



Title	Prognostic significance of argyrophilic nucleolar organizer staining in soft-tissue sarcomas
Author(s)	倉都, 滋之
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38891
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	倉 都 滋 之
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 11264 号
学位授与年月日	平成 6 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Prognostic significance of argyrophilic nucleolar organizer staining in soft-tissue sarcomas (軟部肉腫における予後因子としてのAgNORの重要性について)
論文審査委員	(主査) 教授 青笹 克之 (副査) 教授 小野 啓郎 教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

【目的】軟部肉腫の予後推定は、通常組織学的悪性度の判定に基づいて行われる。しかし、軟部肉腫は発生頻度が低く、またその組織像が多彩であるため、組織型の決定や組織学的悪性度の判定が難しく、ひいては予後の推定が困難な症例も少なくない。したがって、客観性かつ再現性に優れた組織学的予後因子を見つけ出すことは治療方針決定上、重要である。この目的のため、1962年以降大阪大学及びその関連施設において経験した軟部肉腫について詳細な検討を行った結果、核分裂像の多寡が悪性度や予後を判定する上で重要な組織学的因子であることが判明した。分裂像や細胞密度は増殖能の重要な指標と考えられているが、軟部肉腫の中には、骨外性ユーイング肉腫のように high grade で予後不良でありながら、核分裂像数が少ない例があり、核分裂像数のみでは増殖能を評価できない場合も考えられる。本研究は、軟部肉腫の増殖能の客観的な評価法の確立を目的として行った。近年、ribosomal DNA のループを形成している核小体構成体 (NOR) に対する銀染色 (AgNOR 染色) が、細胞の増殖能をよく反映するとして注目を集めている。本研究ではこの AgNOR 染色および後述する他の方法が軟部肉腫における増殖能判定に有用か否かを予後との関係を中心として検討した。

【対象および成績】1962年から1989年の間に大阪大学およびその関連18施設で治療した194例を対象とした。まず、H.E.染色標本より組織型を決定し、組織学的悪性度、細胞密度、分裂像数、壊死の程度、多形性、硬化像の有無、粘液変性の程度についても検討し、それぞれ3段階に分類した。

1. 増殖能の客観的評価のための染色法について

(1)凍結材料：(Ki-67染色)新鮮凍結材料の得られた38例に対して、細胞周期のG0期以外の核に反応し、細胞の増殖能をよく反映すると広く認められているKi-67抗体を用い、ABC法にて免疫組織化学染色を施行し、高倍率10視野あたりのKi-67陽性細胞数を計測し、Ki-67 index とした。

(2)パラフィン包埋材料：

(AgNOR 染色) Crocker らの方法に準じて AgNOR 染色を施行した。光顕1000倍にて at random に200個の腫瘍細胞の核内に染まる AgNOR の dot を計測し、その中の上位100の細胞について、一核あたりの平均 AgNOR 数を算出し、AgNOR count とした。

(Feulgen 染色) 細胞の DNA 量の増加はその増殖能とよく比例していることが知られている。腫瘍細胞の核内の DNA 量評価のため、83例に Feulgen 染色を施行し、顕微測光法にて腫瘍細胞の DNA 量を測定し、histogram を作成

の上、各症例の ploidy pattern を決定した。

2. 統計学的検討

(1)AgNOR と既知の細胞増殖能の各指標、すなわち(a)mitotic count(b)Ki-67 index(c)DNA ploidy pattern との間の相関関係を x^2 検定および回帰分析法を用いて調べ、AgNOR が軟部肉腫細胞の増殖能を評価しうるかどうかについて検討した。(2)AgNOR count を low count group (AgNOR count < 7) と high count group (AgNOR count \geq 7) の2群に分け、Kaplan-Meier 法にて生存曲線を描き、ログランク検定を用いて生存率を比較した。(3)AgNOR とともに他の組織学的因子についても予後因子としての重要性を検討する目的で、まず単変量解析を施行し、有意であった因子のうち、独立した予後規定因子を知る目的で多変量解析を施行した。

【結果および考察】 1. Ki-67 : Ki-67 陽性細胞は38例中、24例 (63%) に認められた。Ki-67 index は 0~382 (平均 64.0/10 HPF) であった。AgNOR : AgNOR count は 1.38-16.05 (平均 7.46/一核あたり) であった。DNA ploidy : 83例中49例はdiploidy, 34例 (41.0%) は aneuploidy を示した。

2. (1)(a)AgNOR count と mitotic count は統計学的に相関関係を示した ($P < 0.0001$)。 (b)AgNOR count と Ki-67 index は高い相関関係を示した ($p < 0.00001$)。 (c)AgNOR count と DNA ploidy pattern の間にも相関関係を認めた ($P < 0.0005$)。 AgNOR 染色は、Ki-67 染色や Feulgen 染色に比べ非常に簡便である。また測定方法も簡単で、観察者によって判定にばらつきのある mitotic count に比べより客観性に優れている。今回の結果は、AgNOR count が軟部肉腫細胞の増殖能を反映していることを示している。(2) 5年生存率は low count group で 77.0%, high count group で 49.7% であり、low count group が統計学的に有意に予後良好であった ($P < 0.0001$)。(3) 単変量解析の結果、細胞密度、分裂像数、壊死の程度とともに AgNOR count が統計学的に有意な予後因子であった。さらに多変量解析により、他の因子に比べ AgNOR count は独立した重要な予後因子であることが判明した ($P < 0.0015$)。

【総括】 今回の検討は、AgNOR が正確かつ客観的に軟部肉腫の増殖能および予後を評価しうる指標であることを示した。AgNOR は、その染色が簡単でパラフィン切片の使用が可能であるため、軟部肉腫の悪性度評価をする上での重要な組織学的因子になると考える。

論文審査の結果の要旨

軟部肉腫の予後推定は、組織学的悪性度の判定に基づいて行われるが、軟部肉腫の発生頻度が低く、組織像が多彩であるため悪性度判定が難しく、ひいてはその予後の推定が困難な例も少なくないのが現状である。

近年、核小体構成体 (NOR) に対する銀染色 AgNOR が、細胞の増殖能およびその腫瘍の予後をよく反映するとして注目されている。本研究では、この AgNOR を中心に、Ki-67抗体 (細胞周期の G0 期以外の核に反応し、細胞の増殖能をよく反映する抗体) による免疫組織化学染色および Feulgen 染色を用いた細胞の DNA 量の測定などを行ない、AgNOR が軟部肉腫においてその増殖能判定因子となりうるかどうか、またその予後推定因子として重要であるかどうかについて検討した。

その結果、AgNOR は既知の細胞増殖能の各指標、すなわち核分裂像数、Ki-67 index、DNA ploidy pattern と高い相関関係を示した。さらに他の組織学的因子を含めた単変量解析および多変量解析を用いて予後との関係を検討したところ、他の因子に比べ、AgNOR は独立した重要な予後因子であることが判明した。

今回の結果は、AgNOR が正確かつ客観的に軟部肉腫の増殖能を反映し、その予後を推定しうる組織学的指標であることを示している。これらの知見は軟部肉腫の悪性度を評価する上で大変重要であり、治療方針決定など臨床的にも十分応用できるものである。よって本論文は、学位論文として十分価値があるものと認める。