

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08392

研究課題名(和文) DNAミスマッチ修復正常型高頻度変異大腸がんのDNAポリメラーゼ校正機能解析

研究課題名(英文) Actionability of proofreading DNA polymerase in colorectal cancer with proficient DNA mismatch repair system

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Stage 0大腸癌41例では全例proficient MMRであった。また、SG01遺伝子のコード領域内に存在する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た胃癌大腸癌において、必ずしもdeficient MMRの性格をもつものではなかった。さらに、大腸多発ポリープ(10病変以上の大腸腺腫)を有する患者21例のうち、DNAポリメラーゼPOLD1にバリエーションが1例において認められたが、データベース上では病的意義不明なバリエーションであった。このバリエーション発現細胞株を樹立し、細胞増殖やゲノムバリエーション数の変化を確認したが、特に変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究期間内に、DNAミスマッチ修復機構に異常のない大腸癌の臨床病理学的な特徴が判明した。また、DNAミスマッチ修復機構に異常は認められないが、腫瘍で体細胞変異がおりやすいがんの頻度や特徴を探ることが可能であった。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the DNA MMR status for stage 0 patients with CRC treated using endoscopic submucosal dissection or endoscopic mucosal resection was analyzed and none of the endoscopically resected specimens exhibited dMMR among the 41 patients diagnosed with stage 0 CRC. A frameshift variant of c.973delA on SG01 was observed in 16 of the 45 cases that could be evaluated. Its frequency was 35.6%. MSI-H was only 3 cases. Two cases of MSI-H were associated with the SG01 variant of c.973delA. Approximately 40% of advanced gastric cancers have SG01 frameshift variants and are not necessarily associated with MSI status. Finally, we detected one germline variant of POLD1, which is classified to variance of unknown significance. After the variant was transfected with human colorectal cancer cell line, we found out the variant did not lead to the phenotype of high-tumor mutation burden.

研究分野：消化器内科学

キーワード：大腸がん DNAミスマッチ修復

1. 研究開始当初の背景

散発性大腸がんの約 15% で DNA ミスマッチ修復機構の欠損 (deficient-MMR: dMMR) を認め、高頻度変異をひとつの特徴とするマイクロサテライト不安定性 (MSI) を引き起こす (Boland CR, Goel A, Gastroenterology 2010)。近年、高頻度変異により多種多様な Neoantigen を産生する dMMR 大腸がん免疫チェックポイント阻害薬が有効であると報告され (Le DT, et al. N Engl J Med. 2015)。米国 FDA は dMMR の固形がん患者に抗 PD-1 抗体の投与を承認した。しかしながら、高頻度変異を引き起こす大腸がんすべてが dMMR によるものではないことも示唆されており、そのひとつが DNA ポリメラーゼの校正機能異常である。

POLE によってコードされる DNA ポリメラーゼ ϵ および POLD1 によってコードされる DNA ポリメラーゼ δ は、DNA 複製中のエラーを校正するエキソヌクレアーゼドメイン (EDM) をもつ。最近、POLE-EDM および POLD1-EDM の体細胞変異を保有する大腸がん患者が報告され、興味深いことにこのような変異を呈する大腸がんは DNA ミスマッチ修復が正常にもかかわらず高頻度変異を呈することが分かってきた (The Cancer Genome Atlas Network, Nature 2012, Mertz TM, Baranovskiy AG et al, Oncogene 2017)。さらに、POLE/POLD1-EDM の生殖細胞変異も同定され、この場合臨床的には大腸腺腫が数十個程度発生し、大腸がんや子宮内膜がんの発生リスクが高く、遺伝学的には高浸透率な常染色体優性遺伝の形式をとる (Palles C, Cazier JB et al, Nat Genet 2013, Valle L, Hernandez-Illan E et al, Hum Mol Genet 2014, Spier I, Holzapfel S et al, Int J Cancer 2015)。この疾患はポリメラーゼ校正関連ポリポーシス (polymerase proofreading-associated polyposis: PPAP) と呼ばれ、体細胞変異の場合と同様、DNA ミスマッチ修復正常型かつ高頻度変異のがんである。しかしながら、高頻度変異がんの個別化医療・個別化予防を目指す場合、POLE/POLD1-EDM 変異大腸がんに関して以下 5 つの「問い」が浮上する。1) POLE/POLD1-EDM 変異大腸がんの臨床病理学的特徴は何か。2) POLE/POLD1-EDM 変異大腸がんの遺伝表現型相関はどのようになっているのか。3) POLE/POLD1-EDM 変異大腸がんの薬物療法感受性の臨床的特徴は何か。4) POLE/POLD1-EDM 変異部位別の校正機能の差はどのようになっているのか。5) POLE/POLD1-EDM 変異部位別の薬物療法感受性変化はどのようになっているのか。

2. 研究の目的

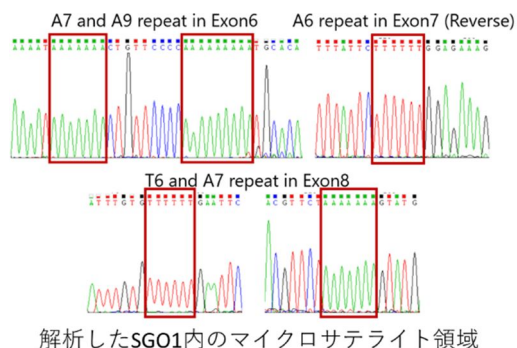
本研究の目的は、最初に DNA ミスマッチ修復機構 (MMR) が正常 (proficient-MMR: pMMR) 大腸癌の特徴の検討をしたうえで、POLE/POLD1-EDM 変異大腸がんの臨床病理学的・臨床遺伝学的検討を行い、POLE/POLD1 校正機能喪失変異による高頻度変異誘導効果および治療感受性変化の解明を達成することである。

