

中咽頭扁平上皮癌放射線治療における PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) 標識率の 予後因子としての意義

有本 卓郎^{*1}, 安田 元昭^{*2}, 野島 孝之^{*3}, K. UKRAPERUVALUTHI-PILLAI^{*4},
鎌田 正^{*5}, 白土 博樹^{*6}, 高邑 明夫^{*7}

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE PCNA LABELING INDEX IN THE RADIOTHERAPY OF OROPHARYNGEAL CARCINOMA

Takuro ARIMOTO^{*1}, Motoaki YASUDA^{*2}, Takayuki NOJIMA^{*3},
K. UKRAPERUVALUTHI-PILLAI^{*4}, Tadashi KAMADA^{*5}, Hiroki SHIRATO^{*6}, Akio TAKAMURA^{*7}

(Received 19 January 1995, accepted 14 July 1995)

Abstract Prognostic significance of the proliferating cell nuclear antigen (PCNA; cyclin) labeling index and the DNA ploidy pattern in the radiotherapeutic treatment of the oropharyngeal carcinoma were analyzed retrospectively. Paraffin-embedded specimen of 26 patients were utilized for analysis from 77 patients who were treated by radiotherapy (RT) at Hokkaido University Hospital between 1983 and 1991. Twenty-six specimens were selected mainly because of the availability of specimen and thorough clinical information about local tumor outcome. Significance of "classical" clinical parameters, such as the size of primary tumor, stage of disease, the sub-site of the primary tumor origin, pathological subclassification, and the age of patient, was analyzed first in all the 77 patients. The predictive value of PCNA labeling index and the DNA ploidy pattern in relation to these parameters were then investigated in 26 patients to clarify the potentials of both parameters as a new prognosticator.

Only the primary tumor size (T1-3 vs. T4), and the site of primary disease (primaries of the ant. faucial pillar, tonsillar fossa and the soft palate did better than the other site; base of tongue, posterior wall, and the vallecular origin) were the "classical" factors significantly influencing local tumor control ($p < 0.05$). PCNA labeling index had no definite correlation with these "classical" prognostic factors, but it was found to influence three-year local tumor control with the statistically significant level. In those whose PCNA labeling index were below 30%, all (15/15) were controlled locally for more than three years, whereas 6 out of 11 tumors relapsed locally when the PCNA labeling index exceeded 30% ($p < 0.05$). The tendency did not change even after patients were stratified by tumor size. DNA diploidy was closely related to the PCNA labeling index of less than 30%, and there was a tendency to influence the local tumor control favorably ($0.05 < p < 0.1$), but less significantly.

Key words: Oropharyngeal carcinoma, Radiation therapy, Prognostic factor, PCNA (proliferating cell nuclear antigen) labeling index, Local tumor control.

^{*1} 北見日赤病院放射線科 (〒090 北海道北見市北6条東2丁目1番地)
Dept. of Radiology Kitami Nisseki Hospital (1, Kita-6 Higashi-2, Kitami, 090 JAPAN)

^{*2} 北海道大学歯学部放射線医学教室 Dept. of Radiology Hokkaido University School of Dentistry

^{*3} 北海道大学医学部第二病理学教室 Dept. of 2nd Pathology Hokkaido University School of Medicine

^{*4} National Cancer Institute, Maharagama, Sri-Lanka

^{*5} 放射線医学総合研究所臨床研究部 Division of Clinical Research, National Institute of Radiological Sciences

^{*6} 北海道大学医学部放射線医学教室 Dept. of Radiology Hokkaido University School of Medicine

^{*7} 旭川厚生病院放射線科 Dept. of Radiology Asahikawa Kousei Hospital

はじめに

手術による機能侵襲が過大な中咽頭癌において、放射線治療による局所制御のいかんは、治療後の患者の生活機能維持にとって非常に重要である。中咽頭癌の放射線治療成績は、しかしながら、必ずしも満足出来るものではなく、諸家の報告によっても、30-40%が局所制御に失敗している¹⁾。嚥下、構音機能等、重要な機能の保全は、我々放射線治療医の重要な使命であり、抗癌剤との併用療法、1日多分割治療、組織内治療、最近では3次元局所高線量治療²⁾など制御向上のための努力が続けられている。その一方、局所制御を規定する新たな因子の追及も、再発機序の解明や今後の治療戦略を見通すという観点から、重要である。特に、これまでに知られている中咽頭癌の“古典的”予後因子(年齢、性、原発腫瘍の大きさ、発生部位など)のほかに、80年代に発展した、細胞増殖やIntrinsic cell sensitivityを反映するとされる分子生物学的指標、免疫組織学的指標の臨床応用に期待が持たれる。今回われわれは1983年1月から1991年8月の間に北海道大学放射線科で放射線治療を行なった77例の中咽頭癌につき、局所制御に関与する因子を調べた。特に1986年以降の患者で、放射線単独治療が行なわれ、また北大病院で検査が行なわれ、組織の保存状態が良好だった26例について、パラフィン包埋組織より、DNA ploidy pattern および PCNA (proliferating Cell Nuclear Antigen; Cyclin) monoclonal 抗体標識率(PCNA Index)を測定し、従来より重視されている各因子との相関、3年局所制御との関係を調べた。PCNAはDNA polymeraseの補助因子として注目を集めている36kDの低分子蛋白で、広く哺乳類細胞の増殖や細胞周期に関与していることが知られている。また、最近ではDNA repair capacityとの関連から、電離放射線に対するIntrinsic cell sensitivityとの関連も新たに推定されてきている。

