

学位論文題名

脳腫瘍放射線療法の臨床病理学的検討

学位論文内容の要旨

はじめに

最近の脳腫瘍病理診断には免疫染色が導入され、より精度の高い診断が下されるようになってきており、さらに細胞増殖力や癌抑制遺伝子変異の有無の検索なども加わってきている。これらの指標に加えて新たに画像所見と組み合わせた病理学的検討は、従来の報告よりもさらに詳細な情報を提供するものと期待される。その上で腫瘍の病理診断により放射線治療効果の判定が検証されれば治療方針の決定に反映されるし、逆に放射線抵抗性の腫瘍と判明すれば医療過誤を是正することが可能となりうる。さらに、これらの知見は腫瘍に於る放射線感受性や抵抗性を規定する遺伝子の同定と単離に貢献するであろうし、将来の遺伝子治療への基礎的知見ともなりうる。このような背景の下に我々は、放射線照射後、腫瘍の再発のため手術となった症例の手術標本を用いて、放射線照射特異的な脳の病理所見の把握と有効症例の特徴を明らかにする事を目的として臨床病理学的に検討を加えた。対象として、非放射線症例と対比し、放射線照射による種々の病態を提示することが可能となったので報告する。

対象と検索方法

1. 対象と細分類: 中村記念病院(1993年1月~2000年3月)にて放射線療法施行後に腫瘍が制御されず、外科手術を施行した症例42例(男性/女性: 25/17, 平均年齢52.5[25-71]歳)を対象とした。対象の病理学的診断は schwannoma 4, craniopharyngioma[cranio] 2, glioma 16 (diffuse astrocytoma[DA] 3, anaplastic astrocytoma[AA] 4, glioblastoma[GB] 5, anaplastic oligodendroglioma[AO] 2, ependymoma 2), metastatic brain tumor[meta] 20であった。非放射線照射対象例として58例の手術標本も合わせて組織学的に検討した。再発期間により1年以内を early regrowth[ER]群, 2年以上を delayed regrowth[DR]群とし, その間を intermediate regrowth [IR]群とした。

2. 放射線治療: 照射線量は gamma knife radiosurgery [GKRS]法の境界線量は8~30 Gyで, X線拡大局所外照射の総線量が50~61.6 Gyであり, 1)照射直前, 2)照射効果による腫瘍最小縮小時, 3)再発後の手術直前, の腫瘍体積を脳MRIにて腫瘍径を測定し, 腫瘍体積を概算した。治療効果は腫瘍体積の変化を RECIST criteria に従い記載した。

3. 病理学的検討: hematoxylin-eosin 染色にて schwannoma, glioma, meta では bizarre nuclei, broad hyaline lesion(本検討において腫瘍組織内にみられた長径1mm以上にも及ぶ幅広い血管結合織の hyalinization で, 我々はこの所見を broad hyaline lesion と仮称した), 腫瘍壊死などの有無を記載した。cranio では広範な ghost cells, keratin 物質の有無を検討した。一部の症例に p53, CD34, CD68, caspase3 の免疫染色, TUNEL法を用いた apoptosis 検出のための染色を行い, さらに MIB-1 染色による増殖能の検討を加えた。

4. 遺伝子検索：p53 免疫染色の施行 16 症例にて p53 gene mutation 確認のため、exon 5～8 の PCR-SSCP 法を施行した。DNeasy Tissue Kit (Qiagen, CA) の protocol に従って、paraffin block から DNA を抽出し、PCR を施行した。PCR 反応後 exon 5, 6, 7 の PCR products は 15 °C で、exon 8 は 10 °C で SSCP を施行した。

結果及び考按

①腫瘍の組織別に放射線治療による縮小率、治療後の再発期間を調べ、次の結果が得られた。脳MRI診断を用いた体積解析では、42症例中、放射線照射後に一時的な腫瘍体積の縮小30%以上を示し、CRあるいはPRと判定されたものは14例(33.3%)であった。再発期間の検討では schwannoma, cranio の大部分がDR群に属し、緩徐な経過を示した。再発期間中央値は、glioma ではDAが1.08年、ependymoma では4.5年と著明な差を認め、ependymoma の放射線感受性が示唆された。AA例では中央値3年、AO例では2.25年とDA例よりも緩徐な経過を示した。またGBの再発期間中央値は3.04年であった。

②病理学的に schwannoma では bizarre nuclei, “broad hyaline lesion” が、cranio では広範な ghost cells が、glioma および meta では tumor の coagulation necrosis, 血管壁の fibrinoid necrosis が放射線照射効果の判定に有用と考えられた。また glioma では grade II, III の症例で tumor necrosis, vascular hyalinization, grade II の症例では bizarre nuclei も照射効果判定の指標となった。

③画像にて腫瘍影の増大のもとに再発と診断された症例の中に、病理学的に腫瘍の再発ではなく、腫瘍壊死であった症例や massive protein exudate からなる症例が存在した。このことは、今後の画像解析で、MRS, PET, SPECT 等の機能的解析の必要性が示唆された。

