1,2-Dimethylhydrazine 誘発ラット大腸癌増殖 における脾臓摘出の影響

昭和大学医学部外科学教室 (主任: 草野満夫教授)

中 尾 健 太 郎

消化器癌における脾臓摘出 (脾摘) の影響を検討する目的で 1,2-Dimethylhydrazine 誘発実験大腸癌モデルをもちい、病理学的検査, tumor doubling time (Td), DNA ploidy pattern, Proliferating cell nuclear antigen 標識率, Natural killer (以下, NK と略記) 活性から検討した. control 群の Td, 21.9 ± 10.2 日に対し脾摘群では 13.6 ± 4.1 日と有意に短縮し ($p < 0.05$), PCNA 標識率も control 群 $41.4 \pm 7.3\%$, 脾摘群 $52.1 \pm 11.7\%$ と脾摘群で高率であった ($p < 0.01$). また aneuploidy pattern は脾摘群のみにみられた (35%). 病理学的検査では脾摘群で腫瘍径が小さく, 壁深達度の浅い癌が多く認められたが, 有意の差はなかった. NK 活性においては脾摘群で脾摘後 1 週で $16.6 \pm 5.4\%$ と control 群の $37.8 \pm 23.9\%$ と比較して有意な低下がみられたが ($p < 0.05$), 5 週間には control 群との差は認められなくなった. 以上より, 脾摘によりみられた NK 活性の一過性の低下が腫瘍増殖促進に関連する可能性が示唆された.

Key words: 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rat, splenectomy, tumor doubling time, Proliferating cell nuclear antigen labeling index, Natural killer activity

I. はじめに

近年, 消化器癌における脾臓摘出 (以下, 脾摘と略記) の功罪について, 特に胃癌のリンパ節郭清に伴う脾臓の合併切除の影響について検討されている^{1)~8)}. 大腸癌においては術中に脾摘をすることはまれであるが, 欧米では大腸癌に伴う脾摘群と非脾摘群の間の予後に関する報告もみられ⁹⁾¹⁰⁾, また脾摘後に大腸癌が発生したとする報告も見られる⁹⁾. 癌に対する脾摘の検討は移植癌を用いた実験でよくみられるが, 薬物により発癌させた動物を用いて脾摘を行い, 脾摘の効果を検討した報告は少ない^{11)~14)}. そこで, 1,2-Dimethylhydrazine (以下, DMH と略記, 半井化学) によって誘発されたラット実験大腸癌モデルを用い, 脾摘の影響を検討した.

II. 対象および方法

1. 大腸腫瘍の作製と脾摘モデルの作製

対象として 6 週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラット (S-D ラット, 埼玉実験動物) 45 匹を用い, 小動物管理室にて金属性飼育箱に入れ固形飼料 (オリエンタル

酵母工業) および飲料水を自由に与え, 一定の環境下 (室温 $23 \pm 5^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 10\%$) にて飼育した. 発癌物質として DMH を用い, 生理食塩水に溶解し 40mg/kg を週 1 回連続 10 週, 臀部皮下に注射した. 皮下注射開始後 22 週目までに死亡したり, 体重の増加がみられなかったものをのぞいて 30 匹に注腸 X 線検査を行った. さらに腫瘍を確認できたものから腫瘍数, 腫瘍径をそろえ 2 群にわけ, 脾摘群 (13 匹) と対照群 (13 匹) を作製した. 脾摘術はエーテル麻酔下に左季肋部で開腹, 脾臓を摘出し, 血管は 4-0 パイクリル糸で結紮した後閉腹した. これを脾摘群 (以下, Sp 群と略記) とした. 同時に対照群として, 開腹し脾臓を腹壁外に引きだしただけの sham 手術を行い control 群 (以下, C 群と略記) とした (Fig. 1).

