

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Skin Cancer (1995.05) 10巻1号:62～67.

外毛根鞘癌の核DNA量の検討
—DNA-flow cytometryを用いて—

橋本喜夫, 松尾 忍, 飯塚 一

コンセンサスシンポジウム
外毛根鞘癌

外毛根鞘癌の DNA-FCM

外毛根鞘癌の核 DNA 量の検討
— DNA-flow cytometry を用いて —

橋本 喜夫* 松尾 忍* 飯塚 一*

Summary

DNA-flow cytometric analyses were performed on paraffin-embedded sections of trichilemmal carcinoma (TC), proliferating trichilemmal cyst (PTC) and trichilemmal cyst. 12 out of 14 cases of TC and 2 out of 5 cases of PTC showed aneuploidy. No aneuploidy was detected in 6 cases of trichilemmal cyst. In one of 6 cases of TC was large enough to investigate regional differences, DNA ploidy heterogeneity was detected. The incidence of aneuploidy of TC was significantly higher than that of squamous cell carcinoma (14%) previously described by us using the same method.

はじめに

外毛根鞘癌はその位置付けや名称に統一がみられていないが、こうした侵襲性あるいは表皮内限局性の、特有の構築と角化様式を呈した1群の腫瘍にしばしば遭遇する。我々は従来、このような腫瘍群に対して trichilemmal carcinoma (TC) という名称で報告¹⁾してきた。それはすでに悪性化してしまった腫瘍を組織学的構築や特徴で malignant trichilemmoma (MT) や malignant proliferating trichilemmal tumor (mPTT) といったようなよりオリジンが明確な名称に分類することが困難と考えたためである。従って現時点で、「分葉した浸潤性の上皮系腫瘍で Bowen 様の anaplastic な細胞や、glycogen をもった clear cell からなり、どこかに trichilemmal keratinization を思わ

せる角化が認められる」といった組織学的特徴をもつ、広い意味で外毛根鞘由来と考えられる悪性腫瘍を包括的な意味を込めて trichilemmal carcinoma (TC) という名称を使用²⁾している。もちろん、森岡の分類では MT, mPTT のどちらに相当するかも言及したい。今回我々はこれらの trichilemmal carcinoma (TC) 14例と、その前癌的性格を有する可能性のある proliferating trichilemmal cyst (PTC) 5例, benign trichilemmal cyst 6例の核 DNA 量を DNA-flow cytometry (FCM) で検討した。TC のうちサイズの比較的大きい6例については複数の部位で検討し、DNA-ploidy の intratumoral heterogeneity の有無についても検討した。

対象と方法

対象は1979年から1993年までの15年間に当科で経験した TC14例, PTC 5例, benign TC 6例である。TC 症例の概要は表1に示した。方法

* Yoshio HASHIMOTO, Shinobu MATSUO,
Hajime IIZUKA : 旭川医科大学皮膚科学教室

表 1. 外毛根鞘癌 症例の概要

外毛根鞘癌	年齢	性	部位	大きさ	経過
症例 1 (mPTT)	83	M	左手背	3 X 2.5 cm	広範囲切除後再発なし
2 (MT)	72	F	左臀部	1.3 X 1.1 cm	切除後4ヶ月で再発
3 (mPTT)	91	F	前頭部	2 X 2 cm	切除後再発なし
4 (MT)	60	M	左腋窩	2 X 2 cm	切除後再発なし
5 (mPTT)	70	M	右陰囊	12X4.5X4.5 cm	鼠径リンパ節転移あり、 初診8週間後に呼吸不全で死亡
6 (mPTT)	73	F	右大腿外側	3.5 X 3.7 cm	広範囲切除後6ヶ月でリンパ節 転移
7 (MT)	86	F	右前頭部	1.4 X 1.4 cm	切除後再発なし
8 (mPTT)	61	M	左側頭部	6 X 6 X 3.5 cm	広範囲切除後7ヶ月で頸部リン パ節、肺、肝、皮膚、骨など広 汎に転移して死亡
9 (mPTT)	75	M	下腹部	10 X 12 cm	広範囲切除後再発なし
10 (MT)	67	M	下腿	1.5 X 1.0 cm	広範囲切除後再発なし
11 (MT)	70	M	右頬部	1.0 X 1.0 cm	広範囲切除後再発なし
12 (mPTT)	90	F	左頬部	4.0 X 6.0 cm	広範囲切除後再発なし
13 (MT)	76	F	胸部	2.0 X 2.0 cm	切除後再発なし
14 (MT)	92	F	右頬部	2.5 X 2.0 cm	切除後再発なし

