

平成 28 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 29 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	労働者健康安全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 労働者健康安全機構北海道中央労災病院病理診断科部長 川崎医科大学放射線医学教授 国立学校共済組合中国中央病院腫瘍内科部長 広島大学大学院医歯薬保健学研究科病理学研究室教授 労働者健康安全機構岡山労災病院腫瘍内科部長 労働者健康安全機構千葉労災病院アスベスト疾患センター長	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科病理学研究室講師 労働者健康安全機構北海道中央労災病院副院長 社会医療法人北海道恵愛会札幌南三条病院副院長 広島大学大学院医歯薬保健学研究科病理学研究室助教 玉野三井病院内科 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター院長 労働者健康安全機構富山労災病院アスベスト疾患センター長 労働者健康安全機構香川労災病院副院長 労働者健康安全機構岡山労災病院臨床病理科 労働者健康安全機構岡山労災病院臨床病理科 労働者健康安全機構岡山労災病院臨床検査部 労働者健康安全機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 労働者健康安全機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 労働者健康安全機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター 労働者健康安全機構岡山労災病院アスベスト関連疾患研究センター	Amatya V. Jeet 大塚 義紀 加地 苗人 櫛谷 桂 筒井 英太 林 清二 水橋 啓一 丸川 將臣 藤木 正昭 妹尾 純江 宮原 基平 児島 葉子 藤村 敬子 佐藤 史織 安井 利枝

目 次

はじめに	1
1. 札幌南三条病院診断胸膜中皮腫の CT 画像に関する研究 岸本 卓巳	2
2. 山口宇部医療センターにおける胸膜中皮腫の画像所見と予後 青江 啓介、加藤 勝也、芦澤 和人 岸本 卓巳	14
3. 悪性胸膜中皮腫の診断における胸水中の Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) の有用性について 藤本 伸一、岸本 卓巳	26
4. 網羅的遺伝子発現解析による中皮腫病理診断の為の新規マーカーの探索 櫛谷 桂、Amatya V. Jeet、武島 幸男	32
5. 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 井内 康輝、由佐 俊和	49
6. 中皮腫の症例において他疾患との鑑別が困難な症例の収集、的確な鑑別診断の方法に関する研究、及び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の収集、的確な鑑別診断の方法に関する研究 大槻 剛巳	61
7. 石綿肺と病理組織診断が下されていた剖検症例の検討 ー協力を得られた労災病院症例ー 岡本 賢三、岸本 卓巳	73
おわりに	83

はじめに

胸膜中皮腫の的確な診断方法に関する研究では鑑別診断方法に重点をおき、症例を広く収集することを中心に行ってきた。対象を画像、胸水マーカー、病理診断と末梢血の免疫担当細胞、サイトカインにおいて症例を積み重ねた。

本研究の最終年度は岡山労災病院以外の病院として、山口宇部医療センター、札幌南三条病院の症例について胸部 CT による画像パターンの検討を行った。特に山口宇部医療センターの症例については、画像所見の詳細な分類や T、N 因子と予後の関係についての解析を行った。

胸水マーカーとしては SLPI (Secretory leukocyte protease inhibitor) による癌性胸膜炎、良性石綿胸水等との比較検討し、胸膜中皮腫診断における有用性について述べた。

病理学的な鑑別診断方法では (1) 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成、(2) 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌、(3) 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別のための各種抗体の sensitivity と specificity について検討し、推奨すべき抗体選択を行った。

そして遠隔画像及び病理診断については診断討議システムを用いて 16 例の鑑別の難しい症例を班員が個別診断を行った後、全体で討論して最終診断を下した。そして、この診断方法の有用性と今後の迅速な診断への適応等について述べた。

胸膜中皮腫と対照疾病として選択したびまん性胸膜肥厚の症例における免疫担当細胞の役割については、制御性 T 細胞や NK 細胞の population に差があることが発症メカニズムに関係している可能性を示唆した。

最後に石綿肺と臨床診断されていた 7 症例の剖検肺の病理学的な検討を行い、peribronchiolar fibrosis の観点から正確な診断のための病理学的所見の重要性について述べた。

症例収集に当たっては、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胸膜中皮腫患者等の皆様に深く感謝いたします。

平成 29 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

札幌南三条病院診断胸膜中皮腫の CT 画像に関する研究

岸本 卓巳

【 目 的 】

本研究班は胸膜中皮腫の CT 画像の特徴について研究を 2 年間行って、本年度で 3 年目となった。今年度も胸膜中皮腫であると病理学的に確定診断されていた症例の初診時の胸部 CT 画像所見について検討した。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と生存期間について検討した。また、2008 年前後で画像パターンにどのような相違があり、また生存期間に影響を与えたかについても検討した。

【 対象と方法 】

札幌南三条病院で 2006 年～2016 年までに胸膜中皮腫であると病理学的に確定診断された 24 例を対象とした。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)。すなわち、1：単発胸膜腫瘤形成、2：環状胸膜肥厚、3：軽度胸膜肥厚、4：縦隔側胸膜肥厚、5：胸水のみ、6：多発性腫瘤形成(漿膜腫瘤)、7：特殊型である(図 1～11)。また、胸水の有無について合併率を検討した。診断時の病期を検討し、組織型あるは画像パターンと予後の関係についても検討した。

年代別では、2008 年前後での上皮型中皮腫の画像パターンと生存期間の変化について検討した。

表 1. 胸膜中皮腫の初診時 CT 画像の特徴

- 1：単発胸膜腫瘤形成
- 2：環状胸膜肥厚(厚みがおおむね3mm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：多発性腫瘤形成(漿膜腫瘤)
- 7：特殊型(胸壁腫瘤形成、縦隔腫瘤形成等)



