

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10812

研究課題名(和文) ウィルスの関与に着目した胸腺上皮性腫瘍発症メカニズムに関する探索的研究

研究課題名(英文) Investigation for mechanism of onset of thymic epithelial tumors with special reference to possible viral involvement

研究代表者

村川 知弘 (MURAKAWA, Tomohiro)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：50359626

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)：本研究は胸腺上皮性腫瘍の発症にウィルス既感染が関与している可能性を探り、発症機構を解明することを目標とした。

胸腺癌では既知のKIT遺伝子のほか、頭頸部扁平上皮癌での発現・予後因子として知られるPRAME遺伝子の発現増強が認められる事が明らかとなった。重症筋無力症非合併胸腺腫での網羅的遺伝子解析を行い、胸腺癌と胸腺腫では遺伝子発現プロファイルが異なることを観察した。PRAME遺伝子の発現は胸腺癌には認められるが胸腺腫では発現を殆ど認めないという結果であった。

胸腺上皮性腫瘍の発症にウィルスが関与していることの証明は当初の予想と異なり、本研究ではできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胸腺上皮性腫瘍の発症にウィルスが関与していることの証明は当初の期待とは異なり、本研究では直接的な証明はできなかった。

しかしながらPRAMEが胸腺癌特異的マーカーであり、免疫組織化学染色で既知の鑑別マーカーであるCD5やCD117と組み合わせることで胸腺癌のより正確な診断に有用であることが証明された。

胸腺癌と胸腺腫の鑑別診断は時に困難であることが知られており、PRAMEの免疫染色により鑑別診断制度を高め、ひいては治療選択に貢献できる可能性が本研究から示唆された。今後症例を蓄積しPRAMEのマーカーとしての有効性を検証していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we tried to reveal mechanism of onset of thymic epithelial tumors with special reference to possible viral involvement using comprehensive mRNA expression profiling of 770 immune-related genes.

Contrary to our expectation, no direct involvement of viral infection could be detected. However, we found that PRAME (Preferentially expressed antigen in melanoma) was specifically expressed in thymic squamous cell carcinoma, whereas thymomas displayed negative expression or focal and weak expression.

These results identified PRAME as a novel diagnostic marker differentiating thymic squamous cell carcinoma from thymoma.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：縦隔外科 胸腺上皮性腫瘍 胸腺癌 ウィルス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

日本胸腺研究会での 2835 症例の後ろ向きデータベース研究で胸腺癌手術症例 306 例中、71%は扁平上皮癌であったと報告された。外界との直接交通の無い胸腺に発生する胸腺癌の大多数がなぜ扁平上皮癌なのか？この発症機構の詳細は不明である。胸腺癌・胸腺腫などの胸腺上皮性腫瘍は、その発生頻度は年齢とともに増加することが知られており、後天的誘因の存在を疑わせる。胸腺上皮性腫瘍の発生誘因の一つとしてウイルスの関与が長年疑われてきた。中でも Epstein-Barr virus (EBV)は古くから注目されてきた。その一方で、human papillomavirus (HPV)、Poliovirus、human polyomavirus 7 (HPyV7)なども胸腺上皮性腫瘍の発生誘因としての可能性を指摘されている。ウイルス感染 T 細胞の胸腺への集積、局所での toll like receptor 7/9 シグナルの発現、antiviral interferon type I や慢性的炎症反応の誘導、という経路を介して重症筋無力症の発症に関与しているのではないかという報告もあり、これは胸腺腫瘍と重症筋無力症の合併を説明する説であり、マウス胸腺腫発症モデルの存在を併せ考えると興味深い。

### 2. 研究の目的

扁平上皮癌は口腔内・咽頭・喉頭・食道・肺・子宮頸部など体外との境界に近接した部位に多く発生することが知られており、病因としてウイルス感染など後天的・外的因子が誘因となっていると理解されている。胸腺癌の多くは扁平上皮癌であるが、胸腺は前縦隔に位置する臓器であり外界への直接の暴露は無く、他部位に発生する扁平上皮癌と比べて、解剖学的局在という観点からは例外的存在である。胸腺癌や胸腺腫などの胸腺上皮性腫瘍は、その発生頻度は年齢とともに増加することが知られているため、後天的誘因の存在を疑わせるが、病因の詳細は不明である。本研究は胸腺上皮性腫瘍の発症にウイルス既感染が関与している可能性を探り、発症機構を解明することを目標とした。

