

## 竹原浩介 論文内容の要旨

### 主論文

Proliferative activity and genetic changes in adrenal cortical tumors examined by flow cytometry, fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry  
(フローサイトメトリー、FISH 法および免疫組織学的染色による副腎皮質腫瘍の増殖能および遺伝子変化の検討)

Kousuke Takehara, Hideki Sakai, Takefumi Shono,  
Junji Irie and Hiroshi Kanetake  
International Journal of Urology (2005) **12**, 121–127

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻  
(指導教授：金武 洋 教授)

### 緒言

副腎皮質は各種ステロイドホルモンの産生のものであり、副腎皮質腫瘍は他臓器腫瘍と比較して、機能上特異的な面を有している。また、転移の有無を別として病理組織学的のみでは良性か悪性かの鑑別が困難な場合がある。過去に我々は機能性副腎皮質腺腫を対象としたフローサイトメトリー(FCM)を用いた検討にて、クッシング症候群と比較して、原発性アルドステロン症における核の異型性は G2/M 期における核 DNA 量の増加 (tetraploid) が関与していることを報告した。さらに fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を用いて、染色体レベルでの検討を行ったところ、4 倍体を呈する細胞数の有意な増加を確認した。これらの結果より、一部の皮質腺腫では核 DNA 量と核の異型性と密接に関連しており、皮質癌との病理組織学的な鑑別が困難である理由のひとつである可能性が示唆された。近年、皮質腺腫と皮質癌との鑑別に様々なマーカーの有用性が報告されている。今回、皮質癌も加えた副腎皮質腫瘍を対象とし、FCM、FISH 法および免疫組織学的な検討を行い、その生物学的様相を評価検討した。

### 対象と方法

副腎皮質腫瘍 24 症例を対象とし、手術摘出標本を用いて検討を行った(皮質癌 3 例、皮質腺腫 21 例)。またそれぞれの検討には正常副腎組織をコントロールとして用いた。FCM: ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用い、細胞浮遊液を作製し、FACScan を用いて核 DNA 量測定とヒストグラム作成を行った。DNA ploidy の判定は正常副腎をコントロールとし、単一の G0/G1 ピークがみられる場合を diploid、4C (G2/M) ピークが 9% (正常+2.4 SD)以上でかつ、8C ピークがみられる場合を tetraploid、2C および 4C 以外に明らかなピークがみられる場合を aneuploid とした。免疫組織学的検討: ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用い、Ki-67 の発現および p53 蛋白の発現を検討した。Ki-67 の発現に関しては少なくとも 1000 以上の細胞について陽性数を計測し、1000 個の細胞に対する陽性数の割合を labeling index (LI) とした。

また p-53 の発現に関しては発現が 1%以上を陽性とした。

FISH 法：凍結組織あるいは新鮮生組織から単離核標本を作成し、17 番染色体セントロメア特異的プローブを用い FISH 法を施行した。走査型共焦点レーザー顕微鏡にて、少なくとも 100 以上の核についてシグナル数をカウントした。コントロールとして腎摘除術にて得られた正常副腎組織を用い、1 個あるいは 3 個以上のシグナルを持つ細胞数の割合が正常副腎の平均+3 SD 以上の場合を monosomy あるいは polysomy と定義した。

## 結果

腫瘍径に関しては皮質腺腫の中ではクッシング症候群が原発性アルドステロン症と比較して有意に大きい傾向にあった ( $P = 0.004$ )。DNA ploidy は過去に報告したように、アルドステロン産生腺腫にて tetraploid が多い傾向にあった。Aneuploid は皮質腺腫の 3 例 (13.6%) に、皮質癌の 2 例 (66.7%) に認められたが、皮質癌の 1 例は diploid であった。Ki-67 LI は皮質癌にて有意に高く、また皮質腺腫の中では、クッシング症候群が原発性アルドステロン症より有意に高かった ( $P = 0.004$ )。FISH 法による 17 番染色体に関しては、皮質癌において有意に 1 個のシグナルをもつ細胞数の増加を認めた。各症例別の検討では、皮質癌の 2 例に 17 番染色体の数的異常を認め、その 2 例のみが p53 蛋白の発現が陽性であった。

## 考察

副腎皮質癌では皮質腺腫と比較して、有意に Ki-67 の発現が高く、この蛋白の発現は副腎皮質腫瘍の良悪性の鑑別には有用であると考えられた。副腎皮質腺腫において、原発性アルドステロン症ではクッシング症候群と比較して、核 DNA 量の増加は認めるが、腫瘍径や Ki-67 の発現の低さから増殖能は低いと考えられた。17 番染色体に関しては、過去に報告した他の染色体 (3 番、7 番、8 番、11 番、12 番染色体) とは異なり、皮質腺腫における染色体の数的異常は認めなかったが、皮質癌の 2 例にのみ、17 番染色体の数的異常および p53 蛋白の発現を認め、17 番染色体の遺伝子学的な異常と癌化との関連性が示唆された。今回、FCM、FISH 法および免疫染色を用いて、副腎皮質腫瘍の増殖能および染色体レベルでの変化を検討し、この稀な腫瘍の様々な生物学的特性を明らかにした。