



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Clinical Applications of Single Cell Gel  
Electrophoretic (SCG) Assay in Human Malignant  
Gliomas

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2008-02-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小林, 裕志 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/15226">http://hdl.handle.net/20.500.12099/15226</a>

氏名 (本籍)	小林 裕 志 (岐阜県)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	乙第 1057 号
学位授与日付	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Clinical Applications of Single Cell Gel Electrophoretic (SCG) Assay in Human Malignant Gliomas
審査委員	(主査) 教授 山 田 弘 (副査) 教授 森 秀 樹 教授 高 見 剛

### 論 文 内 容 の 要 旨

放射線治療は悪性gliomaに対して有効であるが、その効果は様々であり、新たな観点からその感受性を予知することは重要である。放射線照射後の細胞生存率から悪性gliomaの放射線感受性を評価しようとした報告が散見されるが、再発の予測に有意とする報告はこれまでにない。そこで申請者はSingle Cell Gel Electrophoretic Assay (SCG assay) にて悪性gliomaの放射線感受性を評価し、臨床経過との相関を検討した。さらに、この結果について免疫組織化学的に検索したProliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), MIB-1, p53との相関を分析し比較検討した。

#### 対 象

研究対象とした症例は、岐阜大学とその関連施設で手術が行われた初発例で, malignant glioma 6例, glioblastoma 16例の計22例で、21例は50Gy以上の放射線照射を、1例が術中開創照射20Gyを受けた。

#### 方 法

1) SCG assay: 手術にて摘出された腫瘍細胞を初代培養し、6 Gyの照射後、37℃にて2時間DNA damageの修復を行わせ、agarose gelに浮遊させslide glassの上で固化させた。ついでアルカリ処理の後、電気泳動を行いethidium bromideにて発色させ、蛍光顕微鏡にて核外にDNAが泳動された細胞をDNA damage陽性と判定し、その比率を計測した。

2) 各症例の手術時に摘出しホルマリン固定した腫瘍組織を用いて、免疫組織化学的にPCNA, およびMIB-1, p53の反応性について検索し、陽性率を算出した。

#### 結 果

1) SCG assayでは、0 Gyでは、ほぼすべての細胞がintactであった。6 Gy照射直後では、90%以上の細胞がDNA damage陽性であり、37℃ 2時間incubate群ではdamageが修復されていた。37℃にて2時間DNA damageを修復させた後に認められるDNA damage陽性細胞を全細胞数で割ったものをDNA damage indexと定義し放射線感受性の指標とした。

2) 各症例のDNA damage indexは10.5~55.1%であった。手術後3カ月の時点で再発した群と寛解群の間では、再発群でDNA damage indexが低かった ( $p < 0.05$ )。8カ月の時点でも再発群でDNA damage indexが低かった ( $p < 0.01$ )。また40歳以下の若年群及び50歳以下の若年群のいずれも高齢群と比較し有意に放射線感受性が高かった。

3) PCNA陽性細胞率は2.0~57.1%、MIB-1陽性率は2.0~32.5%、またp53陽性細胞は22例中8例 (36.4%) に認められ陽性率は1.7~55.6%、であった。PCNA陽性細胞率とMIB-1陽性率には有意な相関が認められたが、8カ月までの時点では再発までの期間に関しては統計学的に有意な相関は認められなかった。p53については術後8カ月までの再発率は陽性群と陰性群の間に差はなかったが、p53陽性群では再発までの期間が短い傾向であった。p53が陽性を示した8例は予後の良い40歳以下の若年者群にたいし早い時期に再発する症例が多い中高

年齢群に分けられ、中高年齢者群では若年者に対して有意に放射線感受性が低かった ( $p < 0.01$ )。

#### 考 察

SCG assayは鋭敏なDNA damageの検出法であり、DNAの泳動される距離がDNAのpiece sizeを表し、tailの面積が移動するDNA pieceの数を表すと考えられる。DNA damageの修復は速やかで、ピークは15分以内にあることが明らかとなっている。3カ月の時点でも8カ月の時点でも再発群ではDNA damage indexは有意に低く、SCG法は放射線感受性の程度の予知に有用と思われた。Schwartzらはradioresistantなcell lineではradiosensitiveなcell lineと比較してdouble strand breakの修復が速やかであることを報告しており、DNA damage indexを放射線感受性の指標として採用することは合理的であると考えられた。

増殖能を示すPCNA陽性率とMIB-1陽性率には有意な相関が認められたが、放射線感受性の予測には有用ではなかった。放射線照射は腫瘍の成長を1年以内は抑えるが、それ以上になると腫瘍本来の増殖により予後が決定されるというJelsmaらの報告に一致する結果と思われた。

p53陽性の症例では、高齢者が、若年者に対して有意に放射線感受性が低く、早期に再発する症例が多かったが、若年者群は放射線感受性が高いものと推察された。Louisらは、若年者ではgeneの突然変異を有するglioblastomaは若年発症で良い生存率を示すsubgroupであることを示唆しているが、我々の若年者群の中にもこのsubgroupが多く含まれている可能性がある。免疫組織化学的なp53の検索は、年齢を考慮すると放射線感受性の予知に有用である可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者 小林 裕志は個々のmalignant gliomaの放射線感受性を評価するためSCG assayを用い、独自にDNA damage indexを設定して検討した結果、malignant gliomaの寛解群と再発群の間にこのindexに有意差があることを見出した。また、免疫組織化学的なp53の検討も放射線感受性の予知に有用である可能性を示唆した。これらの研究成果は脳神経外科学ならびに悪性脳腫瘍の治療の進歩に少なからず寄与するものと認める。

---

[主論文公表誌]

Clinical Applications of Single Cell Gel Electrophoretic (SCG) Assay in Human Malignant Gliomas  
岐阜大医紀 44 (1) : 140~150, 1996