

令和元年5月9日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09305

研究課題名(和文) マイクロサテライト不安定性SG01変異による大腸がんの染色体不安定性誘導効果

研究課題名(英文) SG01 mutation by MSI induces CIN

研究代表者

岩泉 守哉 (Iwaizumi, Moriya)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：60444361

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：研究期間内には以下のことが判明した。1)SG01遺伝子のエクソン領域において、マイクロサテライト領域は5か所存在し、2)胃癌大腸癌においてそのうち1か所で高頻度にフレームシフト変異を生じていた。3)このフレームシフト変異はマイクロサテライト不安定性の有無に関連がなかった。4)この変異により産生される蛋白を発現する細胞株を樹立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、マイクロサテライト領域のフレームシフト変異は必ずしもマイクロサテライト不安定性に依存するとは限らないということが判明した。すなわち現在免疫チェックポイント阻害薬の標的であろうとされる Tumor mutation burdenが必ずしもマイクロサテライト不安定性によるものではないのと同様、他に変異を起こしやすい原因があることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that 1)SG01 gene has five microsatellite instability regions 2)among five MS regions we found that one region had somatic mutation in high frequency in gastric cancer and colorectal cancer. 3)We established the truncated SG01 protein expression vector lead by the mutation.

研究分野：消化器内科学

キーワード：染色体不安定性 マイクロサテライト不安定性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年登場している分子標的治療薬と5FU系薬剤、CPT11、オキサリプラチンなどの殺細胞性抗がん薬との併用で大腸がん患者への利益は多い。治療レジメンの多様化が急速に進んでいる中、個々の大腸がんの分子遺伝学的特徴を正確に把握することが有効で安全な薬物治療の推進と新規治療薬の開発基盤になると考えられる。

大腸癌の遺伝子不安定性には、DNA ミスマッチ修復 (MMR) の異常により変異が起こりやすいマイクロサテライト不安定性 (MSI) と、染色体の数的異常や構造異常を認める染色体不安定性 (CIN) がある (Boland CR, Goel A, Gastroenterology 2010)。これまで、散発性の MSI 大腸がんは CIN 大腸がんは相反し、CIN 大腸がんでは MSI を有する大腸がんがほとんど認められないとされていた。しかしながら近年の分子遺伝学的技術の進歩と臨床病理学的検討の積み重ねにより、両者の特徴を有する大腸がんが一定の割合で存在することを示唆する報告が見られている。そのひとつが SG01 遺伝子変異大腸がんである。

SG01 によってコードされる shugoshin1 (hSgo1) は、減数分裂および体細胞分裂において正確な染色体分配が行われるうえで重要なセントロメア蛋白である。(Kitajima TS, et al. Nature 2004, McGuinness BE, et al. PLoS Biol 2005)。申請者らの研究グループは、hSgo1 発現低下大腸がんが右側結腸に多く、かつ、染色体の数的異常が認められるという CIN に特徴的な知見を見だし、細胞実験的に SG01 のノックダウンや、直腸がん患者から同定された新規 SG01 スプライシング異型の発現が CIN を誘導することを解明してきた (Iwaizumi M, et al. Gut 2009, Kahyo T, Iwaizumi M, et al. Oncogene 2011)。このような中、近年 MSI 陽性大腸がん・胃がんの約 25% に SG01 遺伝子のアデニン繰り返し配列 (マイクロサテライト領域) のフレームシフト変異が認められると報告されたが (Kim SM, et al Human Pathol. 2013)、SG01 遺伝子のコード領域にはこの報告部位以外にもマイクロサテライト領域が複数存在している。全ての SG01 コード領域のフレームシフト変異が MSI 大腸がんの CIN の誘導効果にどのように関与するのかの報告はこれまでになく、これらを臨床病理学的・分子遺伝学的・細胞生物学的に一貫性を持って検討することで MSI と CIN の両者に関連する大腸がんの病態把握に寄与すると考えている。

