

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790369

研究課題名(和文)唾液腺腫瘍の分子病理学的診断基準の確立と治療への応用

研究課題名(英文)Study of molecular pathology of salivary gland tumor

研究代表者

大友 梨恵(Ohtomo, Rie)

独立行政法人国立がん研究センター・中央病院・外来研究員

研究者番号：50626322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：唾液腺腫瘍は比較的稀だが形態学的に多様で診断難渋する例も多く、分子生物学的な病理診断基準の確立が望まれている。我々はSOX10という神経堤の分化および成熟にかかわる転写調節因子に着目した。免疫組織学的にSOX10は大唾液腺にも発現しており、非腫瘍性の筋上皮細胞と腺房から介在導管レベルの管上皮細胞にも発現していた。さらに唾液腺良性腫瘍、悪性腫瘍で検討したところ、SOX10の発現の有無により2つのサブタイプに分けられることが分かった。マウスモデルはSOX10が胎児期から成体期の唾液腺腺房から介在導管で発現していた。SOX10は唾液腺腫瘍の組織形成を分析し理解するための新しい有用なマーカーとなる。

研究成果の概要(英文)：Salivary gland tumors are relatively rare and morphologically diverse and heterogeneous tumors; therefore, histogenesis-based tumor markers are sorely needed to aid in diagnosing and determining the cell type of origin. SOX10 protein is a transcription factor known to be crucial in the specification of the neural crest. In addition, positive expression has also been implicated in the major salivary gland. SOX10 expression clearly delineated two distinct subtypes of human salivary gland tumors. In normal human salivary gland tissue, SOX10 expression was specific to the nuclei of acini and both luminal and abluminal cells of intercalated ducts but not in other sites. Moreover, the murine model suggested that SOX10 continued to be expressed from the developmental stage to adulthood in the acinar and both luminal and abluminal intercalated ducts in the major salivary gland. Thus, SOX10 is a novel marker for diagnosing and understanding the histogenesis of salivary gland tumors.

研究分野：基礎医学

科研費の分科・細目：人体病理学

キーワード：唾液腺腫瘍 SOX10 病理診断

## 1. 研究開始当初の背景

唾液腺悪性腫瘍の発生率は、全ての悪性腫瘍のうち約 0.3%と稀なものであるが、他に類がないほど数多くの組織分類が存在し(WHO 国際分類 2005)、一般病理医においては適切な診断が困難であることが多い。また臨床的な問題として、適切な術前組織型診断が行われないと、悪性度に応じた切除術式の判断を誤り、初回の切除が不十分となりうる。また、頭頸部の解剖学的複雑さから切除範囲に制限があるため、根治的切除が困難な症例も存在する。唾液腺腫瘍自体の進展は緩徐なものが多いが、不完全切除症例は病期期間が長く、その後何十年にもわたって再発・転移を繰り返す。切除以外に各組織型に特化した治療法(化学療法や放射線治療)が確立していないことも大きな問題である。この様に、唾液腺腫瘍に対する診療が必要かつ十分に行われるためには分子生物学的な情報を踏まえた唾液腺腫瘍の病理診断基準の確立が望まれている。

本研究では、これらの問題を解決するための方法として、唾液腺を構築する各領域の細胞に発現する特徴的な分子に着目した。これまで、唾液腺腫瘍の一部では、アンドロゲン受容体(AR)、エストロゲン受容体(ER)等のホルモン受容体の発現(Nasser et al, Am J Clin Pathol. 2003)や Her2 ,EGFR 等の成長因子受容体、p63 などの転写因子の発現により細胞の分類・診断がなされている。しかし腫瘍では、唾液腺を構成する筋上皮、上皮、腺房等細胞の中間的形態の細胞の出現が顕著であり、上述した既知のマーカに加えて、さらなる分類のためのマーカが必須である。このため本研究では、転写因子である Sox10 に着目した。Sox10 は神経堤の分化および成熟にかかわる転写調節因子であり、シュワン細胞やメラノサイトの維持に重要である。免疫組織学的にシュワン細胞由来の腫瘍(悪性末梢神経鞘腫など)やメラノサイト由来の腫瘍(悪性黒色腫など)、肺やその他の臓器のカルチノイド腫瘍および褐色細胞腫の支持細胞において報告されている(Nonaka, et al. Am J Surg Patho. 2008), (Tsuta, et al. Histopathology. 2010)。ヒトの唾液腺および唾液腺腫瘍内での Sox10 発現については筋上皮細胞および筋上皮腫で免疫組織学的に陽性であったという報告のみで(Nonaka, et al. Am J Surg Patho. 2008)、正常組織での発現の詳細や他の唾液腺腫瘍での発現の報告はない。マウスモデルでは Sox10 は唾液腺に発現する(Shibata et al, Mol Brain. 2010)が詳細な検討はなされていない。

