

生検材料 DNA 量解析による直腸癌局所再発リスクの 術前予測に関する検討

一局所再発例の DNA 量解析結果との対比を中心に

防衛医科大学校第1外科

八岡 利昌 望月 英隆 長谷 和生

中村 栄秀 小池 聖彦 玉熊 正悦

同 細菌学講座

四ノ宮 成 祥 鶴 純 明

直腸癌治癒切除後局所再発17例と非再発12例の手術材料パラフィン包埋標本を用いて癌細胞核 DNA 量解析を行った結果、局所再発群の DNA index (以下, DI) は平均 1.28 ± 0.24 であり、非再発群の DI 1.12 ± 0.10 よりも高値を示した ($p < 0.05$)。また、DI が 1.28 以上を呈したものの割合は非再発群では 8.3% (1/12) なのに対し、再発群では 41.2% (7/17) と明らかな差を認めた ($p < 0.05$)。さらに DI が 1.35 以上を呈したのは全例局所再発例であった。直腸癌術前生検新鮮材料を用いて得られた DI は同一患者の手術時摘出パラフィン標本の DI ときわめて近似しており、両者間には $Y = 0.96X \pm 0.09$ と傾きが1にきわめて近い有意な正の相関が認められた ($p < 0.001$)。以上より術前生検で得られた新鮮標本を用いた核 DNA 量解析は、直腸癌術後の局所再発リスク把握の上で臨床的意義を有するものと考えられた。

Key words: cellular DNA analysis, DNA index of rectal cancer, preoperatively biopsied specimens, curatively resected paraffin-embedded specimens, local recurrence of rectal cancer

はじめに

手術時摘出パラフィン包埋標本を用いた flow cytometry による癌細胞核 DNA 量解析は、癌の生物学的悪性度と病理組織像や予後との関係の評価するため retrospective な検討の中で主に行われ、再発リスクや術後補助療法要否の判定に有用であることが指摘されてきた^{1)~3)}。しかしこれらは術後に得られる情報であって、術前生検で得られた新鮮標本を用いた核 DNA 量解析が、癌の生物学的悪性度の術前評価や術前からの術後経過予測に有用であるならば、術後の補助療法のみならず術式の選択を介して治療成績に大きく寄与するものと思われる。本研究ではまず組織学的進行度および組織学的壁深達度が一定の直腸癌治癒切除症例のパラフィン包埋標本を用いて癌細胞核 DNA 量解析を行い、直腸癌局所再発と核 DNA 量との関係

を retrospective に検討し、両者の関連を明らかにした。次いで、直腸癌術前生検で得られた新鮮材料を用いて核 DNA 量解析を行い、その解析結果が直腸癌術後の局所再発リスク把握の上で有する臨床的意義について検討した。

対象および方法

1) 直腸癌局所再発症例の核 DNA 量に関する検討
1980年から1985年までの6年間に当科で経験した直腸癌初回手術治癒切除症例中、大腸癌取扱い規約⁴⁾による組織学的進行度が stage 2 または 3 で、組織学的壁深達度が ss (a1) または s (a2) と診断され、5年以内に局所再発をきたした17例 (以下、局所再発例) を対象とした。また同一期間の症例で上記の病理組織学的条件を満たし、5年以内には局所再発を含む再発がいったい認められなかった12例を無作為に抽出し、対照群とした (以下、非再発例)。これら29例について、原発巣の手術時摘出パラフィン包埋標本を用いて核 DNA 量を flow cytometry により解析し、比較検討し

た。局所再発例の初回手術術式は腹会陰式直腸切断術10例、前方切除術7例であり、再発形式は腹会陰式直腸切断術後では会陰部再発8例、骨盤腔内再発1例、会陰部および骨盤腔内再発1例、また前方切除術後では吻合部再発5例、骨盤腔内再発1例、吻合部および骨盤腔内再発1例であった。また、対象例の原発巣の肉眼型は2型が主であった。

2) 新鮮標本とパラフィン包埋標本の核 DNA 量の比較

1989年12月から1990年8月までの間に経験した直腸癌14症例を対象として手術時摘出標本から新鮮材料を採取し、その核 DNA 量を解析し、同一症例のパラフィン包埋標本から得られた核 DNA 量解析結果と比較した。

