

福島県立医科大学 学術機関リポジトリ



Title	遺伝子発現スコアリングシステムを用いた食道類基底細胞癌の鑑別診断法の構築(本文)
Author(s)	多田, 武志
Citation	
Issue Date	2016-03-24
URL	http://ir.fmu.ac.jp/dspace/handle/123456789/545
Rights	Published version is "Int J Oncol. 2017 Sep;51(3):877-886. doi: 10.3892/ijo.2017.4075. © Spandidos Publications".
DOI	
Text Version	ETD

This document is downloaded at: 2024-04-20T15:55:46Z

遺伝子発現スコアリングシステムを用いた食道類基底細胞癌の鑑別診断法の構築

5 多田武志

福島県立医科大学大学院 医学研究科医学専攻 病態制御外科学

10

15

20

25

概要

【目的】食道類基底細胞癌 (Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus、以下「BSCE」と呼ぶ) は特殊型食道癌に分類される比較的稀な疾患である。その組織型の多様性のため、鑑別診断に難渋することが多く、特に術前内視鏡的生検での鑑別診断は困難といわれている。本研究では、検討 1 として、手術検体での網羅的遺伝子発現解析により得られた遺伝子発現情報から、BSCE に特徴的な遺伝子群を抽出し、鑑別診断精度の高い BSCE 遺伝子発現スコアリングシステムの構築を試みた。さらに検討 2 として、遺伝子発現スコアリングシステムを用いた、生検検体における BSCE 診断精度の検証を行った。

【方法】検討 1: 2008 年 1 月から 2015 年 7 月の間に福島県立医科大学臓器再生外科学講座で手術を施行した食道癌患者 30 名から得られた、57 検体 (BSCE 7 検体を含む)、を用いて詳細な病理診断を行うとともに、DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現プロファイルを取得した。BSCE に特徴的な遺伝子群の抽出は以下のとおりに行った。各遺伝子の発現データは、解析対象の検体と、22 種類のヒトがん細胞株から得られた共通リファレンス RNA との発現比から算出し、その遺伝子発現比の値を \log_2 に変換した (以下「変換値」と呼ぶ)。手術 57 検体の変換値を、数学的解析手法を用いて、BSCE に特徴的な発現を示す遺伝子群を抽出し、BSCE の遺伝子発現スコアリングシステムを構築した。検討 2: 検討 1 と同様の条件下で、内視鏡的生検で検体が採取可能であった患者 80 名から、312 検体 (BSCE 8 検体を含む) を用いて遺伝子発現プロファイルを取得した。検討 1 で抽出した 75 遺伝子の発現スコアを算出し、遺伝子発現スコアリングシステムを用いた BSCE の診断を行った。遺伝子発現スコアリングシステムの診断精度

を検証するために、ROC (Receiver Operating Characteristic curve) 曲線を用いて、ROC 曲線下面積 (AUC: area under the curve) と至適カットオフ値を求めた。

【結果】 検討 1: 手術 57 検体の網羅的遺伝子発現解析から、7,379 遺伝子を抽出した。その 7,379 遺伝子の遺伝子発現データを用いてクラスタ分析をすることにより、BSCE 検体と非 BSCE 検体を区別可能であった。BSCE 検体と非 BSCE 検体をより精度良く区別するために、75 遺伝子へ絞り込んだ。各検体における 75 遺伝子の変換値を合計した値 (以下「75 遺伝子発現スコア」と呼ぶ) を算出すると、75 遺伝子発現スコア = 56.5 以上で、BSCE 7 検体全てが非 BSCE 検体と区別可能であった。これを BSCE 遺伝子発現スコアリングシステムとした。

検討 2: 構築した遺伝子発現スコアリングシステムにおいて、75 遺伝子発現スコア = 40.5 を至適カットオフ値とすると、AUC = 0.981、生検検体における BSCE を感度 87.5%、特異度 99.0% で鑑別が可能であった。

【結論】 手術検体を用いて当施設独自の手法を用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、75 個の遺伝子群を抽出し、遺伝子発現スコアリングシステムを構築した。本法を用いることで、生検検体において高い鑑別診断能が得られることが確認された。今後、確定診断の得られた症例が集積されることにより、BSCE の病態の解明が進むことが期待できる。

序論

類基底細胞癌 (Basaloid squamous cell carcinoma、以下「BSC」と呼ぶ)は咽頭喉頭領域の腫瘍として Wain ら¹によって最初に報告された。頭頸部領域以外にも、食道²、肺³、肛門⁴、子宮頸部⁵、陰茎⁶、膀胱⁷などでの発生が報告されている。食道類基底細胞癌 (Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus、以下「BSCE」と呼ぶ)は、扁平上皮癌と腺癌以外の特殊型食道癌に分類される、比較的稀な疾患である。食道癌全体に占める割合は、日本食道学会報告の 2008 年食道切除術施行 2,657 例中、33 例 (1.2%) を含めて、本邦では、1.0% ~ 8.7%⁸⁻¹⁷、海外では 0.4% ~ 11.3%^{2, 18-25} と言われている。

組織学的特徴は、中心壊死を伴う充実性胞巣、篩状偽房状、導管様配列、腺様小嚢胞様胞巣、硝子様物質の沈着、扁平上皮癌部分の併存など¹⁶が指摘されているが、その組織型の多様性のため、鑑別診断に難渋することが多い。特に、腺様嚢胞癌、小細胞癌、低分化型扁平上皮癌、腺扁平上皮癌との鑑別を要する^{2, 24, 26, 27}。また、術前内視鏡的生検での確定診断は困難といわれており、正診率は 0~10%^{24, 25, 28}と診断率が非常に低いのが現状である。これまでにも、免疫染色^{2, 9, 12, 16, 19, 20}や Polymerase Chain Reaction (以下 PCR)^{29, 30}による鑑別診断の報告がなされてきたが、いずれも特異性を示せていない。

BSCE の予後に関しては、まだ一定の見解が得られていないが、扁平上皮癌よりも増殖能や細胞学的悪性度が高いといわれており^{2, 16, 21}、進行癌では予後不良という報告³¹もなされている。予後改善には、手術、化学放射線療法に加えて、新たな集学的治療法の確立が必要と考えられる²⁵。しかし、その疾患の希少性および鑑別診断の困難さから、

食道癌診断・治療ガイドライン³²においても、BSCEに対する特徴的な治療法の記載はなく、通常の食道扁平上皮癌に準じて行われているのが現状である¹⁵。

105 以上より、BSCEの診断精度の向上が不可欠であるが、既存の方法
ではこの問題を解決できず、精度の高いBSCE鑑別診断法の確立が望
まれている。

110 これまでに、当施設独自の手法を用いた網羅的遺伝子発現解析によ
って、疾患特異的な遺伝子発現が存在することが報告されてきた^{33,34}。
今回、食道癌手術検体を用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、BSCE
を鑑別診断可能な遺伝子群の抽出を行った。そして、抽出した遺伝子
の各検体にお遺伝子発現値を合計し、その合計値（スコア）を小さい
順に並べ替えて、遺伝子発現スコアリングシステムの構築を行った。
次に、食道癌生検検体において、構築された遺伝子発現スコアリング
システムを用いて、BSCEが鑑別可能であるかを検証した。

