

Comparative genomic hybridization 法を用い遺伝的解析を 施行した同時性 3 多発進行大腸癌の 1 例

済生会山口総合病院外科¹⁾, 山口大学第 1 外科²⁾

都志見貴明^{1)*)} 高橋 剛¹⁾ 福田 重年¹⁾
小田 達郎¹⁾ 井口 智浩²⁾ 江里 健輔²⁾

同時性 3 多発進行大腸癌の 1 切除例を経験した。症例は 69 歳の男性。主訴は下血。注腸造影検査、大腸内視鏡検査にて盲腸、横行結腸、S 状結腸の 3 多発癌と診断され手術を施行した。S 状結腸切除、横行結腸部分切除、回盲部切除を行い、S 状結腸領域には D3 郭清を、横行結腸、回盲部領域には D2 郭清を行った。病理組織所見は S 状結腸、横行結腸、回盲部のいずれの腫瘍も中分化型の腺癌であった。深達部は S 状結腸、横行結腸で ss、回盲部で mp であった。いずれの領域でもリンパ節の転移は認めなかった。また、CGH 法を用い、遺伝的解析を行った。盲腸、横行結腸、S 状結腸のいずれにおいても、17 番染色体短腕の欠失が認められ、本症例は adenoma-carcinoma sequence に関連して発生したことが示唆された。

はじめに

大腸多発癌はその発生頻度も全大腸癌の 3 ~ 15% と報告もさまざまであるが、他の消化器癌と比較すると高率といわれている¹⁾⁻⁶⁾。その発生には adenoma-carcinoma sequence が深く関わっているのではないかという報告もある^{5,7)}。今回我々は、まれな同時性 3 多発進行大腸癌の 1 切除例を経験し、実際に adenoma-carcinoma sequence の発癌経路に深く関わっているとされる遺伝子領域の、またそれ以外の領域にも同時性多発大腸癌に特徴的な遺伝子領域の異常があるかを検索するため CGH⁸⁾を行ったので若干の文献的考察を加えて報告する。

症 例

患者：69 歳，男性

主訴：下血

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：糖尿病に対して当院内科で内服治療を行っていた。

現病歴：1999 年 10 月より排便時に下血を認めた。精査目的にて当院内科に入院となった。

入院時現症：身長 160cm，体重 60kg。腹部は平坦，軟で，腫瘍は触知されなかった。また，表在リンパ節

も触知されなかった。

入院時検査所見：赤血球数 $391 \times 10^4 / \mu\text{l}$ ，Hb 10.4g/dl，Ht 31.6% と軽度の貧血を認めた。血糖値は 101mg/dl で正常範囲であり，肝機能，腎機能，電解質に異常はなかった。術前の CEA，CA-9-9 はそれぞれ 10ng/ml，6U/ml であり CEA の上昇を認めた。

腹部 CT：肝臓，リンパ節に明らかな転移および腹水は認めなかった。また，結腸の腫瘍も腹部 CT では明らかではなかった。

注腸造影検査：盲腸には $3.5 \times 3\text{cm}$ 大の，表面に明らかなバリウムの貯留を認めない陰影欠損像を，横行結腸には $3.5 \times 3\text{cm}$ 大の立ち上がり急峻な隆起性病変像を，S 状結腸には $5 \times 3\text{cm}$ 大の apple core 様の像を認めた (Fig. 1)。

大腸内視鏡検査：盲腸にパウヒム弁に接して 1 型の病変を認めた。また，横行結腸，S 状結腸に 2 型の病変を認めた。

以上より盲腸，横行結腸，S 状結腸の同時性 3 多発癌と診断され 12 月 22 日手術を行った。

手術所見：腹腔内に腹水，膿はなく，また肝転移，腹膜播種はなかった。腫瘍性病変は盲腸，横行結腸，S 状結腸に存在しいずれも漿膜面への直接浸潤はみられなかった。肉眼的にリンパ節転移は認められなかった。予定通り S 状結腸切除，横行結腸部分切除，回盲部切除を行った。S 状結腸領域には D3 郭清を，横行結

< 2001 年 9 月 19 日受理 > 別刷請求先：都志見貴明
〒753 0078 山口市緑町 2 11 済生会山口総合病院
外科

Fig. 1 Barium enema study showed a mass shadow measuring 3.5 x 3cm in size in the cecum (a) a tumor measuring 3.5 x 3cm in size in the transverse colon (b) and a tumor with an apple-core appearance measuring 5 x 3 cm in size in the sigmoid colon.

