

201438086A

厚生労働科学研究委託費

革新的がん医療実用化研究事業

「眼部希少がんの発生・多様性獲得機構の「鍵となる」分子・
分子経路の特定と、二次がん発生のサーベイランス体制の確立」
に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 鈴木 茂伸

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、独立行政法人国立がん研究センター理事長 堀田知光が実施した平成26年度「眼部希少がんの発生・多様性獲得機構の「鍵となる」分子・分子経路の特定と、二次がん発生のサーベイランス体制の確立」の成果を取りまとめたものです。

厚生労働科学研究委託費
革新的がん医療実用化研究事業

「眼部希少がんの発生・多様性獲得機構の「鍵となる」分子・
分子経路の特定と、二次がん発生のサーベイランス体制の確立」
に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 鈴木 茂伸

平成27（2015）年 3月

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

「眼部希少がんの発生・多様性獲得機構の 「鍵となる」分子・分子経路の特定と、 二次がん発生のサーベイランス体制の確立」 に関する研究 鈴木 茂伸	-----	1
--	-------	---

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. 眼内腫瘍に関する研究 鈴木 茂伸	-----	9
2. 眼付属器腫瘍に関する研究 辻 英貴	-----	10
3. 眼周囲発生固形腫瘍に関する研究 吉本 世一・松本 文彦	-----	11
4. 病理学解析に関わる技術開発に関する研究 森 泰昌	-----	13
5. 遺伝子解析に関わる技術開発に関する研究 吉田 輝彦・坂本 裕美	-----	16
6. 新規診断マーカー探索に関する研究 芝田 晋介	-----	19
7. 二次がんの診療体制構築に関する研究 鈴木 茂伸	-----	21

III. 学会等発表実績	-----	25
--------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	29
-----------------	-------	----

I . 委託業務成果報告（総括）

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（総括）

「眼部希少がんの発生・多様性獲得機構の「鍵となる」分子・分子経路の特定と、
二次がん発生のサーベイランス体制の確立」に関する研究

業務主任者 鈴木茂伸 国立がん研究センター中央病院眼腫瘍科科長

研究要旨 希少がんであるため多数例を収集し基盤データを作成する体制を構築し、前向き検体収集、DNA抽出を行った。保存検体を用いた解析を行うため、質の高いDNA抽出を行う技術を確認した。ゲノム解析の最適化研究を行い、次年度の解析に向けたゲノム解析体制を構築した。眼部の形成にSOX10遺伝子発現が重要な意義を持つことを解明し、眼内腫瘍の診断に有用であることを確認した。二次がんの疫学情報を収集し、DNA抽出を行った。本年度集積したDNA及びゲノム解析体制を用い、次年度以降に本格的ゲノム解析を行い、眼部希少がんの鍵となる分子の特定を目指す。

①分子経路解明と基盤データ作成

眼内腫瘍に関する研究

鈴木茂伸

国立がん研究センター中央病院眼腫瘍科科長

眼周囲発生固形腫瘍に関する研究

吉田世一・松本文彦

国立がん研究センター中央病院頭頸部腫瘍科科長・医長

眼付属器腫瘍に関する研究

辻 英貴

がん研究会有明病院眼科部長

病理学解析に関わる技術開発に関する研究

森 泰昌

国立がん研究センター中央病院病理臨床検査科医員

遺伝子解析に関わる技術開発に関する研究

吉田輝彦・坂本裕美

国立がん研究センター研究所遺伝医学研究分野長・ユニット長

②新規診断マーカーの探索に関する研究

芝田晋介

慶應義塾大学医学部生理学教室専任講師

③二次がんの診療体制構築に関する研究

鈴木茂伸

国立がん研究センター中央病院眼腫瘍科科長

A. 研究目的

希少がんであるため基盤となる研究がなされていない眼腫瘍において、発病の「鍵となる」分子・分子経路を解析し基盤データを作成することで早期発見のための検査の適正化を図り、新しい治療法を開発することにより治癒率の著明な改善を実現することを目的とする。また分子経路を解明することにより晩期再発と二次がんを明確に鑑別することで、二次がん発生のサーベイランスと個別化されたフォローアップ体制を確立することを目的とする。

B. 研究方法

①分子経路解明と基盤データ作成

a. プロジェクトの総合推進

各施設での倫理審査、各分担者により後ろ向き臨床情報データベース作成ならびに試料収集を行う。前向き検体の試料収集については、i. 眼内腫瘍、ii. 眼周囲発生固形腫瘍、iii. 眼付属器腫瘍試料について各々の機関で収集を進める。

b. 病理学解析に関わる技術開発

病理組織学的評価ならびにTissue Micro Array作成を行う。

長期保管FFPE試料、微細生検検体を用いての免疫組織科学染色による蛋白発現解析方法、電子顕微鏡による腫瘍内微細構造解析、in-situ hybridizationによるRNA解析ならびに前向き新鮮試料を用いたフローサイトメータ解析による腫瘍細胞表面発現蛋白解析方法については、適正な解析プロトコール作成のための技術開発を進める。

c. 遺伝子解析に関わる技術開発

長期保管FFPE試料から高精度ゲノム・エピゲノム解析法の確立に関わる技術開発を行う。

平成26年度は当該FFPEブロックからのDNA抽出とその量・品質の検証を行い、解析データの品質評価や解析の優先順位付けを行う。特に希少症例に多く含

まれる古いサンプルや微細なサンプルから高精度な解析を行うことを可能とするDNAの抽出方法についての技術開発を進める。

②新規診断マーカーの探索、新規診断マーカーの研究開発

マウスの眼部発生時における分子発現解析から、腫瘍形質による分類のための新規診断マーカー候補探索を行う。

③ 二次がんの診療体制構築・二次がんの調査及び診療体制構築

二次がんについては、過去30年の追跡調査により再発・二次がんの有無、治療の内容、どのようにフォローアップされているかについての臨床疫学的調査を進める。

(倫理面への配慮)

ヒト試料を研究に使用する際には、ヘルシンキ宣言を重視し、事項の指針に沿って研究を行う。また「遵守すべき研究に関する指針等」に記載した指針に沿って研究を遂行する。

研究計画は事前に各施設のそれぞれの倫理委員会の審査を受け、研究によって提供者に危険や不利益が生じないこと、個人情報に厳重に管理されていること、提供者に同意を得る方法に倫理的な問題がないことを確認し、承認を得た後に行う。

