膀胱腫瘍術前照射全摘症例の核 DNA 量解析 —照射前の DNA ploidy と照射前後の DNA ploidy 変化と 治療効果及び予後との関係—

北海道大学泌尿器科 (主任: 小柳知彦)

豊田 健一 永森 聡 柏木 明
野々村克也 富樫 正樹 小柳 知彦

北海道大学医学部附属病院病理部

野 島 孝 之 井 上 和 秋

FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS OF THE DNA CONTENT IN THE URINARY BLADDER CANCERS TREATED BY RADICAL CYTECTOMY AFTER PRE-OPERATIVE IRRADIATION

Ken-ichi Toyota, Satoshi Nagamori, Akira Kashiwagi, Katsuya Nonomura,
Masaki Togashi and Tomohiko Koyanagi

Department of Urology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan
(Director: Prof. T. Koyanagi)

Takayuki Nojima and Kazuaki Inoue
Division of Pathology, Hokkaido University Hospital

The DNA ploidy of bladder cancers treated by radical cystectomy following pre-operative irradiation was analyzed by flow cytometry using paraffin embedded samples. The DNA ploidy and its changes by irradiation were studied. We used flow cytometry in 30 patients with transitional cell carcinoma of the bladder who received pre-operative irradiation (40 Gy in 24 patients, 20 Gy in 5 patients and 60 Gy in one) with follow-up for at least 3 years. Total 140 paraffin embedded samples (4.6 samples per one patient) were available.

The effects of therapy were related to the DNA patterns before irradiation and to the DNA ploidy changes after irradiation.

1 Eight DNA diploid tumors and twenty-two DNA aneuploid ones were detected before irradiation. Although diploid group didn't change its DNA ploidy after irradiation, of 22 aneuploid tumors 18 were changed to DNA diploid and 4 were not changed in their ploidy.

2 The tumor eradicating effect of irradiation was shown to be higher ($p<0.05$) in the diploid group (5 of 8, 63%) than in the aneuploid group (5 of 22, 23%).

3 Overall survival rates were discussed in 3 groups (A, B and C), the group A was 10 of tumor free and 3 diploid tumors after irradiation, the group B was 13 of aneuploid tumors which changed to diploid ones and the group C was 4 of persistent aneuploid tumors. Each of 5 year survival rate was 100% (A), 58% (B) and 0% (C). Overall survival for C group was significantly shorter than for other groups ($p<0.01$).

These data suggest that DNA diploid in pre-irradiation is indication of a good prognosis irrespective of the presence of tumor and tumor disappearance rate of diploid is significantly higher than that of aneuploid. Although aneuploid tumors do disappear after irradiation, persistent aneuploid tumors predict a poor prognosis. In the choice of pre-operative irradiation, an analysis of tumor ploidy provides at least some basis on which radiation response can be predicted.

Key words: DNA ploidy, pre-operative irradiation, bladder cancers

要旨：Flow cytometry (FCM) を用いて、術前照射後、根治的膀胱全摘術を施行した膀胱癌（移行上皮癌）30症例の照射前と全摘後の核 DNA 量を解析し、照射前の DNA ploidy と照射前後の DNA ploidy 変化が治療効果と予後とを予測する指標となりうるか否かについて検討した。

1) 照射前の DNA ploidy は DNA diploid（以下 diploid）8 例、DNA aneuploid（以下 aneuploid）22 例で、照射前 diploid は照射後全て diploid を示し、照射前 aneuploid は 22 例中 18 例が照射後 diploid に変化し、4 例は aneuploid で変化なかった。

2) 照射前 diploid 症例は照射前 aneuploid 症例に比し、照射後有意に高率に腫瘍が消失し ($p < 0.05$)、8 例全例 NED で生存していた。

3) 照射前の ploidy に関わらず、腫瘍消失例や diploid 腫瘍残存例は、全例生存しているが、それに比較して、照射後も aneuploid 腫瘍が残存した 4 例は有意に予後不良であった ($p < 0.01$)。

