

Title	ホルマリン固定パラフィン包埋検体を用いたフローサイトメトリーによる頭頸部癌の核DNA量解析：悪性度評価と鼻副鼻腔腫瘍における癌化過程の検討
Author(s)	鶴田, 至宏
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37772">https://hdl.handle.net/11094/37772</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	つる 鶴 田 至 宏
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 9 9 1 8 号
学位授与年月日	平成 3 年 10 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	ホルマリン固定パラフィン包埋検体を用いたフローサイトメトリー による頭頸部癌の核 DNA 量解析 —悪性度評価と鼻副鼻腔腫瘍における癌化過程の検討—
論文審査委員	(主査) 教 授 松 永 亨 (副査) 教 授 森 武 貞 教 授 北 村 幸 彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

腫瘍の特徴は異常な分裂増殖能を持っていることであり、このことは細胞の生物学的特徴を規定している DNA の異常として認められる。ホルマリン固定パラフィン包埋検体（以下固定検体）を用いたフローサイトメトリーによる核 DNA 量解析では、病理組織学的な異型度にしたがった観察が可能とされるが、頭頸部領域では明らかではないので、今回頭頸部領域での本法の臨床応用の可能性と頭頸部癌悪性度評価および鼻副鼻腔腫瘍における癌化過程を検討した。

### 〔 方 法 〕

#### (1) 固定検体と新鮮検体の解析結果の比較

非腫瘍（2例）・腫瘍組織（18例）の合計20例でそれぞれ新鮮検体と固定検体の DNA histogram を比較検討し、本法による評価の妥当性を検討した。固定検体ではパラフィンブロックを薄切後、xylene・alcohol・蒸留水にて脱パラ・再水和し、pepsin・trypsin・RNase で単離・裸核化処理した。さらに propidium iodide で DNA 染色後、FACScan (Becton Dickinson 社製) で 10000 個を測定し、DNA cell-cycle 解析ソフトウェア (同社製) を用い生長解析を行った。一方、新鮮検体では細切後 trypsin・RNase 処理し、同様の染色・測定解析を行った。DNA histogram は DNA aneuploidy, S および G<sub>2</sub>M 期細胞の割合 (以下 S+G<sub>2</sub>M%)、tetraploidy より多い核 DNA 量をもつ細胞の割合 (以下 polyploid%) の 3 つのパラメーターで対比した。以下の検討はいずれも同様の方法によった。

- (2) 固定検体を用いた同一検体内での病理組織学的所見の異なる部位の DNA histogram の比較  
副鼻腔乳頭腫と癌が共存した 2 例で、異型度の異なる部位を同一固定条件下のパラフィンブロックで分けし、DNA histogram を比較した。
- (3) 固定検体を用いた正常組織、前癌病変、癌組織の DNA histogram の比較  
前癌病変とされる乳頭腫 32 例、上顎癌 15 例の手術摘出標本のパラフィンブロックで混在する正常粘膜群 (23 例)、乳頭腫群 (32 例)、扁平上皮癌群 (15 例) の 3 群に区分けし、各群で核 DNA 量解析を行い、DNA histogram を比較した。

#### 〔成績〕

- (1) 新鮮検体・固定検体の比較では DNA aneuploidy は同一症例でいずれも同じように検出でき、 $S+G_2M\%$ 、polyploid% は有意に相関しており ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )、固定検体を用いる本法の妥当性を証明した。
- (2) 乳頭腫部分(a)、異型性を認める乳頭腫部分(b)、扁平上皮癌(c)の 3 部位では a) → b) → c) の順に  $S+G_2M\%$  は 3% → 8% → 13%、polyploid% は 0.1% → 0.9% → 4.0% と段階的に増加していた。以上より同一固定条件では  $S+G_2M\%$ 、polyploid% は組織・細胞異型度に正の相関を認めることを証明した。
- (3)  $S+G_2M\%$ 、polyploid% は正常粘膜群 → 乳頭腫群 → 上顎癌群で各々 12.1% → 19.6% → 34.8%、2.6% → 8.9% → 18.1% と推移し各群間で有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。DNA aneuploidy は上顎癌のみに認められ、6 例 (40%) であった。以上より固定条件が異なる固定検体の症例群の間でも、 $S+G_2M\%$ 、polyploid% は組織・細胞異型度に正の相関を認めることを証明した。また DNA aneuploidy は癌特異的であることを証明した。

#### 〔総括〕

- (1) 著者の方法による固定検体を用いた核 DNA 量解析は新鮮検体のそれと相関し、頭頸部領域でも本法で核 DNA 量解析が可能であることを証明した。
- (2) 病理組織学的所見と比較検討することで、 $S+G_2M\%$ 、polyploid% をパラメーターとして組織悪性度が評価できることを証明した。また DNA aneuploidy は癌特異的のマーカーであった。
- (3) DNA histogram から推察すると、癌化過程はまず正常粘膜に増殖能の指標と考えられる  $S+G_2M\%$  の増加と、異型度の指標と考えられる polyploid% の増加がおり、異常な増殖動態をもたらすことに始まる。その増殖過程の中で異なった細胞特性をもつ癌細胞、つまり DNA aneuploidy が発現していくものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、耳鼻咽喉科頭頸部癌において、フローサイトメトリーを使用し、ホルマリン固定パラフィン包埋検体での核DNA量解析の臨床応用の可能性を検討したものである。その結果、固定検体を用いた解析結果は、従来の新鮮検体の解析結果と有意に相関することを証明した。またパラフィンブロック上でごく限られた組織部位を細切することで、固形腫瘍でも、SおよびG<sub>2</sub>M期細胞の割合（以下S+G<sub>2</sub>M%）と、tetraploidyより多い核DNA量をもつ細胞の割合（以下 polyploid%）の増加にしたがって、組織悪性度が評価可能であり、DNA aneuploidyは癌特異的マーカーであることを証明した。さらに鼻副鼻腔腫瘍の病理組織学的な段階的癌化過程において、まずS+G<sub>2</sub>M%・polyploid%の増加がおこり、ついでDNA aneuploidyが発現していくことを推察した。

この研究成績は、頭頸部の腫瘍で、核DNA量解析による悪性度評価を可能にし、学位を授与されるに値すると判断した。