

## ゲノム変化と発がん：マイクロサテライト不安定性 の新しい展開

前原, 喜彦  
九州大学大学院医学研究院消化器・総合外科(第二外科)

織田, 信弥  
国立病院九州がんセンター臨床研究部病理学研究室

<https://doi.org/10.15017/18763>

---

出版情報：福岡醫學雑誌. 94 (7), pp.217-224, 2003-07-25. 福岡医学会  
バージョン：  
権利関係：

## 総 説

## ゲノム変化と発がん-マイクロサテライト不安定性の新しい展開

<sup>1)</sup>九州大学大学院医学研究院消化器・総合外科(第二外科)<sup>2)</sup>国立病院九州がんセンター臨床研究部病理学研究室前原喜彦<sup>1)</sup>, 織田信弥<sup>2)</sup>

## 1. はじめに

悪性腫瘍が、人類にとっていまだ感染症とならぶ大きな驚異であることは言うまでもない。しかし、癌診療に直接たずさわるものとして癌治療の歴史を顧みたと時、手術療法の登場以後、その進歩はまことに遅々としていと言わざるを得ない。マス・スクリーニングの進歩により、例えば多くの早期胃癌が発見され、早い段階で切除されることにより、それまでは失われていた多くの命を救うことができた。しかし、早期胃癌でも急速に進行するものや、遠隔臓器に既に転移を来している症例も経験される。近年は、このようなひとつひとつの腫瘍の性格の違いを把握することが、癌治療を新しい段階へとステップ・アップすることにつながるであろうと期待されている。しかも、近年の分子生物学の進歩は、腫瘍の性格を遺伝子レベルでとらえることをも可能にした。DNA マイクロアレイなどの大量スクリーニング系を用いて、腫瘍の性格を総合的に把握し、治療の個別化(テーラー・メイド治療)をはかっている最近の動きはこのような文脈上にある。しかし、腫瘍の性格を遺伝子レベルでつきつめていくと、結局その腫瘍の出発、すなわち発がんの問題につきあたる。そして、この問題が依然として未解決であることにあらためて気付かされる。本稿では、発がんにおいて重要な1ステップを構成し、その後の腫瘍の性格形成にも大きな役割を担うゲノム変化とその分子背景について、我々の独自の研究で明らかになってきたことを紹介する。

## 2. 発がんの基本仮説とミスマッチ修復異常

分子生物学の進歩は、癌における様々な遺伝子変化をとらえることを可能にした。これによって、癌遺伝子や癌抑制遺伝子と名付けられた「原がん遺伝子」ともいえる一群の遺伝子が発見された。癌遺伝子や癌抑制遺伝子は、その機能が変化したり、失われることで増殖の活性化がおこり発がんの1ステップを構成しているであろうと考えられている遺伝子群である。もちろん、癌で変化がみられるということと、ある変化が癌の原因であるということには大きな隔たりがある。しかし、ここでは敢えて、癌がこれら原がん遺伝子群の段階的变化によって生じているという発がんの基本仮説は疑わない。これらの遺伝子の機能が変化したり、消失したりする過程は、その構造変化による。癌抑制遺伝子として最初に登場した *RBI* 遺伝子は、網膜芽細胞腫でみつかった。この小児の眼に生じる悪性腫瘍には、孤発性片眼性のものと遺伝性両眼性のものがある。後者では、*RBI* 遺伝子の機能を損なう点突然変異が遺伝している。しかしこの状態では、*RBI* 遺伝子座は、もう一方の対立遺伝子が野生型であるために、ことなきをえている。しかしひとたび、この対立遺伝子になんらかの変化が生じて、不活化されると、細胞から *RBI* 遺伝子の機能は完全に失われ(これをヘテロ接合性の消失(loss of heterozygosity, LOH)と呼ぶ)、腫瘍が生じる。このように遺伝子機能が失われる過程は、発見者の名をとって、Knudson モデルと呼ばれている。この基本モデルから、発がんの基礎となっているゲノム変化が浮かび上がってくる。すなわち点突然変異のようなミク

Yoshihiko MAEHARA<sup>1)</sup> and Shinya ODA<sup>2)</sup><sup>1)</sup> Department of Surgery and Science, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8582 Japan<sup>2)</sup> Department of Pathology, Institute for Clinical Research, National Kyushu Cancer Center, 3-1-1 Notame, Minami-ku, Fukuoka, 811-1395 Japan

