

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08351

研究課題名(和文) 唾液腺腫瘍に関連した変異遺伝子の分子病理学および臨床病理学的解析

研究課題名(英文) Molecular pathological analysis of salivary gland carcinomas

研究代表者

稲垣 宏 (Inagaki, Hiroshi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：30232507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、唾液腺に発生する粘表皮癌、腺様嚢胞癌、乳腺類似分泌癌に焦点を当てた。[粘表皮癌]本腫瘍においては、新規亜型であるワルチン腫瘍類似粘表皮癌を提唱し、amphiregulin高発現の意義を明らかにし、CRTC1-MAML2融合遺伝子陽性症例を示す非進行例では術後放射線治療が不要であることを指摘した。[腺様嚢胞癌]MYB、MYBL1、NF1B遺伝子異常、EGFR経路遺伝子異常の意義を明らかにした。また免疫治療と関連が深い癌精巢抗原が多く発現していることを明らかにした。[乳腺類似分泌癌]定型的なETV6-NTRK3融合遺伝子以外に新規遺伝子異常が本腫瘍に関与していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on mucoepidermoid carcinoma, adenoid cystic carcinoma, and mammary-analogue secretory carcinoma of the salivary gland. In mucoepidermoid carcinomas, we proposed a novel variant, Warthin-like mucoepidermoid carcinoma; clarified clinicopathological significance of amphiregulin overexpression; and pointed out that postoperative radiotherapy may not be necessary for early stage, CRTC1/3-MAML2-positive cases. In adenoid cystic carcinomas, we clarified clinicopathological significance of gene rearrangements associated with MYB, MYBL1, and NF1B genes, and abnormalities of genes involved in the EGFR signaling pathway. In mammary-analogue secretory carcinomas, we detected a novel chromosomal alteration other than classical ETV6-NTRK3.

研究分野：分子病理学 唾液腺腫瘍 悪性リンパ腫

キーワード：分子病理学 粘表皮癌 腺様嚢胞癌 分泌癌 唾液腺腫瘍

### 1. 研究開始当初の背景

【唾液腺腫瘍について】比較的まれな腫瘍である唾液腺腫瘍は、種類が約40種類と多彩であり、病理診断や腫瘍悪性度の評価は、多くの免疫組織学な検討を行ってもしばしば困難である。外科治療において、切除範囲、顔面神経温存、頸部リンパ節郭清などの決定に客観的な指標が十分明らかにされていない。近年、EGFR、HER2、ホルモン受容体などを対象とした分子標的療法も想定されているが、十分な検討が進んでいるとは言いがたい。【粘表皮癌について】申請者らはこれまでに100例以上の粘表皮癌を解析し、CRTC1-MAML2キメラ遺伝子が約半数の症例に陽性となり、これが組織学的低悪性度と良好予後と関連することを明らかにした。また新しい遺伝子亜型CRTC3-MAML2キメラ遺伝子を報告し、CRTC1-MAML2症例と同様、良好な予後を示すことを報告した。さらにこれらの遺伝子異常を粘表皮癌病理分類に組み入れることが有用であることを示した。その後、FISH解析を用いて、MAML2遺伝子がキメラ遺伝子異常の中心であること、さらにCRTC1/3以外にもキメラ遺伝子形成に関与する遺伝子があることを示した。申請者らの報告以来、粘表皮癌の病理診断や予後推定に対して、MAML2遺伝子異常は有用な客観的指標であることが広く世界的に認識されている。しかしこの腫瘍の前駆病変、亜型解析、進展因子、分子標的治療への応用など解決すべき課題は多い。【粘表皮癌以外の唾液腺腫瘍について】粘表皮癌以外の唾液腺腫瘍においても多くのキメラ遺伝子異常が報告されている：腺様嚢胞癌におけるMYB-NFIB、唾液腺導管癌・多形腺腫由来癌におけるPLAG1/HMGA2、乳腺類似分泌癌におけるETV6-NTRK3。しかし腫瘍発生頻度が低いこと、病理診断が難しいこと、切断点が多いキメラ遺伝子検索方法が確立していないことなどのために、これらの遺伝子異常のもつ臨床病理学的意義はほとんど解明されていない。

