

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：82402

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07339

研究課題名（和文）マイクロサテライト不安定性検査の定量化はMSI-Hの検出感度を向上させる

研究課題名（英文）Quantification of microsatellite instability tests improves detection sensitivity of MSI-H

研究代表者

山本 剛（Yamamoto, Gou）

地方独立行政法人埼玉県立病院機構埼玉県立がんセンター（臨床腫瘍研究所）・臨床腫瘍研究所・副部長

研究者番号：80384189

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、MSH6欠損による微小なマイクロサテライトの変化を検出するために、NGSを用いてMSI検査を行い、その結果を数値化して定量評価した。その結果、本手法はMSI検査の感度を上昇させ、MSH6欠損による微小なマイクロサテライトの変化も検出できることが示された。本研究は、MSI検査の診断精度を向上させ、リンチ症候群の効果的な拾い上げ及び免疫チェックポイント阻害剤の有効な使用に大きく貢献する可能性がある。さらに我々はこの研究の過程と成果を応用し、MSI検査の精度管理、胃がんにおけるMSI検査とIHC検査の比較、MMR遺伝子バリエーションの評価基準作成について研究を遂行している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高度マイクロサテライト不安定性（MSI-H）を示すがんに対して、免疫チェックポイント阻害剤が著効し、内科的治療によるがんの消失が報告されている中で、MSI-Hを調べる為のMSI検査は非常に重要である。我々の研究成果は、MSI検査の精度上昇により免疫チェックポイント阻害剤の適応を増やしがんの治療の進歩に貢献する一方で、リンチ症候群の拾い上げ精度を上昇させ、精度の高い診断によるがんの予防にも繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we performed MSI testing using NGS to detect subtle microsatellite changes caused by MSH6 deficiency. The results were quantified and subjected to quantitative evaluation. The findings demonstrated that this approach enhances the sensitivity of MSI testing and enables the detection of minute microsatellite changes associated with MSH6 deficiency. The outcomes of this study have the potential to improve the diagnostic accuracy of MSI testing and greatly contribute to effective identification of Lynch syndrome and the successful use of immune checkpoint inhibitors. Furthermore, we are applying the processes and findings of this study to quality control in MSI testing, comparing MSI testing with IHC testing in gastric cancer, and developing evaluation criteria for MMR gene variants.

研究分野：遺伝性腫瘍

キーワード：マイクロサテライト不安定性 リンチ症候群 ミスマッチ修復 NGS 遺伝性腫瘍症候群

1. 研究開始当初の背景

(1) 次世代シーケンサー (NGS) を用いたマイクロサテライト不安定性 (MSI) 検査の定量評価による精度向上の試み

マイクロサテライト不安定性 (MSI) 検査は、大腸癌や子宮体癌を代表とする様々な悪性腫瘍を発症する遺伝性腫瘍症候群であるリンチ症候群のスクリーニング検査として用いられてきた。MSI 検査は腫瘍細胞において DNA ミスマッチ修復 (MMR) 機能の喪失を検出することができる (文献 1)。近年、MSI 検査はがん患者への免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) 適応を目的として使用され始めている (文献 2)。さらに MMR タンパク質 (MLH1、MSH2、MSH6、PMS2) の免疫染色 (IHC) が MMR 機能の喪失 (dMMR) を判定する方法として使用されている (文献 3)。現在は全ての大腸癌あるいは子宮体癌に対して、MSI 検査もしくは IHC 検査による dMMR の判定を行うユニバーサルスクリーニング (UTS) が推奨されており、この 2 つの検査の一致率は非常に高い (文献 4)。しかしどちらの検査にも欠点があり、MSI 検査は微細な変化しか示さない場合がある MSH6 欠損症例において偽陰性となる可能性がある (文献 5, 6)。IHC 検査では *MLH1* や *MSH6* のミスセンスバリエーションにおいて偽陽性となる場合がある (文献 6) とくに

MSH6 欠損症例の検出が課題と思われ (文献 7)、MSI 検査の感度向上が必要となっている。

(2) 胃癌における MSI 検査と IHC 検査の一致率の検証

胃癌は大腸癌、子宮体癌について 3 番目に MSI-H 癌が多く (文献 8)、dMMR 検査が臨床重要であるが、胃癌において MSI 検査と IHC 検査の一致率を解析している報告は少ない (文献 9, 10)。また、日本において ICI の適応を判定するために用いられているプロメガパネル (文献 8) を用いた MSI 検査との一致率の報告は我々が知る限り存在しない。

