日本大腸肛門病会誌 **43**：1311-1319, 1990

原　著 III

大腸癌・腺腫の発生と進展における c-myc p62 Oncoprotein 発現の意義についての研究

三重大学第2外科（指導：鈴木宏志教授）
三　浦　　力

大腸癌73例（79病変），大腸腺腫30例（30病変），正常大腸粘膜75検体について，抗ヒト c-myc p62 マウスモノクローナル抗体（MYC1-6E10）を用いた免疫組織化学染色法による c-myc p62 oncoprotein 発現を検討し，また大腸癌79病変中72病変については，DNA ploidy の検索を行った．p62 の強い発現を見たのは大腸癌79病変中36病変（45.6%），大腸腺腫30病変中21病変（70%），正常大腸粘膜75検体中5検体（6.7%）であり，p62 の強い発現を見る頻度は大腸癌および腺腫では正常粘膜に比して有意に高かった．大腸腺腫では p62 の強い発現を見る頻度と組織型および異型度との間に相関がなく，また大腸癌では p62 の強い発現を見る頻度と臨床病理学的所見および DNA ploidy との間に相関を認めなかった．このことから，c-myc p62 oncoprotein は大腸腫瘍の発生段階に関与するが，一旦発生した腺腫あるいは癌のその後の進展には関与するところが少ないと考えられた．

索引用語：大腸腫瘍，c-myc 蛋白 p62，抗ヒト c-myc p62 マウスモノクローナル抗体，免疫組織化学染色，DNA ploidy

緒　言

発癌の過程は initiation, promotion および progression という多段階を経ることが広く認められている[1,2]．すなわち，最初の変化（initiation）は放射線，発癌性化合物，あるいはウィルスなどによっておこる遺伝子レベルでの変化であり，つづく promotion の段階では細胞の形質が変化し，癌細胞としての性格を具えるようになる．そして，癌化した細胞は増殖し，転移するなどの progression を示して臨床的に認識されるに至る．近年，RNA 型造腫瘍ウィルスに関連する oncogene のうち，myc や ras, fos などについての研究が進められ，これらの oncogene が encode する蛋白は腫瘍の initiation ないし promotion の段階に関与すると考えられている[1-7]．このうち，c-myc が encode する蛋白，すなわち c-myc oncoprotein（p62）[8-12]は細胞の増殖あるいは分化に関与するといわれ[10,13-16]，腫瘍発生との関連が注目されている[2,17-20]．

著者は抗ヒト c-myc p62マウスモノクローナル抗体[21]を用いた間接酵素抗体法による免疫組織化学染色によって p62が簡便に検出しうることに着目し，大腸癌73例から得た癌組織79病変，大腸腺腫30例から得た腺腫組織30病変，正常大腸粘膜75検体のそれぞれの間で p62発現の頻度を比較し，さらに大腸癌，腺腫については腫瘍細胞の DNA ploidy を含む臨床病理学的所見と p62発現頻度の相関を検討することによって p62 の発現と大腸腫瘍の発生と進展の関連について二，三の知見をうることができたので報告する．

I. 研究の対象と方法

1. 対　象

1987年10月から1990年1月までの間に三重大学第2外科およびその関連病院において手術的に，あるいは内視鏡的に切除された，大腸癌73例（同時性重複癌6例を含む）から得られた79病変，大腸腺腫30例から得られた30病変，腫瘍の手術的切除が行われた75例で，腫瘍から少なくとも10cm 以上離れ，肉眼的に正常な大腸粘膜を採取した「正常大腸粘膜」75検体を対象とした．

大腸癌および大腸腺腫の臨床病理学的事項はいずれも大腸癌取り扱い規約[22]にしたがって記載し，大腸腺腫はさらに，組織学的異型度を mild, moderate, severe の3段階に分類した[23]．なお，腺腫の中には後の詳細な病

理組織学的検査によって腺腫内癌の見いだされたものが5例あるが，免疫組織学的検討に用いた材料はすべて腺腫成分のみの部分で，癌組織を含んでいなかったので，ここでは腺腫として取り扱った．

2. p62 の染色法[24]と発現強度の判定

切除新鮮標本は直ちに O. C. T. COMPOUND (Miles Scientific, Naperville, USA) に包埋し，液体窒素で瞬間凍結させたのち，切り出しまで−80°C で保存した．凍結された標本は cryostat で5 μm の厚さで切り出し，0.5%のゼラチンで coating したスライドグラスにのせ，急速に風乾したのち染色に用いた．

