

DCC

**Clinical Significance of Expression of DCC Protein in Colorectal Carcinoma**

Jong Han Kim, MD., Byung Wook Mn, MD., Hong Young Mon, MD.

Department of Surgery, Korea University College of Med Seoul, Korea

**Purpose :** The objective of this study was to discover clinical importance of the DCC protein as a genetic that takes part in the metastatic process of colorecta

**Methods :** We performed clinical study among 113 pati who were diagnosed with colorectal cancer and con quently operated, on Korea University Guro Hspital Jan. 1994 to Dec. 1995. At the immunohistochemical s ing, 106 patients, were analyzed according to their rence and survival.

**Results :** From 106 patients 23 (21.7%) showed rec rences and distant metastases during follow up p There was no difference in local recurrence and d metastasis between the positive and negative groups stages did not contribute to making difference be positive and negative groups, except Dukes' C2, wher recurrence rate in the DCC protein negative group higher than positive group, and it was of clinical si The relationship between survival rate and DCC pro expression was not clinically significant.

**Conclusions :** The expression of DCC protein is rel to the recurrence, distant metastasis, and progn colorectal cancer in many reports. However, in our there was no correlation between the expression of protein and recurrence and survival rate, except Dik stage. More cases are needed to confirm our result. J 2001;17:153-158

**Key Words :** Colorectal cancer, DCC protein, DCC

가 가 , 가  
 가 , 가  
 가 , 가  
 가 , 가  
 가 , 가  
 DCC (De-  
 가  
 가  
 K-ras, APC, DCC  
 p53 , DCC  
 18  
 가 가 ,  
 DCC  
 가 ,  
 15-19 , Jen ,  
 18 2 ,  
 20 ,  
 Shibata ,  
 2 DCC ,  
 , 3 , 21  
 , DCC

DCC

PC-SPSS 9.0

Chi-square test Kaplan Meier

Log-rank test

p 0.05

1994 1 1995 12

113

111

가

1)

106

DCC

106

가 61

가 45

56.5

28

8

S

19

51

Dukes' A

4 μm

가 1

B1

10

B2

가 43

C1

3

C2

가 34

67°C

가

D가 15

B2

C2

가

(Table 1).

5

3%

10

106

Tris (Trizma base 1.21 g, NaCl 16 g,

H<sub>2</sub>O 2 L, pH 7.4)

20

가 23

21.7%

83

78.3%

DCC

(Pharminggen, 1 : 50)

4°C

18

Tris

biotin 2

(Vector Universal Elite kit)

가

40

Tris

가

strepta-

vidin

가

20

Tris

3-amino-9-ethyl-

carbazole (AEC)

가

10

Harris' hematoxylin

**Table 1.** Clinical characteristics of patients

Characteristics	
Age (years)*	56.53 ± 13.44
Sex (Male : Female)	61 : 45
Location of tumor (No.) <sup>†</sup>	
Right colon	28
Transverse colon	8
Left & sigmoid colon	19
Rectum	51
Total	106
Stage (Dukes') (No.) <sup>†</sup>	
A	1
B1	10
B2	43
C1	3
C2	34
D	15
Total	106

\*mean value ± standard deviation; <sup>†</sup> No. = number of cases.

DCC

106

, DCC

2) DCC

DCC 73  
 DCC 33  
 Duke's A 1, B1 3, B2 10  
 , C1 0, C2 11, D 8 가  
 (Table 2). DCC  
 15 20.5%

Table 2. DCC protein expression in stage

	DCC (+)	DCC (-)	Total
A	0	1	1
B1	7	3	10
B2	33	10	43
C1	3	0	3
C2	23	11	34
D	7	8	15
Total	73	33	106

Table 3. Tumor recurrence and DCC protein expression

	Disease free (%)	Recur (%)	Total
DCC positive	58 (79.5)	15 (20.5)	73
DCC negative	25 (75.8)	8 (24.2)	33
Total	83	23	106

p = 0.425

Table 4. Recurrence rate according to DCC protein expression in stage

	Disease free		Recur		p-value
	DCC (+)	DCC (-)	DCC (+)	DCC (-)	
B1	5	3	2	0	NS
B2	33	9	0	1	NS
C1	1	2	0	0	NS
C2	16	2	7	9	0.025

, DCC  
 8 24.2% DCC

(Table 3).