④GKRS 法後の meta の例では、TUNEL 法、caspase3 免疫染色で腫瘍細胞の広範な apoptosis 所見を認め、しかも p53 免疫染色で強陽性の症例が存在した。しかし、PCR-SSCP 法では p53 の mutation は陰性であった。また meta の 11 例 13 検体中 10 例 12 検体で p53 免疫染色が陽性であったが、PCR-SSCP 法で p53 変異が確認されたのは 5 例 6 検体しかなかった。これらの所見から放射線照射による遺伝子異常を伴わない p53 が誘導されている可能性が示唆された。しかし、p53 変異と放射線感受性や抵抗性を明らかにするためには、さらに多数例での解析が重要であると思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 長 嶋 和 郎

副 査 教 授 宮 坂 和 男

副 査 教 授 岩 崎 喜 信

学 位 論 文 題 名

脳腫瘍放射線療法の臨床病理学的検討

放射線照射後、腫瘍の再発のため手術となった症例の手術標本を用いて、放射線照射特異的な脳の病理所見の把握と有効症例の特徴を明らかにする事を目的として臨床病理学的に検討を加えた。対象として、非放射線症例と対比し、放射線照射による種々の病態を提示することが可能となったので報告する。

放射線療法施行後に腫瘍が制御されず、外科手術を施行した症例 42 例を対象とした。対象の病理学的診断は schwannoma 4, craniopharyngioma[cranio] 2, glioma 16 その内訳は diffuse astrocytoma[DA] 3, anaplastic astrocytoma[AA] 4, glioblastoma[GB] 5, anaplastic oligodendroglioma[AO] 2, ependymoma 2 で、また metastatic brain tumor[meta] 20 であった。非放射線照射対象例として 58 例の手術標本も合わせて組織学的に検討した。再発期間により 1 年以内を early regrowth[ER] 群, 2 年以上を delayed regrowth[DR] 群とし、その間を intermediate regrowth [IR] 群とした。照射線量は gamma knife radiosurgery [GKRS]法の境界線量は 8~30 Gy で、X 線拡大局所外照射の総線量が 50~61.6 Gy であり、1) 照射直前, 2)照射効果による腫瘍最小縮小時, 3)再発後の手術直前, の腫瘍体積を脳 MRI にて腫瘍径を測定し、腫瘍体積を概算した。治療効果は腫瘍体積の変化を RECIST criteria に従い記載した。病理学的には hematoxylin-eosin 染色, p53, CD34, CD68, caspase3, MIB-1 の免疫染色 TUNEL 法, p53 gene mutation 確認にて exon 5~8 の PCR-SSCP 法を施行した。

腫瘍の組織別に放射線治療による縮小率, 治療後の再発期間を調べ、体積解析では、42症例中、放射線照射後に一時的な腫瘍体積の縮小30 %以上を示したものは14例であった。再発期間の検討では schwannoma, cranioの大部分がDR群に属した。再発期間中央値は、gliomaではDAが1.08年、ependymomaでは4.5年と著明な差を認め、ependymomaの放射線感受性が示唆された。AA例では中央値3年、AO例では2.25年とDA例よりも緩徐な経過を示した。またGBの再発期間中央値は3.04年であった。病理学的にschwannomaではbizarre nuclei, "broad hyaline lesion"が、cranioでは広範なghost cellsが、gliomaおよびmetaではtumorのcoagulation necrosis, 血管壁のfibrinoid necrosisが放射線照射効果の判定に有用と考えられた。またgliomaではgrade II, IIIの症例でtumor necrosis, vascular hyalinization, grade IIの症例ではbizarre nucleiも照射効果判定の指標となった。画像にて腫瘍影の増大のもとに再発

と診断された症例の中に、病理学的に腫瘍の再発ではなく、腫瘍壊死であった症例や massive protein exudate からなる症例が存在した。GKRS法後の meta の例では、TUNEL法、caspase3免疫染色で腫瘍細胞の広範な apoptosis 所見を認め、しかも p53 免疫染色で強陽性の症例が存在した。しかし、PCR-SSCP法では p53 の mutation は陰性であった。また meta の 11 例 13 検体中 10 例 12 検体で p53 免疫染色が陽性であったが、PCR-SSCP法で p53 変異が確認されたのは 5 例 6 検体しかなかった。これらより放射線照射による遺伝子異常を伴わない p53 が誘導されている可能性が示唆された。

公開発表に当り、副査の宮坂教授から再発腫瘍の画像と病理との関連性、放射線効果による壊死と生物学的増悪による壊死の MRI 上の鑑別、massive protein exudate の MRI 所見についてなどについて、同じく副査の岩崎教授より、gamma-knife radiosurgery と局所外照射の個別的検討について、時系列で表現された成果に関して、放射線感受性および抵抗性に関する p53 以外の factor に関してなどの質問があった。最後に主査の長嶋教授より、gamma-knife の後、脳腫瘍が腫脹を示す報告例について、転移性脳腫瘍の予後についての質問があった。これらの質問に対し、発表者はほぼ妥当な解答をしていた。

この論文は、gamma-knife 照射後の手術標本を用いて、病理学的のみでなく、臨床的な解析もなされていることで高く評価され、今後の脳腫瘍放射線治療における腫瘍別の感受性、抵抗性の解明に大きく貢献し、期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。