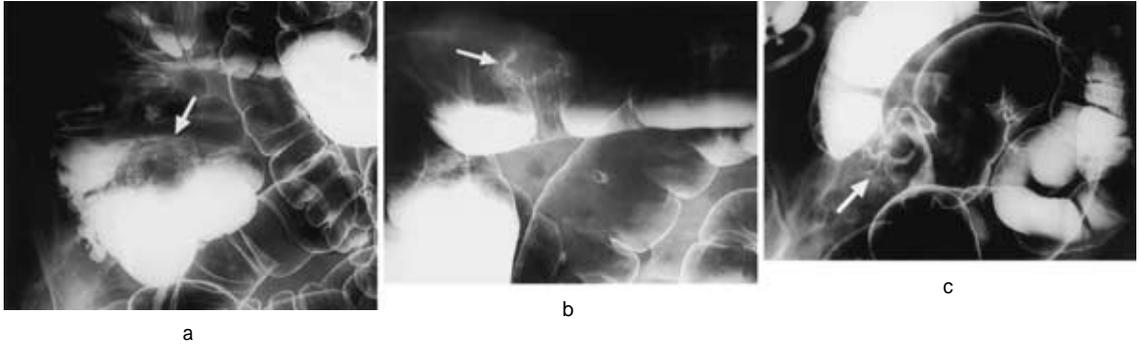
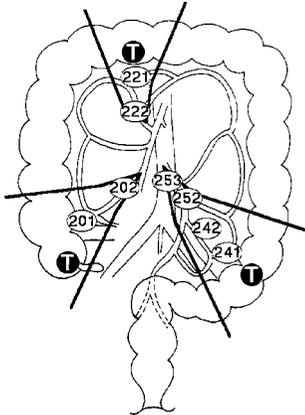


Fig. 2 The sigmoid lesion was resected by D3 lymphadenectomy and the cecum and transverse lesions extirpated by D2 lymphadenectomy.



腸, 回盲部領域にはD2郭清を行った(Fig. 2). 手術時間は290分, 出血量は50mlであった.

切除標本: 盲腸の腫瘍は1型で大きさは30mm x 25mm, 横行結腸は2型で大きさは31mm x 26mm, S状結腸の腫瘍は2型で大きさは48mm x 45mmであった(Fig. 3).

病理組織所見: 盲腸, 横行結腸, S状結腸のいずれの腫瘍も中分化型の腺癌で, クロマチンに濃く染まる大小不同の核を有した高円柱状の腫瘍細胞が不規則に乳頭状~腺管状に浸潤増生していた. 深達度は盲腸でmp, 横行結腸, S状結腸でssであった. いずれの領域でもリンパ節の転移は認められなかった.

CGH解析: CGH法はKallioniemiら⁸⁾の方法に従って施行した. CGH法の原理を簡単に述べる. 腫瘍DNAと正常リンパ球DNAを抽出し, 腫瘍細胞DNAを緑色蛍光標識し, 正常リンパ球DNAを赤色蛍光標識し, 正常染色体に*in situ*にハイブリダイゼーションを行い, DNAコピー数の増減を染色体上に直接マッピングする分子生物学的解析法である. 各正常染色体上で腫瘍DNAの遺伝子増幅が存在すればその座位に緑色蛍光帯が見られ, 腫瘍DNAに染色体欠失領域が存在すれば赤色蛍光帯が, また異常が認められなければ2色の蛍光色素が混合した黄色蛍光として認められる(Fig. 4). 結果をFig. 5に示す. 盲腸では増幅: 6q(長腕), 欠失: 1p(短腕), 17p, 横行結腸では増幅: 7p, 8q, 13q, 16q, 20q, 欠失: 8p, 15q, 17p, 18q, 22q, S状結腸では増幅: 6p, 11q, 13q, 20q, 欠失: 17pであった. いずれの領域にも17番染色体短腕の欠失を認めた. また, 深達度がssである横行結腸とS状結腸に, 13番染色体長腕と20番染色体の増幅を認めた.

考 察

同時性大腸多発癌の発生頻度については全大腸癌患者の4.6~9.6%との報告がある¹⁾⁻⁶⁾. 本症例では同時性3多発癌であったが, 増田ら²⁾は41例の同時性大腸多発癌のうち, 34例が2多発癌, 3例が3多発癌, 1例が4多発癌であったと述べている.

