

## Flow cytometry による大腸癌核 DNA 量測定の意義

東邦大学第1外科

辻田 和紀    船橋 公彦    渡邊 正志    中村 博志  
渡邊 聖    戸倉 夏木    永澤 康滋    大谷 忠久  
小林 一雄    柳田 謙蔵    蔵本新太郎    吉雄 敏文

東邦大学大森病院病理

辻 本 志 朗

大腸癌201例の核 DNA 量を flow cytometry で測定、臨床病理学的所見および予後との関連について調べ、予後因子としての意義について検討した。

Aneuploid 例はリンパ節転移、脈管侵襲、肝転移陽性例に、また進行度が進んだ症例に多く認められた。Aneuploid 例は diploid にくらべ対象例全例、Dukes B 症例で有意に予後不良であった。Aneuploid 例をさらに DNA Index (DI) が1.4以下と1.41以上とで分類すると(以下 index)、DI の大きい症例のほうが予後不良であった。数量化理論第II類による判別分析の結果では DNA 量よりも Dukes 分類、壁深達度、肝転移の有無などのほうが予後への関与は強く、index は ploidy より予後とのかかわりが強いと考えられた。

核 DNA 量より大腸癌の悪性度や予後について検討するさい、DNA ploidy だけでなく aneuploid 例を DI 値によりさらに分類して検討する必要があると思われた。

**Key words:** flow cytometry, DNA content in large bowel cancer, prognostic indicator in large bowel cancer

### はじめに

癌の予後は stage や Dukes 分類とよく相関することが知られており、主として進行度により予後推測がなされてきた。しかし、進行度が同程度でも予後に大きな差が見られることもあり、最近では生物学的特性の面からも検討されるようになってきた。個々の症例の生物学的特性を示す指標の1つになりうるものとして癌細胞核 DNA 量がとりあげられ、種々検討されている<sup>1)</sup>。しかし、まだ意見の一致をみないものも多い。

今回、われわれも flow cytometry を用いて大腸癌の核 DNA 量を測定、病理組織学的所見および予後と比較し、核 DNA 量の予後判定因子としての有用性について検討した。

### 対象および方法

東邦大学第1外科で手術を施行した大腸癌のうち201例を対象とした。その内訳は結腸癌68例、直腸癌128例、肛門部癌5例で、性別は男性109例、女性92例、年

齢は28歳から80歳(平均年齢 $58.0 \pm 11.9$ 歳)であった。

上記の症例の手術摘出標本を10%ホルマリン液にて固定、パラフィン包埋ブロックを作り、4 $\mu$ mの切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色を施行して病巣部を確認、その隣接部より50 $\mu$ mの切片を作製、キシレンで1時間以上の脱パラフィンを2回繰り返した後100%、95%、70%エタノール、蒸留水にて順次再水和、0.5%ペブシン(Sigma社)溶液中(pH 1.5)で37℃にて1時間30分インキュベーション、その間適宜 vortex mixer で攪拌し単離細胞を作製した。次いで遠沈、水洗後 RNase (Sigma社)液(1mg/ml)にて37℃で30分間インキュベーションして遠沈、50 $\mu$ g/mlとなるように調製した propidium iodide 液にて4℃で染色、50 $\mu$ m ナイロンメッシュで濾過後、flow cytometry (FACStar, Becton Dickinson 社製)を用いて、1検体につき12,000~15,000個の核 DNA 相対量を測定してヒストグラムを作製した。測定速度は、90個~110個/秒となるように設定した。

DNA ploidy パターンは、検体中に含まれている正常細胞(腫瘍内間質のリンパ球など)を内部標準とし

<1991年3月13日受理> 別刷請求先: 辻田 和紀  
〒143 大田区大森西6-11-1 東邦大学医学部第1外科

て得られたヒストグラムで G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> ピークが1つのものを diploid, 複数の場合を aneuploid とした. DNA Index (DI) は, 癌細胞と正常細胞の G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> 期のピークチャンネル数の比で求めた. なお, coefficient of variation (CV 値) が 8 以下の場合を検討対象とした.

病理組織学的所見の検索は大腸癌取扱い規約<sup>2)</sup>に従って行った.