图 1. 1：单发胸膜肿瘤形成

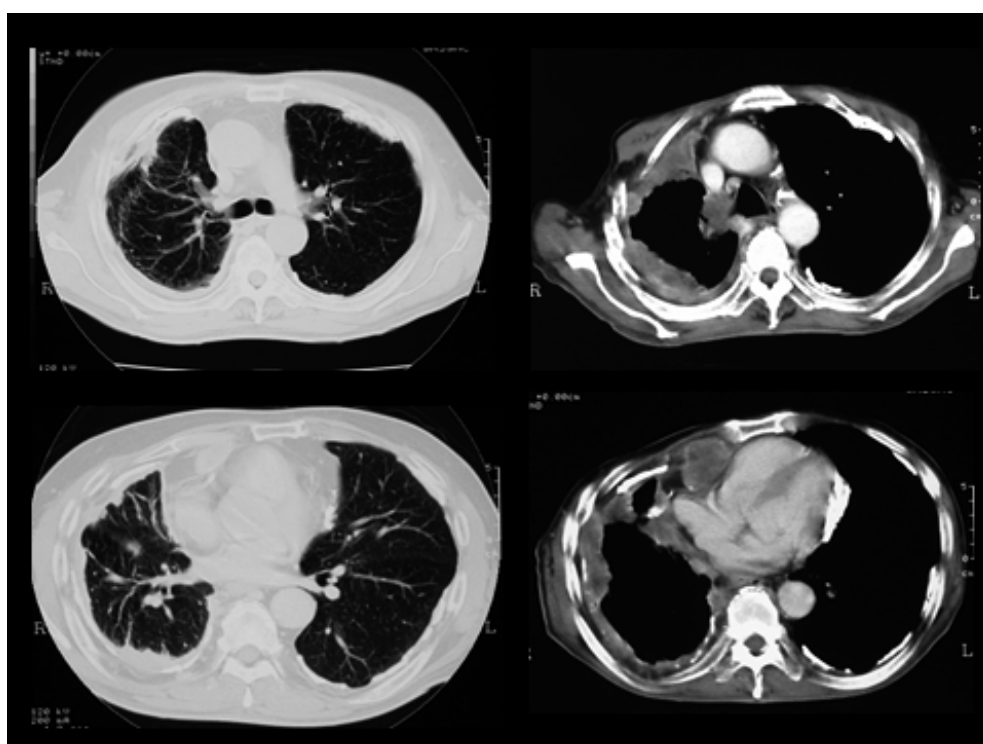


图 2. 2：环状胸膜肥厚



图 3. 2 : 環状胸膜肥厚

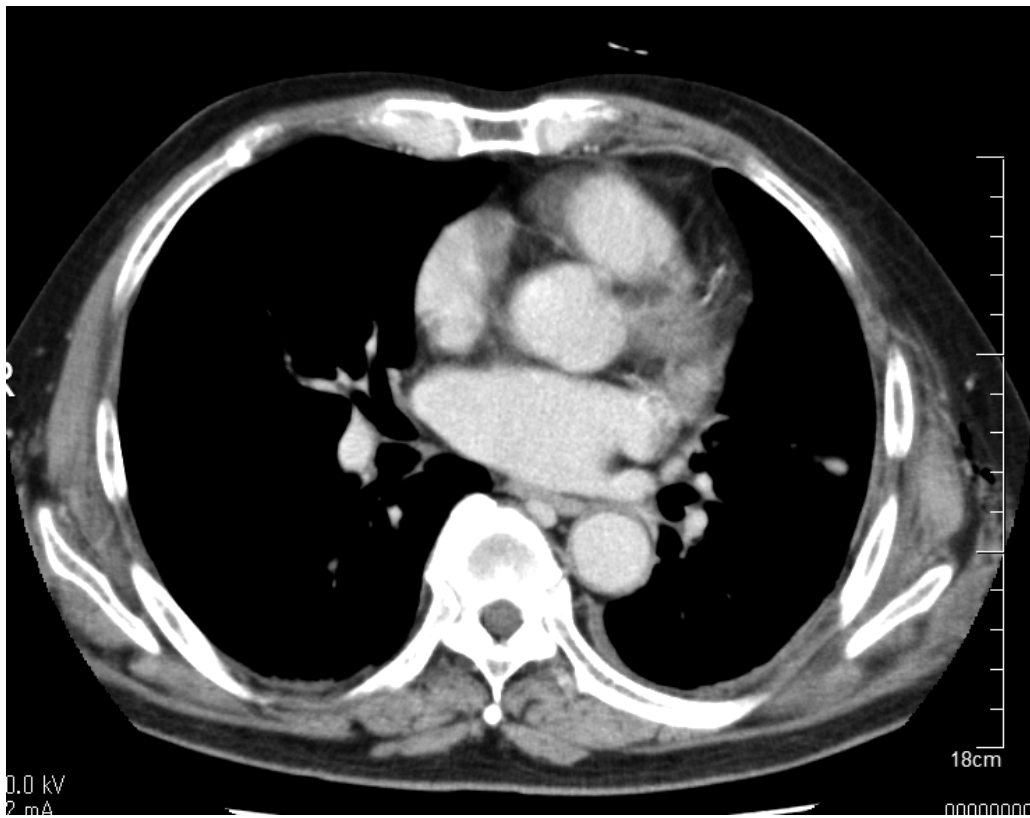


图 4. 3 : 軽度胸膜肥厚

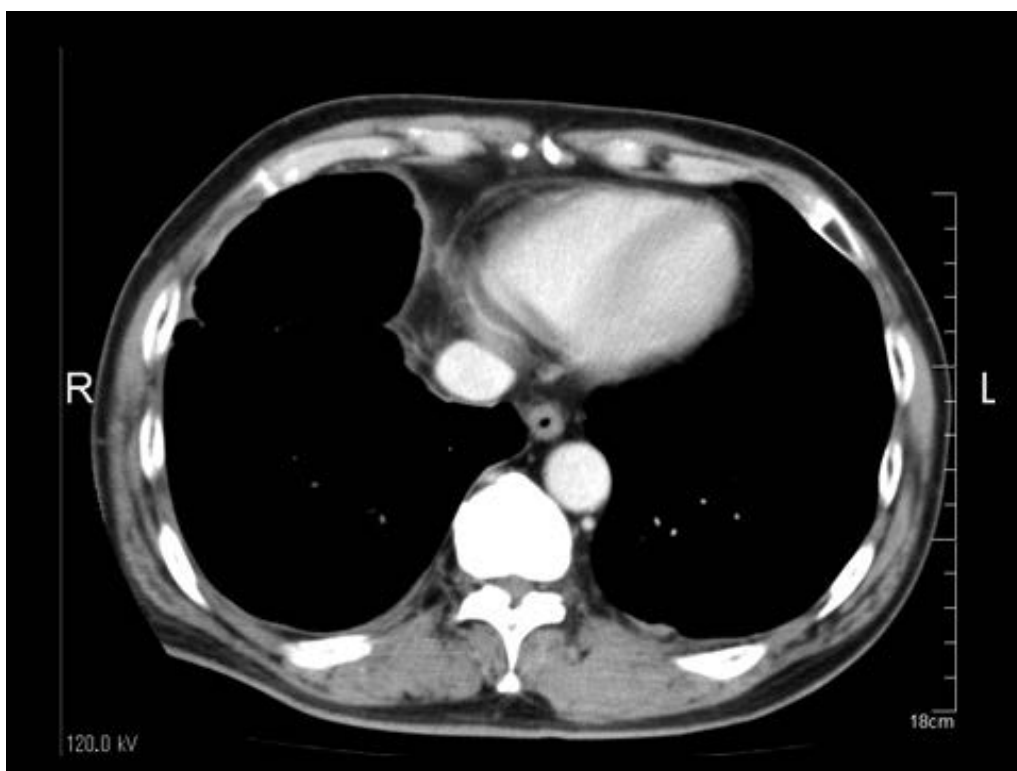


图 5. 3：轻度胸膜肥厚+4：纵隔侧胸膜肥厚

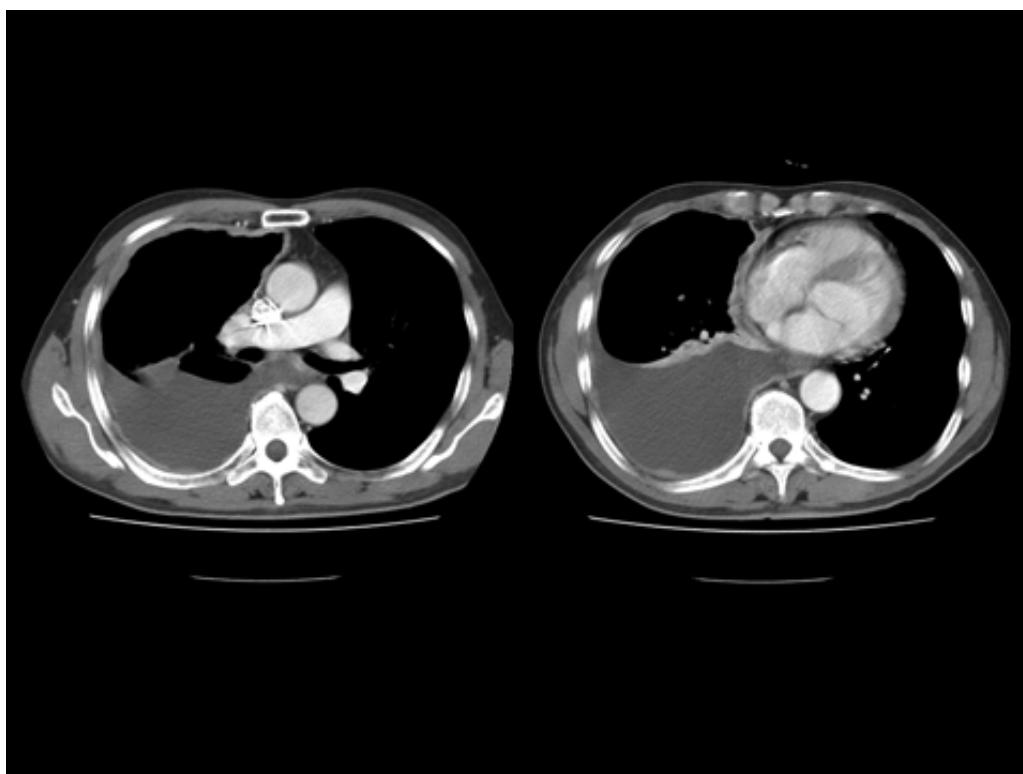


图 6. 3：轻度胸膜肥厚+4：纵隔侧胸膜肥厚



図 7. 5 : 胸水のみ

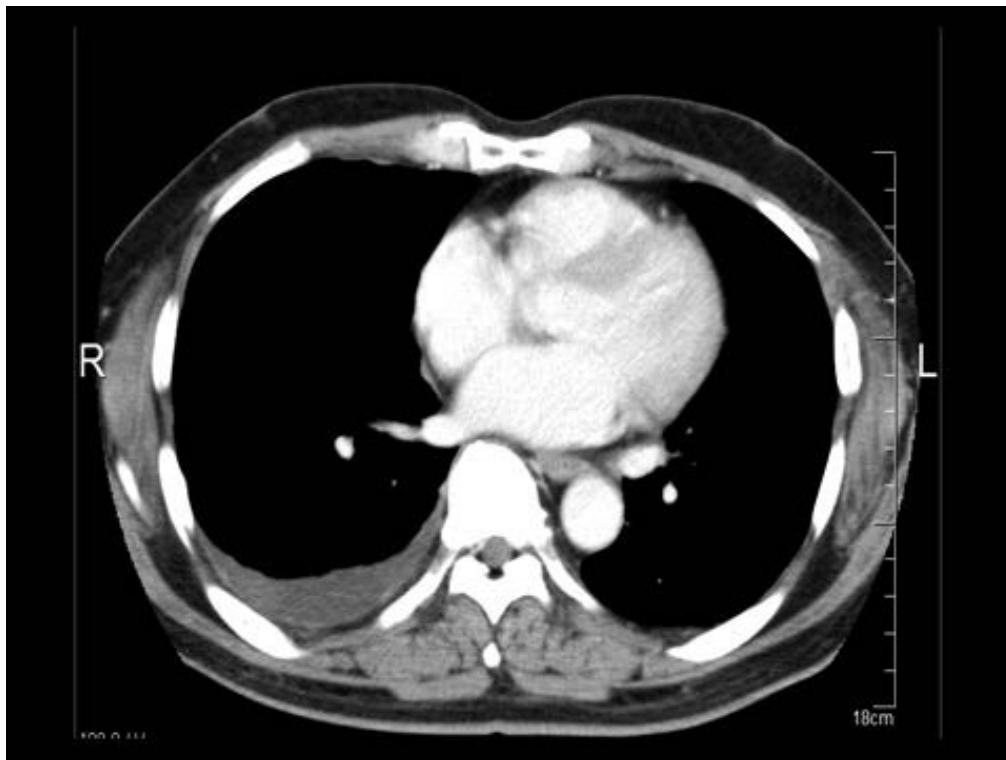


図 8. 5 : 胸水のみ

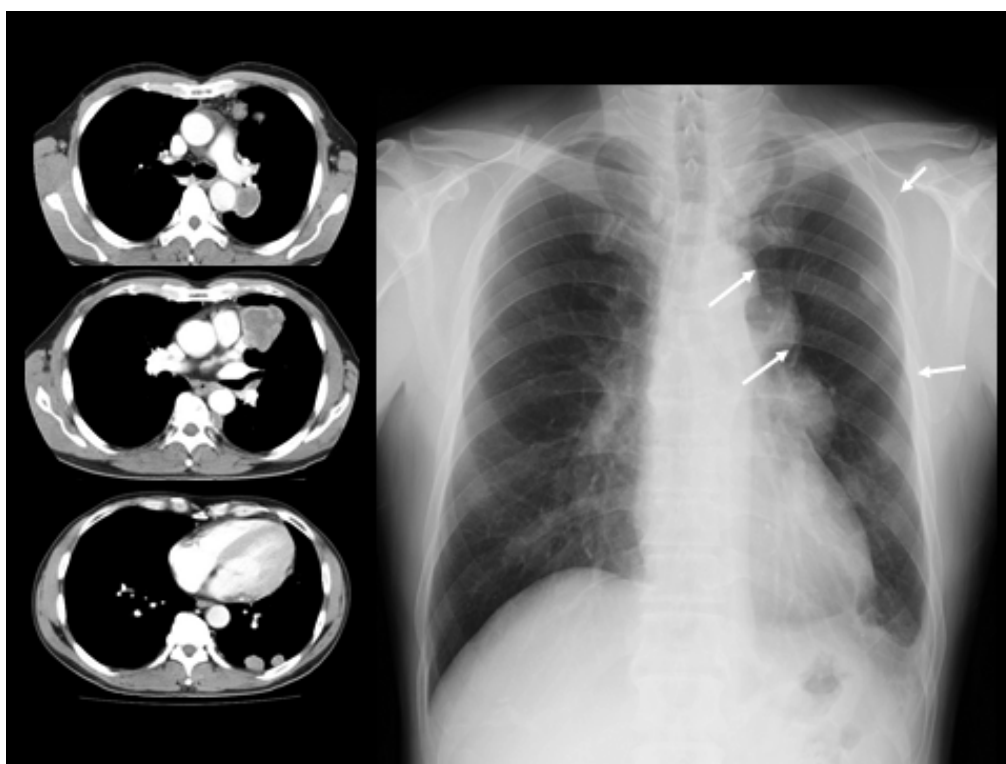


图 9. 6：多发性肿瘤形成

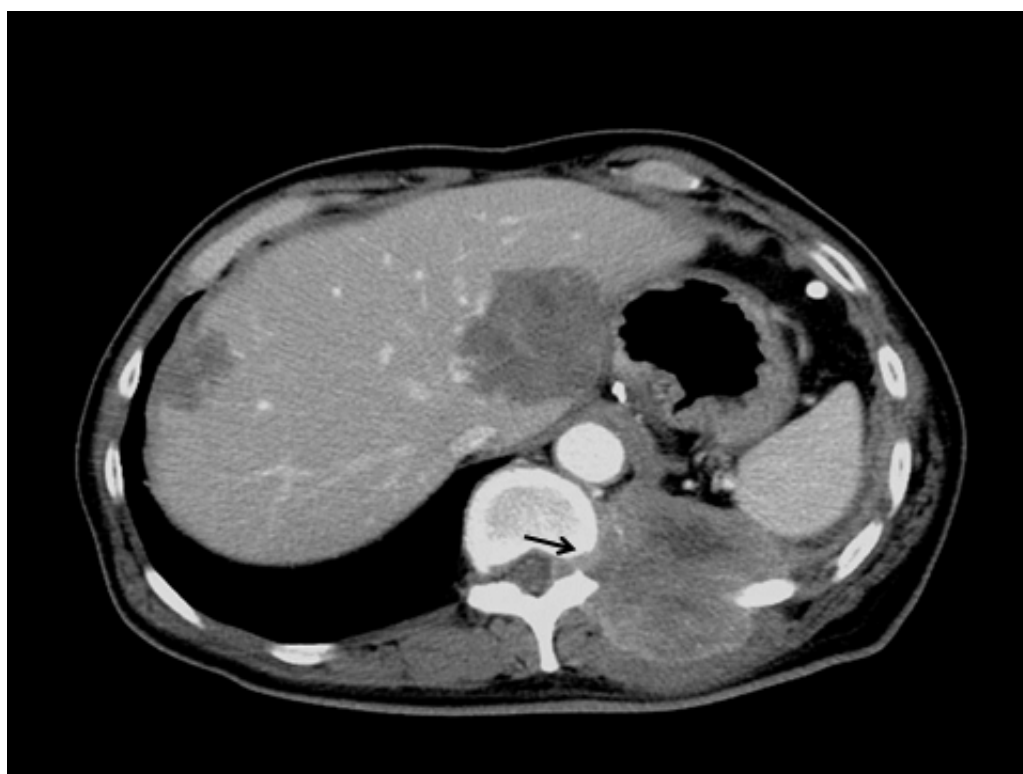


图 10. 7：特殊型（胸壁肿瘤形成）

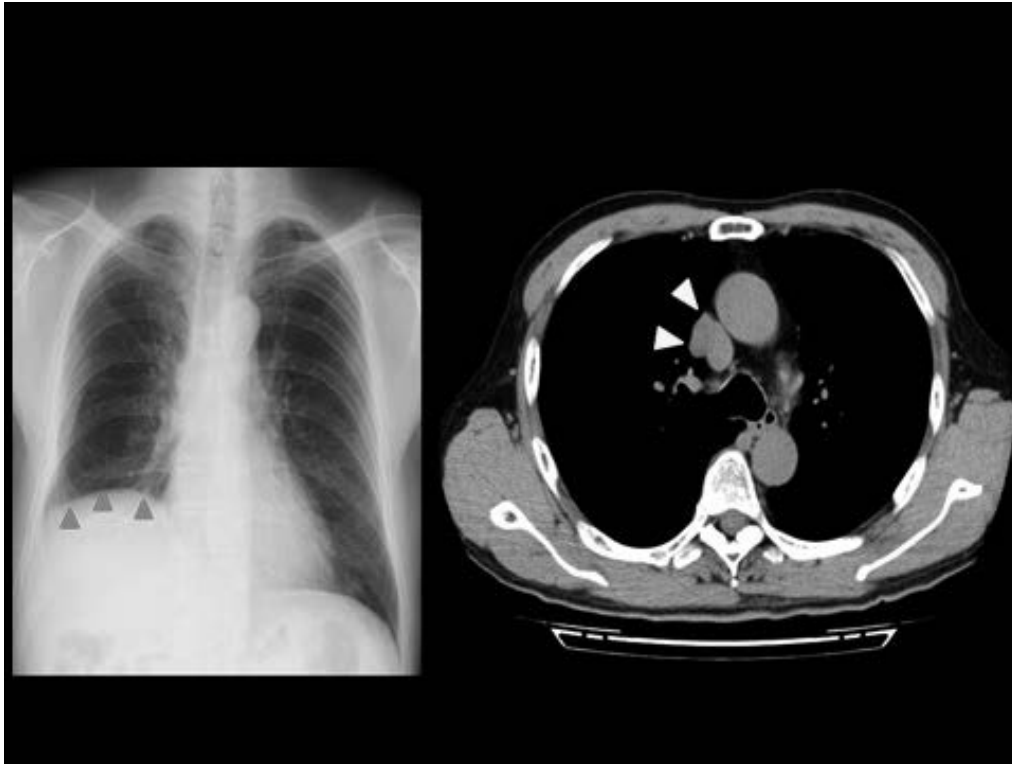


図 11. 7：特殊型（縦隔腫瘍形成）

【 結 果 】

1. 組織型、胸水の有無と画像パターン

札幌南三条病院で診断された 24 例について組織型別では、上皮型 18 例（75.0%）、二相型 4 例（16.7%）、肉腫型 2 例（8.3%）であった（図 12）。そのうち、胸水を伴う症例は 23 例（95.8%）であった。画像パターンでは、縦隔側胸膜肥厚と軽度胸膜肥厚が 26.5%と最も多く、環状胸膜肥厚が 23.5%、次に多発性腫瘍形成が 20.6%、胸水のみが 2.9%、特殊型と単発胸膜腫瘍形成は 0 例であった。（図 13）

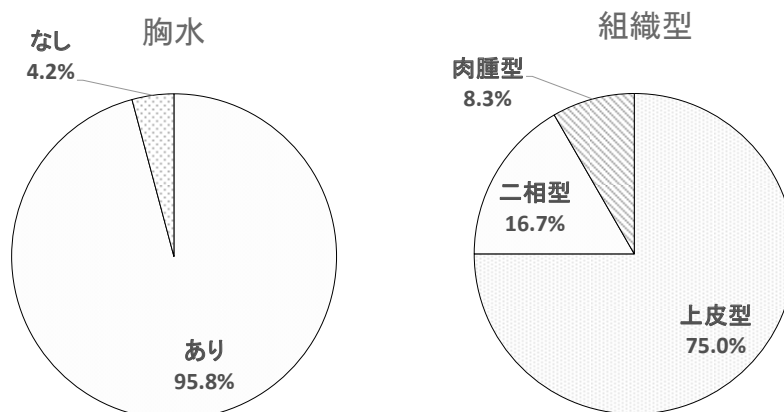


図 12. 組織型別

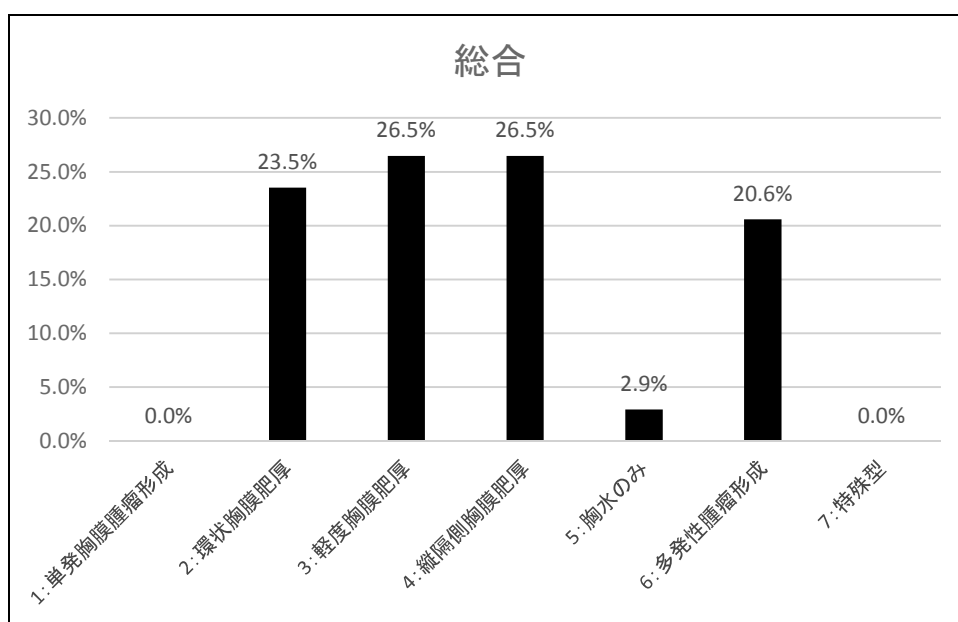


図 13. 24 例の画像パターン

2. 組織型別画像パターン

上皮型 18 例（図 14）では縦隔側胸膜肥厚が 34.7%と最も多く、次に、軽度胸膜肥厚が 30.8%、多発性腫瘤形成 19.2%、環状胸膜肥厚が 11.5%、胸水のみが 3.8%で単発胸膜腫瘤形成、特殊型は一例もいなかった。二相型 4 例（図 15）では環状胸膜肥厚が 66.7%、多発性腫瘤形成が 33.3%。さらに肉腫型 2 例（図 16）では環状胸膜肥厚と軽度胸膜肥厚が各 50.0%であった。

