

氏名(本籍)	梅 <sup>うめ</sup> 林 <sup>はやし</sup> 芳 <sup>よし</sup> 弘 <sup>ひろ</sup> (石川県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第1,201号		
学位授与年月日	平成8年5月31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	悪性黒色腫に対する顕微蛍光測光法を用いた細胞核DNA量測定の臨床的意義の研究、および予後因子の解析		
主査	筑波大学教授	保健学博士	加納克己
副査	筑波大学教授	博士(医学)	秋根康之
副査	筑波大学教授	医学博士	久保武士
副査	筑波大学教授	医学博士	深尾立
副査	筑波大学教授	医学博士	三輪正直

## 論文の内容の要旨

### (目的)

悪性黒色腫は最も悪性度が高く、しかも患者数も年々増加の一途をたどっていることから、現在切に対策の俟たれている腫瘍の一つである。一方で、近年各種腫瘍の細胞核DNA量の異常の程度と腫瘍の生物学的態度がよく相関することが見いだされており、悪性黒色腫に対してもその応用が考えられてしかるべき状況にある。このような現状を背景として本研究は、悪性黒色腫の細胞核DNA量を顕微蛍光測光法を用いて測定し、その臨床的意義を明らかにすること、および細胞核DNA量を含む予後決定因子の重みづけを本邦皮膚科領域ではこれまで用いるものがなかった多変量解析を応用して検討することを目的としてなされた。

### (対象と方法)

悪性黒色腫66例を対象として、その原発巣の腫瘍細胞核DNA量を顕微蛍光測光法を用いて測定した。これを後天性色素性母斑、および悪性黒色腫と鑑別が難しいとされるSpitz母斑と比較した。次に、各症例について確認ないし測定した性、年齢、発生部位、病型、治療歴、stage、所属リンパ節転移の有無、湿潤level、腫瘍厚、細胞核DNA量といった各種予後因子と生存期間との関係を各変量ごとに解析した。また、細胞核DNA量と他の因子との関係を解析した。そして、各因子の有する予後因子としての重みを複数の多変量解析の手法を用いて検討し、結果を比較した。ここで用いた多変量解析の手法は、数量化理論、判別分析、重回帰分析、比例ハザード法である。最後に、同一患者の原発巣と転移巣とで細胞核DNA量を比較し、その転移能との関係について検討した。

### (結果)

後天性色素性母斑の細胞核DNA量のヒストグラムパターンは全例2倍体細胞を中心とするdiploid patternを描いたのに対し、悪性黒色腫のそれは2倍体の整数倍でないDNA量を有する細胞の存在が目立つaneuploid patternを呈した。腫瘍細胞の核DNA量の平均値を2倍体細胞のDNA量で割った値をDNA indexとすると、悪性黒色腫のDNA indexは後天性色素性母斑のDNA indexよりも有意に高かった。一方、Spitz母斑のDNAヒストグラムパターンはdiploid patternを呈し、またDNA indexは、後天性色素性母斑のそれと同様で悪性黒色腫よりも有意に低かった。原発巣の細胞核DNA量と予後との関係をみたところ、ヒストグラムパターンでは必ずし

も明確ではなかったが、DNA index を変数として用いると、これが2を超える症例は、2以下の症例よりも明らかに予後が悪いという結果が得られた。その他の因子では、stage、所属リンパ節転移、病型が有意に予後に影響していた。DNA index と他の因子との関係を見ると stage や level といった腫瘍の増大、進行に関係する変数が大きくなるにつれて、DNA index が増す傾向が認められたが、検定上有意性のあるものはなかった。各因子の予後因子としての重みを多変量解析各手法を用いて解析したところ、解析手法によって異ならなかったのは、DNA index が大きいもの、所属リンパ節転移陽性例、level が大きいものは予後が悪い、という結果であった。予後因子として重みはこの順に大きく、特にDNA index の予後に対する寄与については有意性が認められた。次に、原発巣と転移巣の細胞核 DNA 量の比較であるが、後者は有意に前者よりもDNA index が高いという結果が得られた。また、初診時転移の有無を目的変数として他の因子のこれに寄与する程度をロジスティック回帰分析で見たところ、DNA index の寄与が最大であった。

(考察)

顕微蛍光測光法によって得られた細胞核 DNA 量は、悪性黒色腫の生物学的態度を鋭敏に反映していることが確認された。これを測定することにより、従来の病理組織学検査のみではしばしば困難であった Spitz 母斑と悪性黒色腫との鑑別がより確実なものとなった。また、細胞核 DNA 量を DNA index で代表させることにより、予後推定に極めて有用なパラメータを得ることができた。従来の flow cytometry を用いた研究と比較すると、本法は直視下に細胞を確認しながら測光できるという利点があり、これが、高感度に細胞の悪性を検出する理由となっているものと考えられる。また、複数の解析手法を用いて共通する結果を抽出しているため、各々の数学的モデルの抽象性に由来するバイアスを除いた結果が得られている。DNA index の予後因子として意義については各手法で有意性が得られており、確実性は極めて高い。即ち、原発巣の細胞核 DNA 量は、最大かつ独立した予後因子であると結論される。また、原発巣より転移巣において細胞核 DNA 量が高くなる理由については、原発巣の DNA index が初診時転移の存在を予測するにおいて寄与するところが大きいことから、原発巣の細胞の中で特に細胞核 DNA 量の高い細胞が強い転移能を有するものと推定される。従って、原発巣の細胞核 DNA 量が予後を反映するのは、それが部分的にせよ転移能と関係するためであろうと考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は顕微蛍光測光法という感度の高い方法を用いることで細胞核 DNA 量が悪性黒色腫の生物学的動態を鋭敏に反映することを初めて示したものである。従来の flow cytometry を用いた研究では一定の結果が得られなかったが、本法により細胞核 DNA 量の臨床的な鑑別診断や予後を推定する上での意義が明らかになった。また、本邦皮膚科領域ではこれまで多変量解析を用いた研究がなされて来なかったため、海外の報告と比較して本邦悪性黒色腫の疫学的特徴を把握することが困難であった。本研究は悪性黒色腫の予後因子解析に多変量解析を用いた点で本邦の嚆矢となるものであるが、各数学的モデルの妥当性に遡って検討を加えている点でも類を見ない研究である。本論文の内容は以上の特長が評価され、多くの学会誌に採択され発表されている。今後、本研究の内容が国内外で知られるようになるにつれ、悪性黒色腫の診療と研究に一層の進歩がもたらされるものと期待される。

よって、著者は博士(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。