

DNA ミスマッチ修復遺伝子の異常が確認された 大腸癌家族歴を伴わない若年性大腸癌の 1 例

岩手県立久慈病院外科¹⁾, 岩手医科大学臨床病理部門²⁾, 岩手医科大学第 1 外科³⁾,
星総合病院外科⁴⁾, 家族性腫瘍研究会⁵⁾

吉田 徹^{1,5)} 馬場 祐康¹⁾ 下沖 収¹⁾ 阿部 正¹⁾
菅井 有²⁾ 幅野 渉²⁾ 上杉 憲幸²⁾ 中村 眞一²⁾
斎藤 和好³⁾ 野水 整^{4,5)}

若年性大腸癌でミスマッチ修復遺伝子の異常を確認した症例を報告する。症例は 28 歳男性。下痢を主訴に来院した。下腹部に小児頭大の腫瘤を触知し、直腸診で肛門縁から 3cm に全周性の腫瘤を認めた。CT, MRI にて骨盤腔内に充実性腫瘤を認め、生検の結果直腸癌の診断で手術を施行した。病理組織学的検査では高分化型腺癌, a1 n0 ly1 v1 stage II で粘液産生が著明であった。癌部の遺伝子不安定性の検索を行ったところ high-frequency Microsatellite instability (MSI-H) であった。germ line での検索で *hMSH-2* 遺伝子に inframe 変異を認め、遺伝性非ポリポーシス大腸癌と診断した。散发例大腸癌でも、MSI-H の症例は家族を含め、癌の早期発見のために注意深い follow up が必要である。

はじめに

遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) は、従来 Amsterdam criteria など家族歴の聴取による診断が行われてきたが、1993 年に原因遺伝子がミスマッチ修復遺伝子であることが明らかにされて以来¹⁾、この criteria に合致しない HNPCC も報告されている。HNPCC を発症前に診断することは患者およびその家族にとってのメリットは大きい。家族歴の聴取のみでは小さい家系や家族歴のない *de novo* mutation などは見落とされている可能性が高い。今回、若年性直腸癌で、遺伝子不安定性の検査ののちに germ line にミスマッチ修復遺伝子の異常を確認できた症例を経験したので分子生物学的検討を加えて報告する。

症 例

患者：28 歳、男性

既往歴：特記すべきことなし。

家族歴：患者は 3 男で、同朋は 4 男 2 女あり全員健康、父親は 48 歳で脳出血で死亡。3 親等内に大腸癌をふくめた癌の既往歴を持つ者なし。

現病歴：平成 12 年 9 月からの下痢を主訴に 11 月 13 日当院を受診した。

理学的所見：身長 170cm 体重 47kg (この経過 4 か月の間に体重減少 8kg) 下腹部に小児頭大の腫瘤を触知し、直腸診で肛門縁から 3cm に腫瘤を触知した。

血液生化学検査：白血球の上昇と肝機能障害を認め、血清 CEA 値は 23.5ng/dl と上昇していた (Table 1)。

注腸造影検査：肛門輪より 3cm の部位から全周性の狭窄を約 10cm にわたって認めた (Fig. 1)。

大腸内視鏡検査：肛門縁から 3cm に 2 型の腫瘤を全周性に認め内視鏡の通過は不可能であった。生検の結果、高分化腺癌であった。

CT, MRI 検査：骨盤腔内を占居する腫瘍を認め、膀胱浸潤が疑われた (Fig. 2)。

膀胱鏡・膀胱造影検査：膀胱粘膜には癌の露出

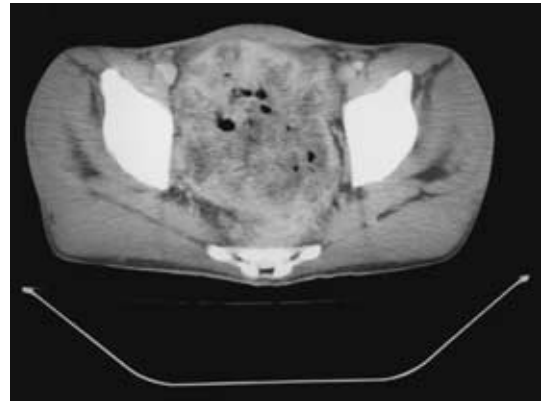
Table 1 Laboratory data on admission

WBC	11,600 /mm ³	T. Bil	0.3 mg/dl	CEA	23.5 ng/ml
RBC	401 × 10 ⁴ /mm ³	T. P	5.7 g/dl	CA19-9	2.0 U/ml
Hb	10.0 g/dl	BUN	11 mg/dl	CRP	4.0 mg/dl
Ht	31.3 %	Cr	0.6 mg/dl	Na	133 mEq/l
Plt	28.1 × 10 ⁴ /mm ³	GOT	94 IU/l	K	3.9 mEq/l
		GPT	152 IU/l	Cl	100 mEq/l
		γ-GTP	62 IU/l		
		LDH	299 IU/l		
		ALP	364 IU/l		

Fig. 1 The barium enema examination demonstrated severe stenosis of lower part of the rectum.



