腎細胞癌における核小体形成部位の検討

千葉大学医学部泌尿器科 (主任: 島崎 淳教授)

阿部 功一 正井 基之 井坂 茂夫 島崎 淳

千葉県がんセンター病理

松 崙 理

NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS IN RENAL CELL CARCINOMA

Kouichi Abe, Motoyuki Masai, Shigeo Isaka and Jun Shimazaki

Department of Urology, School of Medicine, Chiba University

(Director: Prof. Jun Shimazaki)

Osamu Matsuzaki

Department of Pathology, Chiba Cancer Center

Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions (AgNORs) were examined in 96 patients with renal cell carcinoma undergoing nephrectomy at Department of Urology, Chiba University Hospital during 1985-1990. Silver staining was performed with one-step method described by Ploton⁵⁾, and average numbers of grains in a cell were obtained by counting 100 cells.

Numbers of AgNORs were increased along with up grading. When AgNORs were compared in various cell types, the number in pleomorphic and spindle types and that in Bellini duct carcinomas were more than that in common types. The number of AgNORs correlated with pT and pV factors, but no relationship was shown between the number and these factors when compared in the same grade. The tumor size correlated with the number of AgNORs. The number of AgNORs in the primary legion showed a reversed correlation with doubling times calculated from either primary, recurrent or metastatic legions examined in 22 cases. In all cases it tended that the number of AgNORs correlated with survival, however survival in G3 cases was not influenced due to worse prognosis.

It was concluded that the number of AgNORs in renal cell carcinoma was an additional factor for estimating the properties of tumor cells.

Key words: nucleolar organizer regions, AgNORs, renal cell carcinoma

要旨: 1985年から1990年までの6年間に千葉大学泌尿器科において腎摘出術を施行した腎細胞癌96例のAgNORs数を計測し、これと病理学的所見や臨床経過との関係、及び予後因子としての意義について検討した。銀コロイド染色方法はPlotonらのone-step法に従い、AgNORs数の算出法はCrockerらに準じて出来る限りのAgNORsを計測した。

腎細胞癌のAgNORs数は異型度が高くなるに従い増加した。細胞型との関係では通常型に比べ多形・紡錘細胞型及びペリ＝管癌においてその数が増加していた。pTとの関係では、全異型度でpT₁・pT₂とpT_{3b}の間に差を認めたが、同一異型度内においては各pT間で差を認めなかった。静脈浸潤度との関係でも、全異型度でpV₀とpV_{1a}及びpV_{1b}との間で差を認めたが、同一異型度内では各pV間で差を認めなかった。摘出腫瘍の最大長径とAgNORs数は相関を示した。原発巣、肺転移巣、後腹膜再発巣のいずれかを画像上で経時的に観察出来た22例において腫瘍倍加時間を求め、原発巣のAgNORs数との関係を検討した結果、両者は逆相関を示した。生存率はpTの進んだ例や高異型度例では低かったが、AgNORsでは全症例でその数の多い群で生存率に低い傾向がみられたものの、死亡数の多いG3症例ではその差を認めなかった。以上よりAgNORsは腎細胞癌において独立した予後因子というよりはむしろ組織所見や増殖速度に関連する補助的因子と考えられた。

キーワード：核小体形成部位, AgNORs, 腎細胞癌

緒 言

核小体形成部位 (Nucleolar Organizer Regions: NORs) は、リボソーム RNA をコードするループ DNA の部位であり¹⁾, そこに存在する RNA ポリメラーゼ²⁾, C23タンパク, B23タンパク等³⁾⁴⁾の非ヒストン酸性タンパクは好銀性を有するため Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions (AgNORs) と呼ばれる. AgNORs は銀コロイド染色により光学顕微鏡で茶褐色の斑状点として観察され⁵⁾, 細胞あたりの AgNORs の数は, その細胞の増殖能を反映するといわれる. したがって悪性腫瘍細胞では AgNORs 数の増加が考えられ, 実際悪性リンパ腫では悪性度に相関する⁶⁾とか, 腎⁷⁾, 皮膚⁸⁾, 前立腺⁹⁾, 乳腺¹⁰⁾, 胸膜¹¹⁾等では良性腫瘍と悪性腫瘍の間で有意な差を認めたとの報告がある. 又乳癌では染色体 ploidy¹²⁾や Ki-67 score¹³⁾¹⁴⁾と, non-Hodgkin リンパ腫では S 期の細胞分画と相関を認めた¹⁵⁾という.