3) DCC

Dukes' B1, B2  
 DCC  
 C1, C2 . Dukes' B1 2  
 가 DCC  
 , B2 1  
 . C1 가  
 C2 16 DCC  
 가 7 , 가 9 .  
 DCC Dukes' C2  
 DCC  
 (Table 4).

4) DCC

DCC  
 DCC  
 5 59.3%, 61.9%  
 가 (Fig. 1). 가  
 가 Dukes' B2 C2  
 B2 DCC  
 5 70.0%,  
 87.5% (Fig. 2), C2 가  
 25.2%, 가 71.6% DCC

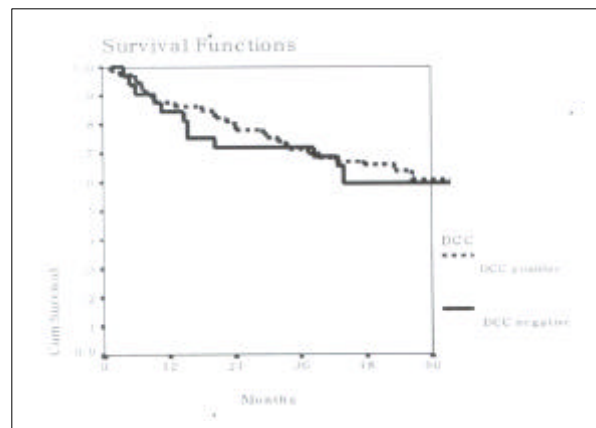


Fig. 1. Overall 5-year survival rate according to expression of DCC protein.

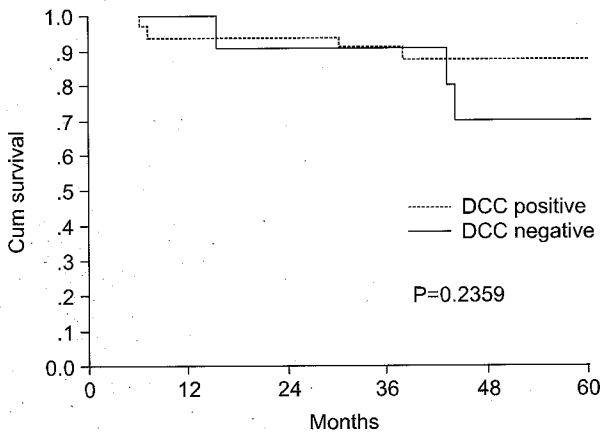


Fig. 2. Overall 5-year survival rate according to expression of DCC protein in Dukes' B2 (P=0.2359).

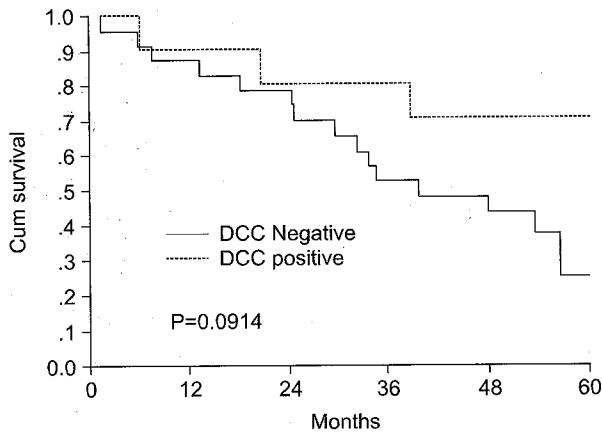


Fig. 3. Overall 5-year survival rate according to expression of DCC protein in Dukes' C2 (P=0.0914).

나타났으나, 모두 통계학적으로 의미있는 결과를 얻지 못하였다(Fig. 3)(p=0.24, p=0.09).

### 고 찰

위 연구에서 저자들은 대장직장암에서의 DCC 단백질의 발현을 면역조직화학 염색법을 통해 연구하였다. 최근의 연구에 의하면 Saito 등은 DCC 127-22 항체를 이용한 면역흡착법과 면역조직화학염색을 통해 대장직장암에서의 DCC 단백질 발현을 연구하였고, 이 항체는 DCC 생산물을 포함하고 있는 DCC 당단백질에 대한 단클론성항체이었다.<sup>22</sup> 또한 Goi 등은 RT-PCR과 면역흡착법을 이용하여 대장암조직에서 DCC 단백질과 그의 전령 RNA가 현저하게 줄어드는 것을 밝혀 내었고 Western 흡착법을 이용하여 수 개