3. 研究の方法

浜松医科大学附属病院にて診断され、内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) または内視鏡的粘膜切除術 (EMR) を行った早期大腸癌患者に対してインフォームドコンセントを行い、同意が得られた 41 症例について、MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 の 4 種類の蛋白について免疫組織化学染色を行った。また、既報では SGO1 フレームシフト変異を有する大腸癌では MSI-H の特徴を有することであるが、この報告を再確認するために当院で治療された胃癌症例において、SGO1 変異の有無別に MSI status を検討した。さらに、大腸多発ポリポーシス (10 病変以上の大腸腺腫) を有する患者 21 例のうち、APC 生殖細胞変異が認められなかった家系につき、POLD1 および POLE 変異解析を行った。

4. 研究成果

同意が得られた 41 例 (adenoma が 21 例、adenocarcinoma 20 例) のうち、病変の局在は、右側結腸が 17 例、左側結腸が 24 例であった。腫瘍径としては adenoma が平均 28mm、Adenocarcinoma が平均 30mm と、過去の報告と同等であった。驚くべきことに、Adenocarcinoma に対して MLH1、



MSH2、MSH6、PMS2 の 4 種類の蛋白で IHC を行ったが、すべての症例で欠損は認めなかった。このことから、stage 0 というごく早期には MMR の異常が出現していないことが判明した。また、SGO1 フレームシフト変異 (c.973delA) を有する胃癌 10 例のうち、MSI-H を有するのは 33.3% と既報より少なかった。このことから、フレームシフト変異は必ずしも MMR 機構の異常によるものではないと推測された。そこで POLE/POLD1 生殖細胞変異を有する大腸多発ポリポーシス家系を検索したところ、DNA ポリメラーゼ POLD1 にバリエーションが 1 例において認められたが、データベース上では病

的意義不明なバリエーションであった。このバリエーション発現細胞株を樹立し、細胞増殖やゲノムバリエーション数の変化を確認したが、特に変化は認められなかった。

また、本研究に関連した成果として、以下のことが判明した。DNA ミスマッチ修復機構 (MMR) が正常な遺伝性の胃癌に遺伝性びまん性胃癌 (hereditary diffuse gastric cancer; HDGC) がある。本研究期間中に、褪色調領域を多数認める胃病変という、特徴的な内視鏡所見をきっかけに HDGC が疑われ、遺伝学的検査で CDH1 生殖細胞変異が認められた 2 家系を報告した。いずれも MMR に異常は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomohiro Sugiyama, Moriya Iwaizumi, Masanao Kaneko, Shinya Tani, Mihoko Yamade, Yasushi Hamaya, Takahisa Furuta, Hiroaki Miyajima, Satoshi Osawa, Satoshi Baba, Masato Maekawa, Ken Sugimoto	4. 巻 20(3)
2. 論文標題 DNA mismatch repair is not disrupted in stage 0 colorectal cancer resected using endoscopic submucosal dissection.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology letters	6. 最初と最後の頁 2435-2441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.1179	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomohiro Sugiyama, Moriya Iwaizumi, Terumi Taniguchi, Satoshi Suzuki, Shinya Tani, Mihoko Yamade, Yasushi Hamaya, Satoshi Osawa, Takahisa Furuta, Hiroaki Miyajima, Tsutomu Ohta, Satoshi Baba, Haruhiko Sugimura, Masato Maekawa, Ken Sugimoto	4. 巻 73
2. 論文標題 Microsatellite frameshift variants in SG01 of gastric cancer are not always associated with MSI status	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of clinical pathology	6. 最初と最後の頁 386-390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jclinpath-2020-206934	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 Moriya Iwaizumi, Hidetaka Yamada, Misaki Fukue, Yasuhiko Maruyama, Ayano Sonoda, Mitsushige Sugimoto, Kenji Koda, Ryoji Kushima, Masato Maekawa & Haruhiko Sugimura	4. 巻 13
2. 論文標題 Two independent families with strongly suspected hereditary diffuse gastric cancer based on the probands' endoscopic findings	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CLINICAL JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	6. 最初と最後の頁 754-758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-020-01163-y	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩泉 守哉、谷口 照美、小島 梨紗、前川 真人
2. 発表標題 孤発性家族性大腸ポリポーシス症例の遺伝学的解析
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩泉 守哉、前川 真人
2. 発表標題 Stage 0大腸癌におけるDNA mismatch repair statusの検討
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩泉守哉、小島梨紗、山田英孝、梶村春彦
2. 発表標題 内視鏡所見により疑われ診断に至った遺伝性びまん性胃がん家系への遠隔医療と対面医療の比較
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 岩泉守哉、前川真人
2. 発表標題 遺伝医療から遺伝学的解析に至った遺伝性びまん性胃癌診療の経験
3. 学会等名 第68回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------