115

120

125

検討 1

手術検体での網羅的遺伝子発現解析、特異的遺伝子群の抽出、および
遺伝子発現スコアリングシステムの構築

130 方法

患者選択

2008年1月から2015年7月の間に、福島県立医科大学臓器再生外
科学講座において、本研究に対する同意が得られた食道癌患者のうち、
135 手術検体が採取可能であった患者30名を対象とした。

倫理審査

本研究は福島県立医科大学の倫理審査にて承認を得ている。受付番
号：1953『遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗が
140 ん剤開発の加速（第三期）』

食道類基底細胞癌の病理学的診断

手術検体を、Hematoxylin and Eosin (H.E) 染色し、二人の病理医
により病理学的診断を行った。BSCEは、Wain¹らの示した病理学的
145 基準を用いて診断し、かつ、Imamhasan¹⁶らが示した特徴的な組織学
的所見の6パターン、中心壊死を伴う充実性胞巣、篩状偽房状、導管
様配列、腺様小嚢胞様胞巣、硝子様物質の沈着、扁平上皮癌部分の併
存、を参照した。各症例においてこれら6種類の所見の発現割合も検
討し、総合的に診断した。

150 本研究では、腫瘍の大部分が扁平上皮癌成分であっても、BSCE成

分を一部にでも混在しているものは、BSCE 症例として検討を行った。

病理画像は、HS オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-9000 (KEYENCE, Osaka, Japan) を用いて撮影した。画像処理は Illustrator(Adobe System Inc., CA, USA)を用いて行った。

155

検体の採取方法

手術標本からの検体採取は、標本摘出直後、病変部分および、病変部分から 5cm 以上離れた正常部分から、約 7×7mm 大の検体を採取し、凍結保存用チューブに入れ、液体窒素で凍結させた。残りの標本はホルマリン固定後、パラフィン包埋切片を作成し病理学的診断を行った。

160

1 対 1 対応する凍結検体と病理学的診断用の検体は、同一のもののみなし解析を行った。

RNA 抽出および遺伝子発現プロファイルの取得

凍結検体は、ISOGEN (Nippon Gene Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて total RNA を抽出した。125 µg 以上の total RNA が取得できたサンプルは、引き続き、MicroPoly(A)purist kit(Ambion, Austin, TX, USA)を用いて poly(A)+RNA 精製をした。

165

ヒト共通リファレンス RNA は、22 種類のヒトがん細胞株 (A431、A549、AKI、HBL-100、HeLa、HepG2、HL60、IMR-32、Jurket、K562、KP4、MKN7、NK-92、Raji、RD、Saos-2、SK-N-MC、SW-13、T24、U251、U937 および Y79) から精製した poly(A)+RNA を等量混合したものを使用した。

170

poly(A)+RNA を用いた遺伝子発現プロファイル取得のための DNA マイクロアレイは、ヒト由来の転写産物に対応する 31,797 種類の合成

175

DNA (80 mers) をカスタムアレイヤーでスライドガラス上にアレイ化した。

手術検体由来の RNA は、2 μ g の poly(A)+RNA から、SuperScript II (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) および Cyanine 5-dUTP (Perkin-Elmer Inc., Boston, MA, USA)を用いて cDNA を合成することにより標識した。同様にして、ヒト共通リファレンス RNA は、2 μ g の poly(A)+RNA から、SuperScript II および Cyanine 3-dUTP (Perkin-Elmer Inc.)を用いて cDNA を合成することにより標識した。

ハイブリダイゼーションは、Labeling and Hybridization kit (MicroDiagnostic, Tokyo, Japan)を用いて行った。

蛍光強度は、GenePix 4000B Scanner (Axon Instruments, Inc., Union City, CA, USA)を用いて測定し、発現比 (Cyanine-5 の蛍光強度 /Cyanine-3 の蛍光強度) を算出した。さらに、GenePix Pro 3.0 software (Axon Instruments, Inc.) を用いて、当該発現比にノーマライゼーションファクターを乗じてノーマライズした。次に、発現比の値を \log_2 に変換した (変換値)。なお、データの変換はエクセル (Microsoft, Bellevue, WA, USA) および MDI gene expression analysis software package (MicroDiagnostic) を用いて行った³⁵。

195

手術検体における網羅的遺伝子発現解析、およびクラスター解析方法

Step1 (0 削除) :BSCE と病理診断された全検体中 2 検体以上で、蛍光強度が検出限界以下であった遺伝子を除いた。**Step2** | 変換値 | ≥ 1 :全手術検体中 1 検体以上で、変換値が 1 以上または -1 以下の条件を満たす遺伝子群を抽出した。**Step3** | 平均値 - 各変換値 | ≥ 1 :各遺

200

伝子について全検体の変換値の平均値を算出し、1 検体以上で、平均値との差が 1 以上または -1 以下の値を有する遺伝子群を抽出した。

Step4 (クラスタ分析) :Step3 で抽出した遺伝子の発現データをもとに、二次元方向でクラスタ分析を行った。

205

手術検体における食道類基底細胞癌遺伝子発現スコアリングシステムの構築

Step5 平均値 (BSCE 検体) ≥ 1 :Step4 でのクラスタ解析の結果、BSCE クラスタに含まれる検体 (以下「BSCE 検体」と呼ぶ) の変換値の平均値を算出し、その値が 1 以上になる遺伝子群を抽出した。

Step6 (非 BSCE 検体での 0 削除) :BSCE 以外の検体 (以下「非 BSCE 検体」と呼ぶ) のうち、26 検体以上で蛍光強度が検出限界以下の遺伝子群を除いた。**Step7** (非 BSCE 検体標準偏差 : $SD < 0.5$) :非 BSCE 検体の変換値の標準偏差を算出し、その値が 0.5 未満になる遺伝子群を抽出した。**Step8** 平均値 (BSCE 検体) - 平均値 (非 BSCE 検体) ≥ 1 :BSCE 検体の変換値の平均値と、非 BSCE 検体の変換値の平均値の差が 1 以上になる遺伝子群を抽出した。**Step9** (t 検定による二群比較) :変換値の平均値を、BSCE 検体と非 BSCE 検体の間で t 検定による二群比較で検討を行い、 $P < 0.01$ となる遺伝子群を抽出した。

Step10:Step9 までで抽出した遺伝子の各検体における変換値の合計値 (遺伝子発現スコア) を算出し、そのスコアを小さい順に並べ替えて、遺伝子発現スコアリングシステムを構築した。

統計解析

225 クラスタ分析は、Expression View Pro (MicroDiagnostic) を用い、

ユークリッド距離による群平均法にて行った。

結果

230 症例数および検体数

手術患者 30 名のうち、病理学的検討により、BSCE と診断した患者は 6 名であった。十分な量の RNA が得られ、網羅的遺伝子発現解析が可能であった手術検体は合計で 57 検体であった。その内訳は正常食道組織 26 検体、扁平上皮癌 23 検体、BSCE 7 検体、内分泌細胞癌 1 検体
235 体であった。網羅的遺伝子発現解析を行った手術検体の内訳を Table 1 に示す。

食道類基底細胞癌手術症例の臨床病理学的結果

当科で手術を行った BSCE 症例の臨床病理学的特徴を Table 2 に示した。男性が 5 例、女性が 1 例、平均年齢は 62.6 歳（55~68 歳）であ
240 った。術前生検において BSCE の診断が得られていたものは 3 例（3/6、50%）であった。腫瘍径は平均で 28.6mm（12~45mm）、腫瘍の存在部位は、全例が胸部中部食道であった。UICC 第 7 版での TNM 分類では、I 期が 4 例、II 期が 1 例、III 期が 1 例。I 期の 1 例が術後 58
245 カ月で原病死、III 期の 1 例が術後 19 カ月で原病死、II 期の 1 例で術後再発を認めるも生存中、I 期の 3 例が無再発生存中（観察期間 7~60 ケ月）である。症例 4 の病理写真を Fig 1 に示す。

