

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460435

研究課題名(和文) 軟部肉腫におけるSWI/SNF型クロマチン再構成因子発現および治療への応用

研究課題名(英文) SWI/SNF chromatin remodeling complex status in soft tissue tumors

研究代表者

孝橋 賢一 (Kohashi, Kenichi)

九州大学・医学研究院・講師

研究者番号：10529879

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：類上皮肉腫や悪性ラブドイド腫瘍ではほとんどの例でSMARCB1/INI1の完全欠失を伴うが、一部の症例では発現が保持されている。また、SWI/SNF型クロマチン再構成因子複合体を構成するSMARCB1/INI1以外の蛋白発現も腫瘍によりさまざまであった。このことから、類上皮肉腫や悪性ラブドイド腫瘍では従来よりいわれているSMARCB1/INI1以外にも、SMARCA4/BRG1、SMARCC1/BAF155、SMARCC2/BAF170といった蛋白群の発現パターンにより、腫瘍の性格が異なっている可能性が考えられた。また、腫瘍発生においても重要な役割を果たしていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：SWI/SNF chromatin remodeling complex is composed of evolutionarily conserved core subunits: SMARCB1/INI1, SMARCA4/BRG1, SMARCC1/BAF155 and SMARCC2/BAF170. Although complete loss of SMARCB1/INI1 protein expression has been demonstrated in almost all epithelioid sarcoma (ES) and malignant rhabdoid tumor (MRT) cases, some cases of SMARCB1/INI1-preserved ES and MRT identified. In addition, ES and MRT cases showed various immunoeexpression patterns, such as reduced or complete loss pattern, of core subunit proteins of this complex. Therefore, combined reduced expressions of these proteins may have an important role in tumorigenesis in these tumors.

研究分野：骨軟部腫瘍病理

キーワード：悪性ラブドイド腫瘍 類上皮肉腫 SMARCB1/INI1 SWI/SNF型クロマチン再構成因子複合体

1. 研究開始当初の背景

SWI/SNF 型クロマチン再構成因子複合体は ATP 依存性にクロマチン構造を修飾し、翻訳を調節することで細胞分化にかかわるとされている。構成因子の中でも特に SMARCB1/INI1 は悪性ラブドイド腫瘍 (malignant rhabdoid tumor、以下 MRT) や類上皮肉腫 (epithelioid sarcoma、以下 ES) で完全欠失しており、腫瘍発生との関連性が示唆されている。近年、家族性シュワン細胞腫症や消化管間質腫瘍ではモザイク状の発現パターンを、滑膜肉腫では正常細胞と比較して発現が減弱するなど、様々な腫瘍で発現異常が認められることが報告されている。また、このような SMARCB1/INI1 の異常発現を伴う腫瘍群にはラブドイド様変化と呼ばれる組織学的特徴を認めることが多い。

しかし、形態学的には MRT で矛盾しないが SMARCB1/INI1 蛋白発現が保持されているものが報告され、それらは SWI/SNF 型クロマチン再構成因子複合体を構成する 1 因子である SMARCA4/BRG1 が完全欠失していることが判明した。

このように、ラブドイド様変化を伴う腫瘍では SMARCB1/INI1 のみならず、SWI/SNF 型クロマチン再構成因子複合体を構成する蛋白 (SMARCA4/BRG1、SMARCC1/BAF155、SMARCC2/BAF170、ARID1A) に異常がある可能性が考えられる。また、これらの蛋白は多様な癌腫においても異常を認めており、がん抑制遺伝子としても認識されている。

2. 研究の目的

組織学的にラブドイド様変化をきたす軟部肉腫における、SWI/SNF 型クロマチン再構成因子複合体を構成する蛋白群の発現パターンを解析する。そして、これら腫瘍を組織学的分類はもちろん、クロマチン再構成という点から層別化を行い、治療標的や予後因子となりうる蛋白発現を同定する。また、鑑別診断の有用性についても検討する。

3. 研究の方法

対象症例は MRT34 例、近位型 ES (proximal-type ES、以下 P-ES) 29 例、古典型 ES (conventional-type ES、以下 C-ES) 32 例。また、細胞株 5 株 (MRT 3 株、P-ES 2 株、C-ES 1 株)。

これらに対して、SMARCB1/INI1、SMARCA4/BRG1、SMARCC1/BAF155、SMARCC2/BAF170、ARID1A 蛋白発現を免疫組織化学染色にて、mRNA 発現を real time PCR 法にて解析した。