薬物療法感受性から MSI 陽性大腸がんの CIN 誘導効果を把握することもまた、将来の個別化医療に貢献すると考えている。申請者は 2009 年 10 月から 3 年間、大腸がんの MSI 研究の第一人者であるミシガン大学の John Carethers 教授のもと、MSI 陽性大腸がん 5FU 感受性が高まる機序について解明してきた (Iwaizumi M, et al. Cancer Biol Ther 2011, Tajima A, Iwaizumi M, et al. PLoS One 2011, Iwaizumi M, et al. Mutat Res 2013)。さらに MSI 標的遺伝子 MBD4 のフレームシフト変異が 5FU や TAS102 の活性体であるトリフルリジンの感受性を高めることを大腸がん細胞株を用いた実験で証明した (科学研究費若手 B [代表者: 岩泉守哉 課題番号 25860530])。同時に申請者らのグループは、SG01 variant B 発現がんがタキサン耐性であることも証明しており (Matsuura S, Kahyo T, Iwaizumi M, et al. Sci Rep 2013)、MSI と CIN の両者を研究してきた中で、MSI と CIN をつなぐ SG01 変異の治療感受性効果の解明が大腸がん治療の個別化に貢献するとの着想に至った。

### 2. 研究の目的

本研究は、大腸がんの発育進展の原因のひとつであるマイクロサテライト不安定性 (MSI) により誘導される、正確な染色体分配に重要な SG01 遺伝子のフレームシフト変異がどのように染色体不安定性 (CIN) を誘導し、大腸がんの発育進展に関与するかの解明を目的としている。

また、MSI を背景に生じた SG01 遺伝子変異より誘導された CIN 大腸がんの薬物療法感受性変化を検討することにより、MSI かつ CIN 大腸がんの病態から考えた有効で安全な大腸がん薬物療法の推進に貢献することも目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) SG01 マイクロサテライト変異陽性大腸がん患者の臨床病理学的特徴

消化管がんの SG01 マイクロサテライト変異に関する報告はごく一部のマイクロサテライト領域に限られているが、全てのマイクロサテライト領域での変異検索が大腸がんの病態把握に重要であると考えられる。そこで臨床サンプルを用いて、SG01 コード内の全てのマイクロサテライト領域の変異検索を行い、大腸がん症例の臨床病理学的特徴を SG01 変異部位別に比較検討する。

#### (2) SG01 マイクロサテライト変異蛋白による染色体不安定性誘導効果

SG01 マイクロサテライト変異により翻訳される変異蛋白の機能解析は既報の SG01 変異も含めてなされていない。そこで全てのマイクロサテライト領域の SG01 変異が産生する変異型 hSgo1 蛋白を大腸がん細胞株に強制発現させ、体細胞分裂期の染色体動態や異数体の出現を観察することで染色体誘導効果を解析する。

#### (3) SG01 マイクロサテライト変異陽性大腸がん患者のがん薬物療法感受性の臨床的特徴

MSI を認める大腸がん患者では MSI を認めない大腸がん患者と比較し 5FU 系ベースの化学療法による十分な有益性は得られないが (Ribic CM, et al. N Engl J Med 2003)、MSI を背景にした SG01 変異による CIN 陽性大腸がんの薬物療法の効果についての臨床的検討をされた報告はない。そこで臨床サンプルを用いて、SG01 コード内の全てのマイクロサテライト領域の変異別に、大腸がん薬物療法の効果を SG01 変異を認めない群と比較検討する。

#### (4) SG01 マイクロサテライト変異蛋白の発現によるがん薬物療法感受性変化

SG01 マイクロサテライト変異により翻訳される変異蛋白発現下の抗がん薬の感受性変化を解析した報告はこれまでにない。そこで全てのマイクロサテライト領域の SG01 変異が産生する変異型 hSgo1 蛋白を大腸がん細胞株に強制発現させ、野生型 hSgo1 強制発現大腸がん細胞株の抗がん薬に対する感受性と比較することで、SG01 変異によるがん薬物療法感受性変化を解析する。