有意差検定は, DNA ploidy と病理組織学的因子との関係については  $\chi^2$  検定, DI の平均値については t 検定を用い, p < 0.05 を有意差ありと判定した. 累積生存率は Kaplan-Meier 法により求め, generalized Wilcoxon test にて有意差検定を行った.

結 果

1) DNA ploidy パターンと臨床病理学的所見

DNA ploidy パターンは対象例では aneuploid が 130例 (64.7%), diploid 71例 (35.3%) であった. 従来より予後との関係が深いと考えられている組織型, 壁深達度, リンパ管侵襲の有無, 静脈侵襲の有無, リンパ節転移の有無, 肝転移の有無および Dukes 分類と ploidy との関係について検討した.

組織型と DNA ploidy とは相関はみられず, 進行癌では深達度が深くなるにつれ aneuploid 例が多くなる傾向がみられたが, 有意差は認められなかった. リンパ管侵襲, 静脈侵襲, リンパ節転移, 肝転移の陽性例では陰性例に比べ aneuploid 例が多く有意差がみられた. また, Dukes 分類でも癌が進行するほど aneuploid 例が多くみられた (Table 1).

2) ploidy と予後

他病死を除く192例の5年累積生存率は diploid 78.1%, aneuploid 37.9% で, diploid 例の予後は aneu-

Table 1 DNA ploidy and pathologic characteristics

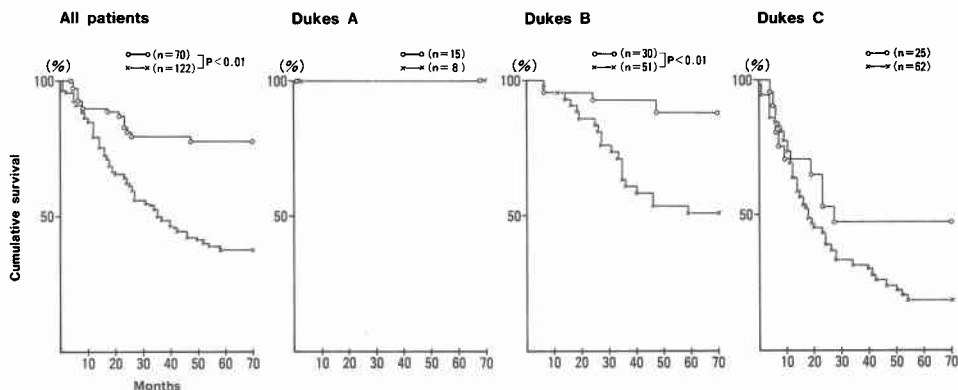
	Diploid (n=71)	Aneuploid (n=130)
Histological type		
Well differentiated	48	86
Moderately differentiated	19	35
Others	4	9
Depth of invasion		
m or sm	1	4
pm	15	9
ss (a1)	35	61
s (a2)	16	42
si (ai)	4	14
Lymphatic vessel invasion		
ly (-)	26	26
ly (+)	45	104
Venous invasion		
v (-)	34	41
v (+)	37	89
Lymph node metastasis		
n (-)	46	60
n (+)	25	69
Unknown		1
Liver metastasis		
H (-)	63	99
H (+)	8	31
Dukes' stage		
A	16	9
B	30	53
C	25	67
Unknown		1

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01

roid 例よりも有意に良好であった. Dukes 分類別にみても, Dukes A では両者とも100%で差がなく,

Fig. 1 Survival curves according to DNA ploidy

○—○ Diploid, ×—× Aneuploid



Dukes B での 5 年生存率は diploid 88.7%, aneuploid 50.8%と diploid は有意に予後不良であった。Dukes C では 5 年生存率は 47.2%と 18.9%で, diploid のほうが良好であったが有意差は認められなかった (Fig. 1)。

