

## がん全ゲノムにおけるマイクロサテライト不安定性の解明

理化学研究所（理研）生命医科学研究センターがんゲノム研究チームの藤本明洋副チームリーダー、中川英刀チームリーダーらの共同研究グループは、2,700 例以上のがん全ゲノムシーケンスデータについて、「マイクロサテライト（MS）」と呼ばれる繰り返し配列の変異を同定し、その特徴を明らかにしました。本研究は、国際連携による全ゲノムがん種横断的解析プロジェクト（PCAWG）の一環として行われ、がん全ゲノムの「マイクロサテライト不安定性（MSI）」に関するこれまでで最も網羅的な研究と診断となりました。

本研究成果は、がん免疫療法の適応診断、遺伝性腫瘍の診断に有効であり、次世代のがんゲノム医療研究の進展に貢献すると期待できます。

高変異率の MS マーカーを用いた MSI 判定は、現在、遺伝性腫瘍の診断やがん免疫療法の適応診断のために行われています。しかし、繰り返し配列の解析は非常に難しく、全ゲノムでどのような MS 変異が起きているかは不明でした。

今回、共同研究グループは、全ゲノムにおける MS 変異同定のための高精度解析法「MIMcall」を開発し、PCAWG で解析された 2,717 例の 21 種類のがんの全ゲノムシーケンスデータについて、1 例あたり平均約 765 万カ所、合計約 200 億カ所の MS 変異解析を行いました。その結果、ほとんどの MS に変異が見つかりませんでした。解析できた MS 全体の約 2.6% に当たる約 20 万カ所の MS において複数個のがんゲノムに変異があることが分かりました。31 例のがん（大腸がん、子宮体がん、胃がんなど）に MS 変異が極端に多く見つかり、MSI と判定できました。さらに、高頻度に変異している 20 個の MS マーカーを新たに同定し、既存の MS マーカーと同程度の変異頻度を持ち、MSI 判定の精度も同等であることが分かりました。

本研究は、科学雑誌『Genome Research』の掲載に先立ち、オンライン版（3月25日）に掲載されます。

### 背景

がんは、ゲノムに変異が蓄積することで発症・進行する「ゲノムの病気」であり、がんの本質は「ゲノムの不安定性」にあるといえます。現在、世界中でがんの網羅的な全ゲノムシーケンス解析や、その結果得られるがんのゲノム変異に基づく薬の開発、個別化医療（がんゲノム医療）が精力的に行われています。2014～2019年には、がんゲノム分野の国際共同プロジェクト「全ゲノムがん種横断的解析（PCAWG）」により、がんの大規模な全ゲノムシーケンス解析が行われた結果、最も網羅的かつ詳細ながんゲノムカタログが発表されまし

た。

ヒトゲノムの 30 億塩基配列のうちの約半分を繰り返し配列が占めています。そのうち、1～6 個の塩基が 10～数十回繰り返した配列を「マイクロサテライト (MS)」と呼び、ヒトゲノム中には 1000 万個以上の MS があると考えられています。MS は突然変異率が高く、個体間における繰り返しの長さの遺伝的多型が豊富なことから、遺伝的マーカーとして集団遺伝学や家系解析などの研究に有効です。

がんの診療では、数個の MS マーカーの変異 (繰り返しの長さが変化する) の有無によって「マイクロサテライト不安定性 (MSI)」の判定が行われており、DNA 修復機構が欠損する遺伝性腫瘍 (リンチ症候群) の診断に利用されています。さらに近年、MSI 陽性がんが免疫チェックポイント阻害剤[8]による治療によく反応することが分かってきたため、MSI 判定は免疫チェックポイント阻害剤の適応基準にも使われるようになり、注目を集めています。しかし、これまで MSI 判定は、高変異率を示してきた数個の MS マーカーを用いられていますが、ゲノム全体でどのような MS 変異が起きているのかは不明でした。また、MS の高変異率をもたらす機序についても多くは解明されていませんでした。

近年の次世代シーケンサー (NGS) 技術の急速な進展、情報解析技術や IT ハード面の技術革新に伴い、約 30 億塩基の情報からなるヒトの全ゲノムシーケンス解析が、容易かつ安価に行えるようになりました。今後は、全ゲノムシーケンス解析が研究のみならず、がんゲノム医療といった診断や個別化医療においても、重要な解析手法になると予測されています。しかし、現在の NGS の解析技術では、MS や繰り返し配列部位の解析は極めて難しく、NGS による全ゲノムでの大規模な MS 解析は行われてきませんでした。

## 研究手法と成果

繰り返し配列である MS には、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) および NGS でのシーケンス解析の段階においてエラーが入りやすくなります。共同研究グループは、この測定でのエラーの頻度やパターンを解明するため、男性の正常 DNA の全ゲノムシーケンスデータの中で X 染色体にある MS に着目しました。男性の X 染色体は 1 本しかなく、他の染色体に位置する MS のように二つのアレルを評価する必要がないからです。そこで、男性 X 染色体のデータから全ゲノムシーケンスでの MS の人為的変異の割合を推定し、この情報を用いて、がんでの MS 変異を同定するための解析法「MIMcall」を開発し、この手法が高い精度を持つことを確認しました。