4) 腫瘍残存例では、照射前 aneuploid 17 例中 13 例が照射後 diploid に変化したが、その内、5 例が癌死し、必ずしも予後良好とはいえなかった。

以上、照射前 diploid は腫瘍の消失率も高く、治療効果、予後とも良好であり、照射後 aneuploid 腫瘍の残存例と diploid に変化した例の一部は予後不良であることから、照射前の DNA ploidy 及び照射前後の DNA ploidy 変化の解析によって、術前照射例の治療効果および予後の予測はある程度可能な結果であることが示唆された。

キーワード：DNA プロイディ、術前照射、膀胱腫瘍

緒 言

放射線照射による悪性腫瘍の治療は様々な腫瘍において施行されているが、照射後摘出されるという点からみると膀胱腫瘍は特異な腫瘍と位置付けられるだろう。T2以上のいわゆる浸潤性膀胱腫瘍の治療は根治的膀胱全摘除術を中心に施行されているが、満足な治療成績があげられているとは言えず、放射線治療や化学療法を組み合わせた様々な集学的治療法が施行されているのが現状である。また、尿路変向術に関しても QOL を考え、Kock pouch や Mainz pouch など腸管を用いた continence を保った代用膀胱が盛んに行われるようになった現在では、術前照射は術後合併症の発生率が高くなるなどの理由から、最近では敬遠されがちであるが、放射線治療の効果は照射のみで tumor free にもする事ができ、さらに膀胱全摘術との併用で予後の改善も認められていることから¹⁾²⁾、必ずしも過去の治療法とは言えまい。しかし、現在まで我々の知り得た病理組織学的な情報は、照射前には、その効果を予測する指標とはなりえず、何か新しい指標の登場が切望されていた。

そこで我々は術前照射し、膀胱全摘術を施行した症例において、照射前の DNA ploidy と照射前後の DNA ploidy 変化が治療効果と予後とを予測する上での新たな指標となりうるか否かについて retrospective に検討したので報告する。

対象および方法

対象：1978年1月から1988年12月までの11年間に当科で術前リニアック照射の上、膀胱全摘術を施行した膀胱移行上皮癌30例の照射前 TUR または生検標本68検体と全摘標本72検体の計140検体（1例より2～12検体、平均4.6検体）のパラフィン包埋組織を対象とした。

標本採取部位は原則として、照射前も全摘後も、同じ箇所であり、最も悪い異型度か最も深い深達度の箇所を選択した。対象30例の手術時年齢は40～78歳、平均62.4歳、中央値61歳であり、男女比は6.5：1であった。

方法：それぞれの症例の HE 病理組織標本において、腫瘍の異型度、深達度を膀胱癌取扱規約³⁾に従って再検討し、FCM 解析に適切かどうかを確認した上で、それぞれの対応する組織ブロックより50 μ m で薄切し、既報の方法⁴⁾と同様の処理を行い核懸濁液を作成、FCM 分析に供した。すなわち Hedley らの方法⁵⁾に準じ、キシレンで脱パラフィンの後、100%・80%・60%・40%エタノールで漸次親水化、次いで0.5%ペプシン液で37℃、60分インキュベートし、核懸濁液を作成、引き続き Vindel ϕ v らの方法⁶⁾に準じ、RNase で処理後、propidium iodide にて核 DNA 染色し、Coulter 社製 EPICS-C を用い、FCM 分析した。DNA diploid standard として非腫瘍性疾患の膀胱手術時に得られた正常膀胱粘膜を用い、2C 細胞の G0/G1ピークが50チャンネルにくるように調節した。測定条件は平均核

流速を毎秒200~300個, 1回の測定カウント数は10,000~20,000個とし, 得られたDNA histogramを附属の PARA-I program にて解析し, DNA index (DI 値) にて評価した。DI 値は腫瘍細胞の G0/G1ピークのチャンネル数を正常細胞の2C の G0/G1ピークのチャンネル数で除した相対的指数である。症例の DI 値はその平均を DI 値とした。変異係数 (coefficient of variation: CV) は10%を cut off 値とし, CV が10%以上の検体は評価対象から除外した。

