

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16378

研究課題名（和文）肺小細胞癌における新たな診断マーカーの探索的研究

研究課題名（英文）Exploratory study of new diagnostic markers in small cell lung cancer

研究代表者

榊原 里江（Sakakibara, Rie）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：80827288

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：原発性肺癌における切除検体の INSM1 の蛋白発現は、肺腺癌では10%以下、肺扁平上皮癌では10%以下で陽性であり、SCLCでは90%以上が陽性、LCNECでは60%以上が陽性、カルチノイドでは90%以上が陽性であり、神経内分泌腫瘍に INSM1 が特異的に発現していることが示唆された。細胞株の実験において INSM1 は腺癌細胞株では免疫組織化学染色法・ウエスタンブロット法ともにほぼ全例陰性であったが小細胞肺癌株では INSM1 は免疫組織化学染色法・ウエスタンブロット法ともに80%程度で陽性であった。本研究により INSM1 はSCLCの検出において高感度かつ特異的であり予後を推定できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

INSM1によってNE分化の経路に変化が起き、INSM1がSCLCの発生に関与していることが示唆された。現在の肺癌の診断には、肺腺癌ではTTF-1が、肺扁平上皮癌ではp40が、免疫染色による診断マーカーとして広く用いられているが、SCLCにおいては、単独で感度・特異度の高い診断マーカーが存在しなかったが、INSM1が単独でSCLCの新たな診断マーカーとなることを検索した本研究は、高い独自性を有する。研究においても微小検体を用いた INSM1 の免疫染色が評価可能か、診断マーカーになり得るか解明することで、手術不能な進行再発SCLCにおいても診断への応用が期待できると考える。

研究成果の概要（英文）：INSM1 expression in resected specimens of primary lung cancer was positive in less than 10% of lung adenocarcinomas and 10% of lung squamous cell carcinomas, positive in over 90% of SCLC, positive in over 60% of LCNEC, and positive in over 90% of carcinoid, suggesting that INSM1 is specifically expressed in neuroendocrine tumors. In cell line experiments, INSM1 was expressed specifically in the In cell line experiments, INSM1 was negative in almost all adenocarcinoma cell lines by both immunohistochemical staining and Western blotting, but in small cell lung cancer lines, INSM1 was positive in about 80% of cases by both immunohistochemical staining and Western blotting. This study suggests that INSM1 is highly sensitive and specific for the detection of SCLC and may provide prognostic information.

研究分野：腫瘍

キーワード：肺小細胞癌 INSM1 診断マーカー 免疫染色

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

INSM1 は、ASCL1 とともに CGA、SYN などの NE マーカーの発現を促進し、臨床病理学的に、NET に特異的に INSM1 が発現しているとの報告がある。これまでの申請者らの研究により、肺癌細胞株を用いた western blot で、SCLC の細胞株において、INSM1 が NE 分化を促進していることが判明している。また INSM1 は免疫染色にて評価可能であり、発現強度によって、強陽性、弱陽性、陰性に判定できる。これまでの申請者らの研究で、細胞株のセルブロック検体でも、SCLC の細胞株において INSM1、ASCL1 および NE マーカーの免疫染色はほぼ陽性であり western blot の結果と一致することも判明している

2. 研究の目的

上記の背景から、INSM1 が SCLC の新たな診断マーカーとなり得ることを明らかにし、新たな診断法を創出することである。これまでの申請者らの研究で、既知の NE マーカーがすべて陰性で、HE 染色の細胞形態のみで SCLC の診断に至った症例が存在した。NE マーカー陰性の SCLC の約 75% において、INSM1 のみが単独で陽性となることも確認できているため、NE マーカー陰性の症例にも有用な診断マーカーとして期待できる。

3. 研究の方法

SCLC の手術検体、生検検体の HE 染色および INSM1、ASCL1、NE マーカー (CGA、SYN、CD56) の免疫染色を実施する。目標症例数は、がん研有明病院呼吸器内科・外科で、手術検体 100 例、生検検体 100 例の合計 200 例である。また、比較対象として、非小細胞肺癌 (腺癌、扁平上皮癌) の症例においても、手術検体 100 例、生検検体 100 例の合計 200 例で、HE 染色および INSM1、ASCL1、NE マーカーの免疫染色を実施する。