Fig. 2 Pelvic CT showed a solid tumor occupied in the pelvic cavity.



なく、造影では膀胱壁の進展は良好であった。以上より、膀胱浸潤を伴う直腸癌の診断で平成12年12月8日全身麻酔下に手術を施行した。

手術所見：RaRbRsにおよぶ巨大な腫瘍が骨盤腔を占居していた。膀胱壁浸潤が疑われる部分を約5cm径に合併切除し、直腸切断術を施行した。全周性、5型Ai(膀胱)POH0M(-)N2(+)Stage IIIbであった (Fig. 3)。

病理組織学的検査：高分化腺癌，a1n0ly1v1 stage IIであった。腫瘍内には粘液の産生が著明であった (Fig. 4)。

免疫組織染色：1次抗体としてマウスモノクローナル抗体 MIB-1 (×20, DACO社) を用いて

avidin-biotin-peroxidase法で免疫組織染色を行った²⁾。MIB-1陽性率は21%と増殖能は通常の大腸癌の陽性率の約1/2で、癌抑制遺伝子 *p53* 蛋白の発現は陰性、ミスマッチ修復遺伝子 *MLH-1*、*MSH-2* 蛋白の発現はともに陰性であった。

DNA Ploidyの検索：Nakamuraらの方法³⁾により flowcytometer をもちいて核DNA量を測定したところ DNA histogram は Aneuploid patternを示した。

遺伝子検索：大腸癌を含む癌の家族歴は認めず、Amsterdam criteria や Japanese criteria には合致しなかったが、若年発症であることや組織上粘液産生が著明であることなどから HNPCC の発端者あるいは修復遺伝子の異常に関連した直腸癌の可能性を考え、本人および家族に遺伝子検索の意味を説明し、同意を得た上で家族性腫瘍研究

Fig. 3 Macroscopic findings revealed a type 2 tumor measuring 10 × 8cm at the rectum.

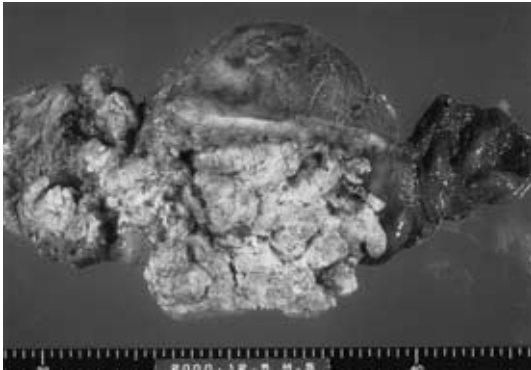
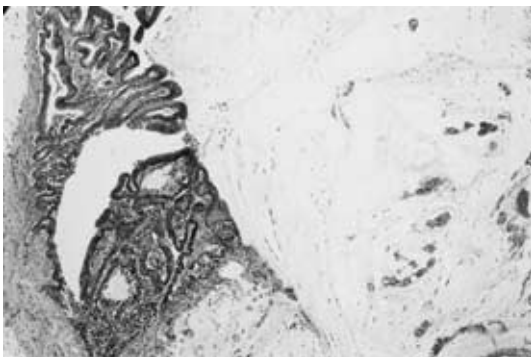


Fig. 4 Microscopic findings showed well differentiated adenocarcinoma with mucin production (× 20, H & E)



会の倫理診査委員会の承認のもとに遺伝子解析を施行した。パラフィン包埋標本から microdissection 法で DNA を抽出し、5つのマイクロサテライト DNA 領域 (BAT26, D2S123, D3S1611, D10S197, GLUR6) について自動シーケンサーを用いて microsatellite instability (MSI) の解析を行ったところ、すべてのマーカーで MSI をみとめ、いわゆる high frequency MSI (MSI-H) であった (Fig. 5)。HNPCC の可能性を考え再び家族・患者へ説明のうえ同意を得て germ line での修復遺伝子の異常を検索したところ、hMSH2 の Exon 12 の codon597 の 3塩基 ATG (Asp) が 1個欠失する inframe 変異を認められた (Fig. 6)。この変異による蛋白が正常の function を有しているか否かは検討

Fig. 5 Two examples of cases showing microsatellite instability at the locus D2S123 and BAT26. With respect to the corresponding normal DNA sample, novel alleles are present in the tumor (arrow)