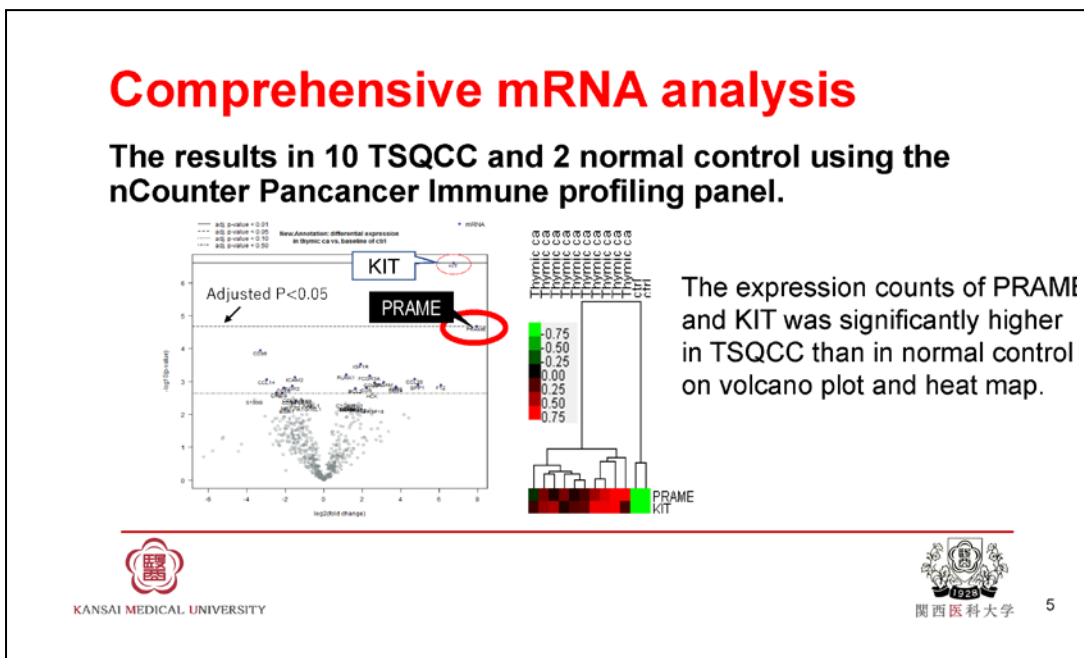
### 3. 研究の方法

関西医科大学附属病院の胸腺上皮性腫瘍切除検体(パラフィン包埋切片)を用いて、ウイルス関連遺伝子発現を測定した。解析は Nanostring 社の n Counter Analysis System を用いた網羅的解析で行った。胸腺癌、重症筋無力症合併胸腺腫、重症筋無力症非合併胸腺腫、胸腺過形成の 4 群において解析を行った。

症例の背景疾患の潜在的影響、手術による影響、固定・保存状態の影響などを相殺するため、胸腺癌・胸腺腫例では、同一検体内での非腫瘍部分である正常胸腺組織を内的コントロールとして設定した。有力な候補に関しては腫瘍内部での発現局在を免疫染色で確認した。