2. 注腸 X 線検査

角田ら¹⁵⁾の方法に従って, 皮下注射開始後 22 週目, 27 週目に注腸 X 線検査を施行した. 前処置は検査前 48 時間絶食とし検査 24 時間前に, 37°C , $40\% \text{W/V}$ のグリセリン液 5ml で腸洗浄をおこなった. エーテル麻酔下に肛門より Fr. 12 号のバルーンカテーテルを挿入し, 通常 $3 \sim 5\text{ml}$ のバリウム製剤 (60% バレックスモルト S-100, 東邦化学) と $20 \sim 25\text{ml}$ の空気を注入し二重造影を

<1994年10月12日受理> 別刷請求先: 中尾健太郎

〒142 品川区旗の台 1-5-8 昭和大学医学部外科学教室

Fig. 1 Experimental protocol.

行った。撮影条件は74kVp, 200mA, 5m second (density-2, bright-1) であり透視による拡大率は1.09である。

3. Tumor doubling time

注腸 X 線検査で腫瘍の正面像と側面像を撮影し、長径、短径、高さ (mm) をノギスで測定し、拡大率1.09で除して得られた補正値を腫瘍が楕円体であることを前提として次式より体積を算出した (Fig. 2)。

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = \text{長径} \times \text{短径} \times \text{高さ} \times \pi / 6$$

Tumor doubling time は角田ら¹⁵⁾、保田¹⁶⁾らと同様に Collins ら¹⁷⁾の方法に従って次式により算出した。

$$Td = t \ln 2 / (\ln V_t - \ln V_o)$$

Td: tumor doubling time

t: 注腸検査の間隔 (日)

Vt: 注腸検査上での体積

Vo: 前回注腸検査時の体積

4. 病理学的検討

2 回目の注腸 X 線検査後、犠牲死させ肉眼的に腫瘍径、数を観察し、また組織学的に組織像、深達度を検討した。このときの腫瘍の肉眼的計測と27週時の注腸

上の計測では腫瘍はほぼ同じ大きさであった。

5. DNA 量の測定

注腸検査で確認することのできた腫瘍を、Toriton X (SIGMA) の中で眼科用ハサミを用いて mincing を行い40 μ メッシュでろ過後、FACScan (Becton Dickinson 社) にて観察した。

G₀/G₁ peak が単一で DNA index (D.I) が0.9<D.I<1.1の範囲のものを DNA diploidy, G₀/G₁ peak 以外に少なくとも1つ以上の異なった G₀/G₁ peak を有し、D.I $\leq$ 0.9, D.I $\geq$ 1.1のものを DNA aneuploidy と定義した。

6. Proliferating cell nuclear antigen (増殖細胞核抗原: 以下、PCNA と略記) 標識率

注腸検査で tumor doubling time を算出した腫瘍について検討した。70%エタノールで固定した組織に対しストレプトアビジン-ビオチン (SAB) 法で抗 PCNA 抗体 (Oncogene Science) を反応させ、3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (SIGMA) で発色させ、光学顕微鏡 (×400) で原則として1,000個以上の核を数えた。これに対する PCNA 陽性核の割合を百分率で示したものを PCNA 標識率とした。

7. Natural killer (以下、NK と略記) 活性の測定

脾摘術、sham 手術の1週間前に無作為に選出した10匹のラット尾静脈より無菌的に採血し、NK 活性を測定し、これを術前値とした。さらに術後1週目、術後5週目に術前値に使ったラットを C 群と Sp 群にわけ5匹ずつ同様に NK 活性を測定した。また、術後5週に犠牲死させたときの大腸所属リンパ節リンパ球の NK 活性も測定した。リンパ節リンパ球はリンパ節を#

Fig. 2 A representative tumor shown from frontal and lateral projections. a, b, and c are diameters of an ellipsoid tumor.

100ステンレスメッシュを通し採取した。末梢血は RPMI-1640培養液にて倍量希釈し、Lymphoprep (Nycomed)に重層、比重遠心法により単核球を分離した。2回洗浄した後、 2×10^6 個/mlに調整しエフェクター細胞とした。YAC-1細胞(中外製薬提供)を培養液で2回洗浄し、 ^{51}Cr (NEN, NEZ-030S, specific activity 527.45mCi/mg)を $50\mu\text{Ci}$ を加え 37°C で60分間培養しラベリングした後、 1×10^6 個/mlに調整し標的細胞とした。調節したエフェクター細胞と標的細胞を20:1の割合いで96穴マイクロプレート(Nunc)に分注し炭酸ガス培養器で 37°C , 8時間反応させた。その後、上澄 $100\mu\text{l}$ をとり γ -カウンター(オートガンマー5000, Packard)で測定し次の式より算出しNK活性とした。

