

令和 5 年 10 月 27 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16186

研究課題名（和文）皮膚付属器腫瘍におけるSOX9の発現の検討と、その分子メカニズムの解析

研究課題名（英文）Detailed analysis on SOX9 expression in skin adnexal tumors

研究代表者

西村 優基（Nishimura, Yuuki）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：80870055

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）：我々は皮膚付属器腫瘍の分化および診断における転写因子SOX9の重要性を免疫染色とその分布強度の詳細な解析によって証明した。皮膚付属器腫瘍は形態的および表現型の多様性からしばしば診断が困難であるが、SOX9は複数の腫瘍の診断において感度および特異度が良好であることを示した。さらに、形態的複雑さ＝不均一性を汗腺系の癌について、SOX9発現、機械学習、腫瘍内多領域WESを用いて解析し、ゲノムレベルの変異にもその不均一性が存在することを明らかにした。同時に体細胞変異やコピー数変化において有意なものを見出した。これは未だ治療の糸口が見いだせていない付属器癌において、治療戦略の確立に寄与すると信じている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により皮膚付属器腫瘍、特に希少癌である皮膚付属器癌の診断および生物学について多くが明らかになった。今後の薬物治療に役立つものと考え。また、AI技術を積極的に用いることによって、形態学を定量的に評価し、ひいては遺伝情報の腫瘍内不均一性の予測を行い得ることを示すことができたと考えている。

研究成果の概要（英文）：We have demonstrated the importance of the transcription factor SOX9 in the differentiation and diagnosis of adnexal skin tumors by immunostaining and detailed analysis of its distribution and intensity. Although cutaneous adnexal tumors are often difficult to diagnose due to their morphological and phenotypic diversity, SOX9 was shown to have good sensitivity and specificity in the diagnosis of multiple tumors. Furthermore, morphological complexity = heterogeneity was analyzed for sweat gland carcinomas using SOX9 expression, machine learning and multiregion whole exome sequencing within tumors, and we found that such heterogeneity also exists in genome-level mutations. At the same time, we found significant in somatic mutations and copy number alterations. We believe that our result could contribute to the establishment of therapeutic strategies in adnexal carcinomas, for which there is still not even a clue to a cure.

研究分野：人体病理

キーワード：皮膚付属器腫瘍 SOX9 機械学習 全エクソーム解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

皮膚付属器腫瘍は種類が非常に多く、その診断は形態上の微妙な差異からなされることもあり診断に苦慮することも多い。しかし、現在のところこれらの鑑別に有用な分子マーカーは見つかっていない。その原因の一つには、付属器腫瘍は数が多い一方で頻度が稀なものも多く、十分に分子生物学的な解析が行われてこなかったことが挙げられる。一方で近年、皮膚付属器腫瘍の代表的なものである汗孔腫と汗孔癌の大部分において YAP1-MAML2 と YAP1-NUTM1 の融合遺伝子異常が存在することが突き止められた(Sekine et al. J Clin Invest. 2019)。これは長年未解明であった付属器腫瘍の分子生物学的性質について明らかにした嚆矢となる研究であると考えられる。このほかにもらせん腺腫における新規ドライバー変異の発見もあった(Rashid et al. Nat Commun. 2019)。しかしながら、全エクソーム解析や全トランスクリプトーム解析など、網羅的解析は不足している。

2. 研究の目的

皮膚付属器の分化や lineage に基づいた、新規マーカー候補である Sox9 による多数症例での解析から、皮膚付属器腫瘍病理診断基準の確立と皮膚付属器癌の悪性度や予後の推定、ゲノム情報を踏まえた治療法の選択を含めた診療標準化の開発を目的とした。

