日消外会誌　23（9）：2314，1990年

研究速報

# DNA polymerase α を用いた大腸癌増殖能の検討
## ―とくにDNA ploidy patternとの関連―

西森　武雄　　奥野　匡宥　　長山　正義
池原　照幸　　川口　　貢　　梅山　　馨

DNA複製に関与する酵素であるDNA polymerase α（以下DPAと略す）に対するモノクローナル抗体がMasakiら[1]により作成され，諸種の腫瘍において増殖期細胞の同定が報告されるようになった．著者らはこの抗体を用いて，免疫組織学的に大腸癌における増殖期細胞の同定を行ったので報告する．

**対象と方法**：大腸癌患者35例を対象とし，DPAの免疫組織学的染色および核DNA ploidy pattern測定を行った．DPAの染色は大腸癌新鮮摘出標本を4%Paraformaldehydeで7時間固定後，凍結し，5μm切片を作製した．正常ヤギ血清で20分間ブロック後，1次抗体としてマウス抗DPAモノクローナル抗体と一晩，2次抗体としてヤギ抗マウスIgG抗体と1時間反応させ，マウスPAPに20分間反応の後，Diaminobenzidineにて発色させた．核染色にはMethyl Greenを使用し，DPA陽性細胞率を測定した．核DNA ploidy patternはFormalin固定標本より単離塗抹標本を作製し，Propidium Iodideで蛍光染色後，顕微蛍光測光法にて測定した．臨床病理学的所見は大腸癌取扱い規約[2]に従った．

**結果**：大腸癌35例のDPA陽性細胞率は30.9～61.7%，平均43.4%であった．臨床病理学的所見とDPA陽性細胞率との関係では，組織型別では高分化腺癌43.1%，中分化腺癌43.8%，壁深達度ではpm以下は42.4%，ss，$a_1$以上は43.6%，リンパ節転移についてはn（－）42.1%，n（＋）43.6%，脈管侵襲についてはly（－）42.9%，ly（＋）43.8%，v（－）42.7%，v（＋）44.0%であり，明らかな関連はみられなかった．核DNA ploidy patternがdiploid例のDPA陽性細胞率は41.8%でaneuploid例では45.0%であった（**Table 1**）．

**Table 1**　Correlation of the percentage of DNA polymerase α-positive cells with clinicopathological findings and nuclear DNA ploidy pattern in colorectal cancers

| | Percentage of DPA-positive cells | |
|---|---|---|
| Histologic type | | |
| well differentiated | 43.1±5.9 | (n=20) |
| moderately differentiated | 43.8±9.2 | (n=14) |
| poorly differentiated | 42.6 | (n= 1) |
| Depth of invasion | | |
| < pm | 42.4±8.1 | (n= 6) |
| ss, $a_1$ < | 43.6±7.1 | (n=29) |
| Lymph node involvement | | |
| (－) | 42.1±6.4 | (n=20) |
| (＋) | 43.6±8.3 | (n=15) |
| Lymphatic invasion | | |
| (－) | 42.9±5.1 | (n=16) |
| (＋) | 43.8±8.7 | (n=19) |
| Venous invasion | | |
| (－) | 42.7±6.5 | (n=18) |
| (＋) | 44.0±8.0 | (n=17) |
| Hepatic metastasis | | |
| (－) | 42.8±6.5 | (n=34) |
| (＋) | 61.7 | (n= 1) |
| Peritoneal dissemination | | |
| (－) | 43.4±7.3 | (n=34) |
| (＋) | 42.4 | (n= 1) |
| nuclear DNA ploidy pattern | | |
| diploid | 41.8±7.1 | (n=18) |
| aneuploid | 45.0±7.2 | (n=17) |

Mean±SD

**考察**：今回の大腸癌の検討ではDPA陽性細胞率と臨床病理学的所見の各項目との間には相関性は認められなかったが，核DNA ploidy patternがdiploid例のDPA陽性細胞率はaneuploid例に比べて低値を示していた．大腸癌においてdiploid例はaneuploid例に比べて予後が良好であり，核DNA ploidy patternは大腸癌の予後推測因子として重要であるという意見[3]が多くみられることを考慮すると，DPA陽性細胞率は大腸癌の予後推測因子の1つになりうる可能性が考えられ，さらに検討を進めたい．

**Key word**：DNA polymerase α

**文献**：1）Masaki S, Shiku H, Kaneda T et al：Production and characterization of monoclonal antibody against 10S DNA polymerase α from calf thymus. Nucleic Acids Res **10**：4703―4713, 1982　2）日本大腸癌研究会：大腸癌取扱い規約．改訂第4版，金原出版，東京，1985　3）草野満夫：核DNA量からみた消化器系腫瘍の悪性度診断―フローサイトメトリーによる解析．医のあゆみ　**147**：873―876, 1988

A Study of the Proliferative Activity of Colorectal Cancer Using DNA Polymerase α Immunoreactivity

First Department of Surgery, Osaka City University Medical School. Takeo Nishimori, Masahiro Okuno, Masayoshi Nagayama, Teruyuki Ikehara, Mitsugu Kawaguchi and Kaoru Umeyama

＜1990年7月10日受理＞別刷請求先：西森武雄　〒545　大阪市阿倍野区旭町1―5―7大阪市立大学医学部第1外科