DNA ploidy の判定: DNA diploid (以下 diploid) は2C 付近にのみ単一の G0/G1ピークとそれに対応する G2+M ピークを持つものとし, DNA aneuploid (以下 aneuploid) は2C の G0/G1ピーク と4C の G2+M ピーク以外の第3ピークを持つ場合に aneuploid と判定した。また, tetraploid lesion の細胞ピークに関しては, 4C 細胞が全測定細胞数の10%以上である場合に aneuploid と判定した⁷⁾。

照射線量: 40Gy が24例, 20Gy が5例, 60Gy が1例であった。

手術は原則として照射終了後1ないし2週後に根治的膀胱全摘術を施行した。

尚, 統計学的処理に関しては, Kaplan-Meier 法にて

生存率曲線を得, それぞれの曲線の有意差検定は generalized-Wilcoxon 検定を, その他の有意差検定は χ^2 検定を用いた。

結 果

140検体で評価可能であり, CV はほとんど2~8%であった。また, TUR 標本では, 切除時の熱変性が評価する上で懸念されたが, ほとんどの切片で, 評価可能であった。

図1に代表的な症例の照射前後の DNA histogram を示す。図1Aは照射前 aneuploid から照射後 diploid へ変化した症例である。図1Bは照射前後とも aneuploid であった症例で, aneuploid peak の変異が認められる。

照射前臨床診断と全摘後病理診断を表1に示した。T>pT を downstaging と定義すれば¹⁾, 全摘後の pTis の1例を除いて, downstaging は29例中14例48%であり, 14例中10例が全摘後 tumor free であった。また, 照射前診断で T1 の7症例はいずれも BCG 膀胱療法導入以前の多発性膀胱腫瘍症例であり, TUR では control 不能と判断された症例であった。

表2に照射前の腫瘍の DNA ploidy と grade との関係を示した。grade (G) 1 は1例, diploid で, G2 は

図1 照射前, 全摘後の DNA histogram

図1Aは照射前 DNA aneuploid から照射全摘後 DNA diploid へ変化した症例。図1Bは照射前, 全摘後とも DNA aneuploid であった症例で, aneuploid peak の変異が認められる。

表 1 照射前臨床診断と全摘後病理診断

照射前 臨床診断	全 摘 後 病 理 診 断						Totals
	pT0	pTis	pT1	pT2	pT3	pT4	
T1	6	1	—	—	—	—	7
T2	2	—	3	6(3)	2	—	13
T3	2	—	—	—	6(2)	1(1)*	9
T4	—	—	—	—	1	—	1
Totals	10	1	3	6(3)	9(2)	1(1)*	30(6)

()内は20Gyの照射例,ただし()*)は60Gy 症例で,他は40 Gy 照射例である.

表 2 照射前の Tumor grade と DNA ploidy

DNA ploidy	照射前の Tumor grade			Total
	G1	G2	G3	
D*	1	2	5	8
A*	0	10(83%)	12(70%)	22
	1	12	17	30

* : D ; DNA diploid, A : DNA aneuploid

表 3 照射前の Tumor stage と DNA ploidy

DNA ploidy	照射前の Tumor stage				Total
	T1	T2	T3	T4	
D	3	3	2	0	8
A	4(57%)	10(77%)	7(78%)	1	22
	7	13	9	1	30

N.S.

12例中10例, 83%, G3は17例中12例, 70%が aneuploid と high grade 症例にのみ, aneuploid を認めた.

照射前の腫瘍の DNA ploidy と stage との関係 (表 3)は, stage が高くなるにつれて, aneuploid の出現頻度が増加したが, T1症例と T2以上の high stage 症例との間に, aneuploid の出現率において, 有意差はなかった.

