

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19684

研究課題名(和文)メラノーマの臨床形態から治療標的となる遺伝子変異を予測する

研究課題名(英文)Clinical appearance of melanoma associated with the gene mutation for therapeutic target

研究代表者

皆川 茜(MINAGAWA, Akane)

信州大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80467183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：進行期メラノーマの治療法を選択する際に、腫瘍細胞において治療標的となるBRAF遺伝子変異の有無を検索することは必須である。本研究では腫瘍細胞の遺伝子検索以前に、メラノーマ病変の臨床形態のみからBRAF遺伝子変異の有無が予測可能かを調べた。結果、BRAF遺伝子変異ありのメラノーマ病変では変異なしの病変に比べ、病変に占める色素斑の割合が高く、1病変を構成する色が多彩かつ茶色や赤、ピンクの割合が高いことが判明した。BRAF遺伝子変異に関連するメラノーマの形態特徴を明らかにすることは、治療選択の手助けになるとともに、メラノーマ病態におけるBRAF遺伝子変異の役割を明らかにする手助けになると考えた。

研究成果の概要(英文)：When choosing a therapy for advanced melanoma, it is essential to search for the presence of BRAF gene mutation as a therapeutic target in tumor cells. In this study, we investigated the clinical morphological characteristics of melanoma associated with BRAF gene mutation. As a result, the proportion of pigmented macule was higher in the lesion with BRAF gene mutation than that without the mutation and the number of color in a lesion was variegated which included brown, red and pink. To clarify the morphological characteristics of melanoma associated with BRAF gene mutation, it is helpful not only for choosing an appropriate therapy but also for clarifying the role of BRAF gene mutation in melanoma pathology.

研究分野：皮膚腫瘍

キーワード：メラノーマ BRAF ダーモスコピー

1. 研究開始当初の背景

メラノーマでは *BRAF*<sup>V600E</sup> 遺伝子をはじめとした、細胞周期に関わる遺伝子の変異が高率に検出される。近年、これらの遺伝子変異を標的とした治療薬が広く普及している。これらの治療薬使用に際しては遺伝子変異の有無を治療開始前に明らかにしておくことが、その適応を考える上で必要不可欠である。しかし、遺伝子変異を解析するためには切除検体の DNA を用いたシーケンスが必要であり、行える施設は限られている。そのため、遺伝子変異の解析よりも早く簡便に、遺伝子変異をある程度予測できる方法の確率が求められている。

2. 研究の目的

腫瘍細胞の遺伝子検索を行う以前に、メラノーマ病変の臨床情報（患者の年齢性別、病変部位、病歴、病変の臨床像およびダーモスコピー所見など）のみから *BRAF* 遺伝子変異の有無が予測可能であるかを明らかにする。

3. 研究の方法

2006 年から 2015 年に当施設を受診したメラノーマ症例のうち、病変が体幹四肢に分布し、切除検体が入手可能で腫瘍厚が 2 ミリ以上ある 32 症例について、解析を行った。

2006年から2015年に当科を受診したメラノーマのうち、

- 四肢体幹の病変
- 腫瘍厚2.00mm以上(高度のregressionは除く)
- 原発病変のバラフィンブロックが入手可能

➡ 32症例

1) 臨床情報の解析

診療録を用いて、患者の年齢、性別、病変部位、病変の大きさ、受診までの期間を調べた。

2) 臨床写真による病変の色と構造の解析

病変を構成する色と構造の解析を行った。まず、人の目による臨床写真の解析を行った。病変に含まれる色と、病変全体に占める色素斑と結節の割合を算出した。次に GIMP などの画像ソフトを用いて、病変を構成する色情報を解析した。8 種類(黒、青、濃茶、薄茶、ピンク、赤、白、皮膚)の色を RGB で定義し、色の近似の判定は均等色空間を用いて行った。8 種類の色の有無と、それぞれの色が病変に占める面積を測定した(図 1)。

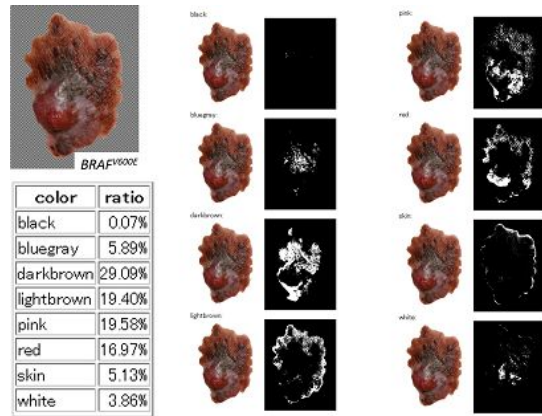


図 1. 画像ソフトを用いたメラノーマ病変を構成する色情報の解析

3) ダーモスコピー所見の解析

ダーモスコピー画像を解析し、疾患に特徴的とされている所見の有無をそれぞれの症例について 2 検者で検討した。

4) 遺伝子変異の解析

手術等により病理検体が採取された症例のうち、腫瘍細胞が豊富に採取可能な進行病変(腫瘍厚 2mm 以上)について、腫瘍細胞の *BRAF*、*NRAS*、*KIT* 遺伝子変異の有無についてサンガー法で検索を行った。

4. 研究成果

体幹四肢のメラノーマ病変について、臨床情報、病変を構成する色解析の結果と遺伝子変異の関連を調べたところ、*BRAF*<sup>V600E</sup> 変異ありのメラノーマについて、以下記述の特徴があることがわかった。

