

平成 26 年度労災疾病臨床研究事業

胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究  
—鑑別診断方法と症例収集—

平成 27 年 3 月

胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究班

胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究  
—鑑別診断方法と症例収集—

研究者一覧

研究代表者	労働者健康福祉機構岡山労災病院副院長	岸本 卓巳
研究分担者	国立病院機構山口宇部医療センター統括診療部内科系診療部長 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床腫瘍学教授 広島大学名誉教授 川崎医科大学衛生学教授 労働者健康福祉機構北海道中央労災病院検査科部長 川崎医科大学放射線医学准教授 国立病院機構福山医療センター呼吸器内科医長 広島大学大学院医歯薬保健学研究院病理学研究室教授 労働者健康福祉機構岡山労災病院腫瘍内科部長 労働者健康福祉機構千葉労災病院副院長	青江 啓介 芦澤 和人 井内 康輝 大槻 剛巳 岡本 賢三 加藤 勝也 玄馬 顕一 武島 幸男 藤本 伸一 由佐 俊和
研究協力者	広島大学大学院医歯薬保健学研究院病理学研究室 広島大学大学院医歯薬保健学研究院病理学研究室 労働者健康福祉機構岡山労災病院臨床病理科 労働者健康福祉機構岡山労災病院臨床病理科 労働者健康福祉機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 労働者健康福祉機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 労働者健康福祉機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター	櫛谷 桂 Amatya V. Jeet 藤木 正昭 妹尾 純江 児島 葉子 藤村 敬子 佐藤 史織

## 目次

はじめに	・・・・・・・・・・	1
1. アスベストならびに対照物質としての珪酸の免疫影響と、それらの臨床応用について		
大槻 剛巳	・・・・・・・・・・	2
2. 胸膜中皮腫の CT 画像に関する研究		
岸本 卓巳	・・・・・・・・・・	11
3. 悪性胸膜中皮腫診断における血清・胸水サイトカイン測定の意義について		
青江 啓介	・・・・・・・・・・	25
4. 中皮腫診断におけるバイオマーカーの研究		
藤本 伸一	・・・・・・・・・・	31
5. 中皮腫の確定診断のための免疫組織化学的検査の現状と今後について		
武島 幸男、櫛谷 桂、Amatya V. Jeet	・・・・・・・・・・	37
6. 胸膜中皮腫の的確な診断に資するための ICT を用いた遠隔病理及び画像診断の応用について		
井内 康輝	・・・・・・・・・・	51

## はじめに

以前から悪性中皮腫はその 80%以上が石綿ばく露によって発生することが欧米で報告されていた。我々は 2008 年から 2 年間に厚生労働科学研究によって行った全国調査により、日本において中皮腫で死亡した症例の 76.8%が石綿ばく露によって発生しており、その 73.7%は職業性石綿ばく露によって発生していることを報告した。

日本では 1978 年から職業性石綿ばく露歴が 5 年以上あって中皮腫であると診断された労働者は職業性発癌として労災補償の対象疾病とされてきた。現在の認定基準では 1 年以上の職業性石綿ばく露があって中皮腫の診断が担保されれば労災補償されるようになっている。

一方、画像や病理診断等の医学的な診断技術が進歩したことにより、日本では診断困難あるいは誤診される疾患や症例は極めて少なくなっている。しかし、本疾患は現在でもなお約 10%以上の症例が誤った診断がなされていることも事実であり、フランスでもほぼ同様の診断率であることが報告されている。

本研究班では「胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究」をテーマとして掲げ、胸膜中皮腫とその他の疾患の鑑別診断方法を検討するために、胸膜中皮腫あるいは鑑別すべき類似疾患症例の画像、末梢血リンパ球、血清及び胸水および腫瘍組織の収集を行い、労災疾病臨床研究事業費補助金を受けて、胸膜中皮腫の確定診断における胸部画像所見、胸水における新たな診断マーカー・サイトカイン等における他疾患との相違、及び病理組織学的な診断方法について、中皮腫診断精度を上げるための研究を開始した。

そして、胸部 CT における中皮腫像、胸水診断マーカー、サイトカイン及び病理組織学的な免疫染色手法を用いてその診断精度を高めるための研究の方向性あるいはその成果の一部を得たので報告する。

また、職業性石綿ばく露歴を含む臨床経過、胸部画像所見、病理診断における腫瘍組織や腫瘍細胞に対する比較的特異的な免疫抗体や遺伝子変異の検査等について、研究班員がすべてのデータを共有して総合診断できるシステムの構築を開始したので、その一端についても報告書にまとめた。

症例収集に当たっては、本研究においても診療情報を使用することを許可していただいた 2003 年から 2008 年に中皮腫によって死亡された患者の家族の皆様と情報提供いただいた病院関係者の皆様及び本研究の目的に賛同していただいた労災病院等の胸膜中皮腫患者の皆様 に深く感謝いたします。

平成 27 年 3 月 31 日

胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究班

研究代表者 岸本卓巳

アスベストならびに対照物質としての珪酸の免疫影響と、それらの臨床応用について

川崎医科大学衛生学 大槻 剛巳

## 1. 研究分担者らのこれまでの研究について

分担研究者・大槻の所属する川崎医科大学衛生学では、従来繊維・粒子状物質の生体影響、なかでも免疫担当細胞に対する影響を観察してきた。

繊維・粒子状物質としては、アスベスト繊維ならびに珪酸粒子を中心に研究を進めてきている。

### (1) 珪肺症における免疫調節の変化

その背景として、まず、珪肺の曝露症例である珪肺症では、塵肺症としての肺線維症や、その他呼吸器系の合併症に加えて、自己免疫疾患の合併が知られている。Caplan 症候群で知られている関節リウマチとの合併や、その他 SLE, 強皮症, 昨今では ANCA(抗好中球細胞質抗体)関連血管炎などの合併が報告されている。従来これらの合併については、珪酸粒子のアジュバント効果と考えられていたが、我々は、珪酸粒子自体が、直接的に T 細胞などの免疫担当細胞に作用し、自己免疫疾患の土壌を形成する方向にその作用が表出するのではないかと考えて、研究を進めてきた。

その結果、珪酸粒子は、自己抗原も含めた抗原に反応する反応性 T 細胞も、こういった反応性 T 細胞の抗原による増殖刺激を終息させるために抑制機能を有し、自らはアポトーシスによって消失していく制御性 T 細胞という一群の T 細胞の亜群の両者を慢性活性化することが捉えられた。特に制御性 T 細胞と反応性 T 細胞のバランスは、病態形成の上で重要で、制御性 T 細胞の質（機能）あるいは量（数）が減少するような自体は、外来抗原や自己抗原への反応が終息せず継続、過剰になることが想定されアレルギーや自己免疫疾患の発症につながる。また、制御性 T 細胞の質量の増強は、特に腫瘍免疫に関連して、抗腫瘍免疫を担う免疫担当細胞への抑制が増強されるために、腫瘍の発症や加速化が懸念されると考えられている。珪酸粒子の曝露では、反応性 T 細胞の活性化が生じ、これらは CD69, CD25, 可用性 IL-2 受容体分子そして PD-1 分子の高発現として捉えられ、また、CD95/Fas 細胞死受容体を介したアポトーシスを、細胞外で迎撃ミサイルのごとく Fas ligand と結合して細胞が Fas 媒介アポトーシスに陥らないようになる可用性 Fas 分子を血清蛋白量としても、末梢血単核球の遺伝子発現としても過剰に産生することに加えて、同様の機能を有する decoy receptor 3 遺伝子や他の Fas 遺伝子の alternative splicing variants の過剰発現などが観察されることによって、これらの反応性 T 細胞は、長期生存さらに活性化の状

態にあり、おそらくは自己認識クローンも含まれていくことになろうと考えられた (図1)。

さらに制御性 T 細胞に関しても、珪肺症例の末梢血制御性 T 細胞分画と考えられる CD4+25+ の細胞集団の、反応性 T 細胞のアロ抗原刺激による細胞増殖の抑制機能は減弱していること、珪肺症例の制御性 T 細胞のマスター遺伝子である FoxP3 遺伝子発現している分画の細胞集団では CD95/Fas 分子が健常人より高度に発現しており、よって、Fas 刺激による珪肺症例の制御性 T 細胞は早期にアポトーシスが生じて、喪失していくこと、さらに実験系でも健常人の末梢血単核球を珪酸粒子と共培養していると制御性 T 細胞の早期の喪失が生じ、さらに反応性 T 細胞の活性化に伴って CD25+ 分画は逆に若干増加することなどが観察された。

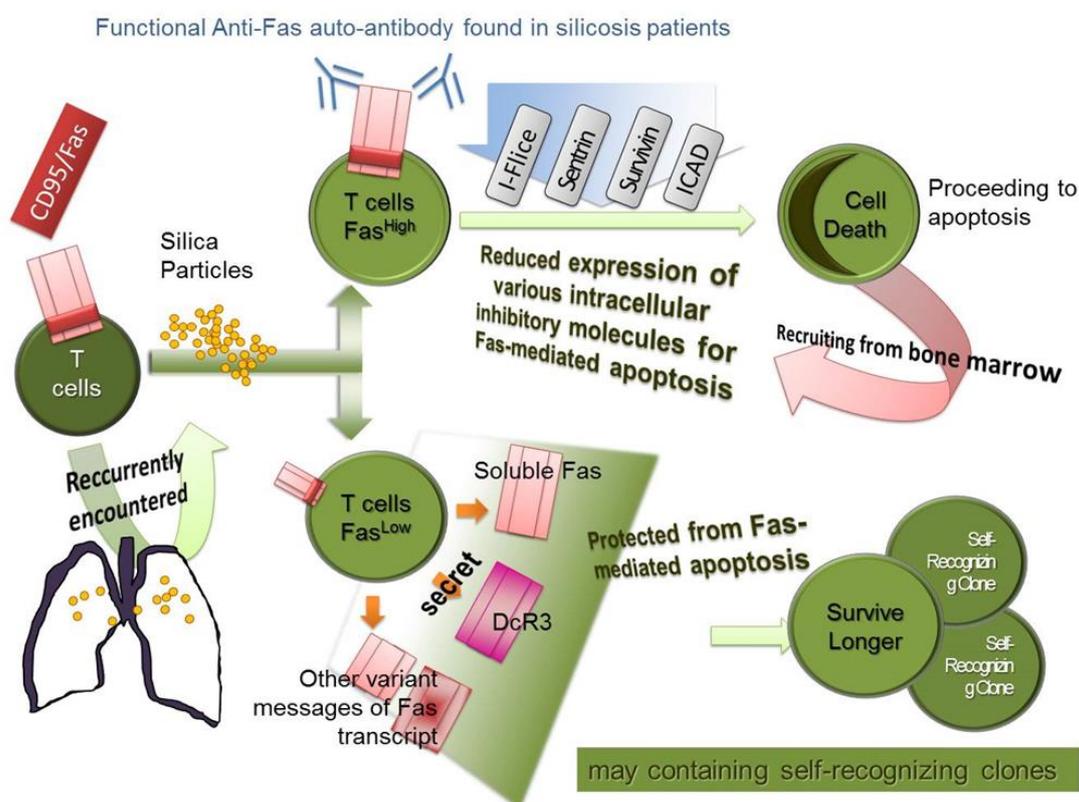


図1 : Takei-Kumagai N, et al. Immunological effects of silica. In. Encyclopedia of Metalloproteins (ed. Vladimir N. Uversky, Robert H. Kretsinger, and Eugene A. Permyakov), Springer, " 10.1007/978-1-4614-1533-6\_445 © Springer Science+Business Media New York 2013 より

これらの減少をまとめてみると、珪肺症例では、珪酸粒子による慢性活性化が反応性 T 細胞と制御性 T 細胞、両者に生じることにより、両者のバランスが反応性 T 細胞優位に傾くため将来的な自己免疫疾患の合併に近づいていく可能性が示唆された (図2)。

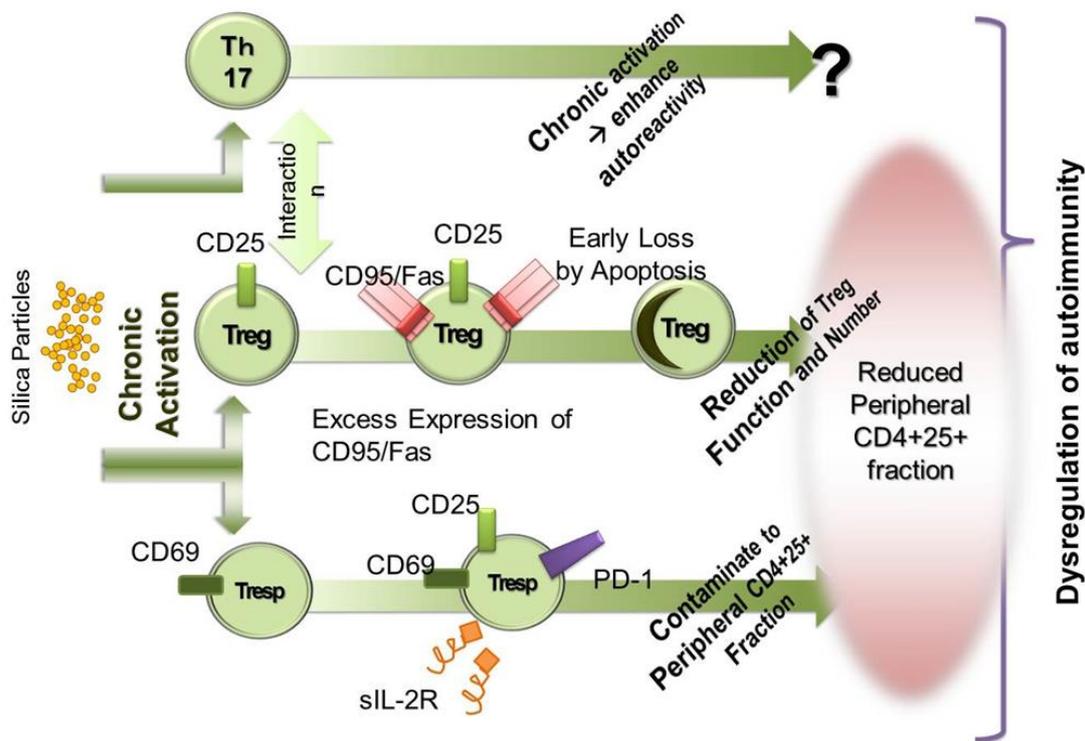


図 2 : Takei-Kumagai N, et al. Immunological effects of silica. In. Encyclopedia of Metalloproteins (ed. Vladimir N. Uversky, Robert H. Kretsinger, and Eugene A. Permyakov), Springer, " 10.1007/978-1-4614-1533-6\_445 © Springer Science+Business Media New York 2013 より

(2) アスベストの免疫担当細胞への影響について

物理学的にはアスベストは繊維状物質であり、珪酸粒子とは異なるが、化学的には Si と O を核として、鉄やマグネシウムなどが結合した珪酸の金属塩として捉えられる。

よって、珪酸が免疫担当細胞に直接的な影響もあると判断されることから、アスベスト繊維もまた、そういった作用を有していると考えられた。さらにアスベスト曝露も、病態として異なっている詳細な部分があるにしても、肺の線維化（石綿肺）を生じる上に、やはりアスベストの問題としては悪性中皮腫・肺癌に代表される発癌である。この場合、アスベストの免疫担当細胞への影響が、おそらく腫瘍免疫を減衰させると捉えると、長期の初期曝露からの潜伏期や、一旦発症してからの急速な進行などが理解しやすいと考え、この観点にて検討を進めてきている（図 3）。

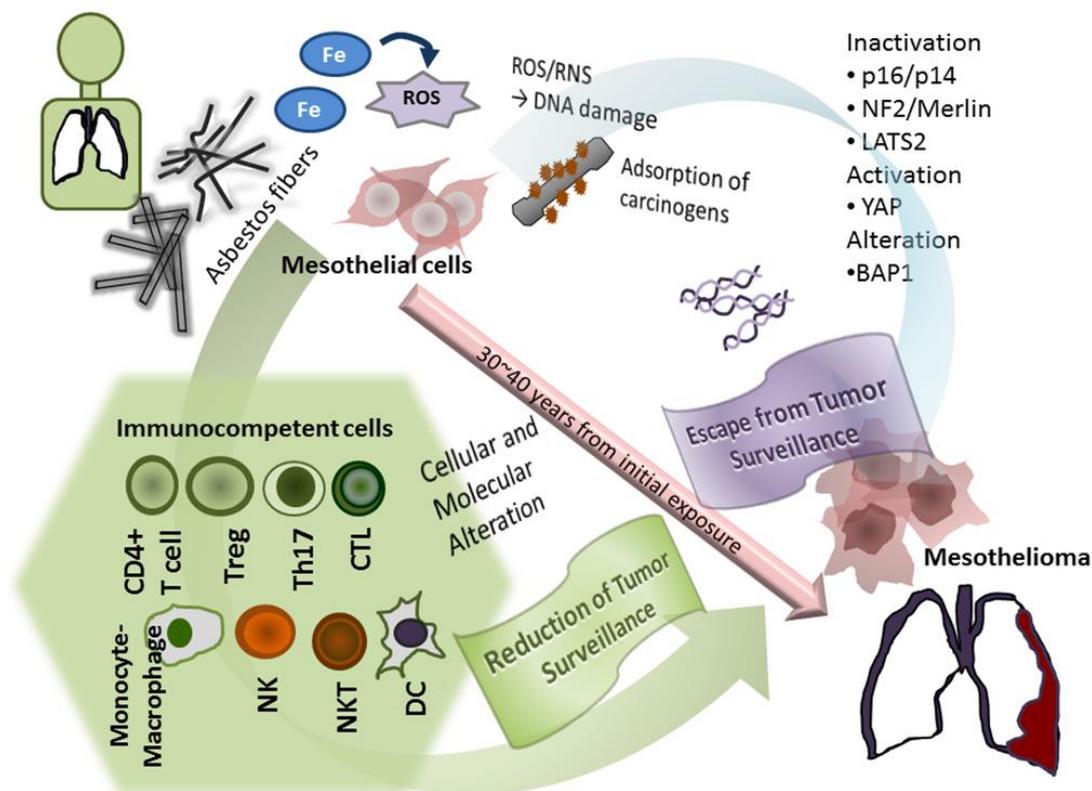


図 3 : Matsuzaki H, et al. Exploration of biomarkers for asbestos exposure and occurrence of malignant mesothelioma based on the immunological effects of asbestos. *J Postgenomics: Drug & Biomarker Dev.* <http://dx.doi.org/10.4172/2153-0602.S2-001> より

(i) T 細胞への影響

HTLV-1 で不死化した MT-2 というヒト多クローン性 T 細胞株を用いて、実際の曝露と同様の低濃度継続曝露のモデルを構築した。継続曝露亜株と親株（アスベストに曝露されたことのない細胞群）との比較の中で種々の細胞生物学的な比較を行ってみた。

その結果、長期継続曝露によって亜株では、一過性高濃度曝露の際に親株で認められたアスベスト誘導アポトーシスへの抵抗性を示すようになっていた。このアポトーシス抵抗性の分子基盤としては、おそらく細胞膜表面の Src キナーゼの変化に伴い、細胞内で IL-10 が高発現・高産生となること、この IL-10 をオートクリン機構（自己利用）によって IL-10 受容体を介して情報が伝達され、STAT3 のリン酸化による活性化、そして下流に存在する Bcl-2 蛋白の過剰発現によってアスベスト誘導アポトーシスに対する抵抗性を獲得したと考えられた。

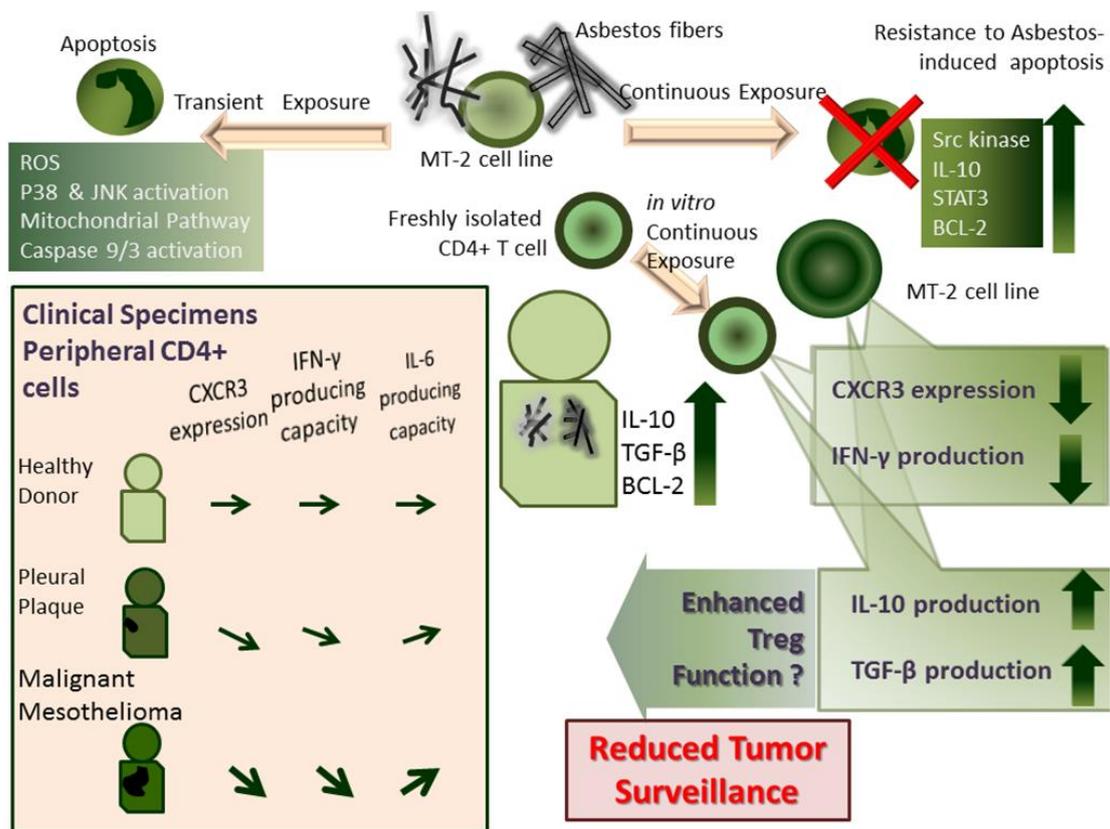


図 4 : Matsuzaki H, et al. Exploration of biomarkers for asbestos exposure and occurrence of malignant mesothelioma based on the immunological effects of asbestos. J Postgenomics: Drug & Biomarker Dev. <http://dx.doi.org/10.4172/2153-0602.S2-001> より

その後、同様の亜株（主にクリソタイル曝露—使用量からの判断で実験的にはクリソタイルを主に使用—、後にクロシドライトの長期曝露亜株も作製）を、非依存的に7株作製し cDNA マイクロアレイ法で、確認すると、親株と亜株全体では遺伝子発現パターンが異なっており、また、亜株ではほぼ同様の変化と捉えられたことから、これらの亜株で捉えられる細胞生物学的な変化は、アスベストの T 細胞への変化として十分判断可能なものであろうと考えられた。

その後 pathway 解析や signal transduction 解析などの結果、腫瘍免疫に重要なケモカイン受容体の一つである CXCR3 の減弱と IFN- $\gamma$  の減弱が抽出され、これらの変化について、MT-2 の親株と亜株群での検証の後、健康人から採取した末梢血新鮮 T 細胞を実験系で増殖刺激を加える系の中で、アスベスト繊維との共培養を行ってみても、やはり CXCR3 の発現減弱さらに IFN- $\gamma$  の発現減弱が確認された。

そこで、実際にアスベスト曝露者と確定される胸膜プラーク症例あるいは悪性中皮腫症例からの検体で検討した結果、やはりアスベスト曝露者の末梢血 CD4+細胞での CXCR3 発現は有意に減弱しており、また、IFN- $\gamma$  産生能や発現についても、採取検体の末梢血 T 細

胞を実験系で刺激した場合に、減弱していることが判明した。

これらの結果から、アスベスト曝露は T 細胞に影響し、さらに腫瘍免疫を減衰させる方向へと誘導することが想定された。

加えて、胸膜プラークやさらには、特に悪性中皮腫の症例から採取された T 細胞では実験系刺激後の炎症性サイトカインである IL-6 の産生能が亢進（健常人由来の細胞と比較して）していることも判明し、これらは胸膜におけるアスベスト曝露に伴う慢性炎症が中皮腫発症などにも関与している可能性が考えられた（図4）。

