

安武 亨 (福岡県) 昭和32年6月15日生
授与年月日 平成3年3月31日
主論文 Surgical Application of DNA Ploidy to
Non-Small Cell Lung Carcinoma

論文内容の要旨

緒言

癌細胞核 DNA 量は非小細胞性肺癌において良い予後の指標となることが明らかとなってきた。ついで、その臨床応用が期待される場所である。臨床応用、特に外科領域への応用としては手術法決定の一指針としての応用あるいは悪性診断への応用等がある。そこで最近、診断技術の進歩とともに増加傾向にある Stage I 肺癌に着目し、その手術法である定型的手術と縮小手術の術式選択において DNA Ploidy が有用であるか否かをまず検討した。次に、良性疾患の DNA 量を測定し DNA aneuploidy が悪性細胞の指標となり得るかに関して検討した。また、早期の肺癌症例では術前に腫瘍細胞を得難い症例も多いため手術に応用するためには術中 DNA 量測定が必要となる。そこで、術中迅速 DNA 量測定法についても検討した。

対象および方法

- (1) Stage I 肺癌の DNA 量測定：110例の非小細胞性肺癌について検討した。癌細胞核 DNA 量測定はパラフィン包埋組織を用い Flow cytometry にて測

定した。

- (2) 良性疾患の DNA 量測定：44例の良性肺疾患について検討した。肺結核、肺炎等のパラフィン包埋組織を用い Flow cytometry にて細胞核 DNA 量を測定した。
- (3) 迅速 DNA 量測定法：末梢血リンパ球 (PBL)、培養癌細胞および新鮮切除標本を用いた。PBL および培養癌細胞は遠沈後、切除標本はハサミにて細切後 TritonX-100, RNase, Propidium iodide (PI) を使用し Flow cytometry にて細胞核 DNA 量を測定し DNA ヒストグラムを測定した。TritonX-100, RNase, PI は種々の濃度のものを使用し至適濃度を検討した。さらに、標本切除後また検体処理後各 interval をおいて DNA 量を測定し、それぞれの許容時間を検討した。
- (4) 術中 DNA 量測定：至適方法により実際に18例の肺腫瘍の細胞核 DNA 量を手術中に測定した。

結果

- (1) Stage I 肺癌： T_1N_0 症例では定型手術例と縮小手術例との間で予後に差異は認めなかった。しかし、 T_2N_0 症例では縮小手術例が有意に予後不良であった。 T_2N_0 の DNA diploid 症例では両術式間で予後に差異は認めなかったが、DNA aneuploid 症例では縮小手術例の予後が有意に不良であった。
- (2) 良性肺疾患：44例すべて DNA diploidy であった。
- (3) 迅速 DNA 量測定：TritonX-100は5.0%のものが最も良好な coefficient variation (CV) を得た。RNase 濃度は使用すれば低濃度でも良好な CV が得られた。非使用では CV は良好であるが DNA index がやや高めであった。PI 濃度は50 μ g/ml以上であれば CV 値に影響を与えなかった。腫瘍切除より DNA 量測定までの時間が8時間を越えると CV が不良となった。検体処理より DNA 量測定までの時間が長くなればなるほど CV が不良となり、120分以上ではヒストグラムは評価不能となった。
- (4) 術中 DNA 量測定：DNA aneuploidy のものはホルマリン固定病理標本にて全て悪性と診断された。1例のみ迅速凍結病理診断にて良性と診断された DNA aneuploid 症例を認めたがホルマリン固定病理標本にて悪性と診断された。腫瘍切除より癌細胞核 DNA 量測定結果報告までに要した時間は全ての症例で20分以下であった。

考察および結語

高齢者手術症例の増加とともにその risk を考慮した縮小手術が再び注目を集めている。肺癌においても縮小手術の適応に関し種々の報告があるが、今回癌細胞核 DNA 量よりその適応を検討した。その結果、 T_2N_0 の DNA aneuploid 症例には risk を考慮した上

