

増殖細胞核抗原（PCNA）免疫染色による胃癌細胞増殖能の検討

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード: gastric carcinoma, immunohistochemical staining, elderly and young persons, proliferating cell nuclear antigen, PCNA 作成者: 高, 長, 中西, 功夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8358

増殖細胞核抗原 (PCNA) 免疫染色による 胃癌細胞増殖能の検討

金沢大学医学部病理学第一講座 (主任: 中西功夫教授)

高 長
中 西 功 夫

(平成3年9月24日受付)

39才以下の若年者胃癌15症例と70才以上の老年者胃癌15症例の胃癌細胞増殖能を, 増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織学的染色法で検定し, 特に, 年齢, 組織型との相関について検討した. 癌細胞の PCNA 陽性率は若年者群, 粘膜固有層では $28.90 \pm 22.59\%$, 粘膜下層では $23.40 \pm 24.08\%$, 老年者群のそれは $28.32 \pm 15.48\%$, $26.02 \pm 14.71\%$ であり, 有意差はなかった. 組織型で比較検討すると, 若年者群の印環細胞型胃癌は他の型の胃癌に比べ有意に PCNA 陽性率が低値であった. 粘膜下層における PCNA 陽性率は粘膜固有層におけるそれよりも低値の傾向が, また, 分化型管状腺癌や乳頭腺癌が低分化腺癌に比べ高値の傾向があったが, それぞれの変異係数が大きく有意差はなかった. このことは癌細胞が不規則, 不均等な増殖をすることを示しているものと考えられる.

Key words gastric carcinoma, immunohistochemical staining, elderly and young persons, proliferating cell nuclear antigen, PCNA

日本における死因の第一位は, 昭和56年以来, 悪性新生物 (がん) であり, このうち胃癌は男25.4%, 女22.5%と第一の割合を占めている¹⁾. 胃癌の予後は病期に最も左右されていることは周知の事実であるが, 癌細胞の増殖能, 血管浸潤能などの細胞生物学的性質も癌も進展に深くかかわっているものと推定される.

近年, 組織切片上で細胞増殖能を検討する方法として [³H]-thymidine や bromodeoxyuridine (BrdU) で標識し, S 期細胞を同定する方法に加えて, Ki-67, 増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA), DNA ポリメラーゼ α など核分裂に深く関与する抗原を, そのモノクローナル抗体を用いて検出することが可能となってきた²⁾. 特にホルマリン固定, パラフィン切片で染色可能な抗 PCNA 抗体を用いる方法は^{3,4)}, 蓄積された外科の手術材料を用いて細胞増殖能を評価しうる極めて有用な手段を提供している.

そこで本研究では, 最近市販されたクローン PC10 (抗 PCNA モノクローナル抗体) を用いて老年者と若年者の胃癌につき, 胃癌細胞の PCNA 陽性率を検定し, 年齢や組織型との関連を検討した.

対象および方法

材料は, 金沢大学医学部第一病理学教室検査部で取扱った外科手術胃癌症例30例である.

39才以下の若年者胃癌15例は1982年3月から1990年8月まで, また, 70才以上の老年者胃癌15例は1989年2月から1991年5月までの間に検索された症例の中から後述の PCNA 免疫染色性の良好な例を選んで用いた. 30症例の臨床病理学的事項については胃癌取扱い規約⁵⁾に準じて記載, 分類し, 表1に示した. 各症例の代表パラフィン切片につき hematoxylin・eosin (H・E) 染色, periodic acid Schiff (PAS)-アルシヤンブルー

Abbreviations: BrdU, bromodeoxyuridine; DAB, diaminobenzidine; H・E, hematoxylin・eosin; muc, mucinous adenocarcinoma; pap, papillary adenocarcinoma; PAS, periodic acid Schiff; PCNA, proliferating cell nuclear antigen; por, poorly differentiated tubular adenocarcinoma;

Table 1. Clinicopathological features and PCNA labelling of all cases examined in the present study

