

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18224

研究課題名（和文）タイト結合分子に着目した悪性中皮腫の新規診断・治療標的の同定

研究課題名（英文）Identification of new diagnostic and therapeutic targets for malignant mesothelioma focusing on tight junction molecules

研究代表者

渡部 晶之（Watanabe, Masayuki）

福島県立医科大学・医学部・助手

研究者番号：80834324

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：悪性胸膜中皮腫は悪性度が高く予後不良な疾患です。迅速でより確実な診断を行うためには、複数の診断マーカーが必要となります。本研究では、細胞間タイト結合を形成するCLDN（Claudin）に着目し、25種類あるCLDNからCLDN15が中皮細胞に高発現していることを発見しました。また、CLDN15を認識するモノクローナル抗体を作製し、CLDN15が悪性胸膜中皮腫の新規診断マーカーとして有用かどうかの検討を行いました。悪性胸膜中皮腫の陽性率は83%と高く、CLDN15は悪性胸膜中皮腫診断における新規診断マーカーとして有用であり、臨床現場でも使用できる可能性を示すことができました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性胸膜中皮腫は種々の悪性腫瘍に類似した多彩な組織像を示すため、診断に難渋することがあります。特に浸潤性肺腺癌とは、臨床的にも病理組織所見にも類似していることがあります。しかし、両者の治療方法はまったく異なるため、より迅速でより正確な診断が必要となります。既存のマーカーは偽陽性や偽陰性を示すことがあり、新たなマーカーの開発が求められています。本研究でCLDN15が悪性胸膜中皮腫の新規診断マーカーとして有用であることを示せたことで、悪性胸膜中皮腫の診断が今までより速く正確に行うことが可能となり、早期治療介入が可能となることが予想されます。

研究成果の概要（英文）：Malignant pleural mesothelioma is a highly malignant disease with a poor prognosis. Multiple diagnostic markers are needed for a quicker and more reliable diagnosis. In this study, we focused on CLDN (Claudin), which forms tight junctions between cells, and discovered that CLDN15 is highly expressed in medium cells from 25 types of CLDN. We also produced a monoclonal antibody that recognizes CLDN15 and investigated whether CLDN15 is useful as a new diagnostic marker for malignant pleural mesothelioma. The positive rate of malignant pleural mesothelioma was as high as 83%, and CLDN15 was useful as a new diagnostic marker in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma and could be used in clinical practice.

研究分野：胸部外科

キーワード：悪性胸膜中皮腫 タイト結合 Claudin モノクローナル抗体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

- (1) 悪性胸膜中皮腫は悪性度が高い希少がんであり，悪性中皮腫全体の 85.5%を占める．悪性胸膜中皮腫患者の生存期間中央値は 9-12 ヶ月とされており予後不良な疾患である．
- (2) 悪性胸膜中皮腫には，上皮型，肉腫型，それらが混在した二相型といった組織型が存在し，種々の悪性腫瘍に類似した多彩な組織像を示すため診断に難渋する．特に臨床症状や病理組織所見は浸潤性肺腺癌に類似していることがある．しかし，両者は治療法がまったく異なるため，迅速でより確実に鑑別診断する必要がある．
- (3) 悪性胸膜中皮腫の診断には複数のマーカーによる免疫染色を行い，陽性マーカー 2 種類が陽性で，陰性マーカー 2 種類が陰性であることを確認しなくてはならないが，既存のマーカーは偽陽性や偽陰性を示すことがあり，新たなマーカーの開発が求められている．

### 2. 研究の目的

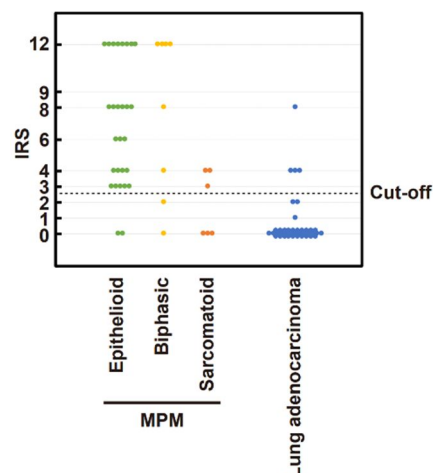
本研究では，細胞間タイト結合を形成する CLDN (Claudin) ファミリーに着目し，CLDN が悪性胸膜中皮腫の新規診断マーカーとして有用かどうかの検討を目的とした．