### 2. 研究の目的

本研究において申請者は代表的な唾液腺癌およびその亜型を多数症例で解析し、遺伝子異常の持つ分子病理学的、臨床病理学的意義を後方視的に明らかにする。そして将来の前方視的臨床病理学的研究の足掛かりを築く。

### 3. 研究の方法

【1】代表的な唾液腺癌について、組織FISH解析を行い、それぞれの腫瘍における特異的遺伝子の分子病理学的、臨床病理学的意義を明らかにする。【2】粘表皮癌と関連して、MAML2遺伝子異常を示す異型ワルチン腫瘍を我々が開発したFISH-WSI(BACクローンから独自にFISHプローブを作製し、腫瘍組織全体をデータ化(Whole slide imaging; WSI))

を用いて解析する。【3】FISH解析に加えて免疫染色、リアルタイムRT-PCR、in situ hybridization法、シーケンス法などを用いて遺伝子解析し、分子標的治療対象分子の発現検索、がん関連遺伝子の異常を検索する。

### 4. 研究成果

1) 乳腺類似分泌癌にはETV6-NTRK3融合遺伝子が特徴的遺伝子異常と考えられていたが、我々はETV6がNTRK3遺伝子以外の遺伝子と融合遺伝子を形成すること(ETV6-X)を明らかにし、またETV6-Xを有する症例は臨床病理学的に悪性度が高い可能性があることを指摘した(Am J Surg Pathol 2015; 39: 602-610)。

2) 粘表皮癌の一部に、良性腫瘍であるワルチン腫瘍に類似する症例があり、その腫瘍起源が不明であった。我々はFISHシグナルをWSI(Whole slide imaging)の技術により解析し、これらの症例がワルチン腫瘍由来の粘表皮癌ではなく、ワルチン腫瘍に類似した粘表皮癌であることを明らかにした(Am J Surg Pathol 2015; 39: 279-285)。

3) アンドロゲン受容体発現は唾液腺導管癌に特徴的とされるが、高悪性度粘表皮癌にもアンドロゲン受容体を発現する症例があり、これを報告した(Int J Surg Pathol 2015; 23: 243-247)。

4) 粘表皮癌においてamphiregulinの高発現がCRTC1-MAML2融合遺伝子陽性と関連することを明らかにし、この分子高発現が融合遺伝子有無の推定および良好な患者予後に関連することを明らかにした(Hum Pathol, 2016; 57: 37-44)。

5) T1/2N0M0の粘表皮癌においてCRTC1-MAML2融合遺伝子陽性症例は外科手術のみで良好な予後を示すことを明らかにし、術後放射線治療が不要である可能性を指摘した(Head Neck, In press)。

6) 種々の癌精巢抗原が多くの悪性度高唾液腺癌で発現していることを示し、特にMAGE-A発現は腺様嚢胞癌においては不良予後と関連することを明らかにした(Histopathology 2017; 71: 305-315)。

7) 唾液腺線条部導管腺腫は稀な腫瘍であるが、血腫を示した症例を報告した。この腫瘍の診断では甲状腺乳頭癌との鑑別が問題となることを指摘した(Pathol Int 2017; 67: 316-321)。

8) 唾液腺腺様嚢胞癌では、MYB、MYBL1、NFIB遺伝子異常がほとんどの症例で関与し、MYB/MYBL1異常は腫瘍悪性度、MYC高発現、患者予後と関連することを明らかにした(Histopathology 2017; 71: 823)。

9) 唾液腺腺様嚢胞癌では、EGFR経路遺伝子(特にRAS)の異常が見られ、予後不良因子であることを明らかにしたが、この知見は抗EGFR抗体治療を行う際には重要と考えられる(Oncotarget 2018; 9: 17043)。