対象と方法

1. 患者

対象は1983年1月から1991年8月の間に北大病院を初診した77例の中咽頭扁平上皮癌患者で、

分析の時点で全例が危険暴露期間(at risk)3年以上である。

いずれも初診時に、頭頸部腫瘍合同カンファレンスにおいて耳鼻科医、形成外科医、口腔外科医、放射線科医による協議の上、診断、病期、治療法を決定した。全例が生検で病理学的確診を得ている。対象患者の性比は7.6:1で、男性が圧倒的に多数を占めた。平均年齢は59.2才、最多年齢層は60代であった。9例に問診で判明したアルコール中毒による入院歴が、6例に肝障害を認めた。また、中咽頭癌が第2癌であった患者が3例認められた。77例の原発部位、TNM 病期、病理学的亜分類をTable 1, 2に示す。

2. 放射線治療

北大での治療法は、可能な限り機能保存が優先され、術前照射40Gy/16f/4wks+根治的切除が5例に、60Gy/24f/6wks以上の照射と原発巣部分切除が2例に、2例の小線源治療追加を含む根治的放射線治療が70例に行なわれている。大半の中咽頭癌症例の一次治療が放射線治療である現状は、最近15年間変化がない³⁾。

Table 1. Site of Primary tumor - Clinical Stage

		AFP	SP	TF	Other*	Total
Stage	I	5	6	0	0	11
	II	3	4	4	3	14
	III	11	5	9	5	30
	IV	3	4	7	8	22
		22	19	20	16	77

* Base of tongue, Lateral wall, Posterior wall, Valeculla
AFP: Anterior faucial pillar, SP: Soft palate,
TF : Tonsillar fossa

Table 2. Histology — subclassification —

Pathology	No. of patients
SCC well diff.	18
" moderately diff.	37
" poorly diff.	20
" NOS*	2
Total	77

* No otherwise specified

放射線治療は、Co-60を用い、全例に頭頸部固定用のシェルを用いた。治療計画は1986年まではx線シュミレーターのみを、1987年以降は治療計画用CT装置(RTCT)で3次元的に行なった。RTCTにより、高線量域の容積が減少し、照射門数、照射角度に変化が見られたが、腫瘍に対する総線量は期間中はほぼ一定で、65Gy/26f/6.5wks-70Gy/28f/7wksであった。治療範囲は原則として、N0例では原発巣+患側上頸部一次リンパ節を、N+例では患側下頸部リンパ節までを照射した。

3. PCNA 標識率と DNA ploidy pattern

全症例のうち 1) 1986年以降の患者で、2) 北大病院で生検が行なわれパラフィン包埋組織が

良好に保存されており、かつ 3) 放射線単独治療が行なわれ、4) 経過観察が完全で局所制御について十分な情報が得られた26例で、PCNA標識率とDNA ploidy patternを測定した。PCNA標識率は、包埋組織より5切片をあらたに切り出し、うち一枚をHematoxilin-Eosin染色して測定部位の参考とし、他の切片を抗PCNA monoclonal 抗体(PC-10: DAKO Co.)で染色して腫瘍部位の標識された細胞数を、各切片あたり5視野で写真撮影し、1検体につき計20枚の写真から1,000個計測して標識率を求めた⁹⁾(Fig. 1 a-d)。

DNA ploidy pattern は、包埋組織より50micron切片を4枚作成し、Saito らの方法⁹⁾に準じて、再びミンスし、iron meshで漉過し洗浄したうえで pepsin (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) 処理