4. 研究成果

(1) 類上皮肉腫における SMARCB1/INI1 蛋白欠失

病理組織学的に類上皮肉腫と診断された 62 症例 (P-ES 29 例、C-ES 32 例) のうち、P-ES 23 例 (79.3%)、C-ES 29 例 (90.6%) で SMARCB1/INI1 蛋白の完全欠失を認めた (図 1、2)。

過去の報告でも P-ES の 76-95%、C-ES の 81-93% で SMARCB1/INI1 蛋白の完全欠失を伴うとされており、本研究もそれに矛盾しない結果であった。

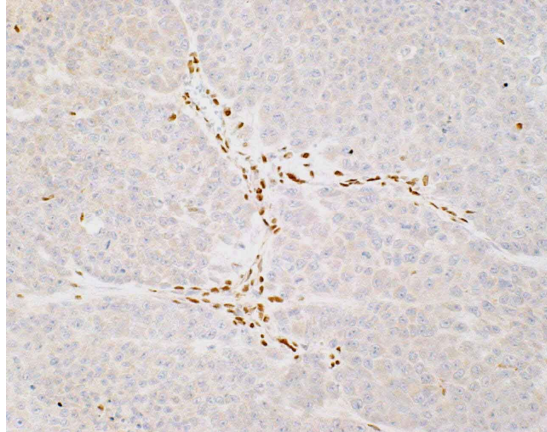


図 1 近位型類上皮肉腫。SMARCB1/INI1 免疫染色で腫瘍細胞は陰性。

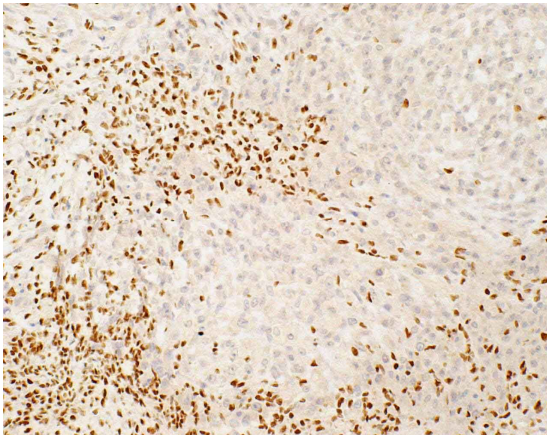


図 2 古典型類上皮肉腫。SMARCB1/INI1 免疫染色で腫瘍細胞は陰性。

(2) SMARCB1/INI1 欠失腫瘍における SWI/SNF クロマチン再構成因子複合体発現

82 例の SMARCB1/INI1 完全欠失腫瘍 (MRT 34 例、P-ES 20 例、C-ES 28 例) 細胞株 5 株 (MRT 3 株、P-ES 2 株、C-ES 1 株) を用いて解析を行った。免疫染色は Allred score に基づき [Total score (TS)]=[Proportion score (PS)]+[Intensity score (IS)] で評価した。その結果、MRT、P-ES、C-ES の中央値は各々 MRT (BRG1, 4.5; BAF155, 4; BAF170, 3)、P-ES (BRG1, 3; BAF155, 0; BAF170, 5.5)、C-ES (BRG1, 5; BAF155, 0; BAF170, 6)、となった。BRG1 については、P-ES vs C-ES

P=0.046, BAF155 については、MRT vs P-ES P=0.002, MRT vs C-ES P=0.032、また、BAF170 については、MRT vs C-ES P=0.004 と有意差を認めた。

BAG1、BAF155、BAF170 mRNA 発現に関しては、MRT、P-ES、C-ES に関して有意差は認めなかった (図 3)。

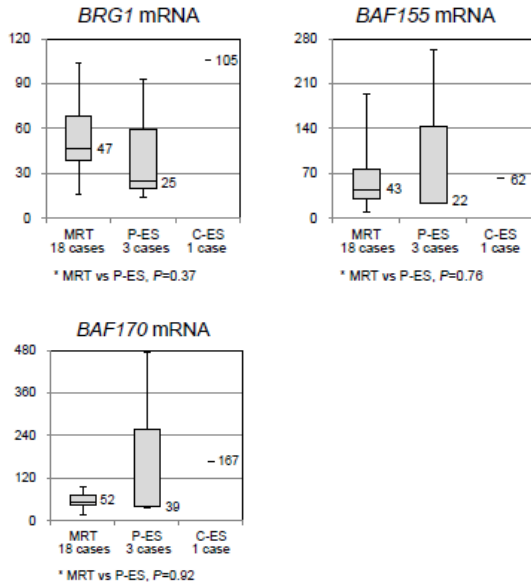


図 3 組織型別の BRG1、BAF155、BAF170 mRNA 発現

さらに、BRG1、BAF155、BAF170 の蛋白発現を Low、High に分けて予後との比較検討を行ったところ、C-ES に関して BRG1 発現 High が Low に比べて有意に予後不良であった (P=0.02) (図 4)。