2. 研究の目的

(1) MSI 検査はフラグメント解析による正常部と腫瘍部の波形の違いを肉眼で比較している。その為、微細な違いについては評価が困難であり、これが MSH6 欠損症例における偽陰性に関係していると考えられる。そこで NGS を用いてマイクロサテライト領域をシーケンスし、マイクロサテライト領域の塩基長の分布を数値化することによって、統計的に差異を解析することを目的とした。

(2) 胃癌手術検体の連続症例を用いて、それぞれ FFPE 組織切片を用いた MSI 検査と IHC 検査を行い、一致率を解析する。また、胃癌における MSI-H 症例の臨床病理学的特徴や、MSI 検査と IHC 検査の不一致症例の特徴について解析を行い、胃癌における dMMR 検査の特徴を理解することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象：1999 年から 2015 年までに当院で外科的切除が行われた大腸癌症例 2900 例を用いた。研究にあたって、全ての患者から同意を得ている。本研究は、埼玉県立がんセンター倫理審査委員会の承認を経て遂行されている (承認番号 476、729)。

フラグメント解析による MSI 検査：2900 症例の大腸癌凍結組織検体とそれに対応する正常部の検体から DNA を抽出し、フラグメント解析による MSI 検査を行った。GenomeLab GeXP Genetic Analysis System (Beckman Coulter) を使用し、マーカーには 5 か所の mononucleotide マーカー (BAT25, BAT26, NR21, NR24, MONO27) と *TGFBR2* を用いた。全ての結果の中から、MSI-H24 症例、MSI-L7 症例、MSS19 症例を含む 50 症例を Discovery コホートとして選択した (表 1)。さらに Validation コホートとして、MSI-H17 症例、MSI-L3 症例、MSS17 症例をランダムに選択した (表 2)。

| Cases | MSI Status | | Microsatellite markers (CE/NGS) | | | | | |
|-------|------------|--------|---------------------------------|-------|------|------|--------|--------|
| | CE | NGS | BAT25 | BAT26 | NR21 | NR24 | MONO27 | TGFBR2 |
| D1 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D2 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D3 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D4 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D5 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D6 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | -/ |
| D7 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D8 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D9 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D10 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D11 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D12 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D13 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D14 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D15 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D16 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D17 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D18 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D19 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D20 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D21 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D22 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | -/ |
| D23 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D24 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D25 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | -/ |
| D26 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D27 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D28 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D29 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D30 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D31 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D32 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D33 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D34 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D35 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D36 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D37 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D38 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D39 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D40 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D41 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D42 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D43 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D44 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D45 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| D46 | Low | Low | -/- | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D47 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D48 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D49 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| D50 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |

表 1

ライブラリ作製とシーケンス：上記マーカー領域のプライマーを用いて Multiplex PCR を行った。PCR には Multiplex PCR Kit (キアゲン) を使用した。ライブラリ作成には、NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina (NEB) を使用した。シーケンスは、MiSeq と MiSeq Reagent Kit v2 を用いて、150bp のペアエンドで行った。

マイクロサテライト領域長の定量と解析：シーケンスの結果得られた Fastq ファイルより、既報(文献 11) の方法を用いてマイクロサテライト領域の長さを算出した。横軸を各マイクロサテライト領域長、縦軸をそれぞれの長さのリードが全体に占める割合としてグラフを描くと、フラグメント解析で得られた波形を類似したグラフを描くことができた。正常部と腫瘍部における長さの分布から加重平均を求めた。

遺伝学的検査：表 2 の Case V12 に対する MMR 遺伝子遺伝学的検査は、全血から抽出した DNA と RNA Targeted DNA Custom Panel (キアゲン)、RNA は Nextera XT DNA Library Prep Kit (イルミナ) を用いて行い、解析には CLC Genomics Workbench (キアゲン) を用いた。

