

令和 2 年 5 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15110

研究課題名（和文）ヒストン修飾異常を有する骨軟部腫瘍の臨床病理分子学的特徴の解明

研究課題名（英文）Clinicopathological and molecular characterization of bone and soft tissue tumors with aberrant histone modification

研究代表者

牧瀬 尚大（MAKISE, Naohiro）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：70815373

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：悪性末梢神経鞘腫瘍でしか見られないと考えられていたSUZ12, EED遺伝子変異とH3K27me3消失が、脱分化型脂肪肉腫、骨外性骨肉腫、脱分化型軟骨肉腫の一部でも見られることを発見した。H3K27me3消失は異所性分化と関連していた。ヒストン修飾因子であるMEAF6とSUZ12の新規融合遺伝子を有する低悪性度子宮内膜間質肉腫1例を発見した。RREB1-MRTFB融合を有する縦隔を侵す間葉系腫瘍を2例発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SUZ12, EED遺伝子変異とH3K27me3消失が悪性末梢神経鞘腫瘍以外の骨軟部腫瘍でも見られることを発見した。これにより、H3K27me3消失が色々な腫瘍の脱分化や異所性分化に関わっていること、診断の際に注意が必要なることを明らかにした。SUZ12, EED遺伝子変異は、治療標的の候補となる可能性がある。新規融合遺伝子MEAF6-SUZ12を有する低悪性度子宮内膜間質肉腫1例と、頭頸部外発生のRREB1-MRTFB融合間葉系腫瘍2例を報告し、骨軟部腫瘍のより適切な分類に寄与した。

研究成果の概要（英文）：We discovered that SUZ12 or EED mutation and H3K27me3 loss, which were thought to be specific for malignant peripheral nerve sheath tumors, were also seen in subsets of dedifferentiated liposarcomas, extraskeletal osteosarcomas, and dedifferentiated chondrosarcomas. H3K27me3 loss was associated with heterologous differentiation. We discovered a case of low-grade endometrial stromal sarcoma with a novel fusion of histone modifiers, MEAF6 and SUZ12. We also discovered two cases of mesenchymal tumors with RREB1-MRTFB fusion involving the mediastinum.

研究分野：病理診断学

キーワード：肉腫 病理 脱分化 異所性分化 ヒストン 免疫染色 FISH 次世代シーケンサー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) PRC2 複合体と SWI/SNF 複合体

PRC2 複合体と SWI/SNF 複合体はいずれもヒストン修飾における重要な因子であり、細胞の正常の分化において重要である。前者はヒストン 3 の 27 番リシンのトリメチル化(H3K27me3)に関わり転写を抑制し、後者はヒストン 3 の 27 番リシンのアセチル化(H3K27ac)やヒストン 3 の 4 番リシンのモノメチル化(H3K4me1)に関わり転写を活性化する。両複合体のメンバー遺伝子の機能喪失は腫瘍化の原因となる。これらの遺伝子異常の診断的意義のみならず、両複合体の欠失が合成致死を起こすことが示唆され治療的意義が注目されている(Pfister et al. 2017, Nat Rev Drug Discov)。

### (2) 悪性末梢神経鞘腫瘍(Malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST)における PRC2 複合体異常

近年の網羅的遺伝子解析により、MPNST において高頻度に PRC2 複合体メンバー遺伝子(SU12, EED)の機能欠失が認められた(Lee et al. 2014, Nat Genet など)。その結果として、免疫染色での H3K27me3 消失が軟部肉腫の診断において MPNST に特異的であることが知られるようになった(Asano, 2017, Histopathology など)。興味深いことに、異所性分化を示す MPNST においてはほぼ全例で H3K27me3 消失が認められる。H3K27ac を認識し転写活性化に働く BRD4 に対する阻害剤は MPNST の治療薬候補として期待されている(De Raedt et al. 2014, Nature)。

## 2. 研究の目的

本研究では、ヒストン修飾 H3K27me3 に異常をきたす骨軟部腫瘍を探索し、その臨床病理分子学的特徴の解明を試みた。当時 MPNST に特異的とされていた H3K27me3 消失がみられるような骨軟部腫瘍について、臨床経過、放射線画像、病理像、免疫形質、遺伝子変異を詳細に検討し MPNST との異同について考察した。