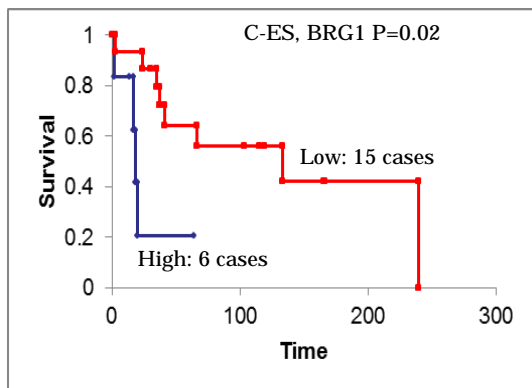


図 4 C-ES の BRG1 発現パターンによる予後比較

以上より、SMARCB1/INI1 陰性腫瘍では、SWI/SNF クロマチン再構成因子複合体内の複数の蛋白発現が減弱していることが確認できた。それらは各腫瘍組織間で発現の割合が異なっており、腫瘍発生にかかわっている可能性が考えられた。

(3) SMARCB1/INI1 蛋白陽性類上皮肉腫における SWI/SNF クロマチン再構成因子複合体発現

SMARCB1/INI1 陽性の ES 9 例 (P-ES 6 例、C-ES 3 例) を対象として解析を行った。年齢は 8-76 歳 (中央値 40 歳)、発生部位は 6 例が四肢、3 例が体幹部、大きさは 1.3-15cm (中央値 10cm) であった。SMARCB1/INI1 陰性の ES との予後の比較では、INI1 陽性 ES vs INI1 陰性 P-ES P=0.02、INI1 陽性 ES vs INI1 陰性 C-ES P=0.05 と INI1 陽性 ES は予後不良である傾向が認められた (図 5)。

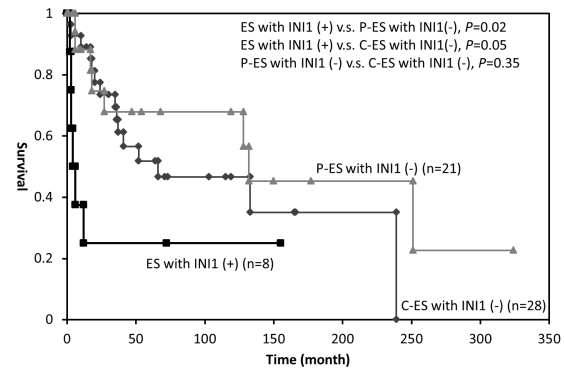
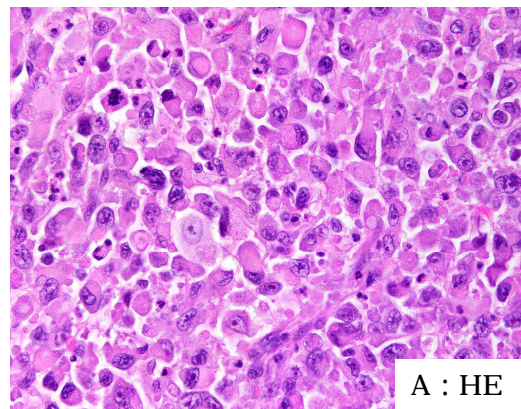


図 5 ES における INI1 発現別の予後

SWI/SNF クロマチン再構成因子複合体蛋白発現に関しては、P-ES 6 例、C-ES 1 例について免疫組織化学染色を施行した。BAF170 のみ完全欠失しているものは P-ES、C-ES 各々 1 例ずつ認められた。また、BRG1 のみ完全欠失しているものは P-ES で 2 例認められた。また、P-ES 1 例では、BAF155 の完全欠失と BRG1 のモザイクパターンでの発現異常が同時に認められた。尚、P-ES 2 例ではいずれの蛋白も発現が保持されていた。(図 6)

以上より、ES においては SWI/SNF クロマチン再構成因子複合体蛋白の異常発現が腫瘍発生にかかわっている可能性が考えられた。また、これら蛋白がいずれも保持されている場合には、SWI/SNF クロマチン再構成因子複合体の機能低下を引き起こすほかの異常の存在が考えられた。



