

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：32809

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K15103

研究課題名（和文）肺孤立性毛細血管腫のmiRNA発現の検討による術前診断の新規バイオマーカーの開発

研究課題名（英文）Development of new biomarker via detecting miRNA expression in solitary pulmonary capillary hemangioma

研究代表者

橋本 浩次（Hashimoto, Hirotugu）

東京医療保健大学・医療保健学部・講師

研究者番号：30731575

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）：本研究では、胸部CTで肺の孤立性結節として無症候性に発見される肺孤立性毛細血管腫を術前に診断する目的で、術前新規バイオマーカーの探索が行われてきた。我々は、肺がんとの肺の血管・血管内病変に注目し、肺における血管・血管内病変での病理診断学的重要性を明らかにした上で、肺孤立性毛細血管腫が血管内皮マーカーであるERG陽性であり、かつ、血管周皮マーカーであるmyosin1 陽性細胞を有していることを明らかにした。そして、免疫組織化学でERK 1+2が内皮に発現していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、肺孤立性毛細血管腫の術前新規バイオマーカーの探索が行われてきた。肺孤立性毛細血管腫は胸部CTでスリガラス結節を呈するため、肺がんとの術前鑑別診断が困難である。本研究では術前新規バイオマーカーの同定は困難であったが、免疫組織化学的検索によってERK 1+2タンパクの高発現を見出した。この結果は、ERKのシグナル経路に異常がある可能性を示唆する結果であり、今後の肺孤立性毛細血管腫の病因解明とそれを用いたバイオマーカーの発見の礎となるものとなった。

研究成果の概要（英文）：This study, searching novel preoperative biomarkers, has been conducted for the purpose of preoperative diagnosis of solitary pulmonary capillary hemangioma, which is found asymptotically as a solitary nodule in the lung on chest CT. We focused on lung cancer and vascular/intravascular lesions in the lungs, and we clarified the importance of pathology of vascular/intravascular lesions in the lungs. Thereafter, we found that solitary pulmonary capillary hemangiomas are composed of both ERG-positive endothelium and myosin1 -positive perivascular cells. Then, immunohistochemical study revealed that ERK 1+2 is expressed in the endothelium.

研究分野：Diagnostic Pathology

キーワード：肺孤立性毛細血管腫 肺 毛細血管 血管腫 病理 ERK 1+2

1. 研究開始当初の背景

肺での毛細血管腫は希少である。これまでに Pulmonary Capillary Hemangiomatosis (PCH) という毛細血管増生が肺にびまん性に見られる比較的稀な病変が知られており、PCH は肺高血圧を引き起こし、呼吸不全から生体を死に至らしめる。一方で、肺に孤立性の腫瘤を形成する毛細血管腫である、Solitary Pulmonary Capillary Hemangioma (SPCH) は非常に稀な病変である。SPCH の外科手術例は、2006 年に本邦からの 2 例報告を最初とし[1]、2015 年までにわずか合計 9 例のみが報告されてきた[2]。我々は自験例 7 例の SPCH の臨床病理学的解析を行い、2016 年に以下の結果を報告した[2]。

SPCH は無症候性に肺がん検診などの胸部 CT にて発見される病変で、胸部 CT 上、スリガラス影を呈し、数年かけて数ミリ程度の非常に緩徐な増大を示す 2 cm 以下の良性結節性病変であるが、臨床的に肺がん等との鑑別が問題となる。この病変は術中に触れにくく、迅速診断でも標本作成が困難であり、部分切除予定の手術でも病変が部分切除術検体に含まれているかが確認できずに肺葉切除になることもある。

病変は肉眼的に茶褐色～暗褐色調の病変で、局所的なうっ血や血腫との区別は難しく、永久標本の作製時にも見落とされやすい。

組織学的には SPCH では著明に拡張した毛細血管が胞隔内で増生しており、細胞異型に乏しく、核分裂像もほとんどない。動脈内に毛細血管が進展するという SPCH に特徴的な組織像も見られる。

近年、胸部 CT による検診が肺がん死亡率の減少に寄与することが示されており[3]、今後、この検診法が世界的に増加することが予測される。これに伴い、肺スリガラス影の鑑別疾患の一つである SPCH の発見は増加することが予測される。しかし、SPCH は良性病変であり、術前に鑑別診断が可能となれば、手術は不要となる。現在、肺がん と SPCH の術前診断の鑑別に有益なマーカーは知られていない。