Case No.	Age (yr)	Sex	Gross appearance	Histological subtypes	Depth of invasion	Condition of stroma	PCNA labelling index		
							m	sm	
The young group									
Normal foveolar ducts							36.60		
1.	29	M	Bor II	tub ₂	se	i	60.71	48.00	
2.	34	M	Bor IV	por	ss	s	7.57	22.08	
3.	32	F	Bor III	por	ss	s		14.29	
4.	33	M	II c + II b	sig	m		15.89		
5.	39	F	Bor II	muc	ss	i		3.10	
6.	32	F	II c	sig	m		2.33		
7.	39	M	II b	sig	m		1.83		
8.	35	F	Bor II	por	pm	s	53.10	46.49	
9.	37	M	II b	tub ₁	m		64.15		
10.	38	M	Bor III	por	se	s	34.18	8.14	
11.	36	M	Bor III	por	ss	s	22.01	16.67	
12.	37	M	Bor III	sig	ss		1.74	1.18	
13.	26	M	II c	por	m		22.08		
14.	39	F	Bor II	por	pm	s	31.88	30.34	
15.	24	F	Bor III	por	ss	s	58.29	43.80	
							mean	28.90	23.40
							SD	±22.59	±24.08
The elderly group									
Normal foveolar ducts							37.35		
1.	72	M	II a	tub ₂	sm	m	36.22	19.38	
2.	76	F	Bor IV	muc	se	i	23.48	44.85	
3.	76	F	Bor III	pap	si	m	29.09	51.86	
4.	80	F	II a + II c	tub ₁	m		42.69		
5.	70	F	I	pap	sm	m	55.74	42.03	
6.	77	F	Bor II	muc	ss	i	22.53	13.46	
7.	71	M	II c	tub ₁	m		24.52		
8.	71	M	Bor III	tub ₂	se	i	23.45	3.77	
9.	78	F	Bor III	pap	ss	m		29.56	
10.	75	M	II c	tub ₂	m		54.31		
11.	75	M	II c	tub ₁	m		4.67		
12.	92	M	II c	por	sm	m	29.39	29.09	
13.	79	M	Bor II	tub ₁	pm	i	20.26	21.59	
14.	73	M	Bor III	por	ss	s	1.85	23.60	
15.	73	M	Bor III	por	se	i		7.07	
							mean	28.32	26.02
							SD	±15.48	±14.71

PCNA, proliferating cell nuclear antigen; yr, year; m, tunica mucosa; sm, tela submucosa; M, male; F, female; Bor, Borrmann's type; II a, superficial-elevated type; II b, superficial-flat type; II c, superficial-depressed type; tub, tubular adenocarcinoma; por, poorly differentiated adenocarcinoma; sig, signet-ring cell carcinoma; muc, mucinous adenocarcinoma; pm, tunica muscularis propria; ss, tela subserosa; se, serosa exposed; si, tunica serosa infiltrating; s, scirrhous type; i, intermediate type; m, medullary type.

sig, signet-ring cell carcinoma; SLE, systemic lupus erythematosus; tub₁, tubular adenocarcinoma, well differentiated; tub₂, tubular adenocarcinoma, moderately differentiated