### 4. 研究成果

(1)胸腺癌では既知の KIT 遺伝子のほか、頭頸部扁平上皮癌での発現・予後因子として知られる PRAME 遺伝子の発現増強が認められる事が明らかとなった。



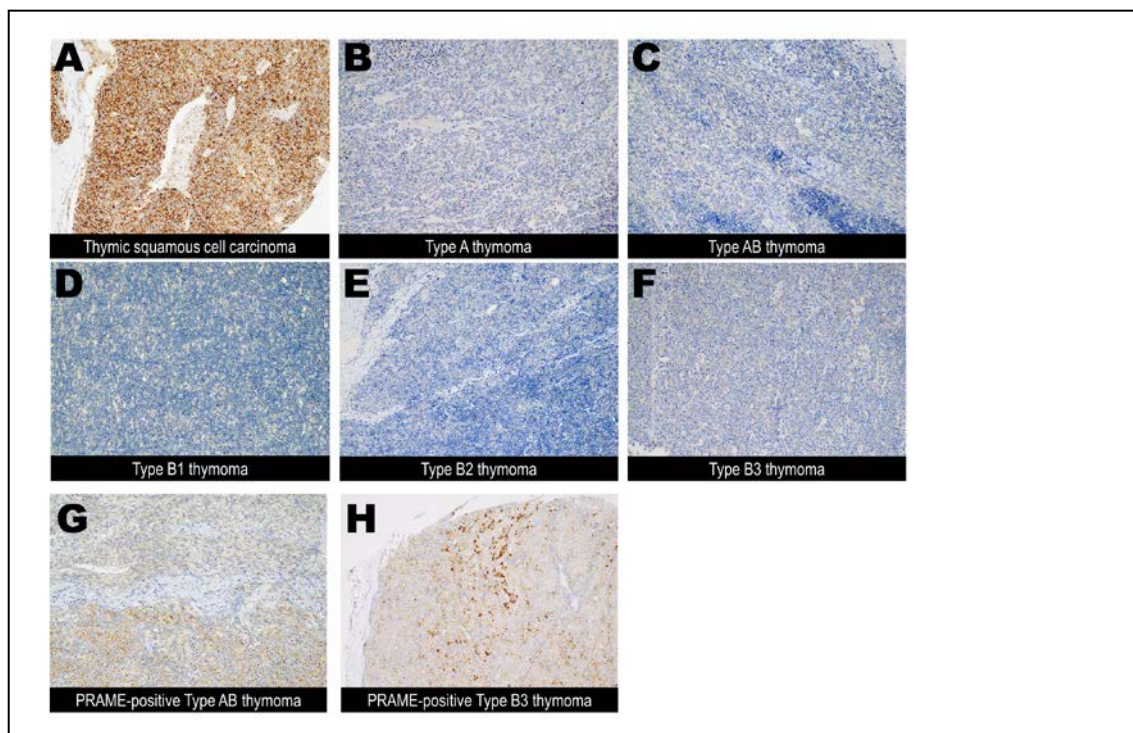
Top 10 genes that were differentially expressed in thymic squamous cell carcinoma compared with the normal control according to *p* values

	Log2 (fold change)	SE (log2)	<i>p</i> value	Adjusted <i>p</i> value
<i>KIT</i>	6.76	0.50	$2.51 \times 10^{-7}$	0.0011
<i>PRAME</i>	7.94	0.99	$2.15 \times 10^{-5}$	0.045
<i>CD36</i>	-3.31	0.51	0.00012	0.16
<i>IGF1R</i>	1.92	0.34	0.00029	0.31
<i>RUNX1</i>	1.17	0.23	0.00062	0.36
<i>FCGR3A</i>	2.39	0.47	0.00068	0.36
<i>ICAM2</i>	-1.5	0.30	0.00073	0.36
<i>CCL20</i>	4.73	0.97	0.00085	0.36
<i>CCL14</i>	-2.98	0.61	0.00087	0.36
<i>EPCAM</i>	3.12	0.66	0.0010	0.36

CCL, C-C motif chemokine ligand; EPCAM, epithelial cell adhesion molecule; FCGR3A, Fc gamma receptor 3A; ICAM2, intercellular adhesion molecule; IGF1R, insulin-like growth factor 1 receptor; PRAME, preferentially expressed antigen in melanoma; RUNX, Runt-related transcription factor.

(2) 重症筋無力症非合併胸腺腫での網羅的遺伝子解析を行い、胸腺癌と胸腺腫では遺伝子発現プロフィールが異なることを観察した。PRAME 遺伝子の発現は胸腺癌には認められるが胸腺腫では発現を殆ど認めないという結果であった。

Representative images of PRAME immunohistochemistry staining. (A) Thymic squamous cell carcinoma showed diffuse and strong expression of PRAME. (B–F) All types of thymomas showed negativity for PRAME with few exceptions. (G, H) PRAME-positive type AB and B3 thymoma showed focal and weak expression. PRAME, preferentially expressed antigen in melanoma.



*Immunophenotypic profiles of thymic squamous cell carcinomas and thymomas*

Histology	n (total)	PRAME- positive n (%)	KIT- positive n (%)	CD5- positive n (%)
TSQCC	12	12 (100%)	12 (100%)	12 (100%)
Thymoma				
Type A	8	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Type AB	21	3* (14.2%)	0 (0%)	0 (0%)
Type B1	22	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Type B2	17	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Type B3	12	2* (16.7%)	1 (8.3%)	1 (8.3%)
All types	80	5* (6.3%)	1 (1.3%)	1 (1.3%)
Normal control	3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

PRAME, preferentially expressed antigen in melanoma; TSQCC, thymic squamous cell carcinoma

\*The expression pattern of PRAME in type AB and B3 thymoma was focal and weak.

