

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08677

研究課題名（和文）悪性黒色腫特異的融合遺伝子の同定および機能解析

研究課題名（英文）Identification and functional analysis of melanoma-specific fusion genes

研究代表者

山本 有紀（Yamamoto, Yuki）

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90316117

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：複数の融合遺伝子特異的プライマーを購入し、悪性黒色腫病変、そしてコントロールとして良性の母斑や他の悪性腫瘍の組織サンプルを用いてsanger sequenceにて融合遺伝子の検出を試みた。また、悪性黒色腫における感度・特異度や臨床像との相関（とくに疾患の予後や、現在標準的治療法となっている免疫チェックポイント療法の奏効率など、免疫関連副作用発現率など）を検討すべく、臨床情報を収集した。しかし、我々のサンプル、そして我々の実験系では悪性黒色腫において誘導遺伝子を検出することができなかった。今後、別のタイプの融合遺伝子の検索を計画する必要があるものと思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性黒色腫の病態解明と診断・治療の3つの面で臨床医学への波及効果を有する。具体例を挙げると、腫瘍特異的な融合遺伝子が同定できれば免疫染色による早期の確定診断に有用である。次に、現在免疫チェックポイント療法が注目されているが、全例に奏功するわけではなく医療経済の観点からも効果予測マーカーの探索が試みられている。腫瘍細胞における遺伝子変異数が多いほど免疫療法の奏効率が高いため、融合遺伝子の有無がより鋭敏な免疫チェックポイント療法のマーカーとなる可能性がある。さらに、悪性黒色腫において融合遺伝子の阻害が特異的で侵襲や副作用の少ない全く新しい治療薬の開発へ貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We prepared several fusion gene-specific primers and attempted to detect the fusion genes by sanger sequence using tissue samples from malignant melanoma lesions, benign nevi, and other malignant tumors as controls.

We also collected clinical information to examine the sensitivity and specificity of the fusion genes in malignant melanoma and their correlation with clinical manifestation, especially the prognosis of the disease, the response rate to immune checkpoint therapy, and the incidence of immune-related adverse effects.

However, we were unable to detect fusion genes in our malignant melanoma samples by our experimental methods. We will need to plan to search for other types of fusion genes in the future.

研究分野：皮膚科学

キーワード：悪性黒色腫 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

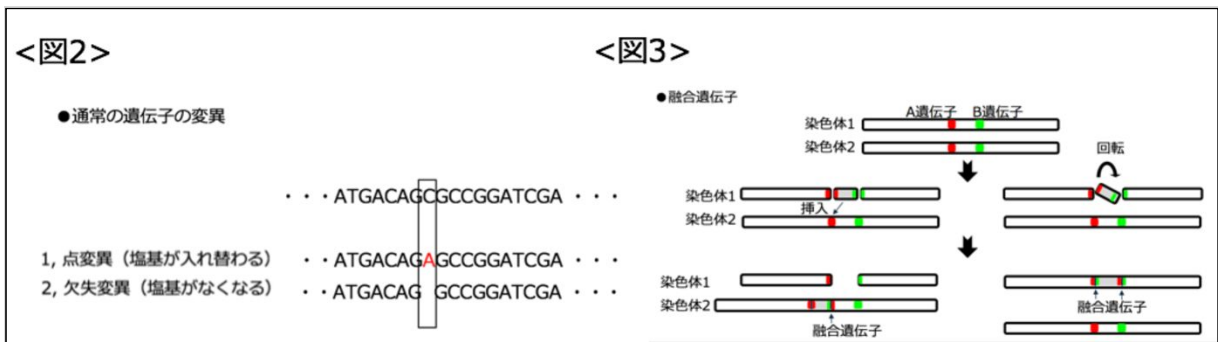
皮膚悪性腫瘍は内臓の悪性腫瘍と同じく健康を脅かすのはもちろん、より外観や QOL に影響しうる疾患であるといえる。その代表が色素細胞から出現する悪性黒色腫である(図 1)。悪性黒色腫の現在の診療上の課題として以下のようなものがあると考える。



- (1) 悪性黒色腫の一部において BRAF や NRAS などの腫瘍関連遺伝子の点変異が認められるものの、本邦患者での陽性率は 30% 以下と比較的低く本腫瘍に非特異的であるため、診断マーカーとしては使用できずまたこれら遺伝子変異単独での発症が証明されているとは言い難い。よって、本腫瘍の発生機序は未だ解明されていない。
- (2) 診断が難しく、誤診され長期間見逃されることもしばしば経験される。さらに初期の病変や非典型例の場合は病理組織学的にも診断に苦慮することも多い。
- (3) 診断が難しい一方で、進行が早くリンパ節や内臓に転移し皮膚悪性腫瘍の中でも最も予後が不良な疾患の一つである。現在手術不能の悪性黒色腫では BRAF 点変異を有する症例には BRAF 阻害剤が、有さなければ免疫チェックポイント阻害薬が使用されるようになっているが、奏功しない例も多い。特に後者は高額であるため、医療経済的な観点から効果予測のためのバイオマーカーの探索が試みられているがいまだ同定されていない。