新規試料については、「検査試料、生検組織、摘出標本等の研究利用に関するお願い」に基づく包括同意を表明していない患者から得られた試料を使用しない。個々の患者の包括同意の有無は病院情報システムに掲載されており、連結可能匿名化業務に従事する研究所連携研究支援プロジェクトと病理情報管理に当たる研究協力者が情報システムを厳に参照することにより、包括同意が得られていることを二重に確認する。一旦表明された同意が撤回されたかどうかも定期的に確認し、撤回された検体があれば解析の途上であっても直ちに破棄する。

動物実験に関しては、国立がん研究センターならびに慶応義塾大学医学部動物実験指針を遵守し、各期間での承認を得た後、実験は行われる。

C. 研究結果

①分子経路解明と基盤データ作成

a. プロジェクトの総合推進

眼内腫瘍については毛様体腫瘍切除による治療を行い、2/3例で眼球温存を達成した。検体から質の良いDNAを抽出でき、次年度以降の解析に活用する準備を行った。

眼付属器腫瘍については、脂肪肉腫の解析を行い、診断の鍵となるMDM2染色の有用性を確認した。

眼周囲発生固形腫瘍については、頭頸部扁平上皮癌細胞を用いcetuximab (抗EGFR抗体) による重粒子線治療の増感効果を確認した。

b. 病理学解析に関わる技術開発

網膜芽細胞腫検体からTissue Micro Arrayを作成し、正常網膜と腫瘍部位の比較検討から、正常網膜には発現せず腫瘍特異的に発現する転写因子を同定した。

SOX10を用いた免疫染色の結果、脈絡膜悪性黒色

腫は全例陽性、毛様体上皮腫瘍は全例陰性を示した。

c. 遺伝子解析に関わる技術開発

保存検体からのDNA抽出において、Qiagenを用いた従来の方法に比べcovarisを用いることで約20倍の増幅効果が認められた。

全エクソーム塩基配列解析 (WES) データに基づくコピー数異常の検出について、先行研究のデータを用いて最新鋭の解析ツールであるSequenzaの最適化について検討を行い、安定したデータの得られることが示唆された。

②新規診断マーカーの探索に関する研究

手術検体などの解析結果からSOX10遺伝子の発現亢進がキーであることが示唆され、SOX10を中心とした神経堤細胞に関連する分子経路の関与が示唆された。Sox10の蛍光レポーターマウスを導入し、眼発生においてoptic cupのほぼすべての細胞に初期から強発現していることが判明した。

③ 二次がんの診療体制構築

過去40年の症例調査により33例に38の二次がんが生じていた。骨肉腫以外に横紋筋肉腫が多く、免疫染色にて確定診断されていた。一部の二次がん検体からDNA抽出に成功した。

D. 考察

眼部腫瘍は希少であるがゆえに少数の治療施設に集積されてきた経緯があり、本研究体制により多数例の検体収集が可能であった。過去の保存検体を活用することで対象を増やすことが可能であるが、種々の解析に耐えうるDNA抽出、解析技術が必須であり、本年度の成果としてcovarisを用いた抽出技術とWESデータを用いた解析の最適化研究結果は次年度以降のゲノム解析に向けた重要な成果と考える。

病理学的検討、マウスの眼発生の研究からSOX10が眼部の形成において鍵となる可能性が示唆された。実際に悪性黒色腫と鑑別の困難な毛様体上皮を容易に鑑別することが示唆され、診断基準としての有用性が示唆された。今後症例を集積し診断基準の確立を目指す。

眼内、眼付属器、眼周囲発生固形腫瘍それぞれにおいて、臨床的課題に基づき研究解析を行い、新たな臨床疑問、仮説が明確化された。これらについて今後検証を行う必要がある。

二次がんの疫学データは収集され、既報とは異なる疾患内訳であった。保存検体からのDNA抽出を進め、ゲノム解析を行うことで診断の確度を上げるとともに鍵となる遺伝子の発見、診療体制確立を目指す。

E. 結論

多数例の腫瘍検体の収集体制、保存検体から質の高いDNA抽出を行う技術を確立した。ゲノム解析の最適化研究を行い、次年度の解析に向けた体制を確立した。眼部の形成にSOX10遺伝子発現が重要な意義を持つことを解明し、診断に応用した。二次がんの疫学情報を収集し、DNA抽出を行った。

F. 健康危険情報
特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表
別紙 様式第19のとおり

2. 学会発表
別紙 様式第19のとおり

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

II. 委託業務成果報告（業務項目）

眼内腫瘍に関する研究

担当責任者 鈴木茂伸 国立がん研究センター中央病院眼腫瘍科科長

研究要旨 毛様体腫瘍3例に対し、1例は眼球摘出、2例は眼球温存の上、経強膜腫瘍切除を行った。腫瘍は一塊として摘出され、重篤な有害事象は生じず、眼球温存を達成できた。術後一過性低眼圧、白内障に対して追加治療を検討する必要がある。検体からDNA抽出が可能であり、来年度以降に解析を行い、診断基準の確立を目指す。

A. 研究目的

眼内腫瘍は眼球摘出により検体を得る場合が多いが、不可逆の視機能消失を伴う。悪性腫瘍であっても眼球を温存して腫瘍の全切除を行うことにより、生命予後を維持しつつ眼球温存を図ることを目的とし、手術法、術後管理について検討した。

B. 研究方法

毛様体腫瘍3例の治療を行った。1例は眼内播種を伴う巨大腫瘍であり眼球摘出を選択したが、2例は大きいものの単一腫瘍であり、眼球温存による腫瘍切除を行った。

（倫理面への配慮）

治療に際して、有害事象を十分説明し、本人の希望に基づき同意書を取得し、一般診療の一環として行った。

C. 研究結果

眼球摘出を行った1例は眼内原発の滑膜肉腫の診断であった。2例は眼球温存を目的として、経強膜腫瘍切除を行った。腫瘍は一塊として切除され、それぞれ平滑筋肉腫、毛様体無色素上皮腺癌の診断を得た。両眼とも術後低眼圧を生じたが創の閉鎖とともに回復した。1例は術前からある白内障のため、1例は術後硝子体出血のため、術後視力は不十分であり、追加治療を検討している。

D. 考察

眼内腫瘍の生検は術式として確立しているが、手技が煩雑であり、合併症も多く、現在国内ではほとんど行われていない。当院では本年度の2例以前に5例の切除経験があり、いずれも眼球温存されている。術後一過性の低眼圧、網膜剥離、眼内出血、白内障進行などの危険性を提示したうえで、眼球温存しつつ腫瘍を切除することは妥当と考える。摘出検体からDNAを抽出できており、来年度以降の解析を