BSCE 検体の内訳は、症例 1.2.3.5 から各 1 検体と、症例 4 からは大型の腫瘍を 3 分割した 3 検体の合計 7 検体であった。症例 6 は摘出した病変部分が微小であったため、遺伝子解析用検体は採取不可能で
250 あった。症例 4 において、3 分割した検体の各遺伝子発現スコアはほ

ば同等であった。(Table 2)

手術検体における網羅的遺伝子発現解析、およびクラスタ解析結果

255 BSCE 7 検体を含む手術 57 検体の網羅的遺伝子発現解析、およびク
ラスタ解析を行った結果を Fig 2 に示す。以下に、その解析結果を示
す。**Step1:**0 削除において、10,027 遺伝子へ絞り込んだ。**Step2:** | 変
換値 | ≥ 1 の計算において、9,004 遺伝子へ絞り込んだ。**Step3:** | 平均
値 - 各変換値 | ≥ 1 の計算において、7,379 遺伝子を抽出した。**Step4:**
260 抽出した 7,379 遺伝子の発現データをもとに、二次元方向でクラスタ
分析を行った。

その結果、57 検体は、BSCE 7 例のうち 6 例で構成されているクラ
スタ (以下「BSCE クラスタ」と呼ぶ)、主として扁平上皮癌で構成さ
れているクラスタ、および、主として正常食道組織で構成されている
クラスタに分類された。

265

食道類基底細胞癌遺伝子発現スコアリングシステムの構築

BSCE とその他の検体を明確に区別するためのマーカー遺伝子を絞
り込み、それらの遺伝子の変換値を合計するスコアリングシステムの
構築を試みた。**Step5:**平均値 (BSCE 6 検体) ≥ 1 を満たす、986 遺
270 子を抽出した。**Step6:**非 BSCE 50 検体での 0 削除の計算において、972
遺伝子へ絞り込んだ。**Step7:**非 BSCE 50 検体標準偏差 : $SD < 0.5$ を満
たす、243 遺伝子を抽出した。**Step8:**平均値 (BSCE 6 検体) - 平均値
(非 BSCE 50 検体) ≥ 1 の計算により、100 遺伝子へ絞り込んだ。
Step9:二群比較で $P < 0.01$ の条件を満たす、75 遺伝子を抽出した。
275 (Table 3) **Step10:**抽出した 75 遺伝子の各検体における変換値の合計

値（遺伝子発現スコア）を算出し、そのスコアを左から小さい順に並べ替えて、遺伝子発現スコアリングシステムを構築した。

BSCE と非 BSCE を遺伝子発現スコアリングシステムに当てはめたところ、75 遺伝子発現スコア = 56.5 以上で、BSCE 7 例全てを、非
280 BSCE 検体と明確に区別できることが明らかとなった（Fig 3）。

285

290

295

300

検討 2

生検検体での網羅的遺伝子発現解析、および遺伝子発現スコアリングシステムでの検証

305 方法

患者選択

検討 1 と同様の条件下で、内視鏡的生検で検体が採取可能であった患者 80 名を対象とした。

310

倫理審査

検討 1 と同じく、倫理審査にて承認を得ている。

食道類基底細胞癌の病理学的診断

315 検討 1 と同じ条件で、生検検体の病理学的診断を行った。

検体の採取方法

320 生検検体に関しては、上部消化管内視鏡検査時に生検鉗子（OLYMPUS FB-230K, OLYMPUS Co., Ltd., Tokyo, Japan）を用いて、病変部分および正常部分から、約 3×3mm 大の検体を採取し、凍結保存用チューブに入れ、液体窒素で凍結させた。また、凍結用検体採取部位からできるだけ近接した部分から再度検体を採取し、ホルマリン固定後、病理学的診断を行った。

325 隣接した部位から採取した凍結検体と病理学的診断用の検体は、同一のものとみなし解析を行った。

RNA 抽出および遺伝子発現プロファイルの取得

凍結検体は、ISOGEN (Nippon Gene Co., Ltd.) を用いて total RNA を抽出した。生検検体からの total RNA 取得量はすべて 125 μ g 以下
330 であった。遺伝子発現プロファイル取得には、抽出した total RNA のうち 5 μ g を使用した。ヒト共通リファレンス RNA は、検討 1 と同じく 22 種類のヒトがん細胞株から精製した total RNA を等量混合したものを使用した。

total RNA を用いた遺伝子発現プロファイル取得のための DNA マイクロアレイは、ヒト由来の転写産物に対応する 14,400 種類の合成 DNA (80 mers) をカスタムアレイヤーでスライドガラス上にアレイ化した。
335

RNA の標識、ハイブリダイゼーション、蛍光強度の測定、および発現比の測定は、検討 1 と同じ手法で行った。

340

診断精度の検証

生検検体から遺伝子発現プロファイルを取得し、検討 1 で抽出した 75 遺伝子の発現スコアを算出し、遺伝子発現スコアリングシステムを用いた BSCE の診断を行った。遺伝子発現スコアリングシステムの診断精度を検証するために、ROC (Receiver Operating Characteristic curve) 曲線を用いて、ROC 曲線下面積 (AUC: area under the curve) と至適カットオフ値を求めた。ROC 曲線の作成は、SPSS Statistics 23 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) を用いて行い、至適カットオフ値の設定は、感度と特異度の和が最大となる値とした。
345

350

結果

症例数および検体数

80名の患者のうち、生検検体のみ採取した患者が68名、手術および生検検体の両方が採取可能であった患者が12名であった。80名のうち、BSCEと診断した患者は、手術を施行した3名と、生検でのみ診断した1名の合計4名であった。十分な量のRNAが得られ、網羅的遺伝子発現解析が可能であった検体は合計で312検体であった。その内訳は、正常食道組織229検体、扁平上皮癌51検体、BSCE8検体、内分泌細胞癌1検体、腺癌21検体、上皮内腫瘍2検体であった。

本研究で網羅的遺伝子発現解析を行った生検検体の内訳をTable 4に示す。

食道類基底細胞癌生検症例の詳細

BSCEとの病理診断であった生検8検体の詳細をTable 5に示す。

BSCE生検検体の内訳は、症例5.7から各1検体、症例6から2検体、症例4から4検体の合計8検体であった。Table 2で示した症例1.2.3においては、生検検体を凍結標本には提出していない。また症例7では手術未施行である。

遺伝子発現スコアリングシステムを用いた生検検体の診断精度の検証

生検312検体を、検証1で構築した遺伝子発現スコアリングシステムを用いて解析を行った。結果をTable 5、Fig 4に示す。カットオフ値を56.5とした場合は、感度62.5%、特異度99.3%であった。生検検体をよりよく鑑別するための至適カットオフ値を求めるために、

ROC 曲線を用いて検証した (Fig 5)。75 遺伝子発現スコア = 40.5 を
カットオフ値とすると、AUC = 0.981、感度 87.5%、特異度 99.0% で
あり、精度よく鑑別が可能であった。

