

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08742

研究課題名(和文) 網羅的遺伝子発現解析に基づく中皮腫診断の特異的マーカーの検出

研究課題名(英文) Detection of specific markers for accurate mesothelioma diagnosis based on comprehensive genome expression analysis

研究代表者

武島 幸男 (Takeshima, Yukio)

広島大学・医系科学研究科(医)・教授

研究者番号：70236462

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：網羅的遺伝子発現解析を用いて、上皮型中皮腫と肺腺癌で、そのmRNA発現の差が目立つ遺伝子を見出し、その遺伝子産物に対する抗体を用いて中皮腫、肺腺癌を染色して、それらの感度、特異度を明らかにすることによって、鑑別診断に有用な抗体を明らかにした。その結果、中皮腫に高発現を示した遺伝子として、DAB2, Intelectin-1, SOX6, PRG4, Annexin-8が指摘され、肺腺癌により高発現を示した遺伝子として、MUC4, MUC21が挙げられた。これらの新規マーカーは、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断に応用することが可能であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中皮腫の病理診断は各種抗体を用いて行うが、現在用いられている抗体のみでは鑑別診断が困難な場合がある。そこで、網羅的遺伝子発現解析を基本にして、鑑別診断に有用なマーカーを見いだした。その結果、中皮腫ではDAB2, Intelectin-1, SOX6, PRG4, Annexin-8が、肺腺癌ではMUC4, MUC21が発現が有意に高いことが明らかとなり、これら新規マーカーが、中皮腫と肺腺癌の鑑別診断に利用可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：By using whole genome expression analysis, we found gene showing differentially between epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma, and stained mesothelioma and adenocarcinoma tissues, and clarified sensitivity and specificity. As the result, in mesothelioma, DAB2, Intelectin-1, SOX6, PRG4, Annexin-8 gene and protein expression in mesothelioma, and MUC4, MUC21 in adenocarcinoma were significantly higher. These novel markers have higher sensitivity and specificity than conventional differential markers. Therefore, these novel markers could be used for differential diagnosis between mesothelioma and lung adenocarcinoma.

研究分野：人体病理学

キーワード：mesothelioma

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中皮腫は、アスベストへの環境・職業曝露と大きな関連のある腫瘍である。中皮腫は、その組織型は上皮型、二相型、肉腫型の3つに大別できるが、組織像が多彩なため、鑑別診断に難渋する 경우가少なからず存在する。通常は、上皮型については陽性マーカーとしてはカルレチニン、D2-40、WT-1が、陰性マーカーとしてはCEA、TTF-1、Napsin Aが汎用され、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断に応用されている。しかし、肺腺癌との鑑別では、これら抗体の感度・特異度は100%でなく、症例によっては鑑別困難な例が存在する。このためには現在の限られた鑑別診断マーカーのみでは不十分である。

2. 研究の目的

網羅的遺伝子発現解析を用いて、上皮型中皮腫と肺腺癌で、そのmRNA発現の差が顕著な遺伝子を見だし、その遺伝子産物に対する抗体を用いて中皮腫、肺腺癌を染色して、その感度、特異度を明らかにすることによって、鑑別診断に有用な抗体を明らかにする。