行い、診断基準の確立を目指す。

E. 結論

毛様体腫瘍に対し、1例は眼球摘出、2例は眼球温存にて腫瘍切除を行い、重篤な合併症を生じず治療を行うとともに、摘出検体からDNA抽出を行うことが可能であった。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Sakeda A, Mori T, Suzuki S, Ochiai A. Adenocarcinoma of the pigmented ciliary epithelium. BMJ Case Rep. 2014 Jul 11; 2014

・ 相原由季子、助田葵、森泰昌、鈴木茂伸. 経強膜腫瘍切除術を施行した小児の巨大毛様体黒色細胞腫の1例. 眼科臨床紀要 7:941-945, 2014

2. 学会発表

・ 相原由季子、助田葵、森泰昌、鈴木茂伸. 経強膜腫瘍切除術を施行した小児の巨大毛様体黒色細胞腫の1例. 第32回日本眼腫瘍学会（浜松市）2014年7月11日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

眼付属器腫瘍に関する研究

担当責任者 辻 英貴 がん研有明病院眼科部長

研究要旨 希少がんであるため基盤となる分子病理学的・臨床疫学的研究がなされていない眼腫瘍における、発病の「鍵となる」分子・分子経路解析による基盤データの作成と治療法開発を通して、治癒率の著明な改善ならびに、早期発見のための検査の適正化、当該研究の主目的である。希少がんである眼腫瘍の解析を進めるためには、過去症例を効率的に利用する必要がある。本年度はその基盤を作成するためのアーカイブの整備を進めた。具体的には、後ろ向き試料の集積、ならびに実際の臨床における評価を進めた。今後はさらに継続的な前向き試料の集積を進め、研究を発展させる所存である。

A. 研究目的

眼部希少がんの治療に向けて分子・分子経路の特定を行うと同時に、二次がん発生のサーベイランス体制の確立すること。

B. 研究方法

眼部希少がんの中でも成人に多く発生する脂肪肉腫について臨床研究を行った。
MDM2はWD-lopoma like LSP~dedifferentiated LSPにおいて、12番染色体（12q13）の増幅に伴い、過剰発現する遺伝子産物で、粘液型や円形細胞型のLPSでは染色されず、LPS2の核に染まるとされているが実際の症例での検討を行った。

（倫理面への配慮）

症例の発表の際には人物を特定できない様に十分に考慮した。

C. 研究結果

脂肪肉腫の診断の「鍵となる」MDM2染色の有用性について実際の臨床症例で確かめ、腫瘍細胞の核が染色されたことを確認した。

D. 考察

MDM2は、LPSの診断、特にサブタイプまでの診断に極めて有用なマーカーであった。脂肪肉腫の予後はサブタイプによって異なるため、臨床的意義は大きいと考察される。

E. 結論

脂肪肉腫の診断の「鍵となる」MDM2染色の有用性について実際の臨床症例にて検討した。今後はさらに症例を集め、MDM2以外の分子・分子経路の特定を目指して取り組んでいく予定である。（上記内容は、別記にある病理学会にて発表を行った。）

F. 健康危険情報

なし。

（委託業務成果報告（業務項目）には記入せずに、

委託業務成果報告（総括）にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

・辻英貴. 角結膜腫瘍—臨床的見地から—. 眼科 56:1323-1331, 2014

・辻英貴. 眼窩悪性腫瘍. 日本の眼科 86:29-35, 2015

2. 学会発表

・辻英貴. 眼窩腫瘍（非リンパ系）. 第118回日本眼科学会総会（東京都）、2014年4月6日

・辻英貴. Regional differences of peri-ocular tumors. 第34回国際眼科学会（東京都）、2014年4月2日

・辻英貴、小林めぐみ、新橋渉、他. 涙道に生じた腺様嚢胞癌. フォーサム眼科2014（東京都）、2014年7月5日

・辻英貴、小林めぐみ、志村英二、他. 涙道に生じたneuroendocrine tumor. 第29回日本眼窩疾患シンポジウム（浜松市）、2014年7月12日

・Tsuji H, Kobayashi M. Upper eyelid and lacrimal reconstruction with preserved sclera and DSI after resection of sebaceous carcinoma. 33th ESOPRS Annual Meeting (Hungary), 2014年9月11-13日

・辻英貴、元井紀子、小林めぐみ、他. 眼窩に生じた脂肪肉腫. 第60回日本病理学会秋期特別総会（沖縄）、2014年11月20日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

眼周囲発生固形腫瘍に関する研究

担当責任者 吉本世一 国立がん研究センター中央病院頭頸部腫瘍科科長
松本文彦 国立がん研究センター中央病院頭頸部腫瘍科医長

研究要旨 眼部および頭頸部癌治療方針は、手術による切除のみならず化学・放射線療法が大きな比重を占めている。しかしながら、多くの進行癌症では治療不応性であることもすくなくない。このような現状において期待される治療法として、重粒子線治療が挙げられる。重粒子線は深部腫瘍への有効性のみならず、1回あたりの照射線量が通常の放射線（X線）に比較し低減できることから二次癌の低減の可能性も期待されている。また、化学療法として頭頸部癌の90%にその発現が認められるEpidermal growth factor (EGFR) と抗EGF抗体治療薬であるCetuximabは放射線照射との相乗効果が報告されているが、その有効性についての知見は乏しい。本研究は、重粒子線の有効性のメカニズム解析を目的とし、EGFRに加えその下流因子であるInsulin like growth factor 1 receptor (IGF-1R) に着目し解析を進めている。

まずは頭頸部扁平上皮癌細胞においてcetuximab(抗EGFR抗体)の重粒子線照射の増感効果を検討した。Cetuximabを投与することにより一部の細胞においては重粒子線の感受性を増感することが認められた。詳細なメカニズムは検討中であるが、重粒子線によって上昇するEGFRのリン酸化をcetuximabによって抑制することがタンパクレベルでは認められている。今後は他の頭頸部扁平上皮癌細胞や眼部癌細胞においても同様の検討を行い、研究を推進していく予定である。

A. 研究目的

増殖因子とその受容体からのシグナルは、腫瘍の発生・進展に大きな役割を果たしている。近年、癌治療の分子標的としてチロシンキナーゼ活性を有する増殖因子受容体が注目されている。消化器癌などでは、epidermal growth factor receptor (EGFR)などを標的とする分子標的治療薬の開発、臨床試験が進み、一部はすでに臨床応用され放射線治療との併用で高い効果を示している。本邦ではcetuximabが頭頸部癌においても認可され放射線併用で用いられるようになってきた。しかしながら、cetuximabの頭頸部扁平上皮癌に対する重粒子線治療との併用に関しては十分な研究が進んでいないのが現状である。そこでEGFRと抗EGFR抗体の重粒子線治療における働きをγ線と炭素線で検討し、分子標的治療薬と重粒子線の併用によるさらなる腫瘍制御の可能性を検討する。

