短 報

子宮頸部細胞診における bcl-2 免疫細胞化学の応用

宮城県医師会健康センター¹⁾, 東北大学医学部産婦人科²⁾齋藤 緑¹⁾ 今野 良²⁾ 五十嵐 司²⁾ 岡本 聡²⁾
佐藤 信二²⁾

I. はじめに

アポトーシスは、細胞が自ら死を選ぶ現象で生物の個体形成、生体の維持、生体の防御といった、生命活動の基本に深く関わっている。遺伝子異常を来した細胞は、アポトーシスが誘導されることにより、自ら死滅し、生体から除去される。一方、bcl-2 はアポトーシスを抑制する遺伝子として知られており、種々の悪性腫瘍の発生進展に関与している。子宮頸部異形成の予後と bcl-2 発現の関係を検討した報告はわずかに散見されるが^{1,2)}、細胞診に応用した報告はまだない。そこで、bcl-2 の免疫組織化学の細胞診への応用に関して検討した。

II. 対象および方法

対象は、子宮頸部正常上皮 13 例、異形成上皮 19 例、上皮内癌 1 例、浸潤癌 2 例の計 35 例の擦過細胞標本とした。免疫組織化学染色は ABC 法（ニチレイ、ヒストファイニット）で行い、一次抗体として bcl-2 (Novocastra) を 10 倍希釈して使用した。まず、内因性ペルオキシダーゼ阻止を行った後にマイクロウェーブによる抗原の賦活化、非特異性蛋白吸着阻止を行い、一次抗体の添加・反応を 4℃ で overnight した。ビオチン標識二次抗体の添加・反応、ペルオキ

シダーゼ標識ストレプトアビジンの添加・反応を行った後に DAB による発色を行った。陽性コントロールには絨毛細胞を用いた。結果の判定は二人のスクリーナーと一人の細胞診指導医によって行い、細胞質および細胞膜にびまん性に強く（＋），または中等度（＋）に褐色の反応がみられたもののみを陽性とし、わずかな（±）反応がみられたものと全くみられなかったものの（－）は陰性とした。

III. 結 果

今回の染色においては、正常の扁平上皮の表皮細胞は陰性となり、異形成と上皮内癌、浸潤癌の細胞においては、高率に bcl-2 の発現を認めることができた。発現の特徴としては、koilocytosis では、細胞の辺縁のみが弱陽性となり、核異型の高度な細胞においては陽性率が高い傾向が得られた（Table 1）。また、上皮内癌（Photo. 1）および浸潤癌細胞においては強陽性となった。

IV. 考 察

bcl-2 遺伝子は、ヒト濾胞性リンパ腫に関与する癌遺伝子として、1984 年に辻本らにより発見されており³⁾、1988 年、Vaux らにより、bcl-2 にアポトーシスを抑制する作用があることが示されている⁴⁾。遺伝子変異やその他の誘発要因によって異常を来した細胞は、本来アポトーシスによって、細胞死に至るべきである。その異常細胞に、アポトーシス抑制遺伝子である bcl-2 が発現した場合、生体から除去されずに、異常増殖が持続されることが予想できる。私たちが以前に行った子宮頸部病変組織における bcl-2 の免疫組織化学染色によると、正常扁平上皮では、基底および傍基底細胞のみに発現しているが、癌や高度異形成では、びまん性に発現しているという結果が得られ、病

Application of immunocytochemistry of bcl-2 protein on exfoliative cells from uterine cervix

Midori SAITO¹⁾, C.T., Ryo KONNO²⁾, M.D., Tsukasa IGARASHI²⁾, M.D., Satoshi OKAMOTO²⁾, C.T., Shinji SATO²⁾, M.D.

¹⁾Center for Health of Miyagi Prefectural Medical Association

²⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University School of Medicine

論文別刷請求先 ☎ 980-8574 仙台市青葉区星陵町 1 の 1 東北大学医学部産婦人科 今野 良

平成 10 年 2 月 16 日受付

平成 10 年 10 月 16 日受理

Table 1 Immunocytochemistry of bcl-2 protein and cytological diagnosis in exfoliative cervical cells

Cytological diagnosis	No. of cases	No. of negative cases		No. of positive cases		(%)
		—	±	+	‡	
I & II	13	10	3*	0	0	(0.0)
III	19	5	2	6	6	(63.2)
IIIa	10	3	1	4	2	(60.0)
IIIb	9	2	1	2	4	(66.7)
IV	1	0	0	0	1	(100.0)
V	2	0	0	0	2	(100.0)
Total	35	15	5	6	9	(42.8)

Cytological diagnosis according to modified Papanicolaou "Nichibo" classification

negative : (—) negative, (±) weak positive, positive : (+) moderate, (‡) strong

*Weak positivity was shown in a few basal, parabasal, or metaplastic cells in class I and II cases

Photo. 1 Immunocytochemistry of bcl-2 protein in atypical cells diagnosed as class IV obtained from a patient with CIS (positive staining with DAB, counterstaining with hematoxyline, $\times 100$)

変の進行に関与していることが示唆された⁵⁾。今回の子宮頸部細胞診において行った bcl-2 の免疫細胞化学染色では、異形成であっても、異型の程度の強さによって、bcl-2 の発現状態に違いがあるという結果が得られた。このことにより、bcl-2 陰性の異型細胞では、その後アポトーシスを誘導して自然治癒への道をたどり、bcl-2 陽性の異型細胞ではアポトーシスが抑制されることによって、異常細胞が増殖し病変が進行すると予想される。今後、異形成症例の細胞診を追跡調査して、予後推定の指標としての bcl-2 免疫細胞化学染色の臨床応用の可能性を探りたい。

Abstract

Bcl-2 expression has been reported in a number of malignancies, and is closely associated with the grade of

cervical lesions. The present study was designed to evaluate the use of immunocytochemistry for bcl-2 protein in cervical cells. We analyzed the expression of bcl-2 protein in a total of 35 exfoliative cervical smears with emphasis on the association with the grade of cytological atypia. The samples were obtained from 13 healthy women and 22 patients with cervical lesions, including 19 dysplasia (cytological diagnosis : class III), 1 carcinoma *in situ* (class IV), and 2 invasive squamous cell carcinoma (class V). Expression of bcl-2 was closely related with the grade of cytological diagnosis (0% in class I and II, 63.2% in class III, and 100% in class IV and V). Immunocytochemistry of bcl-2 protein may be useful for prediction of the clinical course of cervical lesions.

文 献

- 1) Kurvinen, K., Syrjänen, K., Syrjänen, S. p 53 and bcl-2 protein as prognostic markers in human papillomavirus-associated cervical lesions. *J. Clin. Oncol.* 1996 ; 14 : 2120~2130.
- 2) Saegusa, M., Takano, Y., Hashimura, M., Shoji, Y., Okayasu, I. The possible role of bcl-2 expression in the progression of tumors of the uterine cervix. *Cancer.* 1995 ; 76 : 2297~2303.
- 3) Tsujimoto, Y., Finger, L.R., Yunis, J., Nowell, P.C., Croce, C.M. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t (14 ; 18) chromosome translocation. *Science.* 1984 ; 226 : 1097~1099.
- 4) Vaux, D.L., Cory, S., Adams, J.M. Bcl-2 gene promotes hematopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature.* 1988 ; 335 : 440~442.
- 5) Takano, T., Konno, R., Yuki, M., Enomoto, A., Sato, S., Yajima, A. Topographic analysis of cell proliferation and apoptosis in uterine cervical neoplasia. *Jpn. J. Cancer Res.* 1996 ; 87 Suppl. : 44.