

Title	Estrogen Receptor (ER) mRNA の RT-PCR 法による検出と, Dextran Coated Chacoal (DCC) 法および免疫組織化学染色 (ER-ICA) 法との比較
Author(s)	尾崎, 尚志
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37961">https://hdl.handle.net/11094/37961</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	お尾崎 尚志
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 10201 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 外科系専攻
学位論文名	<b>Estrogen Receptor (ER) mRNA の RT-PCR 法による検出と、 Dextran Coated Chacoal (DCC) 法および免疫組織化学染色 (ER-ICA) 法との比較</b>
論文審査委員	(主査) 教授 田口 鐵男 (副査) 教授 豊島久真男 教授 森 武貞

### 論文内容の要旨

#### (目 的)

Estrogen Receptor (ER) は乳癌の重要な予後因子の一つであり、従来 Dextran Coated Chacoal (DCC) 法により測定されてきた。また近年 monoclonal 抗体の開発に伴い、免疫組織化学染色による ER の検出も行われるようになった。これら ER 蛋白の解析に対し、本研究では ER の新しい assay 法を試みることを目的として、乳癌組織から ER mRNA を抽出し、Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法によりこれを増幅、Ethidium Bromide 染色した後、radioi-sotope を使用せず蛍光強度を測定することによって簡便に検出した。更にこの結果を DCC 法および免疫組織化学染色法の結果と比較検討した。

#### (方法と結果)

乳癌患者 34 例より摘出された腫瘍組織片 (うち 7 例は正常乳腺組織も同時に採取)、および MCF-7 cell line を用いて、Acid Guanidi-nium Thiocyanate-Phenol-Chloroform 法により total RNA を抽出し、McGuire らの方法に基づいて RT-PCR を行った。ER の PCR primer は McGuire らによるものを用い、internal standard である  $\beta$ -actin の PCR primer は独自に異なる exon 上に設定したのものを用いた。polya-crylamide gel にて PCR product を電気泳動後 Ethidium Bromide 染色し Flying Spot Scanning Densitometer にて各 band の蛍光強度積分値を測定し ER の強度/ $\beta$ -actin の強度 (ER/ $\beta$ -actin ratio) を算出した。更に、DCC 法、免疫組織化学染色法も同時に行い三者の結果を比較した。尚、免疫組織化学染色法では、RT-PCR 法で用いたのと同じ腫瘍片から切片を作成した。

MCF-7 cell line からの RT-PCR 法を細胞数を 50~10000 として行なった結果、500~10000 cells の範

囲ではER/ $\beta$ -actin ratio はほぼ一定の値をとったが50 cells ではER,  $\beta$ -actin ともに検出されなかった。

次に、正常乳腺組織での ER/ $\beta$ -actin ratio の分布等より RT-PCR 法での cut-off 値を0.4に設定して、DCC 法および免疫組織化学染色法との比較を行なった。34例の乳癌組織について RT-PCR 法と DCC 法を比較した結果、RT-PCR 法の sensitivity は0.78であったが specificity は0.43と低かった。しかし、false positive であった4例のうち3例はいずれも免疫組織化学染色法にて ER-positive であった。これは、一つには、DCC 法では RT-PCR 法や免疫組織化学染色法に比べ多量の組織を必要とし、その heterogeneity の多様性によるものと推察された。21例の RT-PCR 法と免疫組織化学染色法との比較では高い相関を示し (sensitivity 0.82, specificity 0.75), 唯一の false positive であった例も ER/ $\beta$ -actin ratio は0.4であった。

(総括)

- ① RT-PCR 法により、微量の sample から radioisotope を用いず蛍光強度を測定することにより ER mRNA の検出が可能であった。
- ② RT-PCR 法の結果は、DCC 法とは相関が乏しかったが、免疫組織化学法とは高い相関が認められた。これは、DCC 法で要する多量の組織の heterogeneity, および RT-PCR 法と免疫組織化学染色法では同一の腫瘍片を用いたことによると推察された。
- ③ RT-PCR 法は、微量の sampl から検出でき、また sensitivity も高いことから、今後 ER assay 法として期待される。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は Fuqua らによって開発された Estrogen Receptor mRNA の RT-PCR 法による検出を乳癌症例33例について行い、DCC 法および monoclonal 抗体を用いた免疫組織化学染色法と比較したものである。この結果、RT-PCR 法は DCC 法よりも免疫組織化学染色法とより強い相関関係が認められた。これは、従来の DCC 法を決して否定するものではないが、微量の組織から検出できる鋭敏な assay 法としての RT-PCR 法の可能性を示したものである。