%release =

$$\frac{\text{E.L. (cpm)} - \text{S.L. (cpm)}}{\text{T.L. (cpm)}} \times 2.2 \times 100$$

E.L.: Experimental release. エフェクター細胞を用い培養したときの上澄を測定した値。

S.L.: Spontaneous release. エフェクター細胞の代わりに RPMI-1640を用い培養したときの上澄を測定した値。

T.L.: Total release. 標的細胞のみを測定した値。

2.2: 補正值

なお統計学的検定には Wilcoxon 検定を用い両群の検定には χ^2 検定を用いた。

III. 結 果

27週までにC群, Sp群でおのおの2匹ずつ死亡した。残り11匹ずつの注腸X線検査で観察しえた腫瘍数はC群で20個, Sp群で22個であった。

1. Tumor doubling time

算出した tumor doubling time はC群(20個)で 21.9 ± 10.2 日(mean $\pm$ SD)日, Sp群(22個)で 13.6 ± 4.1 日であり, 有意にSp群で短かった($p < 0.05$) (Table 1, Fig. 3, 4)。

2. 病理検査

犠牲死時に肉眼的に確認しえた腫瘍数はC群で57個, Sp群で62個, 1匹あたりではおのおの 5.2 ± 3.7 個, 5.6 ± 4.2 個であり有意な差はみられなかった。腫瘍の長径別にみるとC群では長径(以下, Dと略記) $\leq 5\text{mm}$ が29個(50.9%), $5\text{mm} < D \leq 10\text{mm}$ が21個(36.8%), $10\text{mm} < D$ が7個(12.3%), Sp群ではおのおの35個

Table 1 Comparison of tumor doubling time, PCNA labeling index and aneuploidy pattern in DNA. (Control vs splenectomy)

	Tumor doubling time mean $\pm$ SD (day)	PCNA L.I. mean $\pm$ SD (%)	aneuploidy
Control	21.9 ± 10.2 *	41.4 ± 7.3 **	0 (0%)
Splenectomy	13.6 ± 4.1	52.1 ± 11.7	7 (35%)

* $p < 0.05$
** $p < 0.01$

Fig. 3 Radiogram of the same tumor before (22weeks) and after (27weeks) sham operation in the Control group.

Fig. 4 Radiogram of the same tumor before (22weeks) and after (27weeks) splenectomy (Splenectomy group).

Table 2 Comparison of tumor diameters, histological type and depth of invasion. (Control vs splenectomy)

(56.5%), 22個 (35.5%), 5個 (8.0%) であった。C群にくらべSp群で5mm以下の腫瘍が多い傾向がみられたが、有意の差は認められなかった (Table 2)。

病理組織学的にはC群では高分化腺癌47個 (82.5%), 中分化腺癌5個 (8.8%), 粘液癌2個 (3.5%), 印環細胞癌1個 (1.7%), Sp群ではおのおの53個 (85.5%), 4個 (6.5%), 1個 (1.6%), 4個 (6.5%) であった (Table 2)。低分化腺癌はC群のみに2個 (3.5%) みられた。深達度別にみるとC群ではm, sm 35個 (61.4%), mp以深が22個 (38.6%), Sp群ではm, sm 46個 (74.2%), mp以深が16個 (25.8%) であ

た (Table 2)。組織型には差はなく、深達度ではSp群でやや深達度の浅い癌が多く認められたが有意な差は認められなかった。

3. DNA量の測定

C群ではaneuploidyはみられず (18個中0個), Sp群の35% (20個中7個) にaneuploidy patternがみられた。Sp群のaneuploidy patternのうち6個が高分化腺癌, 1個が中分化腺癌であった (Table 1, Fig. 5)。

4. PCNA標識率

C群のPCNA標識率は $41.4 \pm 7.3\%$ であったのに対

Fig. 5 DNA ploidy pattern.

a: diploidy pattern, (CV=2.2). b: aneuploidy pattern, (CV=4.3, D.I.=1.1)

し Sp 群では $52.1 \pm 11.7\%$ であり, Sp 群において有意に高率であった ($p < 0.01$) (Table 1, Fig. 6).