380

385

390

395

400

考察

BSCE の診断精度の向上を目的に、手術検体を用いて当施設独自の手法を用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、75 個の遺伝子群を抽出した。そして、BSCE 遺伝子発現スコアリングシステムを構築した。この遺伝子発現スコアリングシステムを用いて生検検体を解析すると、BSCE を感度 87.5%、特異度 99.0%で鑑別可能であった。抽出した 75 遺伝子を用いた遺伝子発現スコアリングシステムは、BSCE の新たな鑑別診断法に成り得ることが示された。これまで病理医が診断に迷う場合が多かった、微小生検検体での BSCE に対する鑑別診断の精度向上に大きく寄与できると考えられる。

BSCE の術前内視鏡的生検での病理学的診断は特に困難といわれている。本研究では、内視鏡的生検で 6 例中 3 例 (50%) の術前診断を得ていたが、これまでの報告では正診率は 0~10%^{24, 25, 28} と低いのが現状である。実際には、BSCE が粘膜下腫瘍様形態を呈し、腫瘍表面を正常の食道粘膜や通常扁平上皮癌が覆っていることが多いため、扁平上皮癌と診断される場合が多い^{14, 15}。また、BSCE が多様な組織学的形態を有しており、生検での微小検体では全体像をとらえにくく、正確な診断が困難であると推察される。よって、BSCE の生検では、厚い組織を複数個採取することが勧められている²⁵。

手術検体においても、BSCE が持つ多様な組織学的形態により、病理学的診断は困難である場合がある。これまでに、BSCE と他の組織型との鑑別診断のため、免疫組織学的検討が報告されてきた。BSCE と頭頸部領域の BSC を CK sub type 毎に検討した報告³⁶では、CK8 で気管/唾液腺の粘表皮癌と、CK17 で気管/唾液腺の腺様嚢胞癌との鑑

別可能性を示しているが、扁平上皮癌との鑑別はできていない。その他に、CK13^{2,12}、CK14^{2,12,14,16,37}、CK19^{12,20,37}などの報告があるが、BSCEに特異的な染色性は認めていない。癌抑制遺伝子であるp53蛋白、Rb蛋白の免疫組織学的検討では、BSCEと扁平上皮癌では発現に
430 差が認められていない^{12,38,39}。これら多くの免疫組織学的検討では、
いずれも特異性を示せていない。その他、免疫染色とPCRを組み合わせた検討では、Bcl-2蛋白の発現とc-myc遺伝子の増幅が同時に認めている割合が、BSCEが扁平上皮癌よりも高いという報告²⁹がある。
しかし、特異度は100%だが、感度が43.5%と低く、精度が高い鑑別
435 診断法とは成りにくいと考えられる。今回の研究では、複数の遺伝子を
組み合わせた解析方法で、感度、特異度ともに高い鑑別診断が可能
であった。

当施設独自の手法を用いた網羅的遺伝子発現解析によって、疾患特異的な遺伝子発現が存在することが報告されてきた^{33,34}。本研究で用
440 いた網羅的遺伝子発現解析は、i) 生検材料のような微量な検体でも
解析が可能な点、ii) RNAを増幅することなく、遺伝子発現解析が
できる点、iii) 共通リファレンスに対するRNAの存在比として検出
するため、すべての検体を横並びに比較できる点で他の網羅的遺伝子
発現解析システムとは異なる特徴がある。本研究では、抽出した 75
445 遺伝子の発現スコアによる検討を行った。75遺伝子発現スコアを小さい
順に並べて、一定のカットオフ値を設定することにより、高い感度、
特異度でBSCEの鑑別が可能であることが示された。

本研究の課題は、1対1対応する病理学的診断用検体と凍結検体は、
同一組織を2分割したものではないという点である。つまり、隣接し
450 た組織を病理学的診断用と遺伝子解析用とに別々に提出しており、真

に同一の組織を解析していることにはなっていない点である。実際、
Fig 4、Fig 5の結果において、偽陰性の1検体は、症例6からの検体
(Table 5の⑦)であった。症例6は大部分が扁平上皮癌で覆われて
おり、一部にBSCEを含む腫瘍であったため、病理用生検ではBSCE
455 部分を採取したが、凍結検体では、純粋な扁平上皮癌部分を採取して
いた可能性が考えられる。また、偽陽性の3検体中2検体は、症例5.6
から検体(Table 5の#、##)を採取したものであった。病理用生検で
は扁平上皮癌部分を採取したが、凍結検体ではBSCE部分を確実に採
取できていた可能性が考えられる。偽陽性の残り1検体は、生検のみ
460 施行した扁平上皮癌症例であった。病理用生検では扁平上皮癌との診
断であったが、遺伝子発現スコアリングシステムでの解析結果からは、
凍結検体がBSCEであった可能性が強く示唆された。しかし、再生検
および手術は施行しておらず、病理学的なBSCEの診断変更にはいた
っていない。これらの結果から、75遺伝子発現スコアがカットオフ値
465 以上である症例は、たとえ病理診断がBSCEではなくても、再生検を
考慮するとともに、注意深い病理学的診断を行う必要があると考えら
れる。

本研究では、検討1から導いたカットオフ値は56.5であったが、検
討2では導いたカットオフ値は40.5で、検討1とは値が異なっていた。
470 一方、Fig 4の結果からは、カットオフ値40.5でも手術検体は感度特
異度ともに100%で鑑別可能であった。本報告でのカットオフ値40.5
が暫定的な至適カットオフ値といえるが、症例の蓄積によりカットオ
フ値が変動する可能性があり、症例を重ねて更なる検討が必要である。

今後の臨床応用への課題は、BSCEの特異的遺伝子の発現系を、
475 Real-Time PCRや抗原抗体反応で確認できるかどうかである。本研究

での遺伝子発現プロファイルの取得には、解析時間に最短でも4日かかり、1検体の解析コストも安価ではない。今後、Real-Time PCRや抗原抗体反応での検証を可能にするためにも、75遺伝子からさらに遺伝子数を絞り込む必要がある。BSCEを鑑別可能なより簡便な検査法
480 が確立されることで、扁平上皮癌を含めたすべての食道癌診断の一助となることが期待できる。

手術検体を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、BSCEを鑑別可能な75遺伝子を抽出し、遺伝子発現スコアリングシステムを構築した。特に診断が困難とされている生検検体を、この遺伝子発現スコアリン
485 グシステムを用いることによって、高い精度で鑑別診断が可能であった。この遺伝子発現スコアリングシステムは新たなBSCEの鑑別診断法となると考えられる。今後、確定診断の得られた症例が集積されることにより、BSCEの病態の解明が進むことが期待できる。

490 謝辞

本研究にあたり、ご指導、ご協力いただいた方に深く感謝申し上げます。

病理学的考察を、福島県立医科大学病理病態診断学講座：田崎和洋
495 氏、橋本優子氏、わたり病院病理部：海上雅光氏。

網羅的遺伝子発現解析を、福島県立医科大学医療産業トランスレーショナルリサーチセンター：江崎淳二氏、多村博澄氏、今井順一氏、和栗聡氏、渡邊慎哉氏。株式会社ニッポンジーン：本間玲子氏、西川暁氏。