免疫組織化学染色は ABC 法を用いて以下のように行った．すなわち，標本を PBS (Flow Laboratories, U. K.) で洗浄 (10分間×3回) して O. C. T. COMPOUND を除き，アセトン固定 (10分間) したのち PBS で洗浄 (5分間×3回) した．次いで非特異性染色をブロックするためウマ正常血清 (マウス IgG 用 Vectastain ABC Kit; Vector Laboratories, Inc., USA) で処理 (60分間) したのち，抗ヒト c-myc p62 マウスモノクローナル抗体 MYC1-6E10(Cambridge Research Biochemicals Ltd., UK; Batch No. IBU 069) を2.5 μg/ml の濃度で45分間反応させ，PBS で洗浄 (5分間×3回) した．つぎに，抗マウス IgG ウマビオチン化抗体 (Vector Laboratories, Inc.) を15分間反応させ，PBS で洗浄 (5分間×3回) し，さらに，ABC 試薬 (Vector Laboratories, Inc.) を15分間反応させ，PBS で洗浄(10分間×3回) した．発色は0.03%過酸化水素溶液 (PBS 20ml, 3, 3'-ジアミノベンジジン10mg, 30%過酸化水素水20μl) を10分間反応させ，流水で5分間洗浄したのちマイヤーヘマトキシリンにて対比染色を行い，乾燥後エンテランにて封入し検鏡した．

染色強度の判定は，以上の過程で MYC1-6E10 を加えずに染色したものを negative control として2人の検者が独自に行い，図1に示すように，細胞質に弱い染色性のみられたものを (+) とし，図2に示すように細胞核および細胞質がびまん性に強い染色性を示したものを (++) とした．2人の検者の間で interobserver variability をみたのは少数例のみであり，このような場合は時間をおいて再検するか，第3の検者の意見を参考にして染色性の (+) または (++) を決定した．

3. DNA flowcytometry の方法と DNA ploidy の判定

大腸癌細胞の DNA flowcytometry は村上らの方法[25]に準じて行った．すなわち，手術標本から得られた癌組織約1g (正常粘膜少量を含む) を細切し，0.5% Triton X-100 (Sigma Chemical Co, USA) にて裸核化し，40μm ナイロンメッシュにて組織塊を除去し，0.5% RNase (Sigma Chemical Co) で処理したのち50μg/ml の propidium iodide (Sigma Chemical Co) にて DNA 染色を行い，FACScan (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, USA) を用いて10,000〜20,000個の細胞の DNA 量を測定し，FACScan に付属したコンピューターシステムによって DNA ヒストトグラムを得た．

DNA ploidy の判定は，検体に含まれる正常粘膜細胞を内部標準とした diploid (2C) の領域に単一の G_0/G_1 ピークがあるものを diploid, その他のものを aneuploid とした．

4. 統計処理

正常大腸粘膜，大腸腺腫，大腸癌の間での p62 強陽性発現頻度の比較，大腸腺腫における組織型および異型度と p62 強陽性発現頻度の相関，大腸癌における臨床病理学的所見および DNA ploidy と p62 強陽性発現頻度の相関は χ^2 検定によって行い，$p<0.05$ の時有意差あり，あるいは相関ありと判定した．

II. 結　果

1. 正常大腸粘膜，大腸腺腫，大腸癌における p62 の発現頻度

表1に示すように正常大腸粘膜では75検体中70検体で p62 の発現が弱陽性 (染色度 (+)，図1) であり，強陽性 (染色度 (++)，図2) に発現していたのは5検体 (6.7%) のみであった．強陽性の5検体では腺窩の各部位における染色性を見ると，腺窩の全層がほぼ均一に染色され，個々の上皮細胞は核および細胞質がびまん性に染色された．

大腸腺腫は30病中21病変 (70%) で p62 の発現が強陽性にみられた．p62 の強陽性発現頻度は正常大腸粘膜に比して有意に高率であった ($p<0.01$)．強陽性に染色された21病変では細胞内での p62 の局在は図3，4に示すように組織型あるいは異型度に関係なく，細胞核および細胞質にびまん性にみられた．

大腸癌は79病変中36病変 (45.6%) で p62 の発現が強陽性にみられた．p62 発現強陽性の頻度は正常大腸粘膜に比して有意に高く ($p<0.01$)，大腸腺腫より有意に低かった ($p<0.05$)．強陽性に染色された36病変では細胞内での p62 の局在は図5-7に示すように正常大腸粘膜あるいは大腸腺腫と同様，細胞核および細胞質にびまん性にみられた．