はすでに報告³⁾したように Hedley の変法を用いた。つまり病巣部位の50 μ m 切片をマイクロトームで3~4枚作製し、病巣以外の混入が多い場合はトリミングし、キシレンで脱パラ後、エタノール系列で親水化処理した。その後ペプシン、RNase 処理後、PI で30分間 DNA 蛍光染色を施し、CS-20セルソーター、または EPICS ELITE で1 \times 10⁴個の細胞を測定し、DNA-histogram を作成した。解析方法は、Hidemannらの報告⁴⁾にもとずきヒストグラムで2c以外の明確な異常ピークがみられた場合をDNA-aneuploidy とした。増殖指数に関しては過去の

報告^{1)~3)}通りに G0/1 peak の4SD 以上の細胞の割合で示した。ただし EPICS ELITE で測定した TC の4例については multicycle という附属の解析ソフトで計算した。

結 果

表 2 に示したように TC の平均 CV 値は 5.8 \pm 0.53, これに対し、PTC は8.2 \pm 0.4, benign TC は8.1 \pm 0.47である。TC は14例中12例 (85.7%) に aneuploidy が検出された。PTC にも5例中2例 (40%) に検出された。しかし

表 2. DNA ヒストグラム解析結果 (外毛根鞘癌)

外毛根鞘癌	CV (%)	DNA aneuploidy	% > 4SD (P.I.)	DNA heterogeneity
症例 1 (mPTT)	4.2	(+)	49.0 %	ND
2 (MT)	9.8	(+)	42.3 %	(-)
3 (mPTT)	4.1	(+)	50.9 %	ND
4 (MT)	6.0	(+)	51.8 %	(-)
5 (mPTT)	9.7	(+)	47.2 %	ND
6 (mPTT)	3.5	(+)	21.7 %	(-)
7 (MT)	5.2	(+)	59.0 %	(-)
8 (mPTT)	3.8	(+)	32.3 %	(+)
9 (mPTT)	4.7	(+)	52.4 %	(-)
10 (MT)	4.4	(-)	38.2 %	ND
11 (MT)	6.3	(+)	26.8 %	ND
12 (mPTT)	6.4	(+)	28.9 %	ND
13 (MT)	6.5	(-)	29.8 %	ND
14 (MT)	6.5	(+)	53.0 %	ND

ながら benign TC はすべて diploidy であった。TC の症例のうち、組織学的に *in situ* と考えられ、明確に invasive な像はなく、trichilemmoma 様の構築をのこしたものを MT, invasive な像がより明確で、腫瘍塊のなかに角質囊腫様の構造を残すものを mPTT として分類を試みた。その結果、TC14例中 MT が 7 例、mPTT が 7 例であった。これらの増殖指数を比較してみると、MT $42.9 \pm 4.6\%$ 、mPTT が $40.4 \pm 4.7\%$ とその増殖指数に差はみられなかった。しかし、aneuploidy の比率は mPTT が 7/7 (100%) であるのに対し、MT は 5/7 (71.4%) と aneuploidy の検出率に差がみられた。この理由として平均 CV 値が MT が 7.0、mPTT が 5.2 であり、mPTT の方が CV 値が良好なため、aneuploidy の検出率が高い可能性がある。当然のことながら腫瘍サイズも mPTT が平均 6.4cm であるのに対し、MT は平均 1.7 cm と差がみられた。リンパ節転移は mPTT の 3 例にみられたが、これらの腫瘍径は平均 7.2 cm と大きく、転移があっても不思議ではない

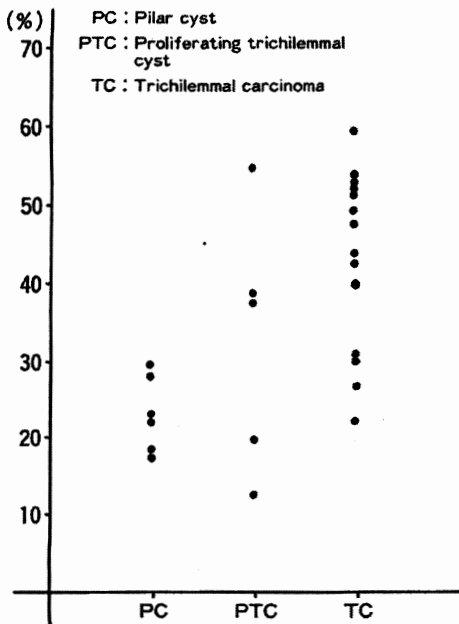


図1. PTC と TC の %>4SD (増殖指数) 比較

臨床像であった。腫瘍内 DNA ploidy heterogeneity を症例 2, 4, 6, 7, 8, 9 の 6 例について検討したところ症例 8 のみ部位によって diploidy の部分が存在し、heterogeneity がみられた。その他の症例はいずれも切片が違っても aneuploidy を示し、DNA ploidy heterogeneity はみられなかった。図 1 は増殖指数の benign TC, PTC, TC の比較であるがそれぞれ平均 $23.1 \pm 2.0\%$, $32.5 \pm 7.5\%$, $41.7 \pm 3.2\%$ と当然のことながら悪性度が高くなるにつれて高値を示した。