で可能な限り縮小手術は避けるべきであると考えられた。

前癌病変として近年注目を集めている病変を含め良性肺病変の DNA 量を測定したが全て DNA diploidy であった。このことは DNA aneuploidy が悪性のパラメーターであることを意味する。

迅速 DNA 量測定法について検討したが、5% TritonX-100, 20k unitz/ml RNase, 50 μ g/ml PI にて最良の CV が得られた。本法は簡便迅速で、術中迅速 DNA 量測定に適していると考えられた。また、腫瘍切除より測定までの時間および検体処理より測定までの時間は迅速 DNA 量測定では特に問題とはならないがそれぞれ6時間以内、90分以内の測定が望ましいと思われた。実際に術中 DNA 量測定を行ったが、術前診断の得られているものにはその予後因子を与え、診断の得られていないものにはその悪性診断を補助するものとして有用であると考えられた。

以上のことより、DNA ploidy は手術術式決定の一指針となり、DNA ploidy により悪性細胞の検出が可能であることを明らかにした。さらに、迅速 DNA 量測定法について検討し、本法により良好な DNA ヒストグラムを迅速に得ることが可能であり手術中の DNA 量測定が容易となることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

安武 亨は昭和57年3月長崎大学医学部を卒業後、長崎大学医学部附属病院、佐世保市立総合病院、聖フランシスコ病院、北九州市立八幡病院などを歴任しながら外科診療の経験を重ね、癌治療に多大の関心を与えながら肺癌細胞の増殖活性の研究を重ねた。平成2年6月主論文 Surgical Application of DNA Ploidy to Non-small Cell Lung Carcinoma を完成し、参考論文26篇を附して長崎大学医学部研究科委員会に医学博士の学位を申請した。

長崎大学医学部研究科委員会はこれを平成3年1月23日の定例委員会に付議し、論文内容の要旨を検討し研究歴を審査した結果、受理して差支えないものと認めたので上記の通り審査委員を選定した。委員は主査を中心として慎重審査の上に平成3年3月20日の定例委員会でその結果を報告した。

主論文は癌細胞核 DNA 量が非小細胞性肺癌の予後判定の指標となることが明らかになって来た。そのため、癌細胞 DNA 量を測定して比較的早期の癌でも予後の良否を判定することが可能か否か、良性疾患について DNA 解析を行い悪性疾患との鑑別が可能か否かについて検討した。

T_1N_0 肺癌で標準手術例と縮小手術例の予後には差をみとめなかったが、 T_2N_0 肺癌で縮小手術の予後は不良であった。とくに T_2N_0 症例の aneuploidy を

示す症例では縮小手術の予後は不良であったことから術中 DNA 解析が可能となれば縮小手術の適応を厳密に決定できることを示した。また組織学的検索で悪性良性の判定が必ずしも容易でないとき DNA 解析を行うと診断の補助手段の役割を果たす可能性があるかについて検討した。その結果は44例良性疾患すべて diploidy であったことから DNA 判定の補助手段の一つとなることが示された。

次いで術中迅速 DNA 量測定について、末梢血リンパ球、培養癌細胞および新鮮切除標本について、TritonX-100, RNase, PI 至適濃度を検討した。また、検体処理後の時間的推移と DNA 量を測定し測定可能な許容時間を検討した。その結果 TritonX-100は50%, RNase は低濃度, PI 濃度は50 μ g/ml以上が至適濃度であることを明らかにし、検体処理後120分経過すると測定不能となることを明らかにした。

以上の結果は DNA 量測定を術中利用することの利点として T₂n₀ を中心とする早期肺癌の縮小手術の適応決定および良性判定の補助手段として有用であることを明かにした。さらに臨床的に応用するための測定の至適条件を明かにし、20分以内に測定しその結果を臨床に活用できることを示した研究で従来の研究に全くみられない新知見を与え肺癌治療のより適切な治療を timely に行い治療成績を向上させるのに役立つものとして合格と判定した。

審査担当者 主査 教授 富田 正雄
副査 教授 白井 敏明
副査 教授 原 耕平