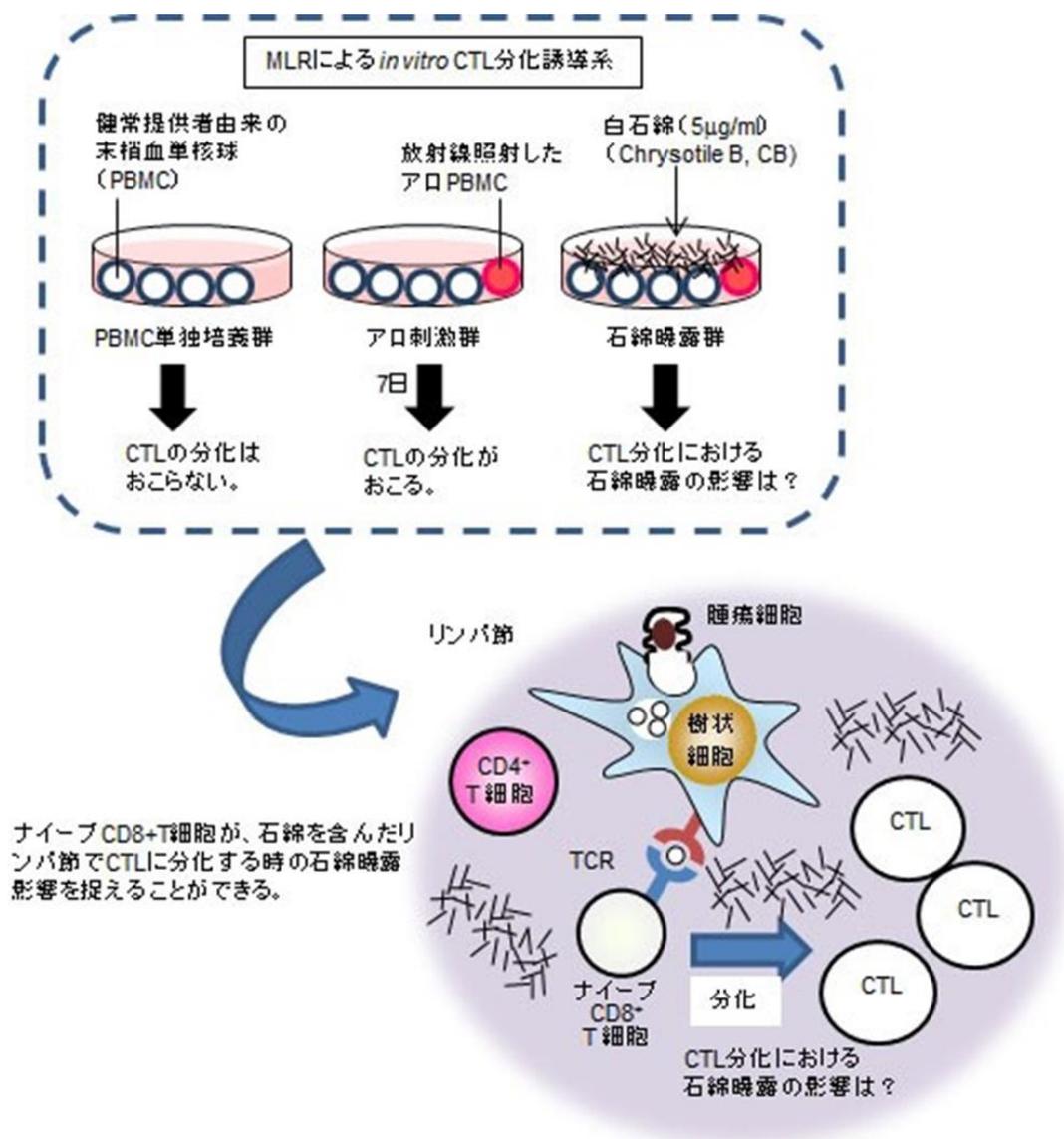


図5：武井直子，他．抗腫瘍免疫への石棉曝露影響．日本予防医学会雑誌 (in press)より

(ii) 細胞傷害性 T 細胞への影響

加えて、腫瘍免疫に重要な役割を担う CD8+細胞傷害性 T 細胞について、実験系で、アロ刺激に際して、クリソタイル曝露が、その clonal expansion と呼ばれる増殖と分化にどのような影響があるかを検討してみた結果、アスベスト曝露によって増殖も分化も抑制されることが判明した (図5)。

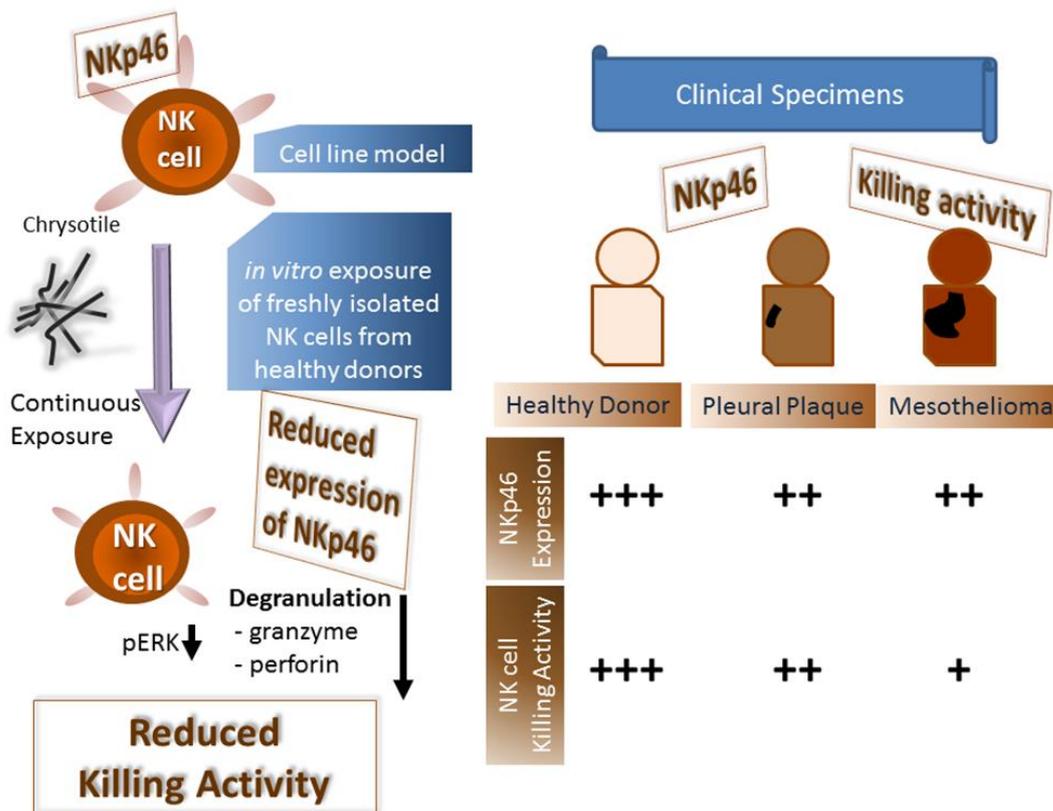


図 6 : Matsuzaki H, et al. Exploration of biomarkers for asbestos exposure and occurrence of malignant mesothelioma based on the immunological effects of asbestos. J Postgenomics: Drug & Biomarker Dev. <http://dx.doi.org/10.4172/2153-0602.S2-001> より

(iii) NK 細胞への影響

さらに、同じく腫瘍免疫に重要な役割を有する NK 細胞についても、T 細胞と同様に細胞株への継続長期曝露、健康人末梢血より採取した新鮮 NK 細胞への実験系でのアスベスト曝露の結果、アスベスト曝露によって NK 細胞の殺細胞効果は減弱し、その際に、何らかの NK 細胞活性化受容体 (NK 細胞が腫瘍細胞を傷害し殺細胞効果を呈する際に、発現す

ることが知られている数種の受容体)の発現減弱を伴うということが判明した。よって、胸膜プラークや悪性中皮腫の症例で検討してみると、これらの受容体の一つ、NKp46の発現度が、健常人も含めた症例群の殺細胞効果と有意な逆相関を示し、また、胸膜プラーク→悪性中皮腫とこの発現が低下していた。このことは、胸膜プラーク症例の中でNKp46の発現度によって、将来的な中皮腫発症への予測も可能にすることが示唆された(図6)。

## 2. 平成26年度の成果

平成26年度の本研究班での検討としては「胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究」という命題の中で、これまで研究を進めてきた免疫担当細胞の変化から、例えば、T細胞でのCXCR3発現あるいはNK細胞でのNKp46発現など、健常人、胸膜プラーク(アスベスト曝露はあるものの担癌ではない状態)、さらに悪性中皮腫との判別が可能であることも示唆されるような成果を得ていたことを受けて、その他網羅的な免疫担当細胞に関連するようなサイトカインのプロフィール、さらには種々の免疫担当細胞の遺伝子発現や細胞膜分子の発現を網羅的に観察する手段の検討などを行ってきた(図7)。

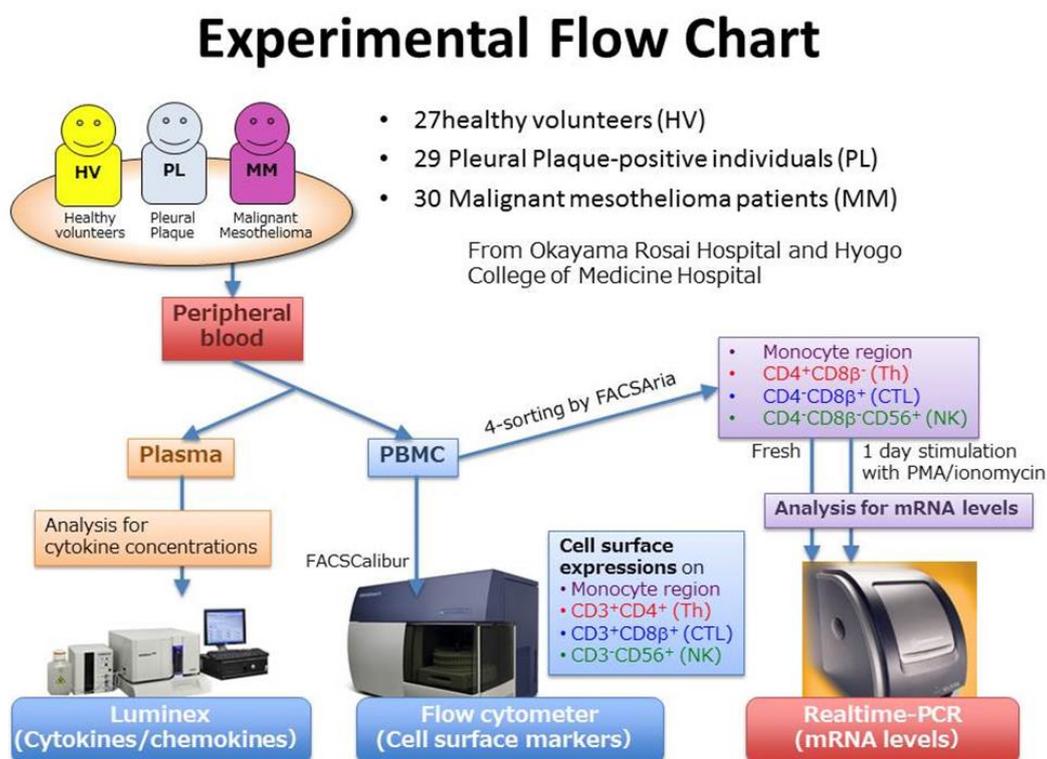


図7: 網羅的観察のフロー図案

### 3. 平成27年度の方針

図7で示した案を、さらに洗練させるとともに、今後、多くの症例検体を、収集し（本研究班の中で、症例収集を実施する）、免疫担当細胞のアスベスト曝露による変化に基づいたアスベスト曝露あるいは悪性中皮腫担癌の診断指標の構築に向けて、努力をする予定である。

これらの成果が適った場合には、採血によって抽出された遺伝子・分子・サイトカインの変化を捉えることが可能となり、ハイリスクグループの検診などについても、従来の放射線診断技術を用いた方法に比較して、被曝の問題などからの回数の制限から脱却でき、10ないし20ml程度の採血であれば、毎月でも可能ともなる。

そして、この評価によって、アスベスト曝露あるいは中皮腫担癌などが疑われた場合に、詳細の放射線診断を含めた検査に道筋を取るようにすることも可能である。

さらには、現在は、胸膜プラークや悪性中皮腫症例を対象としているが、これに良性石綿胸水などの症例を加えていくことによって「胸水の症例において石綿によるものと他の原因によるものとの鑑別が困難な症例」における的確な診断技術あるいはイニシャルスクリーニングの手法を確立する方向へ向かうことが可能と考える。

## 胸膜中皮腫の CT 画像に関する研究

岡山労災病院 岸本 卓巳

(目的) 胸膜中皮腫は早期診断が難しい疾患であると言われているが、胸部画像上胸膜肥厚や腫瘍形成を示さない症例にも遭遇する。そこで胸膜中皮腫と診断された症例が初診時にどのような画像所見を呈したかについて検討した。その内容は臨床上胸膜中皮腫であると診断されていた症例について病理・細胞診等にて確定診断後、胸膜中皮腫あるいは中皮腫以外であると確定された症例の初診時の胸部 CT 画像所見の相違について検討した。また、胸膜中皮腫の病理組織型別に画像上の特徴的所見があるかどうかを検討した。

(対象と方法) 全国で 2003 年～2005 年までに胸膜中皮腫で死亡した症例で遺族及び死亡診断書を作成した病院での同意を得て画像等の診療情報を収集した。そのうち胸膜中皮腫 349 例を対象とした。そのうち組織型が確定している 234 例と 2000 年から 2014 年までの 15 年間に岡山労災病院で胸膜中皮腫と診断された 149 例の合計 383 例に分けて検討した。また、対照として臨床上は胸膜中皮腫と診断されていたが、病理組織診断・細胞診において胸膜中皮腫以外と確定診断された 51 例を対象とした。その内訳は肺癌が 31 例、感染性胸膜炎等が 11 例、肉腫が 4 例、良性石綿胸水が 3 例、珪肺と心不全による胸水が各 1 例であった。そして、これら症例の初診時の胸部 CT 画像について、以下に示すように 1)~7)までに分類した (表 1)。

表 1. 胸膜中皮腫の初診時 CT 画像の特徴

- 1: 単発胸膜腫瘍形成
- 2: 環状胸膜肥厚  
(厚みがおおむね5mm以上)
- 3: 軽度胸膜肥厚(厚みが3mm未満)
- 4: 縦隔側胸膜肥厚
- 5: 胸水のみ
- 6: 多発性腫瘍形成(漿膜腫瘍)
- 7: 特殊型  
(胸壁腫瘍形成、縦隔腫瘍形成等)

すなわち、1：単発胸膜腫瘤形成型、2：環状胸膜肥厚型、3：軽度胸膜肥厚型、4：縦隔側胸膜肥厚型、5：胸水のみ、6：多発性腫瘤形成型（漿膜腫瘤）、7：特殊型である（図1～12）。また、胸水の有無について中皮腫とそれ以外の疾患別に合併率を検討した。また、胸膜中皮腫以外の症例は原疾患を明確にし、胸膜中皮腫と画像所見が異なるかどうかについて検討した。