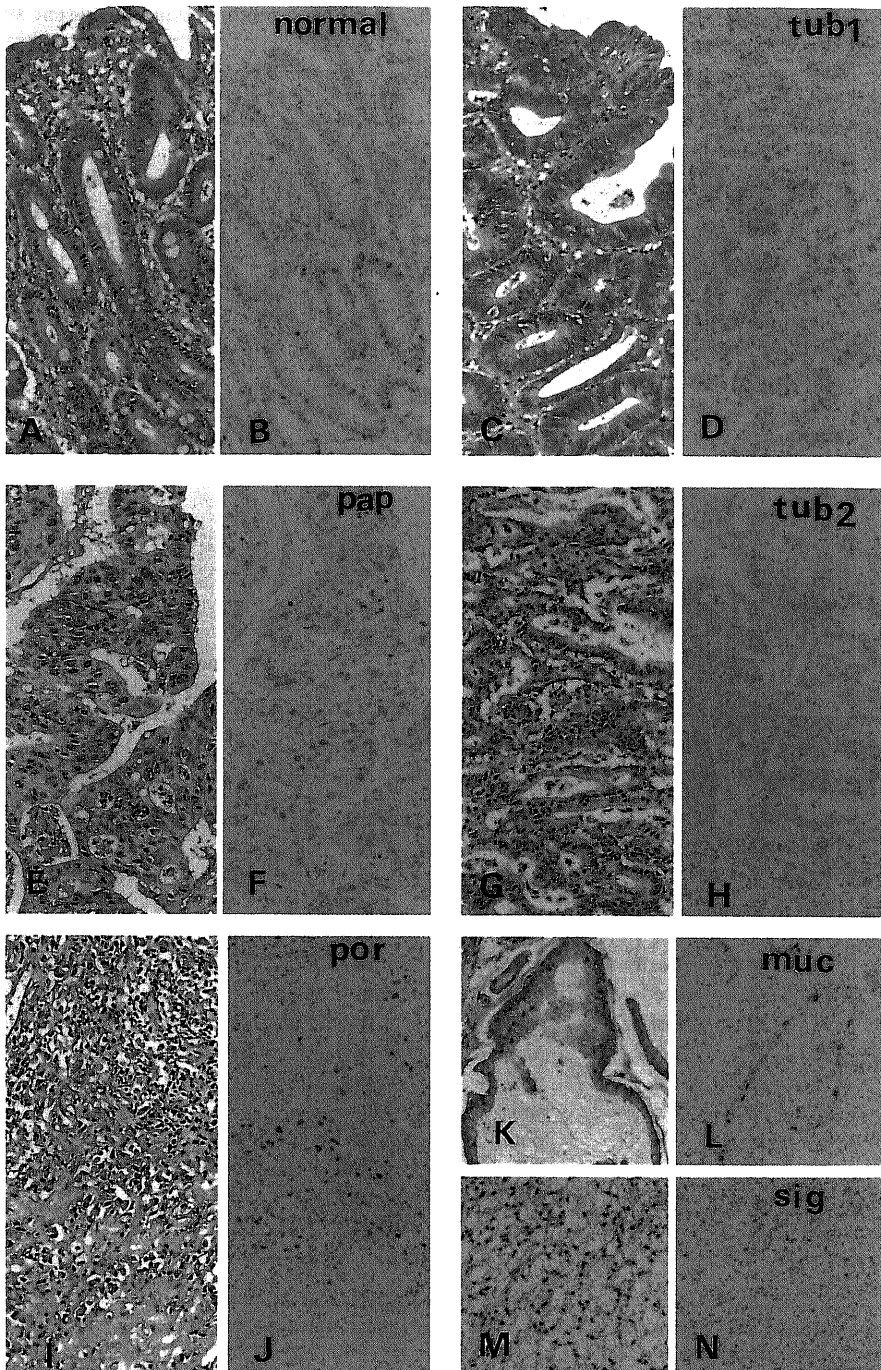


Fig.1. Representative pictures of H-E stained and PCNA-immunostained prepares in normal mucosa (A and B), well differentiated tubular adenocarcinoma (C and D, Case 4 in elderly group), papillary adenocarcinoma (E and F, Case 9 in elderly group), moderately differentiated adenocarcinoma (G and H, Case 1 in elderly group), poorly differentiated adenocarcinoma (I and J, Case 8 in young group), mucinous adenocarcinoma (K and L, Case 2 in elderly group) and signet ring cell carcinoma (M and N, Case 12 in young group). $\times 100$

(pH2.5) 染色と、以下の PCNA 免疫染色を施行した。

PCNA 免疫染色：脱パラフィン切片につき0.1%アザイドと0.3%過酸化水素水で非特異的反応を阻害した。次に、抗 PCNA モノクローナル抗体 (PC10, マウス IgG, Dakopotts, Denmark, より購入) を500倍に希釈した一次抗体に冷室、一晚浸漬した。二次抗体はビオチン化抗マウス IgG (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) を400倍に希釈して使い、30分間、ついで streptavidin-biotin peroxidase complex に30分浸漬後 diaminobenzidine (DAB) で発色させた。核染色はメチルグリーンを用いた。PCNA 免疫染色性の良否は、胃粘膜腺頸部上皮細胞核またはリンパ濾胞の明中心芽細胞が同一切片において強陽性を示す場合を、染色良好症例と判定した。各症例の代表切片につき粘膜固有層と粘膜下層の明らかな浸潤部位でそれぞれ明瞭な組織型を呈する領域を選んで癌細胞の PCNA 陽性率を算定した。算定にあたっては一定領域の癌細胞集団の PCNA 陽性細胞を少なくとも100個、または、特に陽性細胞が少ない場合には PCNA 陰性癌細胞を含め100個以上数えてその陽性率を算定した。各群間の有意差の検定には Student t 検定を用いた。