(3)胸腺上皮性腫瘍の発症にウイルスが関与していることの証明は当初の予想と異なり、本研究ではできなかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hino Haruaki, Saito Tomohito, Matsui Hiroshi, Taniguchi Yohei, Murakawa Tomohiro	4. 巻 57
2. 論文標題 Utility of Geriatric Nutritional Risk Index in patients with lung cancer undergoing surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Cardio-Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejcts/ezaa066	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 Yoshioka Saya, Ebisu Yusuke, Ishida Mitsuaki, Miyasaka Chika, Taniguchi Yohei, Murakawa Tomohiro, Tsuta Koji	4. 巻 48
2. 論文標題 Fine needle aspiration cytology of primary mediastinal synovial sarcoma: A case report with an immunocytochemical approach	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagnostic Cytopathology	6. 最初と最後の頁 499 ~ 501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dc.24407	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 Kaneda Hiroyuki, Nakano Takahito, Murakawa Tomohiro	4. 巻 19
2. 論文標題 Measurement of intrapleural pressure in patients with spontaneous pneumothorax: a pilot study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Pulmonary Medicine	6. 最初と最後の頁 267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12890-019-1038-9	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 Taniguchi Y, Fukumoto K, Matsui H, Saito T, Murakawa T.	4. 巻 67
2. 論文標題 Preoperative biopsy does not affect postoperative outcomes of resectable non-small cell lung	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 615-623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-019-01062-1	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 Nakano T, Kaneda H, Kawaura T, Kitawaki T, Murakawa T.	4. 巻 67
2. 論文標題 Ligating the pulmonary vein at the pericardial reflection is useful for preventing thrombus formation in the pulmonary vein stump after left upper lobectomy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 450-456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-018-1032-9	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 Kawashima M, Sato M, Murakawa T, Anraku M, Konoeda C, Hosoi A, Kakimi K, Nakajima J.	4. 巻 50
2. 論文標題 Role of Toll-like Receptor 4 Expressed by Fibroblasts in Allograft Fibrosis in Mouse Orthotopic Tracheal Transplantation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transplant Proc.	6. 最初と最後の頁 3863-3872.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2018.06.023.	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 Saito T, Tsuta K, Ishida M, Ryota H, Takeyasu Y, Fukumoto KJ, Matsui H, Taniguchi Y, Yanagimoto H, Kurata T, Murakawa T.	4. 巻 125
2. 論文標題 Comparative study of programmed cell death ligand-1 immunohistochemistry assays using 22C3 and 28-8 antibodies for non-small cell lung cancer: Analysis of 420 surgical specimens from Japanese patients.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Lung Cancer.	6. 最初と最後の頁 230-237.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2018.10.005.	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 Ebisu Y, Ishida M, Saito T, Murakawa T, Uemura Y, Tsuta K.	4. 巻 15(2)
2. 論文標題 Combined small cell carcinoma with giant cell carcinoma component of the lung: A case successfully diagnosed by computed tomography-guided fine-needle aspiration cytology.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncol Lett.	6. 最初と最後の頁 1907-1911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2017.7448.	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 -

1. 著者名 Tamai M, Ishida M, Ebisu Y, Okamoto H, Miyasaka C, Ohe C, Uemura Y, Saito T, Murakawa T, Tsuta K.	4. 巻 46(1)
2. 論文標題 Thymic enteric type adenocarcinoma: A case report with cytological features.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diagn Cytopathol.	6. 最初と最後の頁 92-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dc.23806.	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 Saito T, Tsuta K, Fukumoto KJ, Matsui H, Konobu T, Torii Y, Yokoi T, Kurata T, Kurokawa H, Uemura Y, Saito Y, Murakawa T.	4. 巻 3(1)
2. 論文標題 Combined small cell lung carcinoma and giant cell carcinoma: a case report.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Surg Case Rep.	6. 最初と最後の頁 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40792-017-0328-9.	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 -