次いで同期間に経験した直腸癌11症例を対象として術前生検新鮮標本の核 DNA 量を解析し、同一症例の手術時摘出パラフィン包埋標本から得られた核 DNA 量解析結果と比較した。

3) 同一腫瘍内における核 DNA 量の heterogeneity に関する検討

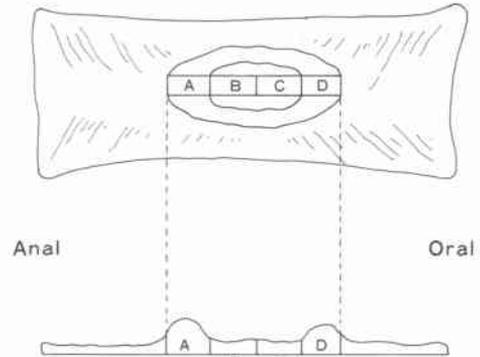
1991年6月から1991年10月までの間に経験した直腸癌15症例を対象に、摘出標本ホルマリン固定後同一腫瘍内の異なる部位4か所から標本を採取し、パラフィン包埋処理した後に核 DNA 量解析を行って、標本採取部位の違いによる DNA 量の差異について検討を加えた。

4) 検体の採取および処理

術前生検新鮮標本は、直腸鏡下に腫瘍周堤～潰瘍底移行部付近から約3mm角を2～3個採取した。手術時摘出標本的新鲜材料も同様に、腫瘍周堤～潰瘍底移行部付近から採取した。新鮮標本は採取後直ちに citrate buffer 内で赤血球や便などの不純物をできるだけ除去し、いったん-80℃で凍結保存し、測定に際して室温で解凍した。一方、パラフィン包埋標本については、hematoxylin-eosin (HE) 染色標本検鏡にて腫瘍組織の多いパラフィンブロックを選び、そこから50μmの薄切スライスを3枚切り出し試料作製に供した。なお、腫瘍の heterogeneity の検討には、手術時摘出標本をホルマリン固定した後、腫瘍中心を通る腸管長軸方向に検体を切り出し、その検体を周堤、潰瘍底が別々の切片に入るように A から D の4つに分割した (Fig. 1)。各検体はパラフィン包埋した後 DNA 量解析に供した。

5) 試料の調整および核 DNA 量測定

Fig. 1 Sampling from the rectal carcinoma for the study of intratumoral DNA heterogeneity.

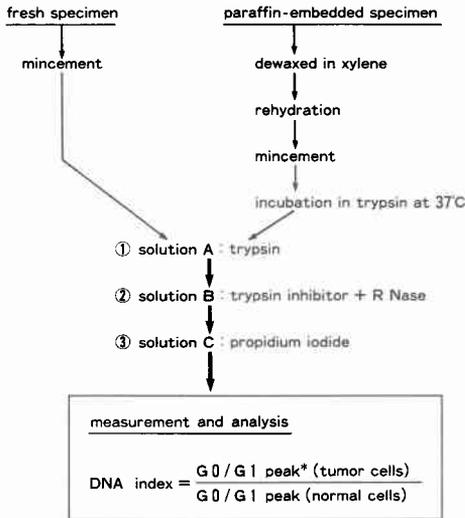


新鮮標本は、眼科用ハサミを用いて腫瘍組織をかゆ状に細切りした後、1mlのシリンジ内で数回ピペティングし、最後に50μmナイロンメッシュ(#400)にて細胞を単離した。一方、パラフィン包埋標本は Schutte らの方法⁵⁾に準じ試料を調整した。まずキシレンによる脱パラフィン処理を1時間ずつ2回行い、次いで100%、100%、95%、70%、50%のエタノール溶液系列におおの10分間ずつ浸漬し、さらに蒸留水に10分間2回浸漬して標本を再水和化した。次いで0.25%trypsin 溶液内で切片を眼科用ハサミにて細切り、37℃の恒温槽で2時間 incubation した後、ナイロンメッシュを通して細胞を単離した。細胞単離後の処理は新鮮材料、パラフィン包埋材料とも同じで、Vindelø v らの方法⁶⁾に準じて細胞核 DNA 染色を行った。すなわち細胞数を約 2.5×10^6 個/mlに調整した後、市販試薬の CycleTEST™ (Becton Dickinson, CA, USA)を用い、A液(spermineを含む trypsin 溶液)、B液(trypsin inhibitor+RNase 溶液)、C液(propidium iodide 溶液)の順に室温でそれぞれ10分間反応させて核 DNA 染色を行った。最後に検体をナイロンメッシュで濾過した後、FACScan™/CellFIT™DNA System (Becton Dickinson, CA, USA)を用いて、1検体につき5,000個の細胞核 DNA 量の測定および解析を行った (Fig. 2)。