5. NK 活性

術前値の NK 活性は $43.3 \pm 19.2\%$ であったが, 術後 1 週の C 群の $37.8 \pm 23.9\%$ に対して, Sp 群では $16.6 \pm 5.4\%$ と著明に低下し, 有意の差を認めた ($p < 0.05$). 術後 5 週では C 群は $20.5 \pm 16.0\%$, Sp 群で $25.1 \pm 20.0\%$, と Sp 群で回復傾向がみられたが, C 群では低下傾向がみられた (Fig. 7). また所属リンパ節の NK 活性は C 群で $2.35 \pm 2.7\%$, Sp 群で $4.75 \pm 1.8\%$ であり, 有意の差は認めなかった.

IV. 考 察

近年消化器癌に対する脾摘の功罪が論議され, 予防的脾合併切除は避けるべきである^{1)~3)}という意見と脾が免疫抑制に関与しているため脾摘を支持するという意見^{4)~8)}が相反している.

消化器癌における脾摘の影響に関する実験としては移植腫瘍を使った実験が多く, 薬物を投与し誘発した自家癌による脾摘の影響をみたものは少ない. Hull は 6 週齢の SD ラットを用い脾摘群と非脾摘群にそれぞれ DMH を皮下注射し発癌の違いを見ているが, 脾摘後後期 (26~30 週) に犠牲死させた群では脾摘群により多くの adenocarcinoma が発生したと報告¹¹⁾¹²⁾しており, 鎌野ら¹³⁾も同様の実験を行い脾摘群で腫瘍数の増加を認めている. このように従来, 脾摘の影響につい

Fig. 6 PCNA labeling index ($\times 200$).

a: Control (34.1%). b: Splenectomy (58.8%)

Fig. 7 Transition of NK activity. NK activity was significantly lower in the splenectomy group than in the control group at one week after surgery.

での検討は犠牲死させた後の腫瘍数、腫瘍径、病理組織学的検討を行ってきただけにすぎない。そこで筆者は肉眼的に経時的腫瘍増大の変化の差をとらえるために2度の注腸検査を行い、腫瘍倍加速度を検討した。その結果、コントロール群の腫瘍倍加速度は 21.2 ± 10.2 日であり、角田ら¹⁵⁾の平均 20 ± 5 日と差はなかったが、脾摘群で 13.6 ± 4.1 日と有意に短縮を認めた。このことは脾摘により実験大腸癌の増殖促進作用が起ったと推察させる。

病理学検討では脾摘群で腫瘍径が小さく壁深達度の浅い腫瘍が多い傾向が見られた。亀井ら¹⁸⁾はWistar系ラットにENNGを投与し胃癌を作成した実験系で、ENNG投与中に脾摘を行うと発癌率は高いが平均腫瘍径の小さな浅い癌を多く認めたと報告し、脾摘が発癌に促進的に作用したのではないかと考察している。本実験においても同様に脾摘により新たな癌が発生したと思われる。

核DNA量の測定とPCNAの標識率の測定から細胞レベルの増殖能を検討した。DNA histogram patternの解析は各種癌の悪性度の判定として検討が行われている。またPCNAはDNAポリメラーゼ δ の補助因子として機能している非ヒストン核内蛋白質で細胞増殖と密接な関係があり、 G_1 後期からS期にかけて細胞内に蓄積するとされており¹⁹⁾²⁰⁾、そのためPCNA標識率は腫瘍組織の増殖能を示すことから腫瘍の悪性度と相関するといわれている²¹⁾²²⁾。今回の実験では脾摘群のみにaneuploidが認められ、PCNA標識率では脾摘群のほうが高率であったが、Hullら¹²⁾が

脾摘後DNA量が増加したと報告していることなどから、脾摘によって腫瘍増殖の促進がおり、さらにDNA合成が亢進するものと思われた。今回の実験からPCNA標識率による細胞レベルでの増殖能と注腸検査による肉眼的増殖の相関をえられたと思われた。