B. 研究方法

まずは頭頸部扁平上皮癌細胞にて研究をすすめる。ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞としてFaDu, Detroit 562を用いた。

Clonogenic survival assayを用いて、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞におけるγ線および炭素線に対するcetuximab(抗EGFR抗体)の放射線増感作用の評価。ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞を用いたγ線および炭素線によるEGFRのタンパク発現の変化をウェスタンブロット法での評価

(倫理面への配慮)

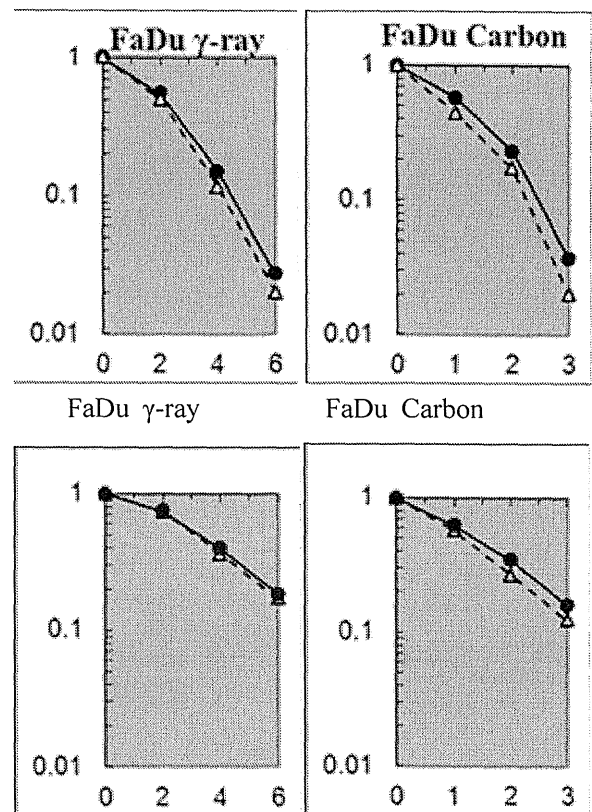
C. 研究結果

・Survival assayによるcetuximabの放射線増感作用の検討を行った。細胞は頭頸部扁平上皮癌のFaD

uとDetroit562を使用した。

・Cetuximabの放射線増感作用

Cetuximabの放射線増感作用を調べるためclonogenic survival assayを行った(図1)。CetuximabはFaDuにおいてγ線の軽度増感作用を示したが、Detroit562はγ線においては増感作用は認められなかったが炭素線では軽度の増感作用が認められた。一方、FaDuでは、どちらの線種においても軽度の増感作用が認められた。



Detroit562 γ -ray

Detroit562 Carbon

図1 : clonogenic survival assay

照射6時間前にcetuximab (50nm/L)を投与しそれぞれの線量で照射を行った。

・EGFRのタンパク発現の変化
ウェスタンブロットを用いて γ 線、炭素線におけるEGFRおよびp-EGFRの発現状況及び変化を検討した。EGFRにおいては今回の短いタイムポイントではcetuximabはいずれの線種においても変化は認められなかった。一方、p-EGFRにおいては照射後よりすぐに上昇が認められ時間の経過とともに低下していき、その上昇がcetuximabによって抑制されることが認められた。同様の現象は炭素線においても確認された。

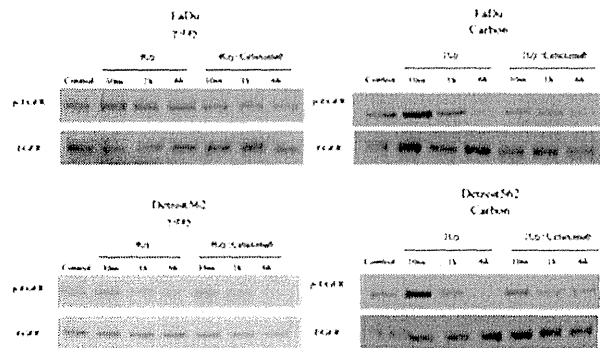


図2 : cetuximabを照射6時間まえに投与し、 γ 線炭素線をそれぞれ4Gy, 1Gy照射した。照射後10分、1時間、6時間でsampleを回収した。

D. 考察

今回はまだ十分な実験ができていない状況であるが、今後はcetuximabにより感受性の高い細胞など細胞の種類も増加させながら癌部悪性腫瘍においても同様の検討を行う予定である。今回得られたデータはその足がかりとなるには十分と考える。

E. 結論

頭頸部扁平上皮癌細胞においてcetuximab(抗EGFR抗体)を投与することにより一部の細胞において重粒子線の感受性を増感することが認められた。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

- ・吉本世一. 舌・口腔癌からの頸部転移. MB ENT 167:26-33, 2014
- ・吉本世一. 指導医資格について. 頭頸部外科 24(1):27-31, 2014
- ・吉本世一・浅井昌大. 声帯固定の声門上癌T3に喉頭亜全摘を行い前腕皮弁で再建した1例. 喉頭 26:52-56, 2014
- ・吉本世一. 頭頸部がん治療医の養成の現状と今後

の方向について. 頭頸部癌 40(3):288-293, 2014

2. 学会発表

- ・吉本世一・松本文彦・野村務・他. Surgical outcomes of head and neck sarcoma. 5th World Congress of IFHNOS. 2014/7/26-30
- ・吉本世一. 頭頸部がんの診断と治療. 中央区医師会学術講演会(東京都)、2014/9/10

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1. 特許取得
なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし

病理学解析に関わる技術開発に関する研究

担当責任者 森 泰昌 国立がん研究センター中央病院病理臨床検査科医師

研究要旨 希少がんであるため基盤となる分子病理学的・臨床疫学的研究がなされていない眼腫瘍における、発病の「鍵となる」分子・分子経路解析による基盤データの作成と治療法開発を通して、治癒率の著明な改善ならびに、早期発見のための検査の適正化、当該研究の主目的である。希少がんである眼腫瘍の解析を進めるためには、過去症例を効率的に利用する必要がある。本年度はその基盤を作成するためのアーカイブの整備を進めた。具体的には、後ろ向き試料の集積、特にカテゴリ化可能な希少症例の抽出から毛様体色素上皮由来腺癌の疾患概念の確立ならびにその成因の評価をすすめた。特に長期保管ホルマリン固定パラフィン材料（FFPE）試料から高精度なDNA抽出方法の確立と病理組織マイクロアレイ作製と免疫組織化学染色、蛋白質発現解析から、新規診断マーカー候補を得た。また、過去のアーカイブの探索から毛様体色素上皮由来腺癌を抽出し疾患概念を確立した。さらに継続的な前向き試料の集積を進めている