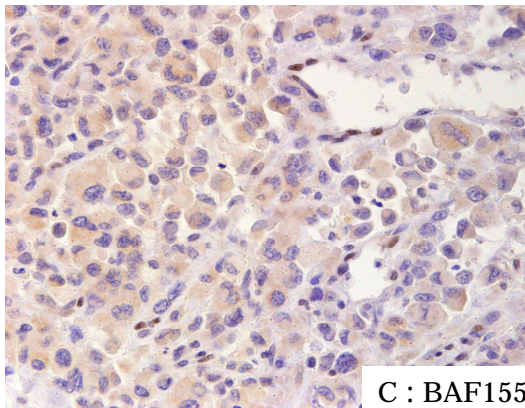
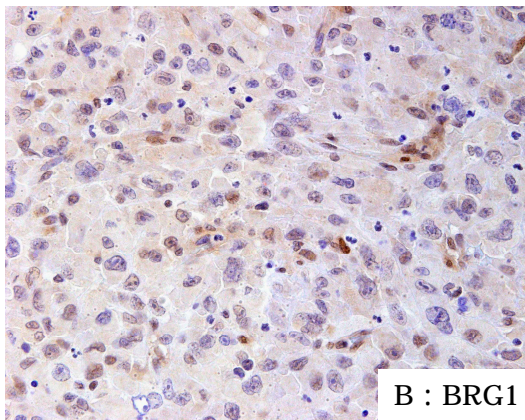


図 6 INI1 陽性近位型類上皮肉腫。A : HE 染色。B : BRG1 (モザイクパターン)。C : BAF155 (完全欠失)

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 22 件)

- 1 Tanaka Y, Kohashi K (11人中3番目), et al. Spalt-like transcription factor 4 immunopositivity is associated with epithelial cell adhesion molecule expression in combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. **Histopathology**. 2016 68(5):693-701. 査読有
- 2 Ishii T, Kohashi K (11人中2番目), et al. Activation of the Akt-mTOR and MAPK pathways in dedifferentiated liposarcomas. **Tumour Biol**. 2016 37(4):4767-76. 査読有
- 3 Kuda M, Kohashi K (9人中2番目), et al. FOXM1 expression in rhabdomyosarcoma: a novel prognostic factor and therapeutic target. **Tumour Biol**. 2016 37(4):5213-23. 査読有
- 4 Maekawa A, Kohashi K (10人中2番目), et al. Expression of Forkhead box M1 in soft tissue leiomyosarcoma: Clinicopathologic and in vitro study using a newly established cell line. **Cancer Sci**. 2016 107(1):95-102. 査読有
- 5 Ito T, Kohashi K (7人中2番目), et al. Prognostic significance of forkhead box M1 (FoxM1) expression and antitumour effect of FoxM1 inhibition in melanoma. **Histopathology**. 2016 69(1):63-71. 査読有
- 6 Sugimoto M, Kohashi K (9人中2番目), et al. Renal cell carcinoma with rhabdoid-like features lack intracytoplasmic inclusion bodies and show aggressive behavior. **Virch Arch**. 2016 468(3):357-67. 査読有
- 7 Ito T, Kohashi K (10人中2番目), et al. Prognostic Significance of Forkhead Box M1 (FOXM1) Expression and Antitumor Effect of FOXM1 Inhibition in Angiosarcoma. **J Cancer**. 2016 7(7):823-30. 査読有
- 8 Sugimoto M, Kohashi K (9人中2番目), et al. Epithelial to Mesenchymal Transition in Clear Cell Renal Cell Carcinoma with Rhabdoid Features. **Pathobiology**. 2016 (6):277-86. 査読有
- 9 Kohashi K (8人中1番目), et al. Reclassification of rhabdoid tumor and pediatric undifferentiated/unclassified sarcoma with complete loss of SMARCB1/INI1 protein expression: three subtypes of rhabdoid tumor according to their histological features. **Mod Pathol**. 2016 29(10):1232-42. 査読有
- 10 Maekawa A, Kohashi K (9人中2番目), et al. Prognostic significance of FOXM1 expression and antitumor effect of FOXM1 inhibition in synovial sarcomas. **BMC Cancer**.