의 대장직장암 세포에서 분자량 190 kD의 단일 띠를 얻을 수 있었다.<sup>3</sup> 이들에 의하면, 모든 대장직장암에서 주위의 정상점막과 비교하였을 때, DCC 단백질의 발현이 감소하였으며, 이를 면역 흡착법을 통하여 관찰할 수 있었다고 하며, 면역조직화학 염색법을 통해 DCC 단백질에 대한 반응도가 정상조직보다 양성 선종의 경우 감소하며, 악성종양의 경우 더욱 현저하게 감소하는 것을 볼 수 있었다고 한다. 이러한 결과는 DCC 단백질의 수용체 하향조절이 악성변형과 관련이 있다는 것을 시사한다고 할 수 있겠다. Kikuchi-Yanoshita 등은 대부분의 진행성 암에서 DCC 유전자의 발현이 없거나, 현저하게 감소한다고 보고하고 있는데,<sup>23</sup> 그들은 DCC 유전자가 초기 대장암이 진행성 암으로 발전하는 데 관여한다고 제시하였다. 염색체 5, 17, 18, 22번의 장완에서 일어나는 이소성소실(LOH: loss of heterogeneity)이 대장암에서 흔하게 보여지고 있는데, 여러 저자들은 종양억제 유전자의 불활성화가 대장암의 국소 재발 및 원격전이의 가능성을 높이는 데 기여한다고 주장하고 있다.<sup>15-18</sup> Kern 등은 일차적 대장직장암의 환자에서 수술 후 관찰기간 중 발생하는 국소 재발 및 원격전이와 유전자의 변이와의 관련성을 분석하고 대장직장암을 가진 환자 중 염색체 17번의 단완과 18번의 장완에서 유전적 소실을 보인 경우에 보다 많은 국소재발 및 원격전이의 발생률을 보인다고 주장하였다.<sup>24</sup> Ookawa 등은 염색체 13, 14, 17, 18번의 장완에서 일어나는 이소성 소실이 대장직장암의 일차적 병소에 비해 재발 및 전이된 병소에서 더욱 빈번하게 발생한다고 주장하였고, 이러한 유전자들의 변형이 종양세포가 재발 및 전이의 능력을 가질 수 있도록 한다고 하였다.<sup>15</sup> 또한, Iino 등은 염색체 18번의 유전적 소실이 간전이와 관련이 있다고 하였고, 22번의 소실은 림프절 전이와 관련이 있다고 하였다.<sup>17</sup> 한편, Itoh 등은 DCC 유전자의 전사리보핵산의 발현성을 조사하여 DCC 전사리보핵산의 발현성이 간전이를 보인 대장직장암에서 감소한다고 하였다.<sup>16</sup> 이러한 보고들은 모두 종양조직에서의 DCC 유전자의 기능적 소실이 국소 재발 및 원격전이에서 중요한 역할을 한다는 가설을 뒷받침 해주는 증거들이다. 그밖에, DCC 단백질의 발현성과 인간 대장직장암의 진행성과의 관련성이 보고되고 있는데, Gotley 등은 DCC 단백질의 발현성을 Western 흡착법을 이용하여 조사하여, DCC 단백질의 발현성이 대장암의 진행과 밀접한 관련이 있다는 사실을 밝혀 내었다.<sup>25</sup> 한편, Shibata 등은 DCC 단백질

2 3  
가 ,<sup>26</sup> Reymond 가 .  
DCC , DCC  
가 2 ,  
.  
<sup>28</sup>  
1994 1995 2  
DCC  
, DCC  
33 24.2% 8  
,  
DCC 73 20.5%  
15  
DCC  
, 가  
Dukes' B1, B2 C1 DCC  
, Dukes' C2 DCC  
, DCC  
Dukes' B2 DCC  
, Dukes'  
C2 DCC 5  
25.2%, DCC 71.6%  
DCC 가  
.  
DCC  
, 가  
, DCC  
, Dukes' C2 DCC  
DCC  
, Dukes' C2 DCC

