

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	甲斐 佑一郎
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1, 2 項該当		
論文題目 Mucin 21 is a novel, negative immunohistochemical marker for epithelioid mesothelioma for its differentiation from lung adenocarcinoma (上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断における新規マーカーMUC21 の有用性)			
論文審査担当者			
主査	教授	服部 登	印
審査委員	教授	檜山 英三	
審査委員	准教授	横崎 典哉	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>治療に抵抗し極めて予後不良な悪性中皮腫は、中皮細胞の存在する胸膜、腹膜、心膜、精巣鞘膜由来の悪性腫瘍である。その発生にはアスベスト曝露が関連しており、胸膜由来の胸膜中皮腫の発生が圧倒的に多い。悪性胸膜中皮腫の組織型は上皮型、肉腫型、二相型があり、様々な組織像を呈することから確定診断はしばしば困難で、原発性肺癌との鑑別が大きな問題となっている。偽中皮腫様腺癌や肺腺癌胸水貯留例との鑑別診断が問題となることが多い。胸膜中皮腫と肺癌では予後や治療方針の点で大きく異なっており、その鑑別診断は極めて重要で、臨床情報、画像診断、病理診断による総合的な診断が行われている。病理診断では免疫組織化学的染色が活用されており、中皮腫陽性マーカー (Calretinin, D2-40, WT-1, CK5/6 など) と中皮腫陰性マーカー (CEA, TTF-1, napsin-A, claudin-4 など) の組み合わせを必須としている。しかしながら、精度 100% で鑑別診断可能とする絶対的な診断マーカーは依然として同定されておらず、新たな診断マーカーの発見が望まれている。今回の研究では、申請者は上皮型悪性中皮腫と肺腺癌を対象としたマイクロアレイの網羅的遺伝子発現データの解析を行い、肺腺癌において発現上昇を認めた遺伝子を同定した。続いて同定した遺伝子の抗体を用いて、免疫組織化学的検討を行い、その有用性を検討した。</p> <p>ホルマリン固定パラフィン包埋組織の上皮型中皮腫 6 例と肺腺癌 6 例を用いたマイクロアレイによる遺伝子発現データを解析 (Subio, Amami-shi, Japan) し、Scatter plot diagram で肺癌における発現の上昇を認める遺伝子として既存の CEA や Napsin-A の他に、MUC21 を同定した。また、Supervised hierarchical clustering では上皮型中皮腫と肺腺癌症例で遺伝子の発現量が 2 倍以上の差を認めた遺伝子 58 個を同定した。そのうち中皮腫で発現上昇を認めた遺伝子は 35 個であり、既存の Calretinin や WT-1 が含まれていた。一方、肺癌で発現上昇を認めた 23 個の遺伝子の中には MUC21 が含まれていた。Line graph で肺腺癌 6 例中の 4 例に MUC21 の発現上昇を確認した。最後に MUC21 のタンパク発現が中皮腫細胞株 (ACC-MESO-1, CRL-5915) で認められず、肺腺癌細胞株 (A549) で認めたことを Western Blotting で確認した。</p> <p>続いて上皮型中皮腫 70 例と肺腺癌 70 例を用いて、免疫組織化学的検討を行った。抗体は抗 MUC21 抗体 (rabbit polyclonal, catalog #HPA052028, 1:50; Atlas Antibodies)、CEA, claudin-4, TTF-1, napsin-A, MUC4 を使用した。自動免疫染色装置は Ventana BenchmarkGX ultraView Universal DAB Detection Kit を使用し、スコアリングは陽性となる腫瘍細胞の数に応じて、0 (0%:陰性)、1+ (<10%)、2+ (10%~50%)、3+ (>50%) で評価した。MUC21 の染色性は腫瘍細胞の細胞膜に認められた。</p> <p>肺腺癌 70 症例において、MUC21, CEA, claudin-4, TTF-1, napsin-A, MUC4 はそれぞれ 67 例 (96%)、68 例 (97%)、68 例 (97%)、65 例 (93%)、58 例 (83%)、53 例 (76%) 陽性であった。CEA, claudin-4, TTF-1, napsin-A, MUC4 でそれぞれ 2 例、2 例、5 例、12 例、17 例が染色陰性であったが、それらの症例はすべて MUC21 で染色陽性であった。上皮型中皮腫 70 症例において、MUC21 と claudin-4 は 2 例 (3%) 陽性であった。CEA, TTF-1, napsin-A, MUC4 は 0 例 (0%) 陽性であった。上皮型中皮腫を肺腺癌と鑑</p>			

別する抗体として MUC21 の感度、特異度、精度はそれぞれ 97%、96%であった。CEA, claudin-4, TTF-1, napsin-A, MUC4 の感度はそれぞれ 100%、97%、100%、100%、100%で、特異度は 97%、97%、93%、83%、76%であった。MUC21 の特異度は既存の抗体と比較して同等もしくは優位な結果を示した。

以上の結果から、MUC21 は悪性胸膜中皮腫と肺腺癌を鑑別する免疫染色抗体として有用であることが示された。

本研究は鑑別診断に用いる抗体としての MUC21 の有用性を臨床検体と培養細胞両者を用いて明らかにしており、臨床に応用可能な研究として高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が甲斐佑一郎に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。