A. 研究目的

眼腫瘍は、希少がんであるため基盤となる分子病理学的・臨床疫学的研究がなされていない。そのため、発病の「鍵となる」分子・分子経路解析による基盤データの作成と早期発見のためのマーカーならびに腫瘍の成因の解明を通して、治療法開発を目的としている。希少がんである眼腫瘍の解析を進めるためには、過去症例を効率的に利用する必要がある。本年度はその基盤を作成するためのアーカイブの整備を進めた。具体的には、下記二項目について研究を推進した。

1) 後ろ向き試料の集積と長期保管ホルマリン固定パラフィン材料（FFPE）試料から高精度なDNA抽出方法の確立ならびに網膜芽細胞腫症例のTissue Micro Arrayから特異的なマーカーの分離。

2) カテゴリ化可能な希少症例から毛様体色素上皮由来腺癌を抽出し病理組織学的な疾患概念の確立ならびにその成因の評価。

B. 研究方法

1) -1: 後ろ向き試料の集積と長期保管ホルマリン固定パラフィン材料（FFPE）試料から高精度なDNA抽出方法の確立

2007年から2014年の7年間の眼球内腫瘍についての情報収集、特に網膜芽細胞腫は、過去5年間の手術検体試料の詳細な病理組織学的な評価を行った。長期保管ホルマリン固定パラフィン試料（FFPE）からのDNA抽出を既存の有機溶剤を用いた方法と超音波（covaris）を用いた方法との比較検討を行った。機械：M220（Covaris社）DNA抽出Kit A：truXTRAC FFPE DNA（Covaris社）- Option Cに従って実施。B：QIAamp DNA FFPE Tissue Kit（Qiagen社）の2種類のKitを使用して比較を実施した。サンプル：4um x 3枚分の組織をマイクロダイセクションによって組織部分のみを集めたもの。2012年に採取、固定されたヒト眼

腫瘍検体FFPEブロック、マスターミックス：KAP A SYBR fast universal qPCR kit with Ksf ROX high (enzyme) ; プライマー：Human Positive Control Primer Set GAPDH-1（ACTIVE MOTIF社）GAPDH領域を増幅する。Human Negative Control Primer Set 1（ACTIVE MOTIF社）Gene Desert領域を増幅する。サンプル：それぞれのKitで抽出したDNAの濃度をQubitで測定し、サンプル量を同一に揃えたものを2種類のプライマーで定量PCRによりその増幅効率の評価を実施した。

1) -2: Tissue Micro Arrayから特異的なマーカーの分離

網膜芽細胞腫症例を病理組織学的に再評価し、変性壊死が少なく十分な腫瘍が採取可能なブロックの選別を行った。直径4mm大のコアをドナーFFPEブロック腫瘍領域から採取し、ホストブロックに植立した。1ブロック当たり40コア×2ブロック、計80症例の病理組織を用いたTissue Micro Array（TMA）を作成した。

2) :毛様体色素上皮由来腺癌の病理学的な疾患概念の確立

再生医療実用化研究事業により実施される眼疾患加齢黄斑変性（滲出型）の治療法の開発は、患者自身のiPS細胞から網膜色素上皮細胞を誘導し、変性部の修復と再生による機能改善を目指す。しかしながら網膜色素上皮細胞由来の腫瘍は非常に希であり、その成因については、明らかになっていない。当該研究では、5例の網膜・毛様体色素上皮由来腫瘍が含まれている。これらの解析とその成因の推定は、ヒトを対象としたiPS細胞による再生医療の安全性確保においての貢献が期待される。色素性毛様体腺腫・腺癌（Adenoma or adenocarcinoma of the pigmented ciliary epithelium/APCE）は眼内に生じ、メラニン顆粒を有する腫瘍である。稀な腫瘍であり、詳細な検索が行われておらず、眼内脈絡膜黒色腫（Uveal melanoma/UM）との鑑別が問題となっている。APCE4例とUM1例の切除標本を用い、免疫染色を含む組織学的な検討を行った。また、皮膚や脈絡膜の悪性黒色腫で知られている遺伝子変異

をhigh-resolution melting analysis法とdirect sequence法で解析を行った。

(倫理面への配慮)

解析対象として用いる眼腫瘍ならびにその二次がんの既提供試料及び新規試料は、いずれの試料も診断後の余剰検体であり、生検標本・手術標本(凍結保存あるいはパラフィン包埋された組織)は、包括同意ならびに当院の倫理委員会にて承認されたプロトコールに則り行われた。

C. 研究結果

1) -1: DNA収量は、Covaris, Qiagen共に差は認められなかった。次にそれぞれにカットオフ値を設定して増幅効果の比較をGAPDH領域ならびにGene desert領域をターゲットとして定量PCRを実施した。GAPDH領域ではCovaris, Qiagen共に増幅効率に顕著な変化は見られないが、Gene desert領域では、Covarisで抽出したDNAで約20倍の高増幅効率が認められた。

1) -2: TMAを用いた解析から、正常網膜と網膜芽細胞腫に共通して発現する蛋白CRXと正常網膜には発現せず、網膜芽細胞腫瘍特異的に発現する転写因子Xを同定した。

2) SOX10の免疫染色でUMは全例が陽性を示したのに対し、APCEでは全例が陰性を呈した。Cytokeratins, HMB45, Melan A, S100に関しては、APCEおよびUMで陽性例と陰性例が混在していた。3例(75%)のAPCEでBRAF変異が観察されたが、UMではBRAF変異は確認できなかった。10例(91%)のUMでGNAQとGNA11のいずれかの変異が観察されたのに対し、APCEでは両者の変異は認められなかった。

D. 考察

1) -1: 定量PCRの結果より、GAPDH領域の増幅効率は変わらなかったが、gene desert領域の増幅効率には大きく差がみられた。この結果から、Covaris社のkitを使用した場合、領域によらずPCRで増幅が可能な良質なDNAが得られていると考えられる。