脾摘の時期の検討では、山岸ら^{23)~25)}は脾摘の免疫学的意義について C_3H/He マウスにメチルコラントレインによって誘発した肉腫細胞を皮内に移植したモデルで、担癌早期と晩期において脾摘は腫瘍増殖を抑制し中期に関しては増殖に影響を与えなかったと報告している。この現象は担癌早期と晩期の脾内には免疫学的に負の要素すなわち腫瘍非特異的なtumor enhancing macrophageが存在したが、担癌中期の脾臓内には腫瘍特異的なCytotoxic T細胞が優位に存在するためと説明している。また三輪ら⁵⁾²⁶⁾は C_3H/He マウスにMH-134細胞を移植した系で移植後3日目、21日目に脾摘したものは腫瘍増殖に抑制的に働き、14日目に脾摘したマウスでは促進的に働いたとし、さらに14日目の脾摘群が短命であったことから、担癌時期により脾が相反する2面性を有していると報告している。

今回の脾摘時期については注腸検査でとらえる最も初期の段階で行ったがこれは発癌剤を投与した後であり、さらに脾摘時に癌性腹膜炎や転移のないことを確認していることから、担癌中期に相当するものと思われた。

移植腫瘍量の違いによる脾の反応の違いについての神代ら²⁷⁾の実験では、メチルコラントレイン誘発肉腫の移植細胞数をかえてBulb/cマウスの皮下に注入したところ、大量移植(1×10^7 cells)した場合は脾臓において免疫抑制因子が産生されるため摘脾したほうが脾温存に比べ腫瘍径が小さいのに対し、少量移植(1×10^5 cells)の場合は脾温存のほうが移植腫瘍に対する生着率が低かったとしている。このことから腫瘍量からも脾臓の二相性が論じられている。

臨床例では三輪ら⁵⁾は胃癌症例に対しstage IIIでは脾臓は免疫活性が亢進しているので脾温存がよく、stage IVでは脾臓は免疫抑制状態にあるため脾摘したほうがよいと報告している。このことはstageが進行するにつれ腫瘍が増大すると考えられることより、前述した腫瘍量が増えれば脾摘により腫瘍の生着率が低いという考え方を指示するものと思われる。また折田ら⁴⁾は胃癌のstage IIIの脾摘は予後不良でありstage IVでは延命効果を示したとしているのに対し、峠ら²⁸⁾は全体で脾摘群、特にstage III・IVでも脾摘群

で予後がよいと報告している。胃癌における stage III・IV 症例では脾門部リンパ節の郭清の問題もあり一定していないように思える。これに対して大腸癌の臨床例では Davis ら⁹⁾は脾摘群と control 群との 5 年生存率を Astler-Coller staging system を用い比較し、いずれの stage でも脾摘群のほうが予後が不良であったとしている。また Varty ら¹⁰⁾も脾摘群と control 群で 5 年生存率の比較をしているが脾摘群において予後不良であったと報告している。大腸癌に関しては二相性は認められず臨床例におけるどの stage でも脾摘のほうが予後が悪いようである。

Hull が 6 週齢で脾摘を行い、著者が 28 週齢で脾摘を行ったがともに発癌および腫瘍増殖促進作用がみられ、臨床例でも stage にかかわらず予後が悪いことから、大腸癌では脾摘の時期にかかわらず脾摘に腫瘍増殖促進作用がある可能性が示唆された。

本実験によっても肉眼的組織学的に脾摘群で腫瘍増殖促進作用が認められたが、この原因として脾摘による抗体産生の低下、血清 IgM 値の低下、tuftsin の活性低下、opsonin の活性低下、NK 活性の低下などが考えられる²⁹⁾。NK 活性は腫瘍免疫に関与することが知られており、腫瘍の進行に伴い NK 活性は低下するとされている³⁰⁾³¹⁾。本実験において経時的に測定した NK 活性では control 群で腫瘍の増殖に伴い漸減したのに対して脾摘群では術後 1 週で有意に低下を示したが、その後回復傾向がみられ、5 週目では control 群と有意な差を認めなくなった。坂本ら¹⁴⁾は Wistar 系ラットを用い脾摘し、NK 活性を術前、術後 1 週、2 週、4 週に計測しているが、本実験結果と同様に術後 1 週目で NK 活性の低下がみられ、2 週より回復していると報告している。さらに NK 活性の低下する要因として手術後 PGE₂ や α_1 -antitrypsin など血清因子、tuftsin の低下などもあげられる³²⁾。