表 4 に照射前後の DNA ploidy 変化を示した. 照射前の DNA ploidy は diploid 8 例27%, aneuploid 22 例73%で, 照射前 diploid 群は照射後も全て diploid で変化なく, 照射前 aneuploid 群22例中18例82%が diploid に変化していた.

表 5 に照射による腫瘍の消失率と照射前 DNA ploidy との関係を示した. 照射全摘後腫瘍が消失したのは照射前 diploid 群 8 例中 5 例 (63%) に対して, 照射前 aneuploid 群は22例中 5 例 (23%) にすぎず, 照射前 diploid 群は照射前 aneuploid 群に比較して有意

表 4 照射前後の DNA ploidy 変化

照射前 DNA ploidy	照射後 DNA ploidy		Total
	D	A	
D*	8**	0	8(27%)
A*	18**(82%)	4(18%)	22(73%)
Total	26	4	30

* : D ; DNA diploid, A ; DNA aneuploid

** : 腫瘍消失例を含む

表 5 照射による腫瘍の消失率と照射前 DNA ploidy との関係

照射前 DNA ploidy	照射後の腫瘍		Total
	(-)*	(+)*	
D	5(63%)	3(37%)	8
A	5(23%)	17(77%)	22
Total	10	20	30

* : (-) ; 腫瘍消失例

(+) ; 腫瘍残存例

p<0.05

表 6 腫瘍残存症例の照射前後の DNA ploidy 変化

照射前 DNA ploidy	照射後 DNA ploidy		Total
	D	A	
D	3	0	3
A	13(76%)	4(24%)	17
Total	16	4	20

に高率に腫瘍が消失していた (p<0.05). 腫瘍消失例 10例は, 病理組織学的にも腫瘍は存在しなかったが, DNA ploidy でもすべて diploid を示した.

照射後も腫瘍が残存した20例の照射前後の DNA ploidy 変化について分析してみると (表 6), 照射前 diploid 群 3 例は照射後も diploid で変化なかったが, 照射前 aneuploid 群22例中17例 (77%) で腫瘍が残存し, その17例中13例 (76%) が照射後 diploid へ変化していた. aneuploid 腫瘍が残存したのは17例中 4 例 (24%) であった.

次に以下の 3 群に分類して, 生存率曲線を比較した (図 2). すなわち, Group I (13例) は照射前 diploid および照射後 tumor free の群, Group II (13例) は照射前 aneuploid から照射後 diploid へ変化した群, さらに Group III は照射後も aneuploid 腫瘍残存群の計 3 群である. aneuploid 腫瘍の残存した Group III (4 例) は平均12カ月, 最長でも17カ月で癌死しており,

他の2群に比較して有意に予後不良であった。また、Group IIも13例中8例はNo evidence of disease (NED)で生存しているものの、5例で癌死しており、必ずしも予後良好とは言えなかった。

次にDI値の変化について検討してみると(図3), aneuploidからdiploidへ変化した18例(図3A, B and C)はaneuploid peakが消失しており、放射線感受性が高く、特にDI値が1.84~2.18に12例(67%)集中しており、tetraploid lesionのaneuploid peakは放射線治療に反応し、cell cloneが消失しやすかった。

また、癌死した群(図3B)とNED群(図3C)との比較では、癌死した群のDI値が有意差はないものの、大きい傾向にあり、両群間を区別する一つの指標となる可能性を示唆した。

aneuploid腫瘍残存群4例(図3D)では、tetraploid

図2 生存率曲線

D: DNA diploid, A: DNA aneuploid, →: 照射前後のDNA ploidy変化を示す

図3 照射前DNA aneuploid腫瘍の照射前後のDI値の変化

A: 照射後 tumor free の症例, B: 照射後DNA diploid腫瘍に変化したか、癌死した症例, C: 照射後DNA diploid腫瘍に変化し、NEDである症例, D: 照射後もDNA aneuploid腫瘍が残存し、癌死した症例