なお、代表切片に適当な組織型をとる腫瘍細胞群が

見当たらない場合、例えば、潰瘍底とか粘膜固有層で組織像が大きく修飾されている場合には PCNA 陽性率を算定しなかった。

成 績

本研究で用いられた30症例の臨床病理学的事項、ならびに PCNA 陽性率、若年者胃癌群と老年者胃癌群における平均値と標準偏差は表1に示す通りである。両群間に有意差はなかった。表1に示すように正常粘膜の腺窩上皮の PCNA 陽性率は若年者群で36.60%、老年者群で37.35%であった。PCNA 陽性細胞は正常粘膜でみると図1 A-B に示すように、腺頸部増殖帯にほぼ局限していた。しかし、表層細胞に近い腺窩上皮にも弱陽性を示す細胞が認められた。

代表的組織における PCNA の免疫染色と H-E 染色像を対比し、図1, C-D に高分化型管状腺癌 (tubular adenocarcinoma, well differentiated, tub1) (老年者群, 症例4), E-F に乳頭腺癌 (papillary adenocarcinoma, pap) (老年者群, 症例9), G-H に中分化型管状腺癌 (tubular adenocarcinoma, moderately differentiated, tub2) (老年者群, 症例1), I-J に低分化腺癌 (poorly differentiated tubular adenocarcinoma, por) (若年者

Table 2. Correlation between histological subtypes and PCNA labelling in gastric carcinoma

Histological subtypes	PCNA	
	Mucosa propria mean±SD (n)	Submucosa mean±SD (n)
The young group		
tub ₁ +tub ₂	62.43± 1.72 (2)	48.00 (1)
por	32.73±16.62 (7)	25.97±7.60 (7)
muc		3.10 (1)
sig	5.45± 6.03 (4)	1.18 (1)
The elderly group		
pap	42.42±13.33 (2)	41.15± 9.13 (3)
tub ₁ +tub ₂	29.45±15.11 (7)	14.91± 7.93 (3)
por	12.62±14.09 (2)	19.92± 9.36 (3)
muc	23.01± 0.48 (2)	29.16±15.70 (2)
The total		
pap	42.42±13.33 (2)	41.15± 9.13 (3)
tub ₁ +tub ₂	36.78±19.14 (9)	23.19±15.89 (4)
por	28.92±17.53 (9)	24.16±12.86 (10)
muc	23.01± 0.48 (2)	20.47±17.75 (3)
sig	5.45± 6.03 (4)	1.18 (1)

* P<0.05 (Student t-test)

群, 症例 8), K-L に膠様腺癌 (mucinous adenocarcinoma, muc) (老年者群, 症例 2), M-N に印環細胞癌 (signet-ring cell carcinoma, sig) (若年者群, 症例 12) を示した. 各組織型における PCNA 陽性率を若年者群, 老年者群, およびそれらの合計で比較し, Student t 検定で有意差の有無を調べると表 2 の如くである. $p < 0.05$ で有意差が認められるのは, 若年者群で, 粘膜固有層内分化型 (tub1 + tub2) と低分化型 (por) 腺癌の間と, 印環細胞癌 (sig) と他の型の胃癌との間であった. 老年者群では粘膜固有層内分化型 (tub1 + tub2) と低分化型 (por) 癌および粘膜下層の浸潤部における乳頭腺癌 (pap) と分化型管状腺癌 (tub1 + tub2) との間に有意差が認められた. 若年者群と老年者群の組織型や浸潤部位における比較では若年者群低分化腺癌 (por) と老年者群乳頭腺癌 (pap) の粘膜下層領域においてのみ有意差を認めた. 組織型別に合わせて比較してみると, 印環細胞癌 (sig) のみ他の型の胃癌より有意に PCNA 陽性率が低値であった. 全体としては, PCNA 陽性率は粘膜固有層が粘膜下層より高値であること, また, 分化型腺癌 (pap, tub1 + tub2) は低分化腺癌 (por) に比べ PCNA 陽性率が高いようにみえるが, 両者間に有意差はなかった. 組織型の違いに拘らず症例毎に PCNA 陽性率のばらつき, 即ち, 変異係数が大きく, 癌細胞の不規則, 不均等な増殖能をうかがわせるものであった.