### 3. 研究の方法

- (1) 25 種類ある CLDN をスクリーニングし，CLDN15 が中皮細胞に高発現していることを発見した．
- (2) ラットを用いて CLDN15 を選択的に認識するモノクローナル抗体を作製した．
- (3) 抗 CLDN15 抗体を用いて悪性胸膜中皮腫患者の組織を免疫染色し，感度および特異度について既存のマーカーと比較した．

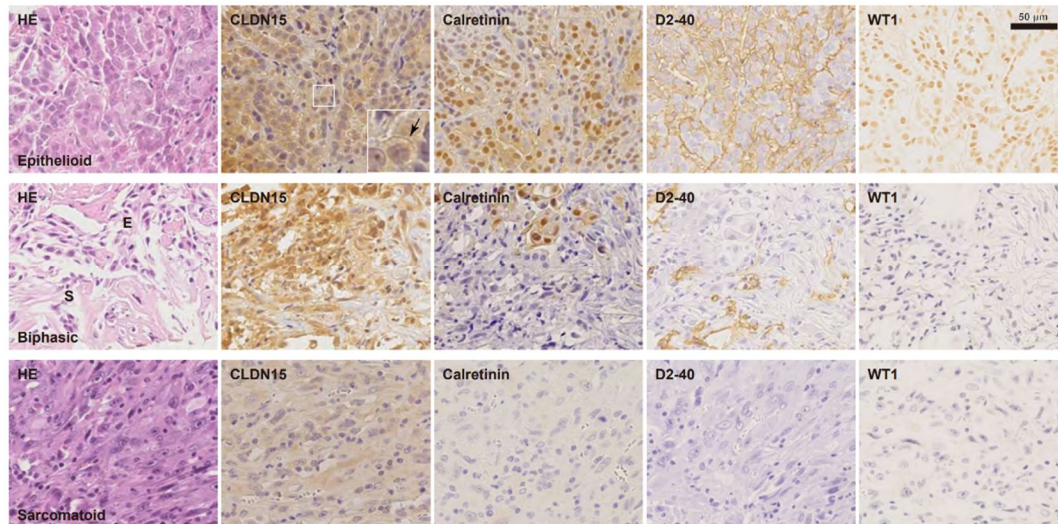
### 4. 研究成果

- (1) 悪性胸膜中皮腫と診断された 42 例の組織を，それぞれ CLDN15，および既存の悪性胸膜中皮腫の陽性マーカーである，カルレチニン，WT-1，D2-40 を用いて免疫染色を行い，Immunoreactive score (IRS) 法を用いて半定量化した．
- (2) CLDN15 の陽性率は 83%であり，既存の陽性マーカーであるカルレチニン (81%)，WT-1 (50%)、D2-40 (81%) と比較しても同等以上であった．
- (3) 組織型別にみると，CLDN15 は上皮型で 93%，二相型で 75%，肉腫型で 50%の陽性率であり，既存のマーカーでも同様の傾向がみられた．
- (4) 悪性胸膜中皮腫と鑑別診断を要する浸潤性肺腺癌 50 例の組織を CLDN15 で免疫染色したところ 4 例 (8%) で陽性であった．その特異性は，他のマーカー (カルレチニン：10%，WT-1：2%，D2-40：0%) と同程度であった．
- (5) また，24 種類の原発性腫瘍の組織マイクロアレイを用いて，非中皮腫腫瘍における CLDN15 の発現を調べた．CLDN15 はわずか 12 / 327 例 (4%) でのみ陽性であった．
- (6) 悪性胸膜中皮腫における CLDN15 のタンパク質発現を調べた報告はこれまでになく，



本研究では新たに作製した抗ヒト CLDN15 モノクローナル抗体を用いて、悪性胸膜中皮腫組織において CLDN15 タンパク質が高レベルで検出されることを初めて明らかにした。

(7) さらに、肺腺癌を含む多くの腫瘍で CLDN15 は陰性であることを明らかにし、CLDN15 は悪性胸膜中皮腫診断における新規診断マーカーとして有用であり、臨床現場でも使用できる可能性があることを示した。



**Table 2.** Expression of CLDN15 and other markers for MPM in three types of MPMs and lung adenocarcinoma tissues.

MPM type	CLDN15	Calretinin	WT-1	D2-40	Total
Epithelioid	26 (93%)**	26 (93%)**	14 (50%)	24 (86%)*	28
Biphasic	6 (75%)	6 (75%)	5 (63%)	6 (75%)	8
Sarcomatoid	3 (50%)	2 (33%)	2 (33%)	4 (67%)	6
Total	35 (83%)*	34 (81%)*	21 (50%)	34 (81%)*	42
Lung adenocarcinoma	4/50	4/40	1/40	0/40	
Specificity	92%	90%	98%	100%	

\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.005$  higher than the sensitivity of WT-1. Other pairs were not significantly different.