腎細胞癌の予後は個々の症例により多彩であり¹⁶⁾, 発育速度が広い範囲にわたっていることが推測される. 今回予後と関連することとして挙げられている pT, 異型度等の因子と AgNORs との関係及び予後因子としての AgNORs の意義について検討した.

対象および方法

1985年から1990年の6年間に千葉大学泌尿器科において腎細胞癌の診断のもとに腎摘出術を行った96例を対象とした. 性別は男性68例, 女性28例, 年齢は28歳から82歳(平均61歳)であった. このうちの41例においては術前3日～7日以内にコイルを用いて腎動脈塞栓術を施行した. 塞栓術施行症例は組織壊死, 核変性等の変化の見られない部分の AgNORs を計測した.

22例において原発巣, 後腹膜再発巣, 肺転移巣のいずれかの画像を用いて腫瘍の倍加時間を算出し, それと原発巣の AgNORs 数とを比較検討した. その算出法は, 腫瘍容積が楕円体であると仮定して以下の式より求めた.

T_1 より T_2 までの▲T期間における腫瘍倍加時間(D.T.)

$$= \Delta T \cdot \log 2 \cdot (\log V_2 - \log V_1)$$

V: それぞれの時点での腫瘍容積

pT は UICC (1987年) の TNM 分類¹⁷⁾に, その他の組織学的分類は腎癌取り扱い規約¹⁸⁾に従った. 異型度はペリ管癌を除く92例において判定したが, GX は4

例であった. 同一病変内に異なる異型度の存在する場合には最も高異型度において計測し, その異型度のみを表記した. 異なる細胞型が存在する場合は量的に優勢な細胞型において計測した.

AgNORs 観察のための銀コロイドの染色は, ホルマリン固定パラフィン包埋標本について Ploton ら⁵⁾の方法に準じて行った. 厚さ3μmの切片を作製し, 脱パラフィン後2%ゼラチン加1%蟻酸溶液・硝酸銀混合液(1:2)を暗室内で40分間反応させ, 蒸留水にて水洗し, アルコール, キシレンで脱水透徹後オイキットにて封入した. AgNORs 数は, 光学顕微鏡を用いて1,250倍で観察し, 100個の細胞核内の AgNORs 数を計測して, 1細胞あたりの平均 AgNORs 数を表示した. AgNORs の集合体に対しては, 焦点の変更などによって可能なものはその構成数を計測した.

各群の有意差検定には Students' t 検定を用いた. 生存率は癌死のみを死亡とし, 他病死を追跡不能例とする Cause-Specific Survival を手術日を起算日として Kaplan-Meier 法で計算した. 生存率の検定には, log-rank 法を用いた.

結 果

全ての腎細胞癌の細胞核内に AgNORs を認め, その数は平均 7.7 ± 2.4 であった. しかしその形態は異型度によって差があり, 異型度の低いものでは比較的均一な AgNORs が数個集まって集合体を形成する傾向がみられたが, 異型度が高くなるに従い大きさ形共にさまざまな AgNORs が集合体形成をする他に散在性にも存在した(図1a, b). 異型度別の AgNORs 数をみると, 群内で広い範囲に数値が分散するため各群間に重複がみられたものの, 異型度の上昇に従って平均 AgNORs 数は増加した(図2).

組織学的細胞型と AgNORs 数との関係は(表1), 淡明細胞亜型と顆粒細胞亜型との間では差を認めなかったが, これらに混合亜型を含めた通常型と多形・紡錘細胞型及びペリ管癌との間では AgNORs 数に差を認め, 通常型以外の型にその数が多かった.

原発巣の T 分類では対象症例のうち pT₁が1例のみのため, pT₂と一括して検討した(表2). 全異型度では pT が進行するにつれて AgNORs 数の増加がみられたが, 同一異型度内では pT との関連はみられなかった. しかし同一 pT 内では異型度の上昇に従って AgNORs 数は増加した.