免疫染色：遺伝学的検査と同じ症例の腫瘍に対して MMR タンパク質の免疫染色を行った。抗体には、anti-hMLH1 antibody (clone ES05, DAKO, dilution 1:50), anti-hMSH2 antibody (clone FE11, DAKO, 1:50), anti-hMSH6 antibody (clone EP49, DAKO, 1:50), anti-hPMS2 antibody (clone EP51, DAKO, 1:40) を使用し、染色は、DAKO EnVision FLEX system (アジレントテクノロジー) を使用した。

| Cases | MSI Status | | Microsatellite markers (CE/NGS) | | | | | |
|-------|------------|--------|---------------------------------|-------|------|------|--------|--------|
| | CE | NGS | BAT25 | BAT26 | NR21 | NR24 | MONO27 | TGFBR2 |
| V1 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V2 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V3 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V4 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V5 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V6 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V7 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V8 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V9 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V10 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V11 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V12 | Low | High | -/+ | +/+ | -/+ | -/- | -/- | -/- |
| V13 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V14 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V15 | Low | Low | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V16 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V17 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V18 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V19 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V20 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V21 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V22 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V23 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V24 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V25 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V26 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V27 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V28 | High | High | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| V29 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| V30 | Stable | Stable | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |

表 2

を用いて行った。DNA は QIAseq

(2) 対象：489 症例の埼玉医科大学で切除された胃がん手術切除検体を使用した。本研究は埼玉医科大学倫理審査委員会の承認(承認番号 924-VIII, 925, 926-V)及び埼玉県立がんセンター倫理審査委員会の承認(承認番号 1185)を経て遂行されている。

臨床病理学的解析：手術症例の HE 染色像と臨床情報を用いて、臨床病理学的解析を行った。免疫染色：免疫染色はすでに別の論文として報告されている(文献 12)

MSI 検査：MSI 検査は、腫瘍 FFPE 組織より抽出した DNA を用いて、フラグメント解析法で行った。いくつかの症例については(1)で示す NGS を用いた手法でも解析を行ったが、結果に差異は見られなかった。

MLH1 プロモータ領域メチル化検査：免疫染色あるいは MSI 検査で dMMR と判定された症例に対して、MLH1 プロモータ領域のメチル化を調べた。方法は既報で用いられている手法を使用した(文献 13)。

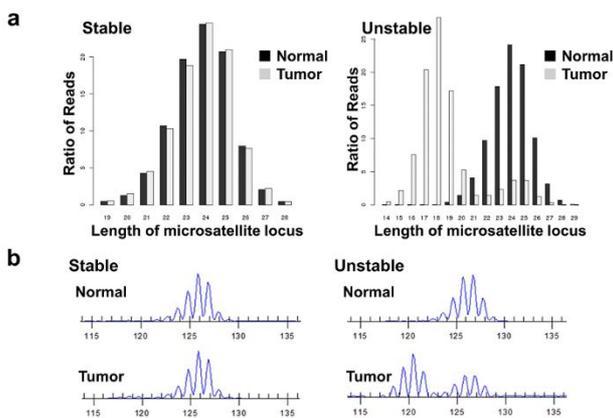


図 1 NGS を用いたマイクロサテライト領域の解析
a NGS を用いてシーケンスしたデータから作成したマイクロサテライト長の分布を示すグラフ。
b 同じサンプルのフラグメント解析の結果。NGS を用いてもフラグメント解析と同様にマイクロサテライト領域の不安定性を見ることができる。

4. 研究成果

(1) ディスカバリーコホートでの結果：ディスカバリーコホートを用いてそれぞれのマーカー領域の加重平均を解析した結果、BAT25, 0.364; BAT26, 0.307; NR21, 0.384; NR24, 0.615; MONO27, 0.581; and TGFBR2, 0.100 をカットオフ値として使用すると、100%の感度・特異度で MSI-H を検出可能であった。また、フラグメント解析の結果とも完全一致していた。

バリデーションコホートでの結果：前述のカットオフ値を用いて解析した結果、フラグメント解析の評

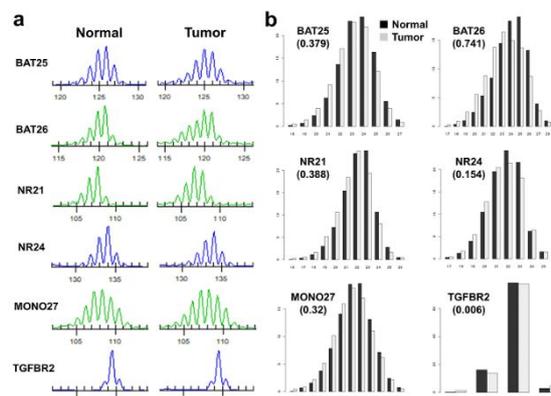


図 2 NGS で判定の変った症例

a はフラグメント解析の結果、b は NGS 解析の結果を示す。NGS 解析の結果のそれぞれのマーカーに示された数値は加重平均の値。BAT25、BAT26、NR21 がカットオフ値を超えており、肉眼的に評価を行うフラグメント解析では気づきにくい差が検出出来ていると思われる。