症 例

以下に代表的症例とヒストグラムを示す。

TC の症例 3 : 91 歳、女性の前頭部に生じた腫瘍は全体としては exophytic な像を呈しているが、真皮深くまで浸潤像もある。図 2 のように trichilemmal keratinization もみられ、aneuploidy もみられる。mPTT とした。

症例 7 : 86 歳、女性の前頭部に生じた 1.4cm の腫瘍で、組織学的に Bowenoid で異型性に富むが、それほど invasive ではなく、MT とした。ヒストグラムでは明確な aneuploidy がみられた。この症例については PCNA : cyclin と PI : DNA の 2 重染色を試み、aneuploidy 部分の増殖性をみた。一次抗体は DAKO の PC10 : flow cytometry 用のものを用いた。図 3 に示すように縦軸が PCNA 発現量を示す FITC、横軸

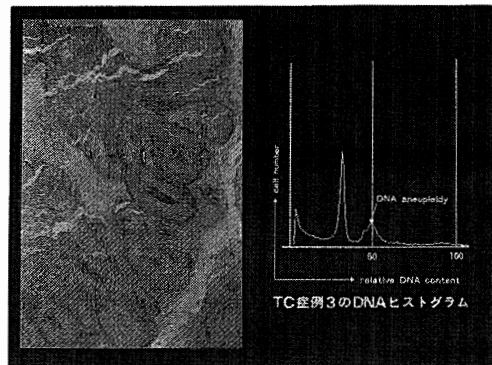


図2.

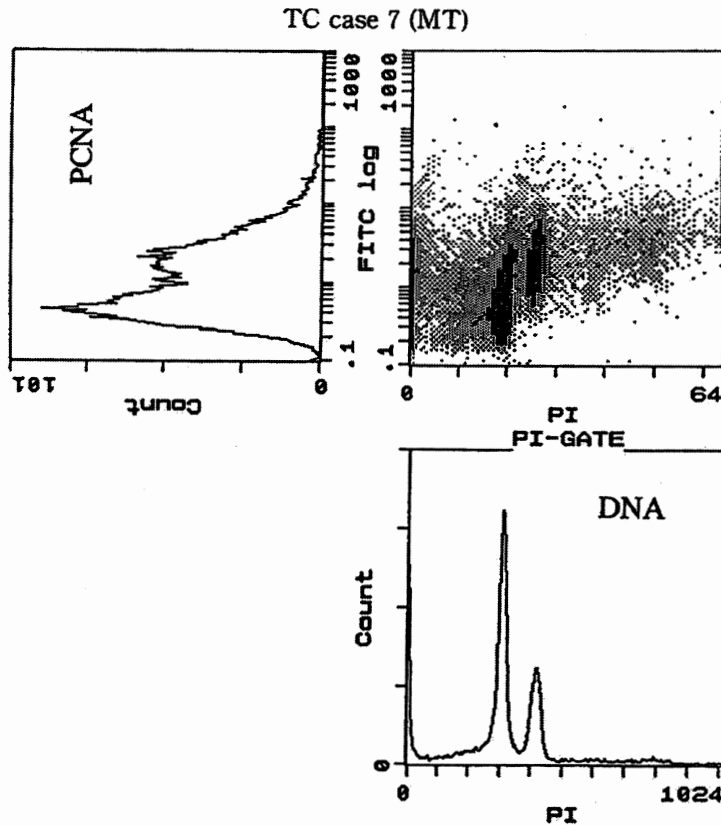


図3. PCNA/DNA 2 color analysis by flow cytometry

がDNA量であるが、aneuploidyを示すpopulationがPCNAを強く発現しており、増殖能が異なる細胞集団であるといえる。

TCの症例8：61歳、男性の側頭部の腫瘍と組織像を図4に示す。脂腺母斑上に生じたもので、6×6×3.5cmである。腫瘍部は図4のようにPTCを思わせるようなanastomosing tumorであり、部分的にはBowenoidの細胞もみられた。比較的典型的なmPTTと思われた。図5は腫瘍内の部位によるヒストグラムの違いを具体的に示した。DNA ploidy heterogeneityが認められた。この症例の経過は術後2度chemotherapy (PM療法)を施行したが、7ヵ月後頸部リンパ節、骨、肺、肝、皮膚に広汎に転移し、急速に不幸な転帰をとった。

