

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09110

研究課題名（和文）マイクロサテライト安定性癌に対する新規合成致死療法の検討

研究課題名（英文）Research on novel synthetic lethal strategies for microsatellite stable cancers

研究代表者

母里 淑子（MORI, YOSHIKO）

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：70708081

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）：ミスマッチ修復タンパクの異常はマイクロサテライト不安定性癌の発生のメカニズムとして知られているが、がんの発生にはミスマッチ修復タンパク以外にも様々な遺伝子修復機構の異常が報告され、治療に応用されている。例えばDNA相当組み換え修復などに関与するBRCA1/2遺伝子の病的バリエーションによる不活化に対するPARP阻害薬は、2つのDNA修復経路の両方が障害されることによる合成致死性を示し、がん治療に応用されている。他の遺伝子修復機構の破綻を治療に応用できないか。本研究ではBLMやWRNに着目し、そのような新規の合成致死療法の探索を試みている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミスマッチ修復タンパク（MLH1, MSH2, MSH6, PMS2）の発現消失を示す固形癌またはマイクロサテライト不安定性癌に対しては、免疫チェックポイント阻害薬が有効であり、様々な癌の生存期間の延長にも寄与したが、有効な患者群の割合は限られている。我々のデータでは例えば大腸癌では95.1%がミスマッチ修復タンパクに異常が無かった。これらの大多数の患者群に対し、複数のDNA修復経路を阻害することで、癌細胞増殖を抑制する機序を見つけることで、新規治療薬開発の基礎となるような研究を実施中である。現時点ではまだデータ集積の途中であり、社会的意義につながるようなデータは得られない。

研究成果の概要（英文）：Deficiency of mismatch repair protein is one of the well-known DNA maintaining systems. There are other DNA maintaining systems to save the integrity of DNA, which is translated to clinical medicines. For example, cancer cells with BRCA1/2 mutations are sensitized to PARP inhibitors. This mechanism of cancer therapy is called synthetic lethality between DNA damage repair pathways. We are searching for novel synthetic lethal strategies for microsatellite stable cancers. BLM and WRN are the proteins that maintains integrity of DNA. We are estimating whether if inhibition of dual DNA maintaining systems is useful for treatment of microsatellite stable cancer.

研究分野：臨床腫瘍

キーワード：マイクロサテライト安定性癌 合成致死

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Synthetic lethality (合成致死性) とは、1つの遺伝子変異では腫瘍細胞に致死性を示さないが、2つ以上の経路が同時に欠損、または阻害されることにより、腫瘍細胞死が起きる現象を指し、Poly-ADP-ribose polymerase (PARP) 阻害薬である Olaparib が *BRCA* 遺伝子変異陽性の卵巣癌に承認されて以来注目されている。Microsatellite instability (MSI) 癌に対しては、synthetic lethality を誘導する候補因子として RecQ DNA ヘリカーゼ WRN が 2019 年に報告された。すなわち、DNA 修復酵素と 2 本鎖状態維持機能を伴う酵素との組み合わせが Synthetic lethality の誘導に最適である可能性が示唆される。

2. 研究の目的

今回、我々は、non-MSI 癌にその欠失が認められ、MSI 癌と関連性を認めない、その他の DNA 修復酵素として、MGMT に着目し、殺細胞剤と PARP または RecQ DNA ヘリカーゼ群を阻害することで non-MSI 癌に Synthetic lethality を誘導できないかどうかを検証し、臨床応用への橋渡しを試みる。