3) DI と予後

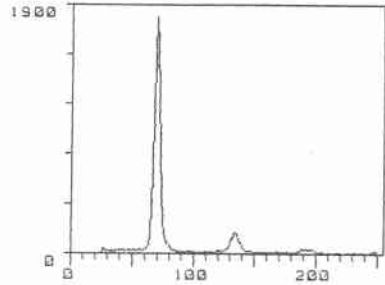
aneuploid 症例の 5 年以上生存例と 5 年未満死亡例の DI 値の平均値はそれぞれ  $1.29 \pm 0.21$ ,  $1.53 \pm 0.23$  で, 5 年未満死亡例のほうが有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。DI 値が 1.0 の diploid を I 型, aneuploid 例をさらに DI が 1.01~1.4 のものを II 型, 1.41 以上を III 型に分類 (以下 index, Fig. 2) して予後をみると, I, II, III 型の順に生存率が良好で, I 型と III 型, II 型と III 型との間に有意差がみられた。Dukes A, Dukes C では 3 つの型の生存率に有意差はみられなかったが, Dukes B では I 型と III 型, II 型と III 型との間に有意差がみられた (Fig. 3)。

4) 数量化理論 II 類による分析

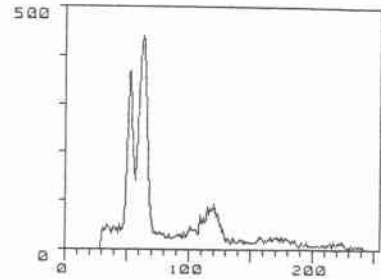
まず, 術後 5 年以上生存例と 5 年未満死亡例とにわけて各因子と予後との関連度を独立性の検定を用いて, より強いものと弱いものに分類した。強い因子としては進行度, 治癒切除か否か, 深達度, Index などが  $\chi^2$  値 42 以上 ( $p < 0.001$ ) であった。また, これらの因子は Akaike's Information Criterion (AIC) でも他のものよりもその値が小さかった (Table 2)。 $\chi^2$  値 10 以上 ( $p < 0.05$ ) であった 12 の因子のうち stage, 治癒切除か否か, Dukes 分類は局所の進展状態や深達度, リンパ節転移, 肝転移などにより 2 次的に決定されるものであり, 単一の所見からなる他の因子と比較するのは不適当と思われたが, 進行度は臨床的にも重要である。そこで, 判別分析を行う際の検討因子としては

Fig. 2 DNA histogram patterns according to DNA index. Aneuploid was classified into two groups according to DNA index

Type I : DI : 1.0



Type II : DI : 1.0 < ~ ≤ 1.4



Type III : DI : 1.4 < ~

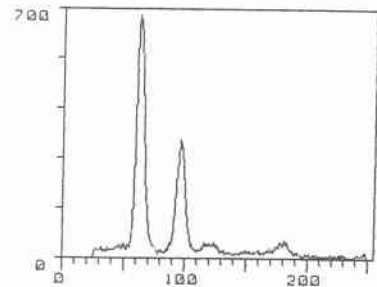
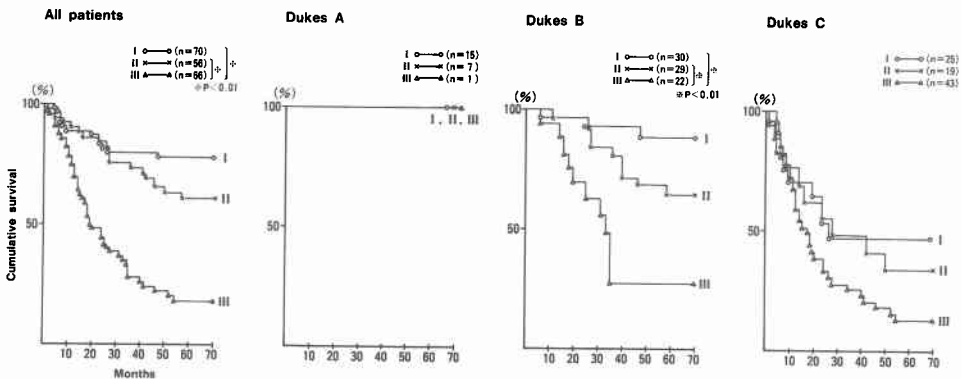


Fig. 3 Survival curves according to DNA index  
I ○—○ DI 1.0, II ×—× DI 1.0 < ~ 1.4, III △—△ DI 1.4 < ~



