

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16194

研究課題名（和文）浸潤性粘液腺癌の原因遺伝子解析研究

研究課題名（英文）Study on the Causative Gene Analysis of Invasive Mucinous Adenocarcinoma

研究代表者

黒田 揮志夫（Kuroda, Kishio）

長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・客員研究員

研究者番号：10772808

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）：本研究では、142例の肺腺がんを解析し、ムチン産生に基づいて2つのタイプに分類した。細胞質と気腔の両方にムチンが存在するA型は浸潤性粘液腺癌（IMA）と診断されやすく、HNF4a陽性であった。一方、主に気腔にムチンが存在するB型は浸潤性非粘液性腺癌に近く、TTF-1陽性であった。ムチンの存在は、予後不良因子であるSpread Through Air Spaces（STAS）の存在と有意な相関を示した（ $P=0.046$ ）。さらに、A型7例とB型6例のRNAシーケンス解析を行い、111個の異なる遺伝子を同定した。これらの結果は、IMAの生物学的特徴の理解を深めるものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

稀な肺腺癌である浸潤性粘液腺癌（IMA）の新たな分子病理学的分類の構築を目指し、ムチン産生に着目した2つのタイプの分類（A型：細胞質と気腔の両方にムチンが存在、B型：主に気腔にムチンが存在）を提案した。この分類は、IMAの診断や治療法開発に貢献できる。ムチン産生と予後不良因子であるSTASの関連性を明らかにしたことは、IMAの予後予測の精度向上に寄与でき、A型とB型で異なる111個の遺伝子を同定したことでIMAの発生メカニズムの解明や治療標的の探索に役立てる。これらの成果は、IMAの理解を深め、診断・治療法開発、予後予測の改善に繋がる可能性があり、社会的にも意義のある研究成果と言える。

研究成果の概要（英文）：In this study, 142 cases of lung adenocarcinoma were analyzed and classified into two types based on mucin production. Type A, where mucin was present in both the cytoplasm and air spaces, was more likely to be diagnosed as invasive mucinous adenocarcinoma (IMA) and was HNF4a positive. On the other hand, Type B, where mucin was primarily present in the air spaces, was closer to invasive non-mucinous adenocarcinoma and was TTF-1 positive. The presence of mucin showed a significant correlation with the presence of Spread Through Air Spaces (STAS), a poor prognostic factor ( $P=0.046$ ). Additionally, RNA sequencing analysis of 7 Type A cases and 6 Type B cases identified 111 different genes. These findings enhance the understanding of the biological characteristics of IMA.

研究分野：外科病理

キーワード：浸潤性肺腺癌

## 1. 研究開始当初の背景

浸潤性粘液腺癌 (Invasive mucinous adenocarcinoma: IMA)は、2015年から新たに肺腺癌の亜型の一つとして分類された。頻度は低いが、時に肺内転移をきたす予後不良の肺癌の一つである。病理組織学的に、多量の粘液を細胞内に産生すると定義されているが、杯細胞や円柱上皮で構成されるなど多彩な組織型を取ることが知られている。新規の亜型であることから、免疫染色や遺伝子学的特徴が十分に整理されていない。

## 2. 研究の目的

そこで我々は、新分類として提唱された稀な浸潤性粘液腺癌について、予後決定因子と考えられている免疫染色(HNF4a)の発現を調べ、次世代シーケンサーにより網羅的遺伝子解析を行う。これらの免疫組織化学的特徴と遺伝子情報により、浸潤性粘液腺癌の生物学的特徴を明らかにし、その他の肺腺癌亜型との相違を分析することで、これまでの腺癌分類に浸潤性粘液腺癌を加えた、分子病理学的腺癌分類の再構築を試み、悪性度の層別化を行う。

## 3. 研究の方法

(1). 根治的外科切除を行った原発性肺腺がんの142例のコホートを検討した。それらにおける病理組織学的な組織検体を用いた、ムチン産生状態は2人の異なる病理医により評価をおこなった。まずは、病理組織学的診断および臨床的な評価項目のパラメータとの相関を解析した。生存データはlog-rank検定を用いて解析され、Kaplan-Meier曲線を評価した。

(2). (1)の結果をもととして、TypeA7例とTypeB6例の粘液を産生する肺腺癌において、マクロ的に腫瘍部分をダイセクトした材料から、Qiagen RNeasy FFPE kit (Qiagen, Hilden, Germany)を使用してRNAを抽出した。New England Biolabs (イプスウィッチ、マサチューセッツ州)のNEBNextUltra II Directional RNA Library prep for Illumina kitおよびIllumina次世代シーケンサー (Illumina、カリフォルニア州サンディエゴ)を使用してシーケンスを実施した。RNAリードの生データは、Trimmomatic (v0.39) 18を使用してトリムされ、リード品質管理はFastQC (v0.11.9) 19とMultiQC (v1.14) 20で実行した。トリムされたRNA-seqデータは、CLC Genomics Workbench (v23.0.4, Qiagen, Hilden, Germany)を使用してリードマッピングおよび変異呼び出し、融合遺伝子検出のためのSTAR-Fusion21、およびがんスプライシング異常のためのTrinity CTATスプライシングモジュールで分析した。TypeAとTypeBの差異遺伝子発現は、RaNA-seqプラットフォームを使用して解析した。RaNA-seqから得られた結果は、Gene Ontology (GO) および機能豊富な解析を通じてMetascapeプラットフォームを使用して確認された。

## 4. 研究成果

(1). まずは、病理組織学的検体の免疫染色を詳しく観察すると、ムチン産生が確認された症例は30例であった。それらを、2つのタイプに分類した：A型(細胞質と気腔の両方にムチンが存在;n=6)とB型(主に気腔にムチンが存在;n=24)である。A型症例は一貫して浸潤性粘液性腺癌と診断され、HNF4a陽性であった。一方、B型症例は浸潤性非粘液性腺癌に近く、TTF-1陽性であった。B型24例のうち、浸潤性粘液腺癌と診断されたのは1例のみであった。ムチンの存在は生存期間、性別、喫煙歴、リンパ節転移と有意な相関を示さなかった。しかしながら、ムチン陽性症例はSpread Through Air Spaces (STAS) の存在と有意な相関を示した(P=0.046)。特に、我々の研究におけるSTASを伴う肺腺がんは予後不良であった(P=0.018)。我々は、TTF-1とHNF4aの陽性像における分類を構築しようとしていたが、いずれの形態の中でも特にムチン産生がSTASとの関連を強く示唆する結論であった。STASは予後増悪因子の一つと考えられており、今度はムチン産生の有無について形態学だけでなく、免疫組織学や遺伝子に変異についての研究が期待される。

(2). PCA解析では、図1のような結果を示した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------