

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 6 年 5 月 1 5 日現在

機関番号：8 2 6 8 5

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：2 1 K 0 7 1 8 7

研究課題名（和文）MSI大腸癌サブタイプの同定とLynch-like症候群のゲノム解析

研究課題名（英文）Clinico-genomic analysis of Lynch-like syndrome

研究代表者

山口 達郎（Yamaguchi, Tatsuro）

地方独立行政法人東京都立病院機構東京都立駒込病院（臨床研究室）・遺伝子診療科・部長

研究者番号：1 0 5 3 8 4 8 2

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：2008年から2019年の2634名の大腸癌患者を対象とした。MSI検査の結果、MSI大腸癌は146名（5.5%）で、このうち、30名（1.1%）がLynch症候群（LS）、19名（0.7%）がLynch-like症候群（LLS）と診断された。LLSは若年者、左側大腸に多く、BRAFは野生型であった。散发性MSI大腸癌よりも改訂ベセスダガイドラインとの合致率が高かった。臨床病理学的因子に関しては、LLSとLSの間に有意差は認められなかったが、LS関連腫瘍の発生頻度が低かった。腫瘍の発生率以外に、臨床的にLSとLLSを区別することは困難であるため、それぞれ異なるサーベイランスが必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、Lynch症候群および散发性MSI大腸癌と比較し、Lynch-like症候群の臨床的特徴を明らかにした。その結果、Lynch-like症候群の患者はLynch症候群や散发性MSI大腸癌とは異なるサーベイランス方法が必要であることが明らかとなった。

現在、Lynch症候群診断のための遺伝学的検査は保険適用外であるが、Lynch-like症候群とLynch症候群の鑑別は遺伝学的検査によってのみ行われる。したがって、Lynch症候群診断のための遺伝学的検査は診断・サーベイランスの観点から必要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In total, 2634 consecutive patients with CRC were enrolled between 2008 and 2019.

UTS of the cohort found 146 patients with MSI CRC (5.5%). Of these, excluding sporadic MSI CRC, 30 (1.1%) had a diagnosis of LS, and 19 (0.7%) had no germline pathogenic variants of the MMR gene. The CRC type in the latter group was identified as LLS. LLS occurred significantly more often in young patients, was left-sided, involved a KRAS variant and BRAF wild-type, and had a higher concordance rate with the Revised Bethesda Guidelines than sporadic MSI CRC. No significant differences were observed in terms of the clinicopathological factors between LLS and LS-associated MSI CRC; however, LLS had a lower frequency of LS-related neoplasms compared with LS.

In conclusion, distinguishing clinically between LS and LLS was challenging, but the incidence of neoplasms was higher in LS than in LLS, suggesting the need for different screening and surveillance methods for the two subtypes.

研究分野：遺伝性腫瘍

キーワード：Lynch-like症候群 遺伝性腫瘍 Lynch症候群 MSI マイクロサテライト不安定性 大腸癌

1. 研究開始当初の背景

ミスマッチ修復機構は、DNA 複製や遺伝的組換え時に生じる不適正塩基対の挿入や欠失といった核酸塩基のミスマッチを修復するシステムである。両アレルのミスマッチ修復遺伝子に異常が起こるとミスマッチ修復機構は破綻し、DNA 複製時のミスマッチは修復できなくなる。DNA 複製時のミスマッチは 1～数塩基の繰り返し配列であるマイクロサテライト領域に生じやすく、ミスマッチ修復機構の破綻は、エクソン内に繰り返し配列を持つターゲット遺伝子のフレームシフト変異によりその機能が不活化する。ターゲット遺伝子の中には TGFBR2 遺伝子や BAX 遺伝子などのように細胞の腫瘍化を抑制する遺伝子があり、これらのターゲット遺伝子異常の蓄積が MSI 腫瘍の発生へとつながる[Yamaguchi 2006]。

MSI 大腸癌のサブタイプは、遺伝性 MSI 大腸癌、散发性 MSI 大腸癌に大別される。遺伝性 MSI 大腸癌は、Lynch 症候群における生殖細胞系列の病的バリエーションに加えて対立アレルの異常により発癌するものである。一方の散发性 MSI 大腸癌は、ミスマッチ修復遺伝子のひとつである MLH1 遺伝子のプロモーター領域における CpG アイランドの異常メチル化により、MLH1 蛋白発現が抑制されることにより発癌する。我々は、2つのサブタイプの MSI 大腸癌について検討し、両者の臨床病理学的差異や、PD-L1 や CD8 の発現に違いがあることを報告した[Yamada R, Yamaguchi T, et al. Int J Clin Oncol 2018]。しかし、MSI 大腸癌の中には両者に該当しないものがあり、近年、3つ目のサブタイプとして Lynch 症候群様腫瘍が提唱され[Gastroenterology 2014;146:643-646.]、このような腫瘍の発生した患者は Lynch-like 症候群と呼ばれている[Gastroenterology 2013;5144:926-932.]。Lynch 症候群様腫瘍ではミスマッチ修復遺伝子の異常が認められるとの報告があるが、その頻度は 50%程度に過ぎず、残りの腫瘍に関して詳細は不明である。