**Table 2** Interdependent factors for prognosis

Item	$\chi^2$	AIC	P
stage	75.67	-75.97	0.000
Cnrability	59.69	-65.75	0.000
Depth of invasion	55.45	-47.65	0.000
Dukes' stage	44.89	-46.12	0.000
Index	42.91	-37.98	0.000
H	39.56	-43.12	0.000
n	33.41	-30.68	0.000
Ploidy	24.80	-21.86	0.000
ly	24.21	-21.63	0.000
Macroscopic type	22.73	- 8.193	0.001
P	12.22	-10.40	0.002
v	10.59	- 6.738	0.005
Histological type	5.425	0.9493	0.246
Age	3.880	4.059	0.422
Sex	1.057	2.932	0.590
Location	0.9942	3.074	0.608
Size	0.4891	3.500	0.783

H : liver metastasis, n : lymph node metastasis  
 ly : lymphatic vessel invasion  
 P : peritoneal dissemination  
 v : venous invasion  
 AIC : Akaike's Information Criterion

**Table 3** Partial correlation coefficient of item

Item	Partial correlation coefficient
Depth of invasion	0.387420
H	0.343994
Dukes' stage	0.251568
ly	0.169657
Histological type	0.155902
Index	0.0964244
n	0.0950630
v	0.07289654
Ploidy	0.0222852

H : livr metastasis, ly : lymphatic vessel invasion  
 n : lymph node metastasis, v : venous invasion

各因子間の独立性の高いものが望ましいので、進行度のうち Dukes 分類を検討対象に入れた。また、ほかの因子のうち腹膜転移は初回手術時肝転移に比べて少なく、肉眼型も対象例では 2 型以外が少ないのでこれら 2 つの因子を除外した。さらに、組織型はそれらの因子よりも  $\chi^2$  値は小さかったが従来より重要な予後因子の 1 つと考えられているので検討因子に入れ、9 因子を選択し数量化理論第 II 類により判別的分析を行った。

偏相関係数は深達度、肝転移、Dukes 分類が大きく、

**Table 4** Distribution of case score

Prognosis Score	Survival over 5 years	Death within 5 years	Unknown
~ -1.75	2	0	0
-1.75 ~ -1.50	13	0	0
-1.50 ~ -1.25	14	0	1
-1.25 ~ -1.00	15	1	0
-1.00 ~ -0.75	12	1	0
-0.75 ~ -0.50	13	6	2
-0.50 ~ -0.25	7	4	0
* -0.25 ~ 0.00	3	9	1
0.00 ~ 0.25	0	8	0
0.25 ~ 0.50	0	3	0
0.50 ~ 0.75	2	11	1
0.75 ~ 1.00	0	18	1
1.00 ~ 1.25	1	1	0
1.25 ~ 1.50	0	6	0
1.50 ~ 1.75	0	5	0
1.75 ~ 2.00	0	2	0
2.00 ~ 2.25	0	2	0
Total	82	77	6

\* : discriminated point

□ : case of success in discrimination

それらが最も予後に関与している因子と考えられた (Table 3)。それぞれの症例につき判別分析にて算出された各因子・区分の重みの総和を求めこれを症例得点とした。症例の得点分布は Table 4 のごとくで、得点が正值領域であるほど 5 年以内死亡例の割合が高く、一方、負値領域ほど 5 年以上生存例の割合が高かった。生死の判別点を -0.25 にしたとき、判別成功率が最大であった。すなわち、この判別点に対する判別成功例は 5 年以上生存群 76 例、死亡群 65 例、計 141 例であり、この時の判別成功率は 88.7% であった。この際の各因子・区分に得られた重みは Table 5 のごとくで、Dukes 分類、深達度、肝転移、Index の順に各因子・区分へ大きい重みが与えられた。

**考 察**

Flow cytometry による癌細胞核 DNA 量の測定、解析は Hadley ら<sup>3)</sup>のバラフィンブロックを用いた報告以来、種々の固形癌についても検討されるようになった。しかし、まだ意見の一致のみられない点も多い。検体処理にも色々な方法が用いられている<sup>3)-6)</sup>。著者もそれらの検体処理法について検討したが、方法により CV 値に差が認められなかったため、簡便な前記の方法にて測定した。