次に MIMcall を用いて、PCAWG にて解析された 2,717 例に及ぶ 21 種類のがん全ゲノム

シーケンスデータ（がんと正常）から、1例あたり平均約765万カ所、合計約200億カ所のMSを対象として変異解析を行いました。その結果、ほとんどのMSに変異は見つかりませんでした。解析できたMS全体の約2.6%に当たる約20万カ所のMSにおいて複数個のがんゲノムに変異があり、これら変異MSのほとんどは、タンパク質をコードしていないゲノム領域に存在していました。

また、変異MSの個数は、全ゲノムでのSNV（一塩基置換）変異数とは相関していませんでしたが、indel（短い挿入・欠失）変異[14]数と強い相関があり、MS変異はindel変異と同じ機構で起こることが分かりました。さらに、変異MSの特徴を詳しく解析したところ、A（アデニン）やT（チミン）の繰り返しは変異率が高いこと（図1上）、MS変異にはDNA複製のタイミングやDNAの構造が関連することなどが示唆されました。

そして、ゲノム全体で解析できた約765万カ所のMSのうち3%以上に変異が見られた腫瘍をMSI陽性と判定し、31例の全ゲノムレベルでのMSI陽性がんを特定しました。その中には、大腸がん（59例中7例）、胃がん（78例中6例）、子宮体がん（50例中11例）が多く含まれ、他にも肝臓がん、膵臓がん、卵巣がん、腎臓がん、悪性黒色腫も1~2例ずつ含まれていました（図1下）。

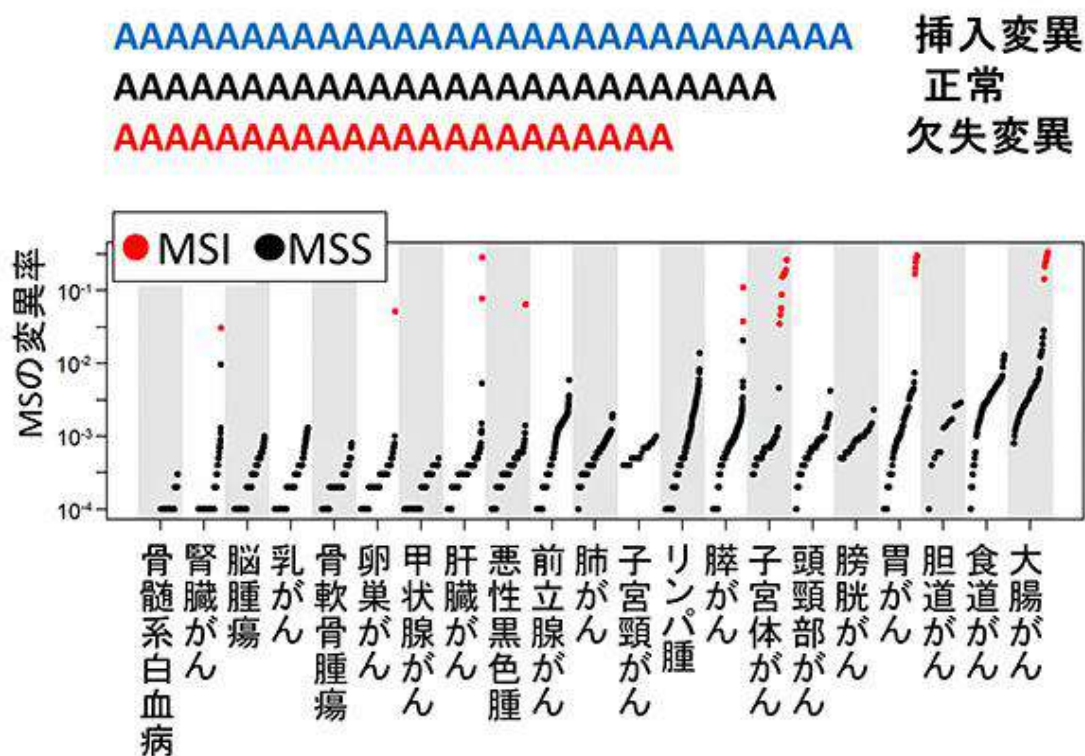


図1 21のがん腫ごとの全ゲノムレベルでのマイクロサテライト (MS) の変異率

上:A (アデニン) が 26 回繰り返した MS (黒) に対する、挿入変異 (青) と欠失変異 (赤) を示した。

下:3%以上の MS に変異があるがんをマイクロサテライト不安定性 (MSI; Microsatellite Instable) と判定した (赤丸)。大腸がん、子宮体がん、胃がんに MSI 陽性のサンプルが複数検出できた。MS の変異が 3%未満であるがんは、マイクロサテライト不安定性が認められない (MSS; Microsatellite Stable) とした (黒丸)。