## 3. 研究の方法

(1) サンプル：主に国立がん研究センター中央病院、東京大学医学部附属病院の病理アーカイブに保存されている骨軟部腫瘍を用いた。

(2) 免疫染色：MDM2, CDK4, H3K27me3, SUZ12, S100, SOX10 抗体などを用いた。

(3) FISH 法：MDM2, CDK4, RREB1-MKL2 などの probe を用いた。

(4) 次世代シーケンシング：CDKN2A, CDK4, COL2A1, EED, IDH1, IDH2, MDM2, NF1, SUZ12, TP53 などを含むターゲットシーケンシング、RNA-seq などを行った。

(5) RT-PCR：融合遺伝子を同定した。

## 4. 研究成果

(1) MPNST と脱分化型脂肪肉腫の鑑別における MDM2 と H3K27me3 免疫染色の有用性について報告した。旧来、MPNST の 6~25%で MDM2 増幅が見られると報告されていたが、我々の検討では MDM2 高度増幅は 62 例中 1 例のみであった。一方、脱分化型脂肪肉腫 47 例中 3 例で H3K27me3 消失が見られた。これら 3 例はそれぞれ上皮、横紋筋、軟骨へ異所性分化していた。いずれも高分化型脂肪肉腫成分と、FISH 法で MDM2 遺伝子の高度増幅を確認した。うち 1 例では次世代シーケンサーを用いて EED 遺伝子のホモ欠失を確認した。

(2) 骨外性骨肉腫における MDM2 と H3K27me3 の状態について報告した。骨外性骨肉腫は少なくともふたつの小群を含むような不均一な腫瘍単位であることを見出した。MDM2 遺伝子が増幅している一群は、中高年の深部軟部組織に好発し、低悪性度骨肉腫成分を含み、比較的予後良好であり、脱分化型脂肪肉腫との関連が示唆された。H3K27me3 が消失している一群は、女性の臓器発生、富巨細胞型で上皮様の形態をとり予後不良であった。後者は MPNST 様の組織像は確認されず、網羅的遺伝子も行ったが NF1 や CDKN2A 遺伝子の異常はなく、MPNST と異なるものと考えた。

(3) 脱分化型軟骨肉腫の中に H3K27me3 消失を伴う一群があることを報告した。脱分化型軟骨肉腫 19 例のうち 6 例で脱分化成分のみで H3K27me3 消失が認められた。H3K27me3 消失脱分化型軟骨肉腫は全て上半身発生で、G3 軟骨肉腫成分があり、脱分化成分は MPNST と非常に類似した組織像をとり、一部横紋筋へ異所性分化していた。軟骨へ異所性分化する MPNST との鑑別が問題となったが、臨床経過(軟骨性骨腫瘍の急激な増大)、画像所見(皮質を膨隆、菲薄化させる髄内の低悪性度の軟骨性病変と、髄外非軟骨性病変)から脱分化型軟骨肉腫と考えた。次世代シーケンサーも用いて、その多くが軟骨肉腫に特徴的な IDH 変異、COL2A1 変異を有していること、NF1, CDKN2A, TP53 など MPNST に特徴的な遺伝子変異が少ないこと、脱分化成分のみで SUZ12 や EED などの PRC2 の遺伝子変異があることを見出し、軟骨肉腫の脱分化であることを確認した。

(4) 低悪性度子宮内膜間質肉腫の一例において、新規融合遺伝子 MEAF6-SUZ12 を同定したためこれを報告した。次世代シーケンサーと RT-PCR で MEAF6-SUZ12 融合遺伝子を確認した。非典型的な臨床経過をとる症例であり、臨床経過を詳細に検討することと遺伝子検索が診断に有用と考えた。MEAF6 遺伝子はヒストンのアセチル化に関与し、SUZ12 遺伝子は PRC2 複合体の構成要素でありヒストンのメチル化に関与する。これらヒストン修飾因子の融合遺伝子を有する腫瘍であるが、H3K27me3 免疫染色では染色性が保たれていた。