考 察

今回著者らは PCNA に対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的に胃癌細胞の増殖能を検討してみたところ, (1)印環細胞癌 (sig) は他の型に比べ有意に PCNA 陽性率が低いこと, (2)組織型や年齢, 部位に拘らず PCNA 陽性率はばらつきが大きく, 変異係数が大きいこと, (3)老年者胃癌と若年者胃癌の間には有意差はないこと, (4)分化型腺癌 (pap, tub1 + tub2) は低分化腺癌 (por) に比べ PCNA 陽性率が高い傾向にあること, (5)粘膜固有層での癌細胞は粘膜下層のそれよりも陽性率が高い傾向にあるという結果が得られた. このような成績をどのように評価すべきかについては, 二, 三の問題点が指摘されよう.

第一には PCNA は増殖細胞マーカーとなりうるかということである. PCNA は 1978 年 Miyachi ら⁹ によって全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE) 患者の自己抗体に反応する増殖細胞核抗原 (PCNA) として見い出され, その後 Bravo ら⁷ によって別途に見い出されていた増殖細胞核内に発現する 36KD の酸性蛋白質 cyclin と同一で

あり, 機能的には DNA ポリメラーゼの補助因子⁹ であることが知られている. これまでの研究で PCNA/cyclin は細胞増殖サイクルの G1 後期から S 期にかけて核内に蓄積⁹⁻¹⁰ し, 免疫組織学的にはこの細胞増殖サイクルの細胞核に強く陽性に染め出される^{3,4,10,21} という特徴が示されている. しかし, ホルミン固定, パラフィン切片に應用される抗 PCNA 抗体の免疫染色性は必ずしも安定しているとはいえないことが指摘されている^{13,14}. 事実, 著者らも今回の 30 症例を選別する際, リンパ濾胞内明中心芽細胞核または胃粘膜腺頸部上皮細胞核が強陽性に染まるという条件のもとで症例を選び出さなければならなかった. また, PCNA 弱陽性をどのように取扱うかという問題にも直面した. PCNA/cyclin 蛋白は比較的安定で 20 時間は核内に留まること¹⁰ や, G2 期や M 期にも低値ながら存在する¹⁰ ことから今回の検索では弱陽性の免疫反応性を示す細胞を陽性と判定し, G0 期以外の細胞増殖サイクルに入っている癌細胞とみなした. PCNA の抗原性はホルミン固定よりもメタカルン固定によって保存されるといわれている¹⁰. Gown らは腫瘍細胞増殖能をメタカルン固定の 41 症例につき, PCNA に対するマウス IgM モノクローナル抗体, 19A2 を用いて免疫組織学的半定量的方法とフローサイトメトリーの結果を比較して両者はよく相関したことを報告¹¹ している. 教室の Ooi ら (Human Pathology 投稿・受理) は, 内分泌型胃癌細胞が細胞増殖能を保持しているのかどうかをメタカルン固定胃癌 5 症例につきクロモグラニン A と PCNA 抗体 (19A2) の二重染色で検定した. その結果, 癌細胞の PCNA 陽性率は $24.5 \pm 19.5 - 37.3 \pm 15.2$ であり, クロモグラニン A 陽性の癌細胞は PCNA 陰性であった. PCNA 陽性率は今回のホルミン固定の症例と大差はなく, また今回用いた PC10 のモノクローナル抗体はホルミン固定リンパ腫細胞で Ki-67 と対比しうる染色性をもっていること⁹ から, 固定条件の良い症例を用いるならば PCNA を細胞増殖マーカーとして評価しうるものと考えられる.

第二の問題は, 印環細胞癌 (sig) の PCNA 陽性率が有意に低いのはみせかけなのかどうかということである. 印環細胞癌の細胞核は半月状で核自体がかなり小さく, 相対的に PCNA の蓄積が少ないのかもしれない. また, 細胞内粘液のために核が圧排され, PCNA のエピトープがマスクされているのかもしれない. しかし, 粘液産生の著しい膠様腺癌においても PCNA 免疫染色を十分評価しうることや, 経験的に蛋白分解酵素の前処置は免疫反応性を低下させることから, 細