3. 研究の方法

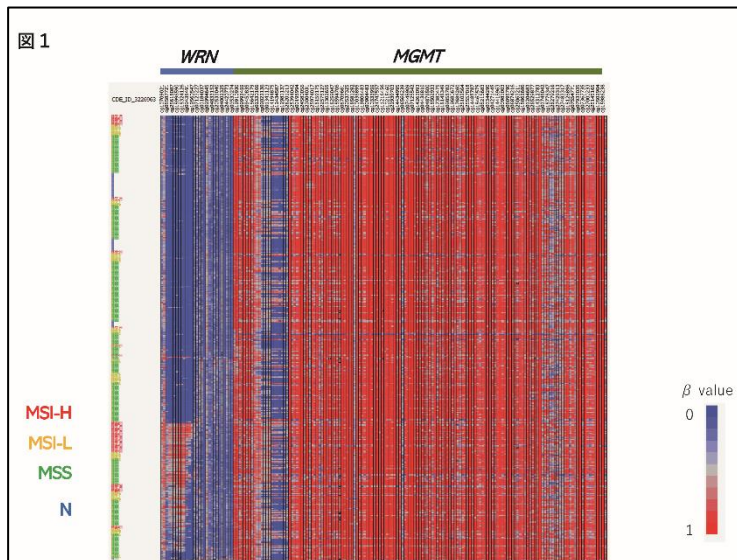
本研究において、① 大腸癌細胞株における RecQ ヘリカーゼ及び PARP 発現の有無を確認する。ヒトには 5 種類の RecQ ヘリカーゼが存在し、WRN はそのうちの 1 つである。WRN が変異によって機能を失うと早老症のウェルナー症候群が引き起こされ、もう一つの RecQ ヘリカーゼ BLM (Bloom syndrome protein) が変異によって機能を失うと、癌多発のブルーム症候群が引き起こされる (北野健. 日本結晶学会 2014)。WRN の発現は MGMT と同様に promoter methylation により制御され、大腸癌では *hyper*-methylation により不活性化が起きているとされるが、controversial である (Bosch LJW et al. Clin Can Res 2016)。また、BLM に関しては、大腸癌においては *hypo*-methylation となり、その発現が upregulate されており、その upregulate が殺細胞剤感受性に寄与する可能性が示唆されている (Votio C et al. J Gastro 2017)。本研究では、② MGMT の promoter methylation のある大腸癌に対する WRN 阻害薬の組み合わせを検証するために、MGMT の promoter methylation のある細胞株を用いての siRNA により WRN を抑制した場合とコントロールとの cell viability を比較し、MGMT メチル化大腸癌に対する WRN 阻害薬の可能性を検証する。同様に MGMT メチル化細胞株で BLM を抑制し観察する。また、MGMT の promoter methylation のない大腸癌細胞株に対し、MGMT と WRN、MGMT と BLM の両者をそれぞれ阻害することによる cell viability を評価する。MGMT の阻害は siRNA 法と O6-ベンジルグアニンによるものと両方を行う。③ 臨床検体を用いて、WRN のメチル化と MGMT メチル化の関連を探索し、潜在的 Synthetic lethality を有する大腸がん症例の検証を行う。

4. 研究成果

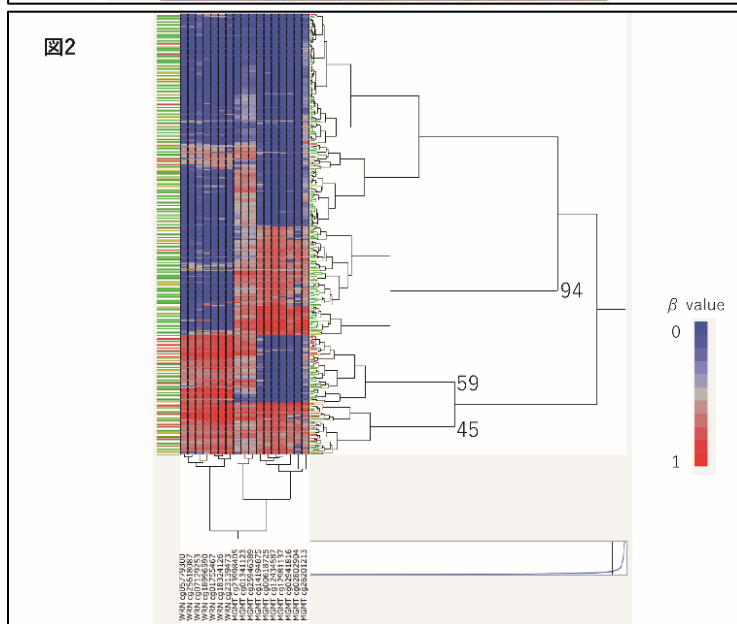
大腸癌細胞株 RKO (*BRAF* 変異型、MSI) では、MGMT promoter region:メチル化を認めず、Bethyl laboratories の抗 BLM 抗体および abcam の抗 BLM 抗体を用いたウエスタン・ブロットで BLM の発現が確認された。また、HT29 (*BRAF* 変異型、non-MSI、MGMT promoter region:メチル化なし) では BLM の発現を認めなかった。今後、HT29 における MGMT の発現抑制、RKO における BLM(+MGMT) の発現抑制後の変化を観察する予定である。