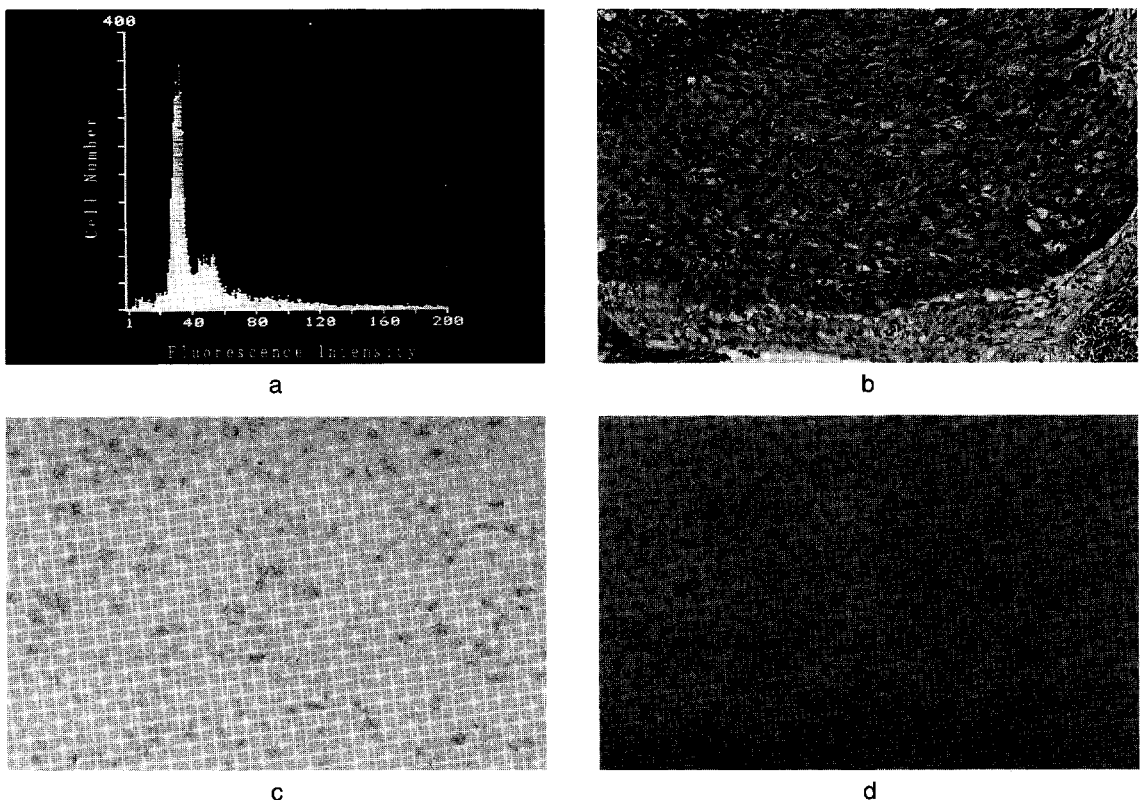


Fig. 1 DNA histogram showing the number of cells with specific fluorescence measured by cytofluorometer(a), Hematoxilin-Eosin (HE) stain (b), and the adjacent slice stained by PC-10 monoclonal antibody (c and d) magnification ratio of 100 (c), and 50 (d) in the same patient. A G0/G1 peak of aneuploid cells (DI=1.59) is seen to follow a large G0/G1 peak of diploid cells. Coefficient of variation is 9.8 (a). The number of positively stained cells, the proportion of the PC-10 positive cells relative to the total number of cells were counted in the 20 photographic fields (c, d).

してsingle cell suspensionの状態とした。対照として、非癌患者末梢血より採取した正常リンパ球を用い、50 micro g/ml Propidium Iodine (Calbiochem-Behling, La Jolla, CA) 染色を施したうえで、cytofluorometer (Ortho 50H: Ortho Diagnostic System, Westwood, MA linked to Ortho Model 2150 digital computer) で計測した (Fig. 1a-d). flow cytometer の標準化は2.00 micrometer Lactec particle (Polyscience, Warrington, PA) で行なった。いずれの測定においても、測定者に予断を与えないため、事前に臨床的結果は知らせず、後に対応を調べた。

結 果

1. 全例での生存率、死因

77例全例のKaplan-Meier法による生存率は3年 $59.4 \pm 7.7\%$, 5年 $49.3 \pm 8.6\%$ であった。調べ得た限りでの死因をTable 3に示す。現時点での死亡35例のうち、17例 (49%) が局所制御失敗に起因していたが、二次癌による死亡と他病死がそれぞれ20%を占めていた。

2. 局所制御

1) 局所制御に関与する因子 - 全例での検討 -

77例での局所制御率の算出はKaplan-Meier法によった。算出にあたり1年以内に他病死、転移死した例は検討から除外し、1年以上観察後に他病死した例はその時点までの局所制御として扱った。原発部位別、病期別の局所制御率曲線をFig. 2a, 2bに示す。Stage I+II (25例), Stage III (30例) および Stage IV (22例) の3年局所制御率は、それぞれ77.2%, 88.0%, 32.7%であった。また中咽頭前方原発 (Ant.