悪性腫瘍の原因として一般に上記のような腫瘍癌遺伝子の点変異や欠失変異がよく知られており(図 2)、皮膚腫瘍でも基底細胞癌などでは特異性が高く高頻度に出現する原因遺伝子が同定されている。一方、悪性黒色腫においては実験医学の発達にもかかわらずそのような特異性の高い変異が同定されていないことを考慮すると、通常の変異ではない、例えば融合遺伝子が関与している可能性がある。

融合遺伝子は一方の染色体の一部が切り取られもう一方の染色体間に挿入された結果あるいは染色体の一部が反転した結果、本来別の 2 つの遺伝子が融合して作られる(図 3)。近年肺癌や隆起性皮膚線維肉腫など様々な悪性腫瘍で融合遺伝子が発見され、腫瘍形成のメカニズムに強く関与するため診断にも役立ち、そして融合遺伝子の働きを阻害する薬剤が劇的な治療効果を発揮することがわかってきた。一方、悪性黒色腫でも上記のような点変異が見られない症例において融合遺伝子が検出されているが、特に本邦で多い末端黒子型で報告されているのは SDHA-ALK あるいは GOPC-ROS1 のみで正確な頻度は不明である(Quan VL, et al. J Cutan Pathol 2019 in press; Coutts KL, et al. JCO Precision Oncology 2017)。



しかし、悪性黒色腫における融合遺伝子の機能や臨床像との相関は未だ検討されておらず、診断・治療効果マーカーと成りうるか、また治療標的となりうるか？という学術的「問い」を有するに至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、悪性黒色腫における融合遺伝子の存在と臨床像との相関、融合遺伝子の機能、そして融合遺伝子の阻害の抗腫瘍効果の3点を明らかにすることである。

これまでの研究代表者の皮膚悪性腫瘍の病態に關与する分子および治療予測バイオマーカーの探索などの研究成果と知見集積に基づき、悪性黒色腫における融合遺伝子の研究は極めて少ない点に注目するに至ったことで、新たな視点で取り組む研究である。また、現在、当研究室は隆起性皮膚線維肉腫の融合遺伝子を保険適応内で全国から受託し検査することができる全国唯一の施設であることから、独自の研究計画と言える。研究の創造性として、悪性黒色腫の病態解明と診断・治療の3つの面で臨床医学への波及効果を有する。具体例を挙げると、腫瘍特異的な融合遺伝子が同定できれば免疫染色による早期の確定診断に有用である。次に、現在免疫チェックポイント療法が注目されているが、上記のごとく全例に奏功するわけではなく医療経済の観点からも効果予測マーカーの探索が試みられている。腫瘍細胞における遺伝子変異数が多いほど免疫療法の奏成功率が高いため(Hellmann MD et al. Cancer Cell 2018)、融合遺伝子の有無がより鋭敏な免疫チェックポイント療法のマーカーとなる可能性がある。さらに、悪性黒色腫は診断が難しいのと進行が早く治療抵抗性であることがあいまって予後不良であるが、肺癌のEML4-ALK融合遺伝子の機能を阻害するクリゾチニブや白血病におけるBCR-ABL融合遺伝子の働きを阻害するイマチニブのように、悪性黒色腫において融合遺伝子の阻害が特異的で侵襲や副作用の少ない全く新しい治療薬の開発へ貢献することが期待される。

3. 研究の方法

悪性黒色腫病変、そして良性の母斑や他の悪性腫瘍の組織サンプルを用いて sanger sequence にて SDHA-ALK、GOPC-ROS1、あるいは ADCK4-NUMBL 融合遺伝子の検出率を確認する。各サンプルで発現確認できた融合遺伝子については、融合遺伝子を構成する遺伝子それぞれをラベルするプローブを用いた FISH 法を用いて細胞内においても異なる遺伝子の融合を確認する。次に、悪性黒色腫における感度・特異度や臨床像との相関（とくに予後や免疫チェックポイント療法の奏成功率など）を検討する。

4 . 研究成果

研究研究計画に従い、複数の融合遺伝子特異的プライマーを購入し、悪性黒色腫病変、そしてコントロールとして良性の母斑や他の悪性腫瘍の組織サンプルを用いて sanger sequence にて融合遺伝子の検出を試みた。また、悪性黒色腫における感度・特異度や臨床像との相関(とくに疾患の予後や、現在標準的治療法となっている免疫チェックポイント療法の奏功率など、免疫関連副作用発現率など)を検討すべく、臨床情報を収集した。

しかし、我々のサンプル、そして我々の実験系では悪性黒色腫において誘導遺伝子を検出することができなかった。今後、他の融合遺伝子の検索を計画する必要があるものと思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西口麻奈、奥平尚子、国本佳代、山本有紀、神人正寿
2. 発表標題 隆起性皮膚線維肉腫における融合遺伝子発現解析の現状報告
3. 学会等名 第48回和歌山悪性腫瘍研究会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------