大腸多発癌で問題となるのは外科的切除範囲の決定である. 同時性大腸多発癌に対して, 大腸全摘あるいは亜全摘を行っているとの報告もある⁹⁾. しかし, 本症例は癌が盲腸, 横行結腸, S状結腸と, 割合に距離をもって孤立性に存在していたため, S状結腸において

Fig. 3 Macroscopic findings revealed a type 1 tumor measuring 30 × 25mm at the cecum (a), a type 2 tumor measuring 31 × 26mm at the transverse colon (b) and type 2 tumor measuring 48 × 45mm at the sigmoid colon (c)

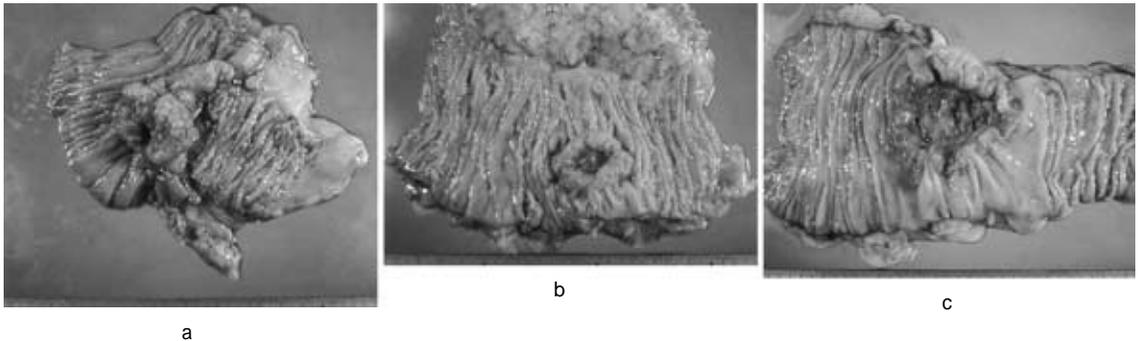
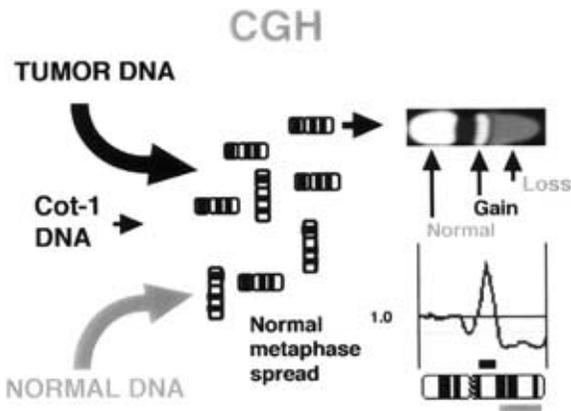


Fig. 4 Diagram of the CGH study. DNA extracts from tumor and normal control lymphocytes were labeled with SpectrumGreen-dUTP and Spectrum-Red-dUTP, respectively, by nick translation. These labeled DNAs were mixed with Cot-1 DNA and applied to normal denatured metaphase chromosome spreads. After hybridization, representative images of metaphase spreads were acquired with a fluorescence microscope and a CCD camera. The average ratio of the green and red fluorescence intensities was calculated for each chromosome.

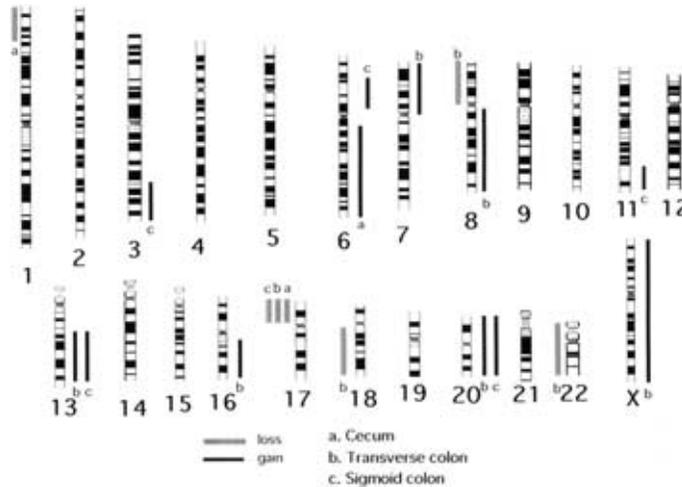


D3 郭清, その他の部位では D2 郭清を行い 3 カ所の吻合を行った。

大腸多発癌の特徴の一つとしての腺腫の併存率が高いことが挙げられる^{1)-6) (10) (11)}。これらから多発癌の発癌過程は adenoma-carcinoma sequence に関連しているのではないかと報告がある⁵⁾。倉吉ら⁷⁾は同時性大腸 6 多発癌の遺伝子不安定性を検討したところ、その