価で MSI-L だった症例が、NGS 解析の結果 MSI-H と判定された (図 2)。

この症例に対して MMR タンパク質免疫染色を行うと、MSH6 の欠失が認められ (図 3) 遺伝学的検査では、DNA から LRG_219t1:c.3172+2T>C を検出し、RNA 解析の結果このバリエーションは MSH6 のエクソン 4 のスキップを引き起こしていることが明らかとなった。ClinVar に登録はなかったが、我々はこのバリエーションを Likely pathogenic と評価した。本研究成果から、マイクロサテライト領域を NGS を用いてシーケンスし、結果を定量的に評価することによって、肉眼による評価では分かりにくい微細なマイクロサテライト領域の変化を見つけることが可能であると明らかになった。

MSH6 の抗体が核に染色されずに、異常な細胞質陽性像をしめしている。

(2) MSI 検査と IHC 検査の比較結果：全 489 症例のうち、免疫染色で MLH1/PMS2 の欠失を認めるにも関わらず、MSS と判定された症例が 2 症例あった (図 4)。いずれの症例も MLH1 プロモーター領域メチル化陽性であった。

胃がんにおける MSI-H 症例の臨床病理学的特徴：表 3 に示すように、MSI-H 胃癌は、高齢・女性。胃下部に多かった。また、一般的には Por1 サブタイプに MSI-H 胃癌が多いとされているものの、Tub2 の組織型を含む症例が多いことが明らかとなった。

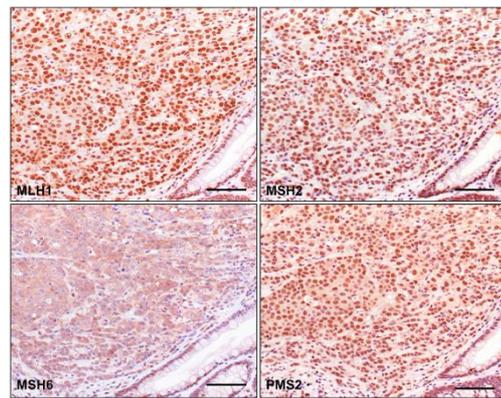


図 3 図 2 の症例の免疫染色

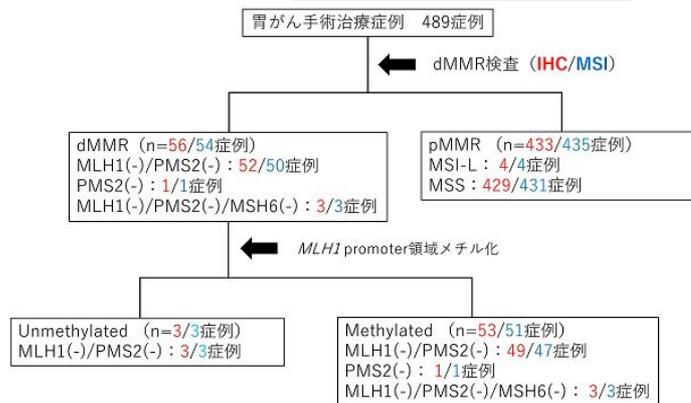


図 4 MSI 検査と IHC 検査の比較

MSI-H 胃癌は Tub2 と Por1 の組織型を含む女性の胃癌にエンリッチされている：組織型で分類した結果、有意な組織型に関わらず、Tub2 と Por1 の組織型を含んでいる女性の胃癌では 60% が MSI-H であった。

MSI 検査と IHC 検査で不一致の症例に対する再解析：MSI 検査と IHC 検査の結果が不一致だった症例の一部については、MSI の波形を再度見直すことにより MSI-H と判定できることが分かった。しかし、それでも不一致の症例が残る為、dinucleotide マーカーを含んだ MSI 検査を行った結果、不一致例では dinucleotide マーカー領域が不安定になっている可能性が示唆された (図 5)。この結果は胃癌において dMMR を判定する際には、免疫染色が有用である可能性と、MSI 検査ではマーカー領域の選択が重要となる可能性を示していると思われる。