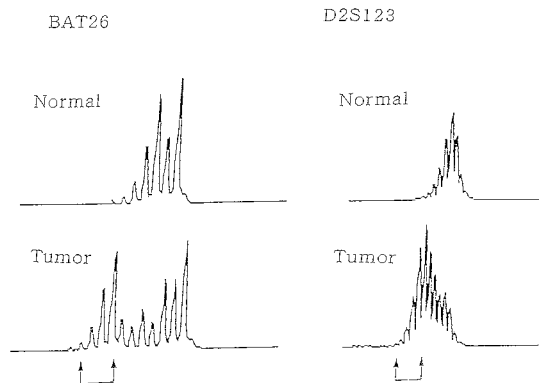
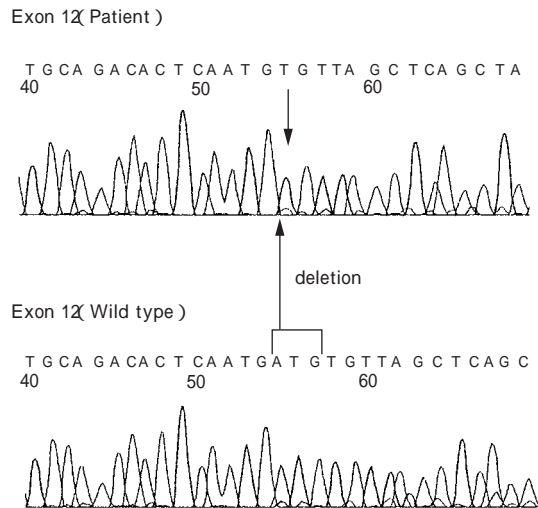


Fig. 6 Inframe mutation in codon 597 of exon 1 was recognized in h-MSH2 gene.



していないが hMSH2 遺伝子変異の database (International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer <http://www.nfdht.nl/database2/msh2-12.htm> (2002.10.8引用))によると、この変異は遺伝子多型としては認められず、これまで報告例のない germ line mutation と診断した。また、Exon 7 の codon390 に CTT (Leu) TTT (Phe) のミスセンス変異を認

Table 2 Clinicopathological characteristics between HNPCC (typical type) and a present case

	Typical HNPCC	present case
1. Age	42(average)	28
2. Location	right side colon	rectum
3. Pathological findings	poorly differentiated mucin production	well differentiated mucin production
4. Ploidy pattern	diploid	aneuploid
5. MSI status	MSI-H	MSI-H
6. Synchronous・metachronous colon cancer	+	?
7. Muiltupel cancer	+	?

めたが本変異は日本人一般に認められる遺伝子多型であり、病的変異ではないと判定した。MLH1 遺伝子では変異を認めなかった。k-ras 遺伝子は codon12 で GGT (Gly) GAT (Asp) へ点突然変異を認めた。

術後経過：創部感染を合併した以外は経過良好で術後良好で術後第 35 病日に退院した。血清 CEA 値は正常化した。

考 察

HNPCC は常染色体優性遺伝性疾患で大腸癌発癌 high risk の疾患であるが、ミスマッチ修復遺伝子の異常が原因であると事が明らかにされてから、hereditary mismatch deficiency syndrome という疾患名が適当ではないかとの意見もあり^{4,5)}、本症例のごとく大腸癌家族歴を伴わない HNPCC も報告されている^{6,7)}。Table 2 に典型的 HNPCC の症例と本症例の臨床病理学的な比較をまとめてみた。典型例とは異なる点が多くみられるが、これまでの報告例が従来の criteria に合致した症例のみであることを考えれば、大腸癌家族歴を伴わない HNPCC 症例の特徴が今後の症例の蓄積で明らかにされていくかもしれない。本症例は MLH1 の germ line mutation は認めなかったにもかかわらず免疫染色では MLH1 蛋白の発現がみられなかった。この原因として、MLH1 遺伝子のプロモーター領域の過メチル化により蛋白が産生されなかった可能性が考えられる⁴⁾。

分子生物学的検索の進歩により MSI は比較的容易に検索が可能になった。National Institute of Health Microsatellite instability Workshopにおいて MSI の評価に関する国際ガイドラインが示

され、現在 MSI は MSI-H, MSI-low, MSI-stable の 3 つに分類されている⁸⁾。従来の癌の家族性集積をもとに診断する方法に対して、MSI を HNPCC の診断基準に組み込もうとしたのが Bethesda criteria で^{1,9)}、Syngal らによると Bethesda criteria が HNPCC の診断に最も有用であると報告している¹⁰⁾。若年性大腸癌や多重癌症例の中の HNPCC の臨床的特徴を有する症例に対して MSI を検討することにより、HNPCC の効率的なスクリーニングが可能と考えられ、その有用性に関する報告例も見られる^{11,12)}。家族性大腸腺腫症の浸透率は 100% であるのに対し、HNPCC のキャリアからの発症に関しては研究段階にある。ASCO が示した遺伝子診断の臨床応用の有用性を示す分類では Group 2 であり発症前診断にはまだその限界がある¹³⁾。散発性大腸癌でも約 10~15% の割合で MSI-H を示す症例がみられるものの、MSI-H であった症例は germ line に修復遺伝子の異常の有無を検索することは、患者のみならず家族の大腸癌 high risk group の選別の意味で今後重要な意味を持つと考える。