この様に、分化や lineage に基づいた、新規マーカ候補である Sox10 と既知のマーカを含めた多数症例での解析から、唾液腺病理診断基準の確立と唾液腺癌の悪性度や予後の推定、治療法の選択を含めた診療標準化

の開発を目的とし本研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

複雑な組織形態から、多くの組織分類が存在する唾液腺腫瘍に対する診療が必要かつ十分に行われるためには分子生物学的な情報を踏まえた唾液腺腫瘍の病理診断基準の確立が望まれている。本研究では、分化や lineage に基づいた、新規マーカ候補である Sox10 と既知のホルモン受容体、成長因子受容体を唾液腺正常組織と多種類、多数症例の唾液腺腫瘍での解析から、分子発現パターンに基づく唾液腺腫瘍の病理診断基準の確立と、唾液腺癌における悪性度や予後の推定、外科的切除の設定基準や各組織型に特化した治療法(化学療法や放射線治療)の選択を含めた診療標準化の開発を目的とする。

## 3. 研究の方法

良性・悪性を含めた 15 種類の組織型の唾液腺腫瘍、計 100 症例の組織マイクロアレイ(TMA)を作製し、Sox10 ならびにホルモン受容体(ER, PgR, AR)を含む約 15 種類の免疫染色を行い発現パターンを調べる。また各分子の発現パターンによってクラスター分類を行い、転移・再発等の予後のデータとの関連性を調べ、悪性度や予後を推定する有益なマーカとなるかを解析する。さらに Sox10 が唾液腺の発生・分化決定機構に関与する可能性について、Sox10 発現細胞を可視化するトランスジェニックマウスを用い、胎児から成体に至るまでの唾液腺の各発生段階における既知のマーカを含めた分子マーカの詳細な解析を行う。

## 4. 研究成果

免疫組織学的検討では SOX10 蛋白は非腫瘍性唾液腺の腺房から介在導管レベルの luminal, abluminal cell の両方に発現するが、腺状導管から集合管レベルでは発現がないことが分かった。今まで汎用されてきた上皮・筋上皮マーカ(p63, SMA, calponin, CK5/6, S100, GFAP など)とは異なる特有の発現パターンを呈していた(表 1)。

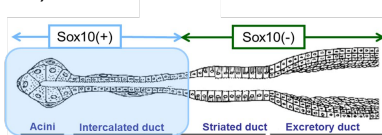
また 76 例の悪性および 14 例の良性を含む唾液腺腫瘍による検討で SOX10 は上述の上皮・筋上皮マーカとは異なった発現パターンを示していた(表 2、図 1)。SOX10 陽性腫瘍(腺房細胞癌、上皮筋上皮細胞癌、筋上皮癌、腺様嚢胞癌、腺癌 NOS の一部、多形腺腫、筋上皮腫)と陰性腫瘍(導管癌、粘表皮癌、オンコサイト癌、オンコサイトーマ、ワルチン腫瘍)に 2 分されることが分かった(表 3)。形態学的に特定の組織型に分類が困難で腺癌 NOS と診断されていた症例が、SOX10 蛋白の発現の有無によってどちら側の lineage に由来するものが分かり、特定の組織診断型に分

類する一助となる。

Sox10-Venus トランスジェニックマウスの胎児期から成体を用いた検討では、大唾液腺組織発生の各段階で腺房細胞から介在導管レベルでSOX10 蛋白の発現が一貫して認められた。

以上から SOX10 は組織診断および組織発生を理解する上で実用的なマーカーである。複雑な唾液腺腫瘍の組織診断を再構築するための有用なパラメーターとなりうる。

(表 1: 正常唾液腺組織での各免疫染色抗体の陽性細胞の分布)



	Acini	Intercalated duct	Striated duct	Excretory duct
Sox10	Luminal ++ (except mucinous acini) Abluminal +	++	-	-
p63	Luminal - Abluminal ++	++	++	++
CK14	Luminal - Abluminal ++	++	±	±
CK5/6	Luminal - Abluminal ++	++	++	++
SMA	Luminal - Abluminal ++	++	-	-
Calponin	Luminal - Abluminal ++	++	-	-
S100	Luminal - Abluminal ++	++	-	-
GFAP	Luminal - Abluminal -	-	++	++

