

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09752

研究課題名(和文) 皮膚悪性腫瘍の全エクソンシーケンスによる網羅的遺伝子変異解析

研究課題名(英文) Comprehensive genetic analyses for malignant skin tumors by whole exome sequencing

研究代表者

大磯 直毅 (OISO, Naoki)

近畿大学・医学部・准教授

研究者番号：10419814

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)：分子標的薬の発展とともに皮膚悪性腫瘍に対する新規化学療法の展開が期待される。本邦皮膚悪性腫瘍に対する網羅的遺伝子解析結果の集積が求められる。粘膜黒色腫症例で既知ドライバー遺伝子SF3B1に遺伝子変異を同定した。粘膜黒色腫報告例を統合するとSF3B1遺伝子変異は42例中15例の35.7%と高頻度であった。爪部悪性黒色腫(末端黒子型黒色腫)由来リンパ節転移症例で既知ドライバー遺伝子KITと新規ドライバー遺伝子LZTR1に遺伝子変異を同定した。

研究成果の概要(英文)：New molecularly targeted therapies are necessary for individuals with malignant skin tumors, i.e. melanoma and squamous cell carcinoma. Comprehensive genetic analyses for malignant skin tumors are currently required in Japan. We identified a recurrent somatic mutation in SF3B1 in one of two Japanese patients with mucosal melanoma. Previous data and our own data reveal recurrent somatic SF3B1 mutations in 15 of 42 (35.7%) mucosal melanoma patients. We identified a recurrent somatic mutation in KIT and a novel somatic mutation in LZTR1 in a Japanese patient with lymph node metastatic melanoma from ungula melanoma. These may contribute novel strategies of molecularly targeted therapies to improve prognosis in persons with malignant skin tumors.

研究分野：皮膚科学

キーワード：皮膚悪性腫瘍 悪性黒色腫 網羅的遺伝子解析 ドライバー遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

皮膚悪性腫瘍(悪性黒色腫や有棘細胞がんなど)は後天的に複数の遺伝子変異が集積して発症、増殖、転移する。研究開始当初、次世代シーケンサーが実用化され、活用されるようになってきていた。しかしながら、本邦では次世代シーケンサーを用いた皮膚悪性腫瘍の遺伝子変異解析はほとんど実施されていなかった。皮膚悪性腫瘍由来ゲノム DNA を用いて、次世代シーケンサーによる体細胞遺伝子変異解析を実施し、後天的な遺伝子変異を探索することで、日本人に発症しやすい遺伝子変異を同定しようと考えた。これらの解析結果は、日本人の生命予後に貢献できる可能性があると考えた。

## 2. 研究の目的

(1) 皮膚悪性腫瘍(悪性黒色腫や有棘細胞がんなど)の原因となる後天的な遺伝子変異を同定し、その発症機序解明をめざした。とくに、悪性黒色腫と有棘細胞がんを検討した。皮膚悪性腫瘍由来ゲノム DNA と末梢血由来ゲノム DNA を用い、次世代シーケンサーによる体細胞遺伝子変異解析により、後天的な遺伝子変異、とくにドライバー遺伝子同定をめざした。

(2) 皮膚悪性腫瘍(悪性黒色腫や有棘細胞がんなど)に関連すると考えられる体細胞遺伝子変異群をバイオインフォマティクス解析した。ホットスポットと考えられる遺伝子変異が同定されれば、メタ解析による詳細な解析と分子標的療法の開発に繋がると考えた。これらの解析結果は、日本人の生命予後に貢献できる可能性があると考えた。