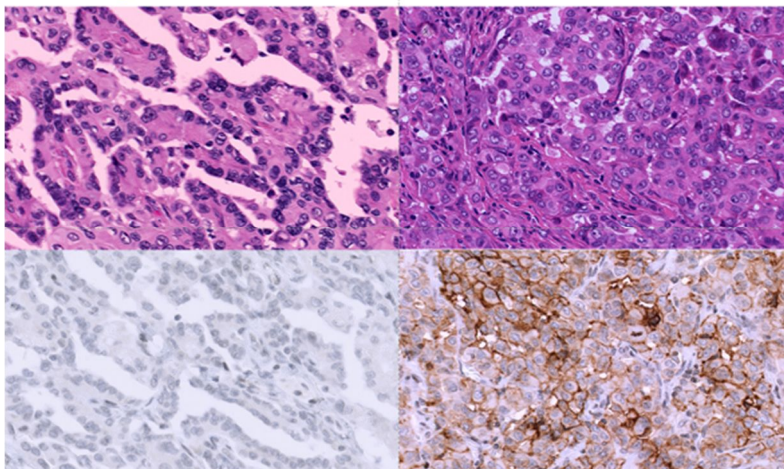
3. 研究の方法

上皮型中皮腫6例、肺腺癌6例のホルマリン固定パラフィン包埋材料からmRNAを抽出し、これを、AFFYMETRIX社のHuman Transcriptome 2.0 GeneChip Arrayを用いて、約22,829の転写産物の発現を解析し、その後、Gene Expression Console Softwareを用いて、両者間に発現の優位な差のあるmRNAを同定する。その後、優位な差のあったmRNAの翻訳物に対する抗体を用いて、上皮型中皮腫50例以上、肺腺癌50例以上で染色するとともに、従来から汎用されているカルレチニン、D2-40、WT-1などのマーカーについても染色して、新規マーカーの有用性を検証する。

4. 研究成果

Gene Expression Console Softwareを用いて、上皮型中皮腫と肺腺癌の間で発現の優位な差のあるmRNAは、426遺伝子が見いだされ、この内197遺伝子は中皮腫で高発現を示した。このうち、特に顕著に差があった遺伝子として、中皮腫に高発現を示した遺伝子として、DAB2、

MUC21 Expression in Epithelioid Mesothelioma and Lung Adenocarcinoma

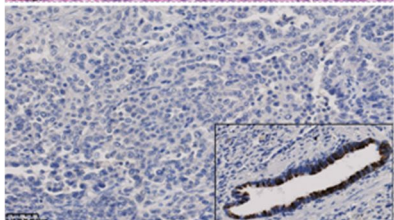
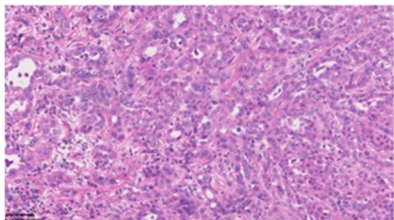


Epithelioid mesothelioma (-)

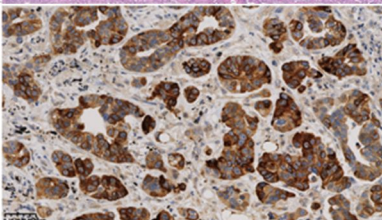
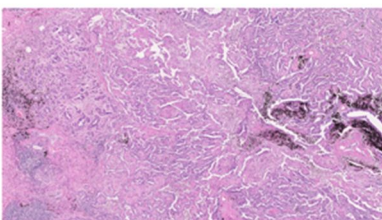
Lung Adenocarcinoma (+)

Intelectin-1, SOX6, PRG4, Annexin-8が指摘され、肺腺癌により高発現を示した遺伝子として、MUC4, MUC21が挙げられた。

MUC4 Expression in Epithelioid Mesothelioma and Lung Adenocarcinoma



Epithelioid mesothelioma (-)



Lung Adenocarcinoma (+)

これらの鑑別診断における感度・特異度は、DAB2:感度 80%、特異度 97%、Intelectin-1:感度 76%、特異度 100%、SOX6:感度 97%、特異度 91%、PRG4:感度 93%、特異度 93%、Annexin-8: 81%、特異度 81%、MUC4:100%、特異度 83.3%、MUC21: 感度 97%、特異度 97%となった。これら

の新規マーカーは従来から頻用されている鑑別診断マーカーと同等以上の感度・特異度を有し、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断に応用することが可能であることが示唆された。

以上より、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断には、DAB2, Intelectin-2, SOX6, PRG4, Annexin-1 が中皮腫の陽性マーカーとして、MUC4, MUC21 が肺腺癌の陰性マーカーとして応用されることが示され(下図) 今後実臨床の場で応用する予定である。

Recommendation Markers for Differential Diagnosis between Epithelioid Mesothelioma and Lung Adenocarcinoma