500

引用文献

1. Wain SL, Kier R, Vollmer RT, et al: Basaloid-squamous carcinoma of the tongue, hypopharynx, and larynx: report of 10 cases. *Hum Pathol* 17:1158-66, 1986
- 505 2. Sarbia M, Verreet P, Bittinger F, et al: Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus: Diagnosis and prognosis. *Cancer* 79:1871-1878, 1997
3. Brambilla E, Moro D, Veale D, et al: Basal cell (basaloid) carcinoma of the lung: A new morphologic and phenotypic entity with separate
510 prognostic significance. *Human Pathology* 23:993-1003, 1992
4. Chetty R, Serra S, Hsieh E: Basaloid squamous carcinoma of the anal canal with an adenoid cystic pattern: Histologic and immunohistochemical reappraisal of an unusual variant. *American Journal of Surgical Pathology* 29:1668-1672, 2005
- 515 5. Brainard JA, Hart WR: Adenoid basal epitheliomas of the uterine cervix: A reevaluation of distinctive cervical basaloid lesions currently classified as adenoid basal carcinoma and adenoid basal hyperplasia. *American Journal of Surgical Pathology* 22:965-975, 1998
6. Cubilla AL, Reuter VE, Gregoire L, et al: Basaloid squamous
520 cell carcinoma: A distinctive human papilloma virus- related penile neoplasm: A report of 20 cases. *American Journal of Surgical Pathology* 22:755-761, 1998
7. Vakar-López F, Abrams J: Basaloid squamous cell carcinoma occurring in the urinary bladder. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 124:455-459, 2000
- 525 8. Takubo K, Mafune K, Tanaka Y, et al: Basaloid-squamous

carcinoma of the esophagus with marked deposition of basement membrane substance. *Acta Pathologica Japonica* 41:59-64, 1991

9. Abe K, Sasano H, Itakura Y, et al: Basaloid-squamous carcinoma of the esophagus: A clinicopathologic, DNA ploidy, and
530 immunohistochemical study of seven cases. *American Journal of Surgical Pathology* 20:453-461, 1996

10. Koide N, Koike S, Adachi W, et al: Immunohistochemical expression of bcl-2 protein in squamous cell carcinoma and basaloid carcinoma of the esophagus. *Surgery Today* 27:685-691, 1997

535 11. Kawahara K, Makimoto K, Maekawa T, et al: An immunohistochemical examination of basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus: Report of a case. *Surgery Today* 31:655-659, 2001

12. Ohashi K, Horiguchi S, Moriyama S, et al: Superficial basaloid squamous carcinoma of the esophagus. A clinicopathological and
540 immunohistochemical study of 12 cases. *Pathology Research and Practice* 199:713-721, 2003

13. Yoshioka S, Tsujinaka T, Fujitani K, et al: Prognostic Analysis of Four Cases of Basaloid Cell Carcinoma of the Esophagus and 60 Reported Cases in Japan. *Japanese Journal of Gastroenterological Surgery* 37:290-295,
545 2004

14. Kobayashi Y, Nakanishi Y, Taniguchi H, et al: Histological diversity in basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus. *Diseases of the Esophagus* 22:231-238, 2009

15. Saito S, Hosoya Y, Zuiki T, et al: A clinicopathological study of
550 basaloid squamous carcinoma of the esophagus. *Esophagus* 6:177-181, 2009

16. Imamhasan A, Mitomi H, Saito T, et al: Immunohistochemical and oncogenetic analyses of the esophageal basaloid squamous cell carcinoma in comparison with conventional squamous cell carcinomas. *Human Pathology* 43:2012-2023, 2012
- 555 17. Tachimori Y, Ozawa S, Numasaki H, et al: Comprehensive Registry of Esophageal Cancer in Japan, 2008. *Esophagus* 12:130-157, 2015
18. Zhang XH, Sun GQ, Zhou XJ, et al: Basaloid squamous carcinoma of esophagus: A clinicopathological, immunohistochemical and electron microscopic study of sixteen cases. *World Journal of Gastroenterology* 4:397-403, 1998
- 560 19. Cho KJ, Jang JJ, Lee SS, et al: Basaloid squamous carcinoma of the oesophagus: A distinct neoplasm with multipotential differentiation. *Histopathology* 36:331-340, 2000
20. Huang Z, Shen Y, Liang Y, et al: Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus: an immunohistochemical study of 8 cases. *Chinese medical journal* 114:1084-1088, 2001
- 565 21. Lam KY, Law S, Luk JM, et al: Oesophageal basaloid squamous cell carcinoma: A unique clinicopathological entity with telomerase activity as a prognostic indicator. *Journal of Pathology* 195:435-442, 2001
- 570 22. Klaase JM, Hulscher JBF, Offerhaus GJA, et al: Surgery for unusual histopathologic variants of esophageal neoplasms: A report of 23 cases with emphasis on histopathologic characteristics. *Annals of Surgical Oncology* 10:261-267, 2003
23. Li TJ, Zhang YX, Wen J, et al: Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus with or without adenoid cystic features. *Archives of*
- 575

Pathology and Laboratory Medicine 128:1124-1130, 2004

24. Chen SB, Weng HR, Wang G, et al: Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 138:1165-1171, 2012
- 580 25. Zhang BH, Cheng GY, Xue Q, et al: Clinical outcomes of basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus: A retrospective analysis of 142 cases. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 14:1889-1894, 2013
- 585 26. Akagi I, Miyashita M, Makino H, et al: Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus: Report of two cases. *Journal of Nippon Medical School* 75:354-360, 2008
27. Nishimura W, Naomoto Y, Hamaya K, et al: Basaloid-squamous cell carcinoma of the esophagus: Diagnosis based on immunohistochemical analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* 16:586-590, 2001
- 590 28. Kato T, Morita T, Fujita M, et al: Basaloid-squamous carcinoma of the esophagus: Report of a case. *Surgery Today* 30:163-167, 2000
29. Sarbia M, Loberg C, Wolter M, et al: Expression of Bcl-2 and amplification of c-myc are frequent in basaloid squamous cell carcinomas of the esophagus. *American Journal of Pathology* 155:1027-1032, 1999
- 595 30. Bellizzi AM, Woodford RL, Moskaluk CA, et al: Basaloid squamous cell carcinoma of the esophagus: Assessment for high-risk human papillomavirus and related molecular markers. *American Journal of Surgical Pathology* 33:1608-1614, 2009
- 600 31. Arai T, Aida J, Nakamura KI, et al: Clinicopathologic characteristics of basaloid squamous carcinoma of the esophagus. *Esophagus*

8:169-177, 2011

32. 日本食道学会：食道癌 診断・治療ガイドライン. 2012年4月版,
2012
33. Miyamoto K, Iwadate M, Yanagisawa Y, et al: Cathepsin L is
605 highly expressed in gastrointestinal stromal tumors. *Int J Oncol* 39:1109-15,
2011
34. Okabe N, Ezaki J, Yamaura T, et al: FAM83B is a novel
biomarker for diagnosis and prognosis of lung squamous cell carcinoma. *Int J*
Oncol 46:999-1006, 2015
- 610 35. Miura A, Honma R, Togashi T, et al: Differential responses of
normal human coronary artery endothelial cells against multiple cytokines
comparatively assessed by gene expression profiles. *FEBS Lett* 580:6871-9,
2006
36. Tsubochi H, Suzuki T, Suzuki S, et al: Immunohistochemical
615 study of basaloid squamous cell carcinoma, adenoid cystic and mucoepidermoid
carcinoma in the upper aerodigestive tract. *Anticancer Research* 20:1205-1211,
2000
37. Abe K, Sasano H, Itakura Y, et al: Basaloid-squamous
carcinoma of the esophagus. A clinicopathologic, DNA ploidy, and
620 immunohistochemical study of seven cases. *Am J Surg Pathol* 20:453-61, 1996
38. Owonikoko T, Loberg C, Gabbert HE, et al: Comparative
analysis of basaloid and typical squamous cell carcinoma of the oesophagus: A
molecular biological and immunohistochemical study. *Journal of Pathology*
193:155-161, 2001
- 625 39. Baba Y, Ishimoto T, Harada K, et al: Molecular Characteristics

of Basaloid Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: Analysis of KRAS, BRAF, and PIK3CA Mutations and LINE-1 Methylation. *Ann Surg Oncol*, 2015