Table 3. Cause of death

Cause of death	Number of Patients
Loco-Regional Failure	17
Distant Failure	3
Secondary Cancer	7
	2 Lung ca.
	2 Esoph ca.
	3 Leukemia, prostate, stomach
Other intercurrent diseases	6
Other (accident)	1
Unknown	1
Total	35 deaths

Fig. 2a Local control by site of primary disease

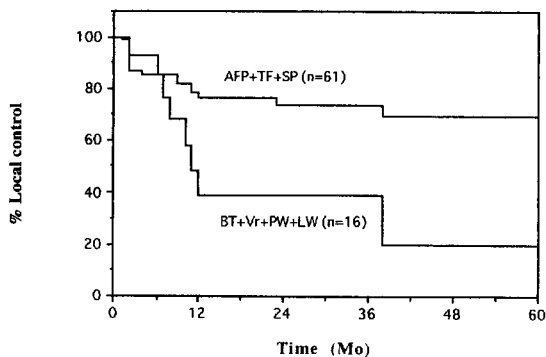


Fig. 2a Local tumor control was influenced by the site of primary tumor. Tumors originating from the anterior portion of oropharynx (ant. faucial pillar, tonsillar fossa, soft palate) did better than the posterior origin tumors (base of the tongue, posterior wall, vallecula, lateral wall other than tonsillar fossa). The difference did not reach the statistically significant level ($0.05 < p < 0.1$) though, probably because the number of patients were too small.

Fig. 2b Local Control by Stage

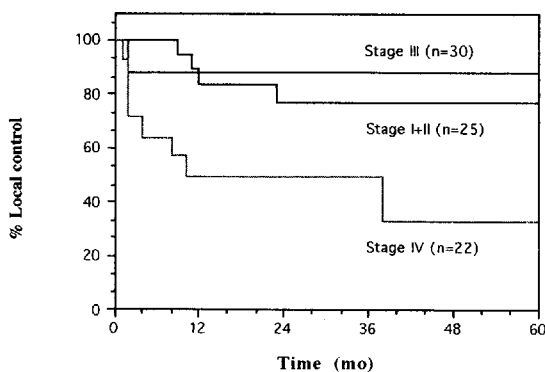


Fig. 2b Stage of disease at the initiation of RT apparently influenced the local tumor control. Tumors of Stage I-III were significantly better controlled than those of stage IV. Three-year actuarial local control rate in the former was 77.8-88.0%, but it was only 32.7% in the latter. The difference was statistically significant ($p < 0.05$).

Faucial Pillar: AFP, Soft Palate: SP, Tonsillar Fossa: TF) では77.2 %の3年局所制御が得られたが、後方原発 (Base of Tongue: BT, Post. Wall: PW, Tonsillar Fossa以外のLateral Wall:LW) では37.2 %と不良であった。

局所制御に關与する可能性のある“古典的”因子として、年齢、原発部位、病期、病理組織学的亜型 をとりあげ、3年局所制御との関連で単因子解析を行なった。Table 4にその結果を示す。中咽頭内の原発亜部位は、後方原発 (BT, TF以外のLW, PW) 腫瘍が少数であるためか有意差に達しないが、同一Stage内で比較しても制御率に約2倍の開きがあり、予後因子として無視できないと思われた。年齢、病理組織学的亜型は、中咽頭前方原発癌 (AFP+SP+TF) 61例に限って分析しても予後因子として重要ではなかった。また、性差は女性の数が9人と少ないため検討の対象としなかった。

Table 4. Factors influencing local control

Factors	Chi-square value	p
Age (age > 60 or not)	0.014	NS
Site of Primary disease (AFP, TF, SP origin or not)	2.842	0.05 < p < 0.1
Stage of disease (Stage I - III vs. IV)	4.142	0.02 < p < 0.05*
Histological sub-classification well - mod diff. vs. poorly diff.	0.402	NS

* statistically significant

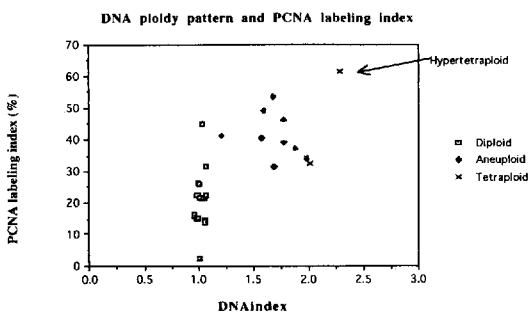


Fig.3 PCNA labeling index was closely related to the DNA ploidy pattern. All (12/12) of the tumors whose PCNA index of 30% or less were diploid in DNA ploidy pattern.