図1 腎細胞癌組織の銀コロイド染色
a: Grade 1, b: Grade 3

図2 異型度と AgNORs

表1 組織学的細胞型と AgNORs

組織学的細胞型	症例数	AgNORs 数 (mean ± SD)
通常型 ^{*☆}	86	7.5 ± 1.5
淡明細胞亜型	72	7.4 ± 1.4
顆粒細胞亜型	10	7.3 ± 1.2
混合細胞亜型	4	8.0 ± 2.1
紡錘・多形細胞型 [*]	6	10.0 ± 2.2
ペリニ管癌 [☆]	4	9.7 ± 2.3

* : $p < 0.01$
☆ : $p < 0.01$

表2 pT と AgNORs

	G 1	G 2	G 3	全異型度 () : 症例数
pT ₁ ・pT ₂	6.8 ± 0.9 ^{a)} (22)	7.2 ± 1.1 ^{b)} (17)	12.2 ± 1.5 ^{a)b)} (2)	7.2 ± 1.5 [*] (41)
pT _{3a}	6.8 ± 1.0 ^{c)} (4)	7.6 ± 1.0 (18)	8.1 ± 1.2 ^{c)} (9)	7.7 ± 1.3 (31)
pT _{3b}	7.8 ± 1.0 (2)	6.9 ± 0.9 ^{d)} (5)	9.2 ± 2.1 ^{d)} (8)	8.3 ± 2.3 [*] (15)
pT ₄	—	—	8.2 (1)	8.2 (1)

* : $p < 0.05$
a) b) : $p < 0.01$
c) : $p < 0.05$

静脈浸潤度別に AgNORs 数を検討した (表 3)。全異型度では静脈浸潤が拡大するにつれて AgNORs 数の増加がみられたが、同一異型度内では静脈浸潤度との関連は見られなかった。しかし静脈浸潤度が同一の場合には異型度の上昇に従って AgNORs 数に増加の傾向がみられた。

リンパ節転移の有無と AgNORs 数の関係を検討した (表 4)。全異型度及び G3において pN (+) が pN (-) に比べ AgNORs 数が多い傾向がみられた。また、リンパ節転移の有無にかかわらず異型度の上昇にした

表 3 静脈浸潤度と AgNORs

() : 症例数				
	G 1	G 2	G 3	全異型度
pV ₀	6.7 ± 0.9 ^{a)} (24)	7.3 ± 0.6 ^{a)} (14)	10.2 ± 2.7 (3)	7.1 ± 1.7 [*] (41)
pV _{1a}	7.1 ± 0.7 (2)	7.5 ± 1.1 (20)	8.3 ± 1.7 (8)	7.7 ± 1.4 (30)
pV _{1b}	7.8 ± 0.9 (2)	7.9 ± 2.1 (3)	8.6 ± 1.4 (3)	8.2 ± 2.0 [*] (8)
pV ₂	—	6.3 ± 0.7 ^{b)} (3)	9.4 ± 2.3 ^{b)} (6)	8.4 ± 2.8 (9)

* : p < 0.05
a) b) : p < 0.10

表 4 リンパ節転移と AgNORs

() : 症例数				
	G 1	G 2	G 3	全異型度
pN (-)	6.6 ± 0.9 ^{a)b)} (20)	7.5 ± 1.0 ^{a)c)} (29)	8.8 ± 1.8 ^{*b)c)} (14)	7.5 ± 1.7 [*] (63)
pN (+)	—	7.2 ± 1.6 ^{d)} (3)	10.8 ± 1.3 ^{*d)} (3)	9.0 ± 2.4 [*] (6)

*、☆ : p < 0.10
a) b) : p < 0.01
c) : p < 0.05
d) : p < 0.10

図 3 最大腫瘍長径と AgNORs

がって AgNORs 数は増加した。

腫瘍の最大長径と AgNORs 数は、相関を認め、腫瘍長径が大きくなるに従って AgNORs 数が増加した (図 3)。

腫瘍倍加時間を計算できた22例について、原発巣

図 4 腫瘍倍加時間と AgNORs

AgNORs 数との関連をみると、両者は逆相関を示した (図 4)。

対象とした96例の観察期間は29日～2,036日 (平均 741日)であり、この間癌なし生存72例, 坦癌生存 5 例,

図5 pT と生存率

図6 異型度と生存率

図7 AgNORs と生存率

癌死19例であった。その術後生存率を病期別にみた結果、pTの進行に従って生存率は低下した(図5)。また術後生存率と異型度との関係についても、異型度が高くなるに従って生存率は低下した(図6)。腎細胞癌のAgNORs数の平均値7.7において2分化し、生存率を検討した結果、AgNORs数の多い群に生存率の低い傾向がみられた(図7)。G1, G2症例では死亡数が2例と少ないため死亡数の多いG3症例において、そのAgNORs数の平均値9.0で2分化し生存率を検討した結果、両群で差は見られなかった(図8)。