10) 頭頸部腫瘍WHO分類2017では、この中

に含まれる唾液腺腫瘍において、粘表皮癌、腺様嚢胞癌、明細胞癌、分泌癌の項を担当し、執筆した。

11) 唾液腺腫瘍への理解が深まるよう、一般病理医、臨床医を対象に唾液腺腫瘍における遺伝子異常について解説書を執筆した

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

①Saida K, Murase T, Ito M, Fujii K, Takino H, Masaki A, Kawakita D, Ijichi K, Tada Y, Kusafuka K, Iida Y, Onitsuka T, Yatabe Y, Hanai N, Hasegawa Y, Shinomiya H, Nibu K, Shimozato K, Inagaki H. Mutation analysis of the EGFR pathway genes, EGFR, RAS, PIK3CA, BRAF, and AKT1 in salivary gland adenoid cystic carcinoma, *Oncotarget*, 査読有, 9, 2018, 17043-17055, DOI:10.18632/oncotarget.24818  
ニュアル 2017; 89: 291-299, 耳鼻咽喉科・頭頸部外科. 耳鼻咽喉科検査マニユアル, 89, 2017, 291-299, 査読無, DOI:無し

稲垣宏、齋田昂佑、腫瘍の検査：染色体・遺伝子転座 唾液腺がんを中心に. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科. 耳鼻咽喉科検査マ

Beppu S, Ito Y, Fujii K, Saida K, Takino H, Masaki A, Murase T, Kusafuka K, Iida Y, Onitsuka T, Yatabe Y, Hanai N, Hasegawa Y, Ijichi K, Murakami S, Inagaki H. Expression of cancer/testis antigens in salivary gland carcinomas with reference to MAGE-A and NY-ESO-1 expression in adenoid cystic carcinoma, *Histopathology* 査読有, 71, 2017, 305-315, DOI: 10.1111/his.13226

Ito Y, Fujii K, Murase T, Saida K, Okumura Y, Takino H, Masaki A, Beppu S, Kawakita D, Ijichi K, Inagaki H. Striated duct adenoma presenting with intra-tumoral hematoma and papillary thyroid carcinoma-like histology, *Pathology International*, 査読有, 67, 2017, 316-321, DOI: 10.1111/pin.12534

Fujii K, Murase T, Beppu S, Saida K, Takino H, Masaki A, Ijichi K, Kusafuka K, Iida Y, Onitsuka T, Yatabe Y, Hanai N, Hasegawa Y, Inagaki H. MYB, MYBL1, MYBL2 and NF1B gene alterations and MYC overexpression in salivary gland adenoid cystic carcinoma, *Histopathology*, 査読有, 71, 2017, 823-834, DOI: 10.1111/his.13281

Okumura Y, Murase T, Saida K, Fujii K, Takino H, Masaki A, Ijichi K, Shimozato K, Tada Y, Nibu K, Inagaki H. Post-operative Radiotherapy for T1/2N0M0 Mucoepidermoid Carcinoma Positive for CRTC1/3-MAML2 Fusions. *Head and Neck*, 査読有, 2017, 印

刷中, DOI:無し

Ito Y, Fujii K, Murase T, Saida K, Okumura Y, Takino H, Masaki A, Beppu S, Kawakita D, Ijichi K, Inagaki H. *Pathology International*, 査読有, 2017, 67(6), 316-321, DOI: 10.1111/pin.12534

Beppu S, Ito Y, Fujii K, Saida K, Takino T, Masaki A, Murase T, Kusafuka K, Iida Y, Onitsuka T, Yatabe Y, Hanai N, Hasegawa Y, Ijichi K, Murakami S, Inagaki H. Expression of Cancer-Testis Antigens in Salivary Gland Carcinomas with Reference to MAGE-A and NY-ESO-1 Expression in Adenoid Cystic Carcinoma, *Histopathology*. 査読有, 71(2), 2017, 305-315, DOI: 10.1111/his.13226