1) -2: 現在転写因子Xが関与す希少腫瘍である網膜芽細胞腫では、現在これらの患者のジェノタイプ、フェノタイプ(発症までの期間、再発、転移、治療法と二次がんの部位、腫瘍の種類)のデータベース作成を進めている。これらの結果から腫瘍形成性、二次がん形成性の高い変異パターンの抽出を進める。

2) 毛様体色素性上皮腺癌の遺伝子変異と特異的な蛋白質発現パターンからSOX10蛋白分子の発現とB-RAF, GNAQ, GNA11遺伝子変異によって明瞭に区別される腫瘍であることを解明した。分子経路解明から革新的な鑑別診断、更には分子標的治療に繋げたい。

E. 結論

・Covarisで抽出したDNAの方が、増幅効率が良い。

収量の低下がなくDNA増幅のための酵素活性阻害の少ない抽出方法を確立した。

・TMAを用いた解析から、正常網膜と網膜芽細胞腫に共通して発現する蛋白CRXと正常網膜には発現せず、網膜芽細胞腫瘍特異的に発現する転写因子Xを同定した。

・色素性毛様体腺腫・腺癌と脈絡膜悪性黒色腫はSOX10蛋白分子の発現とB-RAF, GNAQ, GNA11遺伝子変異によって明瞭に区別される腫瘍であることを解明した。またSOX10の免疫染色が組織学的な鑑別に有用である。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Ito J, Suzuki S, Yoshida A, Mori T. Primary intraocular synovial sarcoma of the post retinal detachment operative state BMJ Case Rep. submitted.

2: Murakami N, Mori T, Yoshimoto S, Ito Y, Kobayashi K, Ken H, Kitaguchi M, Sekii S, Takahashi K, Yoshio K, Inaba K, Morota M, Sumi M, Itami J. Expression of EpCAM and prognosis in early-stage glottic cancer treated by radiotherapy. Laryngoscope. 2014 Nov;124(11):E431-6.

3: Sakeda A, Mori T, Suzuki S, Ochiai A. Adenocarcinoma of the pigmented ciliary epithelium. BMJ Case Rep. 2014 Jul 11;2014.

4: Yazawa M, Mori T, Nakayama Y, Kishi K. Basic study of soft tissue augmentation by adipose-inductive biomaterial. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2015 Jan;103(1):92-6.

5: Toriyama A, Mori T, Sekine S, Yoshida A, Hino O, Tsuta K. Utility of PAX8 mouse monoclonal antibody in the diagnosis of thyroid, thymic, pleural and lung tumours: a comparison with polyclonal PAX8 antibody. Histopathology. 2014 Oct;65(4):465-72

6: Watabe Y, Mori T, Yoshimoto S, Nomura T, Shibahara T, Yamada T, Honda K. Copy number increase of ACTN4 is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma. Cancer Med. 2014 Jun;3(3):613-22.

7: Arai E, Sakamoto H, Ichikawa H, Totsuka H, Chiku S, Gotoh M, Mori T, Nakatani T, Ohnami S, Nakagawa T, Fujimoto H, Wang L, Aburatani H, Yoshida T, Kanai Y. Multilayer-omics analysis of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome. Int J Cancer. 2014 Sep 15;135(6):1330-42.

8: Yagishita S, Horinouchi H, Yorozu T, Kitazono S, Mizugaki H, Kanda S, Fujiwara Y, Nokih

ara H, Yamamoto N, Mori T, Tsuta K, Sumi M, Tamura T. Secondary osteosarcoma developing 10 years after chemoradiotherapy for non-small-cell lung cancer. Jpn J Clin Oncol. 2014 Feb; 44(2):191-4.

9: Sato Y, Ojima H, Onaya H, Mori T, Hiraoka N, Kishi Y, Nara S, Esaki M, Shimada K, Kosuge T, Sugihara K, Kanai Y. Histopathological characteristics of hypervascular cholangiocellular carcinoma as an early stage of cholangiocellular carcinoma. Hepatol Res. 2014 Oct;44(11):1119-29.

2. 学会発表

1: Sukeda A, Mori T, Suzuki S et. al., SOX10 Expression and Genetic Alterations Distinguish Pigmented Ciliary Adenocarcinomas or Adenomas From Uveal Melanomas USCAP 2015 Annual meeting 2015 March 21

2: 第59回 日本口腔外科学会総会 シンポジウム「頭頸部における稀少がんの病理」2014 10月（幕張）

3: 第63回 日本病理学会関東支部会総会 レクチャー「早期口腔癌に対する新たな診断法の確立」2014 6月（東京）

4: 第103回日本病理学会総会口演 「頭頸部扁平上皮癌における治療方針の決定に有効なバイオマーカーの探索」 2014 4月（広島）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

遺伝子解析に関わる技術開発に関する研究

担当責任者 吉田輝彦 国立がん研究センター研究所遺伝医学研究分野分野長
坂本裕美 国立がん研究センター研究所遺伝医学研究分野ユニット長

研究要旨 眼腫瘍はいずれも希少がんであり、特に本邦症例に関する診断・治療法開発等の基盤となる分子病理学的・臨床疫学的研究の蓄積が乏しい。本分担研究では、我が国における眼腫瘍症例が集積する国立がん研究センター等で提供を受ける臨床試料・情報に対して、網羅的なゲノム・遺伝子解析を行い、発病の「鍵となる」分子・分子経路に関する基盤データの作成を行う。今年度の症例集積等に基づき、来年度から本格化するゲノム解析を高精度化するに当たっては、コピー数異常（CNA、Copy Number Alteration or Abnormality）の解析法の確立が待たれている。そこで全エクソーム塩基配列解析（WES）データに基づくCNA検出について、解析パイプラインの調査・検討・選択・至適化を進めた。具体的には先行研究で得られた固形がん組織のWESデータを用いて、最新鋭のCNA解析ツールであるSequenzaにおけるDepth of Coverage（リード数）分布のGC含量依存性の補正の至適化について検討した。解析の目的により適切な解像度を設定することで、WESデータからも、概ね安定したCNAデータが得られることが示唆された。

A. 研究目的

眼腫瘍はいずれも希少がんであり、特に本邦症例に関する診断・治療法開発等の基盤となる分子病理学的・臨床疫学的研究の蓄積が乏しい。本分担研究では、我が国における眼腫瘍症例が集積する国立がん研究センター等で提供を受ける臨床試料・情報に対して、網羅的なゲノム・遺伝子解析を行い、発病の「鍵となる」（driverとなる）分子・分子経路に関する基盤データの作成を行う。