臨床データの解析では、The Cancer Genome Atlas Project (TCGA) の Colon and Rectal Cancer (COADREAD) のデータのうち、転移巣からの解析例 3 例、MSI status 情報が欠測してい

る 12 例を除く、383 例の大腸癌と、45 例の正常大腸組織の DNA methylation microarray データを利用して、RecQ ヘリカーゼ WRN と MGMT のメチル化の関係を検討した。WRN 領域の CpG sites のメチル化を確認できるプローブ（測定値を有する 44 プローブ）を用いてクラスター解析を行い、そのクラスターに対し、MGMT 領域の CpG sites のメチル化を確認できるプローブ（測定値を有する 147 プローブ）の値を統合し検討を行った（図 1）。本結果から



Cancer 特異的に promoter 領域にメチル化を認める WRN プローブ（7 プローブ）と MGMT プローブ（10 プローブ）を抽出し、再度、クラスター解析にて MSI の関連をクラスター解析で解析した結果（図 2）、



WRN と MGMT 両方にメチル化を認めた潜在的 Synthetic lethality を有する大腸がん症例は 45 例 ($45/383 = 11.7\%$)、WRN のみにメチル化を認める症例は 59 例 ($59/383 = 15.4\%$)、MGMT のみにメチル化を認める症例は 94 例 ($94/383 = 24.5\%$) であった。WRN または MGMT のみにメチル化を認める症例は、MGMT や WRN を不活性化することで、潜在的 Synthetic lethality を獲得する可能性を有している。すなわち、大腸がんのおよそ 10% はすでに潜在的 Synthetic lethality を有していることが示唆され、およそ 40% は MGMT や WRN を不活性化することで、潜在的 Synthetic lethality を有することが示唆された。これは、大腸がんにおいては、実に半数の症例に Synthetic lethality 治療を適応できる可能性が示されたことになる。