- 2016 20;16:511. 査読有
- 11 Bekki H, **Kohashi K (12人中2番目)**, et al. Phosphorylation of STAT3 in Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma Is Correlated with a Favorable Prognosis. **Pathobiology**. 2016 Sep 22. PubMed PMID: 27652596. 査読有
 - 12 **Kohashi K (7人中1番目)**, et al. ERG and SALL4 expressions in SMARCB1/INI1-deficient tumors: a useful tool for distinguishing epithelioid sarcoma from malignant rhabdoid tumor. **Hum Pathol**. 2015 46(2):225-30. 査読有
 - 13 Nio K, **Kohashi K (15人中5番目)**, et al. Amrubicin monotherapy for patients with extrapulmonary neuroendocrine carcinoma after platinum-based chemotherapy. **Cancer Chemother Pharmacol**. 2015 75(4):829-35. 査読有
 - 14 Kumagai R, **Kohashi K (8人中2番目)**, et al. Mucinous phenotype and CD10 expression of primary adenocarcinoma of the small intestine. **World J Gastroenterol**. 2015 21(9):2700-10. 査読有
 - 15 Takahashi S, **Kohashi K (11人中2番目)**, et al. Expression of adhesion molecules and epithelial-mesenchymal transition factors in medullary carcinoma of the colorectum. **Hum Pathol**. 2015 46(9):1257-66. 査読有
 - 16 Bekki H, **Kohashi K (10人中2番目)**, et al. Elevated expression of HSP90 and the antitumor effect of an HSP90 inhibitor via inactivation of the Akt/mTOR pathway in undifferentiated pleomorphic sarcoma. **BMC Cancer**. 2015 Oct 26;15:804. 査読有
 - 17 Iura K, **Kohashi K (9人中2番目)**, et al. Cancer-testis antigens PRAME and NY-ESO-1 correlate with tumour grade and poor prognosis in myxoid liposarcoma. **J Pathol Clin Res**. 2015 1(3):144-59. 査読有
 - 18 Yamada Y, **Kohashi K (10人中2番目)**, et al. Activation of the Akt-mTOR pathway and receptor tyrosine kinase in patients with solitary fibrous tumors. **Cancer**. 2014 15;120(6):864-76. 査読有
 - 19 **Kohashi K (8人中1番目)**, et al. Differential microRNA expression profiles between malignant rhabdoid tumor and epithelioid sarcoma: miR193a-5p is suggested to downregulate SMARCB1 mRNA expression. **Mod Pathol**. 2014 27(6):832-9. 査読有
 - 20 Yamamoto H, **Kohashi K (10人中6番目)**, et al. Insulin-like growth factor II messenger RNA-binding protein 3 expression in gastrointestinal mesenchymal tumors. **Hum Pathol**. 2014 45(3):481-7. 査読有
 - 21 Takahashi Y, **Kohashi K (9人中2番目)**, et al. Activation of the Akt/mammalian target of rapamycin pathway in myxofibrosarcomas. **Hum Pathol**. 2014 45(5):984-93. 査読有
 - 22 Miyoshi K, **Kohashi K (8人中2番目)**, et al. Close correlation between CXCR4 and VEGF expression and frequent CXCR7 expression in rhabdomyosarcoma. **Hum Pathol**. 2014 45(9):1900-9. 査読有
- [学会発表](計5件)
- 1 **李橋賢一**. SMARCB1/INI1 蛋白欠失腫瘍群における遺伝子異常と鑑別診断. 第62回日本病理学会秋期特別総会,2016.11.10-11,金沢
 - 2 **李橋賢一**、田中祐吉、岸本宏志、山元英崇、山田裕一、木下伊寿美、田口智章、小田義直. Re-classification of rhabdoid tumor: three subtypes of rhabdoid tumor according to their histological features. 第75回日本癌学会学術集会,2016.10.06-08,横浜
 - 3 **Kohashi K**, Yamamoto H, Yamada Y, Oda Y. SWI/SNF Chromatin Remodeling Complex Status in

SMARCB1/INI1-Preserved Epithelioid Sarcoma Cases. The 105th United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP) Annual Meeting. 2016.3.12-18, Seattle, WA, USA

- 4 **孝橋賢一**、山田裕一、山元英崇、石井武彰、井浦国生、前川啓、戸次大史、大塚洋、岩本幸英、小田義直. SMARCB1/INI蛋白欠失腫瘍群における ERG、SALL4発現の診断的意義の検討. 第48回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会, 2015.7.9-10, 高松
- 5 **Kohashi K.**, Yamamoto H, Yamada Y, Oda Y. Expression of Core Subunits of SWI/SNF Chromatin Remodeling Complex in SMARCB1/INI1-Deficient Tumores. The 104th United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP) Annual Meeting 2015.3.21-27, Boston, MA, USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

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
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者
孝橋 賢一 (KOHASHI KENICHI)
九州大学医学(系)研究科(研究院)・講師
研究者番号：10529879

(2)研究分担者
山元 英崇 (YAMAMOTO HIDETAKA)
九州大学病院・准教授
研究者番号：30404073

(3)連携研究者 なし
()
研究者番号：

(4)研究協力者 なし
()