

染色体検査の院内導入に向けての検討

大 棟 久美江 川 口 貴 子 黒 山 祥 文
大 畑 雅 彦

静岡赤十字病院 検査部

要旨：染色体検査の院内導入に向け、良質な細胞分裂中期像を得るための細胞培養、細胞収穫条件について検討を行った。培養条件は、RPMI 1640 に添加する牛胎仔血清を 10% と 20% で検討した。分裂中期像の数、展開面積は差がなく、コスト面も考慮し、10% 牛胎仔血清加培養液で十分であると判断した。培養時間は検体採取後（当日）、24 時間培養、48 時間培養の 3 条件で検討した。個々の症例間の差が大きく、細胞周期を考慮し、このうちの 2 条件で実施するのが効率的であると考えられた。コルセミドの添加量 (10 μ l, 20 μ l, 50 μ l)、作用時間 (24 時間, 2 時間) の検討では、分裂中期像の数と展開面積の比較結果よりコルセミド添加量 20 μ l、作用時間は 2 時間で安定した結果が得られた。また 0.075 M KCl 低張処理回数については回数を増やすことで細胞収穫量が減少する為、その回数は 1 回、37°C 20 分と設定した。ギムザ分染の条件は、標本作製後過酸化水素によるエイジングを行い、0.025% 粉末トリプシン/ハンクス液処理後 1% ギムザ染色を用いることにより、コントラストの良好なバンド分染が可能となった。さらに、画像解析装置、ハナビ（展開装置）の導入により人為差を削減し、より迅速な結果報告が可能となり、核型の解析と報告における省力化に効果があった。

Key words：染色体分析、細胞分裂中期像、培養時間、細胞収穫、ギムザ分染

I. はじめに

造血器腫瘍のほとんどが、染色体遺伝子変異によって発生することが明らかとなり、造血器腫瘍の検査では、形態学的検索、細胞表面マーカー検索に加えて、染色体及び遺伝子学的解析により診断がなされるが、これらの所見は、治療の選択や予後推測因子としても用いられている。その中でも造血器疾患における染色体核型解析では、多種多様な染色体異常が観察される。造血器疾患の直接的な引き金となるものとしては相互転座、欠失が多いが、腫瘍の進行とともに二次的に発生するものには染色体数の変化や染色体部分の付加、欠失などの変化も見られる²⁾。遺伝学的異常の明らかな場合のみ活用できる polymerase chain reaction (PCR) 法や fluorescence in situ hybridization (FISH) 法とは異なり、種々の染色体異常を判断ができる核型分析は、

極めて臨床上有用な情報を提供できる。

染色体検査においては、検体（骨髄液、末梢血、リンパ節）を培養し、腫瘍細胞を高率に有糸分裂に導入することで異常細胞の核型解析を可能なかぎり正確に行うことが求められる。よって、良質な分裂中期の細胞をより多く集め、良好な細胞固定と染色による標本作製が、正確な結果解析になくはならない作業である。今回、我々は正確に、より迅速な結果報告を行うために培養の条件、コルセミド処理、KCl による低張処理、G 分染法の各条件について基礎的検討を行った。

II. 対象および方法

1. 対象

2004 年 1 月以降に、採取された骨髄液（ヘパリン採血）13 検体（表 1）、低張処理の検討には健康成人の末梢血液（ヘパリン採血）を用いた。