| | MSS/MSI-L n=435 (89%) | MSI-H n=54 (11%) | p-Value |
|-----------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| 年齢中央値 (最小値-最大値) | 69(22-99) | 75 (56-87) | <0.01 ¹ |
| 性別 | | | |
| 女性 | 99 (23%) | 30 (56%) | <0.01 ² |
| 男性 | 336 (77%) | 24 (44%) | |
| 腫瘍部位 | | | |
| 上部 | 145 (33%) | 5 (9%) | <0.01 ² |
| 中部 | 131 (30%) | 10 (19%) | |
| 下部 | 159 (37%) | 39 (72%) | |
| 肉眼型分類 | | | |
| 0型 | 33 (8%) | 2 (4%) | <0.01 ² |
| 1型 | 30 (7%) | 1 (2%) | |
| 2型 | 120 (28%) | 31 (57%) | |
| 3型 | 169 (39%) | 17 (31%) | |
| 4型 | 63 (14%) | 1 (2%) | |
| 5型 | 20 (5%) | 2 (4%) | |
| 組織型 | | | |
| 分化型 | 222 (51%) | 28 (52%) | >0.99 ² |
| 未分化型 | 213 (49%) | 26 (48%) | |
| TNM分類 | | | |
| Stage I | 34 (8%) | 12 (22%) | <0.01 ² |
| Stage II | 118 (27%) | 19 (35%) | |
| Stage III | 176 (40%) | 20 (37%) | |
| Stage IV | 107 (25%) | 3 (6%) | |

¹Mann-Whitney U-test; ²Fisher's exact test

表 3 MSI-H 胃癌の臨床病理学的特徴

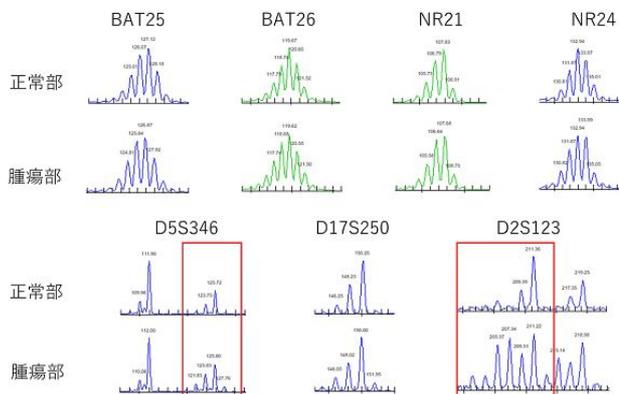


図 5 MSI 検査結果と IHC 検査結果が不一致だった症例における dinucleotide マーカーを含んだ MSI 検査の結果。赤い枠で囲った部分が不安定と判断される。