以上のように、これまで Lynch-like 症候群については、十分に検討されていないため、本研究の成果は Lynch-like 症候群のサーベイランスなどにおいて貴重な資料となる可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究では MSI 大腸癌サブタイプのそれぞれの特徴を明らかにすることを目的とする。

最近、スペインやドイツのグループは、それぞれの登録データを用いて Lynch-like 症候群について遺伝性 MSI 大腸癌や散发性 MSI 大腸癌と比較して報告しているが、臨床病理学的因子や発生する癌のリスクを解析するに留まるのみで、Lynch 症候群様腫瘍の発生機序や遺伝子異常については全く言及できていない[Clin Gastroenterol Hepatol 2020;18:368-374.][BMC Cancer 2020;20:460.]。現在まで、Lynch-like 症候群に発生した Lynch 症候群様腫瘍の発がんメカニズムやゲノム異常についての報告は少ない。

我々は、大腸癌手術検体を用いた Lynch 症候群のためのユニバーサルスクリーニングを行い、2000 検体以上の大腸癌について MSI 解析を行ってきた。今回、これらの検体を用いて、MSI 大腸癌の遺伝子解析を行い、MSI 大腸癌のサブタイプを明らかにし、それぞれの毎の差異について検討を行う。また、臨床病理学的検討を併せて行うことで、サーベイランスへの利用へとつなげる。

3. 研究の方法

MSI 大腸癌の同定

1. 検体採取および DNA 抽出

手術で摘出した検体から 5mm 角の腫瘍組織を採取し、RNA later 入りの容器に保存。QIAamp DNA mini kit または DNAzol1TM を用いて DNA を抽出。

2. MSI 解析

High-resolution melting 法 (qPCR 法) により、少なくとも 5 種類のモノヌクレオチドマーカースを用いて行う。30%以上のマーカーで陽性を示した場合、MSI と判定する。

散发性 MSI 大腸癌の同定

1. MLH1 遺伝子メチル化解析

DNA をバイスルファイト処理した後に、MethyLight 法にて MLH1 遺伝子のプロモーター領域のメチル化を解析し、メチル化が認められた場合、散发性 MSI 大腸癌とする。

Lynch 症候群の同定と原因遺伝子の探索

1. 遺伝学的検査の対象

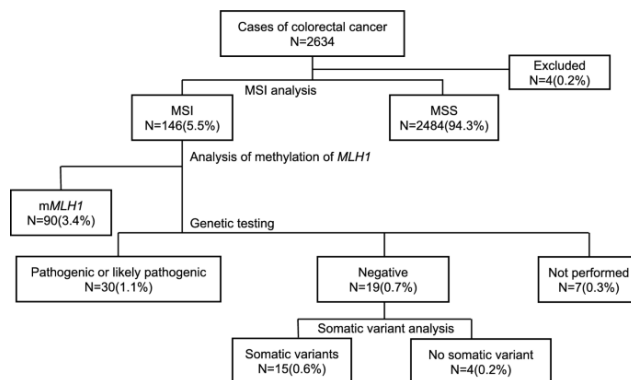
散发性 MSI 大腸癌が否定された者の中で、遺伝カウンセリングの後に遺伝学的検査を希望された者を対象とする。

2. 遺伝学的検査

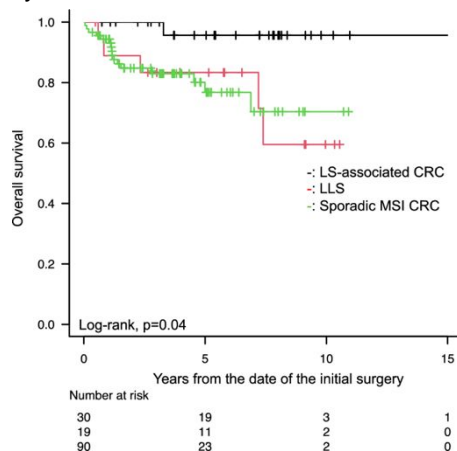
末梢血より DNA を抽出。解析遺伝子は、ミスマッチ修復遺伝子を含む遺伝性腫瘍関連遺伝子パネルを作成し、エクソンおよびエクソン-イントロン境界領域を解析する。Ion AmpliSeq Kit for Chef DL8 を用いて Ion Chef にてライブラリ調整し、Ion GeneStudio S5 にてシーケンスを行う。