#### 4. 研究成果

研究期間内に、以下のことが判明した。1) 胃癌および大腸癌患者それぞれ 30 例において、SG01 フレームシフト変異が認められたのはそれぞれ 13 例および 11 例と比較的高頻度であった。また、MSI 陰性癌であってもフレームシフト変異は認められた。また、進行病期が早期であっても進行期であっても頻度に様認められなかった。今後、MSI 陰性かつ SG01 フレームシフト変異陽性例の分子遺伝学的基盤の解析をすることで、高頻度 tumor mutation burden 引き起こす要因の解明に近づき、分子遺伝学的背景からの薬物感受性の分類が進むのではないかと解析を考えている。

2) SG01 フレームシフト変異蛋白発現プラスミドを作成し、ヒト胃癌および大腸癌細胞株に導入し、この変異蛋白安定発現株の樹立に成功した。現在、本発現株において染色体動態の詳細な解析を実施しているが、印象としては細胞分裂期が長時間に及び傾向にあった。このことは、以前我々が SG01 ノックダウンにより同様の成果が得られたものと似ており、理にかなっていた。3) その他関連の成果は以の通り、MSI により誘導される標的遺伝子 MBD4 の発現は、5FU のみならず TAS102 の感受性も著明に増加させた。多発側方進展型腫瘍の正常粘膜、腺腫部、および癌部において、遺伝子パネル検査を実施したところ、癌化には TP53 の変異が関与していることが判明した。遺伝性びまん性胃癌をはじめ、遺伝性腫瘍診療の構築にも本研究の手法が生かされた。

#### 5. 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計7件)

1. Suzuki S, Iwaizumi M, Yamada H, Sugiyama T, Hamaya Y, Furuta T, Kanaoka S, Sugimura H, Miyajima H, Osawa S, Carethers JM, Sugimoto K. MBD4 frameshift mutation caused by DNA mismatch repair deficiency enhances cytotoxicity by trifluridine, an active antitumor agent of TAS-102, in colorectal cancer cells. *Oncotarget*. 9, 1477-11488, 2018.
2. Kagami T, Yamade M, Suzuki T, Uotani T, Hamaya Y, Iwaizumi M, Osawa S, Sugimoto K, Umemura K, Miyajima H, Furuta T. Comparative study of effects of vonoprazan and esomeprazole on anti-platelet function of clopidogrel or prasugrel in relation to CYP2C19 genotype. *Clin Pharmacol Ther*. 2017
3. Tani S, Takano R, Tamura S, Oishi S, Iwaizumi M, Hamaya Y, Takagaki K, Nagata T, Seto S, Horii T, Kosugi I, Iwashita T, Osawa S, Furuta T, Miyajima H, Sugimoto K\*. Digoxin Attenuates Murine Experimental Colitis by Downregulating Th17-related Cytokines. *Inflamm Bowel Dis*. 23, 728-738, 2017.
4. Furuta T\*, Sugimoto M, Kodaira C, Nishino M, Yamade M, Uotani T, Sahara S, Ichikawa H, Kagami T, Iwaizumi M, Hamaya Y, Osawa S, Sugimoto K, Umemura K. Influence of low-dose proton pump inhibitors administered concomitantly or separately on the anti-platelet function of clopidogrel. *J Thromb Thrombolysis*. 43, 333-342, 2017.
5. Oishi S, Takano R, Tamura S, Tani S, Iwaizumi M, Hamaya Y, Takagaki K, Nagata T, Seto S, Horii T, Osawa S, Furuta T, Miyajima H, Sugimoto K\*. M2 polarization of murine peritoneal macrophages induces regulatory cytokine production and suppresses T-cell proliferation. *Immunology*. 149, 320-328, 2016.
6. Suzuki S, Iwaizumi M, Tseng-Rogenski S, Hamaya Y, Miyajima H, Kanaoka S, Sugimoto K, Carethers JM\*. Production of truncated MBD4 protein by frameshift mutation in DNA mismatch repair-deficient cells enhances 5-fluorouracil sensitivity that is independent of hMLH1 status. *Cancer Biol Ther* 17, 760-768, 2016.
7. Kagami T, Sahara S, Ichikawa H, Uotani T, Yamade M, Sugimoto M, Hamaya Y, Iwaizumi M, Osawa S, Sugimoto K, Miyajima H, Furuta T. Potent acid inhibition by vonoprazan in comparison with esomeprazole, with reference to CYP2C19 genotype. *Aliment Pharmacol Ther*. 43,1048-1048, 2016