関与の可能性は低いとし、腺腫を有する病変が認められることから多発癌の発癌機構は adenoma-carcinoma sequence が関連しているのではないかと述べている。今回、我々は CGH 法を用いて遺伝的解析を施行した。CGH 法の優れた点は、一度のハイブリダイゼーションでその腫瘍細胞に存在する遺伝子増幅領域、または欠失領域のそれぞれすべてを検索ができることである。結果は Fig. 5 にあるが、いずれの領域においても 17 番染色体短腕の欠失が認められた。17 番染色体短腕には癌抑制遺伝子である p53 遺伝子が存在することが知られている。Adenoma-carcinoma sequence において p53 遺伝子は腺腫から癌への移行過程においてゲートキーパー的な働きを示しているものと考えられている¹²⁾⁻¹⁵⁾。我々の CGH 解析の結果は、大腸多発癌の発癌機構が adenoma-carcinoma sequence と関連することを示唆していた。また、深達度が ss である横行結腸と S 状結腸にのみ、13 番染色体長腕と 20 番染色体の増幅が見られた。いずれも大腸癌での CGH 法による遺伝的解析で高頻度の増幅がしばしば報告されている¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。13 番染色体、20 番染色体に関して、大腸癌の発生、進展に関わる明らかな遺伝子の報告はまだなされていない。Meijer ら¹⁷⁾は 13 番染色体長腕、20 番染色体長腕の増幅が腺腫ではあまりみられないのに、癌で高頻度に出現することから、p53 同様に、腺腫から癌へ移行する際に作用する重要な癌遺伝子の存在が考えられると述べている。しかし、本症例からはゲートキーパー的な遺伝子というより、癌の進展に関わる癌遺伝子の存在が示唆された。Nanashima ら¹⁹⁾は肝転移を有する大腸癌において FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) 法による遺伝的解析を施行し、原発巣、

Fig. 5 Summary of DNA copy number changes in the cecum (a), transverse colon (b) and sigmoid colon (c) Lines to the left of each chromosome represent losses, and lines to the on the right represent gains. Loss of 17p was observed in all three lesions. Gain of chromosomal arm 13q and chromosome 20 occurred in the transverse and sigmoid colon lesions, which had invaded to the subserous layer.



肝転移巣のいずれにおいても高頻度に20番染色体の増幅が見られたと報告しており、予後や肝転移を予測するマーカーになりうると述べている。これらから本症例においては、厳重な経過観察が必要と考えられた。前述したように、CGHは一度のハイブリダイゼーションでその腫瘍細胞の全染色体上の遺伝子増幅領域、または欠失領域をマッピングできるため遺伝子診断を行うにあたり、どの遺伝子の変化に着目すればよいかの足がかりとなる。また、診断や治療法の選択、予後との関連を知るための有用な手段となりうるため臨床的にも重要な意義があると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導を頂きました山口大学第2病理学、佐々木功典先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 石川 啓, 中越 享, 清水輝久ほか: 核 DNA 量からみた同時性大腸多発癌の臨床的特徴とその発生起原について. 日消外会誌 24: 2169-2175, 1991
- 2) 増田英樹, 谷口利尚, 林 成興ほか: 大腸多発癌の臨床的検討. 日本大腸肛門病会誌 45: 182-187, 1992
- 3) 木村臣一, 岩垣博巳, 淵本定儀ほか: 大腸多発癌の臨床病理学的検討. 日消外会誌 25: 2507, 1992
- 4) 中尾健太郎, 澁澤三喜, 角田明良ほか: 大腸多発癌の臨床病理および核 DNA Ploidy Pattern の検討.