6) 核 DNA 量解析

核 DNA 量解析として、DNA ヒストグラムを参考に DNA index(以下、DI)および DNA ploidy pattern を求めた。コントロール細胞には同一標本内に含まれる非腫瘍細胞を用い、DIは、コントロール細胞の2cのピーク(以下、G0/G1 peak)値に対する腫瘍細胞の G0/

Fig. 2 Method for analysis of cellular DNA content using flow cytometry (by Schutte⁵, Vindel⁶). *G0/G1 peak is the first peak of DNA histogram.



G1 peak 値の比として算出した(Fig. 2)。また、DNA ploidy pattern に関しては、癌 DNA 研究会⁷に従い、G0/G1 peak が単一で diploid range にあるものを diploid とし、G0/G1 peak が diploid 以外に存在するものを aneuploid と定義した。また評価の信頼性を高めるため変動係数 CV (coefficient of variation) 値が 8% を越える症例は今回の検討対象に含めなかった。なお、統計学的解析については、数値を mean±SD で表現し、平均値の有意差検定は Student's t-test を、独立性の検定は χ^2 検定を用い、いずれも危険率 5% 以下を有意差ありとした。

結 果

1) 直腸癌局所再発症例の核 DNA 量に関する検討
局所再発例の DI は平均 1.28 ± 0.24 であり、非再発例の DI 1.12 ± 0.10 よりも高値を示した ($p < 0.05$, Fig. 3)。局所再発例 DI の平均である 1.28 を境に DI と局所再発の有無との相関を検討すると DI が 1.28 以上を呈したのは局所再発例では 17 例中 7 例 (41.2%) であったのに対し、局所再発を認めなかった症例では 12 例中わずか 1 例 (8.3%) のみで、明らかな差を認めた ($p < 0.05$)。また DI が 1.35 以上を呈したものは局所再発例では 5 例 (29.4%) であったのに対し、局所再発を認めなかった症例では皆無であった。一方、DNA ploidy pattern を検討すると、局所再発例の aneuploid

Fig. 3 Comparison of cellular DNA indexes of primary rectal carcinoma lesions between the patients with local tumor recurrence (○) and those without recurrence (●).

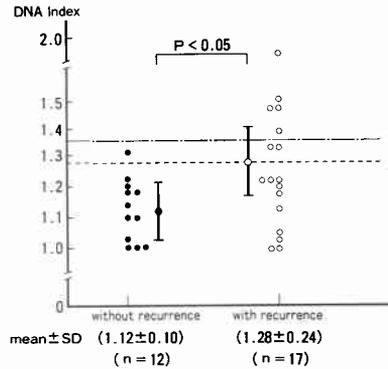


Table 1 Local recurrence and DNA ploidy pattern in 29 rectal cancer patients

	with recurrence	without recurrence
Diploid	4(23.5%)	6(50%)
Aneuploid	13(76.5%)	6(50%)
Total	17	12

出現率は 17 例中 13 例、76.5% と、非再発例の 12 例中 6 例、50% に比べて有意差はないものの、高率の傾向を示した (Table 1)。なお初回手術から局所再発発現までの期間と DI、あるいは DNA ploidy pattern との間には一定の相関は認められなかった。

2) 新鮮標本とパラフィン包埋標本の核 DNA 量の比較

手術時摘出標本から得られた同一腫瘍の新鮮標本とパラフィン包埋標本のそれぞれの DI はきわめて近似し、両者間には $Y = 0.93X \pm 0.13$ ときわめて近似した有意な正の相関が認められた ($p < 0.001$, Fig. 4)。さらに、同一患者の術前生検新鮮標本と手術時摘出パラフィン包埋標本の各 DI も同様に近似しており、両者間には $Y = 0.96X \pm 0.09$ とやはりきわめて近似した有意な正の相関が認められた ($p < 0.001$, Fig. 5)。

3) 同一腫瘍における核 DNA 量の heterogeneity に関する検討

15 例中 12 例 (80%) においては同一腫瘍内 4 か所における DI の差は 10% 以内であったが、残る 3 例 (20%) では異なる部位間で DI に 10% 以上の差がみられた (Fig. 6)。DI に 10% 以上の差が認められた 3 例中

Fig. 4 Correlation between DNA indexes of fresh and paraffin-embedded tumor specimens. Significant correlation is observed ($p < 0.001$).