Aneuploid の出現率は臓器や発表者により異なって

Table 5 Weight of category in item

Item	Category	Frequency	Weight	Range
Dukes' stage	A	22	-0.896	1.3522
	B	68	-0.212	
	C	75	0.456	
Depth of invasion	m or sm	4	-0.224	1.0128
	pm	21	0.483	
	ss (a <sub>1</sub> )	82	-0.367	
	s (a <sub>2</sub> )	40	0.460	
	si (ai)	18	0.644	
H	H (-)	131	-0.186	0.90531
	H (+)	34	0.718	
Index	DI : 1.0	59	-0.345	0.64245
	DI : 1.01~1.4	50	0.0744	
	DI : 1.41 ↑	56	0.297	
Histological type	well	108	0.0644	0.45820
	moderate	45	-0.218	
	others	12	0.239	
ly	ly (-)	46	-0.315	0.43071
	ly (+)	119	0.121	
n	n (-)	88	0.156	0.33492
	n (+)	77	-0.178	
v	v (-)	66	0.0993	0.16561
	v (+)	99	-0.0662	
Ploidy	diploid	60	-0.0804	0.126397
	aneuploid	105	0.0459	

H : liver metastasis, ly : lymphatic vessel invasion, n : lymph node metastasis,  
v : venous invasion

おり、大腸癌でのパラフィン包埋標本を用いての測定では32%から71%と報告されているが<sup>7)~10)</sup>、50%台60%台とするものが多く、著者らの64.7%はほぼ平均的な割合と思われる。

Ploidy と大腸癌の臨床病理学的所見との関係についてみてみると、相関がみられなかったとの報告もあるが対象例が52例と比較的少なく<sup>11)</sup>、対象が100例以上のものではいくつかの因子と関係を有していたとする報告が多い。相関する因子は発表者により異なっているが、リンパ節転移、肝転移、脈管侵襲の有無、Dukes分類などがあげられている<sup>5)7)11)~14)</sup>。著者は以前大腸癌78例について顕微側光法にて測定し、臨床病理学的所見との関係について検討した。その結果では静脈侵襲、肝転移の有無とで有意差を認めたが、リンパ管侵襲陽性例、リンパ節転移症例で aneuploid 例が多くなる傾向はあったものの有意差はみられなかった<sup>16)</sup>。しかし、対象が201例と増えた flow cytometry による今

回の検討では、静脈侵襲、肝転移陽性例のみならずリンパ節転移、リンパ管侵襲の陽性例でも有意に aneuploid 例が diploid より多くみられた。また、Dukes 分類でも進行するに従い aneuploid 例が多く認められた。

DNA 量 ploidy と予後との関係は多くの固形癌について検討されており、aneuploid を呈する場合は diploid と比べ予後不良な癌が多いといわれている<sup>1)</sup>。大腸癌においても ploidy と予後とは関連がなかったとの報告もあるが<sup>17)</sup>、aneuploid 症例のほうが予後が悪いとするものが多くみられる。Armitage ら<sup>18)</sup>は134例につき検討し diploid の5年累積生存率が43%、aneuploid が19%と diploid の予後が有意に良好であり、DNA 量は進行度や組織学的分化度とは独立した重要な予後因子であると述べている。Scott ら<sup>13)</sup>も直腸癌において DNA パターンは独立した予後因子であると発表している。本邦での最近の報告でも diploid と

aneuploid の生存率に有意差を認めているものが多い<sup>11)12)14)15)</sup>。しかし、進行度別の予後の検討では、Dukes C で両者間に有意差を認めたもの<sup>11)</sup>、Dukes B で差を認めたもの<sup>8)20)</sup>、stage II でみられたもの<sup>12)</sup>、stage IV でみられたとするもの<sup>15)</sup>など意見の違いがみられる。また、遠隔転移を伴った症例では生存率に差がなかったという報告もされている<sup>21)</sup>。著者らの今回の検討では diploid は aneuploid より有意に予後良好であり他の多くの報告と同様の結果であった。進行度別では Dukes A では両者とも予後良好で差がなく、Dukes C では diploid の生存率のほうが良好であったが有意差がみられず、Dukes B において有意差が認められた。今までの発表や今回の結果から考えて進行癌でも比較的早期の場合は手術的に十分な除去が可能であり、一方、局所の浸潤やリンパ節転移が高度な症例や遠隔転移のみられる症例では手術を施行しても癌細胞の残存の可能性が高く、DNA 量 ploidy パターンにより予後が左右されることが少なくなるものと思われる。したがって、予後が ploidy により最も影響をうける可能性の高いのは Dukes B と治癒切除可能な Dukes C 症例であると考えられる。