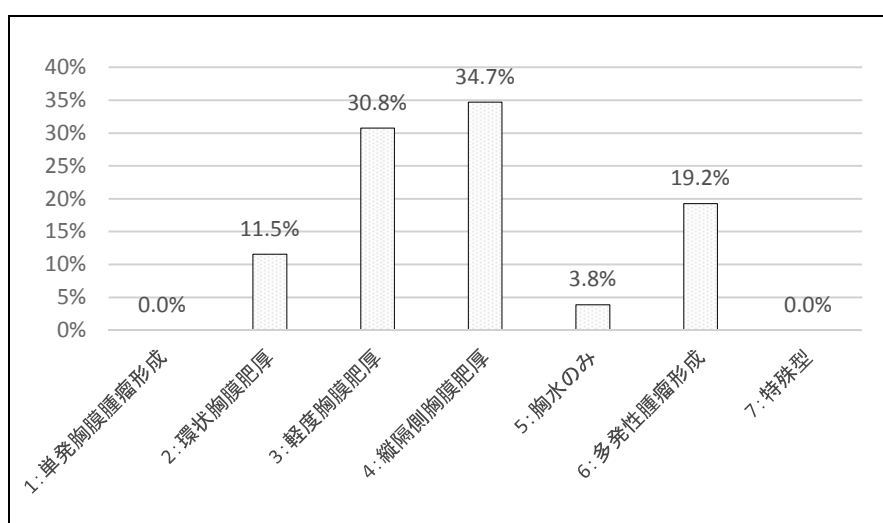


図 14. 上皮型

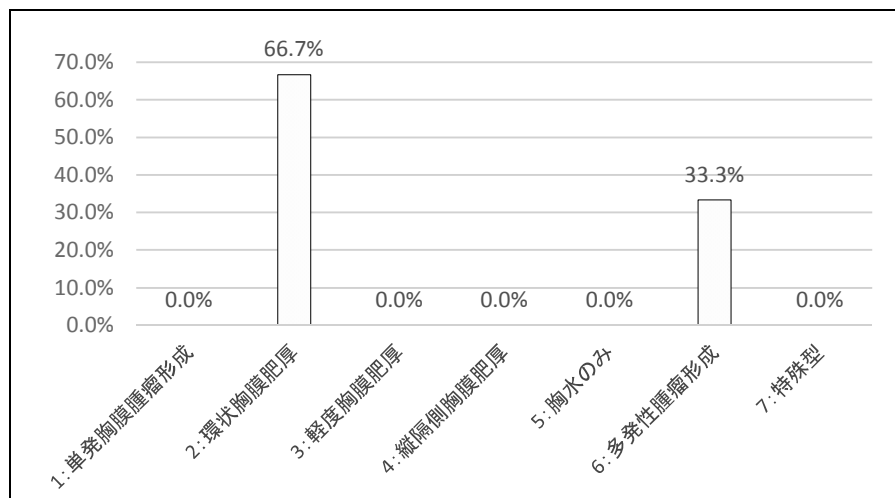


図 15. 二相型

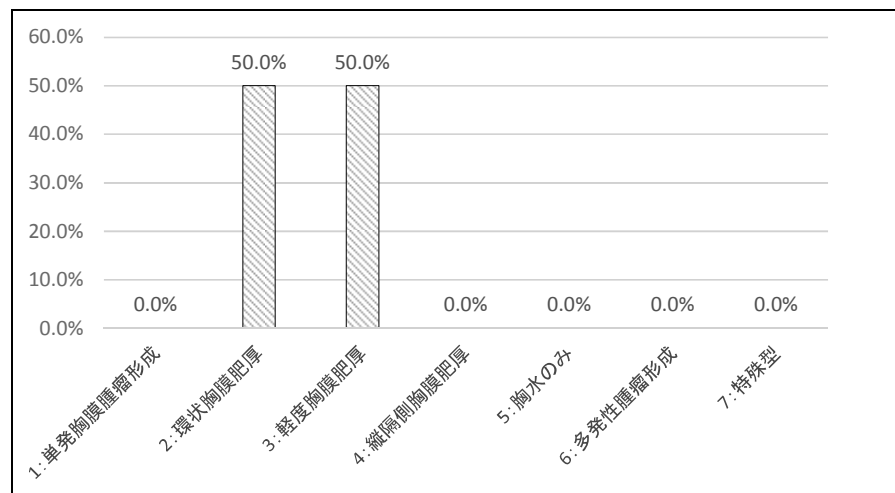


図 16. 肉腫型

3. 病期分類と生存期間

(1) 病期

札幌南三条病院の 24 例を IMIG 分類で病期別に検討したところ（表 2）、StageⅢが 13 例と最も多かったが、StageⅠが 3 例、Ⅱも 5 例あった。

画像パターンでは胸水のみあるいは軽度胸膜肥厚では StageⅠ、Ⅱであったが、環状胸膜肥厚、多発性腫瘤形成では StageⅢ、Ⅳであった。また、縦隔側胸膜肥厚例で T1 あるいは T2 であってもリンパ節腫大があり、StageⅢと判断しなければならない症例が 2 例あった。

表 2. IMIG 分類臨床病期の分布

	N0	N1	N2	N3	
T1	3	1	0	0	Stage I 3
T2	5	1	0	0	Stage II 5
T3	3	2	6	0	Stage III 13
T4	1	1	1	0	Stage IV 3

(2) 生存期間

生存期間は図 17 のように 24 ヶ月以上の生存者が 4 例あり、80 ヶ月以上の長期生存例も 1 例いる。しかし、大半の生存期間は 40 ヶ月未満で中央値は 9.5 ヶ月であった。

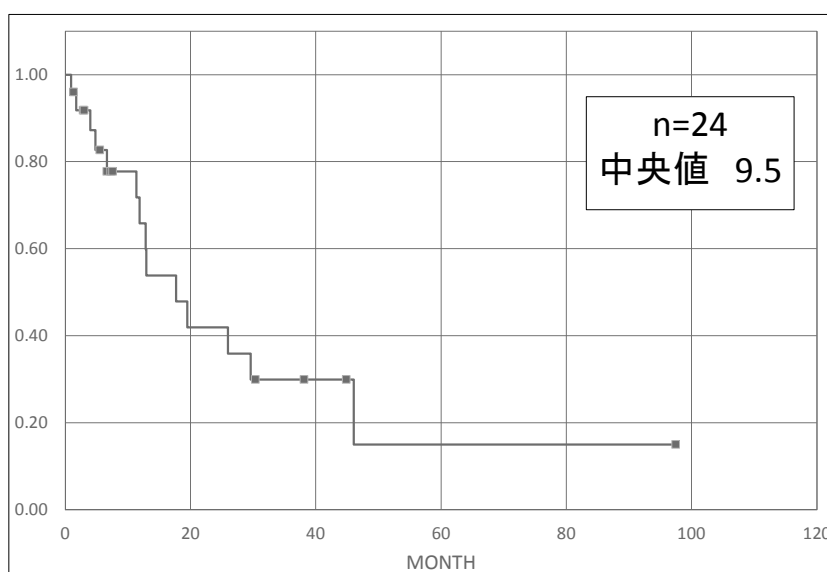


図 17. 生存期間

(3) 2008 年前後での画像パターンと生存期間

2008 年以前の画像別では図 18 のように上皮型では、環状胸膜肥厚、軽度胸膜肥厚、多発性腫瘤形成が各 33.3%であり、二相型、肉腫型の症例はなかった。

一方、2009 年以降の画像パターンでは、単発胸膜腫瘤形成と特殊型はなかったが、縦隔胸膜肥厚が 39.2%、軽度胸膜肥厚が 30.4%、多発性腫瘤形成が 17.4%、環状胸膜肥厚が 8.7%、胸水のみが 4.3%であった。二相型では環状胸膜肥厚、縦隔側胸膜肥厚、多

発性腫瘍形成が各 33%で、肉腫型では環状胸膜肥厚、縦隔側胸膜肥厚が各 50%であった。

上皮型を 2008 年までと 2009 年以降に分類すると縦隔側胸膜肥厚が 0%から 29.0%、胸水のみも 0%から 3.2%に増加していた。一方、進行病期を示唆する環状胸膜肥厚は 33.3%から 22.6%に、多発性腫瘍形成も 33.3%から 19.4%へと減少していた（図 19）。

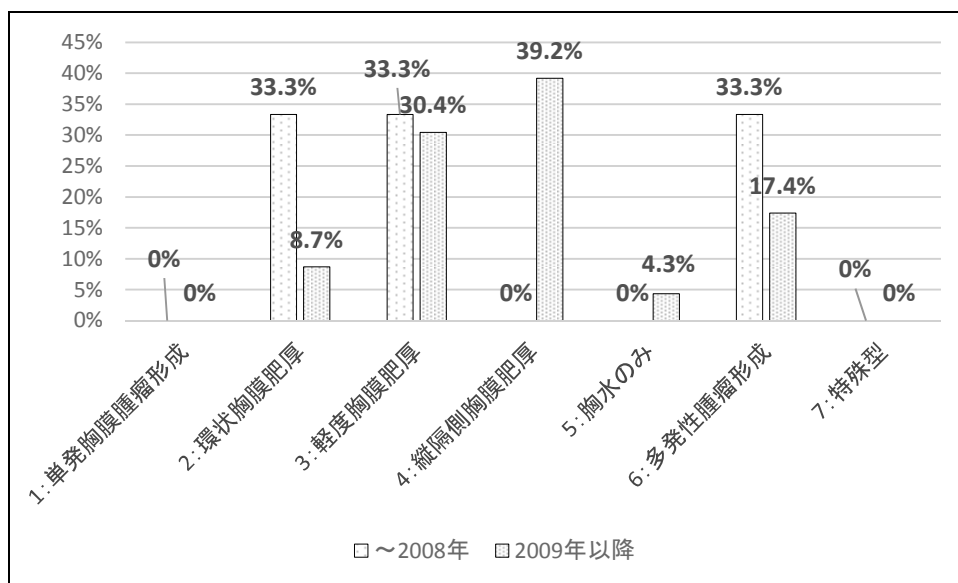


図 18. 上皮型

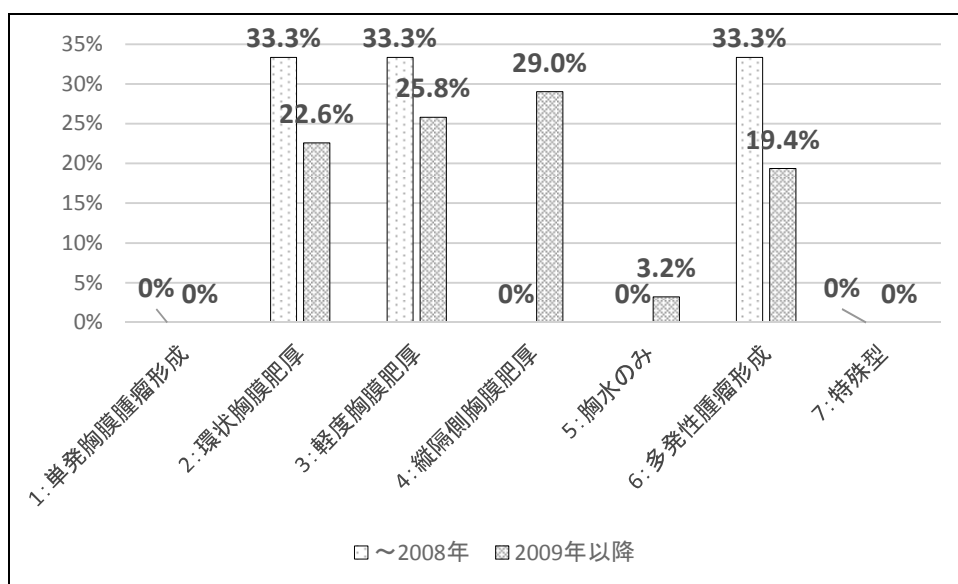


図 19. 総合

【 考 察 】

胸膜中皮腫の CT 画像での典型像は壁側胸膜に発生する腫瘍が、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（pleural rind）が最も多いと報告されている¹⁾。しかし、今年度検討した札幌南三条病院の 24 例では縦隔側胸膜肥厚と軽度胸膜肥厚が各 26.5%と最も多かった。そして、環状胸膜肥厚は 23.5%、多発性腫瘤形成は 20.6%であった。我々が過去の厚生労働科学研究において収集した 2003 年から 2008 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 651 例のうち病理組織型が確定されていた 482 例の胸部 CT 画像所見について検討した結果、胸膜中皮腫の初診時の胸部 CT 画像では環状胸膜肥厚が最も多く、次いで多発性腫瘤形成、縦隔側胸膜肥厚、軽度胸膜肥厚、単発胸膜腫瘤形成で胸水のみ症例はわずか 8.4%であった。胸膜中皮腫の組織型別でも、上皮型、二相型、肉腫型のいずれにおいても環状胸膜肥厚が最も多かった。

この画像パターンを 2008 年（いわゆるクボタショックの翌年）を境として、その前後で比較したところ、2009 年以降では胸水のみ症例が 7.5%から 8.0%へと増加しているとともに、縦隔側胸膜肥厚は 12.0%から 19.8%へと増加していた。札幌南三条病院の 24 例では胸水のみは 1 例と少なかったものの縦隔側胸膜肥厚と軽度胸膜肥厚が主体で、その 75.0%が上皮型であった。上皮型中皮腫では 2009 年以降、環状胸膜肥厚、多発性腫瘤形成が減少し、より早期病変である縦隔側胸膜肥厚と胸水のみが増加していた。この結果は上述の全国集計と同様であった。その理由として、同胸水を来たす疾患の鑑別診断として、胸水中のヒアルロン酸等の測定とともに胸水細胞診における免疫染色を行い、精密検査が必要な症例には胸腔鏡下胸膜生検を行っていたことが挙げられる。そして、必要な症例には外科手術が施行され、24 ヶ月以上の生存例が 4 例あり、そのうち 80 ヶ月以上の長期生存例も 1 例あった。

【 結 論 】

札幌南三条病院で診断された 24 例の胸膜中皮腫の画像診断では縦隔側胸膜肥厚及び軽度胸膜肥厚の頻度が最も高かった。しかし、単発胸膜腫瘤形成はなく、胸水のみ症例も 1 例のみであった。この傾向は組織型別で上皮型が 75.0%を占めるため、縦隔側胸膜肥厚及び軽度胸膜肥厚の頻度は組織型に依存していた。二相型、肉腫型では環状胸膜肥厚と多発性腫瘤形成が多かった。

軽度胸膜肥厚や縦隔側胸膜肥厚のような早期病変で確定診断される症例が大半を占めていることから、同院では胸水マーカーあるいは細胞診検査を繰り返し行って、胸膜中皮腫が疑われる場合には必ず組織診を行って診断を確定させることが早期診断につながっていると思われた。また、胸水のみや軽度胸膜肥厚例を手術適応として積極的な治療が行われていることから、今後の生存期間の延長が期待できると思われた²⁾。