* pre R: pre-operative irradiation

lesionのaneuploid peakも存在するが、放射線治療の反応性が低く、DNA ploidyの変化にも一定の傾向が認められなかった。

考 察

FCMによる核DNA量解析は様々な腫瘍において施行され、予後やgrade, stageとの相関など腫瘍の生物学的悪性度の良好な指標として、病理組織学的所見とは独立した予後規定因子となりつつある。膀胱腫瘍においても多方面からの検討がなされ、多くの報告があるが、核DNA量と放射線治療に対する効果、有効性及び予後との関係について論じた報告は少ない⁸⁾⁹⁾。

従来、膀胱腫瘍に対する放射線治療は根治的放射線照射や膀胱全摘後の予後改善をめざして術前放射線療法との併用などが施行されてきており、術前照射併用例では報告¹²⁾¹⁰⁾により異なるが、5年生存率にして、10~20%程度の予後改善効果が認められ、また、結果でも述べたように術前照射後、全摘標本に腫瘍細胞が認められなかった10症例は全例NEDで生存しており、著明に予後を改善することも事実である。しかし、照射前に抗腫瘍効果を予測する良い指標がなく、照射してからでないとその効果が不明であり、消化管などに対する副作用もあり、また、所詮、局所療法にすぎ

ないことから最近では敬遠されがちである。しかし、本研究により、術前照射と膀胱全摘との併用療法に対する治療前の DNA ploidy および治療前後の DNA ploidy 変化から、その治療効果と予後とを予測できる可能性が示唆され、以下の5つのポイントから論じてみたい。

1) パラフィン包埋組織について

核 DNA 量を検討する場合、material がパラフィン包埋組織であれば、CV 値が悪く、debris も少なくなく、小さい aneuploid peak が debris に隠れて detect できないなど¹¹⁾¹²⁾、ヒストグラムの質的な点が問題とされてきた。しかし、我々は以前より、泌尿器系腫瘍に対し、パラフィン包埋組織を用い報告してきた⁴⁾¹³⁾が、膀胱腫瘍においても、我々の行っている preparation により良好な single nuclear suspension を作成することが可能で、しかも CV 値もほとんどの検体で 2~8%であったことから、膀胱腫瘍に対しても、パラフィン包埋組織からの DNA ploidy 解析に何ら問題はないと考えている。Nakamura ら¹⁴⁾も、10例(膀胱腫瘍 6 例、前立腺腫瘍 2 例、腎腫瘍 2 例)を対象に同一腫瘍の同一部位から新鮮組織とパラフィン包埋組織を作成し、FCM で比較検討した結果、相関係数 $r=0.869$, $p<0.01$ で有意な相関を認め、FCM の検討材料としてパラフィン包埋組織でもなんら問題ないと報告している。さらには、その症例の予後も判明しているという利点もあり、retrospective study における評価材料として申し分ないと思われる¹⁵⁾。

2) 照射前 DNA ploidy と grade, stage の関係

膀胱腫瘍では low grade には aneuploid が少なく、high grade に aneuploid が多いと報告されており¹¹⁾¹²⁾、我々の結果(表 2)も G3 症例での aneuploid の出現頻度がやや低いものの、high grade 症例にのみ、aneuploid を認め、同様の傾向を示した。

また、DNA ploidy と stage については、表 3 に示した如く、stage が高くなるにつれて、aneuploid の出現頻度が増加していた。諸家の報告¹⁶⁾と同様に、T2 以上の high stage 症例で、aneuploid が高率に出現するが、T1 症例の aneuploid の出現率とに有意差はなく、DNA ploidy と stage 間には相関は認められなかった。

3) 照射前 DNA ploidy による反応性

最近、Tribukait ら¹⁷⁾は、73 例の膀胱腫瘍に対する根治的放射線療法と照射前の DNA ploidy との関係において、7 例の DNA diploid 腫瘍は全例で腫瘍が消失