Genomic Changes Underlying Carcinogenesis: Microsatellite Instability and Its Role

ロゲノムの変化と、遺伝子全体が失われるようなマクロゲノムの変化である。癌遺伝子や癌抑制遺伝子が発見された当時、よくこれらの遺伝子変異が癌の原因だったという言い方がされた。しかし、これら癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常は、いわゆるプロセスであって、正確な意味での原因ではない。真の原因はマクロ、ミクロのゲノム変化をもたらすものである。多くの知見が、点突然変異蓄積過程は染色体の不安定化（染色体不安定性, chromosome instability, CIN）に先行することを示唆している。それでは、変異蓄積はどのようにしてひきおこされるのであろうか。親から譲り受けていない変異、すなわち体細胞突然変異が生じるためには、細胞の中における変異率の上昇が重要であると考えられる<sup>12)</sup>（一部の研究者は体細胞突然変異が生じる上で変異率が上昇する必要はないとしている<sup>34)</sup>）。ゲノム上の変異率を管理している機構は、大腸菌で異常に変異率が上昇している株（ミューテーター, mutator）を分離することで研究された。これらミューテーターで損なわれている遺伝子機能を同定することで、いくつかの変異抑制機構が明らかになってきた。この中で2つの重要なシステムが注目される。ひとつは、複製型 DNA ポリメラーゼ複合体に附随する機能であり、校正機能（proof reading）と呼ばれるものである。今ひとつは、DNA ミスマッチ修復と呼ばれる機構である。どちらも、その機能を欠くミューテーターの変異率は100-10000倍にまで上昇している。これらの機構は、外界に由来するいわゆる DNA 障害(DNA damage)を修復する DNA 修復機構ではなく、DNA 複製の際に不可避免的に生じるエラー（複製エラー, replication error）といういわば「内なる敵」に対抗する機構である点が興味深い。そういう意味では、生物が DNA という物理的実体にその遺伝情報を託した時点から、複製機械としてのポリメラーゼの精度限界が問題として浮上し、生物はその対策に苦勞してきたということが言える。これらの機構の破綻は、変異率の急激な上昇を意味する。突発的な変異率上昇が、癌でみられる体細胞突然変異の蓄積を説明できないだろうかと考えるのは自然である。果たして、1993年に、ポリポーシスを伴わない遺伝性大腸癌(Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer, HNPCC) 家系にミスマッチ修復系を構成する遺伝子の変異が遺伝していることが示された<sup>56)</sup>。この発見により、癌でみられるミスマッチ修復異常は非常なる注目を集めた。

### 3. マイクロサテライト不安定とミスマッチ修復異常

HNPCC とミスマッチ修復の関係が注目された丁度その1993年に、ある興味深いゲノム変化が報告されていた。マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability, MSI) である。マイクロサテライトとは、真核生物のゲノム上に散在するリピート配列の一種であり、1ないし5塩基ともっとも小さな繰り返し単位をもつクラスの総称である。これらの配列は、これより幾分大きな繰り返し単位をもつミニサテライト配列と同様、ヒト集団間で多型に富むため、個人識別や家系解析などに用いられてきた。現在、ヒトゲノム上では極めて多数のマイクロサテライト配列がマッピングされており、さまざまなゲノム解析においても、まさに一里塚的な位置指標として用いられている。MSIとは、この配列の長さの変化、すなわち繰り返し単位の数の変化が大腸癌などのヒトの腫瘍でみとめられるとして提出された概念であった<sup>78)</sup>。この一見とるに足らない観察が、非常なる注目を集めた理由はひとつに、さきに述べた HNPCC でもこの MSI が観察されていたからである<sup>9)</sup>。ミスマッチ修復が、ポリメラーゼによってつくられる複製エラーを除去する機構のひとつであることは上に述べた。複製エラーは、主に2つ存在する。ひとつは、ヌクレオチドの入れ間違いによる塩基ミスマッチと、リピート配列部におけるポリメラーゼの「滑り (slippage)」に由来する鋳型鎖・新生鎖間のズレ (misalignment) の2つである。これらは放置されると1回の複製を経て、前者は塩基置換へ、後者はリピート単位の数の変化につながる。ポリメラーゼ複合体が通過していった後にゲノム上に残されているこれらの複製エラーをミスマッチ修復は効率良く除去して、点突然変異が固定されるのを防いでいる。然して、ミスマッチ修復に異常をもつ HNPCC で、リピート単位の数の変化である MSI が観察されたことは、まさに「理屈通り」の事象であった。しかし、この理解には少なからず問題が残されていたようである。(1) HNPCC では MSI が観察された。(2) HNPCC 患者家系内にはミスマッチ修復遺伝子の変異が遺伝していた。(3) ミスマッチ修復はポリメラーゼがリピート配列上に残した misalignment を解消し、リピート単位数の変化を抑制するのであるから、MSI が観察されるのは当然