## 3. 研究の方法

(1) 本研究は近畿大学医学部遺伝子倫理委員会から承認を受けた。本研究を患者に説明し、口頭と文書による同意を得た。

(2) 皮膚悪性腫瘍(悪性黒色腫や有棘細胞

がんなど)の試料を集積した。皮膚悪性腫瘍由来ゲノム DNA と末梢血由来ゲノム DNA を用いて、次世代シーケンサーによる体細胞遺伝子変異を解析した。

(3) 体細胞遺伝子変異解析結果を用いてバイオインフォマティクス解析を実施した。

## 4. 研究成果

(1) 日本人粘膜黒色腫における *SF3B* 体細胞遺伝子変異の同定

悪性黒色腫は皮膚・眼内・粘膜部から発症しうる。皮膚からは、悪性黒子型黒色腫、表在拡大型黒色腫、結節型黒色腫、末端黒子型黒色腫が生じうる。粘膜黒色腫は外陰粘膜部、直腸肛門粘膜部、鼻・歯肉・口腔・咽頭粘膜部から生じうる。粘膜黒色腫のドライバー遺伝子として *KIT* と *NF1* の体細胞遺伝子変異が知られていた。粘膜黒色腫は予後不良例が多いがその遺伝的背景は不明であった。皮膚科は口唇・口腔粘膜部や外陰粘膜部などの粘膜部も診療する。

2 例の粘膜黒色腫(外陰部由来粘膜黒色腫と歯肉粘膜由来転移性悪性黒色腫)に対し、次世代シーケンサーを用いて後天的な遺伝子変異解析を実施した。その結果、外陰部由来粘膜黒色腫において、*SF3B1* R625C の体細胞遺伝子変異を同定した。

本研究開始時には *SF3B1* の粘膜黒色腫に関する遺伝子変異についての報告はなかったが、2017 年に 3 編の論文が報告された(Nature 2017:545:175-80; Melanoma Res 2017:27:189-99; Mod Pathol 2017:30:286-96)。自験例 2 例を加えると、42 例中 15 例(35.7%)の粘膜黒色腫において、*SF3B1* の体細胞遺伝子変異が認められた。それゆえ、報告された論文と同様に、*SF3B1* の体細胞遺伝子変異が粘膜由来の悪性黒色腫のドライバー遺伝子である可能性を指摘した。なお、皮膚由来悪性黒色腫では *SF3B1* の遺伝子変異は 1%未満の頻度と報告されて

いる。

眼内（ぶどう膜）黒色腫（脈絡膜悪性黒色腫）では、*GNAQ*と*GNA11*の後天的な遺伝子変異がドライバー遺伝子として機能する。*BAP1*、*SF3B1*、*EIF1AX*の後天的な遺伝子変異は黒色腫増殖過程で生じやすいとされる。*SF3B1*は眼内黒色腫の18.6%で生じると報告されている。また、*BAP1*の遺伝子変異は予後不良、*SF3B1*と*EIF1AX*の遺伝子変異は比較的予後良好と関連するとされている。

粘膜黒色腫では*SF3B1*の遺伝子変異発生頻度が高率であることが判明した。今後、下記の検討課題がある。さらに粘膜黒色腫症例を集積し、*SF3B1*のより正確な遺伝子変異発生頻度を解析する。*SF3B1*遺伝子変異有無と粘膜黒色腫病期、予後の相関性を検討する。*SF3B1*の機能異常がどのように黒色腫進展に関与するか解析する。

なお、本研究では当初*SF3B1*体細胞遺伝子変異と粘膜黒色腫との関連に関しては不明であった。しかしながら、2017年に3編の論文（Nature 2017;545:175-80; Melanoma Res 2017;27:189-99; Mod Pathol 2017;30:286-96）が報告されたことにより、われわれの解析結果と統合化して検討することで、*SF3B1*体細胞遺伝子変異が粘膜黒色腫のドライバー遺伝子として機能していた可能性が高いと判断できたので報告した。

（2）爪部黒色腫由来リンパ節転移病変部における*KIT*と*LZTR1*体細胞遺伝子変異の同定

爪部黒色腫は末端黒子型黒色腫に属する悪性黒色腫である。末端黒子型黒色腫は欧米人と比較して日本人で発症頻度が高い。末端黒子型黒色腫の予後は、他の悪性黒色腫（悪性黒子型黒色腫、表在拡大型黒色腫、結節型黒色腫）の予後とほぼ同等とされる。しかしながら、末端黒子型黒色腫のドライバー遺伝

子は他の悪性黒色腫と異なり、*BRAF*遺伝子変異の頻度が低く、*KIT*遺伝子変異の頻度が高いとされる。

爪部黒色腫由来リンパ節転移病変部に対し、次世代シーケンサーを用いて後天的な遺伝子変異解析を実施した。その結果、外陰部由来粘膜黒色腫において、*KIT* p.Lys642Glu（頻度89.9%）と*LZTR1* p.Gly248Arg（頻度44.3%）の体細胞遺伝子変異を同定した。