2) PCNA標識率, DNA ploidy patternと局所制御

26例のPCNA標識率は14.9%から61.2%に分布し、平均32.1% $\pm$ 11.3%であった。またDNA ploidy pattern は、26例中12例がaneuploid, 14例がdiploid patternであった。Fig. 3に26例のPCNA標識率とDNA indexとの関係を示す。PCNA標識率とDNA ploidy patternの間には強い相関が認められ、PCNA標識率で30%以下を示した12例は全てdiploid patternを呈した。逆にPCNA標識率が30%を超えた14例では、12例がaneuploidであった ($p < 0.01$ Chi-square test, Yates's correction)。

Fig. 4に、予後因子であるT stage, 原発部位とPCNA標識率との関係を示した。Valecula, Base of tongue, Post. + Lateral Wall原発例の数が少ないが、原発部位、T stageとPCNA標識率との間に一定の関係は認められない。Fig. 5は、T sizeごとのPCNA標識率と3年局所制御の状態をみたものである。Table 5はこれをまとめたものである。PCNA標識率が30%以下の症例で3年以内に再発を来した例はなく、逆にPCNA標識率が30%を超えるものに局所再発が有意に多いことがわかった ($p < 0.05$ Chi-square test)。T sizeを揃えてもこの傾向に変わりはない。PCNA標識率は従来の予後因子であるT sizeや原発部位に依存せず、しかも独立した予後因子であることが示唆された。

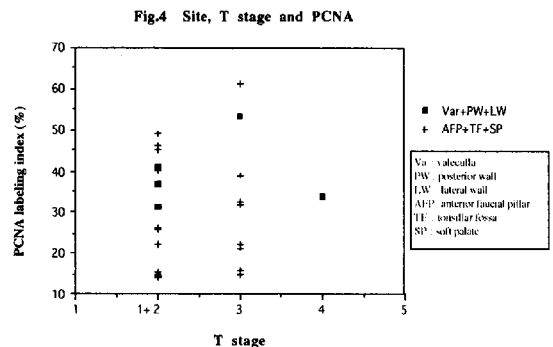


Fig.4 PCNA index had no apparent relationship with tumor stage.

Table 6はDNA ploidy patternとT sizeごとの3年局所制御との関係を見たものである。症例数が足りないためである可能性が残るが、有意差に達しない($0.05 < p < 0.1$ by Chi-square test)。

考 案

中咽頭癌は、機能温存という放射線治療の利点が最も発揮される疾患の一つである。中咽頭癌の予後因子については原発巣の大きさ、発生部位、線量一分割法など多くの報告があるが、なぜ同じT sizeでも治るものと治らないものがあるのか、また1cmも離れていない舌根部(BT)癌と扁桃部(TF)癌で局所制御率に大きな差があるのかなど、個々の癌の特性を放射線治療との関連で十分に説明できる因子は未だ見つかっていない。この部位の癌は、放射線治療後再発例での手術による救済率が低い事もあり、個々の癌で客観的に放射線治療の予後を予測し得る指標の確立が重要である。測定可能な客観的指標による治療法の選択、high-risk 群の同定、指標に沿った治療法の改善などが目指されるべきと考える。

今回の検討では、先ず全例から中咽頭癌の臨床的予後因子を抽出、PCNAとこれら因子の関連性を検討した上で、古典的因子で層別化した際のPCNAの予後因子としての有用性を調べることをめざした。結果としてPCNA 30%以上では同一T

sizeでも局所制御が有意に不良であった。古典的指標とは独立した有意な予後因子である可能性が高い。このような検討では均質な治療が行なわれていることが前提として重要であるが、期間中放射線治療の線量、分割法は極めて狭い範囲内で一定している。また、全例が初診時に頭頸部腫瘍カンファレンスを経ており、主治医の印象や部位による治療法の差がないことも特徴である。