し、DNA aneuploid 腫瘍では aneuploid cell line が 1 つのものでは 55%、cell line が複数のものでは 30% の消失率を示し、DNA ploidy で放射線治療効果を予測可能であると報告している。我々の今回の検討からも、照射前 diploid 腫瘍は aneuploid 腫瘍に比較して、腫瘍の消失率も 63% と有意に ($p<0.05$) 高率であり、照射後腫瘍が残存しても癌死症例もなく、NED で生存していることから、diploid 腫瘍は放射線感受性も高く、術前照射の非常に良い対象となる可能性が示唆された。diploid 腫瘍の消失率は我々の 63% に対し、彼らが 100% と差が認められるが、我々の照射線量が 40Gy が主で、彼らは 60Gy 以上の根治的照射であったことから、線量の差による結果とみることもでき、放射線感受性に対しては異議のないところであろう。

aneuploid 腫瘍については、図 3 にも示したとおり、tetraploid lesion の peak は消失し易く、照射による反応性については予想できるものの、照射前の ploidy study のみでは、予後との関係は不明であった。

4) 照射前後の DNA ploidy 変化について

照射前 diploid 腫瘍は照射後腫瘍消失の有無にかかわらず、DNA ploidy は diploid で、変化は認められなかった。照射前 aneuploid 腫瘍は照射後 22 例中 18 例(腫瘍消失例 5 例を含む)が diploid に変化し、4 例は aneuploid のままで変化なかった。照射前 aneuploid 腫瘍で照射後腫瘍が残存した 17 例中 13 例(76%)が照射全摘後 diploid 腫瘍に変化していた。従って、DNA aneuploid cell clone の消失と言う点から見ると、aneuploid 腫瘍は放射線治療に対する感受性が決して低くはなく、むしろ治療に良く反応しているとも考えられる。Jacobsen ら¹⁸⁾は 46Gy で術前照射し全摘した膀胱腫瘍 T2, T3 例のパラフィン包埋組織を照射前と全摘後で計 23 例検討しており、照射前 diploid 腫瘍 8 例中、全摘後 5 例が diploid で、3 例が non-diploid であり、一方、照射前 non-diploid 腫瘍 15 例中、全摘後 12 例(80%)が diploid に変化し、3 例は DNA ploidy に変化はなかったとし、さらに 4 年生存率での比較であるが、有意差はないものの non-diploid の方が予後良好であったと報告し、aneuploid 腫瘍が放射線治療に感受性があると判断している。我々の検討では照射前 diploid 腫瘍は全摘後も全例 diploid と変化はなかったが、彼らの場合、3 例が術後 aneuploid に変化しており、照射前に生検等の sample の問題で、aneuploid を検出できなかった為なのか、あるいは照射の影響で aneuploid に変化した為なのか不明であるが、興味あ

る結果であった。また、照射前の aneuploid が全摘後 80% も diploid に変化している点は、我々と一致する結果であった。

aneuploid cell clone の数の問題では、aneuploid cell clone も一つであれば放射線感受性が高く、腫瘍消失も含めた downstaging を期待できるが、複数の cell clone を持つ腫瘍では、放射線の抗腫瘍効果は減弱するという報告⁹⁾¹⁷⁾もある。aneuploid 腫瘍であっても、cell clone レベルでは抗腫瘍効果は期待できそうだが、予後の改善に結びつかないのは、aneuploid 腫瘍は生物学的悪性度が高いため、早い時期に遠隔転移を起こし易く、そのため、局所療法である骨盤内照射のみでは不十分なためなのか、あるいは、aneuploid cell clone が消失し、DNA histogram 上、diploid と判断されるが、FCM では detect できない、本来の正常細胞における diploid とは異なる cell clone に変化している可能性も否定はできず、今後のさらなる検討が必要と考えられる。

また、10例の腫瘍消失例（5例；diploid, 5例；aneuploid）は術後すべて DNA ploidy で、diploid を示し、病理組織学的に腫瘍が存在しない点を裏付ける結果であった。

5) 照射前後の DI 値の変化について

DI 値から aneuploid 腫瘍の変化をみると、照射前 aneuploid から diploid に変化した18例は図3に示す如く、12例（67%）で tetraploid lesion（4C）の aneuploid peak を持ち、peak が4c 付近にあれば、照射前の aneuploid 腫瘍における、放射線感受性を予見できる可能性が示唆された。