630

635

640

645

650

Table 1 網羅的遺伝子発現解析を行った手術検体の内訳

組織型	手術検体 (N=57)
正常食道組織	26
扁平上皮癌	23
類基底細胞癌	7
内分泌細胞癌	1
腺癌	0
上皮内腫瘍	0

655

660

Table 2 手術を行った食道類基底細胞癌6例の臨床病理学的結果

症例	年齢性	生検診断	凍結検体	手術診断	腫瘍長 (mm)	病型分類	壁深達度 (pT)	リンパ節転移(pN)	リンパ管侵襲 (ly)	静脈侵襲 (v)	TNM分類	予後	75遺伝子スコア
1	68男	腺扁平上皮癌	腫瘍から1個	類基底細胞癌	42	2型	pT1	pN0	0	1	I A	58ヶ月-死亡 (肺転移)	102.5
2	55男	扁平上皮癌	腫瘍から1個	類基底細胞癌	30	5型	pT1	pN0	0	2	I A	60ヶ月-生存	56.5
3	56男	扁平上皮癌	腫瘍から1個	類基底細胞癌	25	3型	pT4	pN3	2	2	III C	19ヶ月-死亡 (肺転移)	108.2
4	68女	扁平上皮癌 類基底細胞癌	腫瘍を3分割	類基底細胞癌	18	2型	pT1	pN0	0	1	I A	37ヶ月-生存	160.3 156.9 149.9
5	64男	類基底細胞癌	腫瘍から1個	類基底細胞癌	12	0-II a型	pT1	pN1	0	0	II B	29ヶ月-生存 (リンパ節転移)	83.1
6	65男	類基底細胞癌	なし	類基底細胞癌 扁平上皮癌	45	0-II c型	pT1	pN0	0	0	I A	7ヶ月-生存	なし

665

670

675

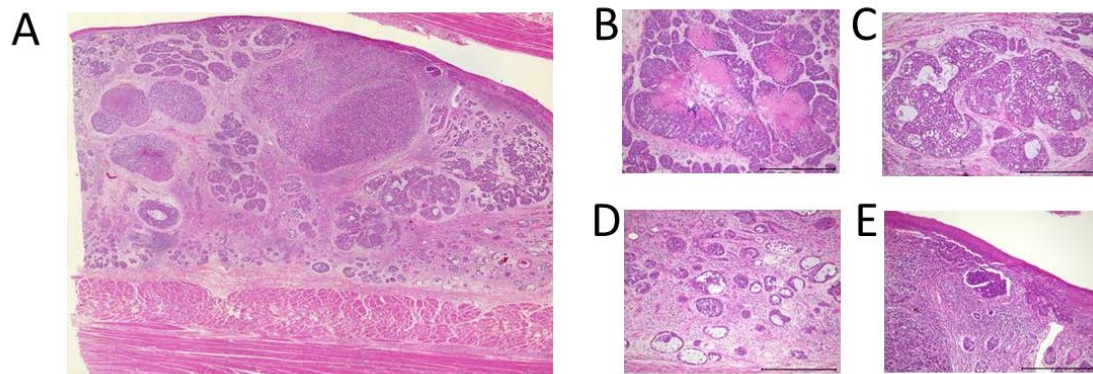


Fig 1 症例4 BSCE手術検体の病理学的所見

A: 粘膜下層を中心に多様な組織型を有する腫瘍細胞の増殖を認める。(弱拡大)
 B: 充実性胞巣、C: 篩状偽房状、D: 導管様配列、E: 扁平上皮癌の併存。
 bar: 500 μ m (H.E染色)

680

685

690

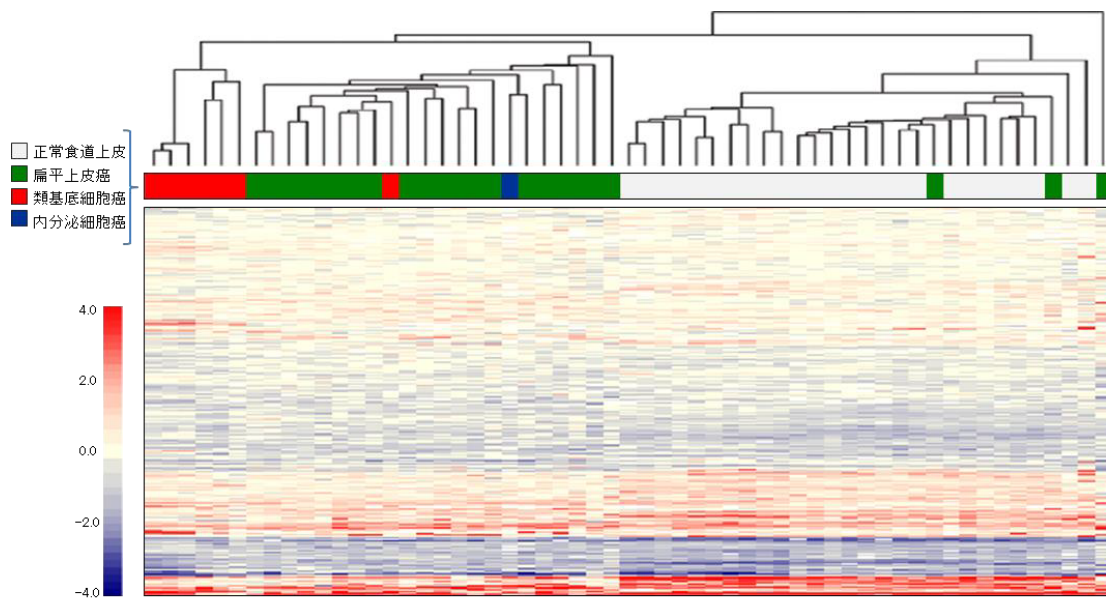


Fig 2 手術 57検体の網羅的遺伝子発現解析 クラスタ解析

BSCE 7検体を含む手術 57検体から遺伝子発現プロファイルを取得した。抽出した7,379遺伝子を二次元方向にクラスタ分析した。クラスタ分析の結果を2色のグラデーションで表現したヒートマップとして示す。ヒートマップの上部にある樹形図は非類似度係数による検体間の相互関係を示す。樹形図とヒートマップの間にあるカラーバーは手術検体の病理所見を表す。白色は正常食道上皮を、緑色は扁平上皮癌を、赤色は食道類基底細胞癌を、青色は内分泌細胞癌をそれぞれ表す。左下にある赤色と青色のグラデーションのカラーバーは発現レベルを表しており、赤色は共通リファレンスに対して検体の発現レベルが高い場合、青色は低い場合を示す。