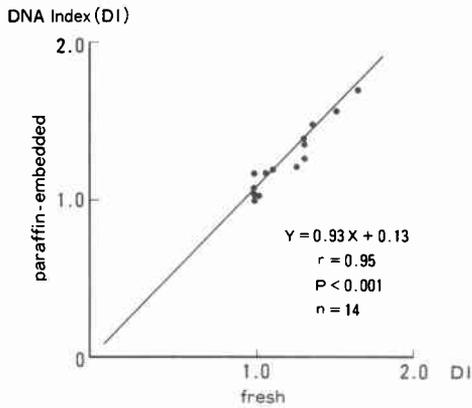
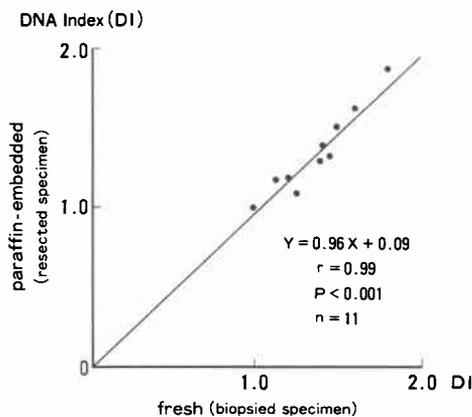


Fig. 5 Correlation between DNA indexes of biopsied fresh and resected paraffin-embedded tumor specimens. Significant correlation is observed ($p < 0.001$).



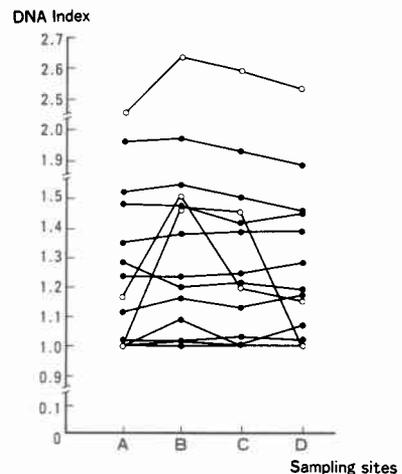
2例は同一腫瘍内に2つの異なる aneuploid クローンがみられ、残る1例では同一腫瘍内に diploid の腫瘍クローンと aneuploid 腫瘍クローンの両者が認められた。

考 察

悪性腫瘍に対しては、手術療法のみならず放射線療法や化学療法を含めた集学的治療が行われることが現在では一般的となっている⁸⁾。この際有効な治療法の組み合わせを選択するにあたっては、術前に個々の癌の生物学的悪性度を正確に把握することが肝要である。近年、核 DNA 量解析により癌の生物学的悪性度を評価しようとする報告が数多くなされているが、これ

Fig. 6 Differences of DNA index within each carcinoma by sampling sites.

A, B, C, D indicate sampling sites as shown in Fig. 1. ● : the cases with less than 10% difference in DNA index. ○ : the cases with 10% or more difference in DNA index.



までの癌細胞核 DNA 量解析はホルマリン固定された手術時摘出標本を用いた retrospective な検討が大部分であった¹⁴⁾⁹⁾。

新鮮標本を用いた場合にはホルマリン固定標本に比べて核 DNA 量解析をより簡易に、高い精度で行うことができ、しかも検体の必要量も少量で可能¹⁰⁾とされていることなどから、最近は大腸癌や胃癌の内視鏡下生検材料¹¹⁾¹²⁾や乳癌穿刺吸引材料から得た新鮮標本における検討も見られ¹³⁾¹⁴⁾、術前生検新鮮標本を用いた核 DNA 量解析が臨床的にきわめて有用となる可能性は大きいものと思われる。今回の検討においては、これまでの報告⁵⁾¹¹⁾¹²⁾と同様に、同一腫瘍の新鮮標本とホルマリン固定パラフィン包埋標本の DI は 1 : 1 に近い正の相関を示した。さらに、生検新鮮標本と手術時摘出パラフィン包埋標本の DI もきわめて近似していることが確認され、したがって術前生検新鮮標本から癌巢の核 DNA 量をほぼ正確に推測しうるものと思われる。