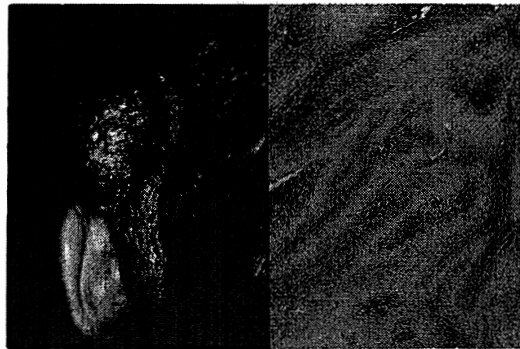


図4.

症例10：67歳、男性の下腿の1.5×1cmの腫瘍の臨床像と組織像を図6に示す。全体像は比

較的表皮に局限し、*in situ*といえる。構築はinvaginationもみられ、腫瘍細胞はclear cellや、異型性の強いanaplastic cellもみられる。MTといえる像と思われる。この症例はaneuploidyが検出されず、diploidyであった。またPTCの症例3と5はaneuploidyがみられた。

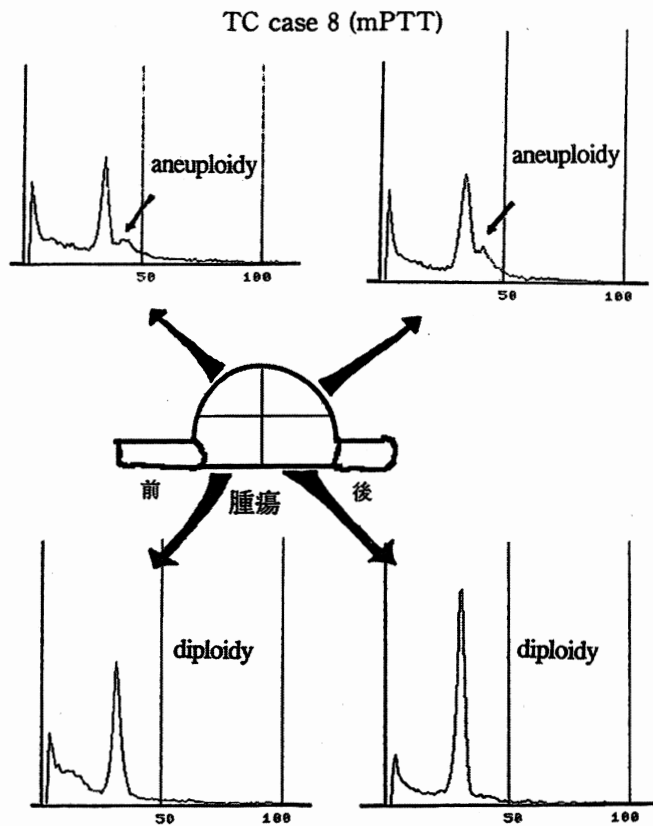


図 5. Intratumoral ploidy heterogeneity

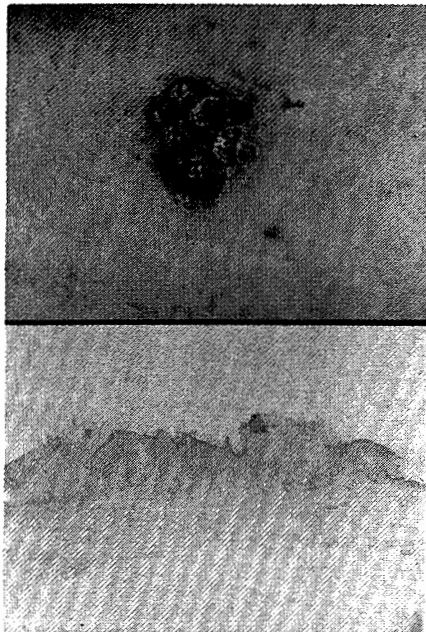


図 6.