図8 G3症例におけるAgNORsと生存率

考 察

銀コロイドを用いた核小体形成部位の染色方法はHowelら¹⁹⁾が最初に開発し、その後若干の改善が行われた⁵⁾。諸家の報告のAgNORs染色もこれに従っているものが多いが、その反応時間は様々である。Mouradら²⁰⁾は小児Wilms腫瘍に対して反応時間を45分としており、またDelhuntら²¹⁾は腎細胞癌組織にたいして30分から35分としている。一方Pichら²²⁾は95%エタノール固定の腎細胞癌を8分から10分の反応時間で観察していることより、反応時間は固定法、固定時間、摘出標本の大きさ等により最適な時間を選択する必要があると思われる。今回の検討では反応時間を40分とし、良好な観察状態を得た。

AgNORsは核内に茶褐色の顆粒として認められるが、それらは時に集合体を形成する。集合体については、構成する顆粒を別個に計測するか集合体全体を1つと計測するかに分けられる²³⁾²⁴⁾。両者の算出法は黒色腫^{25)~27)}、子宮頸部腫瘍²⁸⁾²⁹⁾において有用性は同等であるとされており、後者は前者に比べ計測の簡便さ及び再現性において優れているという²⁴⁾。しかし核内におけるAgNORsの形態と分布に関しては、大腸で良性腫瘍は集合体形成の傾向が強く、悪性腫瘍は集合体形成はあまり認められないという³⁰⁾³¹⁾一方、皮膚の黒色腫³²⁾や胃の筋原性腫瘍³³⁾では良性病変において集合体形成はあまりみられず、悪性病変において集合体形成がみられたという。腎細胞癌ではPichら²²⁾も今回の検討と同様に異型度の低い病変で均一なAgNORsが集合体を形成する傾向が見られたが、異型度が高くなるに従い集合体形成の他に散在性に大小様々なAgNORsが多数見られたと報告している。このように集合体に対する評価はまちまちであり、また集合体の中には数個のAgNORsが識別できるものが多数あっ

たため、今回は集合体を構成する顆粒についておののを計測した。

腎細胞癌は早期に遠隔転移を来し予後不良な経過をたどる例、あるいは術後10年以上を経て転移再発を来しその後も緩徐な経過をたどる例など多彩な経過を示す¹⁶⁾。本邦における腎細胞癌の予後に関しては5年生生存率45%~60.0%、10年生生存率34%~53.7%などと報告されており、その予後因子としては、異型度、pT、病期、組織学的細胞型、腫瘍塞栓、リンパ節転移、遠隔転移、腫瘍長径などが挙げられている^{34)~38)}。しかしいずれも単独の因子としては十分に予後を予測できるものとはいえず、今回の検討では死亡例のなかったGrade 1症例でもリンパ節転移、遠隔転移、あるいは腫瘍の大きさなどが予後に影響を及ぼす³⁹⁾という。またこれらの因子のうちどれが最も予後に寄与するものであるかは現在議論のあるところである。腎細胞癌における今回の検討ではこれらの因子とAgNORs数はいずれも相関をみた。しかしpT、静脈浸潤度では全異型度の平均でAgNORsとの相関を認めたが、同一異型度内ではそれらとAgNORs数に関係を認めなかった。異型度とAgNORs数は相関しており、またpTや静脈浸潤度を揃えた場合に異型度の上昇に従ってAgNORs数が増加していたことより、pT及び静脈浸潤度とAgNORs数との相関は異型度に依存している可能性が考えられた。膀胱腫瘍⁴⁰⁾の組織異型度と脈管浸潤の間においても同様な報告があることより、AgNORs数と病期、臨床所見等との比較検討においては核異型度、組織異型度の分布を考慮する必要があると思われた。