## REFERENCES

- Hedrick L, Cho KR, Fearon ER, Wu TC, Kinzler KW, Vogelstein B. The DCC gene product in cellular differentiation, colorectal carcinogenesis. *Genes Dev* 1994; 8:1174-83.
- Peinado MA, Malkhosyan S, Velasquez A, Perucho M. Isolation and characterization of allelic losses and amplification in colorectal tumors by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 89:10065-9.
- Goi T, Yamguchi A, Nakagawara G. Reduced expression of deleted colorectal carcinoma (DCC) protein in established colon cancers. *Br J Cancer* 1998;77:466-71.
- Bos H, Fearon EK, Hamilton SR, Vogelstein B. Prevalence of ras gene mutations in colorectal cancers. *Nature* 1987;327:293-97.
- Forrester K, Almoguera C, Han K, Perucho M. Detection of high incidence of K-ras oncogenes during human colon tumorigenesis. *Nature* 1987;327:298-303.
- Fearon EK, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-67.
- Hamilton SR. The molecular genetics of colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 1993;105:3-7.
- Gorden J, Thliveris A, Samowitz W, White R. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* 1991;66:589-600.
- Kinzler KW, Nilbert MC, Vogelstein B, Nakamura Y. Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancers. *Science* 1991;251:1366-70.
- Fearon ER, Cho KR, Kinzler KW, Vogelstein B. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science* 1990;247:49-56.
- Vogelstein B, Fearon ER, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Eng J Med* 1988; 319:525-32.
- Baker SJ, Fearon ER, Vogelstein B. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989;244:217-21.
- Goyette MC, Cho K, Stanbridge EJ. Progression of colorectal cancers is associated with multiple tumor suppressor gene defects but inhibition of tumorigenicity is accomplished by correction of any single defect via chromosome transfer. *Mol Cell Biol* 1992;12:1387-95.

14. Klingelhutz AJ, Hedrick L, Cho KR, McDougall JK. The DCC gene suppresses the malignant phenotype of transformed human epithelial cells. *Oncogene* 1995;10:1581-6.
  15. Ookawa K, Sakamoto M, Hirohashi S, Yokota J. Concordant p53 and DCC alterations and allelic losses on chromosome 13q and 14q associated with liver metastasis of colorectal carcinoma. *Int J Cancer* 1993;53:382-7.
  16. Itoh F, Himoda Y, Ohe M, Yachi A. Decreased expression of DCC mRNA in human colorectal cancers. *Int J Cancer* 1993;53:260-3.
  17. Iino H, Fukayama M, Maeda Y, Wadanabe S. Molecular genetics for clinical management of colorectal carcinoma. *Cancer* 1994;73:1324-31.
  18. Kato M, Ito Y, Kobayashi S, Isono K. Detection of DCC and K-ras gene alterations in colorectal carcinoma tissue as prognostic markers for liver metastatic recurrence. *Cancer Suppl* 1996;77:1729-35.
  19. Miyake S, Nagai K, Yuasa Y. Point mutations and allelic deletion of tumor suppressor gene DCC in human esophageal cell carcinomas and their relation to metastasis. *Cancer Res* 1994;54:3007-10.
  20. Jen J, Kim H, Piantadosi S. Allelic loss of chromosome 18q prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;33:213-21.
  21. Shibata D, Reale MA, Lavin P. The DCC protein and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1996;335:1727-32.
  22. Saito M, Yamaguchi A, Goi T. Expression of DCC protein in colorectal tumors and its relationship to tumor progression and metastasis. *Oncology* 1999;56:134-41.
  23. Kikuchi-Yanoshita R, Konishi M, Fukunari H. Loss of expression of the DCC gene during progression of colorectal carcinomas in familial adenomatous polyposis and non-familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 1992;52:3801-3.
  24. Kern SE, Fearon ER, Tersmette KWI, Hamilton SR. Allelic loss in colorectal carcinoma. *JAMA* 1989;261:3099-103.
  25. Gotley DC, Reeder JA, Edweett J. The deleted in colon cancer (DCC) gene is consistently expressed in colorectal cancers and metastasis. *Oncogene* 1996;13:787-95.
  26. Shibata D, Reale MA, Lavin F. The DCC protein and prognosis in colorectal cancer. *Engl J Med* 1996;335:1727-32.
  27. Narayanan R, Lawlor KG, Schaapyeeld RQJ. Antisense RNA to the putative tumor suppressor gene DCC transforms Rat-1 fibrosis. *Oncogene* 1992;7:553-61.
  28. Reymond MA, Dworak O, Remke S. DCC protein as a predictor of distant metastasis after curative surgery for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1998;41:755-60.
-