体細胞遺伝子変異頻度の結果より、*KIT*遺伝子変異が先行し、*LZTR1*遺伝子変異が続発したと推測される。

RAS/mitogen-activated protein kinase (MAPK)経路に関与する遺伝子（*BRAF*や*NRAS*など）がしばしば悪性黒色腫のドライバー遺伝子となる。*KIT*は*KIT*リガンド（stem cell factor）の受容体で、メラノサイト（色素細胞）の細胞膜上で発現する受容体である。*KIT*リガンドのシグナルが*KIT*を介して、細胞内のRAS/MAPK経路にシグナル伝達される。*NRAS*は*NF1*遺伝子にコードされるニューロフィブロミン（neurofibromin）によりシグナル伝達が阻害される。これまでに、*BRAF*、*NRAS*、*KIT*、*NF1*が悪性黒色腫のドライバー遺伝子として知られている。

一方、ヌーナン症候群などのRASopathiesはRAS/MAPK経路の生殖細胞遺伝子変異で生じる。モザイクRASopathiesはRAS/MAPK経路の胎生期体細胞遺伝子変異で生じる。近年、*LZTR1*生殖細胞遺伝子変異はヌーナン症候群の原因遺伝子であることが同定された。

*LZTR1*はすべての臓器に発現し、生殖細胞遺伝子変異は多発性神経鞘腫の腫瘍抑制遺伝子であり、体細胞遺伝子変異は多形性神経膠芽腫のドライバー遺伝子となる。*LZTR1* p.Gly248Argの体細胞遺伝子変異は、すでにデータベース（Catalogue of Somatic

Mutations in Cancer [COSMIC] database) で悪性黒色腫、神経膠芽腫、大腸直腸がんで同定されていた。これらの知見から、*LZTR1* の体細胞遺伝子変異が悪性黒色腫のドライバー遺伝子変異として機能する可能性を指摘した。

今後、下記の検討課題がある。さらに黒色腫症例を集積し、*LZTR1* の遺伝子変異発生頻度を解析する。*LZTR1* の遺伝子変異有無と皮膚悪性黒色腫の病型との相関を検討する。*LZTR1* の機能異常がどのように黒色腫進展に関与するか解析する。また、*KIT* と *LZTR1* の遺伝子変異が共存していたことから、皮膚悪性黒色腫の進展にどのように関与するのかを解明する。

なお、本研究では悪性黒色腫において *LZTR1* p.Gly248Arg の体細胞遺伝子変異がすでに COSMIC データベースで報告されていたこと、*LZTR1* 生殖細胞遺伝子変異がヌーナン症候群の原因遺伝子のひとつであることから、悪性黒色腫のドライバー遺伝子変異として機能した可能性が高いと考え報告した。

#### 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 2 件)

1. Oiso N, Sakai K, Yanagihara S, Nishio K, Kawada A. Genital mucosal melanoma with somatic *SF3B1* R625C mutation. *Eur J Dermatol*, in press.  
査読あり  
doi: 10.1684/ejd.2018.3281
2. Oiso N, Sakai K, Narita T, Yanagihara S, Nishio K, Kawada A. Lymph node metastatic melanoma from ungual melanoma: Identification of somatic mutations in *KIT* and *LZTR1*. *J Dermatol* 2018; 45(1): e5-e6.  
査読あり

doi: 10.1111/1346-8138.14071

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Oiso N, Sakai K, Narita T, Yanagihara S, Nishio K, Kawada A. Somatic *SF3B1* mutation in mucosal melanoma from a Japanese female. The 42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. December 15-17 2017. Kochi City Culture Plaza CURPORT (Kochi).
2. Oiso N, Sakai K, Narita T, Yanagihara S, Nishio K, Kawada A. Whole-exome sequencing in relatively slow-growing metastatic melanoma from ungual melanoma. IPCC2017 (XXIII Triennial International Pigment Cell Conference 2017). August 26-30, 2017. Denver, CO, USA.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

大磯 直毅 (OISO Naoki)  
近畿大学・医学部・准教授  
研究者番号：10419814

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )