

氏名(本籍)	とも べ みつ ろう 友部光朗(茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第1582号		
学位授与年月日	平成12年2月29日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Argyrophilic nucleolar organizer region in proliferating cell has a predictive value for local recurrence in superficial bladder tumor (表在性膀胱腫瘍の再発予測における増殖期細胞のAgNOR数の有用性)		
主査	筑波大学教授	医学博士	三輪正直
副査	筑波大学教授	医学博士	野口雅之
主査	筑波大学教授	医学博士	加納克己
主査	筑波大学助教授	医学博士	轟健

論文の内容の要旨

(目的)

膀胱腫瘍は筋層浸潤を伴わない表在性膀胱腫瘍とそれを伴う浸潤性膀胱腫瘍に大別される。前者は経尿道的内視鏡的切除(TUR-Bt)による膀胱温存療法が施行されるが、術後の膀胱内再発(約60%)や再発に伴う腫瘍進展(筋層浸潤、転移)(約15%)が問題とされている。このためBCG膀胱内注入療法などの再発予防の試みがなされている。一方、予後規定因子、特に再発や腫瘍進展を予測する因子についての研究は、より適切な治療法を決定する上で重要である。核小体形成体(nucleolar organizer region: NOR)はribosomal DNAのループを形成している構造の名称で、ここではRNA polymerase IによりDNAからribosomal RNAへの転写が行われている。AgNOR(agyrophilic nucleolar organizer region)は銀コロイド染色法により核小体形成体関連蛋白質を染色する方法でribosomal DNA転写活性の指標とされ、その数が細胞の増殖、分化、蛋白合成などに関連するといわれている。膀胱腫瘍においても過去にAgNORを用いた悪性度評価がなされてきたが、その評価は一定しない。理由として、染色法や計測法などの技術的な面以外に、各細胞ごとのAgNOR数の不均一性が考えられる。一方、Ki-67(MIB-1)は増殖期にある全ての細胞核に発現する増殖関連マーカーで、抗体を用いた免疫染色により検出可能である。今回、表在性膀胱腫瘍においてAgNORとMIB-1抗体を用いた同時二重染色を行うことにより、増殖期細胞と休止期細胞に分けてAgNORをより詳細に計測し、膀胱内再発予測における有用性を検討した。

(対象と方法)

1989年12月から1994年11月の5年間に筑波大学でTUR-Btを施行した表在性膀胱腫瘍患者(Ta, T1)50例(全て移行上皮癌)のパラフィン切片を用いた。まずMIB-1抗体を一次抗体としてstreptavidin biotin法により免疫組織染色し、New Fuchsinにて赤色に発色させた後に、AgNOR染色を銀コロイド染色法で行った。同一組織の連続切片をMIB-1抗体を省いて染色し、negative controlとした。MIB-1陽性細胞(増殖期細胞)と陰性細胞(休止期細胞)に分けて各細胞核のNORドット数を計測し、100核のNORドット数の平均値を各々増殖期NOR、休止期NORとした。また、negative controlのNOR数を全NORとした。MIB-1標準率については、1000核のうちのMIB-1陽性核数を計測し、その百分率で求めた。これらについて臨床病理学的因子との関連性を検討した。また各々のNOR

数の平均値で患者を2群に分けてKaplan-Meier法で非再発曲線を求め、Coxの比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行い再発危険因子としての有用性を検討した。

(結果)

NOR数の全症例における平均値は休止期NOR4.34, 全NOR5.55, 増殖期NOR7.27であった。MIB-1標識率の全症例の平均値は15.5%であった。増殖期NORは休止期NORと比較して有意に高値であった ($P < 0.01$)。組織学的異型度別での比較では、全NORでは低異型度と中異型度, 低異型度と高異型度の群の間でのみ有意差 ($p < 0.01$)を認めたのに対して、増殖期NORでは低, 中, 高異型各群の間で有意差 ($p < 0.01$)を認めた。病期別では、粘膜下層への浸潤の有無でNOR数に有意差はなかった。膀胱内再発は15例に認め、全NOR高値群と低値群との間に再発について有意差 ($p = 0.067$)はなかったが、増殖期NOR高値群は増殖期NOR低値群と比べて有意 ($p < 0.01$)に再発率が高かった。多変量解析では増殖期NORが唯一独立した再発危険因子と考えられた。再発した15例中4例に腫瘍進展がみられたが、いずれのNOR数もその危険因子とはなり得なかった。

(考察)

増殖期NORが休止期NORに比べて高値であったことから、NOR数は細胞の増殖期に増加することが示唆された。一方で、各NOR数は組織学的異型度とともに増加しており、特に休止期NORも組織学的異型度とともに増加していたことから、NOR数は細胞の悪性度にも関連していることが推察された。多変量解析の結果から表在性膀胱腫瘍の再発危険因子としては増殖期NORが最も有用であった。一方、腫瘍進展については症例が少なくいずれのNOR数も有意な危険因子とはならず、今後の検討が必要と思われた。本染色法は比較的手技が簡便であり、今後臨床応用にむけて更に症例を増やした検討が重要と考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

表在性膀胱腫瘍における最も重要な課題は、術後の膀胱内再発と腫瘍進展(浸潤・転移)を如何に予測し予防するかである。近年、AgNOR染色を用いた膀胱腫瘍の悪性度評価が試みられているが、その評価は定まっていない。本研究は従来のAgNOR染色の欠点を補うために、細胞核に発現する増殖関連マーカーMIB-1との同時二重染色法を開発し、細胞を増殖期又は、休止期に分別し、それぞれにおけるAgNOR数を選択的に計測した。その結果増殖期細胞におけるAgNOR数が膀胱腫瘍の再発予測において有用であるという新しい概念を示した価値ある論文といえる。今後、症例を増やして検討することにより臨床応用が可能になることが期待される。

よって、筆者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。