図 1. 1:単発胸膜腫瘤形成型

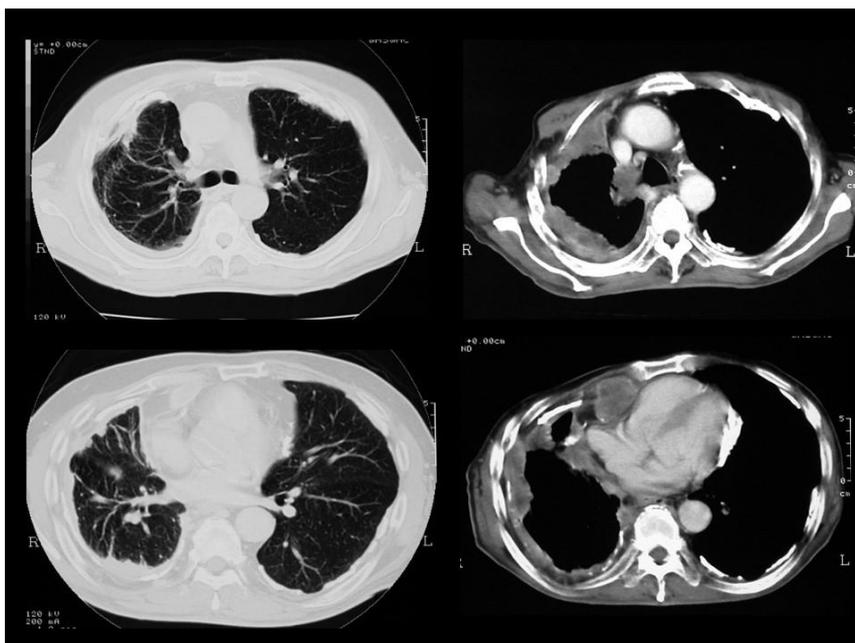


図 2. 2:環状胸膜肥厚



图 3. 2:環状胸膜肥厚

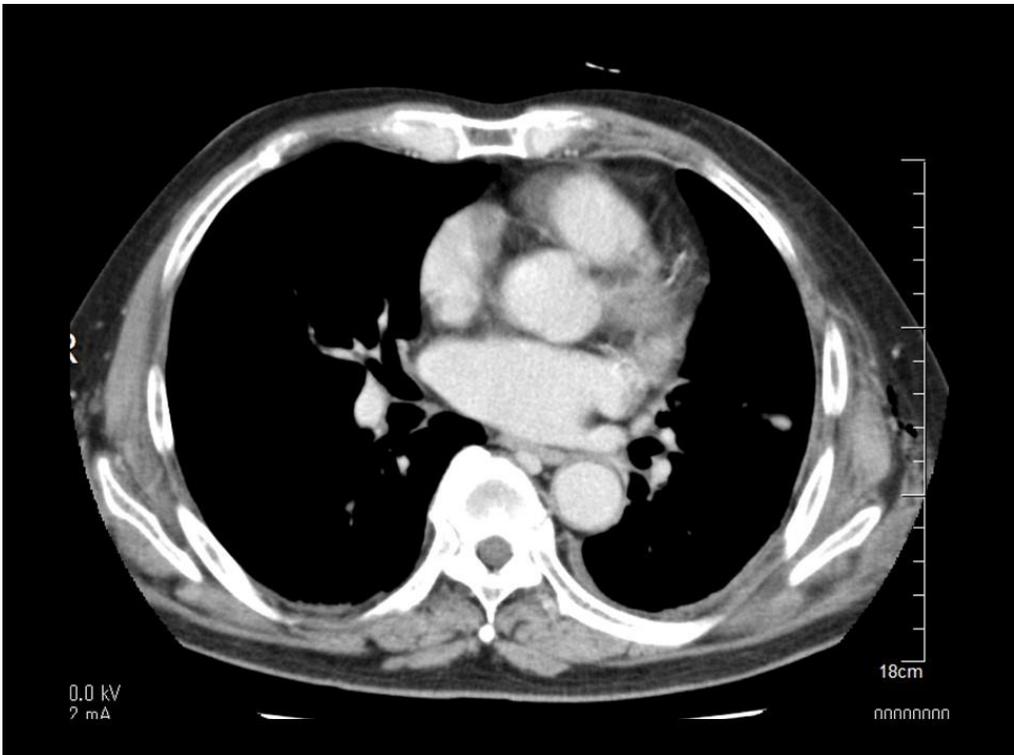


图 4. 3:轻度胸膜肥厚

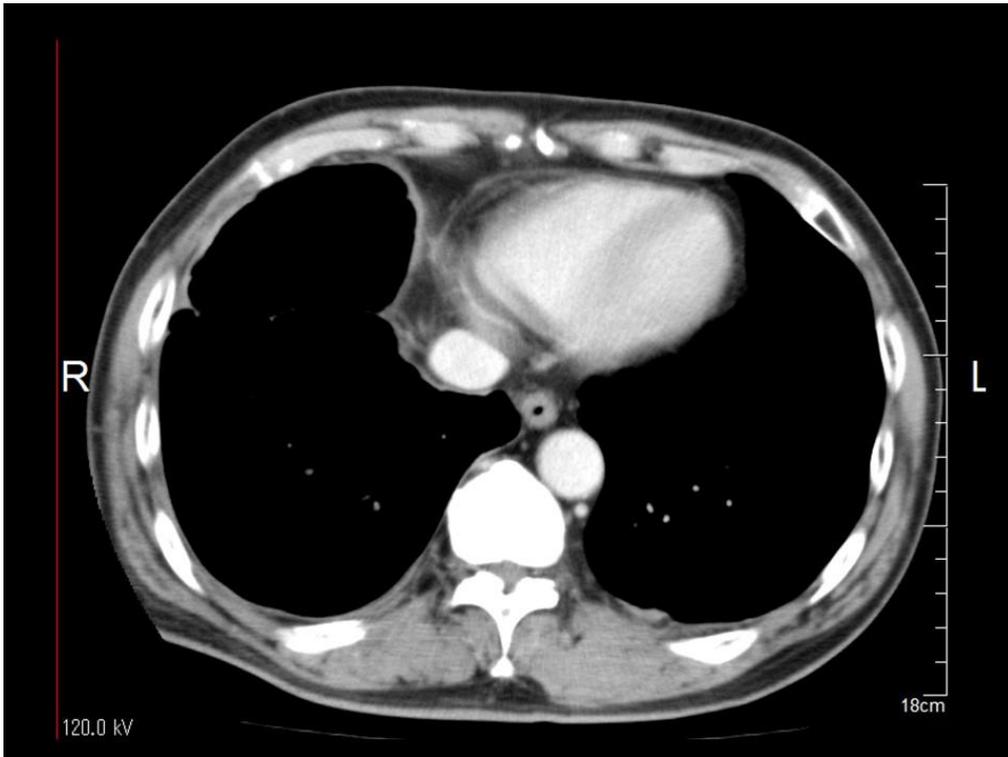


图 5. 3:轻度胸膜肥厚+4:縱隔側胸膜肥厚

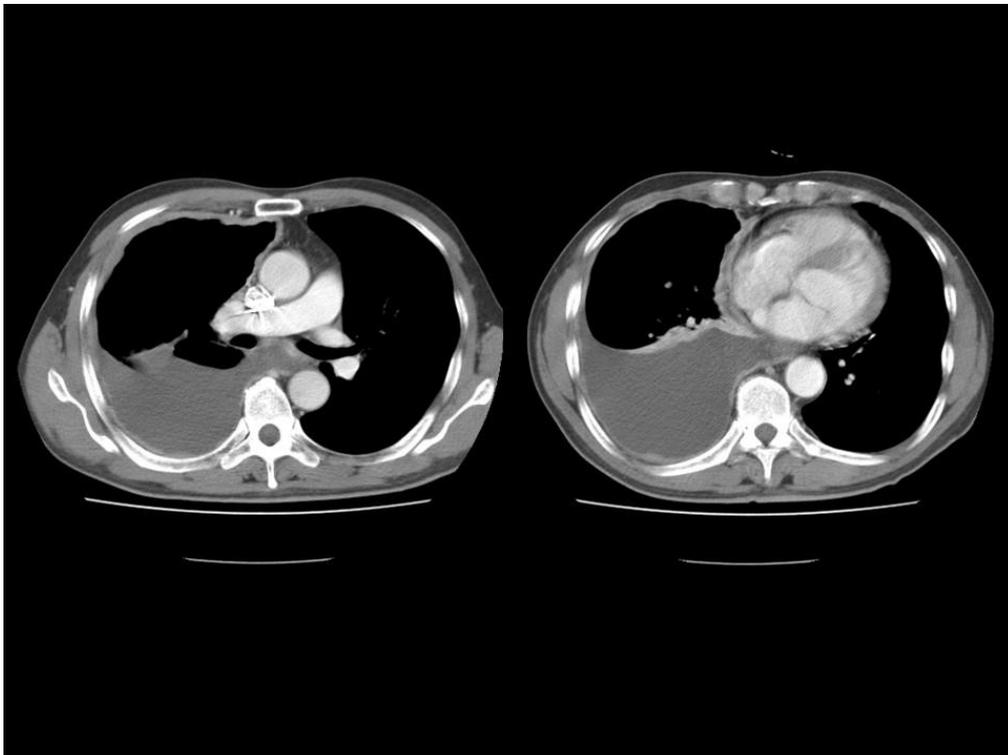


图 6. 3:轻度胸膜肥厚+4:縱隔側胸膜肥厚

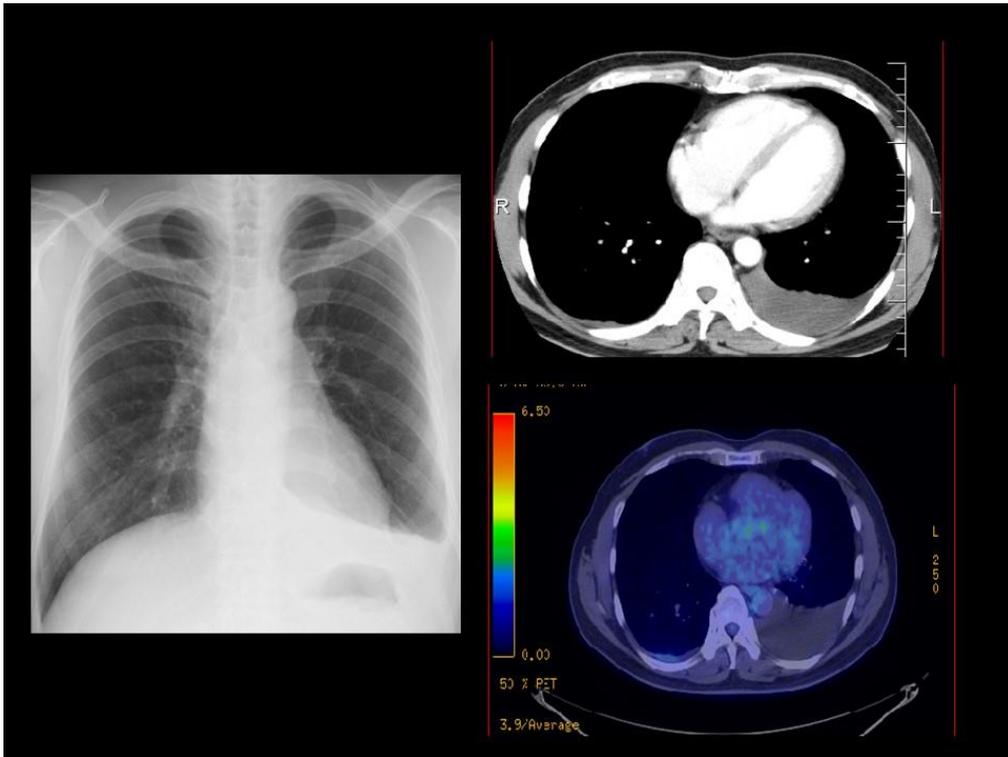


図 7. 5:胸水のみ

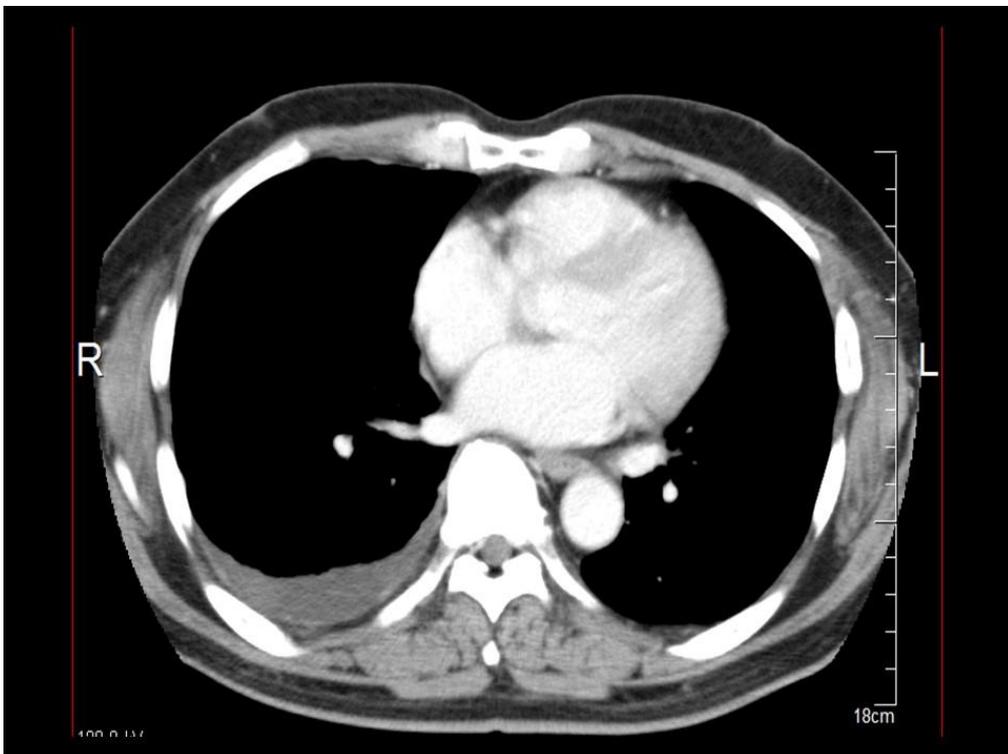


図 8. 5:胸水のみ

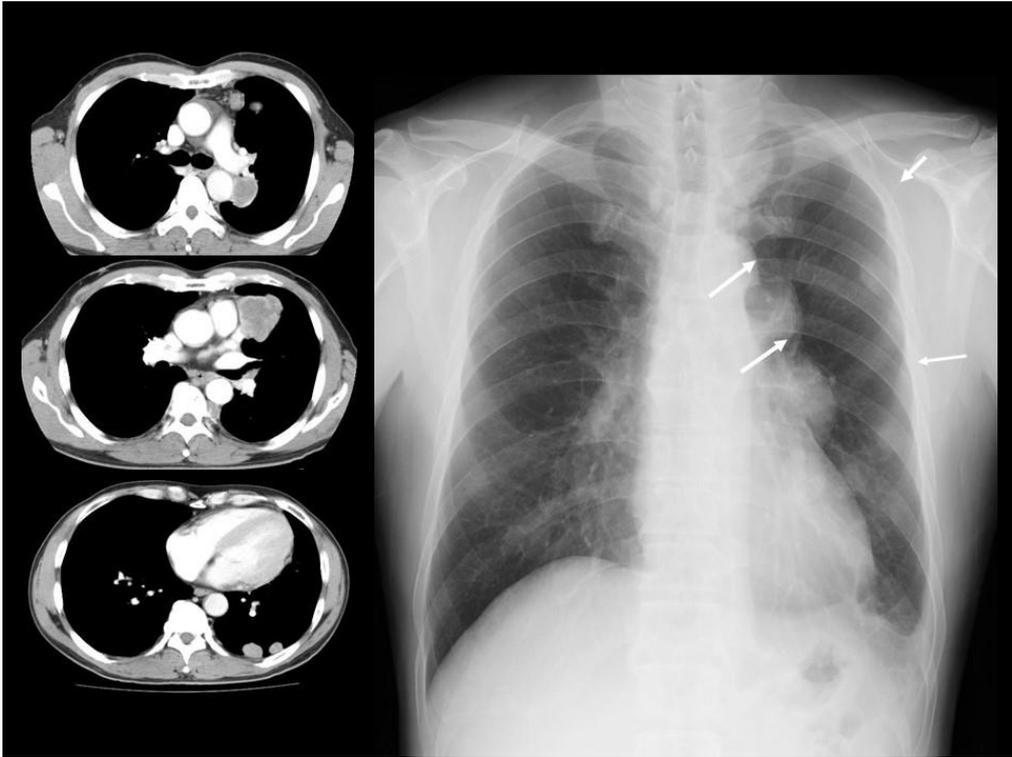


图 9. 多發腫瘤型

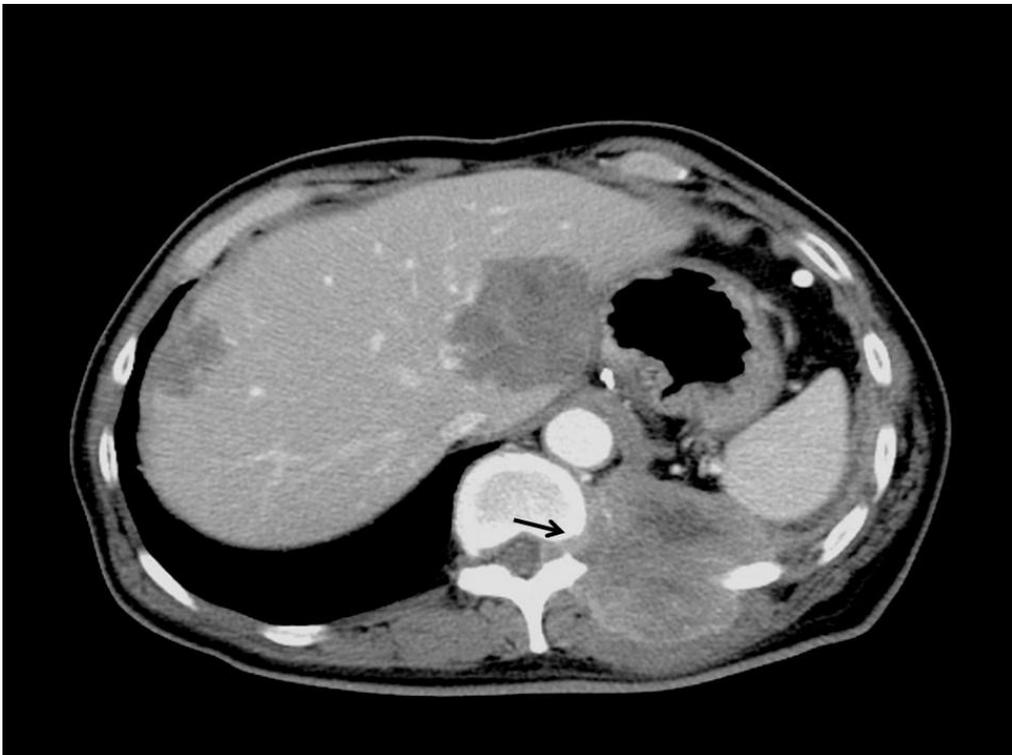


图 10. 7:特殊型 (胸壁腫瘤形成型)

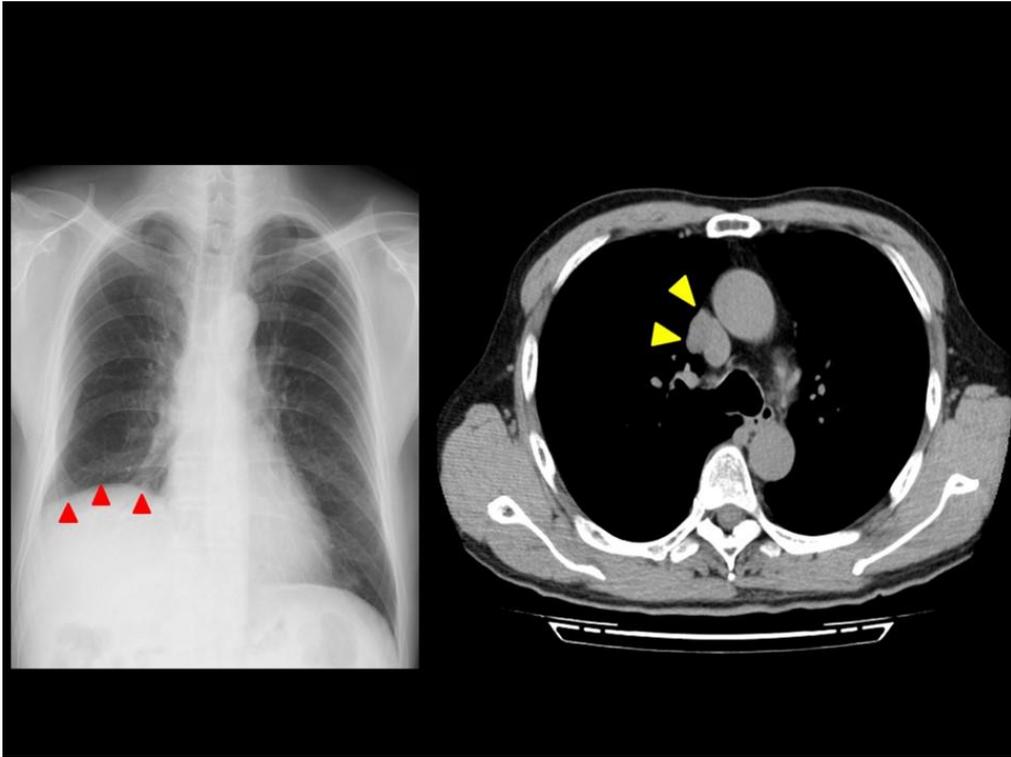


図 11. 7:特殊型 (縦隔腫瘍型)



図 12. 同症例の6ヶ月経過時

(結果) 全国集計の胸膜中皮腫 349 例の組織型別内訳は、上皮型 128 例、二相型 44 例、肉腫型 59 例、特殊型 3 例で、その他の 115 例は胸膜中皮腫の診断を得ていたが、組織型分類は不明であった (図 13)。これら症例の胸部 CT 画像上の分類を図 14 に示す。環状胸膜肥厚型が最も多く 46.1%で、胸水のみが 12.6%、多発性腫瘍形成型が 14.7%、単発性腫瘍形成型が 7.6%であった。一方、胸水貯留は 87.7%に認められた。

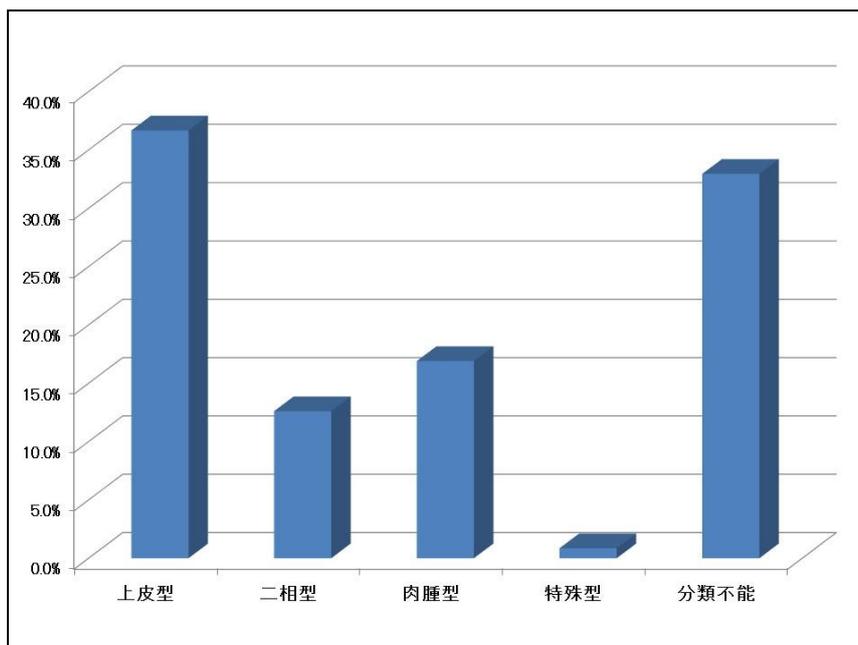


図 13. 胸膜中皮腫 349 例の組織型(2003~5 年追跡調査)

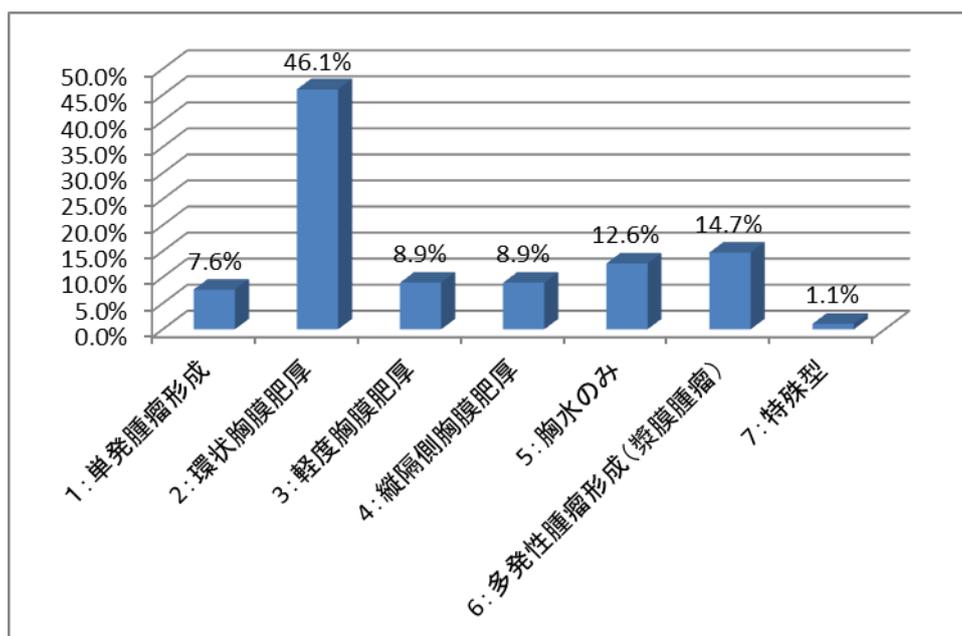


図 14. 初診時の画像の型別分類

病理組織型が確定した胸膜中皮腫を対象とした 383 例の病理組織型は上皮型 230 例 (60.1%)、二相型 62 例 (16.2%)、肉腫型 86 例 (22.5%)、特殊型 5 例 (1.3%) であった (図 15)。そのうち、胸水を伴う症例は 89.6% であった。画像パターンでは、環状胸膜肥厚型が 177 例 (42.2%) と最も多く、次に多発腫瘤形成型が 59 例 (14.1%)、胸水のみが 54 例 (12.9%) で、単発腫瘤形成型は 36 例 (8.6%) で (図 16) 上述の全国集計のパターンと同様であったが、胸水のみ症例が多発腫瘤形成型よりも多かった。

組織型別では、上皮型 230 例 (図 17) では環状胸膜肥厚型が 101 例 (39.5%)、と最も多く、次に胸水のみが 41 例 (16.0%)、多発腫瘤形成型が 37 例 (14.5%)、であった。二相型 62 例 (図 18) では環状胸膜肥厚型が 47.1%、次いで縦隔側胸膜肥厚型と胸水のみが 13.2% と多く、多発腫瘤形成は 11.8% で単発腫瘤形成は 2.9% と著しく少なかった。さらに肉腫型 86 例 (図 19) では環状胸膜肥厚型が 47.8%、単発腫瘤形成型と多発腫瘤形成型が各 13.3% であった。一方、胸水のみはわずか 4.4% であった。Desmoplastic 型 3 例では環状胸膜肥厚型、縦隔側胸膜肥厚型、多発性腫瘤形成型が各 1 例であった。

胸膜中皮腫以外の疾患では胸水貯留は 80.4% であり、中皮腫に比較して胸水の合併頻度は低かった。また、画像のパターン (図 20) では単発腫瘤形成型が 17 例 (30.9%) と最も多く、次いで環状胸膜肥厚型が 12 例 (21.8%)、胸水のみが 10 例 (18.2%)、多発腫瘤形成型が 7 例 (12.7%) であった。中皮腫以外の疾患では、肺癌との鑑別を要する症例が 61% と最も多かった。肺癌を鑑別しなければならぬ画像パターンでは単発腫瘤形成型が最も多かった (図 20)。単発腫瘤形成型中皮腫が肺や胸壁に浸潤しているのか肺癌が胸膜や胸壁に浸潤しているのかは画像上診断が難しく、このような場合には適切な組織検査が必要であることが明らかとなった。肺癌の組織型では扁平上皮癌や pleomorphic 型を示す症例が多い傾向にあった。次いで胸膜中皮腫類似の環状胸膜肥厚型を呈する症例が 21.8% と多かった。画像は類似するが、病理組織検査では肺癌と診断される pseudomesotheliomatous carcinoma で adenocarcinoma が大半であったが、small cell を呈する症例もあった。また、胸水の合併は中皮腫に比較して頻度は少なかったものの胸水のみを呈する症例は全体の 18.2% であったが診断名は胸膜中皮腫早期型あるいは desmoplastic 型中皮腫と鑑別の必要な線維性胸膜炎 (良性石綿胸水) あるいは感染性胸膜炎、結核性胸膜炎と診断された症例であった。上述の良性疾患も鑑別診断として念頭に入れておく必要があると思われる。

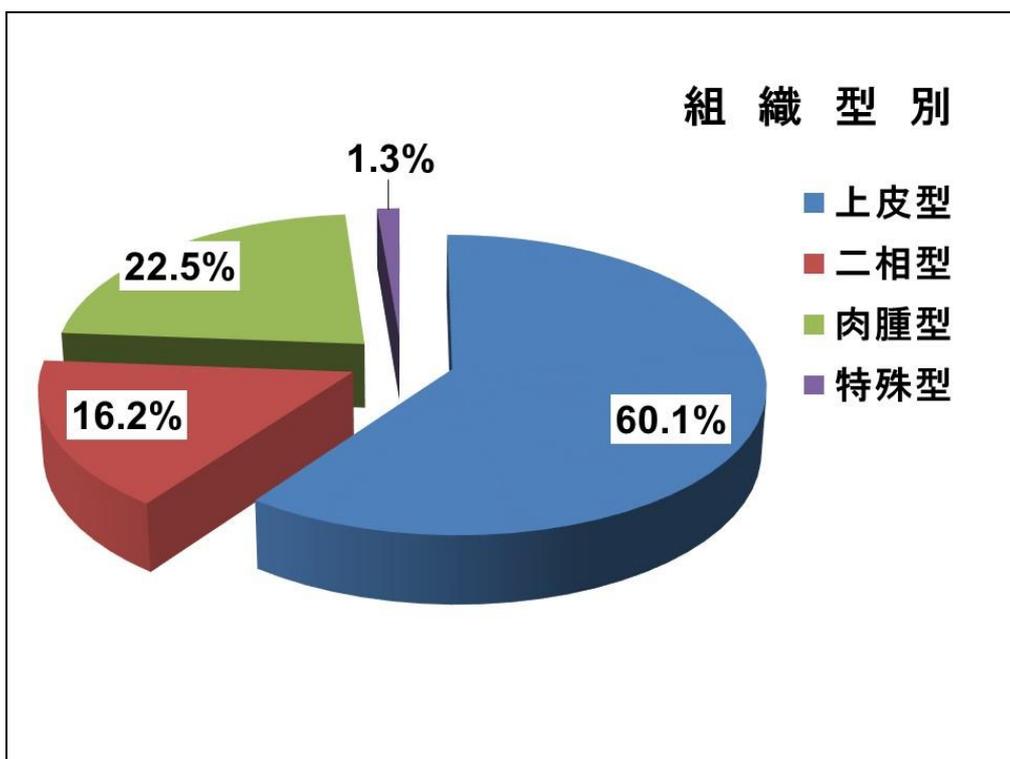


図 15. 組織型確定胸膜中皮腫 383 例(岡山労災病院+全国調査)