Shinomiya H, Ito Y, Kubo M, Yonezawa K, Otsuki N, Iwae S, Inagaki H. Nibu K. Expression of amphiregulin in mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: a molecular and clinicopathological study. *Human Pathology*, 査読有, 57, 2016, 37-44, DOI: 10.1016/j.humpath.2016.06.016

Kusafuka K, Kawasaki T, Maeda M, Yamanegi K, Baba S, Ito Y, Inagaki H. Nakajima T. Salivary duct carcinoma with rhabdoid features: a salivary counterpart against pleomorphic lobular carcinoma of the breast *Histopathology* 査読有, 2016 70(2):164-173, DOI: 10.1111/his.12987

Ishibashi K, Ito Y, Fujii K, Masaki A, Beppu S, Kawakita D, Ijichi K, Shimozato K, Inagaki H. Androgen receptor-positive mucoepidermoid carcinoma: case report and literature review. *International Journal of Surgical Pathology*, 査読有, 23 (3), 2015, 243-247, DOI: 10.1177/1066896914565024

Ito Y, Ishibashi K, Masaki A, Fujii K, Fujiyoshi Y, Hattori H, Kawakita D, Matsumoto M, Miyabe S, Shimozato K, Nagao T, Inagaki H. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: a clinicopathologic and molecular study including 2 cases harboring ETV6- X fusion *The American Journal of Surgical Pathology*, 査読有, 39 (5), 2015, 602-610, DOI: 10.1097/PAS.0000000000000392

Prieto-Granada CN, Inagaki H. Mueller J. Thymic Mucoepidermoid Carcinoma: Report of a Case with CTRC1/3-MALM2 Molecular Studies. *International Journal of Surgical Pathology*, 査読有, 23 (4), 2015, 277-283, DOI: 10.1177/1066896915576959

Ishibashi K, Ito Y, Masaki A, Fujii K, Beppu S, Sakakibara T, Takino H, Takase H, Ijichi K, Shimozato K, Inagaki H. Warthin-like Mucoepidermoid Carcinoma: A Combined Study of Fluorescence In Situ

Hybridization and Whole-slide Imaging The American Journal of Surgical Pathology 査読有 39 (11), 2015, 279-285 DOI:10.1097/PAS.0000000000000507

〔学会発表〕(計21件)

①稲垣 宏、第56回日本臨床細胞学会秋期大会(招待講演)、2017、唾液腺細胞診における遺伝子異常の関わり シンポジウム 10 唾液腺腫瘍の細胞診:新WHO分類を踏まえて

Inagaki H et al. THE 5TH CONGRESS OF ASIAN SOCIETY OF HEAD AND NECK ONCOLOGY、2017 Post-operative Radiotherapy for CRTC1/3-MAML2 Fusion-positive, T1/2NOMO Mucoepidermoid Carcinoma

Inagaki H et al. THE 5TH CONGRESS OF ASIAN SOCIETY OF HEAD AND NECK ONCOLOGY 2017、71、2017、

Inagaki H et al. THE 5TH CONGRESS OF ASIAN SOCIETY OF HEAD AND NECK ONCOLOGY、2017、Adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: MYB, MYBL1, and NF1B fusions and clinical characteristics

稲垣 宏 他、第61回日本唾液腺学会学術集会、2016、唾液腺腺様嚢胞癌における MYB、MYBL1、MYBL2、NF1B の FISH 解析による検討

稲垣 宏 他、第61回日本唾液腺学会学術集会、2016、FISH-WSI法を用いた多形腺腫モノクローナリティの細胞レベル解析

稲垣 宏 他、第61回日本唾液腺学会学術集会、2016、唾液腺腺様嚢胞癌における癌精巢抗原の発現

稲垣 宏 他、第61回日本唾液腺学会学術集会、2016、CRTC1/3-MAML2 キメラ遺伝子陽性唾液腺原発粘表皮癌患者(T1/2NOMO)における初回外科的切除後の放射線治療適応の検討