参考文献

- 1) Robinson BWS, Lake RA. Advances in malignant mesothelioma. N Engl J Med. 353:1591-1603.2005
- 2) Domen A, De Laet C, Vanderbruggen W, Gielis J, Hendriks JM, Lauwers P, Janssens A, Hiddinga B, Van Meerbeeck JP, Van Schil PE. Malignant pleural mesothelioma: single-institution experience of 101 patients over a 15-year period. Acta Chir Belg. 117:157-63.2017

山口宇部医療センターにおける胸膜中皮腫の画像所見と予後

青江 啓介、加藤 勝也、芦澤 和人、岸本 卓巳

【 目 的 】

胸膜中皮腫の典型的な画像所見として全周性に不整な胸膜肥厚を来す環状胸膜肥厚が挙げられるが、必ずしも臨床上遭遇する胸膜中皮腫はそのようなものばかりではない。また、胸腔鏡の臨床導入により胸水のみで胸膜中皮腫と診断される症例も見られるようになってきたが、実臨床においてそのような症例がどの程度なのかは明らかではない。胸膜中皮腫の初診時の画像所見についての検討を行い、さらに画像所見と予後との関係を検討した。

【 対象と方法 】

対象は山口宇部医療センターで2006年6月～2016年7月までに組織学的に胸膜中皮腫と診断され、その後の経過が観察可能であった99例で、中皮腫診断時のCT画像所見、中皮腫の組織型、診断時からの生存期間について検討した。99例の内訳は男性82例、女性17例、年齢は39歳から88歳（平均68歳）であった。

CT画像評価項目は中皮腫関連の所見として、環状胸膜肥厚、縦隔側胸膜肥厚、胸水、腫瘍形成の有無（単発、多発）、IMIG分類によるTNM分類も決定し、病期について分類を行った。また、中皮腫の定量的評価として、中皮腫病変の範囲、再肥厚部位の厚さも検討した。病変の範囲については、大動脈弓部、下肺静脈流入部を境界として3領域に分け、病変が及ぶ領域数を0～3点としてスコア化した。

CT画像評価は呼吸器専門医（青江啓介、岸本卓巳）、胸部領域を専門とする放射線専門医（加藤勝也、芦澤和人）4名の合議で行った。

統計的解析としては、CT画像所見と診断からの生存期間との関連は、Kaplan-meier生存曲線を作成し、Log Rank検定にて検討した。

【 結 果 】

（1）全症例についての生存解析

対象症例99例の生存曲線を作成した（**図1**）。生存期間中央値13.7ヶ月（95%信頼区間、9.5～17.9ヶ月）であった。1年生存率は55.3%、2年生存率は30.0%、3年生存率は23.0%であった。

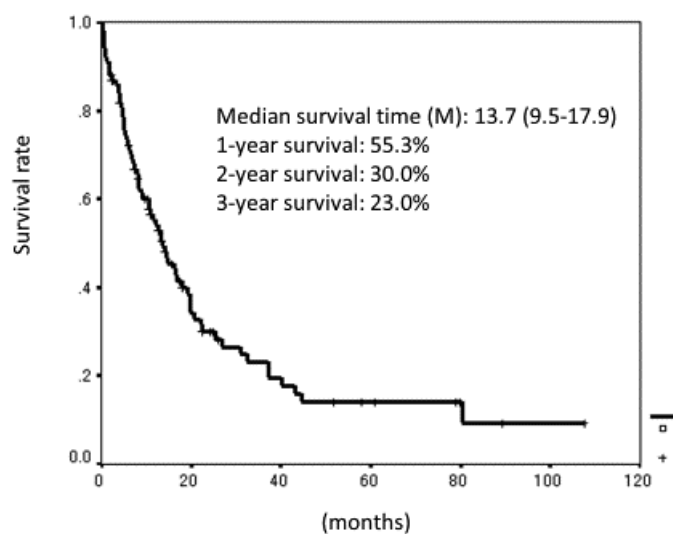


図 1. 山口宇部医療センターにおける胸膜中皮腫の生存曲線

年齢 60 歳以下とそれより高齢の群に分けて生存曲線を作成すると、生存期間中央値はそれぞれ 80.3 ヶ月、11.6 ヶ月と若年群で有意に予後は良好であった ($P < 0.0001$ 、図 2)

年齢と予後（60歳）

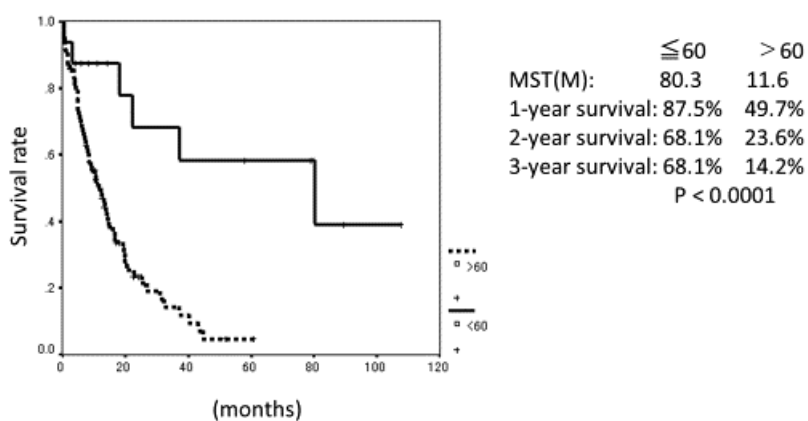


図 2. 年齢別予後の解析 1

同様に、65 歳以下とそれより高齢の群に分けて生存曲線を作成すると、生存曲線中央値はそれぞれ、18.0 ヶ月、10.7 ヶ月で若年群が予後良好であった ($P = 0.0026$ 、図 3)。

年齢と予後（65歳）

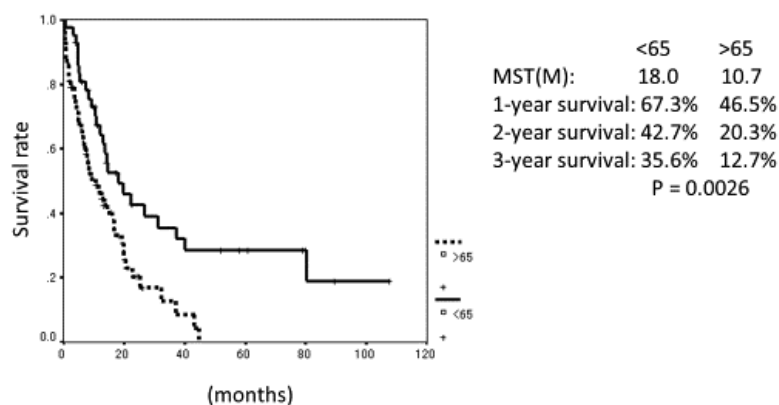


図 3. 年齢別予後の解析 2

さらに、70 歳以下とそれより高齢の群に分けて生存曲線を作成すると、生存曲線中央値はそれぞれ、16.8 ヶ月、8.2 ヶ月で若年群が予後良好であった（ $P=0.0023$ 、図 4）。

年齢と予後（70歳）

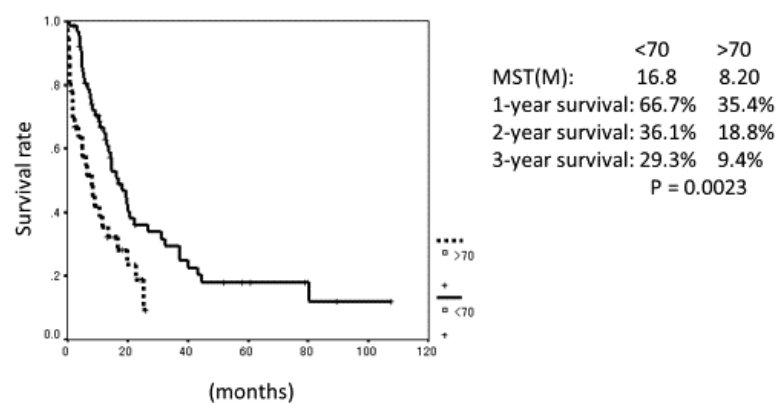


図 4. 年齢別予後の解析 3

次に、性別ごとに生存曲線を作成すると、生存期間中央値は、女性 80.3 ヶ月、男性 12.1 ヶ月と女性の予後が有意に良好であった（ $P=0.0030$ 、図 5）。

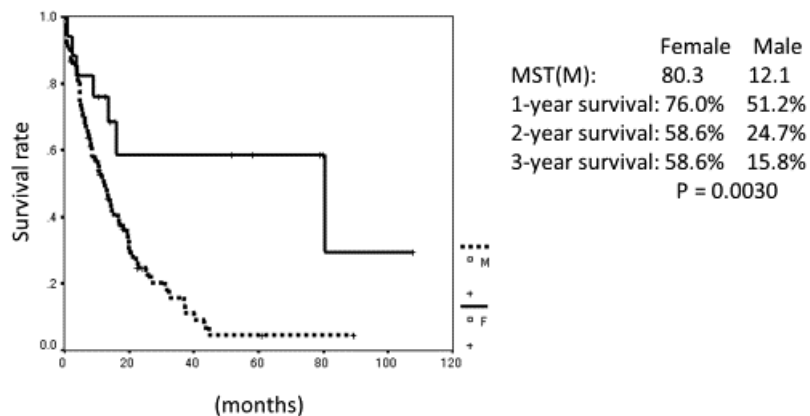


図 5. 性別と予後

最後に組織型別に生存曲線を作成した。その結果、上皮型、肉腫型、二相型では予後に有意な差が認められた ($p=0.0014$ 、図 6)。最も予後良好であった上皮型の生存期間中央値は 16.6 ヶ月であった。

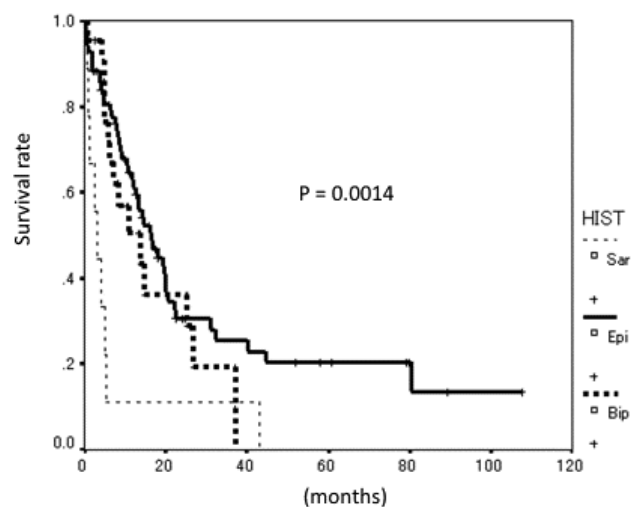


図 6. 組織型と予後

(2) 画像所見と予後

胸膜中皮腫の画像所見として、環状胸膜肥厚は 47 例 (47%)、縦隔側胸膜肥厚は 88 例 (89%)、胸水は 88 例 (89%) に認められた (表 1)。

表 1. 胸膜中皮腫の画像所見

所見	あり	なし
環状胸膜肥厚	47 (47%)	52 (53%)
縦隔側胸膜肥厚	88 (89%)	11 (11%)
胸水	88 (89%)	11 (11%)

また、腫瘍形成の有無についてみると、腫瘍形成が認められるものは 20 例 (20%) でそのうち、7 例 (7%) が単発、13 例 (13%) が多発であった (表 2)。

表 2. 胸膜中皮腫の腫瘍形成

腫瘍形成	
なし	79 (80%)
単発	7 (7%)
多発	13 (13%)

続いて、それぞれの画像所見の有無と予後を解析した。

まず、環状胸膜肥厚の有無で生存曲線を作成すると、環状胸膜肥厚を呈する群は有意に予後が不良であった ($P=0.0220$ 、図 7)。

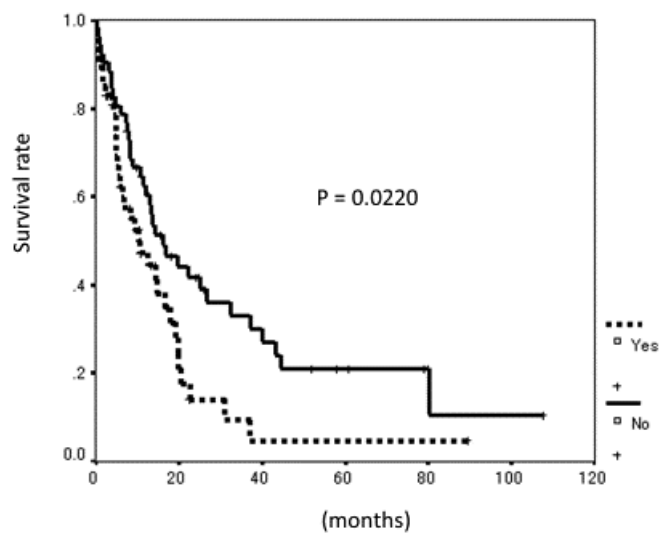


図 7. 環状胸膜肥厚と予後

次に縦隔側胸膜肥厚の有無で生存曲線を作成した（図 8）。縦隔側胸膜肥厚の有無では予後に差は認められなかった（ $P=0.8192$ ）。

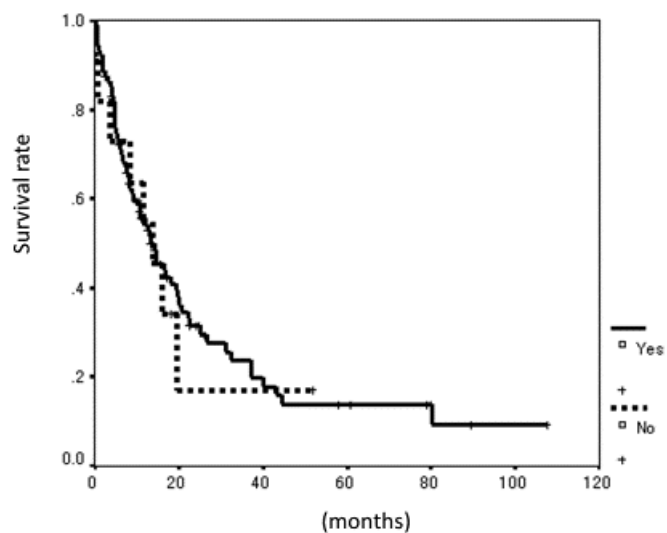


図 8. 縦隔側胸膜肥厚と予後

続いて、胸水の有無で生存曲線を作成した（図 9）。胸水の有無で予後に差は認められなかった。

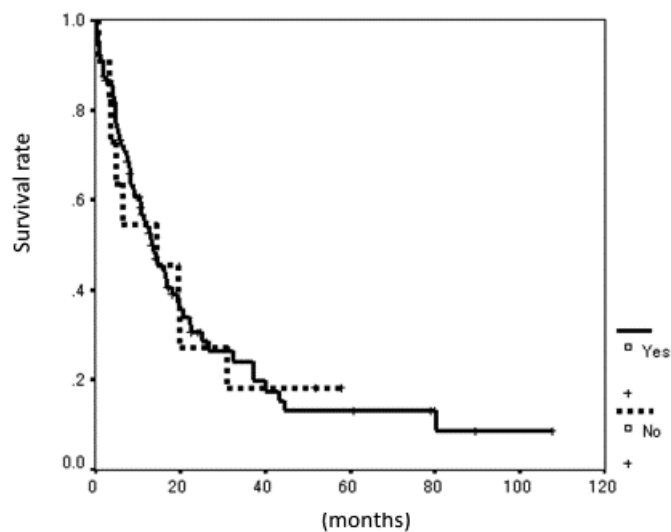


図 9. 胸水と予後

続いて胸膜腫瘍形成と予後について検討した（図 10）。多発腫瘍、単発腫瘍、腫瘍形成なしの生存期間中央値は、それぞれ 40.2 ヶ月、16.2 ヶ月、12.1 ヶ月であったが、有意差は認められなかった（ $P=0.1349$ ）。

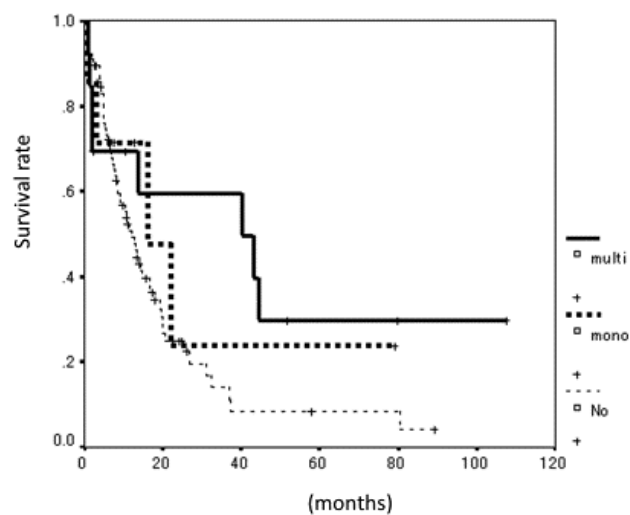


図 10. 腫瘍形成と予後

病変の範囲と予後について検討した（図 11）。病変の範囲を 0、1、2、3 点の 4 群で比較すると有意差は認められなかった。また、0 点と 1 点を 1 群、2 点と 3 点を 1 群として比較したがやはり予後に差は認められなかった。

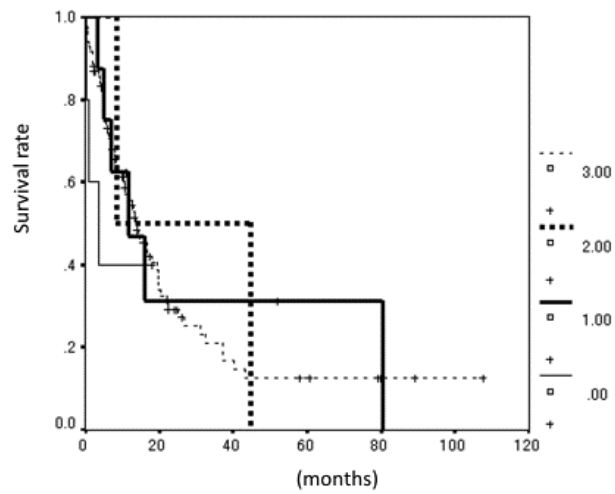


図 11. 病変の範囲と予後

今度は最も胸膜の厚かった部位での厚みと予後を検討した。5mm 以下の群と 6mm 以上の群で比較した場合 (図 12)、10mm 以下と 11mm 以上の群で比較した場合 (図 13)、15mm 以下と 16mm 以上の群で比較した場合 (図 14)、20mm 以下と 21mm 以上の群で比較した場合 (図 15)、いずれも予後に差は認められなかった。

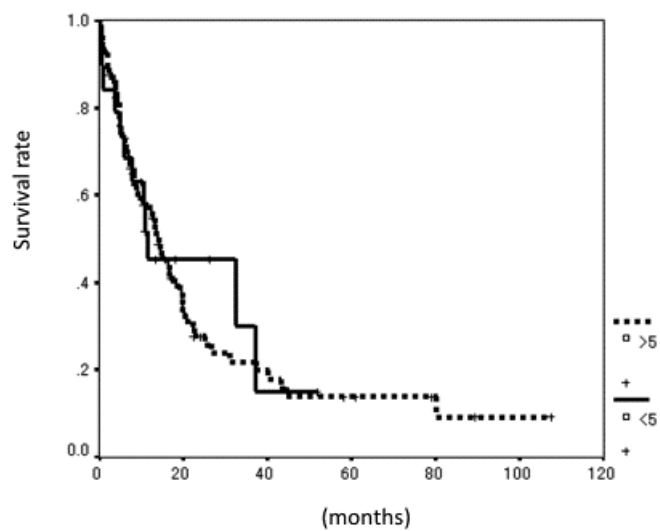


図 12. 胸膜肥厚の厚さ (5mm) と予後

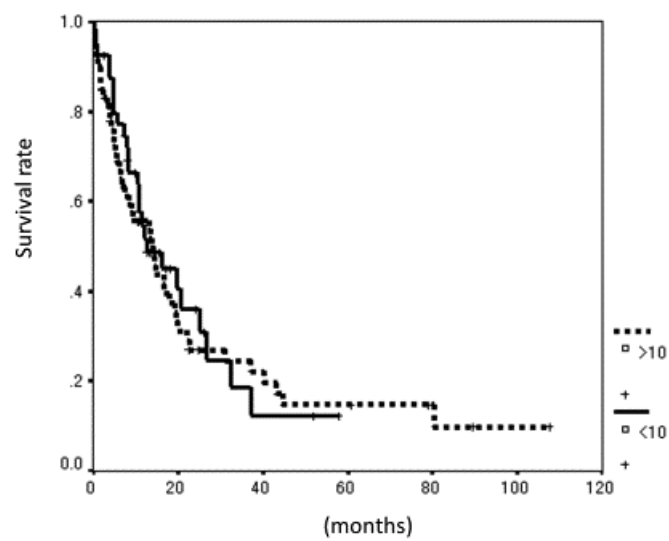


図 13. 胸膜肥厚の厚さ(10mm)と予後

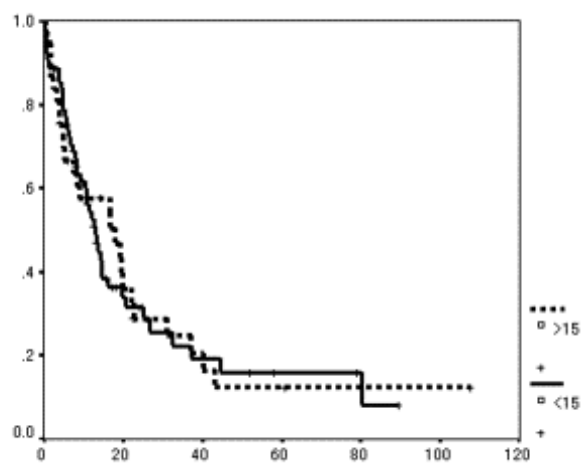


図 14. 胸膜肥厚の厚さ(15mm)と予後

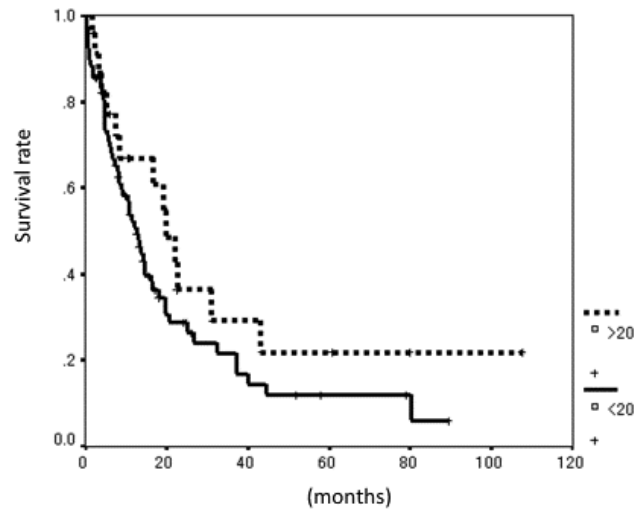


図 15. 胸膜肥厚の厚さ（20mm）と予後

（3） IMIG の TNM 分類と予後

続いて IMIG の TNM 分類と予後について検討した。まず、T 因子別の生存曲線を作成した（図 16）。4 群の比較では予後に差は認められなかった。

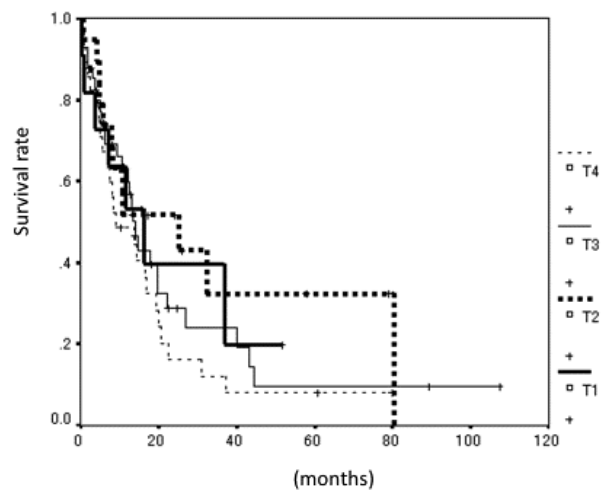


図 16. IMIG の TNM 分類：T 因子と予後

次に N 因子別の生存曲線を作成した（図 17）。N 因子別の生存曲線では 4 群に有意差が認められ（ $P=0.0010$ ）、N0 の生存期間が長く、生存期間中央値は 14.8 ヶ月であった。

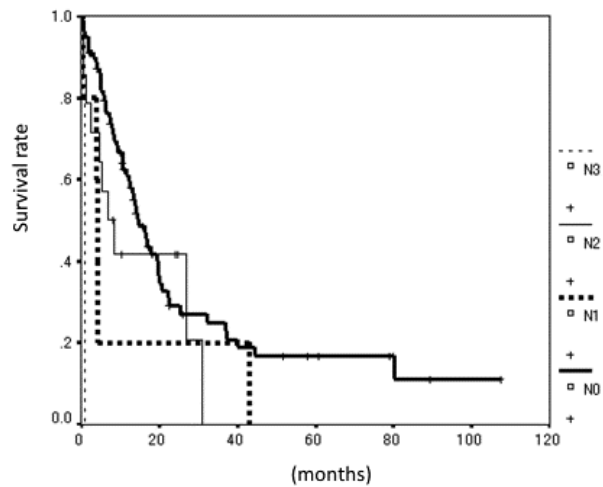


図 17. IMIG による TNM 分類 : N 因子と予後

TNM 分類による臨床病期別に生存曲線を作成した (図 18)。4 群の比較では有意差は認められなかった。

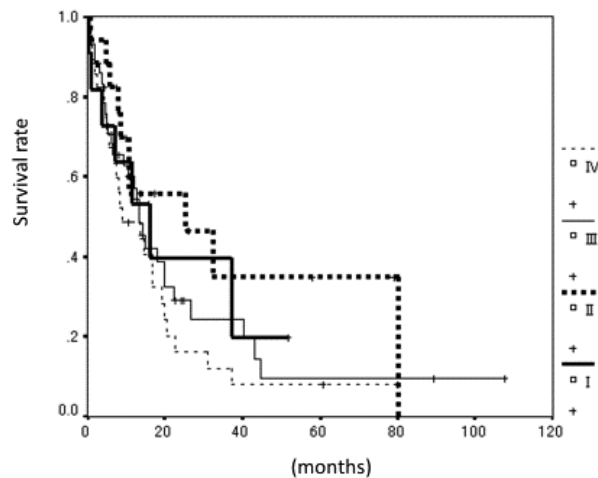


図 18. TNM 分類による臨床病期と予後

【 考 察 】

今回、山口宇部医療センターで 2006 年 6 月～2016 年 7 月までに組織学的に胸膜中皮腫と診断され、その後の経過が観察可能であった 99 例について、診断時の胸膜中皮腫に関連する CT 画像所見を評価し、CT 画像所見と予後について検討した。

胸膜中皮腫の典型的画像所見と思われる環状胸膜肥厚を来す症例の予後は不良であった。一方で腫瘍形成の有無で有意差はなく、腫瘍形成による肺の圧迫よりも全周性に胸膜が肥

厚し拘束性肺障害を来すことの方がより予後に関連することを示す結果と考えられた。縦隔側胸膜肥厚は胸膜中皮腫の早期発見のため重要な所見と考えられるが、進行した状態でも縦隔側胸膜肥厚は残っているため、縦隔側胸膜肥厚の有無だけで比較すると予後に差は認められなかった。

腫瘍量を評価する目安として、病変の範囲、胸膜肥厚の厚みに着目して予後との関連を検討したが、病変の範囲、胸膜肥厚の厚みと予後との関連は見いだせなかった。その理由として今回対象とした症例が全体として比較的早期の治療対象症例が多かった可能性が考えられる。また、胸膜中皮腫においては、腫瘍量よりも腫瘍の組織型がより予後に関連することを示唆しているのかもしれない。

参考文献

- 1) Kato K, Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Takeshima Y, Inai K, Kishimoto T. Pleural irregularities and mediastinal pleural involvement in early stages of malignant pleural mesothelioma and benign asbestos pleural effusion. *Eur J Radiol.* 85(9):1594-600.2016
- 2) Kato K, Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Takeshima Y, Inai K, Kishimoto T. Fatal pleural mesothelioma in Japan (2003-2008): evaluation of computed tomography findings. *Jpn J Radiol.* 2016 Mar 25. [Epub ahead of print]
- 3) Kato K, Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Takeshima Y, Takeshima Y, Inai K, Kishimoto T. Computed Tomographic Features of Malignant Peritoneal Mesothelioma. *Anticancer Res.* 36(3):1067-72.2016
- 4) Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Kato K, Takeshima Y, Inai K, Kishimoto T. Treatment and survival analyses of malignant mesothelioma in Japan. *Acta Oncol.* 52:803-808.2013
- 5) Gemba K, Fujimoto N, Kato K, Aoe K, Takeshima Y, Inai K, Kishimoto K. National survey of malignant mesothelioma and asbestos exposure in Japan. *Cancer Sci.* 103 (3): 483-490.2012
- 6) Kishimoto T, Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Kato K, Takeshima Y, Inai K. Clinical study on mesothelioma in Japan: Relevance to occupational asbestos exposure. *Am J Ind Med.* 53(11): 1081-1087.2010

悪性胸膜中皮腫の診断における胸水中の **Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)** の有用性について

藤本 伸一、岸本 卓巳

はじめに

悪性胸膜中皮腫（以下中皮腫）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た¹⁾。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、近年中皮腫での発現が報告された、いくつかの分子マーカーに着目し、まずこれまでに当院で採取され、保存されている胸水検体を用いて測定をおこなった（探索的研究）。その中で特に **Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)** について、中皮腫において高値を示し、良性石綿胸水との鑑別において有用である可能性が示唆されたため、今年度はその有用性を検証するための **validation study** を企画し施行した。

対象・方法

岡山労災病院において平成 24 年 12 月から平成 28 年 12 月の間に胸水の診断目的にて受診した患者から採取された胸水検体の残りをを用い、**Quantikine ELISA Human SLPI (R & D Systems)** キットを用いて胸水中の **SLPI** の測定をおこなった。また診療録から胸水中のヒアルロン酸濃度を抽出し、また **ELISA** キットを用いて可溶性メソテリン関連蛋白 (**SMRP**) の濃度を測定した。

結果

この期間中に、中皮腫 16 例（上皮型 13 例、肉腫型 1 例、組織型が特定できなかったもの 2 例）、良性石綿胸水 28 例、肺癌 28 例（腺癌 21 例、小細胞癌 3 例、扁平上皮癌 1 例、神経内分泌腫瘍 2 例、組織型が特定できなかったもの 1 例）、他臓器の癌 8 例（膵臓癌 4 例、乳癌 1 例、肝臓癌 1 例、胆道癌 1 例、原発不明癌 1 例）、胸膜炎 23 例の計 103 例が集積された。

胸水中の **SLPI** を比較したところ、中皮腫では良性石綿胸水に比べ有意に高値であった ($P=0.000$)。また有意差には至らないものの、他疾患（肺癌や胸膜炎など）に比べても高値を示していた (図 1)。

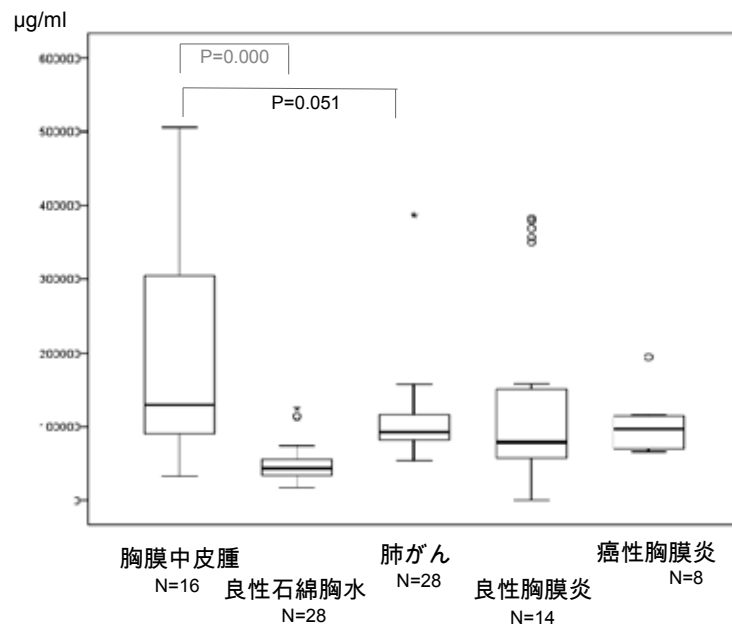


図 1. 胸水の SLPI

また胸水中のヒアルロン酸および SMRP の濃度についても比較したが、探索的研究と同様に中皮腫では他疾患に比べ有意に高値を示した (図 2、図 3)。

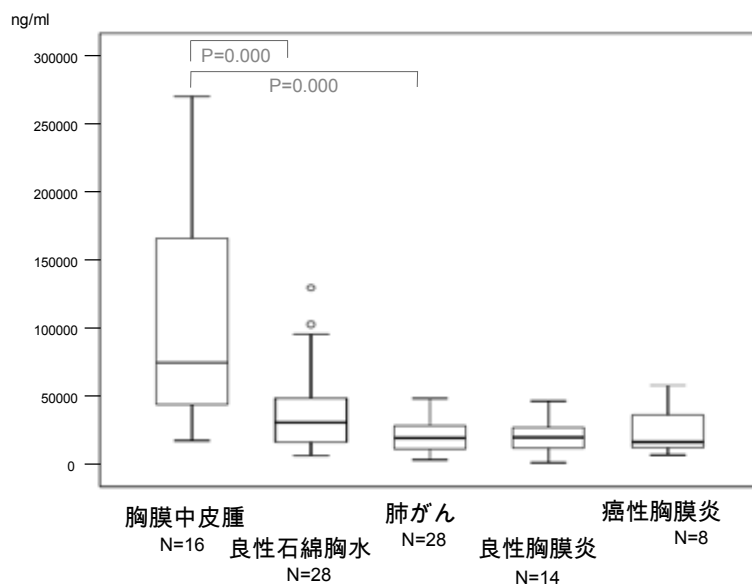


図 2. 胸水中のヒアルロン酸

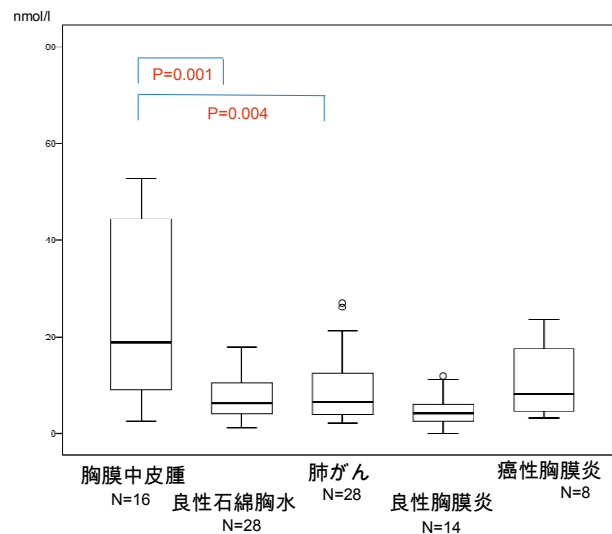


図 3. 胸水中の SMRP

前年度までに行った探索的研究と同様に、胸水を用いた中皮腫の鑑別診断について検討した。SLPI、ヒアルロン酸、SMRP を用いて、まず中皮腫とそれ以外の疾患群との鑑別における有用性を検討するため、ROC 曲線を作成した (図 4)。SLPI、ヒアルロン酸、SMRP における AUC 値はそれぞれ 0.739、0.891、0.800 であった。

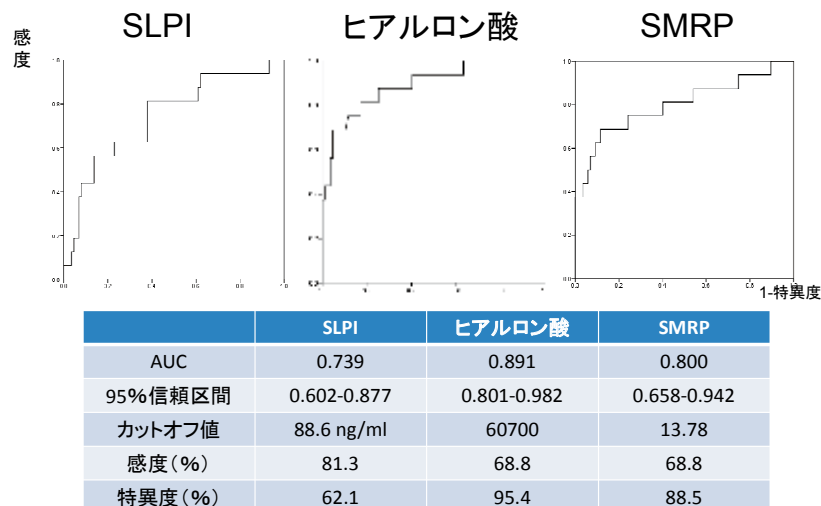


図 4. 中皮腫と他疾患の鑑別

次に肺癌をのぞいて、中皮腫と良性石綿胸水の鑑別における有用性を検討するため、同様に ROC 曲線を作成した (図 5)。SLPI、ヒアルロン酸、SMRP における AUC 値はそれぞれ 0.911、0.819、0.797 であった。

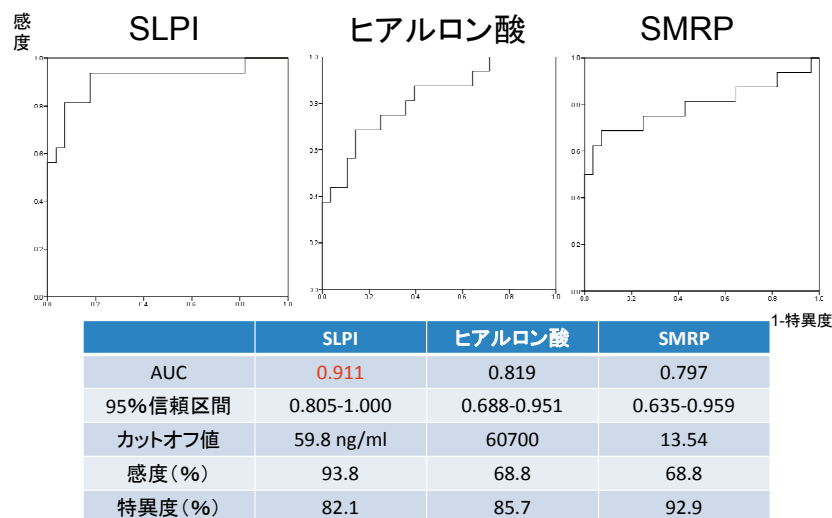
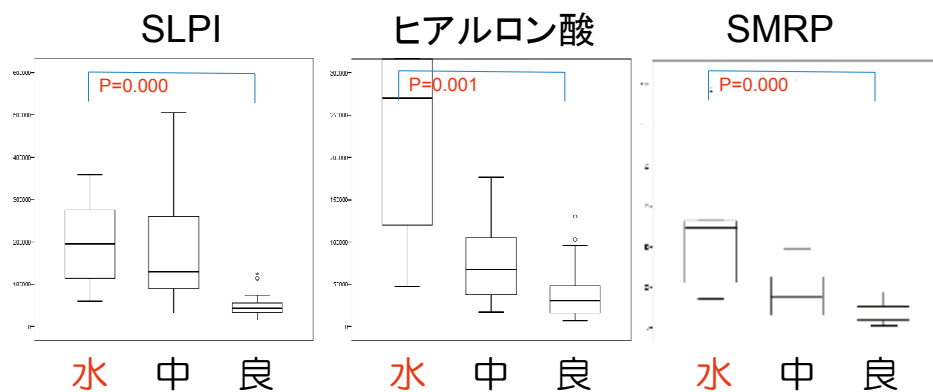


図 5. 中皮腫と良性石綿胸水の鑑別

さらに、「胸水のみ」の中皮腫症例に着目した。中皮腫 16 例中 5 例が画像上「胸水のみ」と判断された。これらの症例の胸水中の SLPI 値を良性石綿胸水群と比較したところ、「胸水のみ」の中皮腫群では良性石綿胸水に比べ有意に高値を呈した（図 6）。



水：胸水の中皮腫 n=5
 中：通常の中皮腫 n=11
 良：良性石綿胸水 n=28

図 6. 胸水の中皮腫

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の鑑別における有用性について検討した。昨年度までに行った探索的研究において、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、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。特に中皮腫と良性石綿胸水との鑑別に関する ROC 曲線による解析において、AUC=0.911 とヒアルロン酸、SMRP のそれを上回っており、中皮腫と良性石綿胸水の鑑別における SLPI の有用性が示唆された。

これらの結果を検証するため、研究期間内に、新たに診断された症例を蓄積していたが、これらの症例における胸水中の SLPI の測定を行ったところ、探索的研究とほぼ同様の結果が得られた。胸水中の SLPI を測定することは、特に中皮腫と良性石綿胸水の鑑別において有用であると考えられる。

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²⁾、SMRP³⁾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。我々が過去に行った検討でも、これらの有用性は確認できなかった。SLPI は SLPI 遺伝子にコードされる酵素であり、白血球エラスターゼ、トリプシン、肥満細胞キマーゼなどを阻害する。SLPI 遺伝子は中皮腫細胞において高発現していることが報告されており、胸膜中皮腫の胸水において高値を呈することが報告されている⁴⁾。今回の我々の検討において、特に中皮腫と良性石綿胸水との間に有意差が認められたことは注目に値する。通常の臨床において胸水を呈する症例の場合、まず胸膜炎や肺癌を念頭に置くが、これらは臨床徴候や画像、血液検査などよりある程度の鑑別が可能である。しかし特に石綿ばく露歴がある症例の胸水に直面する場合、しばしば中皮腫と良性石綿胸水の鑑別に苦慮する。胸水中の SLPI は実臨床において中皮腫、良性石綿胸水の鑑別に有用であり、またこれらの疾患のスムーズな労災認定にも役立つ可能性がある。

結語

中皮腫の診断マーカーの開発に取り組み、胸水中のヒアルロン酸、SMRP に加え、新たに SLPI が有用であることを明らかにした。

参考文献

- 1) Gemba K, Fujimoto N, Kato K, Aoe K, Takeshima Y, Inai K, Kishimoto T. National survey of malignant mesothelioma and asbestos exposure in Japan. *Cancer Sci.* 103: 483-90.2012
- 2) 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.* 51:92-7.2013

- 3) 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.* 1:313-7.2010
- 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.* 7:883-9.2012

網羅的遺伝子発現解析による中皮腫病理診断の為の新規マーカーの探索

櫛谷 桂、Amatya V. Jeet、武島 幸男

1. 目的

平成 27 年度に引き続き、免疫組織化学的染色による中皮腫と他疾患の鑑別診断に有用なマーカーの選定を目的とする¹⁾。

平成 27 年度の研究成果を踏まえ、「上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別診断」については、新規症例の追加および複数抗体の組み合わせによる診断特性の評価を行い、研究の規模、精度を向上させること、「肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別」、「上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別」については、網羅的遺伝子発現解析による新規マーカーの同定を目標とした研究を行った。

2. 材料と方法

1) 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別

a) Survivin (Catalogue #AF886, polyclonal, 1:200, R&D systems)、BAP1 (Clone: C-4, 1:50, Santa Cruz)、Ki-67 (Clone: MIB-1, 1:25, Dako) に対する一次抗体を使用し、広島大学大学院医歯薬保健学研究院病理学研究室にて 2000 年から 2016 年までに経験した上皮型中皮腫 72 例、反応性中皮細胞過形成 78 例の代表的なホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織のブロックから薄切標本を作製し、自動免疫染色装置 Ventana BenchMark GX (Roche Diagnostics) を使用して免疫組織化学的染色を行った。

b) いずれの抗体も核における染色性を評価した。Survivin、Ki-67 は Hot Spot (組織切片全体のうち最も標識率が高い領域) における標識率を算出し、Survivin は ROC 曲線 (図 1) による解析から設定したカットオフ値 4.000% 以上を陽性、Ki-67 は ROC 曲線 (図 2) による解析から設定したカットオフ値 10.333% 以上を陽性と判定した。Hot Spot は強拡大 1 視野とし、最低 100 個以上の細胞を評価した。強拡大 1 視野に含まれる対象細胞数が 100 個未満の場合、評価細胞数が 100 個を越えるまで視野を追加した。BAP1 は陽性対照と同程度ないしそれ以上の染色強度のものを「発現消失なし」、陰性のものを「発現消失あり」と定義した。

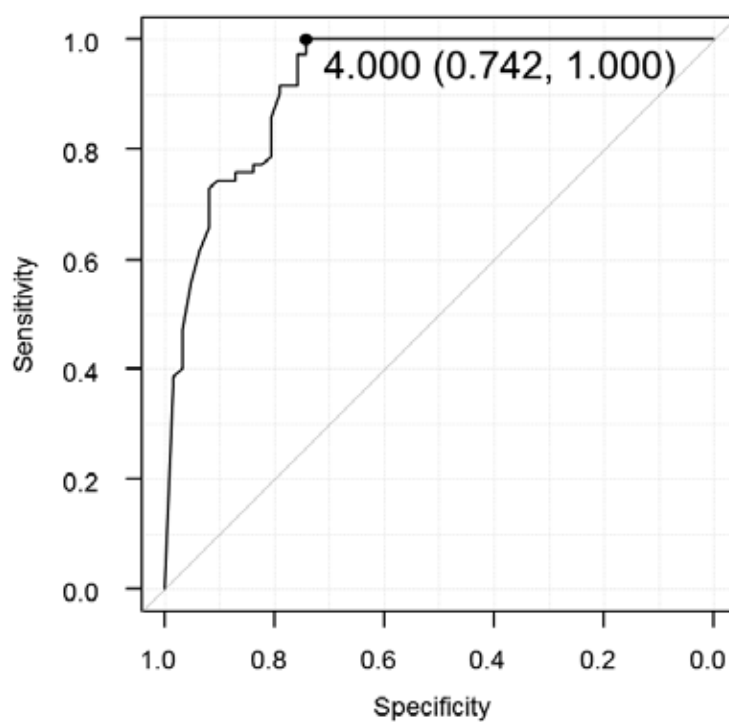


図 1. Survivin の ROC 曲線

感度と特異度の和が最大となる点 (4.000) をカットオフ値とした。

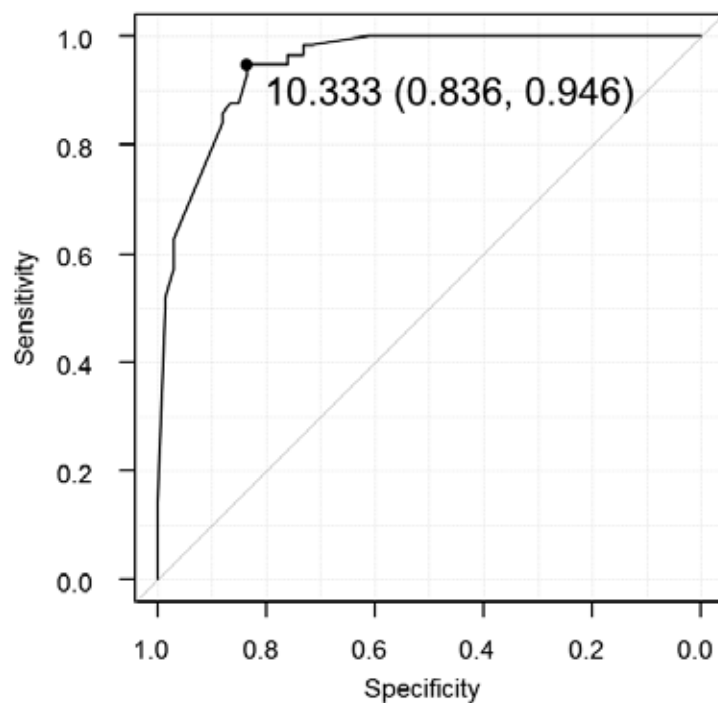


図 2. Ki-67 の ROC 曲線

感度と特異度の和が最大となる点 (10.333) をカットオフ値とした。

- c) 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成における Survivin、Ki-67 の標識率について EZR (Saitama Medical Center, Jichi Medical University) を使用して統計解析を行い、ROC 曲線の作成およびカットオフ値の設定を行った²⁾。
- d) 各抗体および複数抗体の組み合わせによる感度、特異度、正診率を計算した。

2) 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別

- ① 肉腫型中皮腫 6 例、肺肉腫様癌 6 例の FFPE 組織を対象とし、Agencourt FormaPure Kit (Beckman Coulter) を用いて RNA の抽出、SensationPlus™ FFPE Amplification and Labeling Kit (Affymetrix) を用いて RNA の増幅及び標識、Almac Xcel Array GeneChip (Affymetrix) および SUBIO soft を用いて遺伝子発現の解析を行った (図 3、図 4)。

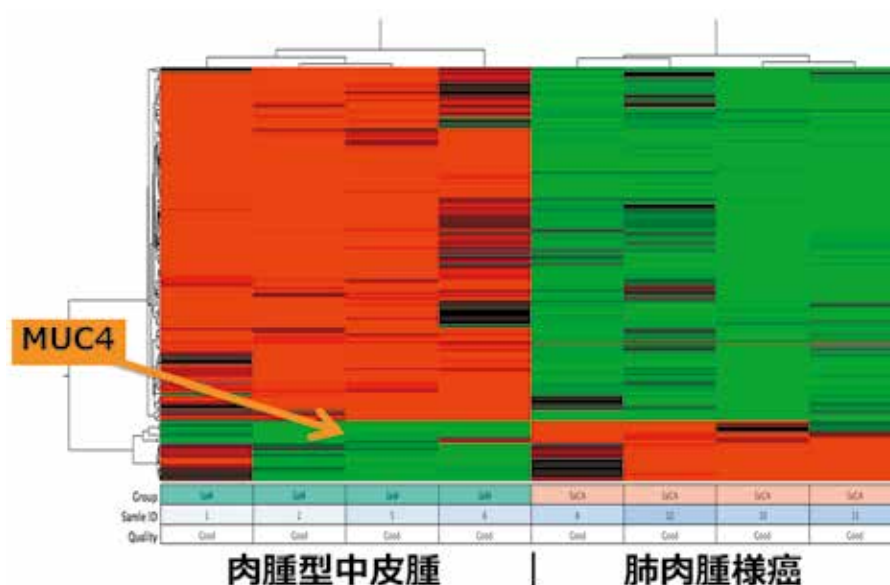


図 3. 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌における遺伝子発現のクラスタリング解析
肉腫型中皮腫で 156 遺伝子、肺肉腫様癌で 46 遺伝子の過剰発現を認めた。



図 4. 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌における遺伝子発現の Scatter Plot :
 プロットエリアの右下方に近いほど肉腫型中皮腫で発現が強く、
 左上方に近いほど肺肉腫様癌で発現が強いことを示す。

- ② 遺伝子発現解析の結果、両者の間で発現に顕著な差が認められた MUC4 に加え、既知の鑑別診断マーカー 8 種（Calretinin、D2-40、WT1、AE1/AE3、CAM5.2、p40、TTF-1、Claudin-4）に対する一次抗体を使用し、広島大学大学院医歯薬保健学研究院病理学研究室にて 2005 年から 2015 年までに経験した肉腫型中皮腫 31 例、肺肉腫様癌 29 例の代表的な FFPE 組織のブロックから薄切標本を作製し、自動免疫染色装置 Ventana BenchMark GX を使用して免疫組織化学的染色を行った。使用した一次抗体および染色条件は表 1 に示す如くである。
- ③ 染色結果は表 1 に示す如く各種抗体の局在に注目して判定し、腫瘍性異型紡錘形細胞の陽性割合に応じて、陰性：グレード 0、10%未満が陽性：グレード 1、10%以上 50%未満が陽性：グレード 2、50%以上が陽性：グレード 3 の 4 段階で半定量的に評価した。
- ④ 各抗体の感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、正診率を算出した。

表 1. 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別診断に関する研究に使用した免疫組織化学マーカー

マーカー	クローン	販売元	陽性とする局在
MUC4	8G7	Santa Cruz	細胞質
Calretinin	SP65	Ventana	核、細胞質
Podoplanin	D2-40	Nichirei	細胞質
WT1	6f-H2	Ventana	核
Pancytokeratin	AE1/AE3/PCK26	Ventana	細胞質
Cytokeratin	CAM5.2	Ventana	細胞質
p40	BC28	Biocare Medical	核
TTF-1	SP141	Ventana	核
Claudin-4	3E2C1	LifeTechnologies	細胞膜

3) 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別

- ① 上皮型中皮腫 5 例、肺腺癌 5 例の FFPE 組織を対象とし、RSC FFPE kit (Promega) を用いて RNA の抽出、PICO kit (Affymetrix) を用いて RNA の増幅及び標識、Human Transcriptome Array, 2.0 GeneChip (Affymetrix) および SUBIO software を用いて遺伝子発現の解析を行った。(図 5、図 6)

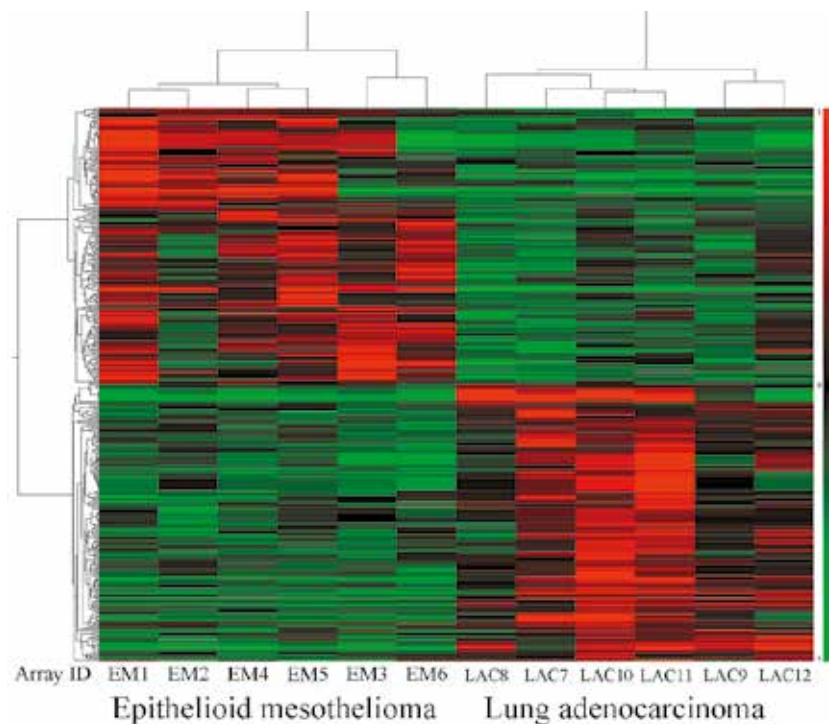


図 5. 上皮型中皮腫と肺腺癌における遺伝子発現のクラスタリング解析
上皮型中皮腫で 197 遺伝子、肺肉腫様癌で 229 遺伝子の過剰発現を認めた。

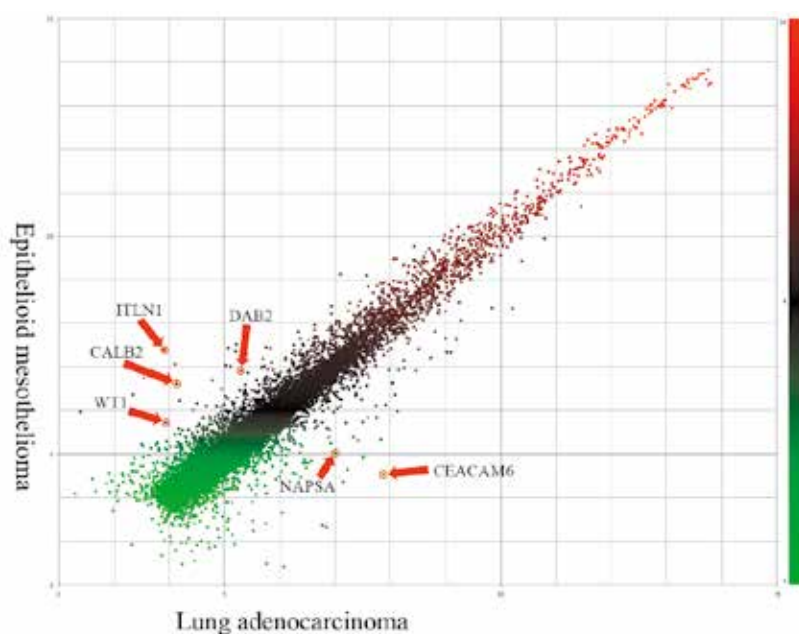


図 6. 上皮型中皮腫と肺腺癌における遺伝子発現の Scatter Plot
 プロットエリアの右下方に近いほど肺腺癌で発現が強く、左上方に近いほど
 上皮型中皮腫で発現が強いことを示す。

- ② 遺伝子発現解析の結果、両者の間で発現に顕著な差が認められた disabled homolog 2 (DAB2)、Intelectin-1 に加え、既知の鑑別診断マーカー 3 種 (Calretinin、D2-40、WT1) に対する一次抗体を使用し、広島大学大学院医歯薬保健学研究院病理学研究室にて 2000 年から 2016 年までに経験した上皮型中皮腫 75 例、肺腺癌 67 例の代表的な FFPE 組織のブロックから薄切標本を作製し、自動免疫染色装置 Ventana BenchMark GX を使用して免疫組織化学的染色を行った。使用した一次抗体および染色条件は表 2 に示す如くである。
- ③ 染色結果は表 2 に示す如く各種抗体の局在に注目して判定し、腫瘍性異型紡錘形細胞の陽性割合に応じて、陰性：グレード 0、10%未満が陽性：グレード 1、10%以上 50%未満が陽性：グレード 2、50%以上が陽性：グレード 3 の 4 段階で半定量的に評価した。
- ④ 各抗体および 2 抗体の組み合わせによる感度、特異度を算出した。

表 2. 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断に関する研究に使用した免疫組織化学マーカー

マーカー	クローン	販売元	希釈倍率	陽性とする局在
DAB2	1C8	Sigma	×25	細胞質
Intelectin-1	3G9	IBL	希釈済み	細胞質
WT1	6F-H2	DAKO	×25	核
Calretinin	SP65	Ventana	希釈済み	核
Podoplanin	D2-40	Nichirei	希釈済み	細胞膜

3. 結果と考察

1) 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別

代表的な症例の HE 染色および免疫組織化学的染色像を図 7～図 9、上皮型中皮腫、反応性中皮細胞過形成における各マーカーの陽性率を表 3、上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別診断における各マーカーの診断特性を表 4 に示す。

Survivin の Cut-off 値を 4.0%に設定した場合の診断特性は感度 74.2%、特異度 100%であった。

上皮型中皮腫では 66.2%に BAP1 の発現消失を認めたが、反応性中皮細胞過形成では発現消失を認めなかった。BAP1 発現消失の上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別診断における診断特性は、感度 66.2%、特異度 100%であった。

Ki-67 の Cut-off 値を 10.3%に設定した場合の診断特性は感度 83.6%、特異度 94.6%であった。

複数抗体の組み合わせによる診断特性の検討では、Survivin と BAP1 の組み合わせ（Survivin 標識率 4.0%以上あるいは BAP1 発現消失のいずれかを認めた場合を陽性と判定する）が感度 93.2%、特異度 100%、正診率 96.9%で、最も高い診断精度を示した（表 5）。