2. 大腸腺腫の組織型・異型度と p62 の発現頻度

表2に示すように，組織型別では，管状腺腫では20病変中13病変で p62 の染色性が強陽性であった．一方絨

図 1　正常粘膜にみられた p62 染色性
（染色度（＋），×100）

図 2　正常粘膜にみられた p62 染色性
（染色度（＋＋），×200）

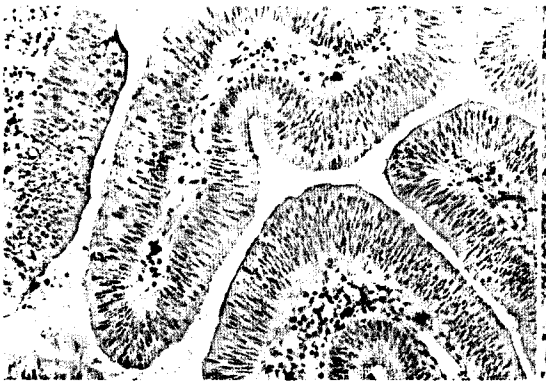

図 3　tub.-vil., mod. dysplasia にみられた p62 染色性（染色度（＋），×200）

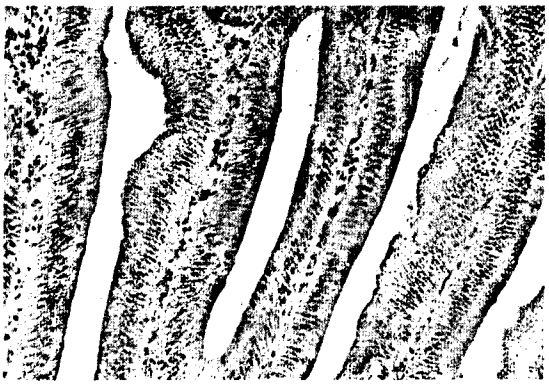

図 4　tub.-vil., mod. dysplasia にみられた p62 染色性（染色度（＋＋），×200）

表 1　正常大腸粘膜・大腸腺腫および大腸癌における c-myc oncoprotein p62の染色度

	染色度 (＋)	(＋＋)	TOTAL
正常大腸粘膜	70[1] (93.3%)	5[1] (6.7%)	75 検体
大腸腺腫	9[2] (30 %)	21[2] (70 %)	30 病変
大腸癌	43[3] (54.4%)	36[3] (45.6%)	79 病変

[1,2]：P＜0.01
[1,3]：P＜0.01
[2,3]：P＜0.05

毛成分を含む管状絨毛腺腫では 8 病変中 6 病変，絨毛腺腫では 2 病変とも p62 の発現が強陽性であり，管状腺腫と絨毛成分を含む腺腫との間に p62 の強陽性発現頻度の差は認められなかった．

異型度別にみると，mild dysplasia の 1 病変は弱陽性，moderate の26病変中18病変，severe の 3 病変は全例が強陽性で，これらの間に有意差は認められなかった．腺腫内癌を含む 5 病変の腺腫成分の異型度は，severe が 2 病変，moderate が 3 病変で，moderate の 1 病変を除いた 4 病変では p62 発現が強陽性であった．

3.　大腸癌の臨床病理学的所見と p62 の発現頻度

表 3 ～ 5 に示すように，大腸癌取扱規約[22]による発生部位，臨床病理学的事項と p62 強陽性発現頻度との間に相関を認めなかったが，stage Ⅰ，Ⅱ のものは，p62 発現頻度が弱い傾向があり，また組織型が低分化型のものは染色性がとくに弱かった．

4.　大腸癌の DNA ploidy と p62 の発現頻度

表 6 に示すように，大腸癌の DNA ploidy pattern と p62 強陽性発現頻度との間には有意な相関は認めなかった．

III. 考　察

分子生物学の発達にともない現在では40種類以上の癌遺伝子（oncogene）が同定され[26]，さらに，oncogene は癌細胞にのみ存在するものではなく，正常細胞にも proto-oncogene の形で存在することが広く知られるに