これらの症例は術後3年、7年が経過して今のところ再発がみられない。aneuploidy を悪性のマーカーとして捉えると、これらは今後も慎重な経過観察が必要であるといえる。trichilemmal cyst 6例のヒストグラムは全例 diploidy を示した。

考 案

我々が過去³⁾に同一の手法で他の上皮系腫瘍に対してDNA-FCMを施行した場合のaneuploidyの頻度はケラトアクトーマは0/7, seborreic keratosisは0/5, SCCは1/7(14%)であり, TCは12/14(85.7%)とSCCと比較して著明にaneuploidyの頻度が高い結果が得られた。我々のSCCのdataは他の報告⁵⁾に比べunderestimationの可能性はあるが、それにし

でも TC は高頻度といえる。従って、DNA-aneuploidy の存在は TC の生物学的特徴の一つといえるかもしれない。また、我々の手法では Bowen 病で 3/4 (75%) と aneuploidy が高率にみられており、TC の aneuploidy は Bowenoid 部分の病巣を反映している可能性も示唆された。従来 DNA aneuploidy は悪性化および予後不良のマーカーともいわれていたが、最近は大腸の adenoma などにもみられ、必ずしもそうではない。予後のより悪い SCC よりも Bowen 病の方が aneuploidy の頻度が高いことは以前から知られていた。我々の結果から、trichilemmal tumor については DNA aneuploidy と予後との関連は弱いと思われた。しかし最近、Francis ら⁶⁾ は肺癌において同一腫瘍内の ploidy heterogeneity の存在する症例が予後不良と報告した。我々の結果でも heterogeneity がみられた症例 8 が特に aggressive な経過をとったことは興味深いと思われるが、今後の data 蓄積が必要である。また Reis ら⁷⁾ は TC 8 例の review を報告しているが、これらはいずれも 1cm 位のサイズで、再発もなく予後良好な症例である。ここでいう TC はほとんどが MT に相当すると思われた。また Sleater ら⁸⁾ は典型的 PTC 4 例に DNA-FCM を施行し、2 例は non-diploid でそのうち 1 例は明確な aneuploidy であると報告している。これらの data もふまえて、PTC の 40% に aneuploidy がみられた我々の結果は本腫瘍の pre-malignant な性格を示唆すると思われる。また aneuploidy の存在が TC の生物学的特徴の一つであると仮定すると、PTC から TC への移行の可能性も示唆する。

結 論

- 1) DNA-FCM により TC, PTC, benign TC の核 DNA 量を検討した。
- 2) Aneuploidy は TC では 12/14 (85.7%),

PTC では 2/5 (40%) に認められ、benign TC では認められなかった。

3) TC は他の上皮系腫瘍に比べ、極めて高率に aneuploidy が認められ、生物学的特徴の一つである可能性も示唆された。

4) 外毛根鞘系腫瘍においては aneuploidy の存在と予後との関連はみられなかった。

5) PTC における aneuploidy の存在は本腫瘍の pre-malignant な性格を示唆し、PTC から TC への移行の可能性も示唆するものと考えた。

6) MT と mPTT のリンパ節転移の頻度や予後の違いは腫瘍の本質的なポテンシャルの違いというよりも、腫瘍径や組織学的浸潤など進行度の違いによると推察した。

文 献

- 1) 橋本喜夫, 浅野一弘, 川岸尚子, 他: DNA-flow cytometry による Proliferating trichilemmal cyst と Trichilemmal carcinoma の核 DNA 量の検討. 日皮会誌, 102: 1153-1156, 1992.
- 2) Hashimoto, Y., Matuo, S., Iizuka, H.: A DNA-flow cytometric analyses of trichilemmal carcinoma, proliferating trichilemmal cyst and trichilemmal cyst. Acta Derm Venereol 74: 358-360, 1994
- 3) 橋本喜夫, 松尾忍, 飯塚一: フローサイトメトリーによるケラトアカントーマと有棘細胞癌の核 DNA 量の検討 (パラフィン包埋組織を用いて). 日皮会誌, 101: 701-705, 1991.
- 4) Hiddemann, W., Schumann, J., Andreeff, M., et al.: Convention on nomenclature for DNA cytometry. Cytometry, 5: 445-446, 1984.
- 5) Newton, J.A., Camplejohn, R.S., McGibbon, D. H.: A flow cytometric study of the significance of DNA aneuploidy in cutaneous lesions. Br J Dermatol, 117: 169-174, 1987.
- 6) Francis, A.C., David, L., Colin, C.B.: Intratumoral heterogeneity of DNA content in lung cancer. Cancer, 65: 2266-2269, 1990.
- 7) Reis, J.P., Tellechea, O., Cunha, M.F., et al.: Trichilemmal carcinoma: review of 8 cases. J Cutan Pathol, 20: 44-49, 1993.
- 8) Sleater, J., Beers, B., Stefan, M., et al.: Proliferating trichilemmal cyst. Report of four cases, two with nondiploid DNA content and increased Proliferating Index. Am J Dermatopathol, 15: 423-428, 1993.