今回の検討にて原発巣、肺転移巣もしくは後腹膜再発巣より得られた腫瘍倍加時間と原発巣AgNORs数とは逆相関を示した。神経芽腫の培養細胞において倍加時間とAgNORs数が相関したとのこと⁴¹⁾であるが、臨床的に得られた倍加時間とAgNORs数が相関したとの報告はまだない。今回は、原発巣のAgNORs数と転移、再発巣を含めた腫瘍倍加時間とを比較しているため厳密なものとはいえないが、草間は原発巣と転移巣の倍加時間は相関している可能性がある⁴²⁾としており、又胃癌⁴³⁾、副甲状腺癌⁴⁴⁾では原発巣とリンパ節転移巣においてAgNORs数に差を認めなかったという。胃癌において腫瘍倍加時間は予後因子である⁴⁴⁾ことより腎細胞癌のAgNORs数は、転移再発症例の経過を予見するうえで有用であろう。

腎細胞癌の生存率との関連では、AgNORs数は独立

した予後因子であるという²¹⁾。今回の検討ではAgNORs数は従来より予後因子であるという異型度、組織学的細胞型、pT、静脈浸潤度、腫瘍長径等と相関を認めた。しかしこれらのうちpT、静脈浸潤度では同一異型度内で検討した場合に相関を認めなかったが、異型度とは同一の病期内及びリンパ節転移の有無にかかわらず相関を認めた。術後累積生存率の検討では、異型度とpTで生存率に差を認め、AgNORs数でもその数の多い症例で生存率の低い傾向がみられた。しかし死亡数の多いG3症例に限るとAgNORs数の大小で差が認められなかったことより腎細胞癌におけるAgNORs数は独立した予後因子というよりはむしろ異型度に相関し、その増殖速度を反映する因子ではないかと考えられた。

結 語

腎細胞癌の銀コロイド染色において以下の結論を得た。

1. AgNORs数は、異型度、組織学的細胞型、病期、静脈浸潤度で差を認め、腫瘍長径と相関した。しかし病期、静脈浸潤度では同一異型度内では差がなかった。
2. 腫瘍倍加時間と原発巣AgNORs数は逆相関を示した。
3. AgNORs数の大小で生存率に差のある傾向であったが、死亡数の多いG3症例ではその差を認めなかった。
4. 以上よりAgNORsは異型度や増殖速度と関連しているが、数値が広い範囲に分布しており独立した予後因子というよりむしろ組織学的所見に関連する因子と考えられた。

文 献

- 1) Rüschof, J., Plate, A., Bittinger, A. and Thomas, C.: Nucleolar organizer regions (NORs), basic concept and practical application in tumor pathology. *Path. Res. Pract.*, 185, 878-885, 1989.
- 2) Marilyn, A.W., Jurgen, A.K., Georg, K. and Werner, W.F.: Argyrophilic nuclear and nucleolar patterns of *Xenopus laevis* oocytes identified by gel electrophoresis. *Exp. Cell Res.*, 137, 341-351, 1982.
- 3) Michael, A.L., Karel, S., Mark, O.J.O. and Harris, B.: Proteins C23 and B23 are the major silver staining proteins. *Life Sci.*, 25, 701-708, 1979.
- 4) Robert, L.O. and Harris, B.: Further evidence that phosphoproteins C23 (110KD/pH5.1) is the