##### [学会発表](計10件)

1. Iwaizumi M, Taniguchi T, Sugiyama T, Kurachi K, Yamamoto M, Osawa S, Sugimoto K, Sugimura H, Maekawa M. Characterization of somatic mutation spectrum on the road to carcinogenesis in a patient with multiple colorectal laterally spreading tumors by targeted sequencing analysis. 11th AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in

Cancer Research: Biology to Precision Medicine 2019年2月

2. Sugiyama T, Iwaizumi M, Suzuki S, Sugimoto K, Maekawa M, Sugimura H. A frameshift mutation of SG01 independent of MSI-H/dMMR has a potential of resistance for taxane in gastric cancer. 11th AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research: Biology to Precision Medicine 2019年2月
3. 岩泉守哉, 福江美咲, 鳴本敬一郎, フェターズ マイク, 前川真人 がんの遺伝子診療とプライマリ・ケアの連携調査 遺伝カウンセラーへのインタビューによる日米比較 臨床病理 66 255 2018年10月
4. 岩泉守哉, 丸山保彦, 梶村春彦 Hp 未感染胃癌の現状 遺伝的要因からみた胃癌の検討 日本消化器病学会雑誌 115(臨増大会) A676-A676 2018年10月
5. 岩泉守哉, 丸山保彦, 山田英孝, 福江美咲, 梶村春彦, 前川真人 遺伝性びまん性胃癌(HDGC)3家系の検討 臨床化学 47 298 2018年7月
6. 岩泉守哉, 谷口照美, 福江美咲, 前川真人 院内での診療構築を目指した遺伝性腫瘍の複数遺伝子パネル検査の試み 臨床病理 65 237 2017年10月
7. 岩泉守哉, 福江美咲, 前川真人 DNA ミスマッチ修復機構からみた大腸癌治療の感受性変化 臨床化学 46 242 Sep 2017
8. 福江美咲, 岩泉守哉, 岩泉守哉, 鳴本敬一郎, 井上真智子 がんのプライマリケア遺伝診療:プライマリケア連合学会でのWS実施報告 日本遺伝カウンセリング学会誌 38(2) 129 May 2017
9. 岩泉守哉, 山田英孝, 梶村春彦 ポストヘリコバクターピロリ時代における胃癌 FAP 患者における胃癌の検討 遺伝的要因が胃癌診療で重要視される時代へ 日本消化器病学会雑誌 113(臨増大会) A473-A473 Sep 2016
10. IWAIZUMI Moriya, TAO Hong, SUGIYAMA Tomohiro, SUZUKI Satoshi, HAMAYA Yasushi, KURACHI Kiyotaka, FURUKAWA Yoichi, MAEKAWA Masato, SUGIMURA Haruhiko Phenotypes of sporadic familial adenomatous polyposis are mainly induced by APC truncating mutations 日本癌学会学術総会 2016

〔図書〕(計1件)

1. 岩泉 守哉, 梶村 春彦【最新遺伝医学研究と遺伝カウンセリング(シリーズ1) 最新遺伝性腫瘍・家族性腫瘍研究と遺伝カウンセリング】(第2章)遺伝性腫瘍研究・診療各論 家族性胃がん 遺伝子医学 MOOK 別冊(最新遺伝性腫瘍・家族性腫瘍研究と遺伝カウンセリング) 202-206 Aug 2016
- 2.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/moriyai/?lang=japanese>

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 華表友暁

ローマ字氏名 : Kahyo Tomoaki  
所属研究機関名 : 浜松医科大学  
部局名 : 医学部  
職名 : 准教授  
研究者番号 ( 8 桁 ) : 40416665

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。