PCNAは、真核生物に広く分布しており、生命維持にはたす機能の重要性が注目されている分子量36 kD、非ヒストン核蛋白質である。G1後期からS期にかけて細胞核内に蓄積すること、DNA polymerase deltaの補助因子として機能し^{5,7)}、口腔、咽頭粘膜の正常組織、前癌状態を反映すること⁸⁾、大腸⁹⁾子宮粘膜¹⁰⁾その他¹¹⁾における異常と標識率との対応が知られている。特に臨床的には、PC-10 monoclonal 抗体によるretrospective-assayが可能^{5,7)}で注目される。また、PCNA標識率はFlow cytometryによる増殖分画(S+G2+M)とよく相関することが確認されている¹¹⁾が、Ki 67 labeling indexとは相関しないこと^{13, 14)}、DNA aneuploidy, intratumoral heterogeneityとは関連がある¹⁶⁾との報告が有る。さらに、治療結果との対応では、乳癌¹⁷⁾、子宮癌¹⁸⁾、肺癌¹⁹⁾で予後と関連とするデータも蓄積してきている。今回結果でもDNA ploidyとの関係はKraus, Careyらの報告を裏付けている。

T-size, PCNA labeling index and the pattern of failure

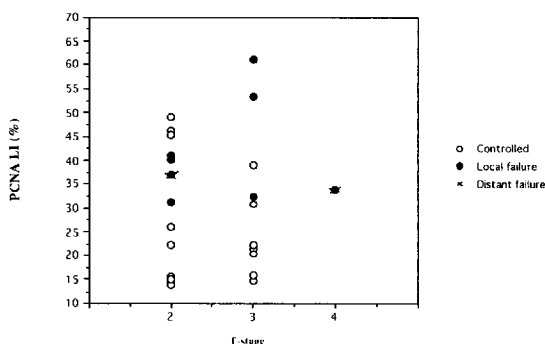


Fig.5 Relationship between T stage, pattern of failure and the PCNA index in 26 patients. All of those who relapsed locally (or relapse concomitantly in distant site(s)) had the PCNA labeling index of 30% or more.

Table 5. PCNA labeling index, T-size and the three-year local control ('86-'91 n=26)

	T2	T3	T4	Total
PCNA <30%	8 / 8	6 / 6	1 / 1	15 / 15
PCNA >30%	3 / 5	2 / 5	0 / 1	5 / 11*

* P<0.05

Table 6. DNA ploidy pattern, T-size and the three-year local control ('86-'91 n=26)

	T2	T3	T4	Total
Diploid	7 / 8	6 / 6	1 / 1	14 / 15
Aneuploid	5 / 6	1 / 4	0 / 1	6 / 11*

* 0.05 < p < 0.1

放射線生物学的観点からは、最近PCNAがDNA replicationのみでなくDNA repair processにも重要な役割を果たしている可能性が指摘され、注目される。Miuraらは、Xeroderma pigmentosa type A cell (XP) においてDNA repair processでのPCNA-DNA complexの出現の欠損があり、Normal cellとのcell-fusionによりこれを発現させることが出来るとして、XPにおけるradiosensitivity, DNA repair機能の欠損とPCNAとの関連を示唆している¹⁵⁾。放射線照射後のPCNA-DNA complexを測定することにより、放射線抵抗性を細胞増殖の観点からのみでなく、Intrinsic cell sensitivityの点からも説明する可能性があり注目される。

今回の分析では、PCNA標識率、DNA ploidy patternを解析できた症例数が十分でなく、各“古典的”予後因子との関連についても、十分にそれらからの独立性を証明しているとは言えない。しかしながら、とくにPCNA標識率がT sizeによらず3年局所制御を有意に左右したことは注目に値する。この傾向がより多数例においても真であるとすれば、中咽頭癌の放射線治療後の再発要因を考える上で、またその対策を考える上で重要な知見と言える。先に述べたように、PCNAは腫瘍のS-G2-M期分画とよく相関することが知られている。一方、放射線治療中の細胞増殖が腫瘍の局所制御に影響することは、いわゆるsplit course irradiationの成績が不良であること^{20), 21)}や、potential (tumor) doubling timeのin vivo測定値と治癒率との相関²²⁾などから、強く示唆されている。腫瘍の増殖速度は、単に一時点での増殖分画のみでなく、個々の細胞の細胞周期や、apoptosis, cell loss factorにも依存していることは明白で、放射線治療開始時点でのPCNA標識率のみから再発要因に言及するのは慎重でなければならない。少なくとも放射線治療中にPCNA標識率が大きくは変動しないことの確認が必要と思われる²³⁾。今回のretrospective studyでは治療途上での測定は行なわれておらず、この証明は不可能である。

とはいえ、従来の同じ予後因子の範囲内でも、放射線治療開始時のPCNA標識率が一定の値を超えると、局所再発、転移が有意に多く生じていたという事実は示唆的である。中咽頭癌では、

accelerated hyperfractionationなど治療期間を短縮することにより成績を向上できたとする報告²⁴⁾もあり、局所再発に腫瘍内細胞増殖が大きな鍵を握っている可能性は否定できない。