1. 著者名 Murakawa T, Sato H, Okumura S, Nakajima J, Horio H, et al; Metastatic Lung Tumor Study Group of Japan.	4. 巻 51(6)
2. 論文標題 Thoracoscopic surgery versus open surgery for lung metastases of colorectal cancer: a multi-institutional retrospective analysis using propensity score adjustment.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Eur J Cardiothorac Surg.	6. 最初と最後の頁 1157-1163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejcts/ezx020.	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 Takahashi T, Kawashima M, Kuwano H, Nagayama K, Nitadori J, Anraku M, Sato M, Murakawa T, Nakajima J.	4. 巻 47(9)
2. 論文標題 A deep azygoesophageal recess may increase the risk of secondary spontaneous pneumothorax.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Surg Today.	6. 最初と最後の頁 1147-1152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-017-1482-1.	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10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Taniguchi Y, Ishida M, Saito T, Ryota H, Utsumi T, Maru N, Matsui H, Hino H, Tsuta K, Murakawa T
2. 発表標題 Cancer/testis antigen PRAME is a useful diagnostic marker and potential target for antigen-specific immunotherapy for thymic squamous cell carcinoma
3. 学会等名 10th International Thymic Malignancy Interest Group Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口洋平、石田光明、齊藤朋人、良田大典、内海貴博、丸夏未、松井浩史、日野春秋、蔦幸治、村川知弘
2. 発表標題 新たな胸腺扁平上皮癌特異的マーカーPRAMEの有用性
3. 学会等名 第39回日本胸腺研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷口洋平、石田光明、齊藤朋人、内海貴博、丸夏未、松井浩史、日野春秋、蔦幸治、村川知弘
2. 発表標題 新たな胸腺扁平上皮癌特異的マーカーPRAMEの有用性と臨床応用に向けて
3. 学会等名 第60回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saito T, Ryota H, Ishida M, Fukumoto K, Matsui H, Taniguchi Y, Yanagimoto H, Tsuta K, Murakawa T
2. 発表標題 Biologic profiling of pre-metastatic niche in completely resected pathological stage i non-small cell lung cancer.
3. 学会等名 19th World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2018年



1 . 発表者名 Saito T, Iwata R, Maruyama M, Nakano Y, Ofune K, Matsuda S, Kaibori M, Murakawa T, Hayashi M
2 . 発表標題 Biologic profiling of brain metastasis from nonsmall cell lung cancer.
3 . 学会等名 19th World Conference on Lung Cancer ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kawashima M, Sato M, Murakawa T, Anraku M, Konoeda C, Hosoi A, Kakimi K, Nakajima J
2 . 発表標題 Toll-like receptor 4 signaling affects myofibroblasts expression in mice tracheal allograft
3 . 学会等名 38th ISHLT annual meeting and scientific sessions ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Saito T, Tsuta K, Ishida M, Ryota H, Takeyasu Y, Fukumoto J, Matsui H, Taniguchi Y, Yanagimoto H, Yokoi T, Kurata T, Murakawa T
2 . 発表標題 Comparison Study of PD-L1 Immunohistochemistry Assays with 22C3 and 28-8: Analysis on Surgical Specimens of NSCLC.
3 . 学会等名 18th World Conference on Lung Cancer ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Matsui H, Taniguchi Y, Saito T, Tsuta K, Murakawa T
2 . 発表標題 A case of thymic cyst with&nbsp;papillary proliferation of ciliated epithelium.
3 . 学会等名 8th International Thymic Malignancy Interest Group Annual Meeting ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 Taniguchi Y, Kozuka T, Fukumoto K, Matsui H, Saito T, Murakawa T
2. 発表標題 Preoperative biopsy does not affect outcomes of resectable non-small cell lung cancer: a propensity score-matched analysis
3. 学会等名 31th European Association for Cardio-thoracic Surgery Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Saito T, Saito Y, Fukumoto KJ, Matsui H, Nakano T, Taniguchi Y, Kaneda H, Konobu T, Sakaida Nm Okamura A, Uemura Y, Tsuta K, Murakawa T
2. 発表標題 Clinical and pathological characteristics of spontaneous pneumothorax in women: a 25-year single-institutional experience.
3. 学会等名 CHEST Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 胸腺癌バイオマーカー及び胸腺腫瘍の予後予測マーカー	発明者 谷口洋平、齊藤朋人、石田光明、村川知弘、蔦幸治	権利者 関西医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、2018-227987	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

関西医科大学呼吸器外科学講座 <a href="http://www3.kmu.ac.jp/thorsurg/index.html">http://www3.kmu.ac.jp/thorsurg/index.html</a>
---

## 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	齊藤 朋人  (SAITO Tomohito)  (10548605)	関西医科大学・医学部・講師    (34417)	