695

700

Table 3 抽出した75遺伝子

No.	ID	symbol	name
R-1	NM_001033568.2	RHOT1	ras homolog family member T1 (RHOT1), transcript variant 1
R-2	NM_015690.4	STK36	serine/threonine kinase 36 (STK36), transcript variant 1,
R-3	NM_000915.3	OXT	oxytocin/neurophysin I prepropeptide (OXT)
R-4	NM_001409.3	MEGF6	multiple EGF-like-domains 6 (MEGF6),
R-5	NM_021197.3	WFDC1	WAP four-disulfide core domain 1 (WFDC1)
R-6	NM_020796.4	SEMA6A	sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6A (SEMA6A)
R-7	NM_153213.3	ARHGEF19	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 19 (ARHGEF19),
R-8	XM_005261771.3	PLA2G6	phospholipase A2, group VI (cytosolic, calcium-independent) (PLA2G6), transcript variant X18
R-9	NM_000933.3	PLCB4	phospholipase C, beta 4 (PLCB4), transcript variant 1,
R-10	NM_023110.2	FGFR1	fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1), transcript variant 1
R-11	AK055081.1		cDNA FLJ30519 fis, clone BRAWH2000859
R-12	NM_000346.3	SOX9	SRY (sex determining region Y)-box 9 (SOX9)
R-13	NM_025176.4	NINL	ninein-like (NINL)
R-14	NM_014698.2	TMEM63A	transmembrane protein 63A (TMEM63A)
R-15	NM_020870.3	SH3RF1	SH3 domain containing ring finger 1 (SH3RF1)
R-16	NM_001110514.1	EBF4	early B-cell factor 4 (EBF4)
R-17	NR_036481.2	FGD5P1	FYVE, RhoGEF and PH domain containing 5 pseudogene 1 (FGD5P1), non-coding RNA
R-18	NM_005117.2	FGF19	fibroblast growth factor 19 (FGF19)
R-19	NM_003219.2	PPP1R18	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 18 (PPP1R18)
R-20	NM_020659.3	TTYH1	tweety family member 1 (TTYH1), transcript variant 1
R-21	NM_145804.2	ABTB2	ankyrin repeat and BTB (POZ) domain containing 2 (ABTB2)
R-22	NM_194302.3	CCDC108	coiled-coil domain containing 108 (CCDC108), transcript variant 1
R-23	NM_002995.2	XCL1	chemokine (C motif) ligand 1 (XCL1)
R-24	NM_001940.3	ATN1	atrophin 1 (ATN1), transcript variant 2
R-25	AK021565.1		cDNA FLJ11503 fis, clone HEMBA1002113
R-26	NM_006941.3	SOX10	SRY (sex determining region Y)-box 10 (SOX10)
R-27	NM_003222.3	TFAP2C	transcription factor AP-2 gamma (activating enhancer binding protein 2 gamma) (TFAP2C)
R-28	NM_003963.2	TM4SF5	transmembrane 4 L six family member 5 (TM4SF5)
R-29	NM_002180.2	IGHMBP2	immunoglobulin mu binding protein 2 (IGHMBP2)
R-30	NM_015696.4	GPX7	glutathione peroxidase 7 (GPX7)
R-31	NM_017789.4	SEMA4C	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4C (SEMA4C)
R-32	NM_178502.3	DTX3	deltex 3, E3 ubiquitin ligase (DTX3), transcript variant 1
R-33	NM_014937.3	INPP5F	inositol polyphosphate-5-phosphatase F (INPP5F), transcript variant 1
R-34	NM_001380.4	DOCK1	dedicator of cytokinesis 1 (DOCK1), transcript variant 2
R-35	NM_007081.2	RABL2B	RAB, member of RAS oncogene family-like 2B (RABL2B), transcript variant 2
R-36	AK055044.1	TARBP1	TAR (HIV-1) RNA binding protein 1 (TARBP1)
R-37	NM_006312.5	NCOR2	nuclear receptor corepressor 2 (NCOR2), transcript variant 1
R-38	NM_007270.4	FKBP9	FK506 binding protein 9, 63 kDa (FKBP9), transcript variant 1
R-39	NM_016162.3	ING4	inhibitor of growth family, member 4 (ING4), transcript variant 1
R-40	NM_005937.3	MLLT6	myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia; translocated to, 6 (MLLT6)
R-41	AK021700.1		cDNA FLJ11638 fis, clone HEMBA1004323
R-42	NM_015662.2	IFT172	intraflagellar transport 172 (IFT172)
R-43	NM_032501.3	ACSS1	acyl-CoA synthetase short-chain family member 1 (ACSS1), transcript variant 1
R-44	NM_016102.3	TRIM17	tripartite motif containing 17 (TRIM17), transcript variant 1
R-45	NM_152753.3	SCUBE3	signal peptide, CUB domain, EGF-like 3 (SCUBE3), transcript variant 1
R-46	NM_133455.3	EMID1	EMI domain containing 1 (EMID1), transcript variant 1
R-47	NM_014640.4	TTL4	tubulin tyrosine ligase-like family member 4 (TTL4)
R-48	NM_001161616.2	RGL3	ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like 3 (RGL3), transcript variant 1
R-49	NM_024798.2	SNX22	sorting nexin 22 (SNX22), transcript variant 1
R-50	NM_032781.3	PTPN5	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 5 (striatum-enriched) (PTPN5), transcript variant 2
R-51	NM_005996.3	TBX3	T-box 3 (TBX3), transcript variant 1
R-52	NM_000875.4	IGF1R	insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R), transcript variant 1
R-53	NM_178238.3	PILRB	paired immunoglobulin-like type 2 receptor beta (PILRB)
R-54	NM_152748.3	KIAA1324L	KIAA1324-like (KIAA1324L), transcript variant 1
R-55	NM_003505.1	FZD1	frizzled class receptor 1 (FZD1)
R-56	NM_173812.4	DPY19L2	dpy-19-like 2 (C. elegans) (DPY19L2)
R-57	NM_032447.3	FBN3	fibrillin 3 (FBN3)
R-58	NM_001987.4	ETV6	ets variant 6 (ETV6)
R-59	NM_017563.3	IL17RD	interleukin 17 receptor D (IL17RD)
R-60	NM_032040.4	CCDC8	coiled-coil domain containing 8 (CCDC8)
R-61	NM_018257.2	PCMTD2	protein-L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransferase domain containing 2 (PCMTD2), transcript variant 1
R-62	NM_152730.5	TBC1D32	TBC1 domain family, member 32 (TBC1D32), transcript variant 1
R-63	NM_152739.3	HOXA9	homeobox A9 (HOXA9)
R-64	NM_021156.3	TMX4	thioredoxin-related transmembrane protein 4 (TMX4)
R-65	NM_002507.3	NGFR	nerve growth factor receptor (NGFR)
R-66	NM_004776.3	B4GALT5	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 5 (B4GALT5)
R-67	NM_015544.2	TMEM98	transmembrane protein 98 (TMEM98), transcript variant 1
R-68	NM_001852.3	COL9A2	collagen, type IX, alpha 2 (COL9A2)
R-69	NM_005247.2	FGF3	fibroblast growth factor 3 (FGF3)
R-70	NM_002523.2	NPTX2	neuronal pentraxin II (NPTX2)
R-71	NM_001853.3	COL9A3	collagen, type IX, alpha 3 (COL9A3)
R-72	NM_001851.4	COL9A1	collagen, type IX, alpha 1 (COL9A1), transcript variant 1
R-73	NM_014289.3	CAPN6	calpain 6 (CAPN6)
R-74	NM_002336.2	LRP6	low density lipoprotein receptor-related protein 6 (LRP6)
R-75	NM_001692.3	ATP6V1B1	ATPase, H+ transporting, lysosomal 56/58kDa, V1 subunit B1 (ATP6V1B1)