(5) 低悪性度 MPNST との鑑別を要するような腫瘍を検索した際に、成人女性の頸部縦隔を侵す分類不能の間葉系腫瘍二例において同一の RREB1-MRTFB 融合遺伝子を見出したためこれを報告した。次世代シーケンサー、RT-PCR、FISH 法で RREB1-MRTFB 融合遺伝子を確認した。RREB1-MRTFB 融合遺伝子は舌発生の外胚葉間葉性軟骨粘液腫瘍に特異的であることが知られている。これら二例は外胚葉間葉性軟骨粘液腫瘍と同様の免疫形質 (S100, GFAP, EMA, SMA がそれぞれ一部陽性、SOX10 陰性) を示すものの、非典型的な組織像であった。これら二例が、舌外発生の外胚葉間葉性軟骨粘液様腫瘍であり舌発生例と同様に良性腫瘍であるか、全く異なる疾患単位であるか、今後の症例の蓄積が待望される

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Makise Naohiro, Sekimizu Masaya, Konishi Eiichi, Motoi Toru, Kubo Takashi, Ikoma Hisashi, Watanabe Shun-ichi, Okuma Tomotake, Hiraoka Nobuyoshi, Fukayama Masashi, Kawai Akira, Ichikawa Hitoshi, Yoshida Akihiko	4. 巻 32
2. 論文標題 H3K27me3 deficiency defines a subset of dedifferentiated chondrosarcomas with characteristic clinicopathological features	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 435 ~ 445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41379-018-0140-5	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 Makise Naohiro, Sekimizu Masaya, Kubo Takashi, Wakai Susumu, Hiraoka Nobuyoshi, Komiyama Motokiyo, Fukayama Masashi, Kawai Akira, Ichikawa Hitoshi, Yoshida Akihiko	4. 巻 42
2. 論文標題 Clarifying the Distinction Between Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor and Dedifferentiated Liposarcoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 656 ~ 664
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001014	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 Makise Naohiro, Sekimizu Masaya, Kubo Takashi, Wakai Susumu, Watanabe Shun-ichi, Kato Tomoyasu, Kinoshita Takayuki, Hiraoka Nobuyoshi, Fukayama Masashi, Kawai Akira, Ichikawa Hitoshi, Yoshida Akihiko	4. 巻 73
2. 論文標題 Extraskeletal osteosarcoma: MDM2 and H3K27me3 analysis of 19 cases suggest disease heterogeneity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 147 ~ 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.13506	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 Makise N, Sekimizu M, Kobayashi E, Yoshida H, Fukayama M, Kato T, Kawai A, Ichikawa H, Yoshida A	4. 巻 475
2. 論文標題 Low-grade endometrial stromal sarcoma with a novel MEAF6-SUZ12 fusion.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 527 ~ 531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/s00428-019-02588-8	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 Makise Naohiro, Mori Taisuke, Kobayashi Hiroshi, Nakagawa Kazuo, Ryo Eijitsu, Nakajima Jun, Kohsaka Shinji, Mano Hiroyuki, Aburatani Hiroyuki, Yoshida Akihiko, Ushiku Tetsuo	4. 巻 Epub
2. 論文標題 Mesenchymal Tumors with RREB1 MRTFB Fusion Involving the Mediastinum: Extra Glossal Ectomesenchymal Chondromyxoid Tumors?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.14080	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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 牧瀬尚大、関水壮哉、小西英一、元井亨、久保崇、平岡伸介、深山正久、川井章、市川仁、吉田朗彦
2. 発表標題 H3K27me3の消失した脱分化型軟骨肉腫は 特徴的な臨床病理像を示す小群を形成する
3. 学会等名 第107回日本病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牧瀬尚大
2. 発表標題 脱分化ないし異所性分化を示す肉腫 におけるMDM2増幅とH3K27me3消失の 診断的意義に関する研究
3. 学会等名 第107回日本病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牧瀬尚大
2. 発表標題 肉腫の脱分化・異所性分化とH3K27me3消失
3. 学会等名 第39回日本画像医学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----