この際問題となるのは、生検では標本採取部位や採取個数が限られるため、生検によって癌巢全体の核 DNA 量の正確な評価が可能かという点である。同一腫瘍内に DNA ploidy pattern の異なった部分が混在して腫瘍が heterogeneity を示すことはよく知られているところであり^{15)~18)}、その頻度は大腸癌で40%¹⁷⁾、

胃癌では33%¹⁸⁾ともいわれる。しかし進行癌では、ある特別なクローンが選択的に増殖能を獲得して、癌の進行とともに優位を占め、次第に安定性を得るとの報告もみられるし¹⁹⁾²⁰⁾、また Quirke ら²¹⁾は、大腸癌の72%では標本の採取部位が異なっても DNA ploidy pattern が一致していることを示した。さらに、腫瘍表層の生検材料とその腫瘍の全層のスライス片の核 DNA 量を30検体について比較した Mayo Clinic からの報告は²²⁾、腫瘍表層からの生検材料によって癌巢全体として優位な DNA ploidy pattern を予測しうることを示している。今回の検討でも、直腸癌の heterogeneity はそれほど高頻度ではなく、たとえ heterogeneity があったとしても生検を数か所の部位から行うことにより、癌巢全体として優位な核 DNA 量を把握しうるものと思われた。事実、石川ら¹¹⁾は生検材料を3個採取することにより、適正な核 DNA 量の評価が可能であることを示している。

従来、核 DNA 量の検討は DNA ploidy pattern によるものが中心であり、一般に大腸癌の aneuploid 出現率は55%から71%と多少の幅をもって報告されている^{23)~25)}。しかしこれらは進行度や深達度の異なる大腸癌を含めたデータであり、今回の検討と同様に ss (a1), s (a2) と組織学的深達度をそろえた場合には67%内外と報告されている²⁶⁾。これまで aneuploid を呈するものは diploid に比べ5年生存率が有意に低いという報告が多いが¹⁾²⁾²³⁾²⁵⁾²⁷⁾、小里ら²⁸⁾は102例を対象とした検討で、全切除症例では aneuploid が diploid よりも生存率が低いものの、絶対治癒切除例に限った場合には両者の生存率には大差はないことを報告している。一方、核 DNA 量解析結果を DI として表した場合、その値が予後と密接に関連し、DI は腫瘍の生物学的悪性度をより詳細に評価する上で有用との指摘が少なくない^{29)~31)}。そこで今回の検討では、直腸癌局所再発と核 DNA 量について主として DI の面から解析を行った。

今日、直腸癌の外科治療成績には確実に向上してきているが、直腸癌根治術後の局所再発率は10~34%と結腸癌に比べて明らかに高率であることが指摘されており³²⁾、直腸癌の予後を左右する大きな因子の1つと考えられる。したがって手術成績をさらに向上させるには局所再発をいかに減じることが重要課題の1つといえよう。一般に局所再発には、①腫瘍摘出時における主病巣の遺残 [ow (+), aw (+), ew (+)], ②転移リンパ節の遺残, ③癌侵襲陽性脈管の遺残 (ly, v)

などの機序が関与するが、その他に細胞学的悪性度の旺盛な癌細胞の周囲組織への小数ながら広範囲の侵襲、あるいはそれらの細胞の吻合部をはじめとする組織への implantation なども関与することも指摘されている³³⁾³⁴⁾。今回細胞学的悪性度を表す指標として DI を選び、DI と局所再発との関連を検討した結果、局所再発例の平均 DI は1.28であり、さらに DI が1.28以上で局所再発を認めなかったのは1例のみと、DI 1.28を境に術後の局所再発のリスクが高まるものと考えられた。このような検討結果から、DI の大きな、生物学的悪性度の高い癌細胞が、手術を契機に遊離・散布・着床したり、脈管へ侵入し、発育して局所再発として発現してくる可能性も推測された。