4. 研究成果

研究は2008年1月から2019年11月にかけて、当院で原発巣の切除を受けた2634名の大腸癌患者を対象とした。



MSI 検査を用いたユニバーサルスクリーニング (UTS)の結果、146 人(5.5%)が MSI 大腸癌であり、この内 30 名(1.1%)が Lynch 症候群と診断され、19 名(0.7%)を Lynch-like 症候群と診断した。MSI 大腸癌のサブタイプ同士を比較した結果、Lynch-like 症候群は若年患者に多く、左側大腸に位置し、*KRAS* の活性型バリエーションがみられる一方で全例 *BRAF* 野生型であった。また、Lynch-like 症候群は散発性 MSI 大腸癌よりも改訂ベセスダガイドライン (rBG) に高い合致率を示したが、Lynch 症候群関連腫瘍の発生頻度は Lynch 症候群よりも低かった。Lynch-like 症候群と Lynch 症候群に発生した大腸癌の臨床病理学的因子には有意差はなかったが、Lynch-like 症候群は Lynch 症候群に比べて Lynch 症候群関連腫瘍の発生頻度が低かった。



本研究は、Lynch-like 症候群の臨床的特徴を Lynch 症候群および散発性 MSI 大腸癌と比較し、Lynch-like 症候群の診断とサーベイランスに関する異なる方法が必要であることを示した。

Nakamori S, Takao M, Takao A, Natsume S, Iijima T, Kojika E, Nakano D, Kawai K, Inokuchi T, Fujimoto A, Urushibara M, Horiguchi SI, Ishida H, Yamaguchi T. Clinicopathological characteristics of Lynch-like syndrome. *Int J Clin Oncol*. 2024 Apr 20. doi: 10.1007/s10147-024-02527-x. Epub ahead of print. PMID: 38642190.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujiyoshi Kenji, Sudo Tomoya, Fujita Fumihiko, Chino Akiko, Akagi Kiwamu, Takao Akinari, Yamada Masayoshi, Tanakaya Kohji, Ishida Hideyuki, Komori Koji, Ishihara Soichiro, Miguchi Masashi, Hirata Keiji, Miyakura Yasuyuki, Ishikawa Toshiaki, Yamaguchi Tatsuro, Tomita Naohiro, Ajioka Yoichi, Sugihara Kenichi	4. 巻 27
2. 論文標題 Risk of first onset of colorectal cancer associated with alcohol consumption in Lynch syndrome: a multicenter cohort study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1051～1059
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-022-02148-2	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 Ono Tomoyuki, Yamaguchi Tatsuro, Takao Misato, Kojika Ekumi, Iijima Takeru, Horiguchi Shin-ichiro	4. 巻 27
2. 論文標題 Fusobacterium nucleatum load in MSI colorectal cancer subtypes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1580～1588
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-022-02218-5	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 -

1. 著者名 Moler PI, Seppala Toni, Tatsuro Yamaguchi, 他、The European Hereditary Tumour Group (EHTG) and the International Mismatch Repair Consortium (IMRC)	4. 巻 20
2. 論文標題 Colorectal cancer incidences in Lynch syndrome: a comparison of results from the prospective lynch syndrome database and the international mismatch repair consortium	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hereditary Cancer in Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13053-022-00241-1	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 該当する

1. 著者名 Miyakura Yasuyuki, Chino Akiko, Tanakaya Kohji, Lefor Alan Kawai, Akagi Kiwamu, Takao Akinari, Yamada Masayoshi, Ishida Hideyuki, Komori Koji, Sasaki Kazuhito, Miguchi Masashi, Hirata Keiji, Sudo Tomoya, Ishikawa Toshiaki, Yamaguchi Tatsuro, Tomita Naohiro, Ajioka Yoichi	4. 巻 3
2. 論文標題 Current practice of colonoscopy surveillance in patients with lynch syndrome: A multicenter retrospective cohort study in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 DEN Open	6. 最初と最後の頁 e179
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/deo2.179	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 Nakamori S, Takao M, Takao A, Natsume S, Iijima T, Kojika E, Nakano D, Kawai K, Inokuchi T, Fujimoto A, Urushibara M, Horiguchi SI, Ishida H, Yamaguchi T.	4 . 巻 --
2 . 論文標題 Clinicopathological characteristics of Lynch-like syndrome	5 . 発行年 2024年
3 . 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6 . 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-024-02527-x	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 中守咲子、山口達郎、他
2 . 発表標題 Lynch-like症候群の臨床病理学的特徴についての検討
3 . 学会等名 日本大腸肛門病学会
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 中守咲子、山口達郎、他
2 . 発表標題 遺伝性大腸癌の診断と治療 当院におけるLynch-like syndrome12例の検討
3 . 学会等名 日本臨床外科学会
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 中守咲子、山口達郎、他
2 . 発表標題 Lynch-like症候群の臨床病理学的特徴について
3 . 学会等名 第97回大腸癌研究会
4 . 発表年 2022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
---------	---------