日本大腸肛門病会誌 48: 1001-1008, 1995

- 5) 澤井照光, 辻 孝, 山口栄一郎ほか: 同時性大腸多発癌における表面型早期癌の右側大腸優位性について. 日本大腸肛門病会誌 51: 567-572, 1998
- 6) 保田尚邦, 早稲田正博, 神山陽一ほか: 大腸多発癌の臨床病理学的検討. 日臨外会誌 61: 1407-1411, 2000
- 7) 倉吉 学, 中原雅浩, 岡島正純ほか: 遺伝子不安定性を検討した同時性大腸6多発癌の1例. 日臨外会誌 61: 1262-1265, 2000
- 8) Kallioniemi A, Kallioniemi O-P, Sudar D et al: Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. Science 258: 818-821, 1992
- 9) Chu DZJ, Giacco G, Martin RG et al: The significance of synchronous carcinoma and polyps in the colon and rectum. Cancer 57: 445-450, 1986
- 10) Fanta R, Roncucci L, Di Gregorio C et al: Frequency and clinical feature of multiple tumors of the large bowel in the general population and in patients with hereditary colorectal carcinoma. Cancer 77: 2013-2021, 1996
- 11) Cunliffe WJ, Hasleton PS, Tweedle DEF et al: Incidence of synchronous and metachronous colorectal carcinoma. Br J Surg 71: 941-943, 1984
- 12) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR et al: Genetic alternations during colorectal-tumor devel-

- opment. *N Engl J Med* 319 : 525-532, 1988
- 13) Fearon ER, Vogelstein B : A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61 : 759-767, 1990
- 14) Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM et al : p53 gene mutation occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 50 : 7717-7722, 1990
- 15) Cunningham J, Lust JA, Schaid DJ et al : Expression of p53 and 17p allelic loss in colorectal carcinoma. *Cancer Res* 52 : 1974-1978, 1992
- 16) Ried T, Knutzen R, Steinbeck R et al : Comparative genomic hybridization reveals a specific pattern of chromosomal gains and losses during the genesis of colorectal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 15 : 234-245, 1996
- 17) Meijer GA, Hermsen MAJA, Baak JPA et al : Progression from colorectal adenoma to carcinoma is associated with non-random chromosomal gains as detected by comparative genomic hybridization. *J Clin Pathol* 51 : 901-909, 1998
- 18) Paredes-Zaglul A, Kang JJ, Essing YP et al : Analysis of colorectal cancer by comparative genomic hybridization : Evidence for induction of the metastatic phenotype by loss of tumor suppressor genes. *Clin Cancer Res* 4 : 879-886, 1998
- 19) Nanashima N, Yamaguchi H, Yasutake T et al : Gain of chromosome 20 is a frequent aberration in liver metastasis of colorectal cancers. *Dig Dis Sci* 42 : 1388-1393, 1997

A Case of Advanced Synchronous Triple Cancer of the Colon

Takaaki Tsushimi^{1,2)}, Tsuyoshi Takahashi¹⁾, Shigetoshi Fukuda¹⁾,
Tatsuro Oda¹⁾, Tomohiro Inokuchi²⁾ and Kensuke Esato²⁾
Department of Surgery, Saiseikai Yamaguchi General Hospital¹⁾
First Department of Surgery, Yamaguchi University of Medicine²⁾

We report a rare case of advanced synchronous triple cancer of the colon. A 69-year-old man was admitted to our hospital for bloody stool. Barium enema and colon fiberoscopy revealed 3 protruding lesions, 1 in the cecum, 1 in the transverse colon, and 1 in the sigmoid colon. The sigmoid lesion was resected by D3 lymphadenectomy and the cecum and transverse lesions extirpated by D2 lymphadenectomy. Histologically, all 3 tumors were moderately differentiated adenocarcinoma. The sigmoid and transverse lesions had invaded to the subserous level and the cecal lesion to the muscularis propria. No regional lymph node metastasis was seen in any of the tumors. We applied comparative genomic hybridization (CGH) to investigate carcinogenesis cytogenetically and found loss of chromosome arm 17p in all 3 lesions. p53 is located in 17p13, and this suppressor gene plays an important role in the transition from adenoma to carcinoma. Our finding is consistent with the hypothesis that multiple carcinoma of the colon develops in conjunction with the adenoma-carcinoma sequence.

Key words : synchronous multiple cancer of the colon, adenoma-carcinoma sequence, CGH

[*Jpn J Gastroenterol Surg* 35 : 97-101, 2002]

Reprint requests : Takaaki Tsushimi Department of Surgery, Saiseikai Yamaguchi General Hospital
2-11 Midori-cho, Yamaguchi, 753-0078 JAPAN