である。前2者の結論は事実であった。しかし、3番目の問題は実は、あまり実験的に詳細には検討されずじまいであった。まさにこの点に、ヒト腫瘍でみられる MSI とミスマッチ修復異常との関係が過度に単純視されるようになった原因があった。

#### 4. マイクロサテライト不安定性解析の問題点

それでは、上述したようなマイクロサテライト不安定性はどのようにしてとらえられるのであろうか。これまで様々なアプローチがとられてきたが、もっともポピュラーなものは、採取された genomic DNA を対象に、特定のマイクロサテライト配列を標的にして放射標識したプライマーを用いて polymerase chain reaction (PCR) を行うというものである。反応後、PCR 産物をマニュアルのシーケンシングに用いられる装置でゲル電気泳動し、X 線フィルムを用いてオートラジオグラフィーが行われる。しかしながら、このアプローチにはマイクロサテライト配列解析に不向きな多くの欠点があることはあまり認識されていない。

MSI 解析はその性格上、極めて高い精度の電気泳動が要求される。マイクロサテライト配列は1ないし数-bp と極めて小さな繰り返し単位をもっており、その1繰り返し単位が挿入されたり、欠失したりするのであるから、これらを正確に捕らえるには高精度な電気泳動が必要である。また、MSI 解析は普通、正常組織から得られた対照を観察するサンプルと並べて電気泳動することが多いので、各レーンの移動度がまったく同一でないといけない。しかし、一般に用いられているマニュアルのシーケンシングゲル電気泳動は泳動誤差を生じやすい。また、変化をもつ細胞集団は必ずしも腫瘍標品中で多数をしめているとはかぎらない。変化をもつフラクションが少ないときには、実際には数-bp 長い、あるいは短い DNA 断片が存在していても、検出系の非定量性のために見逃してしまうことも多い。事実、X 線フィルムは定量的な検出には不向きで、多くの場合量の少ない DNA 断片を見失いやすい。PCR 自体にも問題が潜んでいる。しばしば用いられる *Taq* ポリメラーゼは、リピート配列に極めて弱いポリメラーゼで高頻度に「滑り」をおこす。これが、PCR を用いた MSI 解析で PCR 産物のバンドが常に複数本現れる原因である。加えて、*Taq* ポリメラーゼは合成鎖末端に1ヌクレオチドを余計に付加する、いわゆる terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) 活性をもっている。この活性はつねに不完全に発現し、実験条件に容易に左右されるので、「滑り」と相俟って PCR 産物を極めて複雑で、再現性の乏しいものにしてしまう。このような修飾がある程度コントロールされないと、2つの PCR 産物を正確に比較するということは困難である。

このように、従来から用いられてきた MSI 解析には多くの技術論的問題が残されている。解析手法がこのような問題を抱えているという事実は、様々な腫瘍で報告される MSI 陽性頻度が悉く異なるという現実と少なからず関係しているかもしれない。1997年に米国 NCI が主宰したワークショップ<sup>10)</sup>では、このような混乱は使用されたマーカーの多様性に起因すると結論されたが、解析系の問題も軽視できない。著者らの研究グループは1997年にこれらの問題をほぼすべて解決した新しい高精度な MSI 解析系を報告し<sup>11)</sup>、これまで多くの多様なヒト悪性腫瘍について解析をすすめてきた。その結果、これまで認識されていない興味深い側面が明らかになってきた。