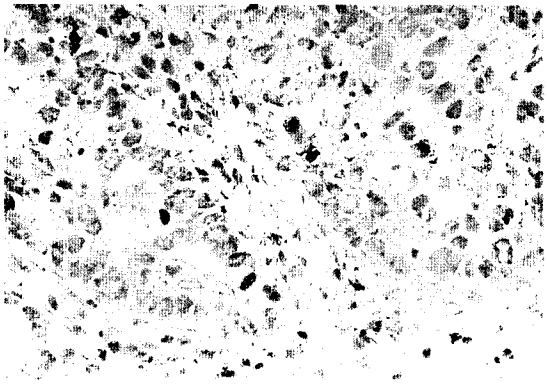

図 5　大腸癌（低分化腺癌，stage V）にみられた p62 染色性（染色度（＋），×400）

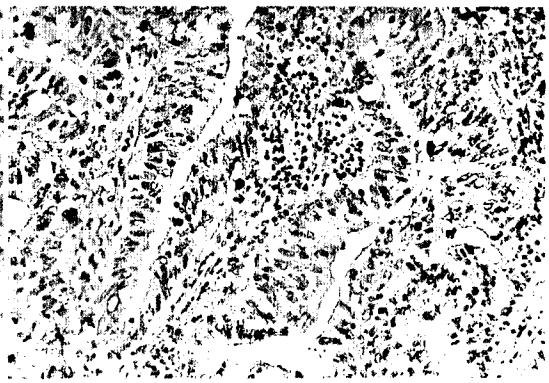

図 6　大腸癌（高分化腺癌，stage I）にみられた p62 染色性（染色度（＋），×200）

図 7　大腸癌（中分化腺癌，stage V）にみられた p62 染色性（染色度（＋＋），×400）

表 2　大腸腺腫の組織型および異型度別にみた c-myc oncoprotein p62の染色度

	染色度 (＋)	(＋＋)	TOTAL
大腸腺腫	9	21	30病変
組織型			
tubular	7	13	20
tub.-vil.	2	6	8
villous	0	2	2
異型度			
mild	1	0	1
moderate	8	18	26
severe	0	3	3

表 3　病変別にみた大腸癌の発生部位と c-myc oncoprotein p62の染色度

発生部位	染色度 (＋)	(＋＋)	TOTAL
右側	6	4 (40%)	10
C	3	0	3
A	2	4	6
T	1	0	1
左側	37	32 (46%)	69
D	2	3	5
S	9	12	21
R	26	17	43
			TOTAL 79病変

至った．発癌過程においては，initiation の段階で宿主の遺伝子（proto-oncogene）が放射線，発癌性物質，ウィルスなどによって amplification，染色体転座，proviral insertion，point mutation などの変化を受け，活性化されてoncogene となり，これが癌発生に関与するといわれている[3-6,18,27-30]．

c-myc oncogene はトリに myelocytomatosis を引き起こす oncogene として retrovirus MC 29から同定された v-myc に対応する遺伝子として知られ[31]，真核生物に広く存在し[32,33]，多くのヒト悪性腫瘍でその発現が認められている[17,34]．発癌に関する c-myc の意義についての研究は，固形腫瘍においてはとくに肺癌[17,29,35,36]，乳癌[17,19,37-40]，大腸癌[17,20,34,40-55]などについていわれている．すなわち，これらの癌においては c-myc oncogene の amplification あるいは発現増大が高い頻度で認められ，癌の発生あるいは進展への関与が論じられている．著者が検討対象とした大腸癌においても，癌組織中の c-myc oncogene の発現が増大していることは多くの報告でいわれており，それが癌を誘起する何らかの原因になるとはいわれているものの[17-19]，癌の進展におけるその意義や役割についてはいまだ明かにされてい

表 4　病変別にみた大腸癌の臨床病理学的所見と c-myc oncoprotein p62の染色度

病理学的事項	染色度 (+)	(++)	TOTAL
組織型			
well	28	24	52
moderately	13	12	25
poorly	2	0	2
壁深達度			
m	1	2	3
sm	2	3	5
pm	6	2	8
ss(a_1)	11	8	19
s(a_2) 以上	23	21	44
リンパ管侵襲			
(+)	39	28	67
(−)	4	8	12
脈管侵襲			
(+)	23	18	41
(−)	20	18	38
		TOTAL	79病変

表 5　症例別にみた大腸癌の臨床病理学的所見と c-myc oncoprotein p62の染色度

病理学的事項	染色度 (+)	(++)	TOTAL
P (+)	1	1	2
(−)	39	32	71
H (+)	5	5	10
(−)	35	28	63
n (+)	17	16	33
(−)	23	17	40
stage Ⅰ	6	4	10
Ⅱ	17	11	28
Ⅲ	7	7	14
Ⅳ	5	6	11
Ⅴ	5	5	10
		TOTAL	73例

(同時性重複癌6例は，より進行した癌で代表した)

表 6　病変別にみた大腸癌における c-myc oncoprotein p62の染色度と DNA ploidy

DNA ploidy	染色度 (+)	(++)	TOTAL
diploidy	14	10	24
aneuploidy	25	23	48
TOTAL	39	33	72病変

ない．

c-myc oncogeneの発現を検出する方法としては，Northern blot 法[56]，免疫組織染色法[37,41,48,49,52,57-59]，flowcytometry を用いた定量法[38,43,54,60] などがあるが，著者は本研究を行うにあたって免疫組織化学染色法を用いた．その理由は，本法は定性的な方法であって，定量的方法に比して客観性に欠けるという短所があるものの，比較的簡便に多くの材料について検討しうるという長所をもち，また生検材料を用いれば術前の検索にも応用できるという利点からである．