MPM type	CL15 or Cal	CL15 or WT1	CL15 or D2-40	Cal or WT1	Cal or D2-40	WT1 or D2-40
Epithelioid	28 (100%)	27 (96%)	28 (100%)	27 (96%)	27 (96%)	26 (93%)
Biphasic	7 (88%)	7 (88%)	7 (88%)	7 (88%)	8 (100%)	8 (100%)
Sarcomatoid	4 (67%)	4 (67%)	5 (83%)	3 (50%)	5 (83%)	5 (83%)
Total	39 (93%)	38 (90%)	40 (95%)	37 (88%)	40 (95%)	39 (93%)
Lung adenocarcinoma	7/40	5/40	4/40	5/40	4/40	1/40
Specificity	83%	88%	90%	88%	90%	98%

No pairs were significantly different.

MPM type	CL15 & Cal	CL15 & WT1	CL15 & D2-40	Cal & WT1	Cal & D2-40	WT1 & D2-40
Epithelioid	24 (71%)	13 (46%)†	22 (79%)	13 (46%)†	23 (82%)*	12 (43%)†
Biphasic	5 (63%)	4 (50%)	5 (63%)	4 (50%)	4 (50%)	3 (38%)
Sarcomatoid	1 (17%)	1 (17%)	2 (33%)	1 (17%)	1 (17%)	1 (17%)
Total	30 (71%)	18 (43%)	29 (69%)*	18 (43%)	28 (67%)	16 (38%)†
Lung adenocarcinoma	1/40	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40
Specificity	98%	100%	100%	100%	100%	100%

†,  $p < 0.05$  lower than CL15&Cal; \*,  $p < 0.05$  higher than WT1&D2-40. Other pairs were not significantly different.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Masayuki Watanabe, Tomohito Higashi, Kana Ozeki, Atsuko Y. Higashi, Kotaro Sugimoto, Hayato Mine, Hironori Takagi, Yuki Ozaki, Satoshi Muto, Naoyuki Okabe, Yuki Matsumura, Takeo Hasegawa, Yutaka Shio, Hiroyuki Suzuki, Hideki Chiba	4. 巻 11
2. 論文標題 CLDN15 is a novel diagnostic marker for malignant pleural mesothelioma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12554
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-91464-0	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 渡部晶之, 山口大輝, 猪俣頌, 山口光, 尾崎有紀, 武藤哲史, 岡部直行, 松村勇輝, 塩豊, 鈴木弘行
2. 発表標題 当院における降下性壊死性縦隔炎の3例についての検討
3. 学会等名 第72回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡部晶之, 猪俣頌, 山口光, 尾崎有紀, 武藤哲史, 岡部直行, 松村勇輝, 塩豊, 鈴木弘行
2. 発表標題 術後再発LCNECに対するプラチナ併用療法 + ICIによる治療効果の検討
3. 学会等名 第62回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡部晶之, 東智仁, 高木玄教, 尾崎有紀, 武藤哲史, 岡部直行, 松村勇輝, 長谷川剛生, 塩豊, 杉本幸太郎, 千葉英樹, 鈴木弘行
2. 発表標題 悪性胸膜中皮腫診断におけるClaudin15 (CLDN15) の有用性
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部晶之, 東智仁, 山口光, 峯勇人, 高木玄教, 尾崎有紀, 武藤哲史, 岡部直行, 長谷川剛生, 塩豊, 杉本幸太郎, 千葉英樹, 鈴木弘行
2. 発表標題 悪性胸膜中皮腫診断における抗Claudin15抗体の有用性
3. 学会等名 第37回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部晶之, 東智仁, 高木玄教, 尾崎有紀, 武藤哲史, 岡部直行, 長谷川剛生, 塩豊, 杉本幸太郎, 千葉英樹, 鈴木弘行
2. 発表標題 悪性胸膜中皮腫診断における 抗Cl dn15抗体の有用性
3. 学会等名 第36回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masayuki Watanabe, Tomohito Higashi, Hironori Takagi, Yuki Ozaki, Satoshi Muto, Naoyuki Okabe, Takeo Hasegawa, Yutaka Shio, Kotaro Sugimoto, Hideki Chiba, Hiroyuki Suzuki
2. 発表標題 Characterization of CLDN15 as a new diagnostic marker for malignant pleural mesotheliomas.
3. 学会等名 2019 World Conference on Lung Cancer (国際学会)
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
---------------------------	-----------------------	----

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