以上より脾摘によりみられた NK 活性の低下が腫瘍増殖促進に関連する可能性が示唆された。

稿が終わるにあたり、御指導、御校閲を賜った草野満夫教授、また直接御指導、御教示を頂いた澁澤三喜助教授、ならびに角田明良博士、角田ゆう子博士、保田尚邦博士に深謝いたします。さらに限らない御援助頂きました昭和大学医学部第 1 生化学教室の竹田 稔教授、坂上 宏講師、昭和大学医学部外科学教室研究室の技術員の皆様に厚く御礼申し上げます。本研究に御協力してくださった中外製薬株式会社、塩野義製薬株式会社に深甚なる謝意を表します。

なお、本論文の要旨は第 43 回日本消化器外科学会総会(東

京) プレナリーセッション、第 44 回日本消化器外科学会総会(富山) 一般演題(口演) で発表した。

文 献

- 1) Sugimachi K, Kodama Y, Kumashiro R et al: Critical evaluation of prophylactic splenectomy in total gastrectomy for the stomach cancer. *Gann* 71: 704—709, 1980
- 2) 吉野肇一, 春山克郎, 中村修三ほか: 生存率からみた脾摘の意義—胃癌手術における脾摘の意義と問題点—. *日消外会誌* 12: 944—949, 1979
- 3) 井口 潔: 脾摘の癌治療における意義についての考察. *Oncologia* 4: 161—164, 1983
- 4) Orita K, Konaga E, Okada T et al: Effect of splenectomy in tumor-bearing mice and gastric cancer patients. *Gann* 68: 731—736, 1977
- 5) 三輪恕昭, 小島啓明, 小林 努ほか: 癌治療における脾摘の腫瘍免疫学的意義. *日外会誌* 84: 970—973, 1983
- 6) 峠 哲哉, 浜本貞徳, 坂垣衛治ほか: 脾におけるサプレッサー細胞の動態とがん治療における脾摘の意義. *日外会誌* 84: 961—964, 1983
- 7) 金山博友, 小田正之, 狩野卓夫ほか: 胃癌手術における脾摘の免疫学的検討。—脾における免疫抑制因子を中心として—. *日外会誌* 84: 952—956, 1983
- 8) Kurosu Y, Fukamachi S, Honda T et al: Effect of spleen-derived cells on autochthonous peripheral blood lymphocyte responses to mitogens in gastric cancer patients. *Gann* 73: 805—810, 1982
- 9) Davis CJ, Ilstrup DM, Pemberton JH: Influence of splenectomy on survival rate of patients with colorectal cancer. *Am J Surg* 155: 173—179, 1988
- 10) Varty PP, Linehan IP, Boulos PB et al: Dose concurrent splenectomy at colorectal cancer resection influence survival? *Dis Colon Rectum* 36: 602—606, 1993
- 11) Hull CC, Stellato TH, Galloway PG et al: Splenectomy and the induction of cancer of the colon in rats. *Curr Surg* 45: 12—15, 1988
- 12) Hull CC, Galloway P, Gordon N et al: Splenectomy and the induction of murine colon cancer. *Arch Surg* 123: 462—464, 1988
- 13) 鎌野俊紀, 三上陽史, 岩瀬博之ほか: 1,2-dimethylhydrazine (DMH) 誘発大腸癌に対する脾臓摘出術(脾摘)の影響—生体アミンの面から検討—. *日消外会誌* 26: 969—969, 1993
- 14) 坂本孝作, 中野眼一, 原沢信雄ほか: 脾摘術の NK 活性抑制に対する OK-432 の効果. *北関東医* 35: 225—232, 1985