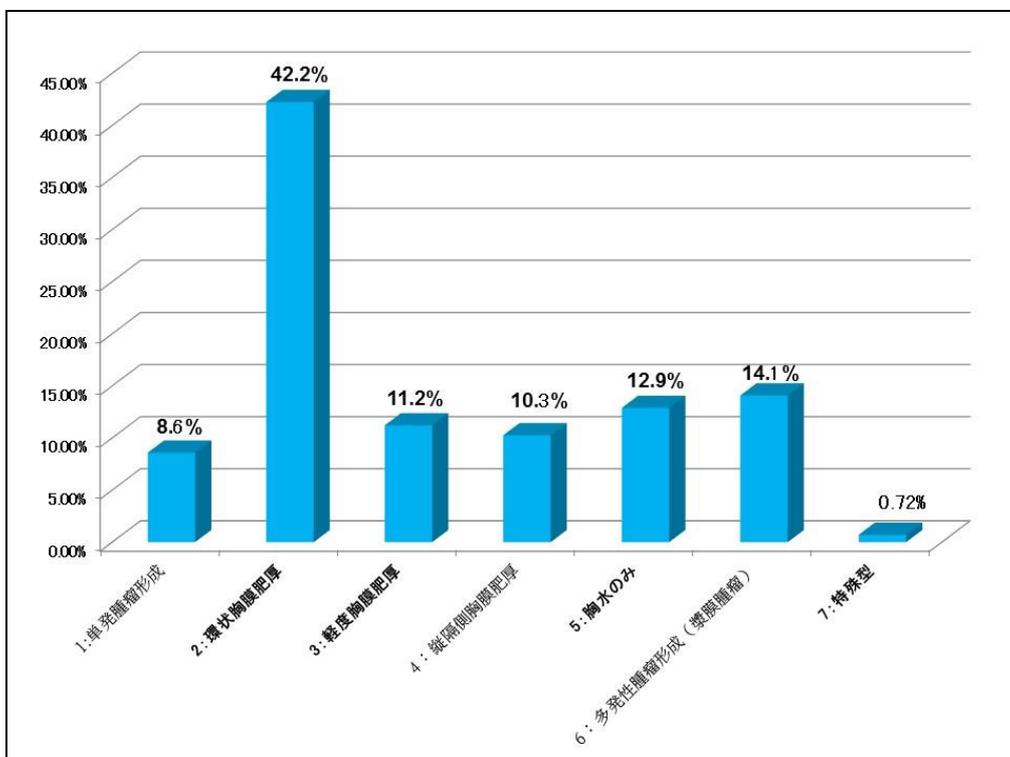


図 16. 組織型確定胸膜中皮腫の初診時画像所見

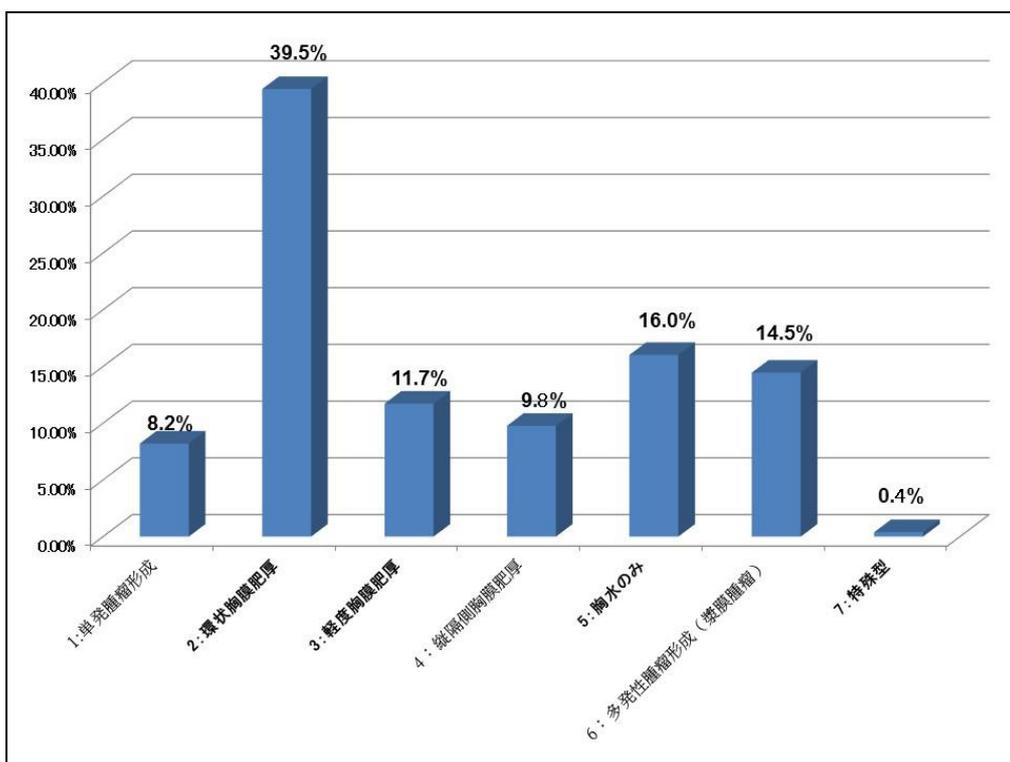


図 17. 上皮型胸膜中皮腫の画像所見

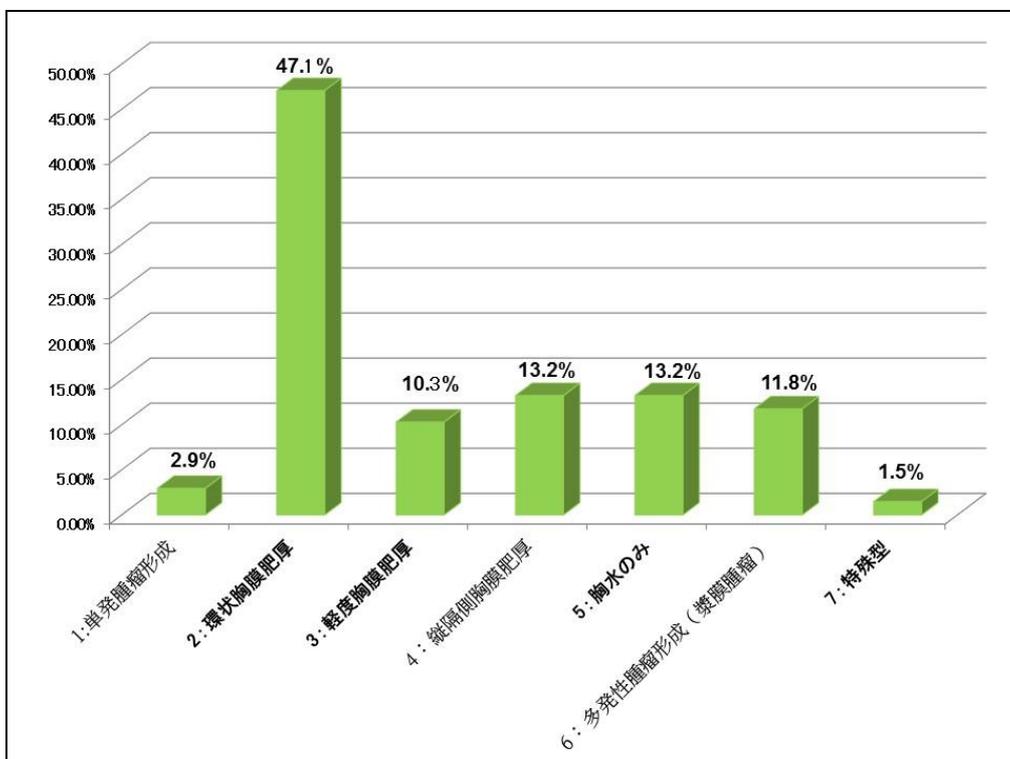


図 18. 二相型胸膜中皮腫の画像所見

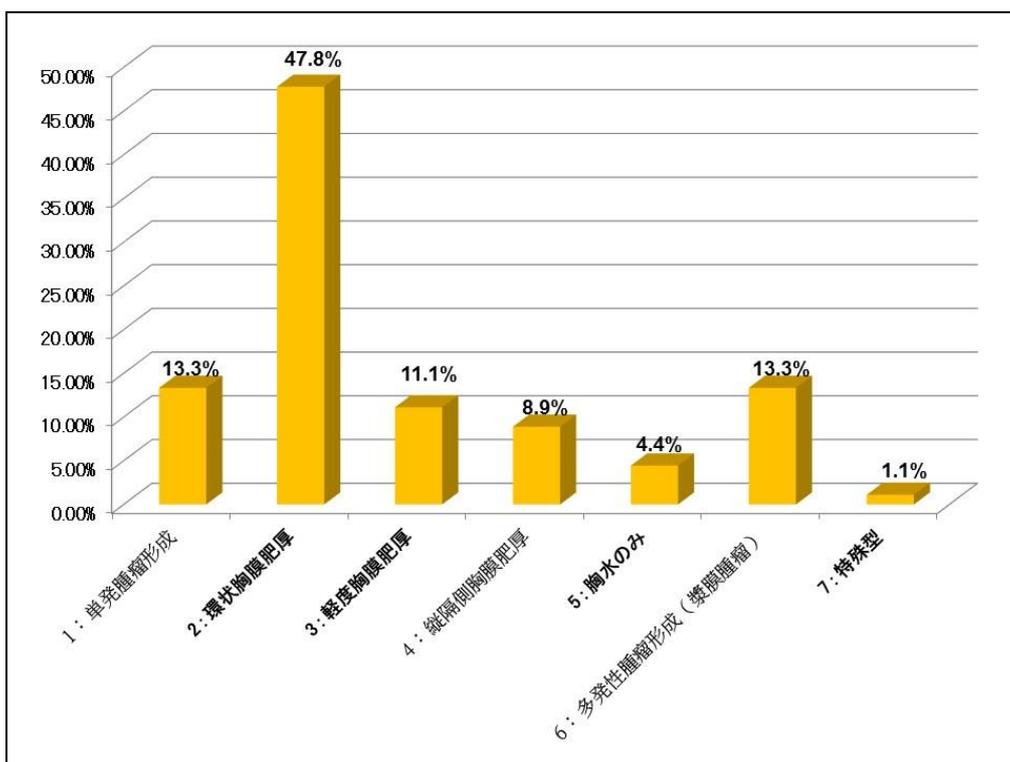


図 19. 肉腫型胸膜中皮腫の画像所見

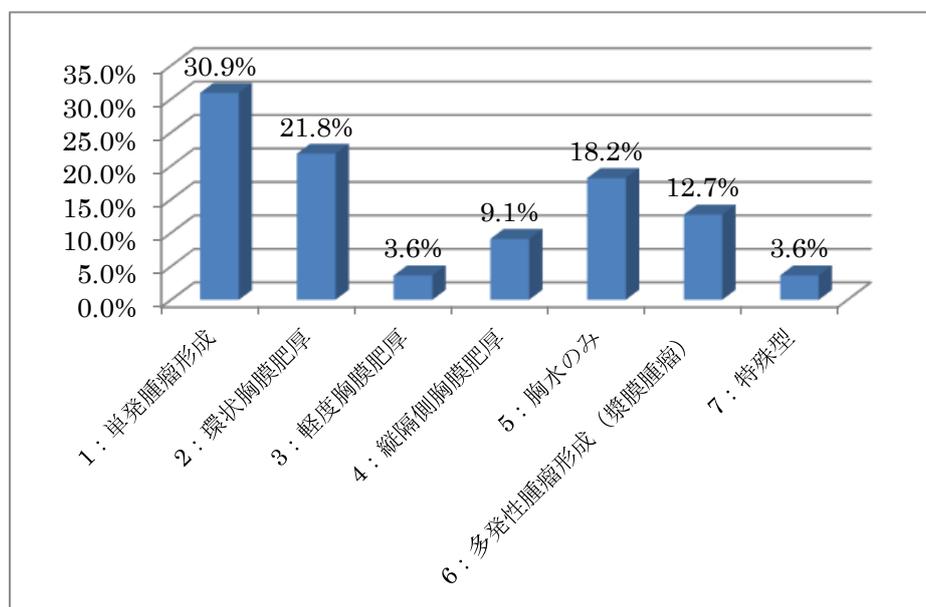


図 20. 中皮腫以外の疾患 51 例の画像所見

(考察) 胸膜中皮腫 CT の典型像は壁側胸膜に発生する悪性腫瘍が胸膜沿いに不整な肥厚像を呈して水平方向に増殖する環状胸膜肥厚型 (pleural rind) が教科書的である<sup>1)~5)</sup>。腫瘍は胸壁や肋骨浸潤を伴うこともあるが比較的まれである<sup>6)</sup>。今回、我々は2008年の厚生労働科学研究において収集した2003年から2005年に中皮腫で死亡した症例の遺族及び病院の同意を得られた349例とこれら症例のうち病理組織型が確定されていた234例に岡山労災病院において確定診断された149例を合わせた383例の胸部CT画像所見について検討した。

その結果、胸膜中皮腫の初診時の胸部CT画像パターン349例では環状胸膜肥厚型が最も多く、次いで多発腫瘤形成型、胸水のみで、単発腫瘤形成は6番目であった。この傾向は病理組織診断が確定している383例においてもほぼ同様のパターンを示した。一方、胸膜中皮腫の組織診断が確定した症例の組織型別でも、上皮型、二相型、肉腫型のいずれにおいても環状胸膜肥厚型が最も多かった。しかし、組織型別では二相型では環状胸膜肥厚型に次いで、縦隔側胸膜肥厚が多く、単発腫瘤形成型はわずか2例(2.9%)のみであった。また、肉腫型では環状胸膜肥厚型が最も多く、次いで単発腫瘤形成型は多発腫瘤形成型と同率であったが、胸水のみは4.4%と極めて少なかった。二相型での単発腫瘤形成型が少ない理由については、上皮型及び肉腫型と比較してその理由を考慮したが明らかにならなかった。肉腫型では病変の進展が速く、胸水貯留のみという早期病変では診断できていない可能性が示唆された。症例数が限られているため、組織学的な画像パターンの比較については今後とも症例を増やして検討する必要がある。

他方、肺癌や肉腫等の悪性腫瘍や非悪性疾患である胸膜炎についても胸膜中皮腫との鑑別が必要であった。たとえば典型的な環状胸膜肥厚型についても肺癌との鑑別の必要があり診断確定のために組織診断は必須である。特に肺癌との鑑別が必要な単発腫瘤形成型では免疫染色等を駆使して中皮腫なのか肺癌なのか鑑別すべきである。また、desmoplastic型中皮腫あるいは肉腫型中皮腫と良性石綿胸水やその他の胸膜炎は画像上鑑別が難しいので、鑑別診断のためには胸水中ADA、CEA、SMRP、ヒアルロン酸等についても検査しておく必要がある。また、Glut-1<sup>7)</sup>、Claudin-4<sup>8)</sup>等の最新の免疫染色抗体のみならずFISH法<sup>9)</sup>を用いた遺伝子異常の検索などの十分な組織検査が必要である。

(結論) 胸膜中皮腫の画像診断では環状胸膜肥厚型が典型的で頻度も最も高かった。しかし、単発腫瘤形成型や胸水のみ症例もかなりの頻度あるため、肺癌や良性石綿胸水や感染性胸膜炎等との鑑別診断を確実に行う必要がある。また、画像上中皮腫を疑った場合には胸腔鏡下胸膜生検等適切な組織診断が必要であることが確認された。胸膜中皮腫症例は高齢者や初診時の病状が重篤である症例も少なくなく、組織検査が行えない場合には胸水貯留率が高いため、胸水のマーカーであるADA、CEA、SMRP、ヒアルロン酸とともに胸水細胞診による検索も重要であると考えられた。

(参考文献)

1. Robinson BWS, Lake RA. Advances in malignant mesothelioma. *N Engl J Med*. 2005;353:1591-1603.
2. Kim KI, Kim CW, Lee MK, et al. Imaging of occupational lung diseases. *RadioGraphics*. 2001;21:1371-1391.
3. Garg K, Lynch DA. Imaging of thoracic occupational and environmental malignancies. *J Thorac Imaging*. 2002;17:198-210.
4. Kawashima A, Libshitz HI. Malignant pleural mesothelioma: CT manifestation in 50 cases. *Am J Roentgenol*. 1990;155:965-969.
5. Ismail-Khan R, Robinson LA, Willians CC, Garrett CR, Bepler G, Siomn GR. Malignant pleural mesothelioma a comprehensive review. *Cancer*. 2006;13: 255-263.
6. Truoug MT, Erasmus IJ, Marom EM, Munden RF. Imaging evaluation in the diagnosis and staging of malignant pleural mesothelioma. *Semi Roentgenol*. 2004;39: 386-396.
7. Husain AN, Mirza MK, Gibbs A, et al. How useful is GLUT-1 in differentiating mesothelial hyperplasia and fibrosing pleuritis from epithelioid and sarcomatoid mesotheliomas? An international collaborative study. *Lung Cancer*. 2014;83:234-328.
8. Ordonez AG. Value of claudin-4 immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. *Am J Clin Pathol*. 2013;139,611-619.
9. Wu D, Hiroshima K, Matsumoto S, et al. Diagnostic usefulness of p16/CDKN2A FISH in distinguishing between sarcomatoid mesothelioma and fibrous pleuritic Am *J Clin Pathol*. 2013;139:39-46.

## 悪性胸膜中皮腫診断における血清・胸水サイトカイン測定の意義について

国立病院機構山口宇部医療センター 青江 啓介

### はじめに

悪性胸膜中皮腫は胸膜中皮に由来する難治性悪性腫瘍であり、その 8 割以上は胸水を伴うと言われている。また画像上明らかな腫瘤を形成する前にしばしば胸水貯留を来すことも知られている。悪性胸膜中皮腫の診断のためには、胸水貯留疾患を的確に鑑別診断していくことがきわめて重要である。

サイトカインは細胞から放出され、種々の細胞間情報伝達物質となる微量生理活性タンパク質である。血清 IFN-gamma 測定は、クオンティフェロンテストや T スポット等に応用され潜在性肺結核の診断に役立っている。結核性胸膜炎の診断にも寄与することから胸水を伴う悪性胸膜中皮腫との鑑別には役立つと考えられるが、その他のサイトカインについてはその診断的意義は十分に明らかになっていない。また、サイトカインはひとつのサイトカインが単独で病態を決定するわけではない。ネットワークを形成して全身と局所ではその濃度分布は異なる。このことから、単一のサイトカインを個々に評価するだけでなく、統合的に解析して有用性を検討することが必要となってくる。

### 対象と方法

国立病院機構山口宇部医療センターで胸水精査のため診療を受けた患者から同意を得て、血清、胸水を採取し、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。Bio-Plex 法 (Bio-Rad 社) を用いて 27 種類のサイトカインを測定した。2 群間の差は Mann-Whitney 検定を用いて、P 値は 0.05 未満を有意とした。

### 結果

症例は 33 例でその内訳は、悪性胸膜中皮腫 11 例、良性石綿胸水 11 例、肺癌 6 例、悪性リンパ腫 1 例、結核性胸膜炎 1 例、線維性胸膜炎 1 例、肺炎随伴胸水 2 例である。

この症例の胸水中サイトカイン濃度を悪性胸膜中皮腫症例とその他との 2 群で比較した (表 1)。胸水 IL-6 と胸水 GM-CSF では有意差が認められた (図 1, 2)。

続いて、胸水サイトカイン濃度と血清サイトカイン濃度の比について悪性胸膜中皮腫症例とその他との 2 群で比較した (表 2)。また、その表を悪性胸膜中皮腫の値の低いものから並べ替えて表を作成した (表 3)。胸水/血清サイトカイン比の中央値が 1 を越える場合、全症例の半数以上が血清濃度よりも胸水濃度が高かったことを示している。このようなサイトカインには、Eotaxin、IL-7、IL-15、IL-5、IP-10、IL-12p70、VEGF、IL-13、IL-8、MCP-1、IL-10、IL-6、RANTES がある。悪性胸膜中皮腫とその他との 2 群で有意差を示すサイトカインはなかったが、血清濃度より胸水濃度が高いサイトカインのうち、悪性胸膜

中皮腫で高い値を示したのは Eotaxin、IL-15、MCP-1、IL-10 で、逆に低い値を示したのは IL-7、IL-5、IP-10、IL-12p70、VEGF、IL-13、IL-6、RANTES であった。

表 1. 胸水サイトカインの濃度の比較 (中央値)

	MPM	nonMPM	P value
IL-1b	0.26	0.58	0.133
IL-1ra	66.45	48.56	0.214
IL-2	0.00	0.00	0.424
IL-4	0.26	0.42	0.308
IL-5	1.55	2.26	0.383
IL-6	2926.74	11839.55	0.026
IL-7	1.82	1.96	0.637
IL-8	49.63	129.19	0.856
IL-9	4.62	4.71	0.363
IL-10	12.84	15.72	0.490
IL-12p70	17.145	32.215	0.305
IL-13	7.96	21.55	0.154
IL-15	7.09	4.93	0.490
IL-17	0.00	0.00	0.129
Eotaxin	66.71	16.4	0.153
FGF	0.00	0.00	0.537
G-CSF	5.32	9.02	0.228
GM-CSF	1.55	24.7	0.003
IFN-g	14.6	29.34	0.274
IP-10	1051.61	1995.64	0.214
MCP-1	150.62	263.24	0.663
MIP-1a	0.57	0.78	0.344
MIP-1b	48.81	59.84	0.942
RANTES	18.01	29.56	0.717
TNF-a	0.00	0.00	0.913
VEGF	328.99	622.35	0.513
PDGF	11.76	5.53	0.828

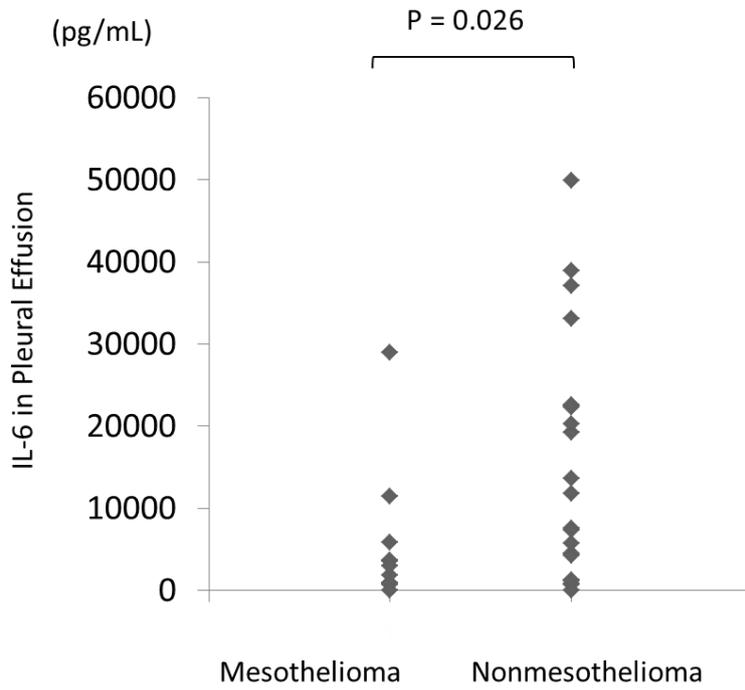


図 1. 悪性胸膜中皮腫とその他の胸水における胸水 IL-6 濃度の比較

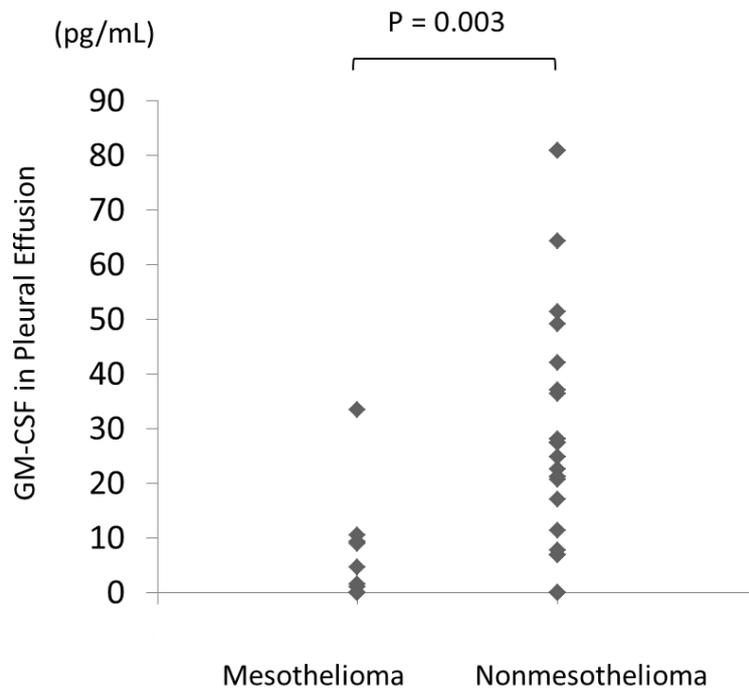


図 2. 悪性胸膜中皮腫とその他の胸水における胸水 GM-CSF 濃度の比較

表2. 胸水/血清サイトカイン比の比較 (中央値)

	MPM	nonMPM	P value
IL-1b	0.216	0.256	0.445
IL-1ra	0.708	0.735	0.637
IL-2	0.00	0.00	0.537
IL-4	0.228	0.389	0.274
IL-5	2.18	2.24	0.363
IL-6	124	312	0.188
IL-7	1.17	1.50	0.537
IL-8	5.64	3.34	0.744
IL-9	0.136	0.495	0.326
IL-10	9.59	7.67	0.123
IL-12p70	2.83	6.82	0.984
IL-13	5.52	11.5	0.585
IL-15	1.63	1.03	0.214
IL-17	0.00	0.00	0.129
Eotaxin	1.03	0.286	0.158
FGF	0.00	0.00	0.537
G-CSF	0.352	0.492	0.490
GM-CSF	0.259	0.888	0.490
IFN-g	0.189	0.152	0.537
IP-10	2.24	3.99	0.612
MCP-1	6.67	4.36	0.537
MIP-1a	0.114	0.0875	0.513
MIP-1b	0.337	0.481	0.561
RANTES	13220	28610	0.424
TNF-a	0.00	0.00	0.942
VEGF	3.56	12.3	0.856
PDGF	0.00407	0.00514	0.856