一方、前述した Tribukait ら¹⁷⁾の data によると、4C 以上の aneuploid peak は放射線感受性が高いが、3C~4C の triploid lesion の aneuploid peak は感受性が低かったと報告している。しかし、我々の結果では、aneuploid peak が消失した13例で、癌死した5例と、NED で生存している8例で DI 値を比較してみると、有意差はないものの、癌死症例が DI 値が大きい傾向にあり、従って、大きい DI 値を持つ aneuploid cell clone は予後と言う点からは、必ずしも放射線に対する感受性が高いと判断するのは誤りであると思われる。

また、残存した aneuploid 腫瘍4例の DI 値は2例が3C~4C で、他の2例が4C 以上であり、照射前の DI 値およびその変化も一定の傾向が認められず⁹⁾、極めて予後不良であったことから、照射後、aneuploid 腫瘍

が残存する事実は、予後を規定する一つの因子と考えられた。

しかし、aneuploid peak に対する放射線感受性は DI 値から予測できても、腫瘍全体、担癌患者でみると、必ずしも治療成績、予後と放射線治療の反応性が結びついてはおらず、今後に残された大きな課題であると思われた。

以上、FCM を用いた膀胱腫瘍の術前照射症例を検討してきたが、膀胱腫瘍は表在性腫瘍で初発し、再発を繰り返す例は、浸潤性腫瘍に進展する例が多く、我々も表在性腫瘍に対して膀胱療法を併用するなど、再発防止をめざしているが、満足のいく効果をあげるまでには至っていないのが現状である。また、不幸にも膀胱全摘術の対象となり、手術を施行しても転移再発を起こす場合もある。今後は FCM を用いて、表在性膀胱腫瘍に置いては、再発の危険群を推定し、浸潤性膀胱腫瘍では、全摘後の予後との関係から、術後の adjuvant 療法の指標に使えないかなど、検討が必要と考えられた。

結 語

術前照射後、全摘された膀胱移行上皮癌において FCM を用いて照射前と全摘後の腫瘍の核 DNA 量を解析し、照射前の DNA ploidy と照射前後の DNA ploidy 変化から治療効果および予後の予測が可能であるか否かについて検討した。

1) 照射前 DNA diploid は8例、同 aneuploid は22例で、diploid は照射後も全例 diploid であったのに対し、aneuploid は22例中18例で diploid に変化していた。

2) 照射前 diploid は同 aneuploid に比し、腫瘍消失率も有意に高率であり（ $p<0.05$ ）、腫瘍の残存の有無に関わらず全例生存しており、術前照射の良い対象であると考えられた。

3) 照射前 aneuploid は腫瘍消失も認められる（23%）が、照射全摘後 aneuploid 腫瘍の残存は有意に予後不良であった（ $p<0.01$ ）。

4) 4C 付近の aneuploid peak は放射線感受性が高かったが、同 peak の消失と予後とは必ずしも関連しなかった。

本論文の要旨は第79回日本泌尿器科学会総会（金沢）及び第22回国際泌尿器科学会（Sevilla, Spain）において発表した。

文 献

- 1) Whitmore, W.F. Jr., Batata, M.A., Ghoneim, M.