#### 5. 2つのマイクロサテライト不安定性

1997年に米国 NCI が主宰したワークショップ<sup>10)</sup>では、マイクロサテライト不安定性を解析したマーカーの中における変化の頻度に応じて2つに分類することが推奨された。すなわち、マーカーの40%以上(例えば、5マーカーの場合、2マーカー)に変化が認められる MSI-H と、40%未満の MSI-L の2つである。しかし、「変化」の定義はこのワークショップではあまり議論されなかった。著者らが新しい解析系を用いて見出したのは、マイクロサテライト配列変化の質的違いであった。様々なヒト悪性腫瘍でみられるマイクロサテライト配列変化は6-bp 以内と比較的小さな変化がみられるものと、変化の幅が8-bp 以上にもおよび、しばしばあたかも独立した新しいアレルが出現したかのような所見を呈するものとの2つに

大別できる(図1)。著者らはこの2つのサブグループをそれぞれ、Aタイプ、Bタイプと呼んでいる<sup>12)~14)</sup>。この分類に根拠を与えたのは他でもなく、DNA ミスマッチ修復遺伝子に既知の欠損をもつヒトおよびマウス培養細胞株を用いた詳細な解析であった。

ミスマッチ修復遺伝子に既知の変異あるいは欠損をもつヒトおよびマウス培養細胞の中で実際にマイクロサテライト配列がどのように不安定化しているか、多くのサブクローンを分離して解析を行うと、確かにそれぞれのクローンでマイクロサテライト配列長が「ゆらぎ」をみせていることが観察されたが、その幅は常に2-bp前後であり、6-bpに満たなかった((15), および未発表データ)。また、これら培養細胞株を集団のまま80世代以上(80回の分裂( $2^{80}$ )は $10^{24}$ 細胞に相当)継続培養してもマイクロサテライト配列長の変化は同じく6-bpに満たない(未発表データ)。さらに、ミスマッチ修復遺伝子ノックアウトマウスの体内に実際に生じた腫瘍においても、変化の幅は6-bp以内であった(未発表データ)。これらの観察は細胞のミスマッチ修復異常に直接起因するマイクロサテライト変化はAタイプであることを強く示唆する。

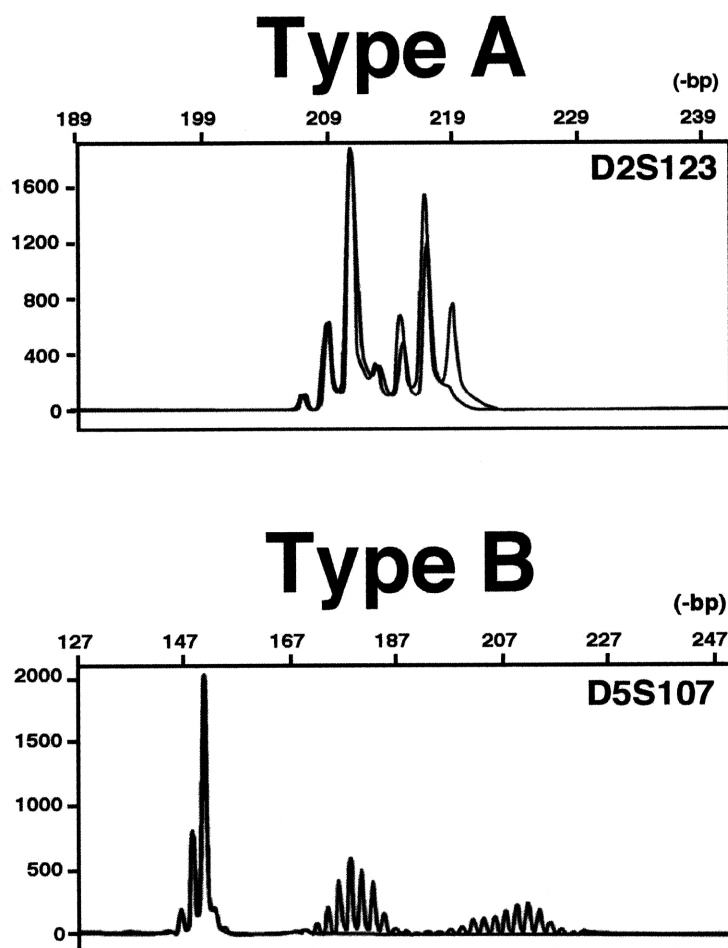


図1 2つのマイクロサテライト不安定性  
ヒト癌でみられるマイクロサテライト配列変化は6-bp以内と比較的小さな変化がみられるものと(Aタイプ)、変化の幅が8-bp以上にもおよび、しばしばあたかも独立した新しいアレルが出現したかのような所見を呈するもの(Bタイプ)との2つに大別できる。図はPCR産物を自動シーケンサーで泳動したときのプロファイルを示している。横軸はDNAフラグメントの長さを、縦軸はその量を表している。正常対照で得られた結果は緑色の線で、腫瘍で得られた結果は赤色の線で表現されている。