胞質内の粘液が抗原性をブロックしているとは思えない。Tsumumiら¹⁶⁾は、DNAポリメラーゼ α に対するモノクローナル抗体を用いて各種癌を検討し、この中で腺癌の18%は、10%以下の陽性率を示したと報告している。内分泌型細胞へ分化した癌細胞はPCNA陰性であり、G0期の細胞とみなしうること(Ooiら)や、もともとsig癌は低分化腺癌の特殊型という性格をもっているため、PCNA陽性率の極めて低いG0期の特殊な分化を示す細胞系列と解しても良いのかもしれない。

今回の検索の目的の一つとして、分化型腺癌の多い老年者の胃癌¹⁷⁾¹⁸⁾は細胞増殖という点で若年者の胃癌と異なっているかどうかという点にあった。しかし、粘膜下層における若年者のporと老年者のtub1+tub2との間にPCNA陽性率で、有意な差は認められなかった。むしろ、若年者のporに比べ老年者papが有意にPCNA陽性率が高いという結果であった。一般に老年者胃癌と若年者胃癌の相対生存率は変わらない¹⁹⁾といわれている。従って今回の成績と矛盾はなさそうである。この中でpap癌におけるPCNA陽性率が高値であることはpap癌の血管浸潤能と関係のあることかもしれない。しかし、この点についてはpap症例が3例であり、今後症例数を増して確認すべきものと考えられる。

第三の問題は、粘膜固有層の癌細胞が粘膜下層の癌細胞よりも高いPCNA標識率を示すことである。これは有意差はないものの一見矛盾するように思えるからである。粘膜固有層における癌細胞のPCNA陽性率が高い傾向を示す理由として次の三つが考えられる。第一は粘膜固有層はもともと胃癌細胞増殖の原発部位であり、細胞増殖サイクル内で活発に増殖する細胞が多く、これがPCNA陽性率を上げていること。第二は粘膜固有層では、成長因子が豊富であり、この影響のもとで、PCNAのmRNAが安定化し²⁰⁾、このためDNA合成と関係なくPCNAが蓄積、増量していること。第三には癌細胞に近接する非腫瘍細胞は異常にPCNA陽性細胞化する⁴⁾のでこのPCNA陽性細胞をPCNA陽性癌細胞と誤判定してしまうことの三つである。おそらく生体における細胞増殖活性には複数の因子が複雑に関与して影響を与えているものであり、特に成長因子の役割については今後の検討すべき課題と考えられる。

結 論

70才以上の老年者胃癌15症例と39才以下の若年者胃癌15症例のPCNA陽性率を検討し、以下の結論を得

た。

1. 若年者群の癌細胞PCNA陽性率は粘膜固有層で $28.90 \pm 22.59\%$ 、粘膜下層で $23.40 \pm 24.08\%$ 、老年者群のそれは $28.32 \pm 15.48\%$ 、 $26.02 \pm 14.71\%$ であり、両者間に有意差はなかった。

2. 若年者胃癌の印環細胞癌は他の組織型の胃癌に比べ有意にPCNA陽性率が低かった。

3. 老年者胃癌papは若年者胃癌porに比べPCNA陽性率が有意に高値であった。しかし、組織型別に老若症例を合わせて検定するとpapとporの間には有意差はなかった。

4. 組織型や年齢、部位に拘らずPCNA陽性率はばらつきが大きく、変異係数が異常に大きいことが最大の特徴であった。このことは癌細胞が不規則、不均等に増殖することを示唆している。

文 献

- 1) 厚生統計協会：国民衛生の動向、厚生指標(臨時増刊), 37, 57-66 (1990).
- 2) Hall, P. A. & Levison, D. A.: Review: Assessment of cell proliferation in histological material. *J. Clin. Pathol.*, 43, 184-192 (1990).
- 3) Robbins, B. A., de la Vega, D., Ogata, K., Tan, E. M. & Nakamura, R. M.: Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 111, 841-845 (1987).
- 4) Hall, P. A., Levison, D. A., Woods, A. L., Yu, C. C. W., Kellock, D. B., Watkins, J. A., Barnes, D. M., Gillett, C. E., Champlejohn, R., Dover, R., Waseem, N. H. & Lane, D. P.: Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: An index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J. Pathol.*, 162, 285-294 (1990).
- 5) 胃癌研究会編：胃癌取り扱い規約。第11版, 42-75頁, 金原出版, 東京, 1985.
- 6) Miyachi, K., Fritzler, M. J. & Tan, E. M.: Autoantibodies to nuclear antigen in proliferating cells. *J. Immunol.*, 121, 2228-2234 (1978).
- 7) Bravo, R. & Celis, J. E.: A search for differential polypeptide synthesis throughout the cell cycle of HeLa cells. *J. Cell Biol.*, 84, 795-802 (1980).
- 8) Bravo, R., Frank, R., Blundell, P. A. & MacDonald-Bravo, H.: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase δ . *Nature*,