Positive marker
 Calretinin
 D2-40
 WT1
DAB2
Intelectin-1
SOX6, PRG4
Annexin-8

Negative marker
 CEA
 Claudin-4
 TTF-1
 Napsin A

MUC4
MUC21

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kai Yuichiro, Amaty Vishwa J, Kushitani Kei, Kambara Takahiro, Suzuki Rui, Tsutani Yasuhiro, Miyata Yoshihiro, Okada Morihito, Takeshima Yukio	4. 巻 74
2. 論文標題 Mucin 21 is a novel, negative immunohistochemical marker for epithelioid mesothelioma for its differentiation from lung adenocarcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 545-554
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/his.13775	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 Kuraoka M, Amaty VJ, Kushitani K, Mawas AS, Miyata Y, Okada M, Kishimoto T, Inai K, Nishisaka T, Sueda T, Takeshima Y.	4. 巻 41
2. 論文標題 Identification of DAB2 and Intelectin-1 as Novel Positive Immunohistochemical Markers of Epithelioid Mesothelioma by Transcriptome Microarray Analysis for its Differentiation From Pulmonary Adenocarcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1045-1052
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000000852	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 Mawas AS, Amaty VJ, Kushitani K, Kai Y, Miyata Y, Okada M, Takeshima Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 MUC4 immunohistochemistry is useful in distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-18545-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Amaty VJ, Kushitani K, Kai Y, Suzuki R, Miyata Y, Okada M, Takeshima Y.	4. 巻 31
2. 論文標題 Glypican-1 immunohistochemistry is a novel marker to differentiate epithelioid mesothelioma from lung adenocarcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 809-815
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/modpathol.2017.190	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 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 甲斐佑一郎, Amatya V.J., 櫛谷 桂, 宮田義浩, 岡田守人, 鈴木瑠偉, 武島幸男
2. 発表標題 PRG4とMUC21は上皮性中皮腫と肺腺癌の新規鑑別マーカーである
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 櫛谷 桂, 甲斐佑一郎, Amatya V.J., 鈴木瑠偉, 神原貴大, 武島幸男
2. 発表標題 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断におけるPRG4免疫組織化学的染色の有用性
3. 学会等名 第25回石綿・中皮腫研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Amatya V.J., Mawas A.S., Kushitani K., Kai Y., Miyata Y., Okada M. and Takeshima Y.
2. 発表標題 Diagnostic utility of MUC4 expression to differentiate epithelioid mesothelioma from lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma
3. 学会等名 IASLC 18th World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kuraoka M., Amatya V.J., Kushitani K., Mawas A.S., Miyata Y., Okada M., Kishimoto T., Inai K., Nishisaka T., Sueda T. and Takeshima Y
2. 発表標題 Identification of DAB2 and Intelection-1 as novel positive immunohistochemical markers of epithelioid mesothelioma
3. 学会等名 IASLC 18th World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kushitani K., Amatya V.J., (Okada Y., Katayama Y., Mawas A.S., Miyata Y., Okada M., Inai K., Kishimoto T. and Takeshima Y.
2. 発表標題 Usefulness of immunohistochemistry in the differential diagnosis of epithelioid mesothelioma and lung squamous cell carcinoma
3. 学会等名 IASLC 18th World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 神原貴大, Amatya V.J., 鈴木瑠偉, 甲斐佑一郎, 櫛谷 桂, 武島幸男
2. 発表標題 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断における新規マーカー-SOX6の有用性
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 櫛谷 桂, 甲斐佑一郎, Amatya V.J., 鈴木瑠偉, 神原貴大, 武島幸男
2. 発表標題 上皮型中皮腫と非小細胞性肺癌の鑑別診断におけるPRG4, Annexin-8免疫組織化学的染色の有用性
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019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
研究分担者	AMATYA VISHWA・J (Amatya Vishwa. Jeet) (90403625)	広島大学・医系科学研究科(医)・講師 (15401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	櫛谷 桂 (Kushitani Kei) (00508179)	広島大学・医系科学研究科(医)・助教 (15401)	