実際には、このような MSI の質的なちがいに、最初の報告者のひとり、Thibodeau SN は気づいており、「明らかなフラグメントサイズの増大・減少を I 型変異、2-bp の変化を II 型変異とする」としている<sup>9)</sup>。これは著者らの分類とかなり近い定義と考えられるが、上で議論したような解析を根拠にしておらず、主観的な分類と言わざるをえない。また、大腸癌などでは、この A タイプの MSI は観察したマーカーのごく一部にみられる傾向がたつよく、また、B タイプは観察したマーカーのうちほとんどにみられる傾向が明らかである。これは、さきに言及した NCI ワークショップによる分類、MSI-H と MSI-L に呼応するものかもしれない。しかし、同ワークショップにおいてもそれぞれのタイプの MSI とミスマッチ修復異常との関係は十分に議論されず、MSI-H がミスマッチ修復異常に起因する「真の」MSI であるとされた<sup>10)</sup>。

このような経緯の背景には、A タイプの MSI は従来の解析法では検出が極めて困難であるという事実がある。従って、多くの文献を検証すると、報告された MSI のほとんどは従来の解析法でも容易に捕らえる変化の顕著なタイプ、すなわち B タイプの MSI であることが容易に読み取れる。このように、実際に腫瘍でみられる MSI は少なくとも 2 種類存在するにもかかわらず、解析手法上の問題から一方のみが検出されやすい状況が生れ、また、ミスマッチ修復異常をもつ細胞や腫瘍におけるマイクロサテライト変化が詳細に検討されなかったために、ミスマッチ修復異常と MSI との関係は過度に単純視されてきたようである。

問題を複雑にしたのは、この B タイプの MSI を呈する腫瘍においても、ミスマッチ修復遺伝子の変異がみつかったという事実である。我々は、約 100 例におよぶ大腸癌症例のパネルから、典型的な A タイプ、B タイプの MSI を呈するものをそれぞれ 10 例程度抽出し、2 つの重要なミスマッチ修復遺伝子、*hMSH2* と *hMLH1* について変異解析を行った。その結果、A タイプでは半数ほどに変異がみつかるものの、B タイプには約 3 割にしか変異がみつからなかった(未発表データ)。この観察は、A タイプの MSI が確かに、ミスマッチ修復異常を基礎に生じていることを意味する。加えて興味深いのは、ミスマッチ修復異常と B タイプの MSI との関係である。HNPCC では、ほぼその 100% に B タイプの MSI が観察される。ところが、この HNPCC における *hMSH2* と *hMLH1* の 2 遺伝子の変異頻度は、多くは 5 割以下で、2-3 割といった数字を報告するものもある。この数字は、我々が観察した変異頻度とよく符合する。

それでは、B タイプの MSI はどのような分子基盤をもつのであろうか。そのすべてには *hMSH2* と *hMLH1* の 2 遺伝子の変異がみつからないことは、しばしば単純にミスマッチ修復遺伝子ファミリーのメンバーの数に帰着される。しかし、ノックアウトマウスにおける観察は、この種のマイクロサテライト変化が生じるためには、何かもう 1 つの分子異常が必要であることを示唆している。ひとつの考え方は、ミスマッチ修復異常は、B タイプのマイクロサテライト変化にとって、十分条件ではなく、高度に附随しやすい、もしくは、それがあつて変化が生じやすくなる要因とするものである。おそらく、タイプ B の MSI はポリメラーゼの「滑り」とミスマッチ修復異常といった機序ではなく、その長大で不連続な変化を説明するような異なる DNA 代謝過程における異常を背景に生起する現象であり、いまだに認識されていない分子機序を基礎にしている可能性が高い。このことは、同時に HNPCC においても見過ごされた分子異常が存在することを示唆する。HNPCC の病理を真に理解するためにも、その同定が待たれる。