- nucleolar silver staining protein. *Exp. Cell Res.*, 152, 260—265, 1984.
- 5) Ploton, D., Menager, M., Jeannesson, P., Himber, G., Pigeon, F., Adnett, J.J.: Improvement in the staining and in the visualization of the Argyrophilic proteins of the nucleolar organizer regions at the optical level. *Histochem. J.*, 18, 5—14, 1986.
 - 6) Crocker, J. and Nar, P.: Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J. Pathol.*, 151, 111—118, 1987.
 - 7) Bryan, R.L., Crocker, J. and Farr, A.: Nucleolar organizer regions in kidney tumours and xanthogranulomatous pyelonephritis. *J. Clin. Pathol.*, 43, 147—148, 1990.
 - 8) Crocker, J. and Skilbeck, N.: Nucleolar organizer region associated proteins in cutaneous lesions: A quantitative study. *J. Clin. Pathol.*, 40, 885—889, 1987.
 - 9) Masai, M., Abe, K., Akimoto, S., Yatani, R. and Shimazaki, J.: Argyrophilic nucleolar organizer regions in benign hyperplastic and cancerous human prostates. *Prostate*, 20, 1—13, 1992.
 - 10) Smith, R. and Crocker, J.: Evaluation of nucleolar organizer region-associated proteins in breast malignancy. *Histopathology*, 12, 113—125, 1988.
 - 11) Ayres, J., Crocker, J. and Skilbeck, N.: Differentiated of malignancy from normal and reactive mesothelial cells by the argyrophil technique for nucleolar organizer region associated proteins. *Thorax*, 43, 366—370, 1988.
 - 12) Giri, D.D., Nottingham, J.F., Lawry, J., Dundas, S.A. and Underwood, J.C.E.: Silver-binding nucleolar organizer regions (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: Correlations with ploidy and growth phase by DNA flow cytometry. *J. Pathol.*, 157, 307—313, 1989.
 - 13) Dervan, P.A., Gilmartin, L.G., Loftus, B.M. and Carney, D.N.: Argyrophilic nucleolar organizer region counts correlate with Ki67 scores. *Am. J. Clin. Pathol.*, 92, 401—407, 1989.
 - 14) Wendy, A.R. and Anthony, S.-Y.L.: Nucleolar organizer regions relate to growth fractions in human breast carcinoma. *Hum. Pathol.*, 20, 741—746, 1989.
 - 15) Crocker, J., Macartney, J.C. and Smith, P.J.: Correlation between DNA flow cytometric and nucleolar organizer region data in non-Hodgkin's lymphomas. *J. Pathol.*, 154, 151—156, 1988.
 - 16) 里見佳昭: 腎癌の最近の治療と予後. 病理と臨床, 8, 726—731, 1990.
 - 17) UICC. International Union Against Cancer: Urological tumors. in: Hermanek, P. and Sobin, L.H., "TNM Classification of Malignant Tumors" 4th ed. Berlin: Springer-Verlag, 1987, p. 121—144.
 - 18) 日本泌尿器科学会, 他編: 腎癌取り扱い規約, 第1編, 金原出版, 東京, 1983.
 - 19) Howell, W.M. and Black, D.A.: Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A one-step method. *Experientia*, 36, 1014, 1980.
 - 20) Mourad, W.A., Lavalley-Grey, M., Pappenhausen, P., Essig, Y.P. and Rowlands, D.T. Jr.: Argyrophilic nucleolar organizer regions in Wilm's tumours and related lesions: A histologic and chromosomal correlation. *J. Article*, 4, 247—252, 1991.
 - 21) Delahunt, B., Ribas, J.L., Nacey, J.N. and Bethwaite, P.B.: Nucleolar organizer regions and prognosis in renal cell carcinoma. *J. Pathol.*, 163, 31—37, 1991.
 - 22) Pich, A., Valente, G., Azzoni, L., Stramignoni, A., Margaria, E. and Tasso, M.: Argyrophilic nucleolar organizer region counts and Ki-67 scores in human renal cell carcinoma. *Path. Res. Pract.*, 187, 482—486, 1991.
 - 23) Crocker, J., Boldy, D.A.R. and Egan, M.J.: How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach. *J. Pathol.*, 158, 185—188, 1989.
 - 24) Howat, A.J., Giri, D.D., Wright, A.L. and Underwood, J.C.E.: Silver-stained nucleoli and nucleolar organizer region counts are of no prognostic value in thick cutaneous malignant melanoma. *J. Pathol.*, 156, 227—232, 1988.
 - 25) Leong, A.S.-Y. and Gilham, P.: Silver staining of nucleolar organizer regions in malignant melanoma and melanotic nevi. *Human Pathol.*, 20, 257—262, 1989.
 - 26) Howat, A.J., Giri, D.D., Cotton, D.W.K. and Slater, D.N.: Nucleolar organizer regions in Spitz nevi and malignant melanomas. *Cancer*, 63, 474—478, 1989.
 - 27) Howat, A.J., Wright, A.L., Cotton, D.W.K., Reeve, S. and Bleehen, S.S.: AgNORs in benign, dysplastic and malignant melanocytic skin lesions. *Am. J. Dermatopathol.*, 12, 156—161, 1990.
 - 28) Thickett, K.M., Griffin, N.R., Griffin, A.P. and Wells, M.: A study of nucleolar organizer regions in cervical intraepithelial neoplasia and