表 3. 胸水／血清サイトカイン比の比較 (中央値)

	MPM	nonMPM	P value
IL-2	0.00	0.00	0.537
IL-17	0.00	0.00	0.129
FGF	0.00	0.00	0.537
TNF-a	0.00	0.00	0.942
PDGF	0.00407	0.00514	0.856
MIP-1a	0.114	0.0875	0.513
IL-9	0.136	0.495	0.326
IFN-g	0.189	0.152	0.537
IL-1b	0.216	0.256	0.445
IL-4	0.228	0.389	0.274
GM-CSF	0.259	0.888	0.490
MIP-1b	0.337	0.481	0.561
G-CSF	0.352	0.492	0.490
IL-1ra	0.708	0.735	0.637
Eotaxin	1.03	0.286	0.158
IL-7	1.17	1.50	0.537
IL-15	1.63	1.03	0.214
IL-5	2.18	2.24	0.363
IP-10	2.24	3.99	0.612
IL-12p70	2.83	6.82	0.984
VEGF	3.56	12.3	0.856
IL-13	5.52	11.5	0.585
IL-8	5.64	3.34	0.744
MCP-1	6.67	4.36	0.537
IL-10	9.59	7.67	0.123
IL-6	124	312	0.188
RANTES	13220	28610	0.424

## 考察

今回の解析は、今までに集積した症例の中から血清と胸水のサイトカイン濃度の比を検討できる症例 33 例で試験的解析を行った。悪性胸膜中皮腫は 11 例で、その他の胸水には良性石綿胸水が多く含まれ結核性胸膜炎は 1 例のみでの解析となった。その結果、胸水サイトカイン濃度の比較においては、悪性胸膜中皮腫とその他の胸水の 2 群間で IL-6 および GM-CSF で有意差が認められたが、その結果の普遍性については今後さらに検討を要する。

サイトカインの全身分布（血清）と局所分布（胸水）の違いを検討するために、胸水／血清サイトカイン比で検討した。血清サイトカインでは胸膜以外での種々の状態によって濃度が影響を受けるが、胸腔局所に限局した胸水においてはより局所の病態に応じた状況を反映していると考えられる。これも今回の検討では症例の偏りがあるため今後の検討を要する。

今後は、サイトカイン間の関連を検討するために、サイトカイン・サイトカイン間の比について検討していくことが考えられる。また、悪性中皮腫症例については種々の悪性腫瘍において免疫療法が導入されていることから、局所免疫の状態を把握するためのサイトカイン測定が免疫療法の治療効果予測などにつながる可能性も考えられる。

## まとめ

胸水、血清サイトカイン濃度の測定の意義について試験的解析を試みた。今後、サイトカインネットワークに注目した解析を行っていくことで悪性胸膜中皮腫の診断あるいは治療効果予測に寄与する可能性が考えられ、さらに検討することが期待される。

### はじめに

悪性中皮腫はその多くが石綿ばく露に起因する予後不良な悪性腫瘍であり、本邦では今後も患者数の増加が予想されている。われわれはこれまでに、わが国においても悪性中皮腫の約 8 割が石綿ばく露に起因して発生することを報告している。悪性中皮腫の診断は病理所見に基づくものであるが多くの場合肺癌や良性石綿胸水などとの鑑別診断が非常に困難であり、診断確定までに長い時間を要することがまれではない。一般臨床で用いられる画像所見に加え、血清あるいは胸水中の分子マーカーなどを加えた正確で迅速な診断へのアプローチの確立が急務である。本研究では、その研究期間中に、診断未確定の胸水貯留あるいは胸膜肥厚を呈した症例を対象とし、胸部レントゲンに加え胸部 CT、MRI および PET/CT を施行する。また血清および胸水中の分子マーカーの測定を行い中皮腫とそれ以外の疾患における鑑別に際する有用性について検討する。本年度は、これまでに採取され、保存されている胸水検体を用いて、いくつかのマーカーの測定をおこなった。予備データであるが、まとめ報告する。

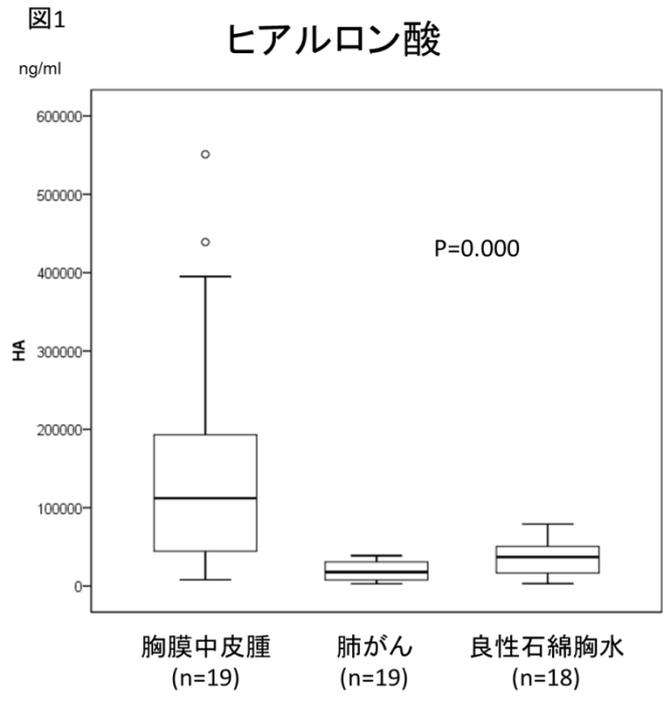
### 対象・方法

岡山労災病院において診断、治療された胸膜中皮腫 23 例、胸水貯留を伴う肺癌 22 例、良性石綿胸水 18 例の胸水検体を用い、診療録から胸水中のヒアルロン酸濃度を抽出した。また ELISA キットを用いて可溶性メソセリン関連蛋白(SMRP)、secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), Galectin-3, chemokine chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2)の測定をおこなった。

### 結果

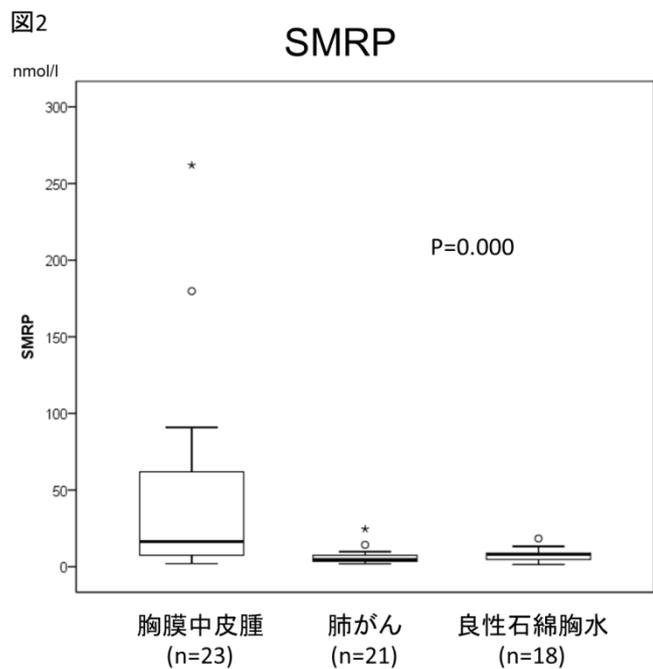
#### 1. ヒアルロン酸

胸膜中皮腫、肺癌、良性石綿胸水における胸水中のヒアルロン酸濃度の中央値(範囲)は、それぞれ 103,450 (7,920-551,000) ng/ml, 17,900 (2,880-47,500) ng/ml, 37,050 (3,140-79,000) ng/ml であった(図 1)。胸膜中皮腫におけるヒアルロン酸値は他疾患に比べ有意に高値であった(Kruskal Wallis 検定、P=0.000)。



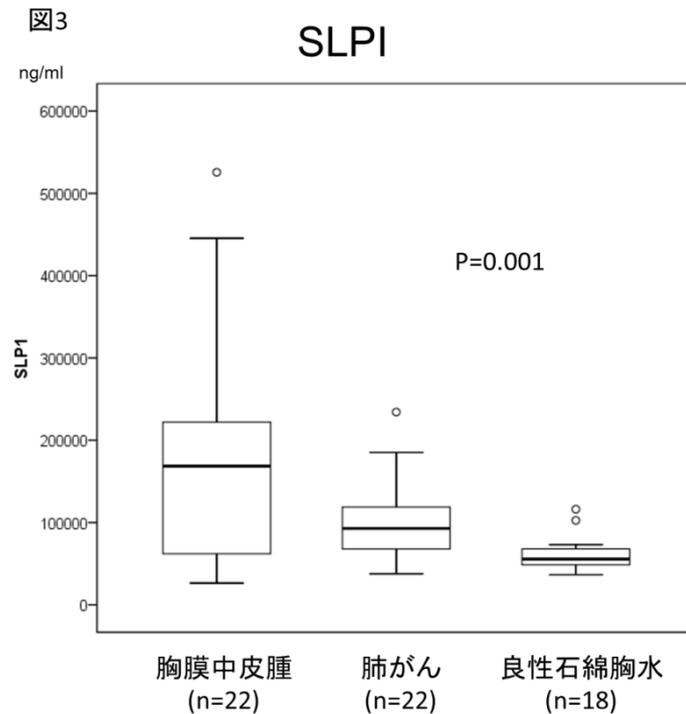
## 2. SMRP

胸膜中皮腫、肺癌、良性石綿胸水における胸水中の SMRP の濃度の中央値(範囲)は、それぞれ 16.39 (2.06-261.9) ng/ml, 4.7 (1.98-24.63) ng/ml, 7.79 (1.45-18.41) ng/ml であった(図 2)。胸膜中皮腫における胸水中の SMRP 濃度は他疾患に比べ有意に高値であった(Kruskal Wallis 検定、P=0.000)。



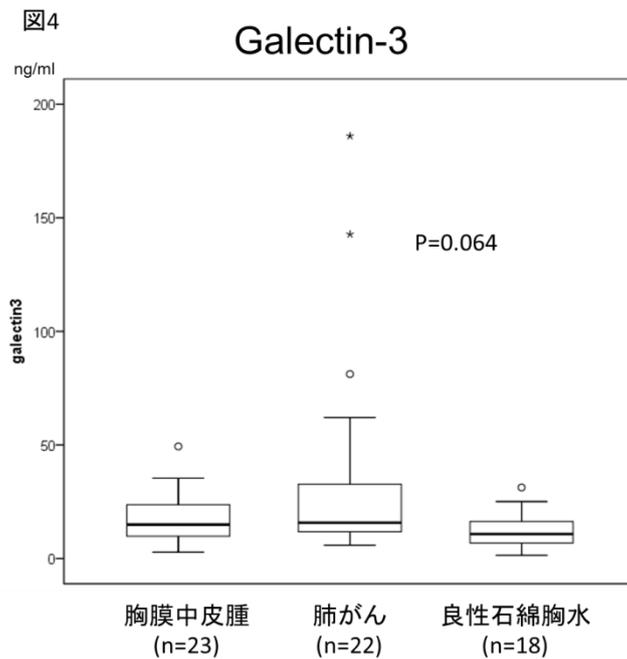
### 3. SLPI

次に胸水中の SLPI 値を測定した。胸膜中皮腫、肺癌、良性石綿胸水における胸水中の SLPI 濃度の中央値(範囲)は、それぞれ 168.6 (26.4-525.6) ng/ml, 92.8 (37.7-234.3) ng/ml, 55.6 (36.5-116.2) ng/ml であった(図 3)。胸膜中皮腫における胸水中の SLPI 濃度は他疾患に比べ有意に高値であった(Kruskal Wallis 検定、 $P=0.001$ )。



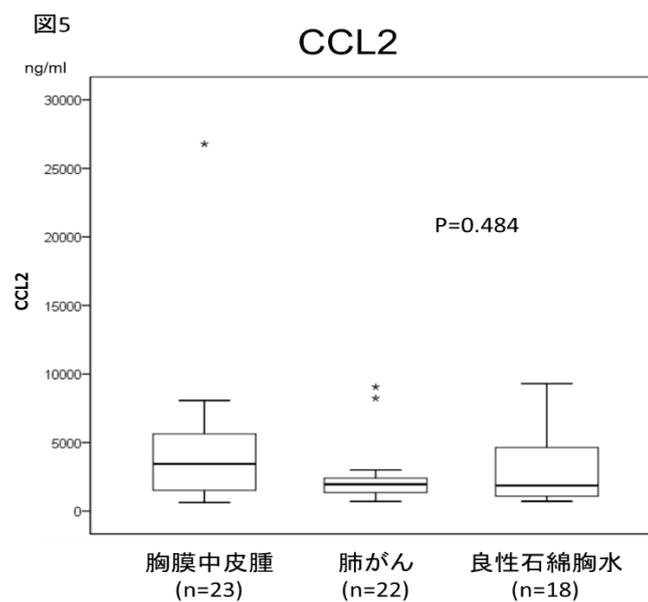
### 4. Galectin-3

次に胸水中の Galectin-3 値を測定した。胸膜中皮腫、肺癌、良性石綿胸水における胸水中の Galectin-3 値の中央値(範囲)は、それぞれ 14.91 (2.75-49.35) ng/ml, 15.77 (5.86-186.02) ng/ml, 10.77 (1.42-31.27) ng/ml であった(図 4)。統計学的な有意差は示されなかったが、肺癌における胸水中の Galectin-3 値は他疾患に比べ高値の傾向を示した(Kruskal Wallis 検定、 $P=0.064$ )。



#### 5. CCL2

最後に胸水中の CCL2 濃度を測定した。胸膜中皮腫、肺癌、良性石綿胸水における胸水中の CCL2 濃度の中央値(範囲)は、それぞれ 3.45 (0.63-26.78) ng/ml, 1.95 (0.70-9.05) ng/ml, 1.86 (0.72-9.30) ng/ml であった(図 5)。胸水中の CCL2 濃度は各疾患群において差は認められなかった(Kruskal Wallis 検定、P=0.484)。



## 考察

本研究では、胸水中の分子マーカーの測定を行い中皮腫とそれ以外の疾患における鑑別に際する有用性について検討する目的で、いくつかのマーカーの測定をおこなった。個々で報告したデータは予備的なものであり、岡山労災病院において診断、治療された胸膜中皮腫 23 例、胸水貯留を伴う肺癌 22 例、良性石綿胸水 18 例の胸水検体を用いて ELISA キットにより SMRP、SLPI、Galectin-3、CCL2 の測定をおこない、また診療録から胸水中のヒアルロン酸濃度を抽出した。既報の結果<sup>1)2)</sup>と同様に、胸膜中皮腫においては胸水中のヒアルロン酸濃度と SMRP 濃度が有意に高値であったほか、胸膜中皮腫における胸水中の SLPI 濃度も他疾患に比べ有意に高値であった。ヒアルロン酸、SMRP に加え、胸水中の SLPI 濃度の測定が胸膜中皮腫の鑑別マーカーとして有用である可能性が示唆された。

従来中皮腫の鑑別マーカーとして、上述の胸水ヒアルロン酸、SMRP のほかオステオポンチン、Fiblin-3 などの有用性が報告されてきたが臨床応用には至っていない。近年、新しい有用なマーカーの候補として今回用いた CCL2、Galectin-3、SLPI の有用性が報告されている<sup>3)4)</sup>。今年度はまだ予備的な結果ではあるが、SLPI 濃度は胸膜中皮腫において他疾患に比べ有意に高値を示した。特に胸膜中皮腫と良性石綿胸水との間に有意差が認められている。胸膜中皮腫と鑑別すべき疾患として肺癌や感染性胸膜炎が挙げられ、過去の報告でも比較の対象疾患として検討されているが、胸膜中皮腫と良性石綿胸水の鑑別についてはほとんど検討されていない。我々は臨床現場において、しばしば胸膜中皮腫と良性石綿胸水の鑑別に苦慮する症例に直面する。本研究では胸膜中皮腫と良性石綿胸水を鑑別しうるマーカーの開発を目標としており、次年度はさらに症例を増やしてその有用性を確認するほか、これらの複数のマーカーの組み合わせによる効率的な鑑別診断のためのツールを開発していく予定である。また今回は過去の検体を用いて検討をおこなったが、次年度は前向きに症例、検体を蓄積し、今回のデータを検証していく予定である。

## 参考文献

- 1) Fujimoto N, Gemba K, Asano M, Fuchimoto Y, Wada S, Ono K, Ozaki S, Kishimoto T. Hyaluronic acid in the pleural fluid of patients with malignant pleural mesothelioma. *Respir Investig*. 2013;51:92-7.
- 2) Fujimoto N, Gemba K, Asano M, Wada S, Ono K, Ozaki S, Kishimoto T. Soluble mesothelin-related protein in pleural effusion from patients with malignant pleural mesothelioma. *Exp Ther Med*;2010;1:313-7.
- 3) Gueugnon F, Leclercq S, Blanquart C, Sagan C, Cellerin L, Padieu M, Perigaud C, Scherpereel A, Gregoire M. Identification of novel markers for the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Am J Pathol* 2011;178:1033-42.

4) Blanquart C, Gueugnon F, Nguyen JM, Roulois D, Cellerin L, Sagan C, Perigaud C, Scherpereel A, Gregoire M. CCL2, Galectin-3, and SMRP combination improves the diagnosis of mesothelioma in pleural effusions. *J Thorac Oncol* 2012;7:883-9.

## 中皮腫の確定診断のための免疫組織化学的検査の現状と今後について

広島大学大学院医歯薬保健学研究院 病理学研究室

武島 幸男、櫛谷 桂、Amatya V. Jeet

### 1. 緒言

過去の大量の石綿の使用、石綿の使用された建造物などの解体、廃棄などによる、石綿への職業曝露、あるいは、環境曝露による悪性中皮腫の増加が指摘されてから久しい<sup>1)2)</sup>。

悪性中皮腫の確定診断は病理・細胞形態学的な証明が必須であるが、様々な鑑別すべき疾患があり、いまなお、その正診率は高いとはいえない。著者らは、平成 15 年から平成 17 年に臨床的に「中皮腫」で死亡した 382 例の臨床病理学的な再検討では、17%の例で診断に疑義のあることを報告した<sup>3)</sup>。その後、平成 18 年から平成 20 年の中皮腫死亡例 209 例の検討においても同様の検討を行ったが、その際の中皮腫として診断に疑義のある症例の率は 13.9%と、若干の改善が見られているものの<sup>4)</sup>、いわゆるクボタショック後に中皮腫の免疫組織化学的染色を含めた病理学的研究が飛躍的に進んでいるにもかかわらず、依然として中皮腫の病理診断にはかなりの困難性が存在することが推測される。

この内、鑑別診断として問題となっているのは、早期上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成、上皮型中皮腫と非小細胞性肺癌、肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌、線維形成性中皮腫と線維性胸膜炎などであった。また、我々が労働者健康福祉機構の後援を得て実施している「中皮腫パネル」やコンサルテーションに寄せられる症例においても、これらの鑑別に苦慮する例が殆どである。

これらの鑑別診断のためには、現状では適切な抗体の組み合わせによる免疫組織化学的染色や p16 遺伝子欠失の FISH による証明が必要である<sup>5)</sup>。また、上皮型中皮腫でも分化度が低くなると、通常陽性度の高い Calretinin、D2-40、WT-1 などのいわゆる「中皮細胞系マーカー」の陽性度が低くなることをしばしば経験するが<sup>6)</sup>、分化度に注目して中皮腫と非小細胞性肺癌の各種マーカーの染色態度を熟知しておくことは、実際の病理診断作業過程には重要である。

過去 10 年この分野の研究は精力的に実施され、新しい鑑別診断マーカーの報告がされてきた<sup>7)</sup>。iMIG2012, update では中皮腫の診断に有用な鑑別マーカーが挙げている<sup>8)</sup>。しかし、新しく報告されている抗体の陽性率は、その抗体のクローンや反応条件、陽性症例の判定方法などが報告者によって異なり、単純な比較はできない。従って、本研究では一定の反応条件と判定基準により、各種鑑別マーカーの陽性率、感度・特異度の算出を行い、各種鑑別診断における陽性、陰性マーカーの選別を行うことを目的とした<sup>3)</sup>。

## 2. 材料と方法

症例は 2000 年から 2013 年までに広島大学大学院医歯薬保健学研究院 病理学研究室にて経験した中皮腫、反応性中皮細胞過形成、非小細胞性肺癌を対象とした。

各例の代表的なホルマリン固定パラフィン包埋材料のブロックから薄切標本を作成し、EnVision 法を用いた免疫組織化学的染色（用手法）を行った。また、肉腫型中皮腫と肺多形癌との鑑別では、VENTANA BenchMark GX を用いた自動免疫染色装置を用いて染色を行った。

陽性度の判定は、各種抗体の局在に注目して判定した。各マーカーの局在の詳細は表 1 に示すとおりである。また、陽性度は、0：全く染色されないもの、1+：1-10%陽性を示すもの陽性を示すもの、2+：11-50%が陽性を示すもの、3+：50%超の細胞が陽性を示すものと、半定量的に 4 段階評価した。

表 1. 各種抗体の入手先と陽性とする判定する抗原の局在部位

抗体名	入手先	陽性とする局在
Calretinin	Invitrogen	核
D2-40	Nichirei	細胞膜・細胞質
WT-1	Dako	核
Desmin	Nichirei	細胞質
EMA	Dako	細胞膜
MUC1	Leica	細胞膜
Glut-1	Spring Bioscience	細胞膜
IMP3	Dako	細胞質
CD146	Leica	細胞膜
p53	Leica	核
MIB-1	Dako	核
Ber-EP4	Dako	細胞膜
MOC31	Dako	細胞膜
CK5/6	Dako	細胞質
p40	Biocare Medical	核
p63	Dako	核
TTF-1	Leica	核
Napsin A	IBL	細胞質
Claudin-4	Invitrogen	細胞膜

### 1) 胸膜上皮型中皮腫と非腫瘍性中皮細胞過形成の鑑別

胸膜上皮型中皮腫（広島大学病院例 48 例）と、反応性過形成 84 例（広島大学病院例）を対象として、Desmin、EMA、MUC1、Glut-1、IMP-3、CD146、p53、MIB-1 に対する免疫組織化学的染色を行った。なお、上皮型中皮腫の結果には厚生労働科学研究 岸本班（平成 15 年-平成 20 年）で検討した 105 例の上皮型中皮腫の免疫組織化学的染色の結果<sup>4)9)</sup>を合算して陽性率とした。また、p53、MIB-1 については 10%

以上の細胞の核に陽性となる例を陽性症例とした。

2) 胸膜低分化型上皮型中皮腫と低分化な肺腺癌・肺扁平上皮癌の鑑別

1)で検討した症例の内、乳頭腺管状構造の乏しい中皮腫を低分化型と定義し、29例を選別した。また、腺管形成の乏しい充実性増殖が目立つ低分化な肺腺癌を28例（広島大学病院例）、角化の殆ど目立たない肺扁平上皮癌23例（広島大学病院例）を対象とした。これらに対して、Calretinin、D2-40、WT-1、CK5/6、MOC31、Claudin-4、TTF-1、Napsin A、p40、p63に対する免疫組織化学的染色を行った。

3) 肉腫型中皮腫と肺多形癌の鑑別

胸膜肉腫型及び二相型中皮腫24例（広島大学病院例）、肺多形癌21例（広島大学病院例）で、腺癌を伴う11例、扁平上皮癌を伴う4例、腺扁平上皮癌を伴う2例、紡錘細胞癌・巨細胞癌を伴う4例）を選別した。これらに対して、Calretinin、D2-40、WT-1、CAM5.2、AE1/AE3、Claudin-4、TTF-1、p40に対する免疫組織化学的染色を行った。なお、判定は二相型中皮腫では肉腫様形態あるいは多形性の強い部分を、肺多形癌では、肉腫様形態あるいは多形性が強い腫瘍細胞部分を評価した。

### 3. 結果と考察

1) 上皮型中皮腫と非腫瘍性中皮細胞過形成の鑑別

上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成における各種マーカーの陽性率と陽性度を表2に示す。また、代表的な染色態度を図1、図2に示す。