## 6. 発癌仮説再考

これまで、大腸では、その主たる発癌経路は図 2 A のように考えられてきた。古典経路とも呼ぶべき第 1 の経路は、第 2 項で論じたように、何等かの原因で変異率上昇がおき、ゲノム上に変異が蓄積する。この時点で癌遺伝子や癌抑制遺伝子などの遺伝子座では、片側のアレルに変異が落ちている場合もあるが、対側のアレルは野生型であるために、機能がそこなわれることはない。しかし、染色体不安定性が獲得されると原がん遺伝子座では、野生型アレルも失われるようになる。原がん遺伝子が活性化して増殖優位性を獲得していった細胞は腫瘍化する。これに対して、MSI を呈する腫瘍は一風変わった発癌経路を経て生じるとされている<sup>16)17)</sup>。ミスマッチ修復異常によって、マイクロサテライト配列が不安定化した細胞の形質は Microsatellite Mutator Phenotype (MMP) と呼ばれている。このような細胞では、コード領域内に

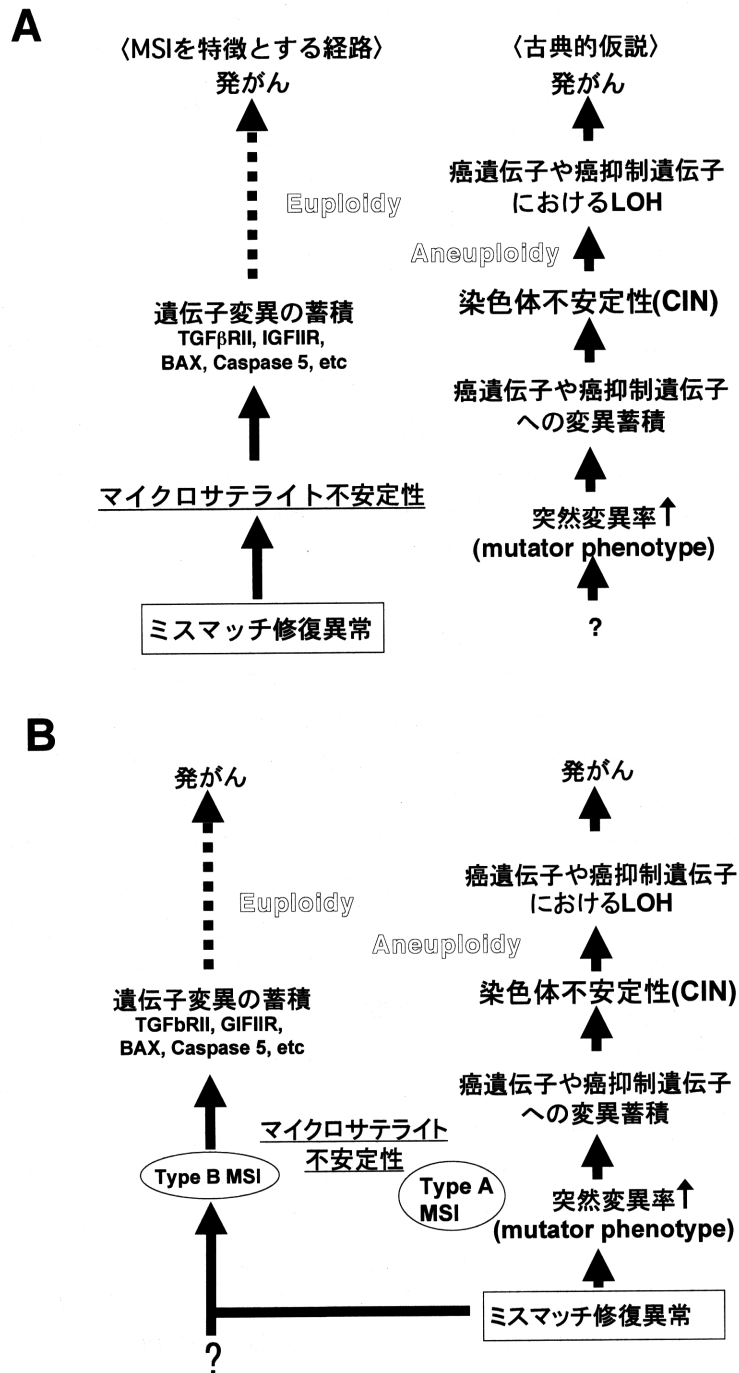


図2 これまで想定されていた大腸の発癌経路と新しい考え方

A. これまで大腸の発癌においては、主に2つの独立した経路が想定されていた。ひとつは、癌遺伝子や癌抑制遺伝子に点突然変異が生じ、染色体不安定性によりこれらのアレルが活性化することで腫瘍が発生するとする「古典仮説」ともいえる経路である。今ひとつは、ミスマッチ修復異常に起因するマイクロサテライト不安定性を特徴とし、原がん遺伝子には変異をもたず、リピートをコード領域内にもつような遺伝子群の変化により発癌するとされる経路である。B. 詳細なマイクロサテライト不安定性解析により、AタイプとBタイプの存在が明らかになった。Aタイプはミスマッチ修復異常に直接起因する形質である。*p53*の変異解析の結果からミスマッチ修復異常は、むしろ「古典経路」において原がん遺伝子変異の源となっている可能性が示唆された。Bタイプのマイクロサテライト不安定性とミスマッチ修復異常の関係は、実際は複雑であることが予想される。

リピートをもつ遺伝子群で同様なリピート不安定化がおきて、その機能がそこなわれる。現在までに、*TGFβRII*, *IGF1R*, *WT1*, *BAX*, などの遺伝子がこのカテゴリーに挙げられている。染色体不安定性には依存していないため、この種の腫瘍は euploid であることも特徴である。このように2つの独立した経路を想定する根拠は、最もポピュラーな癌抑制遺伝子 *p53* の変異が MSI を呈する腫瘍では、まったく観察されないという事実であった。