

氏 名(本 籍)	やま もと たつ お 山 本 達 生 (和歌山県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 1,419 号
学位授与年月日	平 成 7 年 3 月 23 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	肺癌における DNA ploidy と S phase fraction の細胞生物学的 および臨床病理学的意義
主 査	筑波大学教授 医学博士 長谷川 鎮 雄
副 査	筑波大学教授 医学博士 大 川 治 夫
副 査	筑波大学教授 歯学博士 吉 田 廣
副 査	筑波大学教授 医学博士 渡 邊 照 男
副 査	筑波大学助教授 医学博士 三 井 清 文

論 文 の 要 旨

〈目的〉

多くの癌で核 DNA 量の異常 (DNA aneuploidy) が見られ、核 DNA 量解析は癌の補助的診断に用いられている。核 DNA 量の状態 (DNA ploidy) および増殖能 S phase fraction (SPF) と癌の進展度や患者の予後との関連性について多くの研究があるが核 DNA 量解析の意義に対する評価は必ずしも一定していない。また、癌の病理学的診断の根拠となっている細胞の「異型」は核 DNA 量と密接に関係しているがその解析は十分にみられず、DNA ploidy や SPF がこれら癌細胞の生物学的特徴を反映しているか否かの検討も十分になされていない。本研究はヒト癌細胞を対象とした核 DNA 量解析に最も適した方法および評価法を確立し、DNA ploidy および SPF と癌細胞の核異型および遺伝子異常との関連を検討することにより癌における核 DNA 量解析の生物学的意義を明らかにし、その臨床病理学的評価を確立することを目的とした。

〈対象と方法〉

筑波大学病理で独自に開発したシステム「NASCA」を用い、核 DNA 量解析と同時に癌細胞の形態量を解析した。対象は肺癌組織118検体であり、対照として正常気管支上皮細胞を用いた。また、システムの評価には培養細胞を使用した。

〈結果〉

1. 「NASCA」による核 DNA 量測定法の信頼性と臨床材料における利点

ヒト肺癌由来の培養細胞株を対象として「NASCA」と flow cytometry (FCM) の両方法で測定した

核 DNA 量を比較した結果、測定精度はほぼ同等であった。肺癌切除検体を対象に「NASCA」と FCM の両者を比較すると「NASCA」では視覚的選択によって核の破砕物や臨床材料に多く含まれる癌以外の細胞を除外しての測定が可能であり、FCM より正確に癌細胞のみの核 DNA 量解析を行えることが明らかとなった。

2. 肺癌における DNA ploidy および SPF と核異型との関連

核異型の指標として核形態量およびクロマチンパターンの定量化の方法を確立し、この方法を用いて肺癌細胞を対象に核 DNA 量解析と核異型の測定を行なった。その結果、核 DNA 量の異常を示す aneuploidy の癌細胞は、そうでない diploidy の癌細胞と比較して、より高度の核異型を伴うが、増殖が盛んな癌細胞とそうでない癌細胞では、核異型に違いがないことが明らかとなった。

3. 肺癌における DNA ploidy および SPF とがん抑制遺伝子 p53 との関連

がん抑制遺伝子 p53 の異常遺伝子産物である変異型 p53 蛋白の肺癌細胞における発現を免疫組織化学的に検討し、DNA ploidy および SPF と比較した。その結果、変異型 p53 蛋白の発現率は増殖能の亢進している症例に高く、変異型 p53 蛋白の細胞増殖促進作用と矛盾しないことが明らかとなった。

4. 肺癌における DNA ploidy および SPF と臨床病理学的意義について

正常細胞の測定結果から DNA ploidy および SPF の評価の基準を設定し非小細胞肺癌を対象として核 DNA 量解析を行い、DNA ploidy および SPF と臨床病理学的因子との関連性、およびその予後因子としての重要性を検討した。その結果、SPF は腫瘍の進展度と組織学的分化度との間に有意な相関がみられたが、DNA ploidy と臨床病理学的因子との関連が見られなかった。予後因子としては、DNA ploidy よりも SPF が、より重要と考えられた。

〈考察と結論〉

DNA aneuploidy は癌細胞の核形態異常に関与しており、一方、増殖能を表わす SPF は癌細胞の核形態異常とは関係せず、p53 遺伝子の異常および癌の臨床病理学的悪性度との関連が深いことが初めて明らかとなった。また、今回新たに開発したクロマチンパターンの定量化法は、従来の数式にたよった Markovian 解析などと比べて、実際の視覚認識に合致させた点が優れた特徴であることが示された。

「NASCA」により癌細胞の核 DNA 量解析と同時に、カラー画像上での核異型の定量化が可能となり、癌細胞の特徴である核 DNA 量の異常と核の異型を捉えることによって、癌診断の自動化に応用できる可能性を明らかにすることができた。

審 査 の 要 旨

核 DNA 量解析法の進歩によって、癌細胞の核 DNA 量の状態 (DNA ploidy) と増殖能 S phase fraction (SPF) の評価が可能となっているが、核 DNA 量の解析方法、評価基準が施設間で異なり、核 DNA 量解析の評価は必ずしも一定していない。本研究では、筑波大学病理学グループが独自に開発したシステム「NASCA」を用い、ヒト肺癌由来培養細胞株と肺癌組織検体の癌細胞を解析し、この方法による核 DNA 量解析が従来の flow cytometry と同等の精度を持ち、臨床材料の検索では、より正

確な成績が得られることを明らかにした。またクロマチンパターンの定量化法を確立し、これによって DNA aneuploidy が癌細胞の核形態異常に関与し、SPF は p53 遺伝子の異常、および癌の臨床病理学的悪性度との関連が強いことを初めて明らかにした。また「NASCA」による核異型の定量化が癌細胞の自動診断に応用できる可能性も示した。本研究のこれらの諸成果は、肺癌の病理学的診断あるいは臨床診断の向上にきわめて意義が高いものと考えられる。

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。