

研究速報

Ki-67を用いた flow cytometry による胃癌の増殖活性の検討

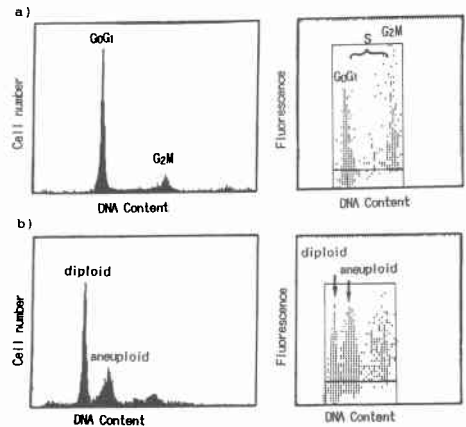
木村 寛伸 米村 豊 大山 繁和 鎌田 徹 木下 一夫
 二宮 致 高野 靖 瀬川 正孝 伏田 幸夫 小坂 健夫
 山口 明夫 三輪 晃一 宮崎 逸夫

目的：近年、各種モノクローナル抗体の発見にて腫瘍細胞の増殖活性の検討がなされるようになってきた。Gerdes¹⁾によって開発された Ki-67抗体は増殖期細胞の核内に存在する核抗原を認識するといわれている。培養細胞を用いて flow cytometry にてその増殖活性を検索する報告は認められるものの、固形腫瘍を用いた報告例ははまだ少ない。今回われわれは、胃癌の新鮮固形標本を用いてその増殖活性を検討したので報告する。

対象と方法：対象は胃癌新鮮標本32例である。Ki-67抗体 (Dako, Copenhagen, Denmark) の染色は以下のごとく行った。標本を眼科用ハサミで細切し、-20℃の acetone で30分間固定後、20% normal goat serum で30分浮遊させ、50倍希釈 Ki-67抗体で1時間反応後、100倍希釈 FITC (Flourescen conjugated goat anti-mouse IgG, Cappel) で1時間2次抗体処理し、37℃、30分間 Ribonuclease A (Sigma, 1mg/ml) にて処理を施した後、Propidium Iodide (P.I., 50mg/ml) にてDNA染色した。蛍光量の測定は、flow cytometry EPICS PROFILE にて10,000~20,000個の細胞について two parameter 標示を行った。すなわち、X軸にDNA量を、Y軸に相対的 Ki-67抗体量を標示した。細胞周期の測定はS期細胞の FITC 標識最下点の channel number より cutoff point を設定し、Ki-67 labeling rate を算出した。

結果：Ki67-DNA 2重染色によるその two parameter 標示による flow cytometry の発現様式は、S期で増加し、G₂M期ではさらに高度の発現を認めた。32症例の CV 値の平均は5.02 (2.65~7.90) で、diploid が11例 (34.4%) で aneuploid が21例 (65.6%) であった。上段が diploid で、下段が aneuploid 症例である (Fig. 1)。Ki-67 labeling rate の平均は45.1% (16.2~66.3%) であった。

Fig. 1 Bivariate distribution of Ki-67 and DNA content a) diploid tumor, b) aneuploid tumor



考察：Ki-67はいわゆる非増殖相、休止期細胞 (resting cells) には反応しないと報告されている。今回われわれは Ki-67の cutoff point をS期細胞の FITC 標識最下点の channel number とした。磯部²⁾は PHA 処理した末梢単核球での検討よりS期細胞の最下点での境界区分の妥当性を報告している。

臨床症例において BrdUrd の投与が制限される現状では、客観性のある flow cytometry による Ki-67の増殖活性の検討は悪性腫瘍の予後規定因子の1つの parameter となりえると考えられた。

Key word: proliferative activity in gastric cancer

文献：1) Gerdes J, Schwab U, Lemke H et al: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 31: 13-20, 1983
 2) 磯部 宏, 清水 透, 羽田 均ほか: モノクローナル抗体を用いた細胞周期の測定. *Human Cell* 1: 218-224, 1988

Proliferative Activity in Gastric Cancer with Ki-67 Using Flow Cytometry

Hironobu Kimura, Yutaka Yonemura, Shigekazu Ohyama, Touru Kamata, Kazuo Kinoshita, Itasu Ninomiya, Yasushi Takano, Masataka Segawa, Sachio Fushida, Takeo Kosaka, Akio Yamaguchi, Kouichi Miwa and Itsuo Miyazaki

Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University

<1991年3月13日受理> 別刷請求先: 木村寛伸 〒920 金沢市宝町13-1 金沢大学医学部第2外科