しかし、疑問として残るのは、なぜミスマッチ修復に異常をもつ細胞で点突然変異による遺伝子異常がおきないのかということである。我々は、独自の大腸癌症例のパネルで、*p53* 遺伝子変異と MSI の関係を解析してみた。その結果、大変興味深いことに、A タイプの MSI は *p53* 変異と極めてよく相関することがわかった(未発表データ)。B タイプにおいては、これまで指摘されてきたように、1例も *p53* 遺伝子変異を見出すことができなかった。この観察の意義は、ミスマッチ修復異常に直接起因する A タイプ MSI を呈する腫瘍では、*p53* 遺伝子に高頻度に変異が落ちている、すなわち、期待されたようにミスマッチ修復異常は古典経路における原癌遺伝子変異の源である可能性が示唆されたことにある(図2B)。変異率上昇の発癌における意義については議論のあるところであるが、仮に変異率上昇が体細胞突然変異の増加に寄与しているとすれば、ゲノム上の変異率を管理する主たる機構であるミスマッチ修復の破綻は、様々な遺伝子における変異蓄積に寄与するはずである。その意味では、A タイプ MSI の発見は、この極めて自然な仮説に回帰することを可能にした。B タイプ MSI の機序の詳細は以前不明であるが、変異蓄積に依存せず、遺伝子間リピートの広範な変化にもかかわらず、染色体倍数性は不変(図2B)という極めて特殊な形態をとるこの種の癌は、大腸では近位側に多く発生し、低分化腺癌が多く、若年発症で予後が良好という臨床像からも、特殊なカテゴリーであると考えられる。

## 7. おわりに

高発癌リスクとの関連から発癌において重要な役割を演じている可能性を注目されるミスマッチ修復異常とその結果生じるゲノム変化とのこれまで認識されていなかった関係について述べた。この2者の関係は、特に B タイプ MSI の機序の詳細が明らかでない現在は、完全に明らかにはなっていないが、少なくとも、発癌の種たる経路におけるミスマッチ修復異常の位置付けを大きく修正することにつながりそうである(図2)。両者の関係が当初、過度に単純視されるようになった経緯には、我々が直面している生物学的諸解析におけるある種の難しさが読み取れる。基本仮説とその後の観察による修正という構図はおそらく、二重三重の「入れ子」構造になっていると考えられる。我々が今回提出した考え方にもおそらく過度に事物を単純視している部分があるであろうし、さらに詳細な研究がこれを修正していくことが期待される。ここに述べた内容については、読者諸兄から大いに御批判御叱正をいただきたい。

