

移植細胞の*in vivo*での挙動解析

移植細胞の生着評価の一例として、ヌードマウスの肺に生着したヒト肺胞上皮腺癌細胞を病理組織学のおよび分子生物学的に検出した。その結果、両手法で高い相関性と同程度の検出感度が認められた。また、各手法のメリットが異なることから、目的に合わせた評価法の選択が可能であると考えられた。

Materials and Methods

A549細胞 (i.v.)



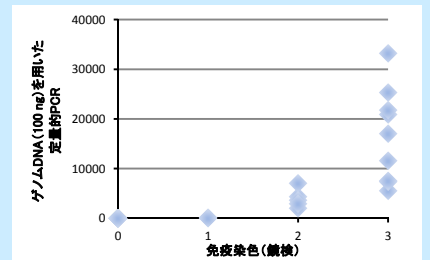
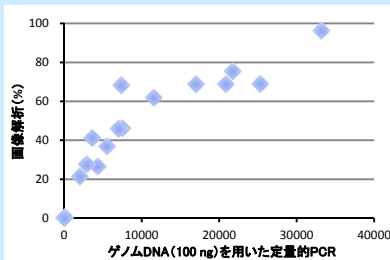
臓器 (肺・肝) 採取
↓
ホルマリン固定
↓
パラフィン包埋



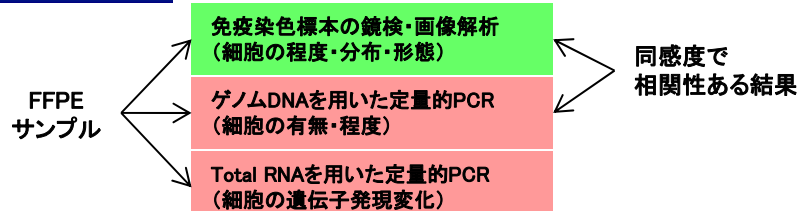
Results

臓器および動物番号	定量的PCR (ゲノムDNA, 100 ng)	免疫染色\$ (画像解析)	免疫染色\$\$ (鏡検)
1	33191	96.30	3
2	25309	68.91	3
3	21758	75.45	3
4	20872	68.73	3
5	17019	68.78	3
6	11573	61.83	3
7	7517	46.12	3
8	7369	68.25	3
9	7020	45.91	2
10	5533	36.86	3
11	4338	26.49	2
12	3635	41.11	2
13	2907	27.63	2
14	2015	21.32	2
15	104	0.42	1
16	#5	0.04	1
17	Undetermined	0.00	0
18	Undetermined	0.00	0
19	Undetermined	##0.16	0
20	Undetermined	0.00	0
21	Undetermined	0.00	0
22	Undetermined	0.00	0
23	Undetermined	0.00	0
24	Undetermined	##0.02	0
25	Undetermined	0.00	0
26	Undetermined	0.00	0
control 1	Undetermined	##0.01	0
control 2	Undetermined	0.00	0
2	Undetermined	0.00	0
5	Undetermined	0.00	0
7	Undetermined	0.00	0
8	Undetermined	##0.03	0
10	Undetermined	##0.06	0
15	Undetermined	0.00	0

\$: 免疫染色でDAB発色を示した面積 / 組織の面積 (%)
\$\$: 0, negative; 1, slight; 2, moderate; 3, marked
#: 検出可能だが、定量性については保証できず
##: 非特異的反応を認識 (鏡検により確認)



Conclusion



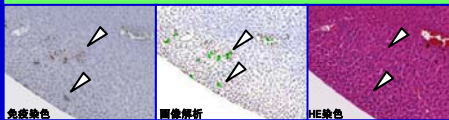
病理組織学的評価法

メリット

・細胞の詳細な形態や分布が確認できる。

デメリット

・免疫染色や画像解析に予備検討が必要。
・病理経験者が評価する必要あり。



免疫染色標本の機械的な画像解析では、非特異的染色像 (壊死部位や浸潤した炎症細胞) を誤認識する場合がある。
→ 鏡検による判別を要する。

分子生物学的評価法

メリット

・ゲノムDNAとTotal RNAは同時に抽出可能。
・ゲノムDNAは簡便に細胞の有無を確認でき、Total RNAは遺伝子発現変化を確認できる。
・市販のキットを用いて簡便な評価が可能。

デメリット

・細胞の形態や分布は確認できない。

・両手法を用いた確度の高い情報の取得
・目的に合わせた手法の利用

今後の課題

・Total RNAを用いた生着性の評価方法の構築
・ゲノムDNAの分解度と結果の関連性探索
・簡便かつ誤判断の無い病理組織学的手法による生着性の評価方法の構築

ゲノムDNAを用いた定量的PCR法と病理組織学的評価法は、

・同程度の検出感度を有する。
・結果に正の相関性が認められる。