結論：まだ結論に至る基礎実験データは得られていないが、臨床データからは MGMT メチル化癌に対する WRN 阻害薬の可能性、WRN メチル化に対する MGMT 阻害薬については今後も検証する価値があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Mori Yoshiko, Amano Kunihiko, Chikatani Kenichi, Ito Tetsuya, Suzuki Okihide, Kamae Nao, Hatano Satoshi, Chika Noriyasu, Yamamoto Azusa, Ishibashi Keiichiro, Eguchi Hidetaka, Okazaki Yasushi, Iwama Takeo, Ishida Hideyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Recent trends in the morbidity and mortality in patients with familial adenomatous polyposis: a retrospective single institutional study in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1007
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-022-02146-4	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 Hanada M, Chika N, Kamae N, Muta Y, Chikatani K, Ito T, Mori Y, et al.	4. 巻 48
2. 論文標題 A Case of Carcinoma of the Ileostomy Site Associated with Familial Adenomatous Polyposis-Report of a Case	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gan To Kagaku Ryoho.	6. 最初と最後の頁 1990-1992
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Chikatani K, Sato T, Ito T, Chika N, Toyomasu Y, Mori Y, et al.	4. 巻 48
2. 論文標題 Changes in Renal Function and Feasibility of Adjuvant Chemotherapy for Colorectal Cancer Patients with Diverting Ileostomy after Ileal Pouch-Anal Anastomosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gan To Kagaku Ryoho.	6. 最初と最後の頁 1925-1927
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Ishikawa H, Kumagai Y, Yamamoto E, Sato T, Chikatani K, Ito T, Chika N, Toyomasu Y, Mori Y, et al.	4. 巻 48
2. 論文標題 Two Cases of Esophageal Neuroendocrine Carcinoma That Were Successfully Controlled by Multi-Modality Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gan To Kagaku Ryoho	6. 最初と最後の頁 1856-1858
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Taniguchi Fumitaka, Nyuya Akihiro, Toshima Toshiaki, Yasui Kazuya, Mori Yoshiko, Okawaki Makoto, Kishimoto Hiroyuki, Umeda Yuzo, Fujiwara Toshiyoshi, Tanioka Hiroaki, Yamaguchi Yoshiyuki, Goel Ajay, Nagasaka Takeshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Concordance of acquired mutations between metastatic lesions and liquid biopsy in metastatic colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Future Science OA	6. 最初と最後の頁 FS0757
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2144/fsoa-2021-0059	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 Kawai Takashi, Nyuya Akihiro, Mori Yoshiko, Tanaka Takehiro, Tanioka Hiroaki, Yasui Kazuya, Toshima Toshiaki, Taniguchi Fumitaka, Shigeyasu Kunitoshi, Umeda Yuzo, Fujiwara Toshiyoshi, Okawaki Makoto, Yamaguchi Yoshiyuki, Goel Ajay, Nagasaka Takeshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical and epigenetic features of colorectal cancer patients with somatic POLE proofreading mutations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Epigenetics	6. 最初と最後の頁 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13148-021-01104-7	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 石橋 敬一郎, 母里 淑子, 近谷 賢一, 近 範泰, 豊増 嘉高, 幡野 哲, 天野 邦彦, 石畝 亨, 熊谷 洋一, 持木 彫人, 石田 秀行	4. 巻 69
2. 論文標題 消化管の検査up to date 消化管癌の化学療法と臨床検査のup to date	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本臨床検査医学会誌	6. 最初と最後の頁 121-130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Kubota N, Taniguchi F, Nyuya A, Umeda Y, Mori Y, Fujiwara T, Tanioka H, Tsuruta A, Yamaguchi Y, Nagasaka T.	4. 巻 19
2. 論文標題 Upregulation of microRNA-31 is associated with poor prognosis in patients with advanced colorectal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncol Lett.	6. 最初と最後の頁 2685-2694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.11365.	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 Yamamoto A, Mori Y, Suzuki O, Ishibashi K, Kamae N, Yoshida H, Hasegawa K, Fujiwara K, Eguchi H, Okazaki Y, Akagi K, Ishida H.	4. 巻 47