2. 研究の目的

我々は SPCH における miRNA の発現を網羅的に解析し、肺がんや正常組織との発現の違いを比較、検討することで、術前診断における新規バイオマーカーの開発につながると考えた。

SPCH は無症候性の病変であり、手術例の報告は CT による肺がん検診の普及した本邦で圧倒的に多い[2]。

本研究の目的は、(1)臨床病理学的に新しい疾患概念を分子メカニズムにて証明するとともに、(2)この結果を用いた新規バイオマーカーの検索により新規診断方法を確立して臨床応用を目指すものである。

3. 研究の方法

(1) 肺の血管病変における SPCH の位置づけの再評価

文献を再度検索し、近年の血管病変の中での SPCH の位置づけを再評価し、肺病変での血管性病変の重要性を再評価する。

(2) SPCH の症例集積

肺疾患や脈管病変の病理診断によって、SPCH や類縁疾患の症例を集積する。

(3) SPCH の免疫組織化学的検索

SPCH のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)標本を免疫組織化学によって検索する。

まず、血管内皮マーカーや血管腫周皮マーカーを検索する。具体的には、血管内皮マーカーとしては CD31、CD34、ERG を、血管周皮マーカーとしては -SMA、myosin 1 を検索する。

また、特定の遺伝子変異に比較的特異度の高いマーカーを免疫組織化学的に検索する。具体的には、BRAF V600E、ARID1A、PTEN、Glucose Transporter (GLUT)-1、Extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1+2 を検索する。

(4) SPCH の GNAQ、GNA14、GNA11 遺伝子に関する Sanger sequence 法の検索

SPCH の FFPE 標本をマクロダイゼクションによって病変部を切り取り、DNA を抽出し、GNAQ、GNA14、GNA11 の腫瘍化変異の hot spot である exon4、5 を polymerase chain reaction (PCR) 法で増幅し、Sanger sequence 法で解析する。

4. 研究成果

(1) 肺の血管病変における SPCH の位置づけの再評価

文献的に肺の間葉系腫瘍を再検討することで、血管関連腫瘍と血管非関連腫瘍に分けて考えると肺の間葉系腫瘍を解釈しやすいことを明らかにした[4]。この血管関連腫瘍の中には、類上皮血管内皮腫のような内皮の増殖より成る腫瘍や、グロームス腫瘍や血管周囲類上皮細胞腫瘍のような血管内皮の周囲の細胞の増殖より成る腫瘍があることを明確にした。SPCH は血管関連

腫瘍に分類されるが、血管内皮のみの増殖であるか、それ以外の増殖を伴った病変なのかが検討課題となり、後述の免疫組織化学的検討を行うこととなった。

また、近年、肺の術後に肺動脈断端に血栓が出来やすいことが分かってきているが、血栓の発生機序によって組織形態が異なることを示した[5]。これは肺の腫瘍における血管病理の重要性を示すことにもなった。

(2) SPCH の症例集積

研究期間中も SPCH の集積を継続し、2 例の SPCH を集積することに成功した[6,7]。この中で、胸部 CT ではすりガラス結節の大きさが大きくなるのみならず、中心の充実性成分の濃度が経時的に濃くなっていくなどの質的变化を伴うことがあり、画像診断による術前診断の難解性を再認識する結果となった[6]。また、SPCH はホルマリン固定後、肉眼的に茶褐色～暗褐色調の病変を呈するが、切り出し時に繰り返し洗い流し、水に浮かせることで、中心部が白色調を呈してくることを見出し、切り出し時に SPCH の病変部と術中にできた血腫を肉眼的に鑑別する手法を発見した[7]。

症例の集積において、拡張した血管の増殖性病変という点や血管腔内に巨核球が見られることがあるという点で、anastomosing hemangioma との類似性を見出した。Anastomosing hemangioma は成人に見られることが多く、多くの病変は 1～2cm 大であり、様々な臓器に発生することが知られている。Anastomosing hemangioma は、組織学的には、一層の血管内皮により構成されており、しばしば血管腫の血管腔内に巨核球が見られる。

(3) SPCH の免疫組織化学的検索

免疫組織化学的に SPCH で発現するタンパクの解析を行ったところ、CD31、CD34、ERG といった血管内皮マーカーの発現に加え、 α -SMA や myosin 1 といった血管周皮マーカーの発現も確認された[6,7]。