- human papillomavirus infection. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 8, 331—339, 1989.
- 29) Cullimore, J.E., Rollason, T.P., Marshall, T.: Nucleolar organizer regions in adenocarcinoma in situ of the endocervix. *J. Clin. pathol.*, 8, 1276—1280, 1989.
 - 30) Yang, P., Huang, G.S. and Zhu, X.S.: Role of nucleolar organizer regions in differentiating malignant from benign tumors of the colon. *J. Clin. Patol.*, 43, 235—238, 1990.
 - 31) Derenzini, M., Romagnoli, T., Mingazzini, P. and Marinozzi, V.: Interphasic nucleolar organizer region distribution as diagnostic parameter to differentiate benign from malignant epithelial tumors of human intestine. *Virchows Arch. [B]*, 54, 334—340, 1988.
 - 32) Fallowfield, M.E. and Cook, M.G.: The value of nucleolar organizer region staining in the differential diagnosis of borderline melanocytic lesions. *Histopathol.*, 14, 299—304, 1989.
 - 33) Sinn, H.P., Lehnert, T., Kandetzki, C. and Waldherr, R.: Nucleolar organizer in regions in myogenic stromal tumours of the stomach. *Virchows Arch. [A]*, 415, 317—321, 1989.
 - 34) 佐藤 健, 川合弘二, 西島由貴子, 佐々木明, 桐山功, 吉井慎一, 宮永直人, 岩崎明朗, 阿弥良浩, 真鍋文雄, 石川博通, 小磯謙吉: 腎細胞癌の臨床的研究—新しいTNM分類に基づいた予後の検討—. *日泌尿会誌*, 80, 1802—1808, 1989.
 - 35) 中西正一郎, 柏木 明, 坂下茂夫, 丸 彰夫, 小柳知彦, 有門克彦, 森 達也, 川倉宏一, 大橋伸生, 山田智二, 期波光生: 腎細胞癌の病理組織学的検討—核型による悪性度と予後について—. *日泌尿会誌*, 75, 1637—1645, 1984.
 - 36) 里見佳昭, 福田百邦, 穂坂正彦, 近藤猪一郎, 吉邑貞夫, 福島修司, 井田時雄, 広川 作, 森田 上, 古畑哲彦, 熊谷治巳, 塩崎 洋, 石塚栄一, 宮井啓国, 仙賀 裕, 福岡 洋, 佐々木紘一, 公元昭男, 中橋 満: 腎癌の予後に関する臨床統計. *日泌尿会誌*, 79, 853—863, 1988.
 - 37) 高士宗久, 坂田孝雄, 中野洋二郎, 長井辰哉, 高羽秀典, 田中純二, 岡村菊夫, 高村真一, 金井 茂, 佐橋正文, 村瀬達良, 下地俊雄, 三宅弘治: 腎細胞癌の臨床病理学的特徴と予後. *日泌尿会誌*, 83, 321—327, 1992.
 - 38) 眞田嘉彦: 腎細胞癌の予後. *日泌尿会誌*, 72, 10—25, 1981.
 - 39) 五十嵐辰男, 村上信乃, 富岡 進, 阿部功一, 井坂茂夫, 岡野達弥, 正井基之, 島崎 淳, 松寄 理: Gradel 腎癌の予後. *日泌尿会誌*, 80, 264—269, 1989.
 - 40) 竹内敏視: 膀胱腫瘍における核小体形成体の研究. *日泌尿会誌*, 81, 1711—1719, 1990.
 - 41) Trerè, D., Pession, A. and Derenzini, M.: The silver-stained proteins of interphasic nucleolar organizer regions as a parameter of cell duplication rate. *Experimental Cell Research*, 184, 131—137, 1989.
 - 42) 草間 悟: 再発癌. *SLR 宝函*, 10, 1—7, 1986.
 - 43) Kakeji, Y., Korenaga, D., Tsujitani, S., Haraguchi, M., Maehara, Y. and Sugimachi, K.: Predictive value of Ki67 and argyrophilic nucleolar organizer region staining for lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Research*, 51, 3503—3506, 1991.
 - 44) Bouquist, L.L.: Nucleolar organizer regions in normal, hyperplastic and neoplastic parathyroid glands. *Virchows Arch [A]*, 417, 237—241, 1986.
 - 45) 高橋 豊, 磨伊正義, 草間 悟: 癌患者の予後規定因子としての発育速度. *Oncologia*, 16, 141—143, 1986.

(1993年1月11日受理, 特別掲載)