2. 論文標題 [Cancer Risk in Lynch Syndrome-Associated Endometrial Cancer Patients and Their Relatives]	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gan To Kagaku Ryoho.	6. 最初と最後の頁 2257-2259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ishiguro T, Ishikawa H, Muta Y, Ito T, Chikatani K, Chika N, Amano K, Hatano S, Suzuki O, Mori Y, Kumagai Y, Ishibashi K, Mochiki E, Ishida H.	4. 巻 47
2. 論文標題 [A Case of Advanced Recurrent Colorectal Cancer with Complete Response to Pembrolizumab Chemotherapy].	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gan To Kagaku Ryoho.	6. 最初と最後の頁 2299-2301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Chika N, Murakami T, Kamae N, Suzuki O, Mori Y, Sakimoto T, Ishiguro T, Kumagai Y, Eguchi H, Ishibashi K, Mochiki E, Okazaki Y, Iwama T, Ishida H.	4. 巻 47
2. 論文標題 [A Family with Lynch Syndrome Diagnosed after a Proband of Elderly Multiple Colorectal Cancers].	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gan To Kagaku Ryoho.	6. 最初と最後の頁 1909-1912.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 母里 淑子, 鈴木 興秀, 近 範泰, 石橋 敬一郎, 石田 秀行	4. 巻 別冊
2. 論文標題 【消化管症候群(第3版)-その他の消化管疾患を含めて-】空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸(下) 腫瘍 大腸腫瘍 遺伝性大腸癌 Lynch症候群	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 108-202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 母里 淑子, 重安 邦俊, 吉岡 貴裕, 永坂 岳司, 原賀 順子, 香川 俊輔, 寺石 文則, 豊岡 伸一, 平沢 晃, 藤原 俊義	4. 巻 19
2. 論文標題 多発小腸GISTに対し手術を施行した神経線維腫症1型の1例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 家族性腫瘍	6. 最初と最後の頁 77-82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 川上 理, 香川 誠, 諸角 誠人, 岡田 洋平, 竹下 英毅, 梅澤 裕太, 立花 康次郎, 中山 貴之, 矢野 晶大, 母里 淑子, 石田 秀行, 百瀬 修二, 田丸 淳一
2. 発表標題 埼玉医科大学総合医療センターにおける転移を有する去勢抵抗性前立腺癌に対するゲノムプロファイリングの初期経験
3. 学会等名 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近谷 賢一, 熊倉 真澄, 杉野 葵, 石川 博康, 山本 瑛介, 伊藤 徹哉, 近 範泰, 豊増 嘉高, 母里 淑子, 鈴木 興秀, 幡野 哲, 石畝 亨, 松山 貴俊, 熊谷 洋一, 石橋 敬一郎, 江口 英孝, 赤木 究, 岡崎 康司, 持木 彫人, 石田 秀行
2. 発表標題 遺伝性大腸癌診療の最前線・基礎～臨床まで わが国の大腸癌診療におけるリンチ症候群の頻度と特徴から見た効率的な治療戦略
3. 学会等名 第76回日本大腸肛門病学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤 拓, 幡野 哲, 豊増 嘉高, 鈴木 興秀, 母里 淑子, 石畝 亨, 熊谷 洋一, 石橋 敬一郎, 持木 彫人, 石田 秀行
2. 発表標題 大腸癌肝限局転移症例における肝切除後の長期予後
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川 智也, 小林 清香, 松崎 正子, 母里 淑子
2. 発表標題 透析療法とOncoNephrology 透析がん患者の終末期医療とメンタルケア
3. 学会等名 第66回日本透析医学界学術集会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 母里 淑子, 鈴木 興秀, 近谷 賢一, 構 奈央, 天野 邦彦, 幡野 哲, 山本 梓, 石橋 敬一郎, 岩間 毅夫, 石田 秀行
2. 発表標題 遺伝性大腸癌の診療 近年の罹患および死亡リスクから見た家族性大腸腺腫症に対する医学的管理
3. 学会等名 第75回日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 母里 淑子, 鈴木 興秀, 近谷 賢一, 天野 邦彦, 幡野 哲, 山本 梓, 石橋 敬一郎, 岩間 毅夫, 石田 秀行
2. 発表標題 遺伝性大腸癌の診断と治療 大腸ポリポーシス患者に対するAPCバリエーション同定の意義
3. 学会等名 第82回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永坂 岳司, 田中 健太, 母里 淑子, 谷岡 洋亮, 堅田 洋佑, 佐野 史典, 岡野 誠, 山村 真弘, 吉田 一博, 重安 邦俊, 榎田 祐三, 山口 佳之
2. 発表標題 消化器癌Conversion surgeryを目指した治療戦略
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 母里 淑子, 石田 秀行	4. 発行年 2022年
2. 出版社 メディカルドゥ	5. 総ページ数 7
3. 書名 遺伝子医学 別冊 遺伝性腫瘍の基礎知識 【遺伝性腫瘍学入門 遺伝性腫瘍の基礎知識】総論 遺伝性 消化器がん 概説	

1. 著者名 母里 淑子, 石田 秀行, 岩間 毅夫	4. 発行年 2021年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 3
3. 書名 小児科診療V0:84巻 IP:11号 【小児遺伝子疾患事典】腫瘍性疾患 APC(関連疾患:家族性大腸腺腫症)	

〔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	石田 秀行 (Ishida Hideyuki) (00262197)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	
研究分担者	永坂 岳司 (Nagasaka Takeshi) (30452569)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	

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