

【126】

氏名(本籍)	ほりぐち 堀口	ひさし 尚(東京都)	
学位の種類	医学博士		
学位記番号	博甲第916号		
学位授与年月日	平成3年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	細胞核DNA量のカラー画像解析装置を用いた顕微測光法に関する研究 (Dissertation形式)		
主査	筑波大学教授	医学博士	稲田哲雄
副査	筑波大学教授	医学博士	板井悠二
副査	筑波大学教授	工学博士	大島宣雄
副査	筑波大学教授	医学博士	中村恭一
副査	筑波大学助教授	医学博士	吉井与志彦

論文の要旨

〈目的〉

新たな癌の診断法開発のために細胞核DNAの解析法が導入されつつある。現在の細胞核DNAの定量法としてはフローサイトメトリ (FCM), 顕微分光測光法, 顕微蛍光測光法があるが, これらの方法は少量の検体について短時間で高精度の測定を行なうには難がある。最近の画像解析法によれば, FCMと顕微測光法の間隔的な性格の測定, すなわちDNAの高速定量と同時に核の形態計測が可能になる。本研究は細胞膜のDNA量をカラー画像解析装置を用いて顕微測光する方法を開発し, その実用性を検討することを目的とした。

〈方法〉

(1) 画像解析法の開発

① データ取得法

本画像解析法では, 顕微鏡を介して撮影された画像を用いて測定を行なう。画像は画素とよばれる小さな区画の集合として扱われ, 測定対象は入力された時点で分割, デジタル化されているので, 顕微分光測光のような走査を行なう必要がない。

② 非特異的光喪失の除去

分光測光法では干渉フィルタを用いた2波長計測を行なうに対して, 本画像解析法においては撮像装置がカラー対応であることに着目し, より簡便に非特異的光喪失を除去する方法を考案した。すなわち, フェイルゲン色素の特異吸光曲線にほぼ一致するG成分画像と, 殆ど特異吸光の

ないB成分画像を直接用いても、フォイルゲン色素の定量が可能であることに着目し、その妥当性を証明した。

③ 測定システムの構成

カラー画像解析法の理論に基づいて、細胞の核DNA量を測定するための装置の構成、測定のアルゴリズム・手順を検討した。TVカメラとしては、CCDカメラを用いた。また、実際に光喪失を除去するために所要の係数を決定した。

(2) 核DNAの定量による本測定法の検証

本法を用いてリンパ球、好中球、精子および甲状腺癌由来培養細胞（TTA-1）の核DNA量を測定し、次の各項の結果をえることにより、本法の定量性を実証した。

- ① 同一標本上のリンパ球と好中球の核DNA量が等しいこと。
- ② リンパ球は精子のDNA量の2倍であること。
- ③ 精度の指標である変動係数が2～5%であること。
- ④ 本法の測定結果が干渉フィルタを用いて測定した結果と差がないこと。

〈本法の応用と結果〉

(1) 基礎的応用

培養癌細胞のDNAヒストグラム解析を行い、FCMによってえたデータと比較した。具体的には薬剤により細胞周期を同調し、培養液の血清濃度を変化させて、DNAヒストグラムの変化を求めた。その結果、本法によればFCMと同等の精度で解析可能であることを示した。

(2) 臨床応用

肺癌の組織型別の細胞断標本のDNAヒストグラムの解析を行なうとともに、細胞核の形態量を計測し、核の形態学的異型度と比較した。その結果、約70%の症例にaneuploidを認め、FCMによる結果とほぼ一致した。また、本法により算出された形態量は、病理学的な異型度を反映するものと考えられた。

〈結論〉

本研究にて考案された細胞核DNA量のカラー画像解析法は、測定精度と処理速度の観点から、従来の顕微分光測定法とFCMの中間に位置づけられ、それぞれの短所を補足する。すなわち本法の特徴として、試料の調整が容易で、少量の細胞診標本による診断に応用が可能であり、FCMに近い精度で測定でき、同時に核の形態解析が可能で、これまでの病理形態学的な知識を利用できる。よって本研究にて開発された細胞核DNA量のカラー画像解析法は、癌診断の実用面に貢献しうるものとする。

審 査 の 要 旨

癌細胞の核DNAの異常はその悪性度とともに増加すると考えられている。近年集団検診の普及により、細胞診標本の数は増加し、大量の検体を客観的に正確に診断する必要性に対応して、細胞核DNA量の解析法の応用が考えられてきた。本研究により開発された画像解析法は、カラー画像を利用

する点に独創性があり，その結果として，細胞のDNA量および形態量の同時計測を可能とした。さらに試料調製を含めて測定方法がフローサイトメトリーより格段に容易であり，少量の検体ですむ利点がある。よって本法は今後さらに改善され，病理学的な実証を積み重ねて，癌診断における有用性を確立するものと期待される。

よって，著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。