抗 c-myc 蛋白モノクローナル抗体を用いて免疫組織染色を行った場合の正常大腸粘膜の染色性についてはこれまでにいくつかの報告がみられている．腺窩の染色部位については，浅部 (mature zone) では細胞質が，深部 (proliferative zone) では核が染色されるという報告[58]，全層にわたって染色されるという報告[59]，maturation zone が染色されるという報告[48,49]，proliferative zone 以外の細胞質が染色されるという報告[41]などがあり，意見の一致を見ていないが，著者の検討結果では，Kate ら[59]の報告と同様，腺窩全層がほぼ均一に染色され，個々の細胞の細胞核および細胞質はびまん性に染色された．また正常大腸粘膜で強い染色性を示したものが6.7%の頻度でみられたが，それらの中に閉塞性大腸癌の口側粘膜から得た標本が含まれていることや，今回の検討対象からは除いたが，大腸の炎症性疾患で強い染色性がみられたことは，Ciclitira ら[57]の報告と一致する．すなわち，正常大腸粘膜でも約6.7%に p62 の強い発現をみたことは，炎症などで再生機転が加わった場合に p62の発現のみられることが多く，また免疫組織染色に用いた抗ヒト c-myc p62 マウスモノクローナル抗体 (M-YC1-6E10) が p62 oncoprotein の normal from と mutation form を識別しえないことによると考えられる．

大腸腺腫における c-myc oncogene の発現については，正常大腸粘膜に比して強い発現が認められ，異型度に応じてその発現頻度も高いが，癌のそれよりは弱いとする報告が多い[20,48]．このような成績は正常から異型上皮 (腺腫)，さらに癌へと進むにつれて c-myc oncogene の発現が強く，かつ高頻度にみられることから，いわゆる adenoma-cancer sequence を支持するものと考えられる．しかし，一方では大腸腺腫と大腸癌との間で c-myc oncogene 発現頻度に差を認めない[55]という報告もあり，必ずしも一致した見解に達していない．著者の成績では，腺腫における p62 の発現頻度は正常粘膜に比して有意に高く ($p<0.01$)，また大腸癌と比較しても有意に高かったが ($p<0.05$)，その発現頻度と腺腫の組織

型や異型度との間に関連を認めなかった．大腸腫瘍の発生・進展過程における p62 oncoprotein の発現強度あるいは発現頻度が報告者によって異なるのは，研究対象，染色法，あるいはその判定法などの違いによるものと思われるが，正常大腸粘膜に比して腺腫での発現頻度が高いということは著者を含めた多くの研究者の成績が一致しており，腺腫の発生過程に p62 が何らかの形で関与していることは確実と考えられる．

大腸癌における c-myc の発現については約60%以上の癌にその増大がみられると報告されているが[17,20,41,42,49,50,55]，著者の成績では検討対象の45.6%に強い発現をみた．大腸癌で p62 の強い発現をみる頻度は検討対象の数，染色方法，判定法にも影響されるが，おおよそ40～60%と考えてよいであろう．p62 の発現頻度と臨床病理学的所見や予後との関連についてもいくつかの報告がみられる．すなわち，組織型・Dukes' stage. DNA ploidy・予後と p62 染色性とは相関しない[41]，右側結腸よりも左側結腸で発現頻度が高い[44]，年齢・腫瘍発生部位・腫瘍の大きさ・組織型・Dukes' stage や血清 CEA 値と c-myc の発現頻度とは関連がない[55]，5年生存率と相関する[54]，発現レベルと癌の再発および生存率には相関は認めない[51]，など多くの成績が報告されているが，著者の成績では，Jones ら[41]の成績と同様に，臨床病理学的事項および癌細胞核 DNA ploidy のいずれも c-myc の発現頻度と統計的に有意な関連を示さなかった．

著者の成績から大腸腫瘍の発生，進展の過程において c-myc oncogene がどのような役割を果たすものか検討してみると，大腸腺腫および癌では正常大腸粘膜に比して有意に p62 の発現頻度が高いものの，大腸腺腫の異型度と c-myc 発現頻度との間に相関がなく，大腸癌に比して腺腫で発現頻度が有意に高く，また大腸癌の臨床病理学的事項と p62 の発現頻度の間に相関がみられず，さらに c-myc の発現頻度と DNA ploidy には相関を示さなかったことより，c-myc p62 oncoprotein の大腸腫瘍の発生，進展過程への関与は以下のように推察される．大腸腺腫，癌のいずれもが正常大腸粘膜に比して p62発現頻度が有意に高いことは，p62の発現が大腸腫瘍発生に関与することを示唆するが，p62 の発現頻度が腺腫で癌よりも高かったことは，腺腫より癌への悪性化の段階での p62 の関与は少なく，むしろ，腫瘍の発生に関与した c-myc oncogene の活性化を伴ったクローンは腫瘍の悪性化とともに消失ないし相対的な減少傾向をたどることを推察させる．大腸腺腫の異型度と p62 強陽性発現の頻度に相関がみられなかったことも腺腫の悪性化への c-myc の関与を否定するものであろう．大腸癌の進行度と p62 強陽性発現頻度に相関がみられなかったことも，癌の進展に対して p62 oncoprotein の関与が少ないことを示す．大腸癌において p62 強陽性発現頻度と DNA ploidy の間に相関を認めなかったことは，Nowell[61] の仮説，すなわちヒトの癌の進展は，遺伝子の不安定化による異常な遺伝形質をもつ clone の発生から増殖のコントロールが失われるために起こる，という考えからするならば，c-myc p62 の発現に示される point mutation は，異常な遺伝形質をもつ clone (aneuploid clone) による癌の進展とは独立した現象であることを示唆している．