また、そのために必須となる臨床・病理学的情報の整理と、それら情報の一部が集められる遺伝子外来（遺伝カウンセリング外来）ガイドライン項目の作成を行う。このようにして得られたデータ・知見は、診断・治療の新規分子標的の同定と、それらに対する臨床開発を通して、本研究全体の目的である眼腫瘍の治癒率の著明な改善ならびに、早期発見のための検査の適正化に貢献する。

研究全体の計画では、今年度の到達目標は、①後向き臨床情報・試料集積（200例）、② Tissue Micro Array作製、③ 長期保管FFPE試料から高精度ゲノム・エピゲノム解析法の確立であった。本分担研究では、①の作業の進行を睨みながら、並行して③に取り組んだ。

具体的には、今年度は、高精度ゲノム解析法の確立の一環として、全エクソーム塩基配列解析データに基づくコピー数異常（CNA、Copy Number Alteration or Abnormality）の解析について、バイオインフォマティクスツールの調査・検討・選択・至適化を進めた。現在の次世代シーケンサーによる解析は、SNV（一塩基変異）検出に最も威力を発揮するが、がん細胞におけるゲノム異常においてLOHや増幅などのCNAも重要な意味をもち、がん腫によってはSNVよりも「鍵となる」場合も認められる。しかしながらデータ解析algorithmがかなり固まってきた感のあるSNVやindelに比べて、シーケンサ

データに基づくCNA解析については確立した方法がなく、次年度以降、本研究において本格化する眼部希少がんの高精度ゲノム解析に向けて、その方法論の確立（到達目標③）の中での急ぎの課題となっている。

歴史的にゲノム網羅的にCNAを検出する技術は、染色体CGH（Comparative Genomic Hybridization）、BACによるアレイCGH、SNPによるアレイCGHと進化してきた。次世代シーケンサーによるCNA解析は、単一のデータでSNV・indelからCNAまでを網羅すれば効率的であること、SNPアレイCGHよりもdynamic rangeが広く、がん細胞でしばしば見られる高度な増幅においてもシグナルの飽和が起きにくいことなどの利点が考えられる。

現行の次世代シーケンサーによるゲノム解析の代表的アプリケーションとしては、全ゲノム塩基配列解析（WGS）と全エクソーム塩基配列解析（WES）がある。CNA解析としては、WGSの方が、ゲノム全領域を含むという点の他、リード数の分布が比較的均一であるという利点がある。一方、WESに比べてコストが高く、平均リード数が30x等、少なめである弱点がある。それに対してWESは、より低コストであるという点が最大の長所であり、世界的にも多くのデータが急速に蓄積され、公開されているものも多い。一方、当然ながらエクソン領域（capture部分）以外のデータは得られず、capture効率にも影響するリード数のバラツキが大きいというCNA解析には不利な点がある。

本研究では、研究リソース等を踏まえた現実的な解として、WGSとWESでは、後者を選択する予定であるため、WESデータに基づくCNA解析パイプラインの調査・評価を行うこととした。

B. 研究方法

WESデータに基づくCNA解析ツールについて、ま

ず文献調査を行い、現存の各種ツールの比較を行った。その結果選択したツールについて、論文で提供されているパラメーターの至適化を試みた。特に推定精度を左右するDOC (Depth of Coverage、リード数) が、各ゲノム領域のGC content依存性に変動する問題について検討した。その際、他研究事業 (医薬基盤研による「多層的疾患オミックス解析による創薬標的の網羅的探索を目指した研究」) で得られた腎がん100症例のWES (Agilent SureSelect 50Mb+Illumina HiSeq2000 sequencer) 及びSNPアレイ (Illumina Omni BeadChip) データを、ソフトウェア評価・調整用サンプルデータの一部として用いた。

(倫理面への配慮)

C. 研究結果およびD. 考察

調査の結果、最も新しいツールの一つであるSequenza (Favero F, et al. Ann Oncol 26(1):64-70, 2015) に注目した。SequenzaはIllumina SNPアレイ用のCNA解析アルゴリズムであるASCAT (Allele-Specific Copy number Analysis of Tumors) の影響を強く受けていると考えられた。たとえば、コピー数に対応するLRR (Log R Ratio、SNPアレイの場合はcluster中心からの距離で決まるが、WESの場合はDOC比に相当する) の平滑化のためのsegmentationでは、ASCATのプログラムそのものを利用している。一方、正常細胞の混入割合推定はCNA解析と表裏一体をなしており、がんのゲノム解析においては、極めて重要である。SequenzaはBayes法の考え方を取入れ、事後確率を最大にする確率によるモデル評価を行っている点が注目される。Sequenzaの性能については、SNPアレイ/ASCATによる解析結果との高い一致度が示されている。

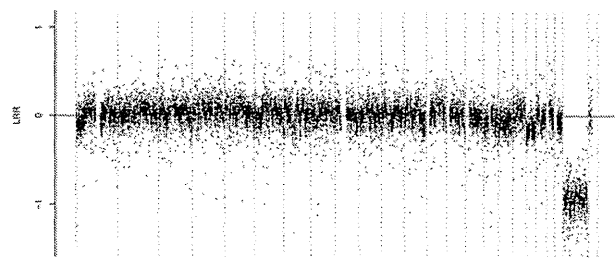
SequenzaによるCNA解析の基本となる入力データは、がん：非がん組織のDOC比である。その際、非がん組織としては個々の症例におけるがん：非がん組織の対が考えられるが、 $n=1$ のためのノイズも増える。CNVを無視することになるが、一定数の非がん組織のデータをプールすることによりバラツキの少ないデータを用いることも可能であり、本研究では後者を選択した。

ついでDOC比 (LRR) のGC含量依存性の補正について検討し、至適化を図った。デフォルトでは全ゲノムを50bp毎に区切った場合のGC含量データが用いられている。そこで非がん組織のサンプルデータを用いて、GC含量を算出する幅を50bpのみの場合 (下記図1)、50bp・5kb・500kbの3通りの幅の情報を組み合わせた場合 (図2) でLRRの補正効果を検討した。図は横軸左から右に、染色体1番から性染色体までが点線で区切って並べてある。縦軸は2を底とするLRR (DOC比) の対数表示である。