いずれにせよ DI の高低により局所再発に明らかな差異が認められたことから、DI によって術後の局所再発高リスク症例を把握しうるものと考えられた。さらに、今回の検討から、術前生検材料から得られる DI は手術時摘出標本のホルマリン固定パラフィン包埋材料から得られる DI と一致して、癌病巣の核 DNA 量を正確に反映していることが示され、術前生検材料を用いて核 DNA 解析を行うことにより術前から局所再発高リスク症例を予測しうることも示された。したがって術前生検材料を用いた核 DNA 量解析から得られた結果をもとに、術式や術後の治療に工夫を凝らすことによって、患者の予後の一層の改善が期待できるものと考えられる。

なお本論文の要旨は第37回日本消化器外科学会総会（名古屋、1991）において発表した。

文 献

- 1) Kokal W, Sheibani K, Terz J et al: Tumor DNA content in the prognosis of colorectal carcinoma. *JAMA* 255 : 3123-3127, 1986
- 2) Quirke P, Dixon MF, Clayden AD et al: Prognostic significance of DNA aneuploidy and cell proliferation in rectal adenocarcinomas. *J Pathol* 151 : 285-291, 1987
- 3) Suzuki H, Matsumoto K, Masuda T et al: DNA ploidy of colorectal carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 10 : 176-178, 1988
- 4) 大腸癌研究会編: 臨床・病理. 大腸癌取扱い規約. 改訂第4版, 金原出版, 東京, 1985
- 5) Schutte B, Reyniers MMJ, Bosman FT et al: Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. *Cytometry* 6 : 26-30, 1985
- 6) Vindeløv LL, Christensen IJ, Nissen NI: A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis.