- 326, 515-517 (1987).
- 9) Takasaki, Y., Deng, J. S. & Tan, E. M.: A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation-its distribution in synchronized cells. *J. Exp. Med.*, **154**, 1899-1909 (1981).
- 10) Kurki, P., Vanderlaan, M., Dolbeare, F., Gray, J. & Tan, E. M.: Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin during the cells cycle. *Exp. Cell Res.*, **166**, 209-219 (1986).
- 11) Garcia, R. L., Coltrera, M. D. & Gown, A. M.: Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis. *Am. J. Pathol.*, **134**, 733-739 (1989).
- 12) Coltrera, M. D. & Gown, A. M.: PCNA/cyclin expression and BrdU uptake define different subpopulations in defferent cell lines. *J. Histochem. Cytochem.*, **39**, 23-30 (1991).
- 13) 松野吉宏, 向井 清: 増殖細胞核抗原 (PCNA). 病理と臨床, **9**, 879-883 (1991).
- 14) 鈴木幸一, 加藤良平, 川生 明: 抗 PCNA モノクローナル抗体による増殖期細胞の同定: ホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いた免疫組織化学的検討. 医学のあゆみ, **157**, 655-656 (1991).
- 15) Bravo, R. & MacDonald-Bravo, H.: Existence of two populations of cyclin/ proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: Association with DNA replication sites. *J. Cell Biol.*, **105**, 1549-1554 (1987).
- 16) Tsutsumi, Y., Hori, S. & Onoda, N.: DNA polymerase α . An immunohistochemical marker for proliferating cells in normal and neoplastic human tissues. *Am. J. Clin. Pathol.*, **93**, 643-650 (1990).
- 17) 長与健夫: 老年者胃癌の病理学的特徴. *Geriat. Med.*, **21**, 747-753 (1983).
- 18) Oohara, T., Johjima, Y., Yamamoto, O., Tohma, H. & Kondo, Y.: Gastric cancer in patients above 70 years of age. *World J. Surg.*, **8**: 315-320 (1984).
- 19) 竹内義彦, 白坂千秋, 阿南敏郎, 辻 秀男: 高齢者胃癌の特徴と予後. 消化器外科, **5**, 2057-5061 (1982).
- 20) Bravo, R. & MacDonald-Bravo, H.: Induction of the nuclear protein cyclin in quiescent mouse 3T3 cells stimulated by serum and growth factors. Corralation with DNA synthesis. *EMBO J.*, **3**, 3177-3181 (1984).

Evaluation of Proliferative Activity of Gastric Cancer Cells by PCNA Immunohistochemical Staining Gao Zhang and Isao Nakanishi, Department of Pathology (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **100**, 974—980 (1991)

Key words gastric carcinoma, immunohistochemical staining, elderly and young persons, proliferating cell nuclear antigen, PCNA

Abstract

To study the proliferative activity of gastric carcinoma, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) was observed by immunohistochemical staining with monoclonal antibody in 15 patients under 39 years old (young group) and in 15 patients over 70 years old (elderly group). The PCNA was found in $28.90 \pm 22.59\%$ (Mean \pm S.D.) of carcinoma cells at the mucosa propria and $23.40 \pm 24.08\%$ at the submucosa in young group, these rates which were not significantly different from the $28.32 \pm 15.48\%$ at the mucosa propria and $26.02 \pm 14.71\%$ at the submucosa in elderly group. In the histological subtypes, the PCNA positivity was significantly lower in signet-ring cell carcinoma than in the other types of gastric carcinoma. There was a general tendency that the PCNA-positive rate was lower at the submucosa than at the mucosa propria, and it was higher in differentiated carcinoma than in undifferentiated carcinoma, but no statistical differences were found between them. Variable distribution in PCNA-positive cancer cells found in the present study suggests irregular and heterogeneous proliferation of gastric carcinoma.