IV. 結　論

大腸癌（79病変），大腸腺腫（30病変）および正常大腸粘膜（75検体）について，抗 c-myc p62 モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色法による c-myc p62 の発現頻度を検討し，また大腸癌の72病変については，DNA ploidy の検索をも行い，以下の結果を得た．

1) 大腸癌および大腸腺腫では，正常大腸粘膜に比して c-myc p62 の発現頻度が有意に高かった．

2) 大腸癌および大腸腺腫では，c-myc p62 の発現頻度と臨床病理学的所見の間に相関を認めなかった．

3) 大腸癌では，c-myc p62 の発現頻度と DNA ploidy の間に相関を認めなかった．

以上より，c-myc p62 は大腸腫瘍の発生段階に関与するが，一旦発生した腺腫あるいは癌のその後の進展には関与するところが少ないと考えられた．

本研究を終えるにあたり御指導，御校閲を賜りました鈴木宏志教授に深甚なる謝意を捧げますとともに直接御指導頂きました松本好市講師，また研究に御協力を頂いた本学中検病理の吉村　平先生，教室の石島直人先生に深謝致します．

本論文の要旨は第90回日本外科学会において発表した．

文　献

1) Weinstein IB: The origins of human cancer: Molecular mechanisms of carcinogenesis and their implications for cancer prevention and treatment. Cancer Res 48: 4135-4143, 1988
2) 三浦義明，石井晶子：発癌の過程（見えてきた癌のプロフィル，発癌の臨床 別集17）．篠原出版，1989，p 13-27
3) Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR, et al: Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. Nature 327: 293-297, 1987
4) Forrester K, Almoguera C, Han K, et al: Detection of high incidence of K-ras onco-