また、PCNA-DNA complex発現がDNA repair capacityや放射線感受性に対応しているとするMiuraらの報告は、放射線治療中のPCNA測定により逆にDNA repair capacityを推定できる可能性を示唆している。いずれにしても放射線治療中にPCNA標識率がどう変化しているかを同一腫瘍内で測定することに意義が有りそうに思われる。臨床の現場では複数回の組織採取に色々な制約も予想されるが、組織化されたprospective studyの必要性を感じる。

PCNA標識率は、その測定の簡便さ、retrospective analysisを許容する点などから、腫瘍増殖と放射線治療の接点を探る上で、さらに放射線感受性に関与するDNA repairとの関連を探る上で重要な物質と考えられる。当然のことながら、このような、腫瘍の一部を採取して行なう測定では採取した組織が腫瘍全体を反映し得るかという“代表”可能性、intra tumoral heterogeneityなどの問題点は残る。さらに、陽性率の算定における客観性も完全に解決されているとはいえない¹⁶⁾。今回の検討では1資料当たり計20箇所の写真撮影を行なって、この問題に対処したが、どの部位を撮影するか、腫瘍部位が的確に満遍なく選ばれているかについて明瞭な保証手段はない。Flow cytometryを利用した測定の迅速化、客観化、同一腫瘍内複数部位からの生検資料採取など改善に努めるべきと思う。そのうえで、より組織的なProspective clinical studyが必要である。同時に、分子生物学的研究、細胞レベルや動物腫瘍での実験などにより、増殖制御やDNA repair processにおけるPCNAの、より正確な役割の解明が待たれる。

文 献

- 1) Shirato, H., Takamura, A., Arimoto T. *et al.*: Treatment result of oropharyngeal squamous cell carcinoma with 4 times a week schedule: Effect of fractionation. *J. Jpn. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* 2: 283-295, 1990.
- 2) 西岡 健, 白土博樹, 鎌田 正, 有本卓郎, 他: 頭頸部腫瘍の放射線治療におけるSmall field boost:

- 日本頭頸部腫瘍学会誌. 1995 in press.
- 3) 松野吉宏, 向井清: 増殖細胞核抗原 (PCNA): 病理と臨床 **9**: No.7, 879-884 1992.
 - 4) Saito, T., Notani, H., Miura, H.: DNA analysis of oral leukoplakia by flow cytometry. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **20**: 259-263, 1991.
 - 5) Miyachi, K., Fritzler, M.J. and Tan, E.M.: Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol.* **121**: 2228-2234, 1978.
 - 6) Takasaki, Y., Deng, J.S. and Tan, E.M.: A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast formation. *J Exp Med.* **154**: 1899-1909, 1981.
 - 7) Bravo, R., Fey, S.J., Bellatin, J. et al.: Identification of a nuclear and of a cytoplasmic polypeptide whose relative proportion are sensitive to changes in the rate of cell proliferation. *Exp. Cell Res.* **136**: 311-319, 1981.
 - 8) Tsuji, T., Shrestha, P., Yamada, K., et al.: Proliferating cell nuclear antigen in malignant and premalignant lesions of epithelial origin in the oral cavity and the skin: an immunohistochemical study: *Virchows Archiv. Pathol Anat.*, **420**: 377-383, 1992.
 - 9) Yamada, K., Yoshitake, K., Sato, M. and Dennis Ahnen: Proliferative Cell Nuclear Antigen Expression in Normal, Preneoplastic, and Neoplastic Colonic Epithelium of the Rat: *Gastroenterology*; **103**: 160-167, 1992.
 - 10) Hareyama, H., Ohkochi, T., Takeda, N., et al.: Proliferative Activity of Endometrial Cells and Endometrial Cancer Cells Using the Monoclonal Antibody PCNA: *Acta Obst Gynec Jpn*, **44**: No.5: 609-610, 1992.
 - 11) Krauss, J.S., Pantazis, M.D., Chandler, F.W. The Proliferative Fraction in Lymph Nodes: A Comparison of Proliferating Cell Nuclear Antigen Morphometry to Flow Cytometry: *Annals of Clinical and Laboratory Science*, **22**: No3: 189-196, 1992.
 - 12) Jankowski, J., Menemin R., Hopwood, C.Yu, Womsley, K.G.: Proliferating cell nuclear antigen in esophageal disease; correlation with transforming growth factor alpha expression: *Gut*, **33**: 587-591, 1992
 - 13) Leonardi, E., Girlando, S., Serio, G., Mauri, F.A., et al.: PCNA and Ki 67 expression in breast carcinoma: Correlation with clinical and biological variables: *L Clin Pathol*; **45**: 416-419, 1992.
 - 14) Furukawa, F., Imamura, S., Fujita, M., Kinoshita, K., et al.: Immunohistochemical localization of proliferating cell nuclear antigen/cyclin in human skin: *Arch Dermatol Res.* **284**: 86-91, 1992.
 - 15) Miura, M., Domon, M., Sasaki, T., Kondo, S. et al.: Restoration of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) complex formation in Xeroderma Pigmentosum Group A cells following CDDP treatment by cell fusion with normal cells. *J of cell. physiol.* **152**: 639-645, 1992.
 - 16) Carey, F.A., Fabbroni, G., Lamb, D.: Expression of proliferating cell nuclear antigen in lung cancer: a systemic study and correlation with DNA ploidy. *Histopathology*, **20**: 499-503, 1992.
 - 17) Aaltomaa, S., Syrjanen, K.: Prognostic value of cell proliferation in breast cancer by proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining. *Anticancer research* **12**: 1281-1286, 1992.
 - 18) Oka, K., Hoshi, T., Arai, T.: Prognostic significance of the PC10 Index as a prospective assay for cervical cancer treated with radiation therapy alone. *Cancer*, **70**: No.6: 1545-1550, 1992.
 - 19) Fontanini, G., Macciarini, P., Pepe, S., Ruggiero, A. et al.: The expression of proliferating cell nuclear antigen in paraffin sections of peripheral, node-negative non-small cell lung cancer. *Cancer*, **70**: No.6: 1520-1526, 1992.
 - 20) Withers, H.R., Taylor, J.M.G., and Maciejewski, B.: The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncologica* **27**: Fasc. 2, 131-145, 1988.
 - 21) Luo, R.X., Tang, Q.X., Guo, K.P., Huan, Y.W., Hu, Z.X.: Comparison of continuous and split-course radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma - An analysis of 1446 cases with squamous cell carcinoma grade 3. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **30**: No.5, 1107-1109, 1994.
 - 22) Peters, L.J., Withers, H.R., Thames, H.D.: Radiobiological bases for multiple daily fractionation. In *Progress in Radio-oncology II*. Kaercher, K.H., Kogelnik, H.D. and Reinartz, G. (Eds.) New York, Raven Press, 317-323, 1982.
 - 23) Denecamp, J.: Changes in the rate of repopulation during multifraction irradiation of mouse skin. *British J. of Radiol.*, **46**: 381-387, 1973.
 - 24) Thames Jr., H.D., Peters, L.J., Withers, H.R., Fletcher, G.H.: Accelerated fractionation vs hyperfractionation: Rationales for several treatments per day. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **9**: No.2, 127-138, 1983.