1) 若い女性の下肢に多く分布し、先行する色素斑から数年～十数年の経過で結節が生じる(図 2)。

	<i>BRAF</i> <sup>V600E</sup>	<i>BRAF</i> <sup>WT</sup>	<i>NRAS</i>	Wild
case No.	21	1	1	9
male/female	8/13	1/0	1/0	5/4
mean age (range)	63 (19-87)	67	67	75 (56-90)
location				
upper/lower	11/10	1/0	1/0	5/4
trunk/extremities	10/11	1/0	1/0	6/3
lower leg	6	0	0	0
history (yr)				
≥10 years	52	100	0	12
5-9 years	14	0	0	33
1-4 years	24	0	100	33
<1 year	10	0	0	22
rapid growth within 1 year	62	100	100	33

図 2. 腫瘍細胞の遺伝子変異別によるメラノーマの臨床的特徴

2) 肉眼的には斑と結節からなり、茶色を含む3種類以上の色から構成される病変が多い(図3)

	血管所見										メラノサイト系所見										脂漏性角化症	
	comma	dot	hairpin	crow	arborizing	glomerular	linear	irregular	network	dot/globules	ovals	blue white structures	peppering	milky red area	streaks	comedolike openings	infolike cysts					
<i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> (n=16)	0%	19%	19%	0%	0%	19%	94%	38%	88%	44%	100%	13%	44%	63%	25%	19%						
WT (n=6)	0%	0%	0%	0%	0%	17%	83%	33%	67%	17%	100%	17%	17%	83%	17%	0%						

*BRAF*<sup>V600E</sup> TT中央値 5.25mm(2.10-21.00mm)  
WT TT中央値 6.25mm(4.00-36.00mm)

図3 . 遺伝子変異別、メラノーマの臨床像

3) ダーモスコピーでは dotted vessels、hairpin vessels、streaks、milky red areaの頻度が高い(図4)

	色										対称性	病変構成
	黒	濃茶	赤茶	赤	黄	青	白	2色以上	色	形		
<i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> (n=16)	72%	50%	44%	61%	6%	33%	56%	33%	11%	70%		
WT (n=8)	75%	0%	0%	63%	0%	50%	25%	50%	50%	92.5%		

図4 . 遺伝子変異別、メラノーマのダーモスコピー所見

4) *BRAF*<sup>V600E</sup> 変異なしの病変比べて赤や茶色の色の割合が高く青や白の割合が低い(図5)

	<i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> (n=17)	<i>BRAF</i> <sup>WT</sup> (n=7)
black	18	25
dkgrey	15	24
dkbrown	36	22
lightbrown	6	1
pink	11	5
red	4	0
skin	3	10
white	6	13
dkbrown + lightbrown	42	23
red + pink	15	5
dkgrey + white	21	37

図5 . 遺伝子変異別、画像ソフトを用いたメラノーマ病変の色構成(%)の平均値

以上の結果から、体幹四肢に分布する *BRAF*<sup>V600E</sup> 遺伝子変異を有するメラノーマは、若い女性の下肢に多く分布し、形態学的には色素斑と結節からなり、茶やピンクを含む多数の色調を有することが判明した(図6)

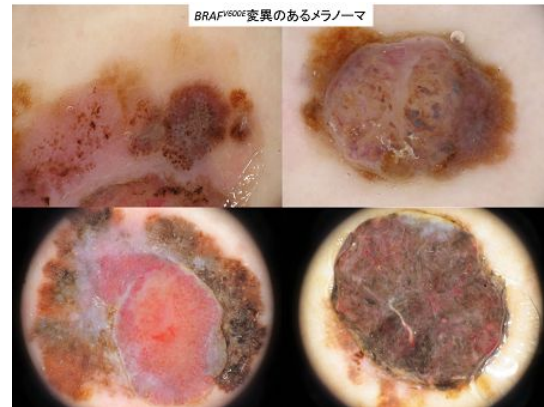


図6 . *BRAF*<sup>V600E</sup> 遺伝子変異を有するメラノーマのダーモスコピー像

一方、*BRAF*<sup>V600E</sup> 遺伝子変異のない病変は結節が主体で、比較的単調な色調によって構成されていた(図7)



図7 . *BRAF*<sup>V600E</sup> 遺伝子変異がないメラノーマのダーモスコピー像

よって臨床情報から、メラノーマの遺伝子変異をある程度予測することが可能になるかもしれないと考えた(図8)

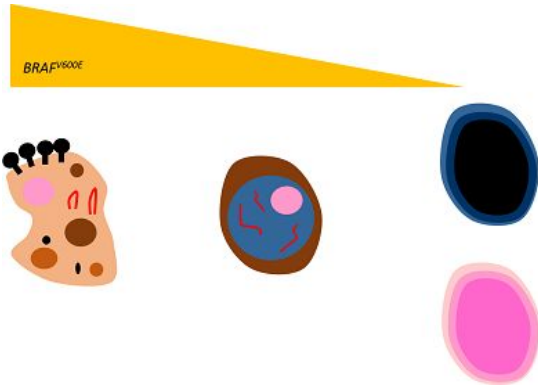


図8 .  $BRAF^{V600E}$  変異の程度によるメラノーマの形態変化の仮説

$BRAF^{V600E}$  変異の有無によってメラノーマの形態に差が生じる要因の一つとして、病変内のメラニンの質の差が考えられた。

#### 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 1件)

Minagawa A. Dermoscopy-pathology relationship in seborrheic keratosis. J Dermatology 2017; 44; 518-524. (査読あり)

[学会発表](計 1件)

皆川茜.  $BRAF^{V600E}$  変異を有する体幹四肢メラノーマの形態学的特徴. 第43回皮膚かたち研究学会学術大会(2016年6月19日東京)

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究代表者

皆川 茜 (MINAGAWA, Akane)  
信州大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号：80467183

##### (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

奥山 隆平 (OKUYAMA Ryuhei)

古賀 弘志 (KOGA Hiroshi)