Aneuploid 例の5年生存率は対象例全体では37.9%、治癒切除例では58.2%で、予後良好のものも不良なものもみられる。そこで aneuploid 例の予後が DI 値の大小により差が認められるか否かを検討した。Aneuploid 例の5年未満死亡群の DI の平均値は5年以上生存率のそれより有意に高値を示した。DI が1.0 の diploid, aneuploid を1.4以下と1.41以上にわけて生存率を調べてみると、DI が大きくなるほど予後が不良であった。DI の大小により予後に差がみられなかったとの報告もあるが<sup>14)</sup>、山崎<sup>11)</sup>は aneuploid を1.3でわけ、小坂ら<sup>15)</sup>は1.5以下と1.51から2.0までおよび2.01以上に分け検討し、DI が大きくなるほど予後不良になる傾向がみられたと述べている。Aneuploid 症例では DI 値の大小が予後に影響を与えていることは十分考えられ、この点に関して今後さらに検討することが必要である。

大腸癌の予後は種々の因子により影響をうけている。DNA ploidy や DI 値が予後と関係を有していることが示唆されたが、それらがどの程度関与しているか検討するために、大腸癌の予後因子を数量化理論第II類により分析した。偏相関係数からみると深達度、肝転移、Dukes 分類が他の因子より強く予後に関与していると考えられ、重みからみてもこれら関与度が大き

な因子に大きい重みが与えられていた。DNA 量解析の結果は複数の因子の組み合わせである進行度や進行度を決定する重要な因子である深達度よりも関与度が少なかった。また、ploidy のみでなく aneuploid を DI 値よりさらに分けたほうが予後に対する関与が大きくなり、小坂ら<sup>15)</sup>と類似の結果が得られた。

今回の検討より大腸癌において進行度や進行度を表す因子である壁深達度などの方が予後に対するかわりは大きいと思われるが、細胞核 DNA 量も従来の病理組織学的所見とは異なった観点からの有用な予後因子の1つになりうることが示唆された。また、核 DNA 量の面から大腸癌の悪性度や予後について検討する際、ploidy のみではなく、aneuploid を DI によりさらに分類して検討する必要があると考えられた。さらに、予後推測には進行度に DNA 量測定結果を加味して検討することが有用であると思われた。

稿を終えるにあたり、数量化理論II類による検討についてご指導いただきました統計数理研究所駒澤 勉教授に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Merkel ED, Mcguire LW: Ploidy, proliferative activity and prognosis DNA flow cytometry of solid tumors. *Cancer* 65: 1194-1205, 1990
- 2) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約, 改訂第4版. 金原出版, 東京, 1985
- 3) Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW et al: Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological materials using flow cytometry. *J Histochem Cytochem* 31: 1333-1335, 1983
- 4) Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI: A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. *Cytometry* 3: 323-327, 1983
- 5) Ensley JF, Maciorowski Z, Pietraszkiewicz H et al: Solid tumor preparation for flow cytometry using a standard murine model. *Cytometry* 8: 479-487, 1987
- 6) Schutte B, Reynders MJ, Bosman FF et al: Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. *Cytometry* 6: 26-30, 1985
- 7) 小里俊幸, 馬場正三, 小沢 史: フローサイトメトリーによる大腸癌の DNA パターンと臨床病理学的所見, 予後との関連について. *日消外会誌* 21: 1081-1085, 1988
- 8) Kokal WA, Garden RL, Sheibani K et al:

- Tumor DNA content in resectable primary colorectal carcinoma. *Ann Surg* 209 : 188-193, 1989
- 9) Rognum TO, Thorud E, Lund E : Survival of large bowel carcinoma patients with different DNA ploidy. *Br J Cancer* 56 : 633-636, 1987
  - 10) Banner BF, Tomas JB, Roseman DL et al : Should flow cytometric DNA analysis precede definitive surgery for colon carcinoma? *Ann Surg* 202 : 740-744, 1985
  - 11) 山崎弘資 : フローサイトメトリーによる食道癌および大腸癌の DNA ploidy の解析—予後, 病理所見, 家族歴との関連について—. *日外会誌* 90 : 1186-1195, 1989
  - 12) 荒木靖三 : Flow cytometry による直腸癌細胞核 DNA 量測定に関する研究—DNA Ploidy Pattern と臨床病理学的所見および術後遠隔成績との関連についての検討—. *日外会誌* 90 : 1965-1975, 1989
  - 13) Scott NA, Rainwater LM, Wieand HS et al : The relative prognostic value of flow cytometric DNA analysis and conventional clinicopathologic criteria in patients with operable rectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 30 : 513-520, 1987
  - 14) 石川 啓, 田川 泰, 中越 享ほか : 多変量解析による大腸癌核 DNA 量の予後因子としての評価. *日消外会誌* 22 : 1806-1810, 1989
  - 15) 小坂健夫, 伊井 徹, 松本 尚ほか : FCM をもちいた DNA Ploidy および DNA Index と大腸癌の予後に関する検討. *日本大腸肛門病会誌* 43 : 61-66, 1990
  - 16) 辻田和紀 : 大腸癌における核 DNA 量と病理学的所見ならびに予後に関する検討. *日本大腸肛門病会誌* 41 : 760-768, 1988
  - 17) Melamed MR, Enker WE, Banner P et al : Flow cytometry with colorectal carcinoma with 3-year follow up. *Dis Colon Rectum* 29 : 184-186, 1986
  - 18) Armitage NC, Robins RA, Evans DF et al : The influence of tumour cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. *Br J Surg* 72 : 828-830, 1986
  - 19) Schutte B, Reynders MMJ, Wiggers T et al : Retrospective analysis of the prognostic significance of DNA content and proliferative activity in large bowel carcinoma. *Cancer Res* 47 : 5494-5496, 1987
  - 20) Jones DJ, Moore M, Schofield PF : Prognostic significance of DNA ploidy in colorectal cancer : a prospective flow cytometric study. *Br J Surg* 75 : 28-33, 1988
  - 21) Finan PJ, Quirke P, Dixon MF et al : Is DNA aneuploidy a good prognostic indicator in patient with advanced colorectal cancer? *Br J Cancer* 54 : 327-330, 1986

### Clinical Significance of Flow Cytometric Analysis of DNA Content in Colorectal Carcinoma

Kazunori Tsujita, Kimihiko Funahashi, Masashi Watanabe, Hiroshi Nakamura, Kiyoshi Watanabe, Natsuki Tokura, Yasushige Nagasawa, Tadahisa Ogai, Kazuo Kobayashi, Kenzo Yanagita, Shintaro Kuramoto and Toshifumi Yoshio  
 First Department of Surgery, School of Medicine, Toho University  
 Shiro Tsujimoto  
 Department of Pathology, Toho University Omori Hospital

The DNA content of 201 large bowel carcinomas was measured by flow cytometry to evaluate the prognostic significance of DNA ploidy and DNA index (DI). DNA ploidy correlated with lymphatic vessel invasion, venous invasion, lymph node metastasis, liver metastasis and Dukes' stage. Among all patients those with aneuploid cancer had a significantly worse outcome than those with diploid cancer. When patients were divided by Dukes' stage, the patients with aneuploid tumor had a significantly worse survival than those with diploid tumor in the cases of Dukes' B. The cumulative survival rate was worse in DNA aneuploid with DI above 1.41 than in aneuploid with DI below 1.40. In multivariate analysis by quantification theory type II, Dukes' stage, depth of invasion, and presence or absence of hepatic metastasis were stronger predictors of survival than DNA content, and DI had a closer connection with prognosis than DNA ploidy. These results suggest that not only DNA ploidy but also classification of aneuploid according to DI are valuable prognostic indicators in large bowel carcinoma.

**Reprint requests:** Kazunori Tsujita First Department of Surgery, Toho University School of Medicine  
 6-11-1 Omorinishi, Ota-ku, Tokyo, 143 JAPAN