genes during human colon tumorigenesis. Nature 327 : 298-303, 1987
5) Tabin CJ, Bradley SM, Bargmann CI, et al : Mechanism of activation of a human oncogene. Nature 300 : 143-149, 1982
6) Volgelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al : Genetic alterations during colorectal tumor development. N Engl J Med 319 : 525-532, 1988
7) Land H, Parada LF, Weinberg RA : Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. Nature 304 : 596-602, 1983
8) Hann SR, Abrams HD, Rohrschneider LR, et al : Proteins encoded by v-myc and c-myc oncogenes : identification and localization in acute leukemia virus transformants and bursal lymphoma cell lines. Cell 34 : 789-798, 1983
9) Watt RA, Schatzman AR, Rosenberg M : Expression and characterization of the human c-myc DNA-binding protein. Mol Cell Biol 5 : 448-456, 1985
10) Rabbitts PH, Watson JV, Lamond A, et al : Metabolism of c-myc gene products : c-myc mRNA and protein expression in the cell cycle. EMBO J 4 : 2009-2015, 1985
11) Hann SR, Eisenman RN : Proteins encoded by the human c-myc oncogene : differential expression in neoplastic cells. Mol Cell Biol 4 : 2486-2497, 1984
12) Studzinski GP, Brelvi ZS, Feldman SC, et al : Participation of c-myc protein in DNA synthesis of human cells. Science 234 : 467-470, 1986
13) Lachman HM, Skoultchi AI : Expression of c-myc changes during differentiation of mouse erythroleukemia cells. Nature 310 : 592-594, 1984
14) Kelly K, Cochran BH, Stiles CD, et al : Cell-specific regulation of the c-myc gene by lymphocyte mitogens and platelet-derived growth factor. Cell 35 : 603-610, 1983
15) Reed JC, Nowell PC, Hoover RG : Regulation of c-myc mRNA levels in normal human lymphocytes by modulators of cell proliferation. Proc Natl Acad Sci (USA) 82 : 4221-4224, 1985
16) Armelin HA, Armelin MCS, Kelly K, et al : Functional role for c-myc in mitogenic response to platelet-derived growth factor. Nature 310 : 655-660, 1984
17) Slamon DJ, deKernion JB, Verma JM, et al : Expression of cellular oncogenes in human malignancits. Science 224 : 256-262, 1984
18) Klein G, Klein E : Evolution of tumors and the impact of molecular oncology. Nature 315 : 190-195, 1985
19) Stewart TA, Pattengale PK, Leder P : Spontaneous mammary adenocarcinomas in transgenic mice that carry and express MTV/myc fusion genes. Cell 38 : 627-637, 1984
20) Imaseki H, Hayashi H, Taira M, et al : Expression of c-myc oncogene in colorectal polyps as a biological marker for monitoring malignant potential. Cancer 64 : 704-709, 1989
21) Evan GI, Lewis GK, Ramsay G, et al : Isolation of monoclonal antibodies specific for human c-myc proto-oncogene product. Mol Cell Biol 5 : 3610-3616, 1985
22) 大腸癌研究会編：臨床・病理大腸癌取扱規約改訂第4版．東京，金原出版，1985
23) Morson BC, Dawson IMP : Gastrointestinal pathology (ed. 2), Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Blackwell Scientific Publications, 1979
24) 猪野義典，佐藤雄一，広橋説雄：モノクローナル抗体を用いた免疫組織技術．実験医学 6：469-474, 1988
25) 村上知之，佐々木功典，荻野哲朗ほか：Flowcytometry による細胞核 DNA 量の測定．術中病理診断への応用の試み．フローサイトメトリー 6：23-25, 1987
26) Varmus HE : Oncogenes and transcriptional control. Science 238 : 1337-1339, 1987
27) Klein G : The role of gene dosage and genetic transpositions in carcinogenesis. Nature 294 : 313-318, 1981
28) Taub R, Kirsh I, Morton C, et al : Translocation of the c-myc gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmacytoma cells. Proc Natl Acad Sci (USA) 79 : 7837-7841, 1982
29) Alitalo K, Schwab M : Oncogene amplification in tumor cells. Advanc Cancer Res 47 : 235-281, 1986
30) Cole MD : The myc oncogene : Its role in transformation and differentiation. Ann Rev Genet 20 : 361-384, 1986
31) Roussel M, Saule S, Lagron C, et al : Three new types of viral oncogene of cellular origin specific for haematopoietic cell transformation. Nature 281 : 452-455, 1979
32) Sheiness D, Bishop JM : DNA and RNA from uninfected vertebrate cells contain nucleotide sequences related to the putative transforming gene of avian myelocytomatosis virus. J Virol 31 : 514-521, 1979
33) Bishop JM : Cellular oncogenes and retroviruses. Annu Rev Biochem 52 : 301-310, 1983
34) Eva A, Robbins KC, Andersen PR, et al : Cellular genes analogous to retroviral onc

