

細胞診材料における遺伝子解析用核酸品質の調査

◎長谷川 祐二¹⁾、山下 和也¹⁾、館野 育実¹⁾、久場 樹¹⁾、三枝 信¹⁾
北里大学病院¹⁾

(はじめに) 細胞診材料を利用した遺伝子解析手法の検討は少ない。核酸の固定液はカルノア固定液が良好とされ、ホルマリンは核酸の脱プリンやメチル化変異などの報告があり、アルコール固定液で処理される細胞診標本の利用は良好な結果につながる事が予測される。一方、我々は細胞診材料の保存として、LBC 固定液サイトリッチレッド (CR)懸濁の保存限界が5日であること、上清を除く沈査保存で改善することを報告してきた (Matsuo Y. et. al. Virchows Archiv: <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02919-0>)。保管場所や操作性を考慮した場合、日常細胞診標本の利用が望ましい。今回、手術摘出材料の擦過細胞診標本と同一部位の組織標本の核酸品質を比較し細胞診標本の有用性の検討を行った。(材料および方法) 2019年に肺がんで手術摘出された組織より得た非小細胞性肺がん腫瘍擦過細胞診標本 (Cy) ならびに同部位の FFPE 組織標本 (Fp) 各 20 症例を用いた。細胞診材料はパニコロウ染色後、3年間保存された標本1枚、FFPEは10%中性緩衝ホルマリン固定48時間以内で処理されたブロックを作製後3年間保管後に

新たに薄切した5 μ m厚標本1枚を用いた。抽出は QIAGEN の DNA, RNA 抽出 kit で QIAcube により自動抽出を行った。抽出した核酸は濃度、A260/280 ならび DIN 値、RIN 値、 Δ CT 値測定と EGFR 変異解析 (Cycleave 法) を行った。(結果) 主な結果を表に示す。EGFR 変異検出は Cy, Fp とともに同一症例で同一変異が検出された(7/20 例)。 Δ CT 値も同等。DNA 収量ならび DIN 値は Cy で低かった。(考察) Cy と Fp はともに PCR 解析は成立するが、Cy において核酸収量が低く A260/280 値、DIN 値が低いまたは解析不能となる傾向がみられた。この原因として細胞診材料は、使用する検体量の確保が不十分であるため、解析に十分な抽出量が得られない事があげられる。封入後保存された標本であることから封入剤の除去や抽出法の適正の調査が今後の課題として挙げられる。

	DIN	RIN	A260/280		Volume (μ g)	
			DNA	RNA	DNA	RNA
Cy	1.2~3.3	1~3.1	1.03~1.94	1.71~2.15	40~6501	213~10779
Fp	3.4~5.9	1~2.7	1.82~1.97	1.5~2.04	840~17060	438~13170