- Cytometry 3 : 323-327, 1983
- 7) 鈴木宏志, 木村 修, 西平哲郎ほか: 癌 DNA 研究会用語検討委員会報告, 癌の臨 37 : 1-3, 1991
 - 8) 木村幸三郎, 中島 厚, 勝又健次ほか: 局所再発予防のための補助療法, 消外 13 : 343-351, 1990
 - 9) Coon JS, Deitch AD, Vere-White RW et al: Interinstitutional variability in DNA flow cytometric analysis of tumors. *Cancer* 61 : 126-130, 1988
 - 10) 佐々木功典: 消化器癌の DNA 解析, 最新医 40 : 85-87, 1985
 - 11) 石川 啓, 田川 泰, 宮川光世ほか: 大腸内視鏡的下生検材料を用いた DNA 定量の基礎的検討, *Gastroenterol Endosc* 30 : 1950-1954, 1988
 - 12) 中村昌弘: Flow cytometry による胃癌細胞核 DNA 量の測定-内視鏡下生検材料を用いて-, *Gastroenterol Endosc* 32 : 11-19, 1990
 - 13) 栗原照昌, 横江隆夫, 石田常博ほか: 穿刺吸引細胞標本および組織標本による乳癌細胞核 DNA 量の比較検討, 日外会誌 91 : 438, 1990
 - 14) 安藤善郎, 君島伊造, 滝田賢一ほか: Flow cytometry による乳癌穿刺吸引細胞標本を用いた核 DNA 量の測定, 日外会誌 92 : 228, 1991
 - 15) Petersen SE, Bichel P, Lorentzen M: Flow-cytometric demonstration of tumor cell subpopulations with different DNA contents in human colorectal carcinoma. *Eur J Cancer* 15 : 383-386, 1978
 - 16) Sasaki K, Hashimoto T, Kawachino K et al: Intratumoral regional differences in DNA ploidy of gastrointestinal carcinomas. *Cancer* 62 : 2569-2575, 1988
 - 17) Hiddemann W, Bassewitz DB, Kleinemeier HJ et al: DNA stemline heterogeneity in colorectal cancer. *Cancer* 58 : 258-263, 1986
 - 18) Aretaxabra X, Yonemura Y, Sugiyama K et al: Gastric cancer heterogeneity. *Cancer* 63 : 791-798, 1989
 - 19) Rognum TO, Thorud E, Elgjo K et al: Large-bowel carcinomas with different ploidy, related to secretory component, IgA and CEA in epithelium and plasma. *Br J Cancer* 45 : 921-934, 1982
 - 20) Rognum TO, Thorud E, Brandtzaeg P: Preservation of cytometric DNA distribution and epithelial marker expression after tumor progression of human large bowel carcinomas. *Cancer* 56 : 1658-1666, 1985
 - 21) Quirke P, Dyson JED, Dixon ME et al: Heterogeneity of colorectal adenocarcinomas evaluated by flow cytometry and histopathology. *Br J Cancer* 51 : 99-106, 1985
 - 22) Scott NA, Grande JP, Weiland LH; Flow cytometry DNA patterns from colorectal cancers—How reproducible are they? *Mayo Clin Proc* 62 : 331-337, 1987
 - 23) Armitage NC, Robins RA, Evans DF et al: The influence of tumor cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. *Br J Surg* 72 : 828-830, 1985
 - 24) Banner BF, Vega JET, Roseman DL et al: Should flow cytometric DNA analysis precede definitive surgery for colon carcinoma? *Ann Surg* 202 : 740-744, 1985
 - 25) Kokal WA, Duda RB, Azumi N et al: Tumor DNA content in primary and metastatic colorectal carcinoma. *Arch Surg* 121 : 1434-1439, 1986
 - 26) 船井貞往, 黒岡一仁, 松田泰次ほか: Flow cytometry による核 DNA 量からみた大腸癌の悪性度に関する検討—DNA ploidy pattern と肝転移の関連性について-, 日外会誌 92 : 127-132, 1991
 - 27) Wolley RC, Schreiber K, Koss LG et al: DNA distribution in human colon carcinomas and its relationship to clinical behavior. *J Natl Cancer Inst* 69 : 15-22, 1982
 - 28) 小里俊幸, 馬場正三, 小沢享史: フローサイトメトリによる大腸癌の 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
 - 29) Kallinoiemi OP, Blanco G, Alavaikko M et al: Improving the prognostic value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA index and S-phase fraction. A proposed classification of DNA histograms in breast cancer. *Cancer* 62 : 2183-2190, 1988
 - 30) Tsushima K, Nagorney DM, Rainwater LM et al: Prognostic significance of nuclear deoxyribonucleic acid ploidy patterns in resected hepatic metastasis from colorectal carcinoma. *Surgery* 102 : 635-643, 1987
 - 31) 小坂健夫, 伊井 徹, 松本 尚ほか: FCM を用いた 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
 - 32) MacDermott FT, Hughes ESR, Phil E et al: Local recurrence after potentially curative resection for rectal cancer in a series of 1008 patients. *Br J Surg* 72 : 34-37, 1985
 - 33) 森 武生, 高橋 孝, 岡部 聡ほか: 再発形式からみた直腸癌手術術式の検討, 消外 13 : 299-304, 1990
 - 34) 沢田俊夫, 武藤徹一郎, 森岡恭彦: 大腸癌の局所再発, 手術 43 : 1689-1697, 1989

A Study on Preoperative Detection of the Risk of Local Recurrence in Rectal Cancer with DNA Analysis of Biopsied Specimens —Collation of DNA Analysis Data on Cases of Local Recurrence—

Toshimasa Yatsuoka, Hidetaka Mochizuki, Kazuo Hase, Masahiko Koike, Eishu Nakamura, Shoetsu Tamakuma, Nariyoshi Shinomiya* and Sumiaki Tsuru*
First Department of Surgery, National Defense Medical College
*Department of Bacteriology, National Defense Medical College

Cellular DNA analysis was performed on curatively resected paraffin-embedded rectal cancer specimens by using flow cytometry. A DNA index (DI) of 1.28 or more was seen in only one (8.3%) of 12 patients without local recurrence, but in 7 (41.2%) of 17 patients with local recurrence ($p < 0.05$). The DI of preoperatively biopsied fresh specimens showed a significant linear correlation with the DI of paraffin-embedded resected specimens. It was concluded that analysis of the cellular DNA content of preoperatively biopsied fresh specimens might be useful for the detection of a high risk of local recurrence.

Reprint requests: Toshimasa Yatsuoka First Department of Surgery, National Defense Medical College
3-2 Namiki, Tokorozawa, 359 JAPAN
