

論 文 要 旨

ATM immunohistochemistry as a potential marker for the differential diagnosis of no specific molecular profile subtype and POLE-mutation subtype endometrioid carcinoma

ATM 免疫組織化学染色は POLE 変異と
NSMP サブタイプ子宮体がんの
鑑別診断のための潜在的マーカーとなりうるか?

小林 裕介

【目的】

The Cancer Genome Atlas (TCGA)の分類によると、子宮体がんはミスマッチ修復欠損(MMR-d)、TP53 変異、DNA polymerase epsilon 変異(POLE 変異)、特異的分子プロファイルなし(NSMP)、という 4 種類の分子サブタイプに分類されている。ミスマッチ修復欠損と TP53 変異のサブタイプ分類は、それぞれ MMR タンパク質と TP53 の発現状態を確認する免疫組織化学的手法により代用できる。しかし、POLE 変異および NSMP サブタイプに特異的な組織学的および免疫組織化学的特徴は不明であるため、これらの鑑別には分子レベルの解析が必要となる。今回、POLE 変異と NSMP サブタイプ体がんの鑑別を目的として、診断に利用できる免疫組織化学マーカーの同定を試みた。

【方法】

2019 年 1 月から 2021 年 2 月まで鹿児島大学病院で実施された「婦人科がん遺伝子パネル解析臨床研究」に登録された婦人科がん患者 152 例のうち、本研究では体がん 61 例を対象とした。筆者ら独自のがん遺伝子パネル (KST パネル) と Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC)のデータベースを用いて POLE 変異サブタイプ体がんを解析し、特徴的なゲノムプロファイルを抽出した。年齢、組織型、腫瘍含有率、MMR と p53 の免疫染色の結果、TNM と進行期、リンパ節転移の有無、Microsatellite Instability (MSI)スコア、Tumor Mutation Burden (TMB)、POLE 変異、Ataxia-telangiectasia Mutated (ATM)遺伝子変異を表にまとめた。KST パネルでは、Variant Allele Fraction (VAF) が 10%以上のミスセンス変異をカウントし、TM は 42 以上を TMB-high、72 以上を TMB-ultrahigh と判断した。MSI スコアは MSI センサーで算出し、スコアが 1 以上ものを MSI-high と判断した。

【結果】

POLE 変異サブタイプ体がん 5 例において 11 個の POLE 変異と 7 個の ATM ナンセンス変異が検出された。POLE 変異サブタイプでは、ATM 遺伝子のナンセンス変異とそれに伴う ATM 発現の消失を示し、免疫組織化学的手法により同定可能であった。COSMIC データベースを用いた解析により、POLE サブタイプは、しばしば同様の ATM ナンセンス変異を有していることが示された。

POLE サブタイプ体がんは HE 染色にて、症例 4 では高分化な腺管構造パターンを示し、症例 2 では癒合管状および充実性増殖パターンを示した。症例 1 では ATM の発現がモザイク状に消失していた。症例 1 の腺管部では ATM 発現は完全に消失していたが、篩状腺管の領域では核に弱く発現していた。症例 4 では ATM 発現が完全に消失していた。浸潤したリンパ球の核は ATM に強陽性のため、

内部コントロールとした。NSMP サブタイプ体がんでは ATM 発現が陽性で、腫瘍細胞の核がびまん性に陽性であった。NSMP サブタイプの別症例も ATM に対してびまん性に陽性を示した。

COSMIC データベースに登録された体がんの全 ATM 変異の分布を見ると、全 119 例中 32 例が ATM ナンセンス変異を保有していた。ATM ナンセンス変異を保有する 32 例のうち 22 例が POLE 変異を有し、最も頻度が高いのは p.P286R と p.V411L であった。ATM 変異は均等に分布しており、p.R250 が最も頻度が高く、申請者が調査した 61 例において、非 POLE 変異サブタイプ体がんでは ATM ナンセンス変異は比較的まれだった。POLE 変異サブタイプ以外では、3 つの ATM ナンセンス変異が検出された。TP53 変異サブタイプで 1 例 (p.S1770*)、MMR-d サブタイプで 2 例 (p.R250* と p.E2200*) が検出されていた。

NSMP サブタイプ 17 例と POLE 変異サブタイプ 6 例の体がん 23 例に関して、免疫組織化学染色の分析に注目すると、ATM 発現陽性は NSMP サブタイプの診断に有利なマーカーとなり、陰性は NSMP サブタイプと POLE 変異サブタイプの両方の診断を示唆することが有意に示された (Fisher 正確確率検定: P 値 = 0.006)。

【考察】

本研究で POLE 変異サブタイプ体がんは ATM ナンセンス変異を有し、それに伴い ATM 発現が消失することを明らかにした。野生型 ATM の NSMP サブタイプ体がんの一部で ATM 発現が消失していたが、過去の ATM 欠損前立腺がんの研究では、ATM 発現欠損症例がすべてホモ接合性の ATM 不活性化を有するわけではなく、パネルベースの NGS アプローチでは浅いコピー数変化や複雑な再配列に対する検出感度に限界があることが報告されている。また ATM 発現消失の原因として、通常の NGS の手法では検出できない ATM 遺伝子座のエピゲノムサイレンシングも可能性として考えられる。

POLE は誤って取り込まれたヌクレオチドをエクソヌクレアーゼを介して除去することにより DNA 修復を行っている。POLE の機能が遺伝子の変異、特にエクソヌクレアーゼドメインに位置するホットスポット (p.P286R や p.V411L など) の変異によって損なわれると、DNA 修復機能不全が起こり、ミスマッチが蓄積されて TMB-ultrahigh につながる。一方、症例 3 で検出された p.L1186I や p.R2131C のような非エクソヌクレアーゼ領域の変異は非病原性であると考えられている。病原性 POLE 変異が誘発する塩基置換とその位置は知られており、C から A、C から T への置換がしばしば観察され、標的遺伝子 (すなわち ATM、TP53、PIK3R1) のゲノム変異が POLE 変異サブタイプ体がんにも認められる。

これらの遺伝子ではナンセンス変異が POLE 変異によって高頻度に引き起こされる。この観察と一致するように、申請者は POLE 変異体がん症例が ATM、TP53、PIK3R1 のナンセンス変異を示すことを見いだした。しかし、TP53 変異サブタイプと MMR-d サブタイプ症例の一部は ATM ナンセンス変異を有していた。ATM 変異を有する体がん症例は COSMIC データベースにおいて必ずしも POLE 変異を有するとは限らなかったが、申請者の研究結果は「ATM ナンセンス変異」と「ATM 免疫組織化学染色」の組み合わせが POLE 変異体がんを同定するための新しいバイオマーカーとして利用できる可能性を示唆している。

Pathology - Research and Practice 203 (2022) 153743 掲載

<https://doi.org/10.1016/j.prp.2021.153743>