いずれの SPCH も BRAF V600E や GLUT-1 は陰性であり、ARID1A の発現の陰転化も確認できなかった。PTEN は染色不良で評価困難だった。一方で、非病変部に比して SPCH の血管内皮に ERK 1+2 が高発現していることを見出した。これにより、ERK のシグナル経路に異常がある可能性が示唆された。前述の、anastomosing hemangioma との類似性と anastomosing hemangioma が GNAQ、GNA14、GNA11 の変異を有していること[8-10]、GNAQ、GNA14、GNA11 の変異が anastomosing hemangioma に特異的でないことから[11]、SPCH においても GNAQ、GNA14、GNA11 の変異の検索が有用な可能性が推察され、後述の GNAQ、GNA14、GNA11 遺伝子に関する Sanger sequence 法による解析を行うこととなった。

(4) SPCH の GNAQ、GNA14、GNA11 遺伝子に関する Sanger sequence 法の検索

SPCH から DNA を採取し、GNAQ、GNA14、GNA11 遺伝子の腫瘍化変異の hot spot である exon4、5 に関して検索した。GNA11 遺伝子の exon5 は全例で変異が確認されなかった。GNAQ、GNA14 の exon5 の解析が可能であった症例は 1 例のみで、その症例では変異は確認されなかった。遺伝子、GNAQ、GNA14、GNA11 遺伝子の exon4 は全例、解析不能であった。

PCR の条件設定や遺伝子の抽出条件、そもそもの DNA の保管状態などの影響があったと推察されるため、今後は適切な実験条件を検討していくこととした。

<引用文献>

1. Fugo K, et al. Solitary capillary hemangioma of the lung: report of 2 resected cases detected by high-resolution CT. *Am J Surg Pathol*. 2006; 30: 750-753.
2. Hashimoto H, et al. Solitary Pulmonary Capillary Hemangioma of Adult Cases: Clinicopathologic Characteristics as an Unrecognized Entity. *Am J Surg Pathol*. 2016; 40: 1380-1389.
3. National Lung Screening Trial Research Team; Aberle DR, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011; 365: 395-409.
4. Hashimoto H, et al. Mesenchymal tumors of the lung: diagnostic pathology, molecular pathogenesis, and identified biomarkers. *J Thorac Dis*. 2019; 11(Suppl 1): S9-S24.
5. Hashimoto H, et al. Cerebral Thromboembolism after Lobectomy for Lung Cancer: Pathological Diagnosis and Mechanism of Thrombus Formation. *Cancers (Basel)*. 2019; 11: 488.
6. Hashimoto H, et al. Progressively increasing density of the solid center of a ground-glass nodule in a solitary pulmonary capillary hemangioma: A case report. *Pathol Int*. 2020; 70: 568-573.
7. Hashimoto H, et al. Grayish-white component emerging in a dark-brownish nodule of solitary pulmonary capillary hemangioma after blood drainage and water immersion. *Pathol Int*. 2021; 71: 639-642.
8. Bean GR, et al. Recurrent GNAQ mutations in anastomosing hemangiomas. *Mod Pathol*.

2017; 30: 722-727.