- A., Grabstald, H. and Unal, A.; Radical cystectomy with or without prior irradiation in treatment of bladder cancer. *J. Urol.*, 118, 184—187, 1977.
- 2) 丸 彰夫, 南谷正水, 信野祐一郎, 小柳知彦, 鎌田正: 浸潤性膀胱癌における放射線治療の成績—術前照射と根治的照射の比較—, *臨泌*, 40, 299—304, 1986.
 - 3) 日本泌尿器科学会, 他編: 膀胱癌取扱い規約, p. 62—71, 金原出版, 東京, 1980.
 - 4) 永森 聡, 坂下茂夫, 小柳知彦, 井上和秋: Flow cytometry による腎癌パラフィン包埋組織の核 DNA 解析, *日泌会誌*, 79, 1355—1363, 1988.
 - 5) Hedley, D.W., Friedlander, M.L., Taylor, I.W., Rugg, C.A. and Musgrove, E.A.; Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *J. Histochem. Cytochem.*, 31, 1333—1335, 1983.
 - 6) Vindeløv, L.L., Christensen, I.J. and Nissen, N. I.: A detergent-trypsin method for preparation of nuclei for flow cytometry DNA analysis. *Cytometry*, 3, 323—327, 1983.
 - 7) Blute, M.L., Tsushima, K., Terry, G.M., Therneau, T.M. and Lieber, M.M.: Transitional cell carcinoma of renal pelvis: Nuclear deoxyribonucleic acid ploidy studied by flow cytometry. *J. Urol.*, 140, 944—949, 1988.
 - 8) Klein, F.A., Whitmore, W.F. Jr., Wolf, R.M., Herr, H.W., Sogani, P.C., Staiano-Coico, L. and Melamed, M.R.: Presumptive downstaging from preoperative irradiation for bladder cancer as determined by flow cytometry: Preliminary report. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 9, 487—491, 1983.
 - 9) Wijkstrom, H., Gustafson, H. and Tribukait, B.: Deoxyribonucleic acid analysis in the evaluation of transitional cell carcinoma before cystectomy. *J. Urol.*, 132, 894—898, 1984.
 - 10) Whitmore, W.F. Jr., Batata, M.A., Hilaris, B.S., Reddy, G.N., Ural, A., Ghoneim, M.A., Grabstald, H. and Chu, F.: A comparative study of two preoperative radiation regimens with cystectomy for bladder cancer. *Cancer*, 40, 1077—1086, 1977.
 - 11) Coon, J.S., Schwartz, D., Summers, J.L., Miller, A.W. III and Weinstein, R.S.: Flow cytometry of deparaffinized nuclei in urinary bladder carcinoma: Comparison with cytogenetic analysis. *Cancer*, 57, 1594—1601, 1986.
 - 12) Murphy, W.M., Chandler, R.W. and Trafford, R. M.: Flow cytometry of deparaffinized nuclei compared to histological grading for the pathological evaluation of transitional cell carcinomas. *J. Urol.*, 135, 694—697, 1986.
 - 13) 柏木 明, 永森 聡, 野々村克也, 豊田健一, 小柳知彦, 野島孝之: Flow Cytometry によるセミノーマの核 DNA 量解析—組織学的な核分裂細胞数との相関について—, *日泌会誌*, 82, 239—245, 1991.
 - 14) Nakamura, K., Choudhury, M., Simon, A.L., Nagamatsu, G.R., Kasabian, N.G., Rossi, J.A., Addonizio, J.C. and Chiao, J.W.: Flow cytometric analysis of relative mean DNA content of urogenital cancer cells in fresh and paraffin-embedded materials. *Urology*, 30, 333—336, 1987.
 - 15) Hedley, D.W.: Flow cytometry using paraffin-embedded tissue; five years on. *Cytometry*, 10, 229—241, 1989.
 - 16) Norming, U., Nyman, C.R. and Tribukait, B.: Comparative flow cytometric deoxyribonucleic acid studies on exophytic tumor and random mucosal biopsies in untreated carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 142, 1442—1447, 1989.
 - 17) Wijkstrom, H. and Tribukait, B.: Deoxyribonucleic acid flow cytometry in predicting response to radical radiotherapy of bladder cancer. *J. Urol.*, 144, 646—651, 1990.
 - 18) Jacobsen, A.B., Fossa, S.D., Lunde, J.E., Melvik, J.E. and Pettersen, E.O.: Flow cytometric DNA measurements in paraffin-embedded bladder carcinoma tissue before and after precystectomy radiotherapy. *Radiotherapy and Oncology*, 10, 149—155, 1987.

(1992年7月16日受理)