5

5

705

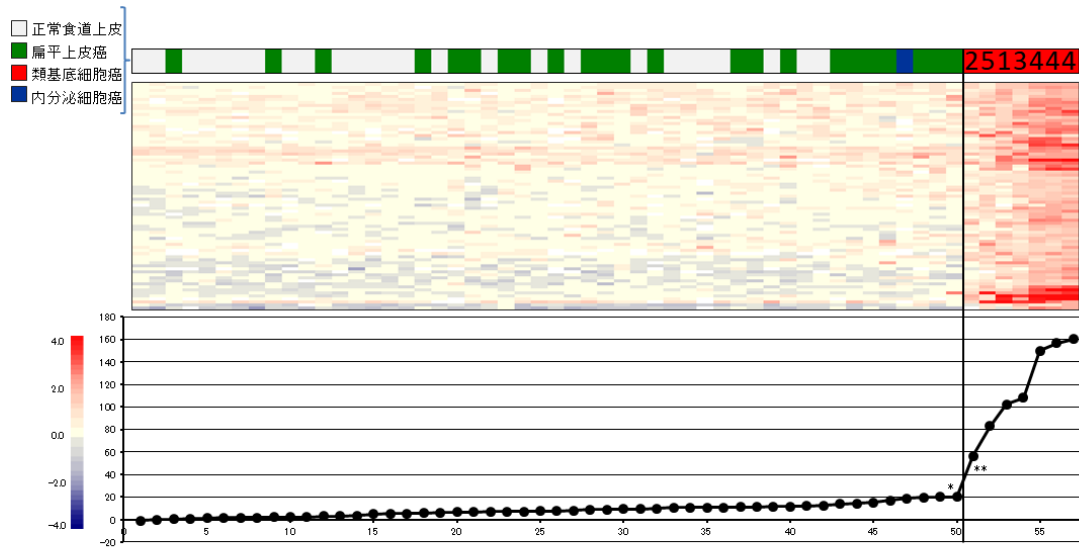


Fig 3 BSCE遺伝子発現スコアリングシステムの構築

75遺伝子発現スコアを左から小さい順に並べた結果を、スコアは折れ線グラフとして、75遺伝子群の発現レベルは2色のグラデーションのヒートマップとして示す。類基底細胞癌内の番号は、症例番号を意味する。図中の黒線はBSCEと非BSCEの境界線を表す。境界線の前後のスコアは*=20.2、**=56.5である。

710

715

Table 4 網羅的遺伝子発現解析を行った生検検体の内訳

組織型	生検検体 (N=312)
正常食道組織	229
扁平上皮癌	51
類基底細胞癌	8
内分泌細胞癌	1
腺癌	21
上皮内腫瘍	2

720

725

Table 5 生検を行った食道類基底細胞癌症例の結果

症例	年齢 性	凍結検体	生検病理診断	手術診断	75遺伝子 スコア
4	68 女	腫瘍部から4個	①:類基底細胞癌 ②:類基底細胞癌 ③:類基底細胞癌 ④:類基底細胞癌	類基底細胞癌	125.0 121.8 92.8 47.0
5	64 男	腫瘍部から2個	⑤:類基底細胞癌 #:扁平上皮癌	類基底細胞癌	79.6 65.6
6	65 男	腫瘍部から3個	⑥:類基底細胞癌 ⑦:類基底細胞癌 ##:扁平上皮癌	類基底細胞癌 扁平上皮癌	48.1 19.4 53.8
7	76 男	腫瘍部から1個	⑧:類基底細胞癌	未	98.3

730

735

740

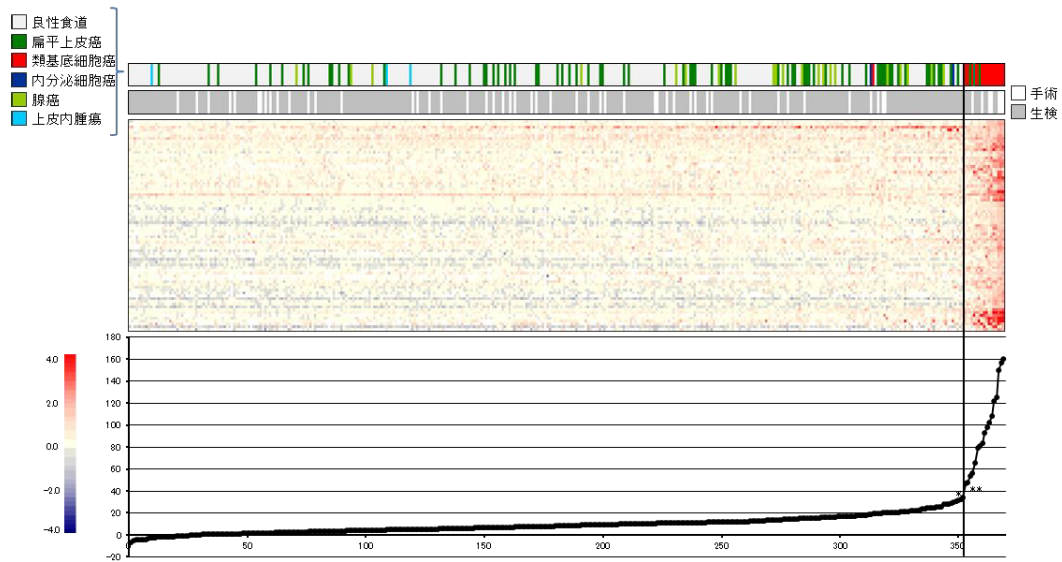
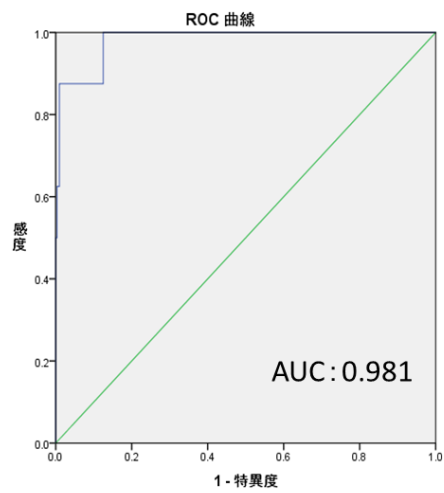


Fig 4 生検検体を用いたBSCC遺伝子発現スコアリングシステムの診断精度の検証

生検 312検体の75遺伝子発現スコアをFig.3に示すBSCC遺伝子発現スコアリングシステムに加えて、スコアを左から小さい順に並べ替えた。図中の黒線はROC曲線から導かれた75遺伝子発現スコアの至適カットオフ値(40.5)による境界線を示す。境界線の前後のスコアは*=-34.0、**=-48.1である。2段目は白色は手術検体を、灰色は生検検体を表す。

745

750



	BSCE	非BSCE	合計
カットオフ値 >	7	3	10
カットオフ値 <	1	301	302
合計	8	304	312
	87.5%	99.0%	

Fig 5:ROC曲線を用いた遺伝子発現スコアリングシステム鑑別診断精度の検証

青色の線がROC曲線を示す。

75遺伝子発現スコア = 40.5を至適カットオフ値とすると、AUC=0.981、感度 87.5%、特異度 99.0%であった。