表2. 非腫瘍性中皮細胞過形成と上皮型中皮腫の各種マーカーの陽性度

非腫瘍性中皮細胞巣			染色グレード				上皮型中皮腫			染色グレード			
	陽性症例数	%	0	1+	2+	3+		陽性症例数	%	0	1+	2+	3+
Desmin	77/84	91.7	7	14	20	43	Desmin	16/151	10.6	135	13	3	0
EMA	7/84	8.3	77	7	0	0	EMA	149/153	97.4	4	17	40	92
MUC1	23/53	43.4	30	17	4	2	MUC1	44/50	88	6	18	7	19
GLUT-1	10/85	11.8	75	6	1	3	GLUT-1	73/86	84.9	13	26	31	16
IMP3	2/72	2.8	70	2	0	0	IMP3	53/82	64.6	29	24	15	14
CD146	1/28	3.6	27	1	0	0	CD146	41/48	85.4	7	10	8	23
非腫瘍性中皮細胞巣						上皮型中皮腫							
過剰発現症例数(%)			Mean L.I.			過剰発現症例数(%)			Mean L.I.				
p53	0/45	0	0.00044			p53	23/64	35.9	19.76%				
Ki-67	6/62	9.7	0.03374			Ki-67	70/93	75.3	17.39%				

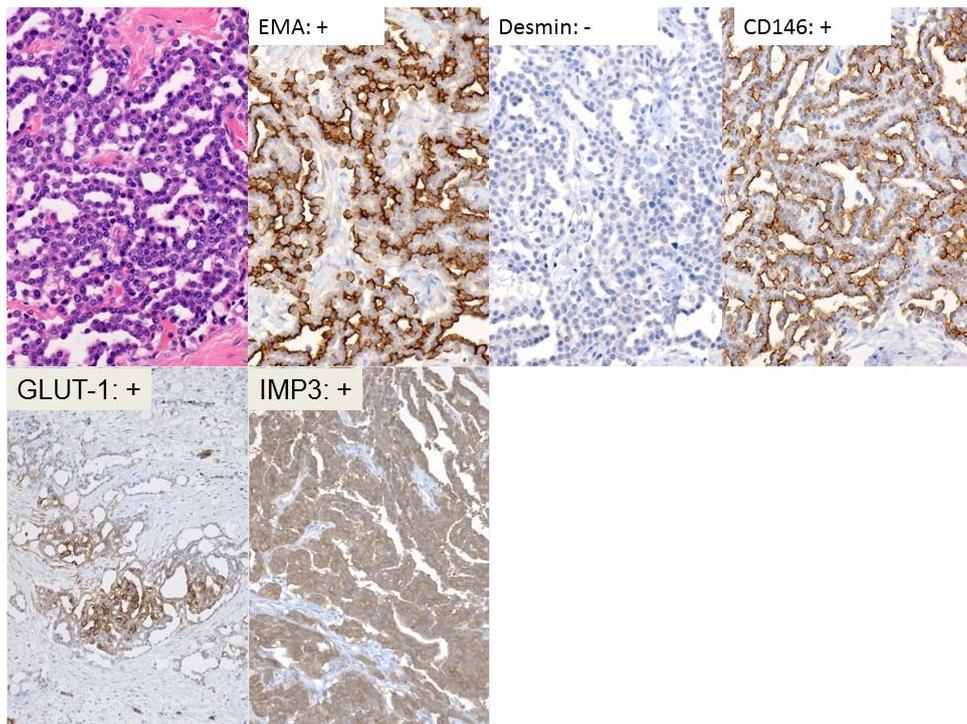


図 1. 分化型上皮型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像  
 本例では EMA, CD146, Glut-1, IMP 3 が陽性となっている。Desmin は陰性である。

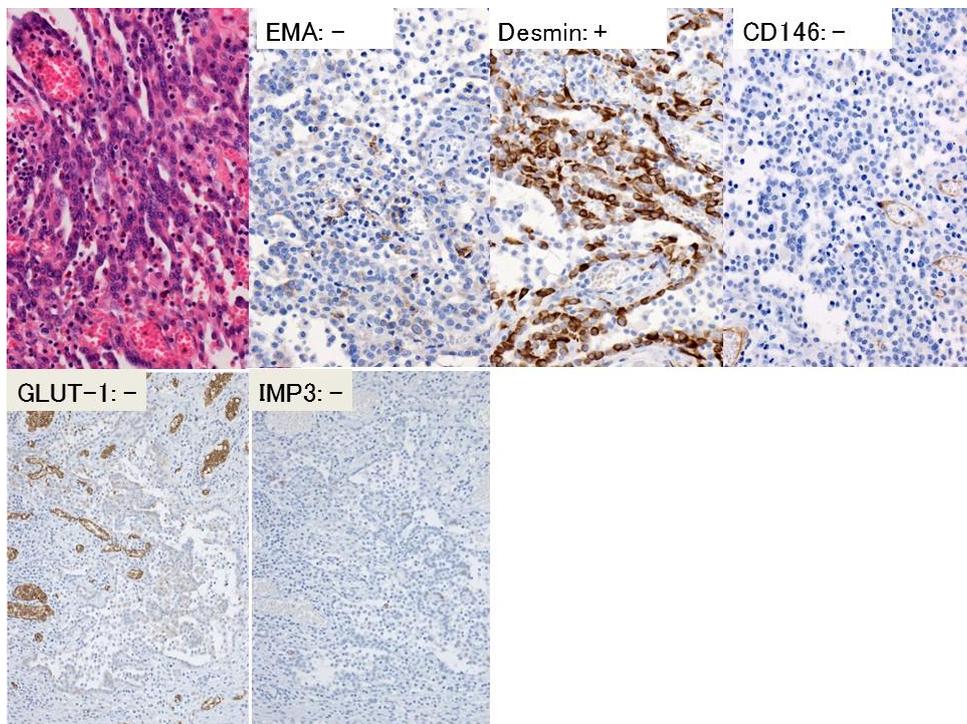


図 2 : 中皮細胞過形成の組織像と免疫組織化学的染色像  
 本例では Desmin のみが陽性となっている。

上皮型中皮腫では Desmin 10.6%、EMA 97.4%、MUC1 88%、Glut-1 84.9%、IMP-3 64.6%、CD146 85.4%、p53 35.9% (10%以上)、MIB-1 75.3% (10%以上の標識率を示すもの)となった。一方、反応性中皮細胞過形成では、Desmin 91.7%、EMA 8.3%、MUC1 43.4%、Glut-1 11.8%、IMP-3 2.8%、CD146 3.6%、p53 0% (10%以上の標識率を示すもの)、MIB-1 9.7% (10%以上の標識率を示すもの)となった。これらの抗体の鑑別診断における診断特性を表 3 に示すが、いずれの抗体の染色態度も有意な反応性の差があったが、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、正診率を加味すると、Desmin, EMA の有用性が最も高いと考えられた。Minato らは今回と同様の検討を行っているが、IMP3 と Glut-1 の組み合わせによる鑑別が最も有用であるとしている<sup>10)</sup>。この領域における報告は比較的多く見られるが<sup>11)~15)</sup>、対象症例の選択、固定条件や抗体の種類、反応条件などが異なるため単純には比較できない。

今後は p16 遺伝子のホモ欠失を FISH 法で証明する検討も加えるべきであろう<sup>16)</sup>。また、中皮腫の中でも比較的分化度の高い例や中皮細胞の過形成の特に目立つ例を蒐集、選択して検討する予定である<sup>5)</sup>。

表 3. 非腫瘍性中皮細胞と中皮腫細胞の鑑別診断における各種マーカーの診断特性

	感度	特異度	陽性	陰性	正診率	p-value
			適中率	適中率		
Desmin (Cy) (-)	89.4	91.7	95.1	82.8	86	< 0.001
EMA (M) (+)	97.4	91.7	95.5	96.1	93.5	< 0.001
Glut-1 (M) (+)	84.9	88.1	88	85.2	86.5	< 0.001
IMP3 (Cy) (+)	64.6	97.2	96.4	88.6	91.8	< 0.001
CD146 (M) (+)	85.4	96.4	97.6	79.4	89.5	< 0.001
p53 (N) (+)	35.9	100	100	52.3	79.1	< 0.001
MIB-1 (N) (+)	75.3	90.3	92.1	70.1	81.3	< 0.001

## 2) 低分化型上皮型中皮腫と低分化な肺腺癌・肺扁平上皮癌の鑑別

低分化な上皮型中皮腫と低分化肺腺癌・扁平上皮癌の各種マーカーに対する陽性度を表 4、表 5 に、鑑別診断における診断特性を表 6、表 7 に示す。また、代表的な免疫組織化学的染色の例を図 3、図 4、図 5、図 6 に示す。

表 4. 低分化腺癌と低分化上皮型中皮腫の各種マーカーの陽性度

低分化型肺腺癌			染色グレード				上皮型中皮腫			染色グレード			
マーカー	陽性症例	%	0	1+	2+	3+	マーカー	陽性症例	%	0	1+	2+	3+
Calretinin(N)	14/29	48.3	15	8	4	2	Calretinin(N)	27/30	90	3	0	1	26
D2-40(M)	4/29	13.8	25	2	2	0	D2-40(M)	30/30	100	0	1	2	27
WT1(N)	4/29	13.8	25	3	1	0	WT1(N)	22/30	73.3	8	4	2	16
CK5/6(M, Cy)	18/28	64.3	10	9	6	3	CK5/6(M, Cy)	20/30	66.7	10	4	5	11
MOC31(M)	22/27	81.5	5	6	6	10	MOC31(M)	9/30	30	21	5	3	1
Claudin-4(M)	29/29	100	0	1	2	26	Claudin-4(M)	2/30	6.7	28	2	0	0
TTF-1(N)	24/29	82.8	5	0	3	21	TTF-1(N)	0/30	0	30	0	0	0
NapsinA(M, Cy)	17/29	58.6	12	6	1	10	NapsinA(M, Cy)	0/30	0	30	0	0	0

N: nucleus, Cy: cytoplasmic, M: membranous

表 5. 低分化扁平上皮癌と低分化上皮型中皮腫の各種マーカーの陽性度

低分化型扁平上皮癌			染色グレード				上皮型中皮腫			染色グレード			
マーカー	陽性症例	%	0	1+	2+	3+	マーカー	陽性症例	%	0	1+	2+	3+
Calretinin(N)	10/23	43.5	13	4	4	2	Calretinin(N)	27/30	90	3	0	1	26
D2-40(M)	13/23	56.5	10	1	7	5	D2-40(M)	30/30	100	0	1	2	27
WT1(N)	0/23	0	23	0	0	0	WT1(N)	22/30	73.3	8	4	2	16
p40(N)	22/23	95.7	1	0	1	21	p40(N)	2/30	6.7	28	2	0	0
p63(N)	22/23	95.7	1	0	2	20	p63(N)	5/30	16.7	25	4	0	1
CK5/6(M, Cy)	22/23	95.7	1	2	3	17	CK5/6(M, Cy)	20/30	66.7	10	4	5	11
MOC31(M)	21/23	91.3	2	5	6	10	MOC31(M)	9/30	30	21	5	3	1
Claudin-4(M)	21/23	91.3	2	2	12	7	Claudin-4(M)	2/30	6.7	28	2	0	0

N: nucleus, Cy: cytoplasmic, M: membranous

表 6. 低分化肺腺癌と低分化上皮型中皮腫の鑑別診断における各種マーカーの診断特性

マーカー	感度	特異度	陽性的中率	陰性的中率	正診率	P-value
Calretinin(+)	90	51.7	65.9	83.3	71.2	< 0.01
D2-40(+)	100	86.2	88.2	100	93.2	< 0.01
WT1(+)	73.3	86.2	84.6	75.8	79.7	< 0.01
CK5/6(+)	66.7	35.7	52.6	50	51.7	1
MOC31(-)	70	81.5	71	80.8	75.4	< 0.01
Claudin-4(-)	93.3	100	93.5	100	96.6	< 0.01
TTF-1(-)	100	82.8	100	85.7	91.5	< 0.01
NapsinA(-)	100	56.6	100	71.4	79.7	< 0.01

表 7. 低分化型肺扁平上皮癌との鑑別診断における各種マーカーの診断特性

マーカー	感度	特異度	陽性的中率	陰性的中率	正診率	p-value*
Calretinin (+)	90.0%	56.5%	72.9%	81.2%	75.5%	<0.01
D2-40 (+)	100.0%	43.4%	69.7%	100.0%	75.5%	<0.01
WT1 (+)	73.3%	100.0%	100.0%	74.1%	84.9%	<0.01
p40 (-)	93.3%	95.7%	91.6%	96.5%	94.3%	<0.01
p63 (-)	83.3%	95.7%	81.4%	96.1%	88.7%	<0.01
CK5/6 (-)	33.3%	95.7%	52.3%	90.9%	60.4%	0.0149
MOC31 (-)	70.0%	91.3%	70.0%	91.3%	79.2%	<0.01
Claudin-4 (-)	93.3%	91.3%	91.3%	93.3%	92.5%	<0.01

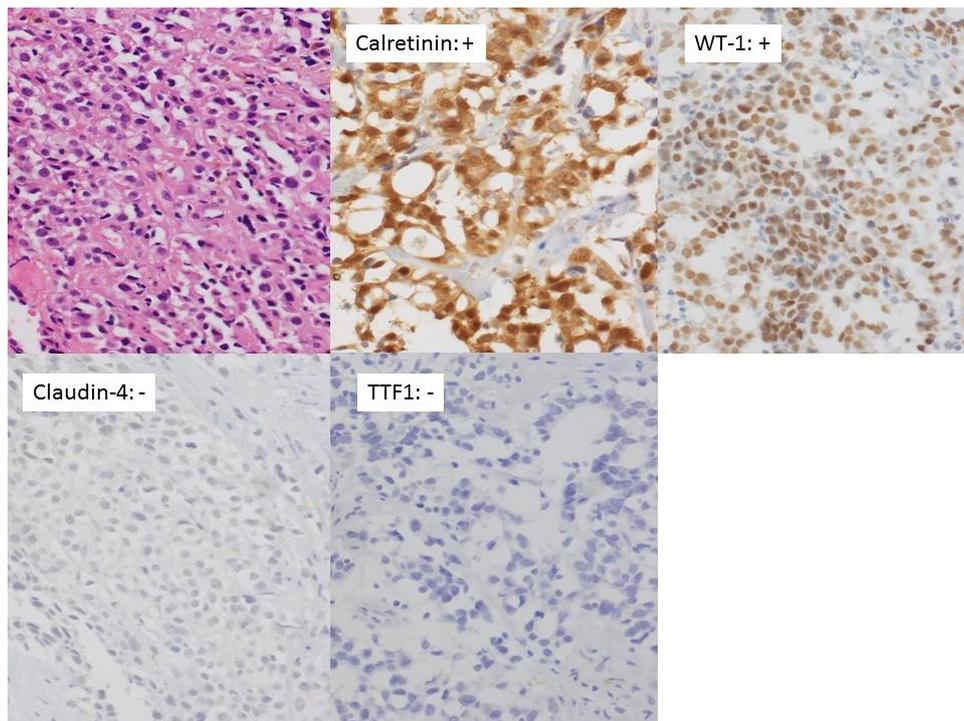


図 3. 低分化型上皮型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像  
 本例では Calretinin, WT-1 が陽性であるが、Claudin 4, TTF-1 は陰性である。

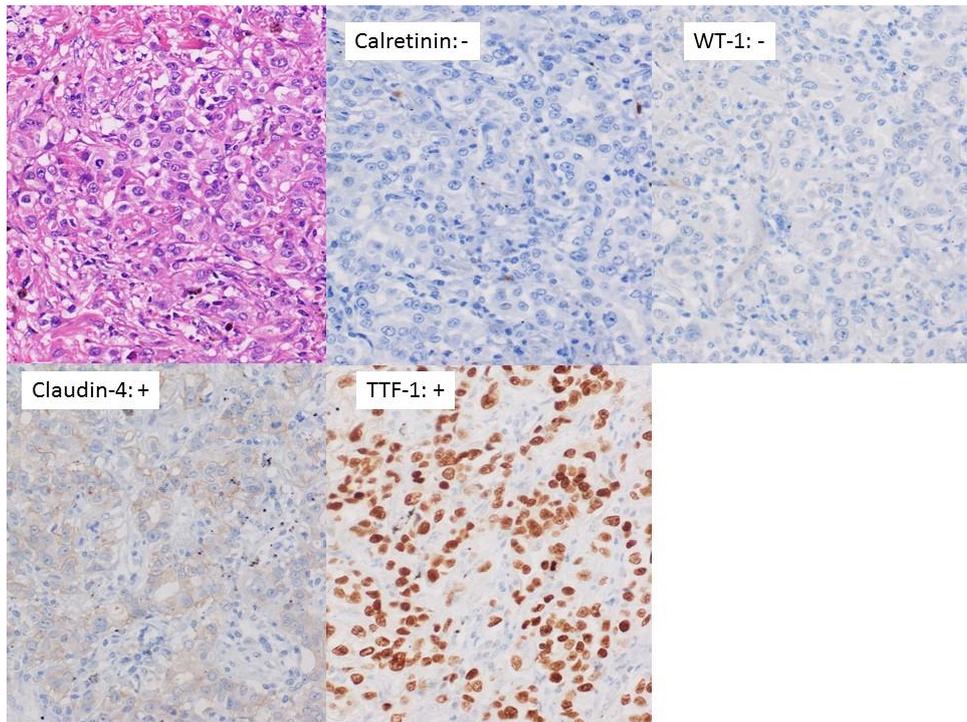


図 4. 低分化肺腺癌の組織像と免疫組織化学的染色像

本例では Calretinin, WT-1 が陰性であるが、Claudin-4, TTF-1 は陽性である。

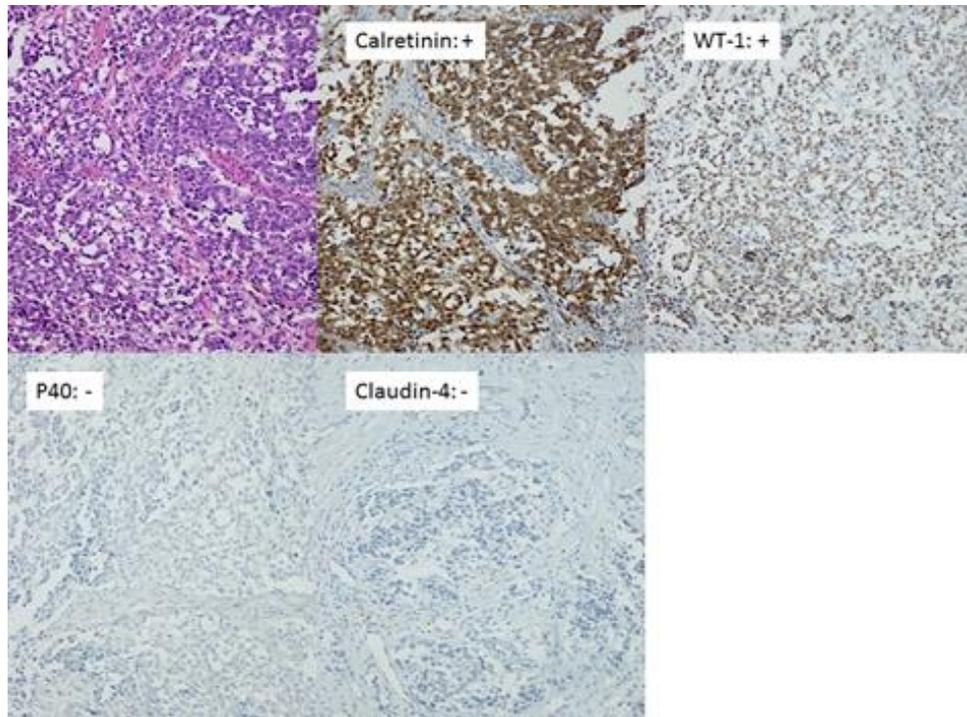


図 5. 低分化型上皮型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像

本例では Calretinin, WT-1 が陽性であるが、Claudin-4, p40 は陰性である。

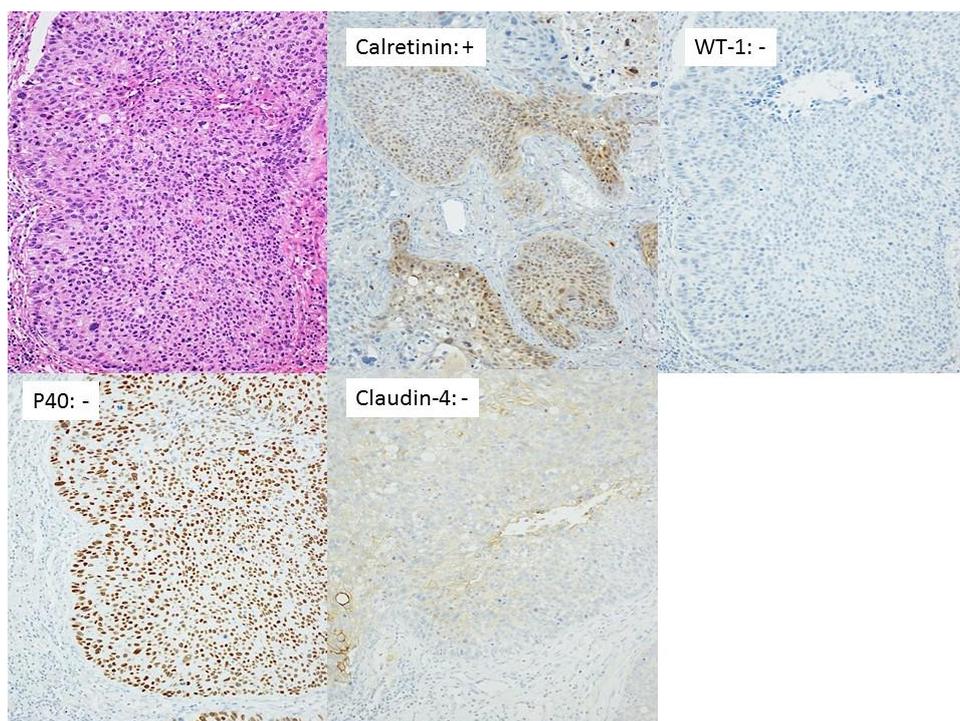


図 6. 低分化型上皮型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像

本例では Calretinin, Claudin 4, p40 は陽性であるが、 WT-1 は陰性である。

低分化型中皮腫の各抗体に対する陽性度は、Calretinin 90%、D2-40 100%、WT-1 73.3%、CK5/6 66.7%、MOC31 30%、Claudin-4 6.7%、TTF-1 0%、Napsin A1 0%、p40 6.7%、p63 16.7%であった。低分化型腺癌では、Calretinin 48.3%、D2-40 13.8%、WT-1 13.8%、CK5/6 64.3%、MOC31 81.5%、Claudin-4 100%、TTF- 82.8%、Napsin A 58.6%、また、低分化型肺扁平上皮癌では Calretinin 43.5%、D2-40 56.5%、WT-1 0%、CK5/6 95.7%、MOC31 91.3%、Claudin-4 91.3%、p40 95.7%、p63 95.7%となった。診断特性から見ると、中皮腫と腺癌では、D2-40、Claudin-4、TTF-1 が、中皮腫と扁平上皮癌では、WT-1、p40、p63、Claudin-4 が最も鑑別診断に有用であることがわかった。

従来から Calretinin は、中皮腫と腺癌の鑑別に第 1 選択となるマーカーであるとされてきたが<sup>8)17)</sup>、低分化な例では、Calretinin の陽性率は、低分化な非小細胞性肺癌においても約半数の例が陽性を示す点は注意が必要である。また、肺腺癌との鑑別に有用な D2-40 は、肺扁平上皮癌では有用でない(扁平上皮癌では高率に陽性となる。)ことも念頭等において、免疫組織化学的染色の標本の判定に重要である。

Claudin-4 は tight-junction associated protein として中皮腫と様々な癌腫の鑑別診断に有用と報告されたが<sup>18)</sup>、今回の検討でも肺腺癌でも、肺扁平上皮癌でも陽性率が高く、上皮型中皮腫では殆ど陽性例が存在しなかったことから、この抗体は上記の鑑別診断に極めて有用であることを示している。

### 3) 肉腫型中皮腫と肺多形癌の鑑別

肉腫型中皮腫と肺多形癌の各種マーカーに対する陽性度を表8に、鑑別診断における診断特性を表9に示す。また、代表的な免疫組織化学的染色の例を図7、図8に示す。肉腫型中皮腫あるいは二相型中皮腫の肉腫様成分の各種抗体に対する陽性率は、Calretinin 79.2%、D2-40 70.8%、WT-1 33.3%、AE1/AE3 100%、CAM5.2 100%、Claudin-4 0%、TTF-1 0%、p40 4.2%、TTF1 と p40 ともに陽性 0%であった。肺多形癌では、背景に腺癌や扁平上皮癌のある例が比較的多く含まれていたが、Calretinin 52.4%、D2-40 19.0%、WT-1 9.5%、AE1/AE3 95.2%、CAM5.2 100%、Claudin-4 42.9%、TTF-1 71.4%、p40 30%、TTF1 と p40 ともに陽性のもの 95%となった。