本論文の要旨は第 56 回日本消化器外科学会で (2001 年 7 月 秋田) 発表した。

文 献

- 1) Fishel R, Lescoe MK, Rao MR et al : The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Cell 75 : 1027-1038, 1993
- 2) Weidner N, Moore DH, Vartanian R : Correlation of Ki-67 antigen expression with mitotic figure index and tumor grade in breast carcinomas using the novel paraffin ²-reactive MIB1 antibody. Hum

- Pathol 25 : 337 342, 1994
- 3) Nakamura S, Goto J, Kitayama Y et al : Application of the crypt-isolation technique to flowcytometric analysis of DNA content in colorectal neoplasms. *Gastroenterology* 106 : 100 107, 1994
- 4) 馬場正三 : 遺伝性非ポリポーシス大腸癌の遺伝子異常とその臨床応用 . 家族性腫瘍 1 : 16 21, 2001
- 5) 馬場正三 : 遺伝性非ポリポーシス大腸癌の遺伝子異常と臨床 . 日消病会誌 97 : 11 18, 2000
- 6) 大木進司, 野水 整, 山田睦夫ほか : 大腸癌家族歴を伴わない遺伝性非ポリポーシス大腸癌の 1 例 . 家族性腫瘍 1 : 37 39, 2001
- 7) Genuardi M, Anti M, Capozzi E et al : MLH1 and MSH2 constitutional mutations in colorectal cancer families not meeting the standard criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer* 75 : 835 839, 1998
- 8) Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR et al : A National Cancer Institute Workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition : Development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 58 : 5248 5257, 1998
- 9) Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR et al : A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome : meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 89 : 1758 1762, 1997
- 10) Syngal S, Fox EA, Eng C et al : Sensitivity and specificity of clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer associated mutations in MSH2 and MLH1. *J Med Genet* 37 : 641 645, 2000
- 11) Lamberrti C, Kruse R, Ruelfs C et al : Microsatellite instability are useful diagnostic tool to select patients at high risk for hereditary non-polyposis colorectal cancer : a study in different groups of patients with colorectal cancer. *Gut* 44 : 839 843, 1999
- 12) 中原雅浩, 岡島正純, 浅原利正 : 遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) の遺伝子診断と治療 . 臨外 56 : 651 657, 2001
- 13) Statement of the American Society of Clinical Oncology : Genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 14 : 1730, 1996

A Case of Juvenile Rectal Carcinoma without a Family History of Colorectal Cancer Accompanied with Mismatch Repair Gene Deficiency

Toru Yoshida^{1,5)}, Yuko Baba¹⁾, Osamu Shimooki¹⁾, Tadashi Abe¹⁾, Tamotsu Sugai²⁾,
Wataru Habano²⁾, Noriyuki Uesugi²⁾, Shin-ichi Nakamura²⁾,
Kazuyoshi Saito³⁾ and Hitoshi Nomizu^{4,5)}

¹⁾Division of Surgery Iwate Prefectural Kuji Hospital

²⁾Division of Pathology, Central Clinical Laboratory, School of Medicine Iwate Medical University

³⁾Department of Surgery I, Iwate Medical University

⁴⁾Department of Surgery, Hoshi General Hospital

⁵⁾Tohoku Familial Tumor Association

A 28-year-old man admitted for diarrhea was found on palpation to have an elastic hard mass, 10 cm in diameter, was palpated in the lower abdomen. Computed tomography and magnetic resonance imaging showed a solid tumor occupying the pelvic cavity. The preoperative diagnosis was rectal cancer and Miles' operation was conducted. Histopathological diagnosis was well differentiated adenocarcinoma with mucin production (a 1, ly1, v1, n0, ow-, aw-, ew-, stage II) High-frequency microsatellite instability(MSI-H) was identified in the rectal specimen using a microsatellite assay. Germline mutation in the *h-MSH2* gene was also identified. We diagnosed this case as rectal cancer accompanied with mismatch repair gene deficiency.

Assessment of MSI status is important for determining high-risk colorectal carcinoma.

Key words : microsatellite instability(MSI) hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma(HNPCC) *h-MSH2*
【 Jpn J Gastroenterol Surg 36 : 149 153, 2003 】

Reprint requests : Toru Yoshida Division of Surgery Iwate Prefectural Kuji Hospital
10 1 Asahi-machi, Kuji-shi, 028 8040 JAPAN