++, >90% of positive cells; +, 10-90%; ±, 1-10%; -, negative

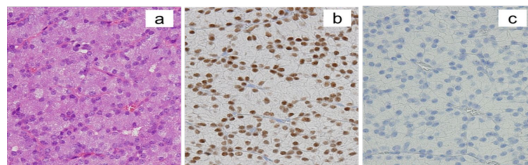
(表 2: 唾液腺腫瘍における各抗体の陽性率)

Histological diagnosis	n	No. of positive cases (%)								
		Sox10	p63	SMA	Calponin	CK14	CK5/6	S100	GFAP	
Malignant										
ACC	23	22 (96)	21 (91)	18 (78)	21 (91)	21 (91)	21 (91)	5 (21)		
AcicCC	7	7 (100)	0	0	0	0	0	0		
SDC	6	0	0	0	1 (17)	1 (17)	1 (17)	3 (50)		
MuEC	6	0	2 (33)	0	5 (83)	6 (100)	1 (17)	2 (33)		
EMC	5	5 (100)	5 (100)	3 (60)	5 (100)	3 (60)	4 (80)	3 (60)		
MyEC	1	1	1	0	1	1	0	0		
OncoCa	1	0	0	0	0	0	0	0		
AdCaNOS	15	3 (20)	7 (47)	0	7 (47)	5 (33)	6 (40)	3 (20)		
AdCaNOS of CaexPA	7	2 (29)	3 (43)	0	4 (57)	5 (71)	3 (43)	2 (29)		
Benign										
PA	6	6 (100)	6 (100)	5 (83)	5 (83)	6 (100)	6 (100)	6 (100)		
PA of CaexPA	4	4 (100)	2 (50)	2 (50)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	3 (75)		
ME	4	4 (100)	4 (100)	4 (100)	3 (75)	4 (100)	4 (100)	3 (75)		
Onco	2	0	2 (100)	0	2 (100)	2 (100)	0	1 (50)		
War	2	0	2 (100)	0	0	2 (100)	2 (100)	0		

(表 3: 各唾液腺腫瘍での SOX10 陽性率と陽性部位)

Sox10 expression	Histological type	n	No. of positive cases (%)	Morphological pattern in positive cases	Proportion of positive cells	
Positive	Malignant	AcicCC	7	7 (100)	Sheet	Luminal cell ++, Abluminal cell +++
		EMC	5	5 (100)	Biphasic duct	+++
		MyEC	1	1	Spindle	Luminal cell ++, Abluminal cell +++
		ACC	23	22 (96)	Biphasic duct (true duct)	+++
					Monophasic duct (pseudo duct)	+++
		AdCaNOS	22 (7*)	6 (23)	Focal tubular formation	Luminal cell ++, Abluminal cell ++
	Benign	PA	10 (4*)	10 (100)	Solid nest	+++
					Chondromyxoid	+
					Epithelioid	++
					Spindle	+++
				Plasmacytoid	+++	
Negative	Malignant	ME	4	4 (100)	Spindle	+++
		SDC	6	0		
		MuEC	6	0		
	Benign	OncoCa	1	0		
		Onco	2	0		
		War	2	0		

(図 1: 腫瘍での免疫染色結果の一例。腺房細胞癌での免疫染色結果 a: HE 染色, b: SOX10, びまん性に核に陽性, c: p63, 陰性)



## 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)

Ohtomo R, Mori T, Shibata S, Tsuta K, Maeshima AM, Akazawa C, Watabe Y, Honda K, Yamada T, Yoshimoto S, Asai M, Okano H, Kanai Y, Tsuda H. Mod Pathol. 2013 Aug;26(8):1041-50. doi: 10.1038/modpathol.2013.54. Epub 2013 Apr 5. (peer reviewed)

〔学会発表〕(計 1 件)

大友梨恵

Sox10 is a novel marker of acinus and intercalated duct differentiation in salivary gland tumors.

日本癌学会 (2012 年 09 月 19 日 ~ 2012 年 09 月 21 日、ロイトン札幌)

〔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

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

大友梨恵 (OHTOMO, Rie)  
独立行政法人国立がん研究センター中央病  
院・外来研究員  
研究者番号：  
50626322

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
森泰昌 (MORI, Taisuke)  
独立行政法人国立がん研究センター中央病  
院・医員  
研究者番号：  
00296708