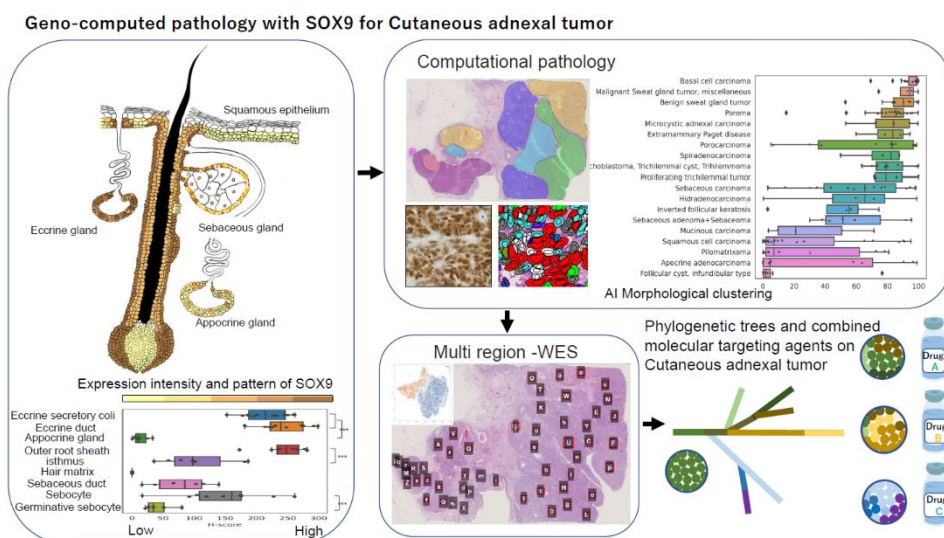
3. 研究の方法

まず、正常の付属器と、良性・悪性を含めた多種類の組織型の皮膚付属器腫瘍および扁平上皮癌について SOX9 の発現を、免疫染色によって比較検討し、それぞれの染色強度や陽性細胞の局在を明らかにすることとした。具体的には免疫染色した組織切片はすべて whole slide imaging によるバーチャルスライドを作製し、オープンソースの優れた病理画像解析ソフトウェアである QuPath (Bankhead et al. Sci Reports. 2017) を使用して陽性率および H-score (陽性率 + 染色強度のスコア) を算出した。また、SOX9 の診断的有用性について ROC 曲線を作成して感度、特異度を検討し、SOX9 発現と再発や転移の程度の関連について統計解析した。更に付属器癌の腫瘍内不均一性について機械学習と多領域エクソーム解析(WES)を行った。具体的には形態解析は QuPath によって抽出された腫瘍細胞の形態情報を UMAP による次元削減後、ガウス混合法による教師なしクラスタリングを行った。この形態的クラスタリング結果と SOX9 発現を元に、1 切片内で多領域サンプリングを行い、それぞれの領域について WES を行った。

4. 研究成果

本研究を通じていくつかの成果を得ることができた。まず、皮膚付属器腫瘍と非腫瘍の皮膚付属器は、転写因子 SOX9 の発現パターンが類似していることが示された。つまり、付属器腫瘍の分化の方向性は SOX9 によってある程度推定が可能であることが明らかになった。また、診断上は基底細胞癌や多くの付属器腫瘍と扁平上皮癌を鑑別することが可能であった。さらに、悪性度の高い付属器癌の複数症例について、機械学習を応用することで同一腫瘍内の形態の多様性 = 不均一性を定量的に評価できることを初めて示した。この定量的に評価した形態的不均一性をもとに行った多領域 WES から、ゲノムレベルで癌腫

の中に予想以上の不均一性があることを示した。すなわち、PIK3CA、YAP1、PTEN、BAP1などのドライバー遺伝子は領域によって存在に不均一性があった。これは分子標的薬はじめ近年発展著しい新規治療薬を今後付属器癌に使用することにあたって、このようなゲノムの不均一性を考慮しないと効果を得られない可能性があることが示唆された。逆に、ゲノムが比較的均一な腫瘍もあり、その場合主要なドライバー遺伝子をターゲットにすることで効果が期待できると思われる。このようなゲノムの不均一性を予想する際に、細胞形態、構築の不均一性の解析が有用である可能性が示唆された。



<引用文献>

Sekine S, Kiyono T et al. Recurrent YAP1-MAML2 and YAP1-NUTM1 fusions in poroma and porocarcinoma. J Clin Invest. 2019 May 30;129(9):3827-3832.

Rashid M, van der Horst M et al. ALPK1 hotspot mutation as a driver of human spiradenoma and spiradenocarcinoma. Nat Commun. 2019 May 17;10(1):2213.

Bankhead P, Loughrey MB et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. Sci Rep. 2017 Dec 4;7(1):16878.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1 . 著者名 Nishimura Y, Ryo E, Yamazaki N, Yatabe Y, Mori	4 . 巻 Nov 1;45(11)
2 . 論文標題 T. Cutaneous Primary NUT Carcinoma With BRD3-NUTM1 Fusion.	5 . 発行年 2021年
3 . 雑誌名 Am J Surg Pathol .	6 . 最初と最後の頁 1582,1584
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000001801	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1 . 著者名 Yuuki Nishimura, Eijitsu Ryo, Satoshi Inoue, Masahito Kawazu, Toshihide Ueno, Kenjiro Namikawa, Akira Takahashi, Dai Ogata, Akihiko Yoshida, Naoya Yamazaki, Hiroyuki Mano, Yasushi Yatabe, Taisuke Mori	4 . 巻 Volume 3, Issue 6
2 . 論文標題 Strategic approach to heterogeneity analysis of cutaneous adnexal carcinomas using computational pathology and genomics	5 . 発行年 2023年
3 . 雑誌名 JID Innovations	6 . 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xjidi.2023.100229	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	森 泰昌 (Mori Taisuke)	国立がん研究センター中央病院・病理診断科・医員	

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------