要旨：1983年1月から1991年8月までの間に北海道大学医学部付属病院放射線科で放射線治療を受けた中咽頭扁平上皮癌77例の予後因子，とくに局所制御に関与する因子を分析した．とくに1986年以降の治療例で，北大病院で検査が行なわれ，生検材料が保存されていた26例については，包埋組織より連続切片及びsingle cell suspensionを作成し，PCNA (proliferating Cell Nuclear Antigen) 標識率とDNA ploidy patternを測定し局所制御との関連性を検討した．PCNA標識率とDNA ploidy patternと，従来から重要視されている“古典的”予後因子との関係を明かにするため，まず全例での検討からT size，臨床病期，発生部位，病理組織学的亜分類，年齢から原発巣の3年局所制御に関与する因子を特定し，これらの因子とPCNA標識率，DNA ploidy patternの関連を調べた．原発巣の3年局所制御に関与する因子は，1) T，すなわち原発巣の大きさ，臨床病期および2) 発生部位であった．すなわち，I-III期では77-88%の3年局所制御が得られたがIV期では32.7%であった．また中咽頭前方原発 (Ant. Faucial Pillar, Soft Palate, Tonsillar Fossa) では77.2%の3年局所制御が得られたが，後方原発 (Base of Tongue, Post. Wall, Tonsillar Fossa以外のLateral Wall) では37.2%と不良であった．

PCNA標識率は，上記いずれの因子とも明確な相関を示さなかったが，局所再発とは密接な関連をしめした．すなわち，PCNA標識率30%未満の患者では15例全例が3年以上再発なく制御されたが，30%以上では3年局所制御されたのは5/11例のみであった ($p<0.05$)．この傾向はT sizeを描いても同様に認められ，放射線治療開始時のPCNA標識率が局所制御の予後因子として重要な指標と成り得ることを示唆した．DNA ploidy patternは，PCNA標識率と相関を示したが，分析できた数が十分でなかったためか，3年局所再発を有意に左右するには至らなかった ($0.05<p<0.1$)．