生物はまだまだ我々の理解を超えたところにある。癌もまた然りである。しかし、これを少しでも生物学的により詳細に、且つ正確に理解しようとすることは、その診療にいつの日か必ずフィードバックされることと期待される。地道な研究が求められている。

## 参 考 文 献

- 1) Loeb, L. A.: A mutator phenotype in cancer. *Cancer Res*, 61: 3230-3239., 2001.
- 2) Loeb, L. A., Loeb, K. R., and Anderson, J. P.: Multiple mutations and cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100: 776-781., 2003.
- 3) Tomlinson, I. P., Novelli, M. R., and Bodmer, W. F.: The mutation rate and cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93: 14800-14803., 1996.
- 4) Tomlinson, I. and Bodmer, W.: Selection, the mutation rate and cancer: ensuring that the tail does not wag the dog. *Nat Med*, 5: 11-12., 1999.
- 5) Fishel, R., Lescoe, M. K., Rao, M. R., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Garber, J., Kane, M., and Kolodner, R.: The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer [published erratum appears in *Cell* 1994 Apr 8; 77 (1): 167]. *Cell*, 75: 1027-1038, 1993.
- 6) Leach, F. S., Nicolaides, N. C., Papadopoulos, N., Liu, B., Jen, J., Parsons, R., Peltomaki, P., Sistonen, P., Aaltonen, L. A., Nystrom-Lahti, M., and et al.: Mutations of a mutS homolog in hereditary



- nonpolyposis colorectal cancer. *Cell*, 75 : 1215-1225, 1993.
- 7) Ionov, Y., Peinado, M. A., Malkhosyan, S., Shibata, D., and Perucho, M : Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature*, 363 : 558-561, 1993.
  - 8) Thibodeau, S. N., Bren, G., and Schaid, D : Microsatellite instability in cancer of the proximal colon [see comments]. *Comment in : Science* 1993 May 7 ; 260 (5109) : 751. *Science*, 260 : 816-819, 1993.
  - 9) Aaltonen, L. A., Peltomaki, P., Leach, F. S., Sistonen, P., Pylkkanen, L., Mecklin, J. P., Jarvinen, H., Powell, S. M., Jen, J., Hamilton, S. R., and et al. : Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer [see comments]. *Comment in : Science* 1993 May 7 ; 260 (5109) : 751. *Science*, 260 : 812-816, 1993.
  - 10) Boland, C. R., Thibodeau, S. N., Hamilton, S. R., Sidransky, D., Eshleman, J. R., Burt, R. W., Meltzer, S. J., Rodriguez-Bigas, M. A., Fodde, R., Ranzani, G. N., and Srivastava, S : A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition : development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. [Review] [119 refs]. *Cancer Research*, 58 : 5248-5257, 1998.
  - 11) Oda, S., Oki, E., Maehara, Y., and Sugimachi, K : Precise assessment of microsatellite instability using high resolution fluorescent microsatellite analysis. *Nucleic Acids Research*, 25 : 3415-3420, 1997.
  - 12) Tokunaga, E., Oki, E., Oda, S., Kataoka, A., Kitamura, K., Ohno, S., Maehara, Y., and Sugimachi, K : Frequency of microsatellite instability in Breast cancer determined by high-resolution fluorescent microsatellite analysis. *Oncology*, 59 : 44-49, 2000.
  - 13) Ikeda, Y., Oda, S., Abe, T., Ohno, S., Maehara, Y., and Sugimachi, K : Features of microsatellite instability in colorectal cancer : Comparison between colon and rectum. *Oncology*, 61 : 168-174, 2001.
  - 14) Oda, S., Maehara, Y., Sumiyoshi, Y., and Sugimachi, K : Microsatellite instability in cancer : what problems remain unanswered? *Surgery*, 131 : S55-S62, 2002.
  - 15) Oki, E., Oda, S., Maehara, Y., and Sugimachi, K : Mutated gene-specific phenotypes of dinucleotide repeat instability in human colorectal carcinoma cell lines deficient in DNA mismatch repair. *Oncogene*, 18 : 2143-2147, 1999.
  - 16) Perucho, M. Microsatellite instability : the mutator that mutates the other mutator. *Nat Med*, 2 : 630-631., 1996.
  - 17) Perucho, M : Cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Biol Chem*, 377 : 675-684., 1996.