグナルを有する細胞を 10.6% 認めた。また、逆に 1 例では 1 個/核の割合が 32.9% とほかに比べて高い例も認められた。乳頭癌では、3 例中 2 例で 3 個/核以上のシグナルを有する細胞を認めた。うち 1 例は、リンパ節転移した症例で特に染色体数的異常を示す細胞の割合が 21.4% と高かった (写真 2 a)。以上の結果を表 1 に示した。

IV. 考 察

濾胞腺腫の 1 例で 1 個/核のシグナルを有する割合が高い (32.9%) 例がみられた。これは 17 番染色体の欠失が疑われ、濾胞癌への初期像を呈しているのかもしれない。また、乳頭癌でリンパ節転移した症例では、異常細胞の割合が高くプログレッションに伴う染色体異

Detection of numerical aberrations on chromosome 17 in human thyroid tumors

Masaki MORI¹⁾, C.T., I.A.C., Hideki MAEGAWA¹⁾, M.T., Sakon NORIKI¹⁾, M.D., Yoshiaki IMAMURA²⁾, M.D., Susumu MIYABO³⁾, M.D.

¹⁾Clinical Laboratory Center, ²⁾First Department of Pathology, ³⁾Department of Clinical Laboratory Science, Fukui Medical School

論文別刷請求先 ☎ 910-11 福井県吉田郡松岡町 23 の 3 福井医科大学検査部 森 正樹

平成 6 年 7 月 15 日受付

平成 6 年 9 月 9 日受理

写真 1 ヒト正常リンパ球に対する、17 番染色体 probe のシグナル。分裂前期(a)では、17 番染色体のセントロメア領域に一致してシグナル(矢印)が2個認められ、間期(b)においても2個のシグナル(矢印)が認められる (ISH 標本, $\times 40$)

写真 2 甲状腺乳頭癌(a)、濾胞癌(b)に対する17 番染色体 probe のシグナル。17 番染色体 probe に対するシグナルが核内に黒褐色のドットとして認められる (ISH 標本, a $\times 40$, b $\times 20$)

表 1 各種甲状腺腫瘍における核1個あたりの signal 数の割合

症 例	signals number/nucleus					
	1	2	3	4	5	6
1 Follicular carcinoma	16.7	78.6	2.4	2.4	0.0	0.0
2 Follicular carcinoma	12.3	83.2	4.4	0.0	0.0	0.0
3 Follicular carcinoma	0.9	6.6	15.1	38.7	25.5	13.2
4 Follicular adenoma	5.6	83.3	8.3	2.4	0.0	0.0
5 Follicular adenoma	13.3	86.7	0.0	0.0	0.0	0.0
6 Follicular adenoma	32.9	67.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7 Papillary carcinoma (リンパ節転移)	5.4	73.2	10.7	10.7	0.0	0.0
7C リンパ球	11.7	86.7	1.6	0.0	0.0	0.0
8 Papillary carcinoma	4.5	94.5	0.0	0.0	0.0	0.0
9 Papillary carcinoma	3.8	87.5	5.8	2.9	0.0	0.0

(%)

常と思われ興味深い。濾胞癌の1例では異常細胞の割合が特に高く、予後との関係も興味深いと考えている。

甲状腺腫瘍の染色体異常について、3 番、10 番、19 番染色体の関与が報告されている^{3,4)}。しかし、癌の進行とともに染色体異常は進行し多くの異常を持つようになることから、今回、われわれが示したように、17 番染色体の数的異常が、濾胞癌、リンパ節転移した乳頭癌で多く認められたことは矛盾しないと考えられる。

細胞診材料を用いた染色体検査の報告はほとんどない。今回、ISH 法を用いて、細胞診材料で染色体数的異常細胞を検出できたことは、診断への有用性が期待できる。今後、診断への有用性を高めるためにも他の染色体特異的 DNA プローブの検討も行いたい。適切な DNA プローブを用いれば、細胞診材料で濾胞癌と濾胞腺腫の鑑別が、可能になるかもしれない。

文 献

- 1) Pinkel, D., et al.: Cytogenic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization, Proc Natl Acad Sci USA, 83: 2934~2938, 1986.
- 2) 法木左近・他: *In situ* hybridization 法によるパラフィン切片上での染色体数異常の検出, 医学の歩み, 159: 193~194, 1991.
- 3) Belge, G., et al.: Aberrations of Chromosome 19—Do They Characterize a Subtype of Benign Thyroid Adenomas? —, Cancer Genet Cytogenet, 60: 23~26, 1992.
- 4) Herrmann, A.M., et al.: Cytogenetic and Molecular Genetic Studies of Follicular and Papillary Thyroid Cancers, J. Clin. Invest., 88: 1596~1604, 1991.