表 8. 肉腫型中皮腫と肺多形癌の各種マーカーの陽性度

肺多形癌			染色グレード				肉腫型中皮腫成分			染色グレード			
マーカー	陽性症例	%	0	1+	2+	3+	マーカー	陽性症例	%	0	1+	2+	3+
Calretinin	11/21	52.4	10	6	4	1	Calretinin	19/24	79.2	5	5	11	3
D2-40	4/21	19.0	17	4	0	0	D2-40	17/24	70.8	7	5	11	1
WT-1	2/21	9.5	19	2	0	0	WT-1	8/24	33.3	16	5	3	0
AE1/AE3	20/21	95.2	1	3	3	14	AE1/AE3	22/24	91.7	2	2	9	11
CAM5.2	21/21	100	0	6	4	11	CAM5.2	17/17	100	0	4	6	7
Claudin 4	9/21	42.9	12	5	3	1	Claudin 4	0/23	0	23	0	0	0
TTF-1	15/21	71.4	6	2	3	10	TTF-1	0/20	0	20	0	0	0
p40	6/20	30	14	1	3	2	p40	1/24	4.2	23	1	0	0
TTF-1 & p40	19/20	95	1	19	0	0	TTF-1 & p40	0/20	0	20	0	0	0

表 9. 肉腫型中皮腫と肺多形癌の各種マーカーの鑑別診断における診断特性

マーカー	感度	特異度	p-value
Calretinin (+)	79.2	41.7	<0.01
D2-40 (+)	70.8	81	<0.001
WT-1 (+)	33.3	91.5	0.0576
AE1/AE (+)	91.7	4.8	0.551
CAM5.2 (+)	100	0	NA
Claudin-4 (-)	100	42.7	<0.001
TTF-1 (-)	100	71.5	<0.0001
p40 (-)	95.8	15	0.237
TTF1/p40 (-)	95	95	<0.0001

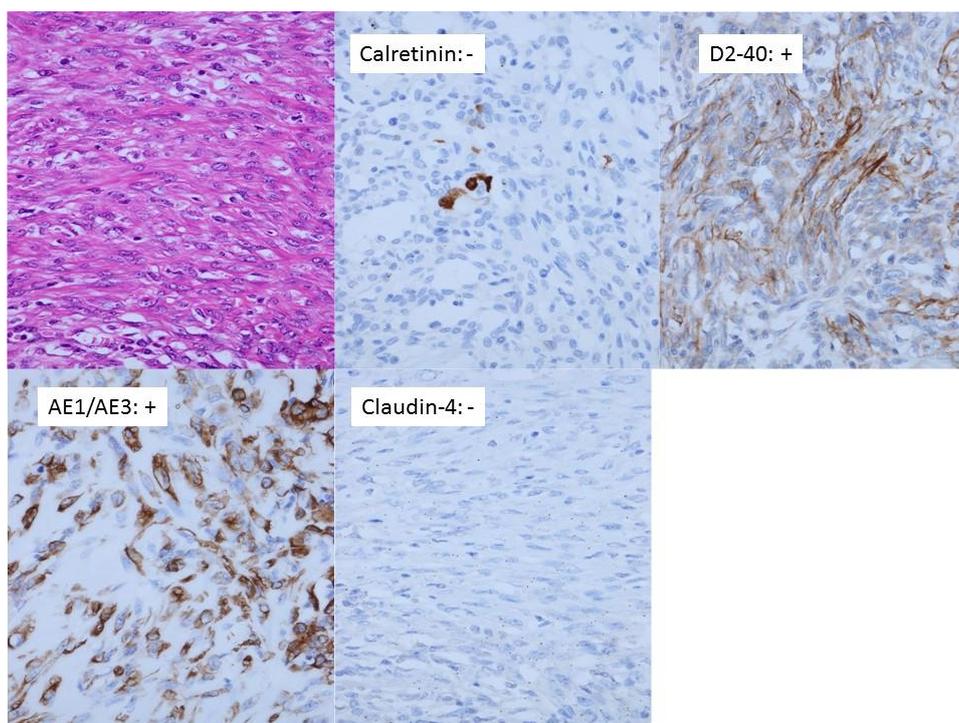


図 7. 肉腫型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像

Calretinin は陰性、D2-40 は陽性、AE1/AE3 は陽性、Claudin-4 陰性である。

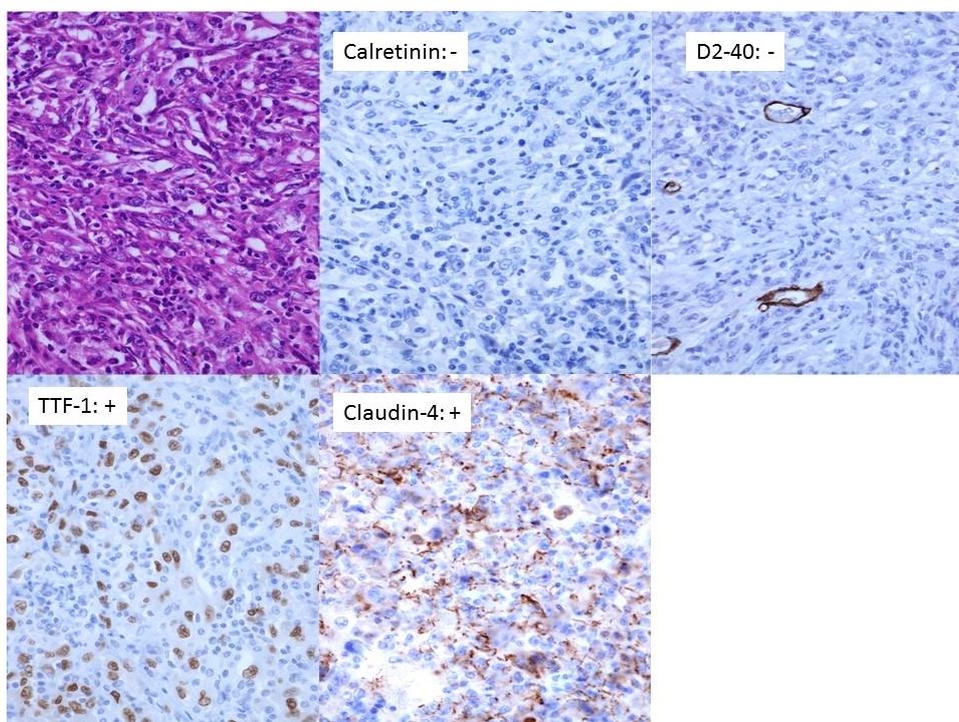


図 8. 肺多形癌の組織像と免疫組織化学的染色像

Calretinin は陰性、D2-40 は陰性、TTF-1 は陽性、Claudin-4 陽性である。

これらの結果は、両者の鑑別に D2-40 が有用とした以前の報告<sup>19)</sup>とほぼ同様の結果となった。肺多形癌における Claudin-4 の発現に関する報告は殆ど無いが、本研究では陽性率は 42.9%となり、鑑別診断への応用が期待される。しかし、感度が低い点に難がある。また、他のマーカーについては感度・特異度ともに高いマーカーは単独では存在しなかった。

このことは、現在、両者の鑑別診断が病変の主座を主体に臨床病理学的に行われているが、今後、より両者を効率的に鑑別することの可能な、感度・特異度ともに高い新規マーカーの探索の必要性が強く求められるところである。

## 5. 文献

1. Inai K. Pathology of mesothelioma. *Environ Health Prev Med.* 2008;13(2):60-4
2. Kishimoto T, Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Kato K, Takeshima Y, et al. Clinical study on mesothelioma in Japan: Relevance to occupational asbestos exposure. *American journal of industrial medicine.* 2010;53(11):1081-7.
3. Takeshima Y, Inai K, Amatya VJ, Gemba K, Aoe K, Fujimoto N, et al. Accuracy of pathological diagnosis of mesothelioma cases in Japan: clinicopathological analysis of 382 cases. *Lung cancer.* 2009;66(2):191-7.
4. 井内康輝、武島幸男、岸本卓巳、玄馬頭一、青江啓介、藤本伸一、加藤勝也. 平成 18 年～20 年における中皮腫での死亡例診断精度の調査、および平成 15～17 年の同調査結果との比較. 2011.
5. 武島幸男、櫛谷桂, Amatya V. 中皮腫 (腫瘍の鑑別に用いられる抗体) . In: 「病理と臨床」常任編集委員会, editor. 免疫組織化学 診断と治療選択の指針. 32 臨時増刊号. 東京: 文光堂; 2014.
6. 井内康輝、石川雄一、岡 輝明、廣島健三、武島幸男. 平成 21 年度 被認定者等に関する医学的所見に係る調査研究業務報告書 中皮腫の病理診断に関する調査編. 広島大学, 2010.
7. Ordonez NG. What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. *Hum Pathol.* 2007;38(1):1-16.
8. Husain AN, Colby T, Ordonez N, Krausz T, Attanoos R, Beasley MB, et al. Guidelines for Pathologic Diagnosis of Malignant Mesothelioma: 2012 Update of the Consensus Statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2013;137(5):647-67.

9. 井内康輝、武島幸男. 臨床病理学的検討による中皮腫死亡例（平成16年～平成18年）の診断精度の解析. 平成19年度厚生労働科学研究 中皮腫発生に関わる職業性ばく露の研究報告書. 2008.
10. Minato H, Kurose N, Fukushima M, Nojima T, Usuda K, Sagawa M, et al. Comparative immunohistochemical analysis of IMP3, GLUT1, EMA, CD146, and desmin for distinguishing malignant mesothelioma from reactive mesothelial cells. *American journal of clinical pathology*. 2014;141(1):85-93.
11. Hanley KZ, Facik MS, Bourne PA, Yang Q, Spaulding BO, Bonfiglio TA, et al. Utility of anti-L523S antibody in the diagnosis of benign and malignant serous effusions. *Cancer*. 2008;114(1):49-56.
12. Kato Y, Tsuta K, Seki K, Maeshima AM, Watanabe S, Suzuki K, et al. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2007;20(2):215-20.
13. Okazaki Y, Nagai H, Chew SH, Li J, Funahashi S, Tsujimura T, et al. CD146 and insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3 predict prognosis of asbestos-induced rat mesothelioma. *Cancer science*. 2013;104(8):989-95.
14. Sato A, Torii I, Okamura Y, Yamamoto T, Nishigami T, Kataoka TR, et al. Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2010;23(11):1458-66.
15. Tsukiji H, Takeshima Y, Amatya VJ, Kushitani K, Inai K. Myogenic antigen expression is useful for differentiation between epithelioid mesothelioma and non-neoplastic mesothelial cells. *Histopathology*. 2010;56(7):969-74.
16. Hwang H, Tse C, Rodriguez S, Gown A, Churg A. p16 FISH Deletion in Surface Epithelial Mesothelial Proliferations Is Predictive of Underlying Invasive Mesothelioma. *The American journal of surgical pathology*. 2014.
17. 環境再生保全機構 . アスベスト（石綿）健康被害の救済 <http://www.erca.go.jp/asbestos/medical/index.html>.
18. Ordonez NG. Value of claudin-4 immunostaining in the diagnosis of mesothelioma.

American journal of clinical pathology. 2013;139(5):611-9.

19. Takeshima Y, Amatya VJ, Kushitani K, Kaneko M, Inai K. Value of immunohistochemistry in the differential diagnosis of pleural sarcomatoid mesothelioma from lung sarcomatoid carcinoma. *Histopathology*. 2009;54(6):667-76.

## 胸膜中皮腫の的確な診断に資するための ICT を用いた遠隔病理及び画像診断の応用について

広島大学 井内 康輝

### 研究目的：

胸膜中皮腫の病理診断（細胞診断を含む）及び画像診断については、多くの研究の進展がみられているにも拘らず、未だ診断困難な症例が数多くみられる。特に近年、検診の普及などによって早期中皮腫を疑う例が見出されるに伴って、早期上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成との鑑別、線維形成型中皮腫と線維性胸膜炎との鑑別が重要となりつつある。さらに、病理診断における免疫組織化学的染色の普及によって、的確な病理診断が下されることが多いが、肺癌や胸膜を占拠する他の悪性腫瘍との鑑別において、各例の染色結果の判断や多くの染色結果の総合的判断に意見のくい違いがみられる例の扱いが問題となることにも遭遇するようになった。

こうした診断困難例については、中皮腫診断の経験豊富な複数の病理診断医あるいは放射線科医（放射線科画像診断医）によるそれぞれの分野での合議や、病理診断と画像診断の総合判断が必要である。しかしながら、この合議や総合的判断を下す作業は容易ではない。すなわち、日時を定めて会場を設定し、診断者が一同に会することを企画すること自体が難しく、かつ診断者の参加が一定でないことから、参加者数などによって、合議の内容や判定の結果が左右されることが見受けられる。そこで、診断者（病理診断医、画像診断医、呼吸器内科医、呼吸器外科医など）が、それぞれ自らの施設において病理像や放射線画像を観察でき、それぞれに診断意見を述べた上で、合議による結論を導き出すことができれば、合理的である。すなわち、常に一定の診断者が確保され、それぞれの意見が均等に評価されて結論に至れば、診断の的確さが担保され、かつ結論をうるまでの日数が節約され、同時に経費の節減にも繋がる。

こうした診断会議システムを構築して、それを運用することによるメリット、デメリットを検討するのが本研究の目的である。

### 研究方法：

インターネット回線とクラウドサービスを用いて、病理診断医、画像診断医、呼吸器内科医などの意見交換のための会議を実現する。

すなわち、病理診断については、バーチャルスライドシステムを用い、標本をスキャナーによってデジタル・データとする。画像については、DICOM データあるいはデジタルイザーを使ったフィルムのデジタル化をそれぞれ委託する施設で行う。これらをそれぞれ、ポータルシステム、ビューワーシステムとしてクラウドサービスのプラットフォームにあげ、各病理診断医、画像診断医、呼吸器内科医などの施設にあるブラウザ（コンピューター）からのアクセスによって、診断あるいは読影を可能とする。

各医師は、それぞれ独自の診断意見をレポートシステムによって入力し、クラウドサービスのプラットフォームにあげる。これらの意見は、各分野のチーフによって診断のとりまとめがなされ、総合的判断を行う。これらの方法を図示すると、図1から図4となる。

研究結果：

1. 個人データの院外への持ち出しに関する患者の同意のとり方と個人情報の秘匿について検討し、以下のようにすることとした。

(1) 患者の同意について

本研究の実施については、患者（被験者）の入院時あるいは手術時に医療機関から提示される画像検査あるいは病理検査を含めた包括的同意書の中に述べられる“患者から得られた材料は研究目的に使われることがある”との条文が患者によって合意されれば研究対象とすることは可能と考えた。

なぜならば、本研究は、患者から既に手術によって切除された組織を用いるので、この研究によって患者には特別な危険あるいは不利益は生じない。中皮腫としての登録が行なわれる点については、“癌登録法”においても、公共の利益に資するためであるので、個人情報の秘匿が完全に行なわれるならば、特別な問題は生じないと考えた。

また、本研究の実施にあたっては、各医療機関および各研究施設のホームページに“本研究を行っている”旨を掲示し、周知徹底する。また、対象患者から各機関あるいは施設に対して情報開示請求があった場合は、個別に誠実に対応することとした。

なお、本研究によって得られた情報については本研究のみに使用し、情報の漏洩がないように研究代表者および研究分担者を責任者として定め、情報の管理を厳密に行うこととした。

(2) 患者の個人情報の秘匿について

本研究においては、中皮腫の診断について、多くの病理診断医、画像診断医、呼吸器内科医などの合議が必要であることから、最低限の患者情報は、インターネット通信によって情報交換される。

その際、患者（被験者）の人権擁護として、患者情報が漏洩することを防ぐために以下の方法をとることとした。

- ① 本研究に関して、個人情報管理者を患者情報を発信する医療機関におく。
- ② 各医療機関からの患者情報を受け取る病理診断センターには個人情報管理責任者として、研究者分担者の井内康輝がその任を努める。
- ③ 個人情報管理者は、中皮腫が疑われる症例に、個人情報とは無関係の「匿名化番号」を付与する。
- ④ 個人のカルテ等の情報ソースと「匿名化番号」の対応表は、個人情報管理者が厳重に管理し、研究代表者、研究分担者には渡さない。この対応表は、施錠可能なキャビネット等で保管する。

- ⑤ 本研究に関して、個人のカルテ等の情報ソースから転記する項目は、「年齢」、「性別」、「職歴」、「病理標本番号」、「病理組織診断」及び「画像検査番号」のみであり、患者の氏名、生年月日、住所等の他の個人情報は一切転記しない。
- ⑥ 病理標本の提供にあたっては、個人情報管理者は技術職員に対して「病理標本番号」のみの情報を与え、これにもとづいて当該パラフィンブロックの薄切、染色を行う。完成した標本には、患者名の代わりに「匿名化番号」のみが記載され、提供される。
- ⑦ 検査画像の提供にあたっては、個人情報管理者は画像の保管者に対して「画像番号」のみの情報を与え、画像は、患者名の代わりに「匿名化番号」のみが付記されて、提供される。
- ⑧ 提供されたデータの全ては、研究が終了する平成 29 年 3 月 31 日より 5 年間保管する。その時点で必要性が生じた場合はさらに 5 年間延長する。その後にはクラウド上から全てのデータを消去ないし廃棄する。この消去・廃棄は、研究代表者の指示のもと、研究分担者として病理診断センターの個人情報管理責任者を努める井内康輝が行う。

2. 班会議において検討した 1 例の内容を以下に記載する。

検討症例：T. I. (65 歳、男性)

病理所見：

末梢肺の実質には、乳頭癌 (papillary adenocarcinoma) とみなしうる小さな結節が認められ、胸膜ではその表面に広く同様の所見を示す腫瘍組織の増生を認める (図 5、図 6、図 7)。この所見からは末梢性肺腺癌の胸膜進展、胸膜の上皮型中皮腫の肺内進展のいずれかが考えられる。

免疫組織化学染色では、肺内病変、胸膜病変のいずれも **calretinin** が陽性 (図 8、図 9)。**TTF-1** は肺内病変は陽性だが、胸膜病変は全く陰性である (図 10、図 11)。肺内病変の **TTF-1** 陽性所見を重視すれば、末梢肺原発の乳頭腺癌となるが、その場合、胸膜病変では **TTF-1** が陰性であることが矛盾する。一方、**calretinin** 陽性所見を重視すれば、上皮型中皮腫とその肺内進展と診断することが可能である。

画像所見：

CT 像 (図 12) では、末梢肺に不整な胸膜肥厚と嚢胞形成がみられ、肺内に生じた腫瘍の胸膜への進展の可能性が高い。

[診断会議システムの結果] 図 13 に示す。

〔討議の結論〕

画像所見と肺内病変 TTF-1 陽性所見を重視して、末梢肺原発の乳頭腺癌とするのが妥当である。

要約：

開発した診断会議システムは、診断に苦慮する症例について多くの病理診断医、画像診断医、呼吸器内科医などの意見を集約して、診断の結論を導き出すことが可能であることが明らかとなった。このシステムを用いて、中皮腫の診断の適正化をはかり、中皮腫例の登録制度などにもいかなるよう検討を重ねたい。

図1：診断会議システムの概要

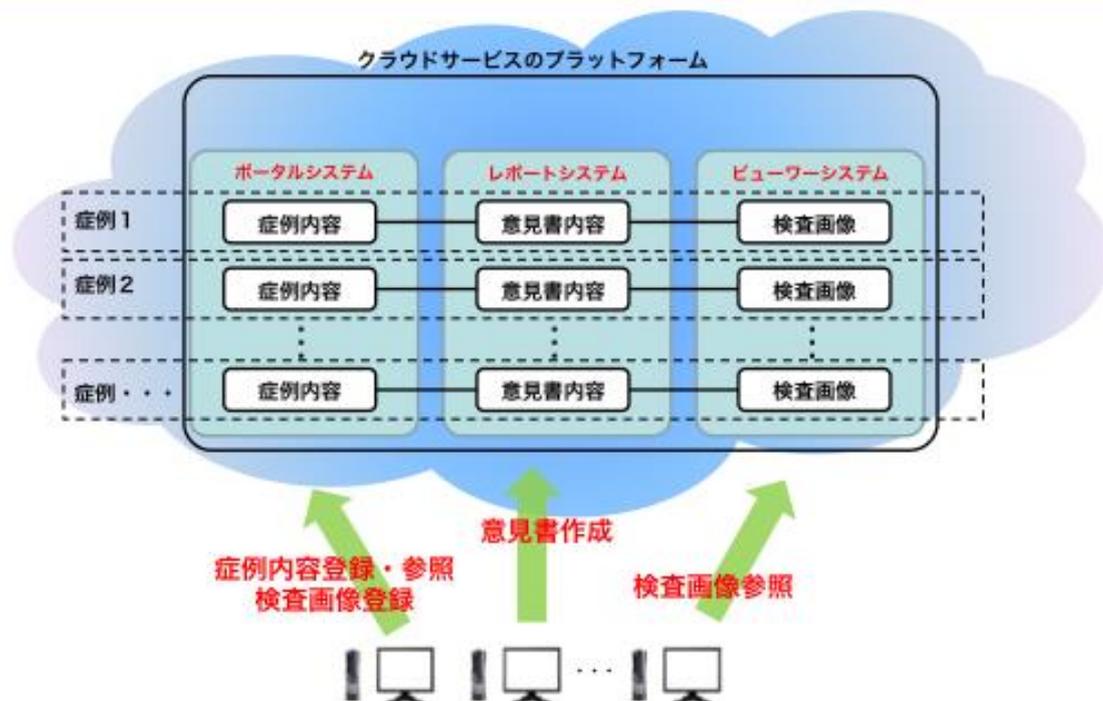
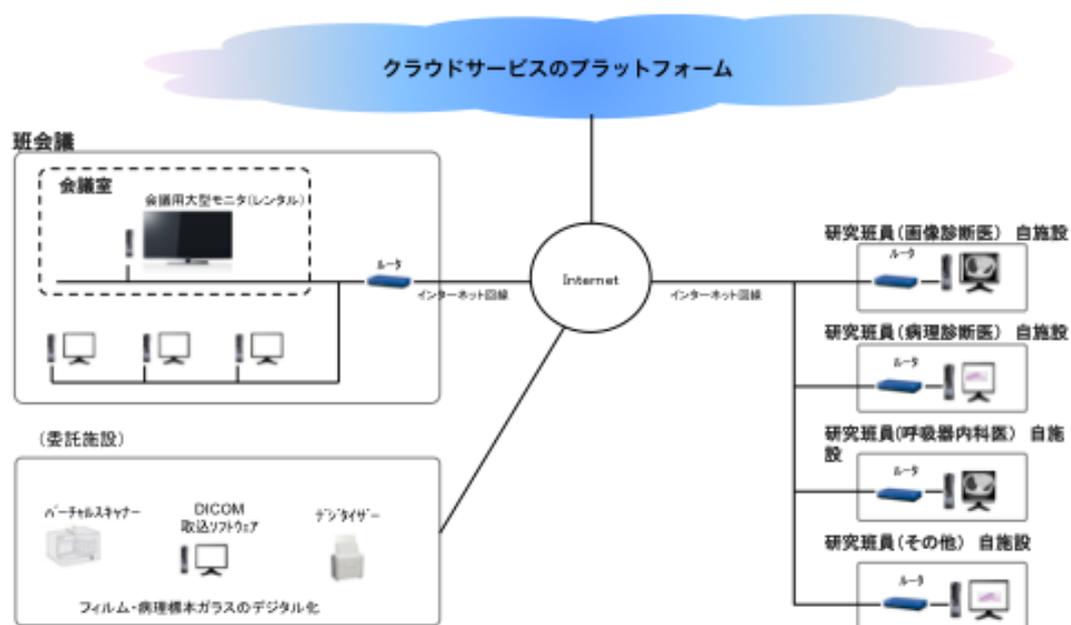