肺癌の手術検体、生検検体を用いて、INSM1、ASCL1、NE マーカーの免疫染色結果を評価し、SCLC における INSM1 の免疫染色の感度・特異度を測定する。さらに、SCLC における INSM1 発現と、化学・放射線療法の反応、および予後との関連について統計解析を行う。

4. 研究成果

INSM1 は、SCLC (92%、72/78)、LCNEC (68%、30/44)、カルチノイド (95%、18/19) で発現していた。さらに、NE 表現型マーカーが発現していない SCLC ($n = 12$) のうち、9 (75%) が INSM1 陽性であった。これらのデータは、INSM1 が診断マーカーとして優れていることを示唆している。また、腺癌の 7% (9/134) と扁平上皮癌の 4% (4/112) だけが INSM1 陽性であった。NE マーカーが発現していない SCLC でも、INSM1 を用いて診断することができる。これまで NE マーカーが発現していない SCLC は、組織像のみに基づいて診断されていた。本研究により、INSM1 染色は SCLC をより敏感に診断するのに非常に有用であることが明らかになった。近年、特に肺がんの組織診断において、転写因子や転写関連タンパク質の利用が始まっている。例えば、TTF-1 陽性は肺腺癌と診断されるようになった。また、p40 や p63 (および CK5/6) 陽性は、非角化型の扁平上皮癌となった。p40、p63、CK5/6 のマーカーはいずれも基底細胞マーカーである。これらの新しい診断方法は、管状構造、ムチン産生、角化などの従来の表現型に依存しない。その代わりに、転写因子と関連タンパク質の発現のみに基づく診断が行われる。このような転写因子に基づく診断は、INSM1 を用いて SCLC にも応用することができる。転写因子と関連する核因子に基づく診断は、新たな組織学的診断として登場するかもしれない。

NE マーカーを発現していない SCLC が予後良好であることは、あまり知られていない。INSM1 低発現の SCLC ($n = 28$) は、高 INSM1 群 ($n = 50$) よりも有意に予後が良好であった ($P = 0.040$)。そのため INSM1 が SCLC の予後推定因子であることを初めて明らかにした。

我々は、手術で切除された多くの SCLC と LCNEC にマイクロアレイ技術を適用し、IHC によるタンパク質発現解析で確認した結果、この現象を発見した。今回の研究では、LCNEC の場合と同様に、SCLC では NE マーカーの発現が少ない場合に予後が良好であることが確認された。さらに、本研究は SCLC における INSM1 発現と予後との関連を検討した最初の報告である。我々は、単一の NE 遺伝子のいずれも生存率と関連していなかったが、INSM1 の高発現が SCLC の生存率の有意な短縮と関連していることを示した。INSM1 が高発現している患者は、フォローアップと治療方針に関して特別な注意を払う必要がある。

また、細胞株の実験において INSM1 は腺癌細胞株では免疫組織化学染色法・ウエスタンブロット法とともにほぼ全例陰性であったが小細胞肺癌株では INSM1 は免疫組織化学染色法・ウエスタン

プロット法ともに 80%程度で陽性であった。本研究により INSM1 は SCLC の検出において高感度かつ特異的であり、予後を推定できる可能性がある。INSM1 は SCLC の有望なマーカーとなるであろう。

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 0件）

1. 著者名 Rie Sakakibara, Maki Kobayashi, Naoko Takahashi, et al.	4. 巻 44
2. 論文標題 Insulinoma-associated Protein 1 (INSM1) Is a Better Marker for the Diagnosis and Prognosis Estimation of Small Cell Lung Carcinoma Than Neuroendocrine Phenotype Markers Such as Chromogranin A, Synaptophysin, and CD56	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol	6. 最初と最後の頁 757-764
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000001444	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0件

〔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
---------	---------