- 15) 角田明良, 渋谷三喜, 滝本雅文: ラットを用いた DMH 誘発実験大腸癌の増殖速度. 日外会誌 91: 581—587, 1990
- 16) 保田尚邦: 注腸 X 線検査からみたラット実験大腸癌モデルに対する OK-432 経口投与の腫瘍増殖抑制効果について. 日本大腸肛門病会誌 46: 169—174, 1993
- 17) Collins VP, Loeffler RK, Tivey H: Observations on growth rates of human tumor. Am J Roentgenol 76: 988—1000, 1956
- 18) 亀井茂男, 関川敬義, 小河原忠彦ほか: 脾摘の時期による実験胃癌発生率の検討. 消癌の発生と進展 4: 303—307, 1992
- 19) Bravo R, Frank R, Blundell PA et al: PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase- δ . Nature 326: 515—517, 1987
- 20) 松野吉宏, 向井 清: 増殖細胞核抗原 (PCNA), 病理と癌 9: 879—883, 1991
- 21) 西村和彦, 細川洋平, 藤本莊太郎ほか: PCNA 免疫組織化学によるヒト大腸腫瘍の進展に伴う細胞増殖と増殖の場の変化の検討. 日消病会誌 90: 647—654, 1993
- 22) Robbins BA, Vega D, Ogata K et al: Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. Arch Pathol Lab Med 111: 841—845, 1987
- 23) Yamagishi H, Pellis NR, Kahan BD: Surgical immunodepression: Role of splenic suppressor cells. Surg Forum 29: 465—468, 1978
- 24) Yamagishi H, Pellis NR, Kahan BD: Effect of splenectomy upon tumor growth: Characterization of splenic tumor-enhancing cells in vivo. Surgery 87: 655—661, 1980
- 25) 山岸久一, 内藤和世, 前田米造ほか: 摘脾の免疫学的意義に関する検討. 日外会誌 84: 987—991, 1983
- 26) 三輪恕昭, 折田薫三: 癌治療における摘脾. 一とくに胃癌手術時の合併摘脾について. 臨と研 60: 2913—2921, 1983
- 27) 神代龍之介, 杉町圭蔵, 白石守男ほか: 脾摘術の癌宿主抵抗性に及ぼす影響—とくにその相反効果について—. 日外会誌 84: 978—981, 1983
- 28) 峠 哲哉, 世戸芳博, 柳川悦朗ほか: 胃がん患者における脾合併切除の意義. 消外 9: 1887—1894, 1986
- 29) 渡辺 章: 脾摘および脾摘後自家移植マウスにおける細胞性免疫反応に関する検討. 日医大誌 52: 306—314, 1985
- 30) 松永勇人, 桑原由孝, 楠神和男ほか: 大腸癌患者における免疫応答能—末梢血の NK 活性・LAK 活性および INF- γ 産生能の検討—. 消と免疫 20: 244—247, 1988
- 31) Takasugi M, Ramseyer A, Takasugi J: Deline of natural nonselective cell-mediated cytotoxicity in patients with tumor progression. Cancer Res 37: 413—418, 1977
- 32) 本田亮一, 小林一雄, 加瀬 肇ほか: 胃癌手術における摘脾の免疫学的影響. 日消外会誌 22: 2606—2614, 1989

Effect of Splenectomy in 1,2-dimethylhydrazine-induced Colon Cancer in Rats

Kentaro Nakao

Department of Surgery, Showa University School of Medicine
(Director: Prof. Mitsuo Kusano)

The effect of splenectomy on dimethylhydrazine (DMH)-induced colon cancer in rats was studied. Tumor doubling time in the splenectomy group was significantly shorter than that in the control group. The PCNA labeling index was significantly higher in the splenectomy group than in the control group. In the analysis of DNA ploidy pattern of tumor, aneuploidy appeared only in the splenectomy group. At autopsy, the incidence of early cancer in the splenectomy group was more frequent than that in the control group, although the difference was not significant. NK activity in the blood was significantly lower one week after surgery in the splenectomy group than in the control group. On the basis of these results, splenectomy may act to promote tumor growth in DMH-induced colon carcinogenesis.

Reprint requests: Kentaro Nakao Department of Surgery, Showa University School of Medicine
1-5-8 Hatanodai, Shinagawa, Tokyo, 142 JAPAN