9. Bean GR, et al. Recurrent GNA14 mutations in anastomosing haemangiomas. *Histopathology*. 2018; 73: 354-357.
10. Liao JY, et al. GNA11 joins GNAQ and GNA14 as a recurrently mutated gene in anastomosing hemangioma. *Virchows Arch*. 2020; 476: 475-481.
11. Joseph NM, et al. Frequent GNAQ and GNA14 Mutations in Hepatic Small Vessel Neoplasm. *Am J Surg Pathol*. 2018; 42: 1201-1207.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11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 Hashimoto Hirotsugu, Matsumoto Jun, Kusakabe Masashi, Miura Sakiko, Amano Yoko, Fukumoto Kento, Hiyama Noriko, Morikawa Teppei	4. 巻 71
2. 論文標題 Grayish white component emerging in a dark brownish nodule of solitary pulmonary capillary hemangioma after blood drainage and water immersion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 639 ~ 642
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.13133	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 Kondo Shiori, Hashimoto Hirotsugu, Nakajima Kentaro, Miura Sakiko, Sakuma Jun, Fukuda Izumi, Noie Tamaki, Morikawa Teppei	4. 巻 72
2. 論文標題 Insulin like growth factor II producing colonic carcinoma presenting with non islet cell tumor hypoglycemia: An autopsy report revealing neuroendocrine differentiation in the metastatic foci and literature review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 193 ~ 199
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.13205	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 Hashimoto Hirotsugu, Horiuchi Hajime, Miura Sakiko, Takayanagi Shunya, Gunji Toshiaki, Morikawa Teppei	4. 巻 29
2. 論文標題 Clinicopathologic Characteristics of Esophageal Ectopic Sebaceous Glands: Chronological Changes and Immunohistochemical Analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 378 ~ 384
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1066896920951844	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 Hashimoto Hirotsugu, Koda Hiroto, Horiuchi Hajime, Takayama Maho, Toyoda Junya, Momiyama Masashi, Harihara Yasushi, Morikawa Teppei	4. 巻 28
2. 論文標題 Colonic Neurogenic Lesion: An Admixture of Mucosal Neurofibromatous Lesion and Submucosal Ganglioneuromatous Lesion With Transition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 563 ~ 568
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1066896920904158	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 Dejima Mihiro、Hashimoto Hirotsugu、Sasajima Yuko、Nomura Nao、Sugita Masatoshi、Morikawa Teppei	4. 巻 46
2. 論文標題 Uterine cervical squamous cell carcinoma with reactive multinucleated giant cells expressing cluster of differentiation 204: A case report and literature review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 2174 ~ 2178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14404	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 橋本浩次、永谷昭義、奥山力也、森川鉄平	4. 巻 39
2. 論文標題 術中迅速検体の取り扱いと美しい凍結標本の作製	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 病理と臨床	6. 最初と最後の頁 10 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Hashimoto Hirotsugu、Matsumoto Jun、Murakami Mizuho、Hiyama Noriko、Yamaguchi Hirokazu、Kusakabe Masashi、Horiuchi Hajime、Morikawa Teppei	4. 巻 70
2. 論文標題 Progressively increasing density of the solid center of a ground glass nodule in a solitary pulmonary capillary hemangioma: A case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 568 ~ 573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12945	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 Hashimoto Hirotsugu、Usui Genki、Tsugeno Yuta、Sugita Keisuke、Amori Gulanbar、Morikawa Teppei、Inamura Kentaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Cerebral Thromboembolism after Lobectomy for Lung Cancer: Pathological Diagnosis and Mechanism of Thrombus Formation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 488 ~ 488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11040488	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 Hashimoto Hirotsugu, Tsugeno Yuta, Sugita Keisuke, Inamura Kentaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Mesenchymal tumors of the lung: diagnostic pathology, molecular pathogenesis, and identified biomarkers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Disease	6. 最初と最後の頁 S9 ~ S24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd.2018.12.04	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 Hashimoto Hirotsugu, Usui Genki, Takita Maiko, Morikawa Teppei	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 A Case of Cecal Lymphangioma Presenting a Unique Gross Appearance: A Cecal Pedunculated Polyp Showing a Submucosal Polycystic Lesion on a Cut Surface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1.0669E+14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1066896918823072	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 Asahina Yuichi, Hashimoto Hirotsugu, Aihara Makoto, Noie Tamaki, Morikawa Teppei	4. 巻 31
2. 論文標題 Impact of Neoadjuvant Chemotherapy on SATB2 Expression in Colorectal Carcinomas: SATB2 Positivity is Preserved in Most Cases, but Down-Expressed in Effective Cases of Chemotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 46 ~ 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/10668969221088881	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 Usui Genki, Hashimoto Hirotsugu, Uchibori Yusuke, Usuki Kensuke, Horiuchi Hajime, Morikawa Teppei	4. 巻 43
2. 論文標題 Myocardial calcification in a patient with B-lymphoblastic leukemia accompanied by tumor lysis syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cardiovascular Pathology	6. 最初と最後の頁 107146 ~ 107146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.carpath.2019.07.005	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1．発表者名 橋本浩次、堀内啓、森川鉄平
2．発表標題 Solitary pulmonary capillary hemangiomaの臨床病理学的特徴
3．学会等名 平成30年・城南病理-SPS合同懇談会
4．発表年 2018年

1．発表者名 橋本浩次、臼井源紀、内堀雄介、香田弘知、増田芳雄、臼杵憲祐、堀内啓、森川鉄平
2．発表標題 B-リンパ芽球性白血病の治療に伴った腫瘍崩壊症候群によって発症したと考えられる心筋石灰化症の一例
3．学会等名 第84回 日本病理学会関東支部学術集会
4．発表年 2019年

1．発表者名 橋本浩次、笹島ゆう子、香田弘知、増田芳雄、杉田匡聡、堀内啓、森川鉄平
2．発表標題 漿液粘液性腺腫の臨床病理学的特徴
3．学会等名 第109回・日本病理学会総会
4．発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Pathologyoutlines.com https://www.pathologyoutlines.com/topic/lungnontumorhistology.html
--

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