稲垣 宏 他、第61回日本唾液腺学会学術集会、2016、唾液腺腺様嚢胞癌におけるRAS遺伝子変異の臨床病理学的意義

稲垣 宏 他、第61回日本唾液腺学会学術集会、2016、粘表皮癌におけるCRTC1-MAML2キメラ遺伝子とアンフィレグリンの発現について

稲垣 宏、第55回日本臨床細胞学会秋期大会(招待講演)、2016、唾液腺腫瘍における遺伝子異常とその細胞診断への応用

稲垣 宏 他、第105回日本病理学会総会、2016、唾液腺腺様嚢胞癌におけるMYB遺伝子分離の臨床病理学的検討

稲垣 宏 他、第105回日本病理学会総会、2016、唾液腺原発粘表皮癌におけるCRTC1/3-MAML2キメラ遺伝子患者の年代別特徴

稲垣 宏 他、第105回日本病理学会総会、2016、耳下腺に発生したStriated duct adenomaの1例

稲垣 宏 他、第105回日本病理学会総会、2016、CRTC1-MAML2融合遺伝子を認めた気管原発の小児粘表皮癌の1例

稲垣 宏 他、第104回日本病理学会総会、2015、Mammary analogue secretory carcinomaにおけるETV6関連キメラ遺伝子異常の検討

稲垣 宏 他、第104回日本病理学会総会、2015、アンドロゲン陽性粘表皮癌

稲垣 宏、第104回日本病理学会総会(招待講演)、2015、唾液腺腫瘍の遺伝子異常:腫瘍特異的融合遺伝子を中心に

Inagaki H. 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology(ASHNO). (招待講演 X 国際学会)2015, Clinicopathological Significance of Fusion Oncogenes in Salivary Gland Tumors

Inagaki H et al. 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology(ASHNO). (国際学会)2015, Warthin-like Mucoepidermoid Carcinoma: The Proposal of a New Variant

②Inagaki H et al. 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology(ASHNO). (国際学会)2015, ETV6-X Fusion in Mammary Analogue Secretory Carcinoma of Salivary Glands

Clinicopathological significance of RAS gene mutations in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands

〔図書〕(計8件)

①稲垣宏他、医学書院、耳鼻咽喉科・頭頸部外科増刊(第89巻第5号)、臨床力UP!耳鼻咽喉科検査マニュアル、2017、438(p291-299)

Skalova A, Bell D, Bishop JA, Inagaki H, Seethala R, Vielh P. Secretory carcinoma, WHO Classification of Tumours, 2017, 347 (p177-178)

Wenig BM, Bell D, Chiosea S, Inagaki H, Seethala R. Clear cell carcinoma, WHO Classification of Head and Neck Tumours, 2017, 347 (p168-169)

Brandwein-Gensler M Bell D, Inagaki H, Katabi N, Leibo I, Seethala R, Mucoepidermoid carcinoma, WHO Classification of Head and Neck Tumours, WHO Classification of Head and Neck Tumours, 2017, 347 (p163-164)

Inagaki H, Bell D, Brandwein-Gensler M. Mucoepidermoid carcinoma, WHO Classification of Head and Neck Tumours, 2017, 347 (p127)

稲垣宏他、文光堂、病理と臨床、臨時増刊号、癌の分子病理学、病理診断から治療標的の探索まで、2016、360(p84-90)

稲垣 宏 他、文光堂、腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部腫瘍I、2015、258 (p23-31)

Inagaki H et al. WHO Press、WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, 4th ed. 2015, 412 (p270-271)

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：染色方法、染色材、及び染色キット

発明者：稲垣宏、高瀬弘嗣

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2017 - 059098

出願年月日：平成 29 年 3 月 24 日

国内外の別： 国内

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/patho2.d  
ir/mysite1/index.html](http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/patho2.d<br/>ir/mysite1/index.html)

6．研究組織

(1)研究代表者

稲垣宏（INAGAKI, Hiroshi）

名古屋市立大学大学院医学研究科・教授

研究者番号：30232507