

第24回上信越神経病理懇談会

日時 1998年11月14日(土)

会場 新潟大学医学部第一実習室

世話人 高橋 均(新潟大学脳研究所病理学分野)

1. 脳原発悪性リンパ腫の免疫グロブリン遺伝子解析

遠藤 純男, 市川 富夫, 小林 一雄

鷲山 和雄, 熊西 敏郎

新潟大学脳研究所分子神経病理学分野

目的: 脳原発悪性リンパ腫の免疫グロブリン再構成遺伝子検索は, Southern 法, PCR 法での報告があるが, 塩基解析の報告は無い. 本研究では 4 例 5 検体(再発 1 例を含む)を対象に, 再構成 H 鎖遺伝子の塩基解析を CDR 3 再構成領域を中心に施行. 再発例では塩基配列にもとづいて原発腫瘍との対比検討を行った.

方法: (1) 病理診断は全例 diffuse large lymphoma. Southern blot 解析で H 鎖遺伝子の再構成を検出し B-cell type と確定. (2) 各腫瘍組織 RNA から FR 2 A/C μ primer set での RT-PCR にて FR 2 から JH までの可変領域を増幅し塩基解析を施行. (3) 得られた塩基配列が腫瘍由来であることの確定のために, 各症例の CDR 3 領域に対応する oligonucleotide probe を用いた in situ hybridization (ISH) を施行. 一部の症例では Northern 解析もあわせて行った.

結果: (1) 塩基解析の結果, CDR 3 領域の配列は症例ごとに特異であり, 長さは 16~44 bp であった. 再

発例の原発・再発両腫瘍では 2 カ所に塩基置換がみられたが, homology は 99.3% であり同一母細胞由来であることが示された. VH 断片の解析では 3 例が VH 4 family, 内 2 例が V 4-34 と有意な選択がなされていた. 残り 1 例は VH 3 family であった. JH 断片は JH 3 1 例, JH 4 2 例, JH 5 1 例であった. (2) CDR 3 領域の短い 1 例を除く 3 例 4 検体の ISH 解析では, 症例特異的にシグナルがみられ, 異なる症例間では反応せず, 得られた CDR 3 が各腫瘍由来の塩基配列であることが確定された. また, 各例でシグナルは大部分の細胞に認められ, 腫瘍細胞の monoclonality も確認された. (3) 2 例では Northern 解析も施行し, 症例特異的にシグナルがみられた.

結論: (1) 脳原発悪性リンパ腫 4 例の H 鎖の可変領域塩基配列を RT-PCR にて検出, 3 例 4 検体では ISH にて腫瘍細胞由来であることを確定した. (2) 再発例では原発・再発腫瘍が同一母細胞由来であり monoclonal であることが証明された.

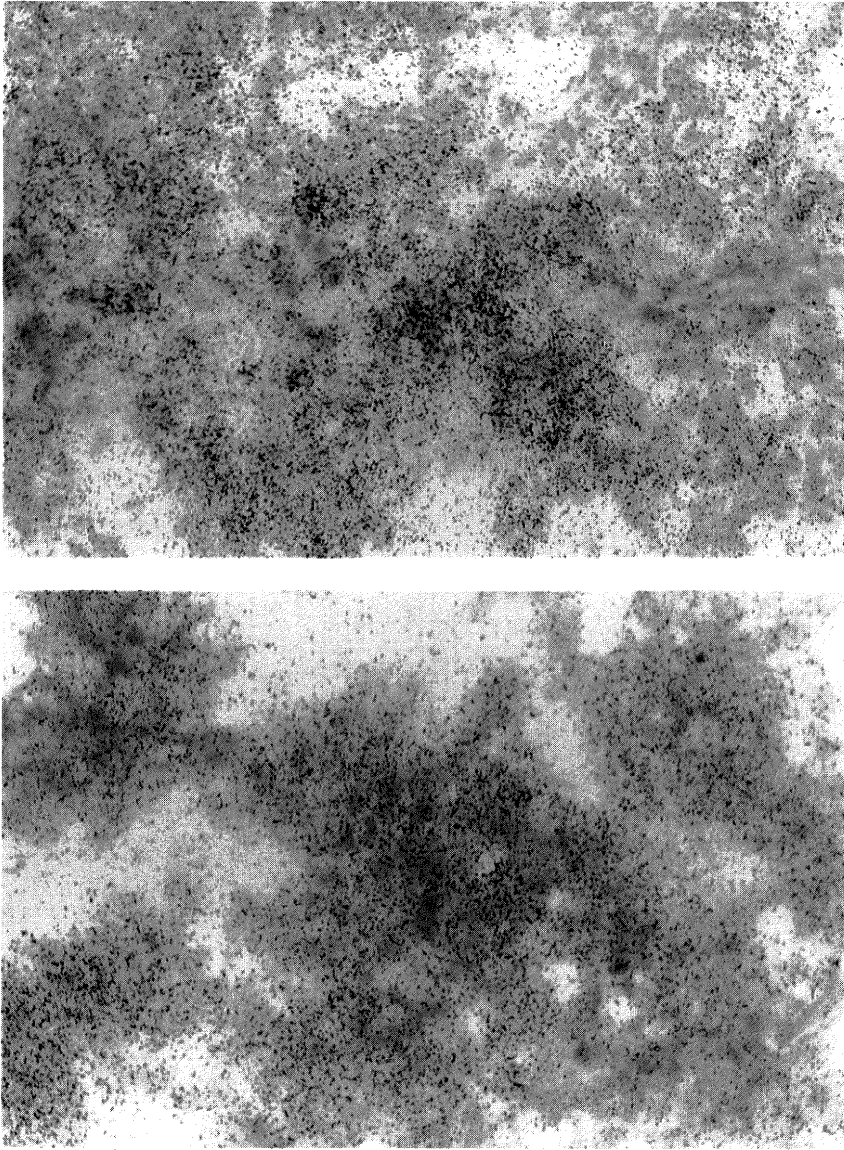


図1 上：Case 2，下：Case 3の ISH. 各症例ともに probe の腫瘍特異性が示され，得られた塩基配列が腫瘍細胞由来である事が確認された．また腫瘍細胞の monoclonality が強く示唆された．