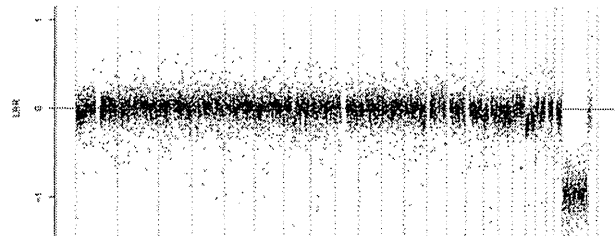
Sequenzaのデフォルト設定では、1Mbpと長目の領域でLRRを平均化し、ASCATのアルゴリズムによる平滑化に回している。解像度を犠牲にして安定した結果でがんゲノムの全体像を俯瞰し、腫瘍含量を評価した上で、解像度を上げて特定のCNAを探していく方法が考えられる。図は100kbでLRRを平均化している (個々のドットが100kbでの平均値を示す) が、X染色体と常染色体のコピー数差1に対して、十分ノイズ幅が小さくなっていることがわかる (男女を含

む非がん部組織プールに対して、男性の非がん部のDOC比を示している。なお、非がん部組織プールのデータを作る場合、男性の性染色体のデータは2倍にして、あくまでも2コピー状態にして集計している)。

【図1】



【図2】



一方、上記の図を見ると染色体19番のLRRにズレが認められている。反復配列の集中によるマップ効率低下が関係している可能性があるが、原因の究明と、対策が必要である。

E. 結論

今年度の眼部希少がんの症例集積等に基づき、来年度から本格化するゲノム解析を高精度化するに当たっては、CNAの解析法の確立が待たれている。そこでWESデータに基づく検出について、解析パイプラインの調査・検討・選択・至適化を進めた。具体的には先行研究で得られた固形がん組織のWESデータを用いて、最新鋭のCNA解析ツールであるSequenzaにおけるリード数分布のGC含量依存性の補正の至適化について検討したところ、多少解像度を犠牲にするが、安定したデータが得られることが示唆された。しかし一部の染色体領域についてはプログラムに未完成部分が残っているようであり、原因を究明中である。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

・Arai E, Sakamoto H, Ichikawa H, Totsuka H, Chiku S, Gotoh M, Mori T, Nakatani T, Ohnami S, Nakagawa T, Fujimoto H, Wang L, Aburatani H, Yoshida T, Kanai Y. Multilayer-omics analysis of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome. Int J Cancer. 2014 Sep 15;135(6):1330-42

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

新規診断マーカーに関する研究

担当責任者 芝田晋介 慶應義塾大学医学部生理学教室 専任講師

研究要旨 本分担研究においては、がん対策推進総合事業革新的がん医療実用化研究事業の一環として眼部希少がんに着目し、多数の患者検体由来の病理学のおよび遺伝子学的なスクリーニング解析を行い、眼部希少がんの発生多様性獲得機構のキーとなる分子とその分子経路を特定することを目指した。スクリーニングによって得られた新規候補分子について、特徴的な胚葉由来細胞に蛍光蛋白質を発現する遺伝子マウスを用いて、各発生段階の眼サンプルの膜蛋白発現分子を解析することを目指した。生検・手術材料のパラフィン包埋標本や、生腫瘍検体から採取分離された腫瘍細胞のスクリーニング解析によって得られた分子群に対して、眼発生学に基づく実験的な解析を実施して、新規分子マーカーの同定を目指した。

A. 研究目的

本分担研究の目的は、眼部希少がんの多数の患者検体由来の病理学のおよび遺伝子学的なスクリーニング解析結果によって得られた新規マーカー候補分子群の発現解析を、遺伝子改変マウスを用いて発生の各段階において実施し、新規の腫瘍病理マーカーの発生学的な起源や発現細胞の同定を行うことで、眼部希少がんの発生多様性獲得機構のキーとなる分子とその分子経路を特定することを目指した。

B. 研究方法

スクリーニングによって得られた新規候補分子について、特徴的な胚葉由来細胞に蛍光蛋白質を発現する遺伝子マウスを用いて、各発生段階の眼サンプルの関連分子の発現解析を行った。これまでの貴重な患者検体からの生検・手術材料のパラフィン包埋標本や、生腫瘍検体から採取分離された腫瘍細胞のスクリーニング解析によって得られた分子群に対して、眼発生学に基づく実験的な解析を実施した。

（倫理面への配慮）

なお、本分担研究においては、ヒト検体は直接的には解析に用いていない。動物実験については、動物実験愛護関連法令に準拠し、適切な実験計画の申請を行い、慶應義塾大学実験動物委員会における厳正な審査に基づいて承認を受けた上で実験を実施した。

動物実験計画書承認番号 No. 09091-(10)

また、遺伝子組み換え動物の使用についても、遺伝子組み換え実験に関連する法令に準拠し、適切な実験計画の申請を行い、慶應義塾大学遺伝子組み換え実験委員会における厳正な審査および承認を受け実験を実施した。

遺伝子組換え実験計画の承認番号 No. 16-098-40

C. 研究結果

生検・手術材料や、生腫瘍検体から採取・分離された腫瘍細胞を用いた解析結果から、SRY (sex determining region Y)-box 10 (以下SOX10) 遺伝子の発現亢進がキーであることが示唆された。また、さらに腫瘍の細胞膜表面蛋白発現パターンから、腫瘍の分化度を推定する関連分子を解析した結果、新たなSOX10を中心とした、神経堤細胞に関連する分子経路がクローズアップされることとなった。そこでSOX10遺伝子のマウスホモログであるSox10の蛍光レポーターマウスであるSox10-Venusを導入し、このマウスの眼部発生期における蛍光の発現変化を経時的に捉えて、どのような細胞種が発生途上で眼部においてSox10陽性になるのかを詳細に解析を行った。その結果、胎生10.5日目からSox10は将来の眼組織の原器であるOptic cupと呼ばれる胎仔組織のほぼすべての細胞に初期から強発現していることが分かった。また胎生14.5日目頃からは、特に眼周囲にSox10を強発現する細胞群が多数存在し、ほぼすべてのSox10陽性細胞群が頭部神経堤という第四の胚葉とも呼ばれる起源を持つ細胞群であることが分かった。

D. 考察

本解析により、新規の腫瘍病理マーカーの異常な発現亢進をマウスの発生初期段階の発現と照合して捉えることにより、腫瘍の分化度を推定することができる可能性がある。また、その新規マーカー分子とその下流のカスケード解析を積み重ねることで、場合によっては新規の臨床的な治療標的分子になる可能性を秘めていると考えている。

E. 結論

本研究グループにより、初めて同定された眼部の希少がんにおけるSOX10分子の発現上昇と、その下流候補因子の解析によって、今後の診断における新規のマーカー因子になりうる新たな候補を特定することができ、その因子のマウス胎生期における詳細な発現情報を得ることができた。