<引用文献>

1. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. (1998) 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.
2. Le DT, Durham JN, Smith KN et al. (2017) Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 357:409-413. <https://doi.org/10.1126/science.aan6733>
3. Baudhuin LM, Burgart LJ, Leontovich O et al. (2005) Use of microsatellite instability and immunohistochemistry testing for the identification of individuals at risk for Lynch syndrome. *Fam Cancer* 4:255-265.
4. Zhang X, Li J (2013) Era of universal testing of microsatellite instability in colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol* 5:12-19. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v5.i2.12>
5. Zhang L (2008) Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part II. The utility of microsatellite instability testing. *J Mol Diagn* 10:301-307. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080062>
6. Houlleberghs H, Goverde A, Lusseveld J et al. (2017) Suspected Lynch syndrome associated MSH6 variants: A functional assay to determine their pathogenicity. *PLoS Genet* 13:e1006765. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006765>
7. Wu X, Snir O, Rottmann D et al. (2019) Minimal microsatellite shift in microsatellite instability high endometrial cancer: a significant pitfall in diagnostic interpretation. *Mod Pathol* 32:650-658. <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0179-3>
8. Akagi K, Oki E, Taniguchi H, Nakatani K, Aoki D, Kuwata T, Yoshino T, *et al*: Real-world data on microsatellite instability status in various unresectable or metastatic solid tumors. *Cancer Sci* 112: 1105–1113, 2021.
9. Beghelli S, de Manzoni G, Barbi S, Tomezzoli A, Roviello F, Di Gregorio C, Vindigni C, Bortesi L, Parisi A, Saragoni L, et al: Microsatellite instability in gastric cancer is associated with better prognosis in only stage II cancers. *Surgery* 139: 347–356, 2006.
10. Seo HM, Chang YS, Joo SH, Kim YW, Park YK, Hong SW, Lee SH: Clinicopathologic characteristics and outcomes of gastric cancers with the MSI-H phenotype. *J Surg Oncol* 99: 143–147, 2009.
11. Gan C, Love C, Beshay V et al. (2015) Applicability of next generation sequencing technology in microsatellite instability testing. *Genes (Basel)* 6:46-59. <https://doi.org/10.3390/genes6010046>
12. Ito T, Suzuki O, Kamae N, Tamaru JI, Arai T, Yamaguchi T, Akagi K, Eguchi H, Okazaki Y, Mochiki E, *et al*: Comprehensive analysis of DNA mismatch repair-deficient gastric cancer in a Japanese hospital-based population. *Jpn J Clin Oncol* 51: 886–894, 2021.
13. Yamamoto A, Yamaguchi T, Suzuki O, Ito T, Chika N, Kamae N, Tamaru JI, Nagai T, Seki H, Arai T, et al: Prevalence and molecular characteristics of DNA mismatch repair deficient endometrial cancer in a Japanese hospital-based population. *Jpn J Clin Oncol* 51: 60–69, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamamoto Gou, Takenoya Takashi, Takahashi Akemi, Osanai Yukiko, Kakuta Miho, Tachikawa Tetsuhiko, Washio Takanori, Kamiyama Masato, Shiibashi Michio, Yamaguchi Shigeki, Akagi Kiwamu | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Quantitative evaluation of MSI testing using NGS detects the imperceptible microsatellite changed caused by MSH6 deficiency | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Familial Cancer | 6. 最初と最後の頁 137 ~ 143 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10689-020-00203-3 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamamoto Gou, Miyabe Izumi, Tanaka Keisuke, Kakuta Miho, Watanabe Motoko, Kawakami Satoru, Ishida Hideyuki, Akagi Kiwamu | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 SVA retrotransposon insertion in exon of MMR genes results in aberrant RNA splicing and causes Lynch syndrome | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Human Genetics | 6. 最初と最後の頁 680 ~ 686 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41431-020-00779-5 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 リンチ症候群における遺伝子バリエーションの確定と評価への取り組み |
| 3. 学会等名 第97回大腸がん研究会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 遺伝性腫瘍症候群の診断を目的としたパネル検査に対するISO15189認定取得の試み |
| 3. 学会等名 第28回日本遺伝性腫瘍学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 日本人の胃がんにおけるMSI検査とIHC検査の比較検討 |
| 3. 学会等名 第27回日本遺伝性腫瘍学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 SVA retrotransposon insertion in exon of MMR genes causes Lynch syndrome |
| 3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 A comparative study of MSI and IHC tests in Japanese gastric cancer. |
| 3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 日本人に特有なSVA型レトロトランスポゾン配列挿入によるリンチ症候群の創始者変異 |
| 3. 学会等名 第26回日本遺伝性腫瘍学会学術集会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 Mutational signature of synchronous multiple primary cancers in Lynch syndrome patients |
| 3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 PMS2遺伝子のrecombinationとFusion transcript |
| 3. 学会等名 第25回日本家族性腫瘍学会学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Gou Yamamoto |
| 2. 発表標題 Analysis of SVA retrotransposon insertions in Mismatch repair genes |
| 3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 レトロトランスポソンはリンチ症候群関連遺伝子における大きなバリエーションに関与する |
| 3. 学会等名 第64回人類遺伝学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 NGSを用いたCNV検出によるLynch症候群病的パリアントの確定 |
| 3. 学会等名 第24回日本家族性腫瘍学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Gou Yamamoto |
| 2. 発表標題 Analyzing pathogenic variants in Lynch syndrome by DNA and RNA sequencing |
| 3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山本 剛 |
| 2. 発表標題 遺伝性腫瘍症候群における DNA・RNAシーケンスを用いたパリアント解析 |
| 3. 学会等名 第6回FAP研究会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------|--|--|----|
| 研究 分担 者 | 宮部 泉 (Miyabe Izumi) (20800155) | 埼玉県立がんセンター(臨床腫瘍研究所)・病院 腫瘍診 断・予防科・研究員 (82402) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 赤木 究 (Akagi Kiwamu) (30244114) | 地方独立行政法人埼玉県立病院機構埼玉県立がんセンター (臨床腫瘍研究所)・病院 腫瘍診断・予防科・科長(兼)診療部長 (82402) | |
| 研究分担者 | 高橋 朱実 (Akemi Takahashi) (40743620) | 地方独立行政法人埼玉県立病院機構埼玉県立がんセンター (臨床腫瘍研究所)・病院 腫瘍診断・予防科・研究員 (82402) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 | | | |
|---------|---------|--|--|--|
| 米国 | ClinGen | | | |
| 米国 | ClinGen | | | |