genes are transcribed in human tumour cells. Nature 295 : 116-119, 1982
35) Little CD, Nau MM, Carney DN, et al : Amplification and expression of the c-myc oncogene in human lung cancer cell lines. Nature 306 : 194-196, 1983
36) Taya Y, Hosogai K, Hirohashi S, et al : Anovel combination of K-ras and myc amplification accompanied by point mutational activation of K-ras in a human lung cancer. EMBO J 3 : 2943-2946, 1984
37) Tauchi K, Hori S, Itoh H, et al : Immunohistochemical studies on oncogene products (c-erbB-2, EGFR, c-myc) and estrogen receptor in benign and malignant breast lesions. Virchows Arch Pathol Anat 416 : 65-73, 1989
38) Locker AP, Dowle CS, Ellis IO, et al : C-myc oncogene product expression and prognosis in operable breast cancer. Br J Cacer 60 : 669-672, 1989
39) Garcia I, Dietrich PY, Aapro M, et al : Genetic alterations of c-myc, c-erbB-2, and c-Ha-ras protooncogenes and clinical associations in human breast carcinomas. Cancer Res 49 : 6675-6679, 1989
40) Gutman M, Ravia Y, Assaf T, et al : Amplification of c-myc and c-erbB-2 proto-oncogenes in human solid tumors : frequency and clinical significance. Int J Cancer 44 : 802-805, 1989
41) Jones DJ, Ghosh AK, Moore M, et al : A critical appraisal of the immunohistochemical detection of the c-myc oncogene product in colorectal cancer. Br J Cancer 56 : 779-783, 1987
42) Erisman MD, Rothberg PG, Diehl RE, et al : Deregulation of c-myc gene expression in human colon carcinoma is not accompanied by amplification or rearrangement of the gene. Mol Cell Biol 5 : 1969-1976, 1985
43) Watson JV, Sikora K, Evan GI : A simultaneous flow cytometric assay for c-myc oncoprotein and DNA in nuclei from paraffin embedded material. J Immun Meth 83 : 179-192, 1985
44) Rothberg PG, Spandorfer JM, Erisman MD, et al : Evidence that c-myc expression defines two genetically distinct forms of colorectal adenocarcinoma. Br J Cancer 52 : 629-632, 1985
45) Alitalo K, Schwab M, Lin CC, et al : Homogeneously staining chromosomal regions contain amplified copies of an abundantly expressed cellular oncogene (c-myc) in malignant neuroendocrine cells from a human colon carcinoma. Proc Natl Acad Sci (USA) 80 : 1707-1711, 1983
46) Monnat M, Tardy S, Saraga P, et al : Prognostic implications of expression of the cellular genes myc, fos, Ha-ras and Ki-ras in colon carcinoma. Int J Cancer 40 : 293, 1987
47) Mariani-Costantini R, Theillet C, Hutzell P, et al : In situ detection of c-myc mRNA in adenocarcinoma, adenoma, and mucosa of human colon. J Histochem Cytochem 37 : 293-298, 1989
48) Stewart J, Evan G, Watson J, et al : Detection of the c-myc oncogene product in colonic polyps and carcinomas. Br J Cancer 53 : 1-6, 1986
49) Sikora K, Chan S, Evan G, et al : C-myc oncogene expression in colorectal cancer. Cancer 59 : 1289-1295, 1987
50) Untawale S, Blick M : Oncogene expression in adenocarcinomas of the colon and in colon tumor-derived cell lines. Anticancer Res 8 : 1-8, 1988
51) Erisman MD, Litwin S, Keidan RD, et al : Noncorrelation of the expression of the c-myc oncogene in colorectal carcinoma with recurrence of disease or patient survival. Cancer Res 48 : 1350-1355, 1988
52) Tulchin N, Ornstein L, Guillem J, et al : Distribution of the c-myc oncoprotein in normal and neoplastic tissues of the rat colon. Oncogene 3 : 697-701, 1988
53) Meltzer SJ, Ahnen DJ, Battifora H, et al : Proto-oncogene abnormalities in colon cancers and adenomatous polyps. Gastroenterology 92 : 1174-1180, 1987
54) Rowley S, Neoptolemos JP, Donovan IA : Transcription of c-myc mRNA and protein product is a potential prognostic indication in colorectal cancer. Br J Surg 76 : 1348, 1989
55) Finley GG, Schulz NT, Hill SA, et al : Expression of the myc gene family in different stages of human colorectal cancer. Oncogene 4 : 963-971, 1989
56) Church GM, Gilbert W : Genomic sequencing. Proc Natl Acad Sci (USA) 81 : 1991-1995, 1984
57) Ciclitira PJ, Macartney JC, Evan G : Expression of c-myc in non-malignant and premalignant gastrointestinal disorders. J Pathol 151 : 293-296, 1987
58) Sundaresan V, Forgacs IC, Wight DGD, et al : Abnormal distribution of c-myc oncogene product in familial adenomatous polyposis. J Clin Pathol 40 : 1274-1281, 1987
59) Kate JT, Eidelman S, Bosman FT, et al : Expression of c-myc proto-oncogene in normal human intestinal epithelium. J Histoch-

em Cytochem 37 : 541-545, 1989
60) Hendy-Ibbs P, Cox H, Evan GI, et al : Flow cytometric quantitation of DNA and c-myc oncoprotein in archival biopsies of uterine cervix neoplasia. Br J Cancer 55 : 275-282, 1987
61) Nowell PC : The clonal evolution of tumor cell populations. Science 194 : 23-28, 1976

Immunohistochemical Staining of c-myc p62 Oncoprotein in Normal Colon Mucosa, Colorectal Adenomas, and Colorectal Carcinomas

T. Miura
The Second Department of Surgery, Mie University School of Medicine, Mie

Immunohistochemical staining of c-myc p62 oncoprotein was performed in 79 colorectal carcinomas, 30 colorectal adenomas, and 75 samples of normal colon mucosa, using a mouse monoclonal antibody against the product of the c-myc oncogene (MYC1-6E10).

Intense immunoreactivity for p62 oncoprotein was detected in 36 of 79 colorectal carcinomas, in 21 of 30 colorectal adenomas, and in 5 of 75 samples of normal colon mucosa.

The frequency of the intense immunoreactivity for the p62 was significantly higher in carcinomas and adenomas, compared to normal colon mucosa. The frequency of the intense immunoreactivity for the p62 was significantly greater in adenomas than in carcinomas.

There was no correlation between the intense immunoreactivity for the p62 and histologic type or grade of dysplasia in adenomas. The immunoreactivity for the p62 oncoprotein did not correlate with clinical stage or DNA ploidy of colorectal carcinomas.

(平成2年5月9日受付)