

PCR 法によるヒト悪性腫瘍関連抗原遺伝子の発現解析

免疫細胞検査室¹，消化器外科²

○岡田真一¹，高源ゆみ¹，杉村英一¹，古川隆二¹，
有賀 淳²

【目的】近年、ヒト悪性腫瘍関連抗原の同定が急速に進み、様々な抗原遺伝子の発現が解析されている。抗原遺伝子の塩基配列を基にヒト HLA 型に結合可能な部位を合成したペプチドは、悪性腫瘍特異的免疫応答を体内で誘導できる可能性が考えられており、がんペプチドワクチンとしての臨床試験が実施されている。抗原遺伝子発現は均一ではないため、個々の腫瘍に発現する抗原遺伝子を解析してワクチンを選択することが必要であり、今回我々はヒト悪性腫瘍における抗原遺伝子発現のスクリーニング法の開発を試みた。

【試料および方法】健常人末梢血単核細胞(PBMC)、ヒト胆嚢癌株(AG)、新鮮ヒト肝内胆管癌組織より QIAGEN RNeasy Mid Kit を用いて total RNA を抽出し、QIAGEN One Step RT-PCR Kit を用いて RT-PCR を行った。腫瘍関連抗原のプライマーに DEPDC1 及び LY6K(URLC10)、コントロールのプライマーに GAPDH 及び ACTB を使用した。

【結果】すべてのサンプルでコントロールの GAPDH と ACTB の DNA 増幅が認められた。DEPDC1 と LY6K の DNA 増幅はヒト胆嚢癌株及び新鮮ヒト肝内胆管癌組織のみで認められ、腫瘍抗原遺伝子の発現解析が可能であった。

【結語】RT-PCR 法にてヒト悪性腫瘍関連遺伝子 DEPDC1 及び LY6K の発現解析が可能であった。今後、ペプチドワクチン対象抗原(全 10 種類)の発現をスクリーニングする検査法を実用化することにより、個々の患者に最適なワクチンの選択が可能となると期待される。

NT-proBNP 測定用試薬『エクルーシス proBNP』の基礎性能評価と臨床的意義

東医療センター検査科

○小松祐己、渡邊鮎美、平田あかね、野田雪江
佐藤陽一、喜村久信、大城喜春、坂本輝彦、加藤博之

【目的】ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体 N 端フラグメント(以下 NT-proBNP)はホルモン活性を持たないことから検体の安定性が高く近年日常検査および診察前検査の有用性が認められている。今回我々は『エクルーシス proBNP』の基礎性能評価を行ったので若干の臨床的意義も含め報告する。

【試薬・機器】測定試薬『エクルーシス proBNP』(ロシュ・ダイアグノスティックス)、測定機器は日立 7700 形自動分析装置 E 分析モジュール

【方法と結果】①再現性；プール血清 3 濃度の試料を用いて 12 回連続測定を行ない、各濃度(CV)1.0、1.9、3.0%であった。またプール血清 3 濃度の試料を用いて 12 日間測定し、各濃度(CV)1.0、2.7、3.0%であった。②添加回収試験；低値および高値の回収率を求め、2 濃度の試料各々において 101.3%、102.4%であった。③希釈直線性；低値および高値のプール血清を用いて希釈直線性を確認したところ良好な直線性が確認された。④共存物質の影響；干渉チェック A プラスを用いて共存物質の影響を確認し、溶血ヘモグロビン、乳び、遊離型ビリルビン、抱合型ビリルビンにおいて影響は認められなかった。⑤相関；BNP 検査依頼のあった 60 検体の血漿 BNP と血清 NT-proBNP での相関は対数変換の回帰式 $y=1.068x+0.653$ で相関係数(r)=0.911 であった。⑥凍結融解の影響；3 試料を用いて凍結融解の影響を確認し、凍結融解回数 4 回まで安定性が確認された。

【まとめ】本法は基礎性能評価において良好な結果が得られた。NT-proBNP は BNP に比べ検体安定性に優れ、測定に血清検体を用いることで、専用容器への採血が無く、患者負担の軽減に繋がると考えられる。このような特徴は今後の心疾患における治療や病態把握、予後改善に大きく貢献するものと考えられる。