この 31 例の MSI 陽性がんのうち、DNA 修復遺伝子の生殖細胞変異が 2 例で見つかりリンチ症候群に相当するとされ、DNA 修復遺伝子の多くの体細胞変異も見つかりました。また、MSI 陽性がんは変異によってネオ抗原[15]が多く発現し、抗原の産生などを誘導する免疫原性が高いと考えられています。本研究により、MSI 陽性がんにはネオ抗原が MSI 陰性がんよりも多く存在すること、MSI 陽性がんの多くはタンパク質をコードする遺伝子内の MS あるいは繰り返し配列の変異からできたことが推測されました。

さらに、高頻度に変異している 20 個の MS マーカーを新たに同定し、埼玉県立がんセンターにある大腸がんと子宮体がんの DNA を用いて、その MSI の診断精度を検証しました。その結果、新しい MS マーカーは、既存の MS マーカーと同程度の変異頻度を持ち、MSI 判定の精度も同等であることが分かりました (図 2)。

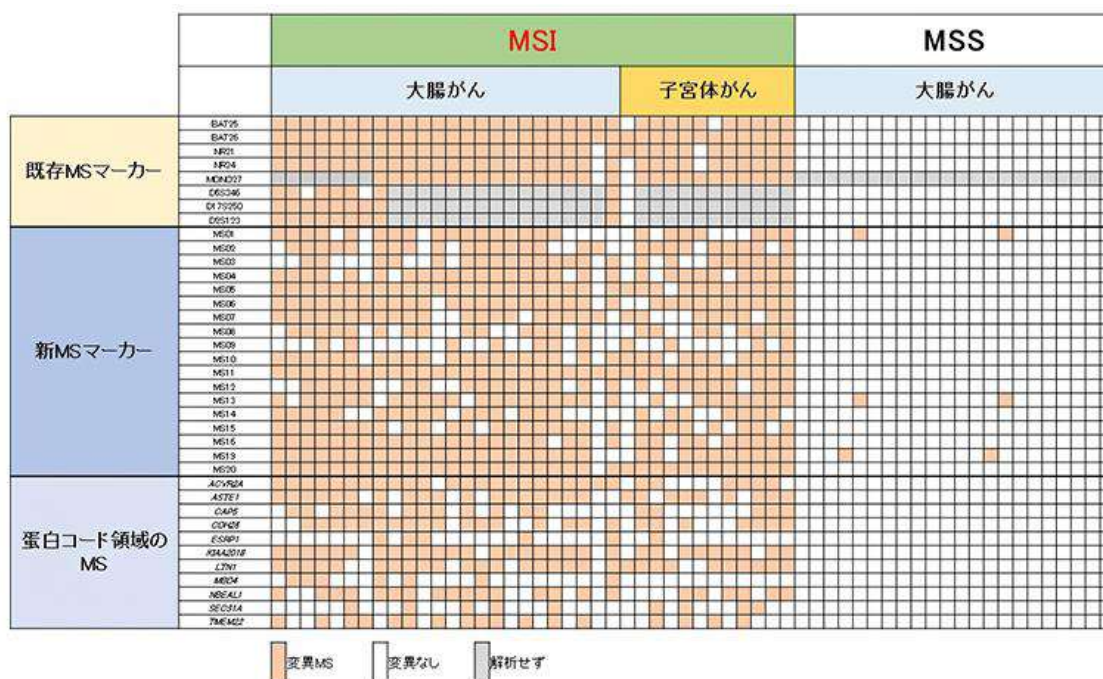


図 2 新規 MS マーカーによる大腸がんと子宮体がんの MSI 判定  
 既存の MSI 診断マーカー (8 個)、今回の高変異率の新規 MS マーカー (20 個)、およびタ

ンパク質コード領域（11 個）の MS マーカーでの変異をオレンジで記している。MSI 陽性の大腸がん（24 例）、子宮体がん（12 例）では、同程度の変異頻度を持つことが分かった。MSI 陰性の大腸がん（22 例）における変異頻度も同程度であることから、MSI 判定の精度も同等であることが分かった。

### 今後の期待

今後、DNA シーケンス解析技術の革新に伴うコストの低下により、全ゲノムシーケンス解析が研究分野のみならず、がんの診断や個別化医療の分野においても標準的なゲノム解析手法になると予測されています。

MSI は、がんの本質である「ゲノムの不安定」に直接つながる現象であり、今回の大規模な全ゲノムシーケンスデータの解析による MSI についての知見は、がんの本体の解明につながるものであり、今後、この現象を標的とした治療法が開発されると考えられます。

また、今回開発した全ゲノムシーケンスデータからの MS 変異解析法（MIMcall）や MSI 判定法は、全ゲノム時代でのがん免疫療法の適応および遺伝性腫瘍の診断に使われるようになることを期待できます。

### 論文情報

タイトル Comprehensive Analysis of Indels in Whole-genome Microsatellite Regions and Microsatellite Instability across 21 Cancer Types

雑誌 *Genome Research*,

DOI 10.1101/gr.255206.119

日本語発表原文

[https://www.riken.jp/press/2020/20200325\\_1/index.html](https://www.riken.jp/press/2020/20200325_1/index.html)

文 JST 客観日本編集部