図2：システムの構築図



※クラウドサービス利用にあたり、ネットワーク回線・ルータ・PCについては 各施設の環境を利用する事を前提とします

図3：症例の登録から診断の決定まで

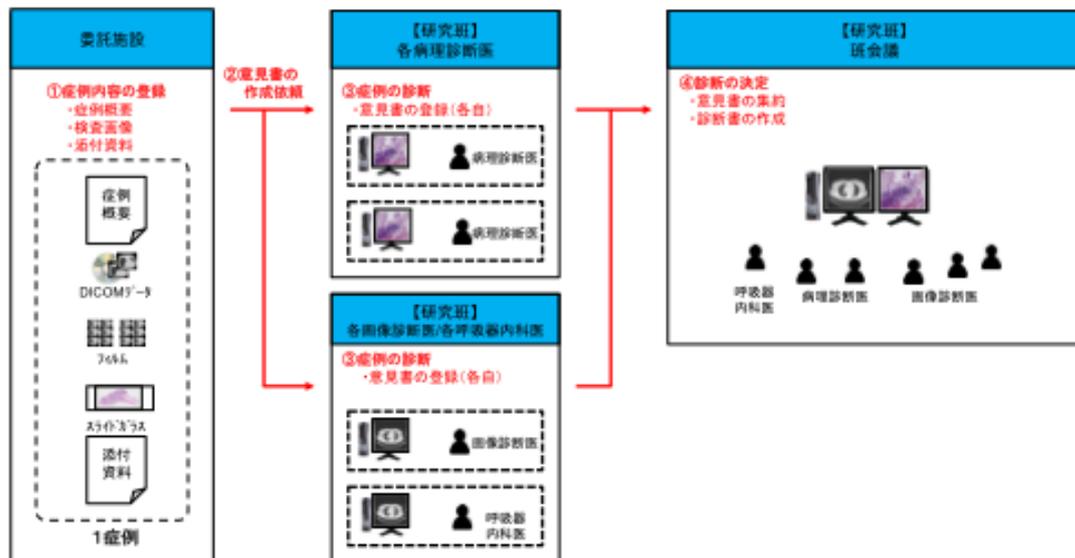
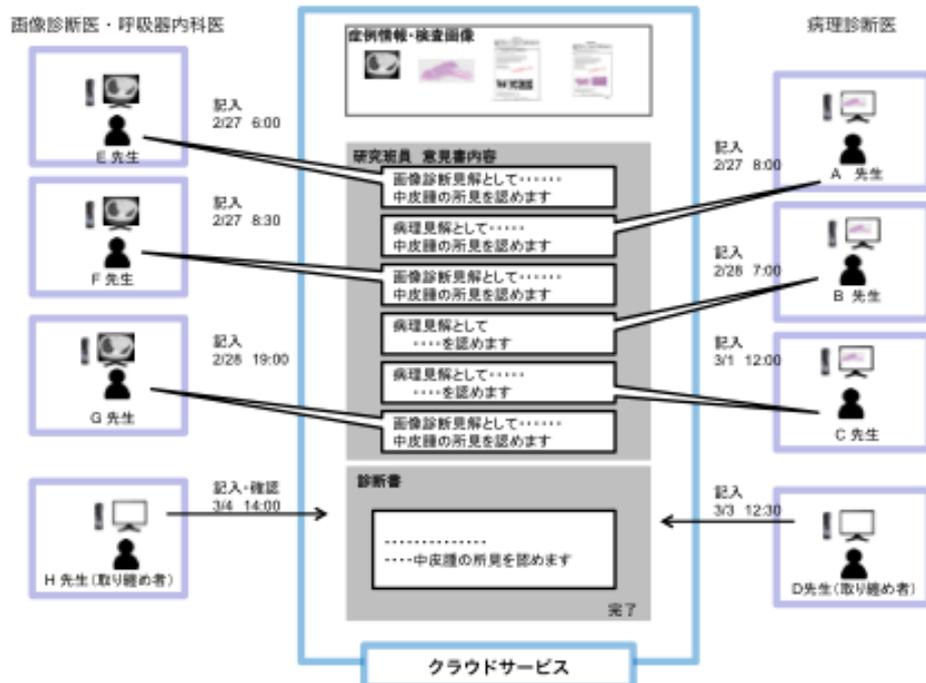


図4：診断意見の集約の仕組み



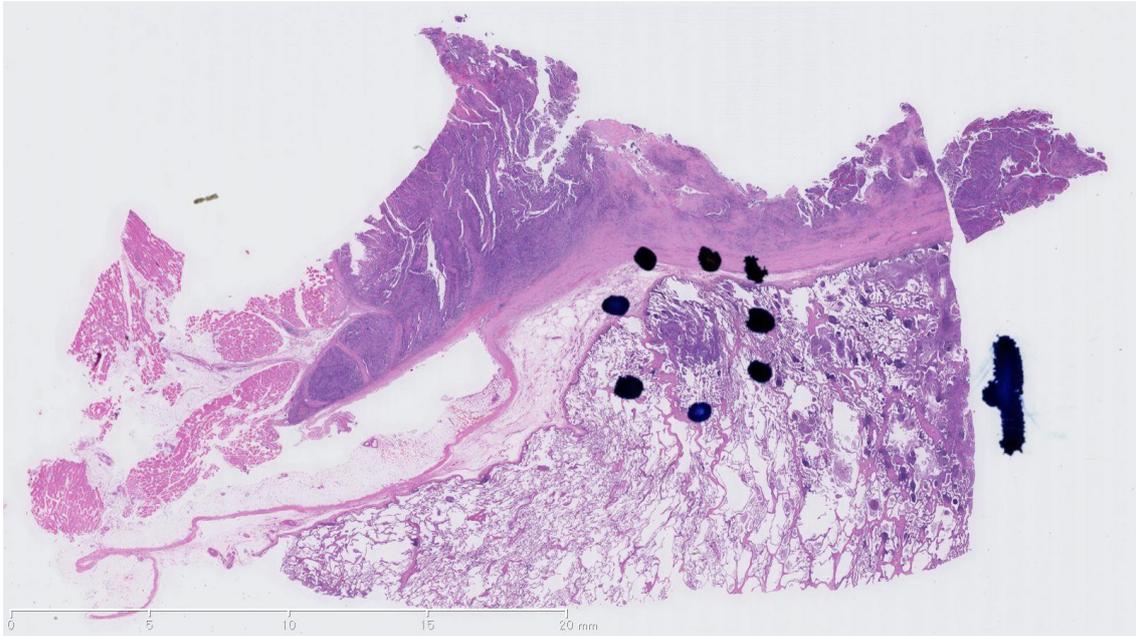


図5 病理所見 (HE 染色、弱拡大)

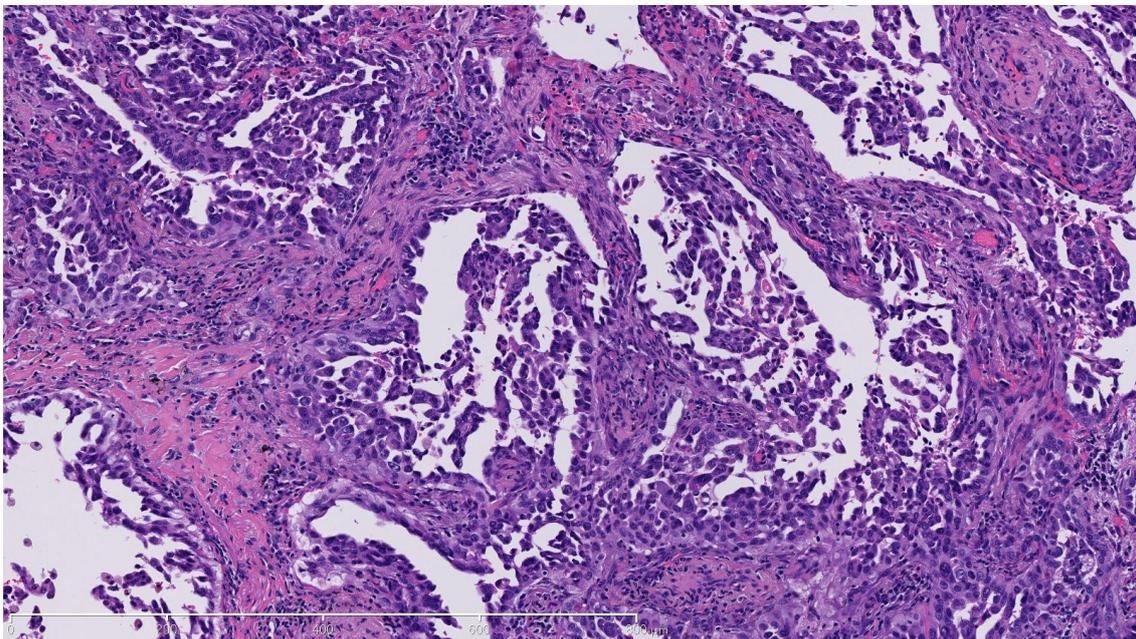


図6 肺内病変の病理所見 (HE 染色、強拡大)

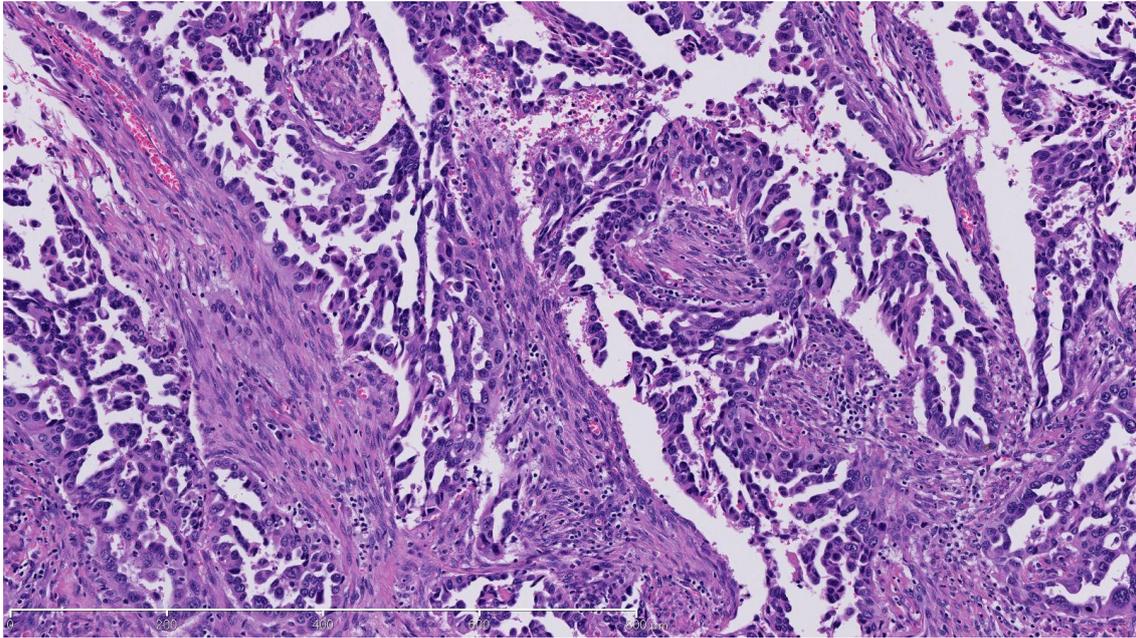


図7 胸膜病変の強拡大 (HE 染色、強拡大)

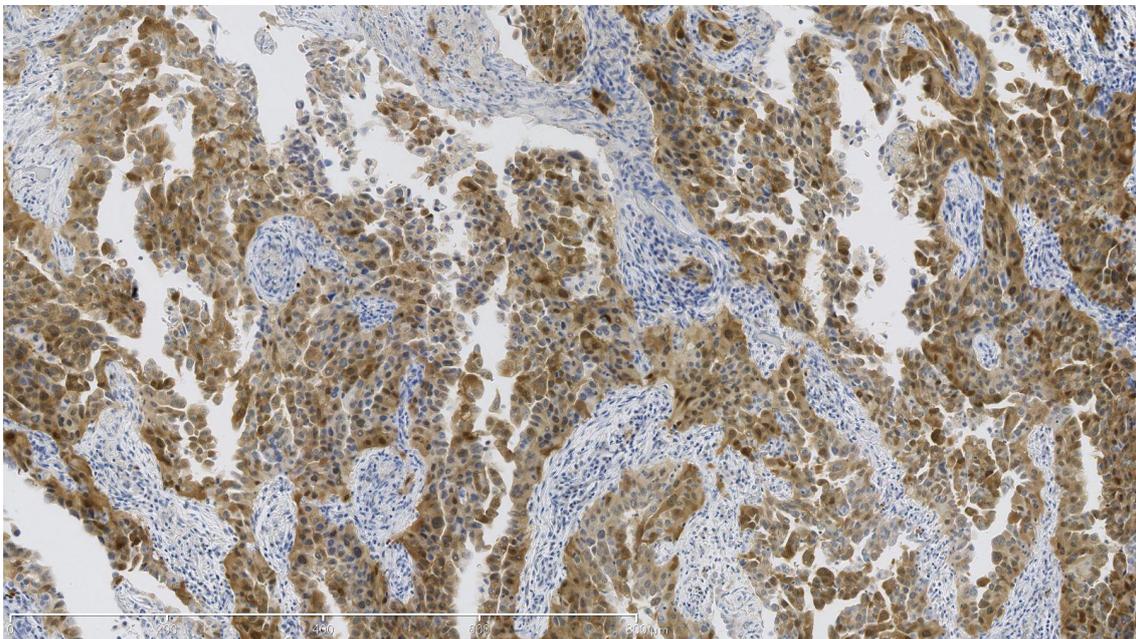


図8 Calretinin の免疫染色 (肺内病変)

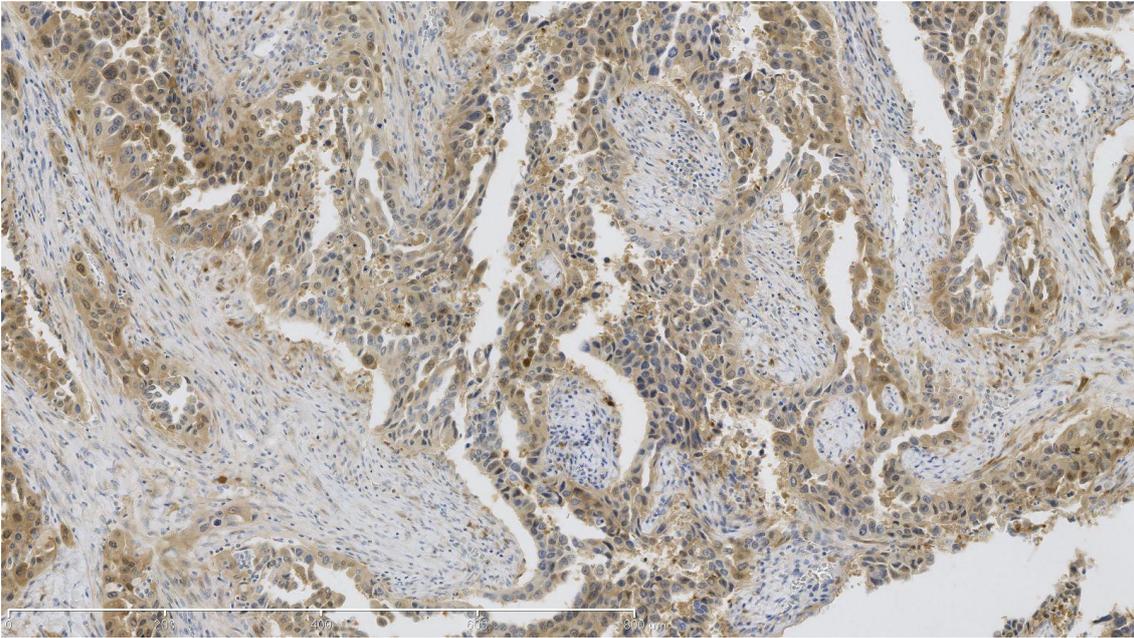


図9 Calretinin の免疫染色 (胸膜病変)

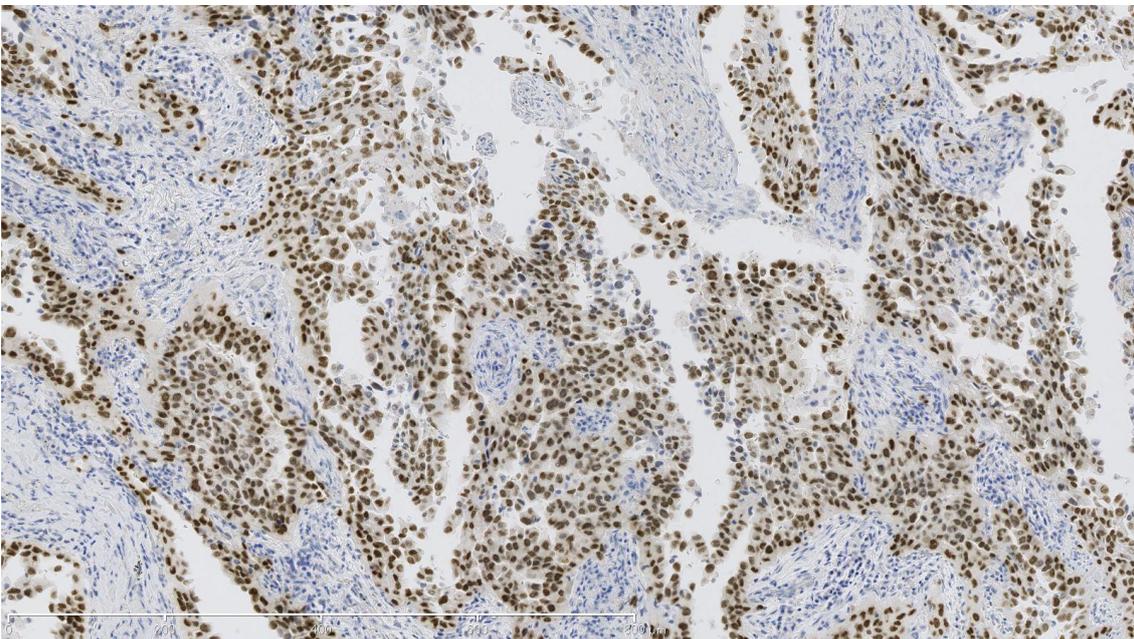


図10 TTF-1 の免疫染色 (肺内病変)

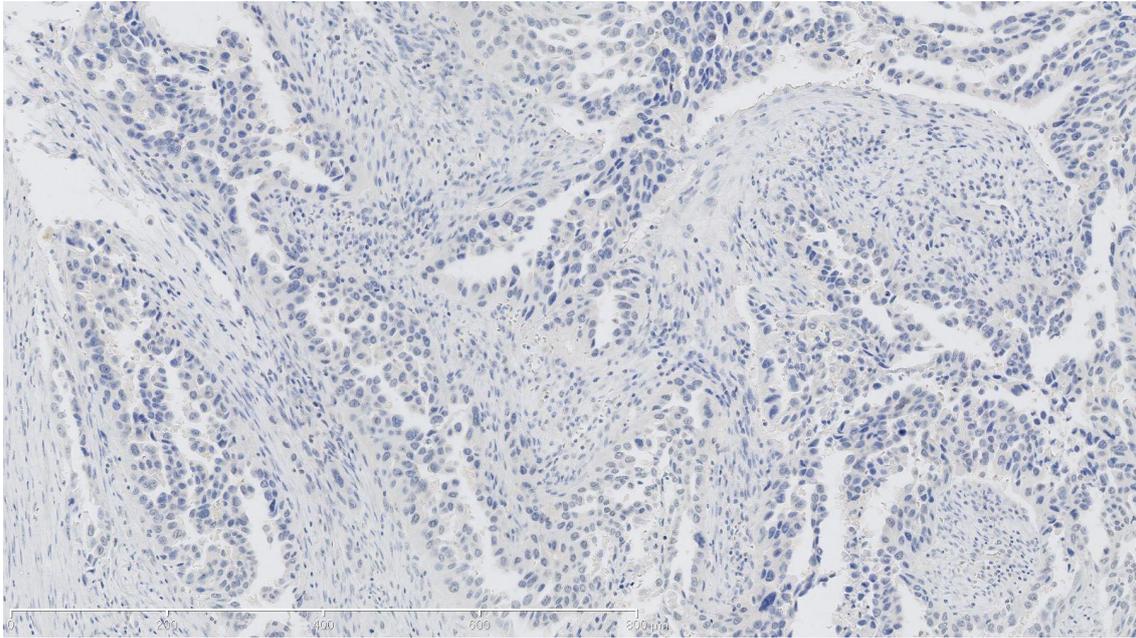


図 11 TTF-1 の免疫染色 (胸膜病変)

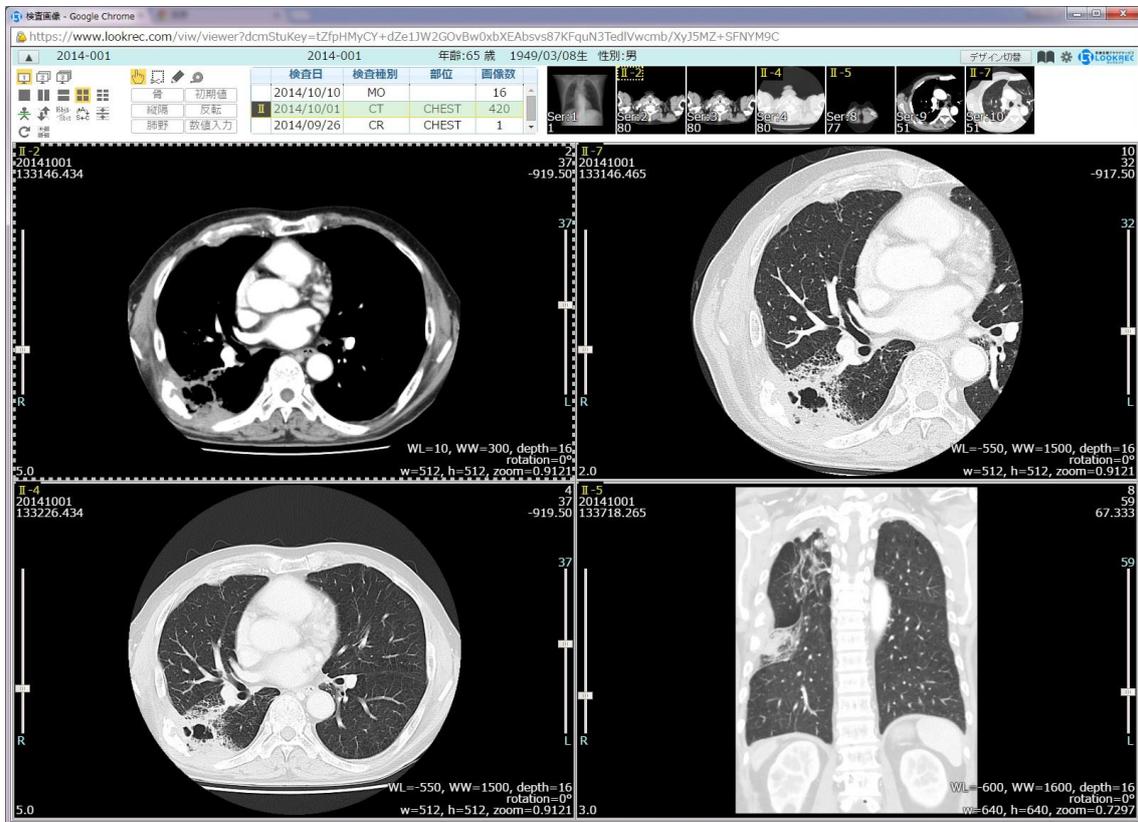


図 12 LOOKREC 上での画像所見

2014-001 男 1949/02/02生 65歳 8ヶ月		
A 医師	未分化型肺癌と考える	診断名 : 肺がん
B 医師	周囲に出血を伴う空房性腫瘍で、肺癌(今形態、低分化癌等)と思われる。	診断名 : 肺がん
C 医師	肺がんだ	診断名 : 肺がん
D 医師	加藤先生の見解に賛成。	診断名 : 肺がん
E 医師	空洞形成と胸壁浸潤を伴う肺癌でほぼ確定です。	診断名 : 肺がん
F 医師	大體です。・・・病理解は分かりませんが・	診断名 : 肺がん
G 医師	Epithelioid mesothelioma and adenocarcinoma (pap)	診断名 : その他
H 医師	肺癌と中皮腫の合併と考える	診断名 : 肺がん
I 医師	肺癌のよう。肺内の小病巣は別肺癌病巣。	診断名 : 肺がん
J 医師	画像的には、肺がんを疑います。	診断名 : 肺がん
	画像上、肺癌が疑わしい。	診断名 : 肺がん

図 13 LOOKREC 上での診断意見の一覧