免疫組織化学的染色における BAP1 発現消失は、上皮型中皮腫に対して 100%の特異性を持つ所見であり、上皮型中皮腫と反応性中皮細胞の鑑別診断に有用とされるが、感度が 70%以下と低い点が問題であった³⁾⁶⁾。しかし、本研究の結果から BAP1 に Survivin を組み合わせることにより、特異度を 100%に保ったまま感度を大幅に上昇させることが可能であることが明らかとなり、上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別診断においては BAP1 と Survivin を組み合わせた検討を行うことが推奨される。

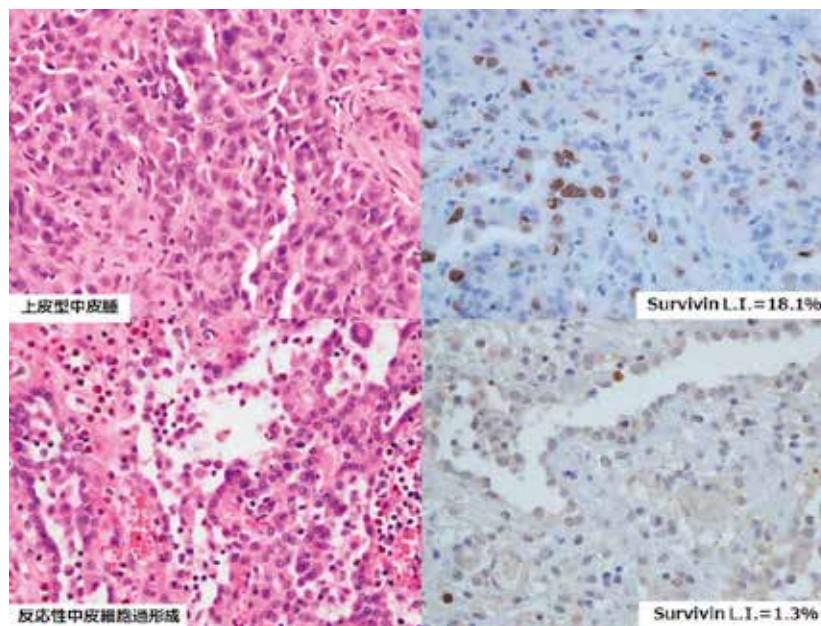


図 7. 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の組織像と Survivin 免疫組織化学的染色像
 上皮型中皮腫の Survivin 標識率は 18.1%、反応性中皮細胞過形成の Survivin 標識率は 1.3%である。

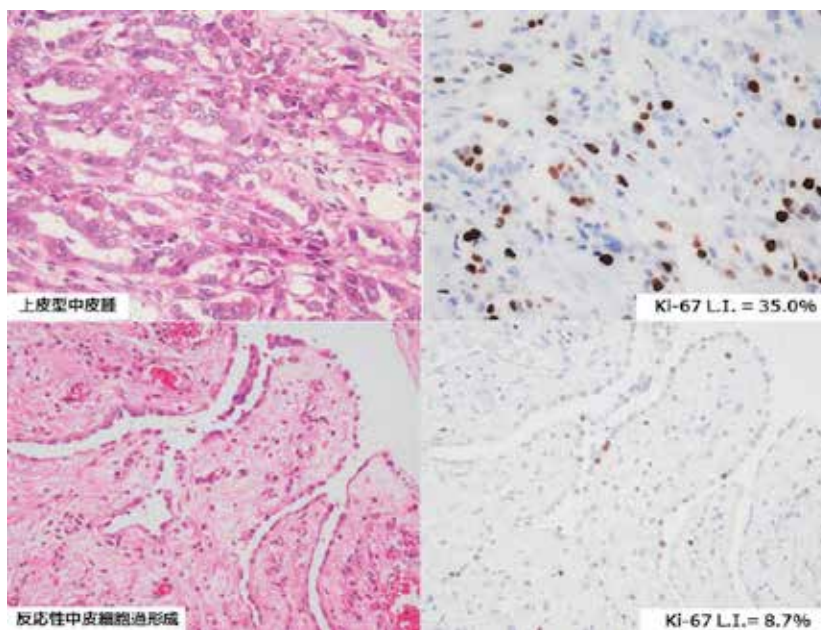


図 8. 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の組織像と Ki-67 免疫組織化学的染色像
 上皮型中皮腫の Ki-67 標識率は 35.0%、反応性中皮細胞過形成の Ki-67 標識率は 8.7%である。

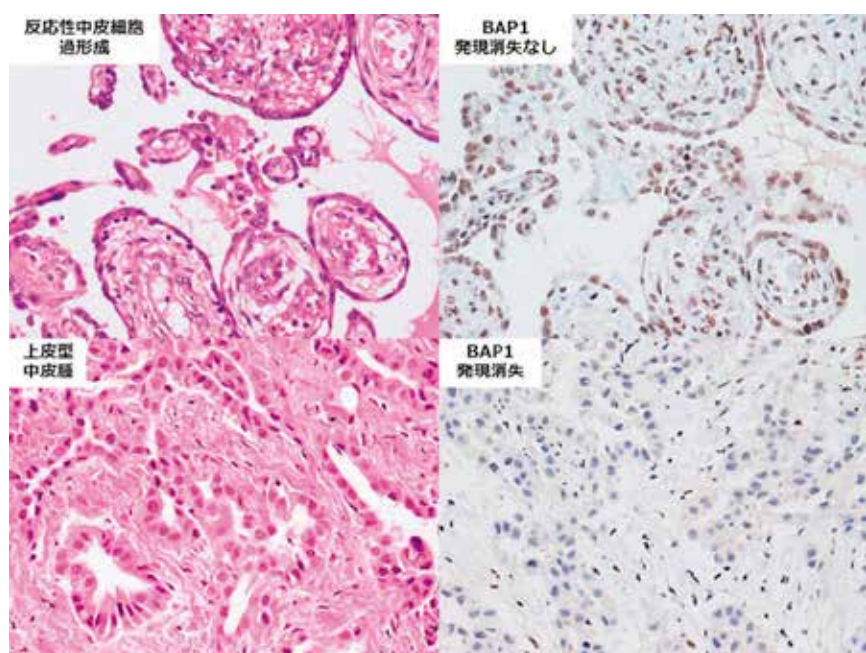


図 9. 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の組織像と BAP1 免疫組織化学的染色像
 上皮型中皮腫において BAP1 発現の消失を認める。
 背景の炎症細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞の核は BAP1 を発現している。

表 3. 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成における各マーカーの陽性率

マーカー	上皮型中皮腫			反応性中皮細胞過形成		
	n (%)	陰性	陽性	n (%)	陰性	陽性
Survivin (4.0%<)	46/62 (74.2)	16	46	0/70	70	0
BAP1発現消失	49/74 (66.2)	25	49	0/78	78	0
Ki-67 (10.3%<)	56/67 (83.6)	11	56	3/56 (5.4)	53	3

表 4. 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別診断における各マーカーの診断特性

マーカー	感度	特異度	正診率
Survivin (4.0%<)	74.2%	100%	87.8%
BAP1発現消失	66.2%	100%	83.6%
Ki-67 (10.3%<)	83.6%	94.6%	88.6%

表 5. 複数抗体の組み合わせによる診断特性

	SVV>4.0% or BAP1消失	BAP1消失 or Ki-67>10.3%	Survivin>4.0% or Ki-67>10.3%	BAP1消失 or Survivin>4.0% or Ki-67>10.3%
感度	93.2%	96.9%	91.1%	98.2%
特異度	100%	94.4%	94.1%	94.0%
正診率	96.9%	95.8%	92.5%	96.2%

2) 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別

代表的な症例の HE 染色および免疫組織化学的染色像を図 10、図 11、肉腫型中皮腫、肺肉腫様癌における各マーカーの陽性率を表 6、肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別診断における各マーカーの診断特性を表 7 に示す。

MUC4 は肺肉腫様癌の 72%が陽性を示したが、肉腫型中皮腫は全例陰性であり、特異性の高い中皮腫陰性マーカー（肉腫様癌マーカー）と考えられた。

MUC4 の肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別診断における正診率は 87%で、今回検討した全てのマーカーの中で最も優れていた。

肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別診断に有用な免疫組織化学マーカーは現在のところ存在せず、両者の鑑別は画像診断あるいは切除検体の病理診断によって病変の局在（肺内病変か肺外病変か）を確認することによってのみ可能であった^{7,8)}。

本研究で同定された MUC4 は肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌を高い精度で鑑別できる免疫組織化学マーカーであり、今後の両者の鑑別診断、特に生検診断への応用が期待される⁹⁾。

また、現在中皮腫陽性マーカーとして頻用されている Calretinin、D2-40、WT1 の正診率はそれぞれ 65%、70%、57%と低く、肉腫型中皮腫の鑑別診断においてはこれらのマーカーの所見を過信すべきではない。

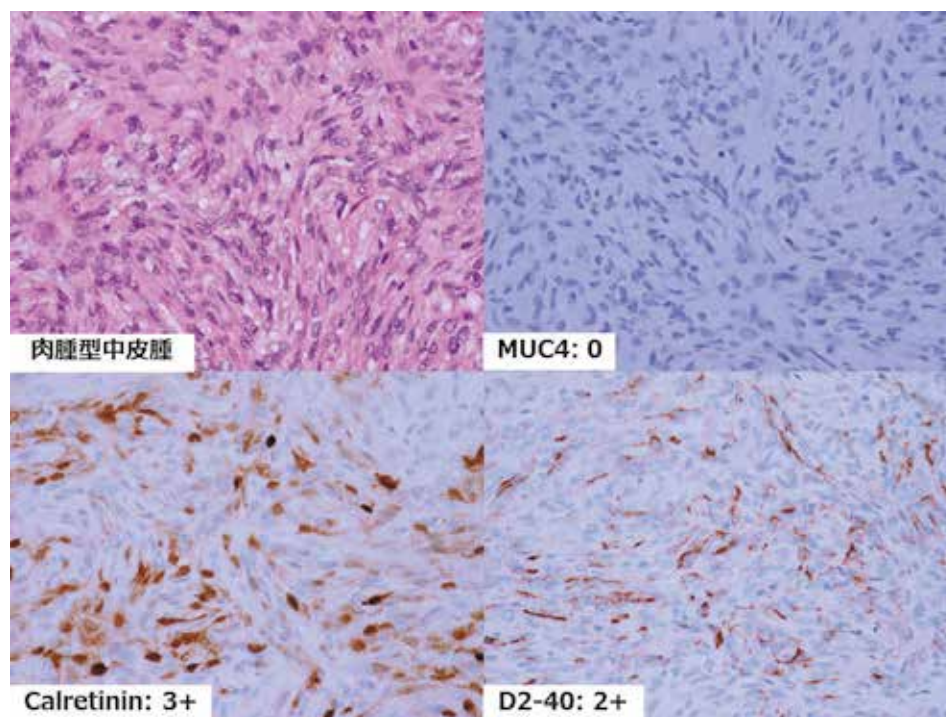


図 10. 肉腫型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像
Calretinin、D2-40 が陽性、MUC4 は陰性である。

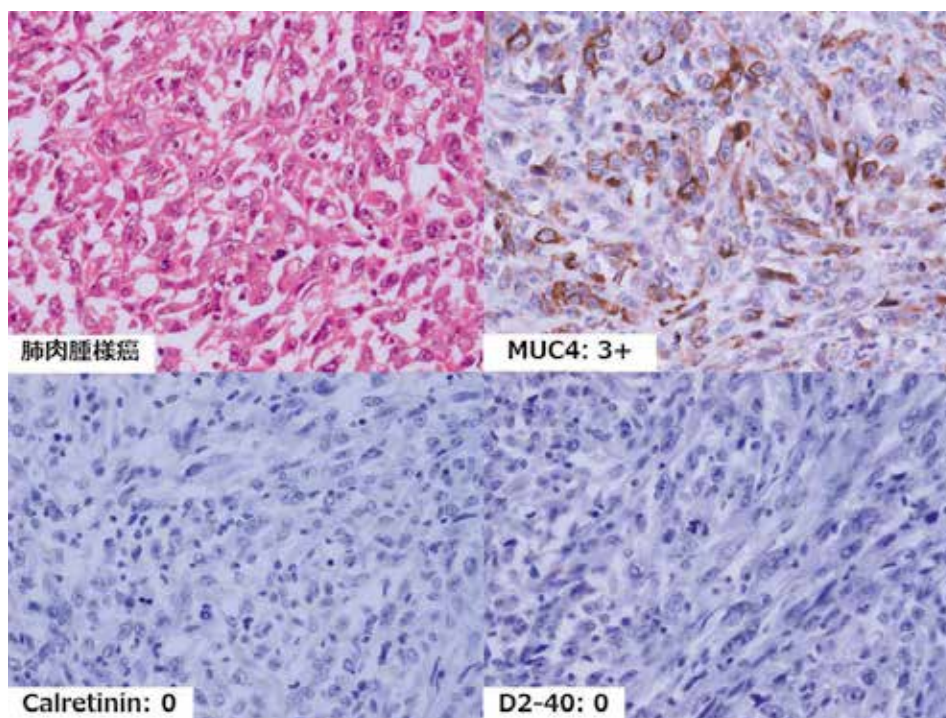


図 11. 肺肉腫様癌の組織像と免疫組織化学的染色像
MUC4 が陽性、Calretinin、D2-40 は陰性である。

表 6. 肉腫型中皮腫、肺肉腫様癌における各マーカーの陽性率

マーカー	肉腫型中皮腫						肺肉腫様癌					
	陽性症例	%	染色グレード				陽性症例	%	染色グレード			
			0	1+	2+	3+			0	1+	2+	3+
MUC4	0/31	0%	31	0	0	0	21/29	72%	8	9	9	3
Calretinin	23/31	74%	8	7	11	5	13/29	45%	16	5	6	2
D2-40	22/31	71%	9	9	12	1	9/29	31%	20	9	0	0
WT1	6/31	19%	25	5	1	0	1/29	3%	28	1	0	0
AE1/AE3	29/31	94%	2	2	8	19	29/29	100%	0	5	2	22
CAM5.2	28/31	90%	3	1	8	19	28/29	97%	1	6	5	17
p40	2/31	6%	29	2	0	0	6/29	21%	23	0	3	3
TTF-1	0/31	0%	31	0	0	0	15/29	52%	14	0	4	11
Claudin-4	0/31	0%	31	0	0	0	13/29	45%	16	4	5	4

表 7. 肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別診断における各マーカーの診断特性

所見	感度	特異度	陽性的中率	陰性的中率	正診率
MUC4 (－)	100%	72%	80%	100%	87%
Calretinin (+)	74%	55%	64%	67%	65%
D2-40 (+)	71%	69%	71%	69%	70%
WT1 (+)	19%	97%	86%	53%	57%
AE1/AE3 (+)	94%	0%	50%	0%	48%
CAM5.2 (+)	90%	3%	50%	25%	48%
p40 (－)	94%	21%	56%	75%	58%
TTF-1 (－)	100%	52%	69%	100%	77%
Claudin-4 (－)	100%	45%	66%	100%	73%

3) 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別

代表的な症例の HE 染色および免疫組織化学的染色像を図 12、図 13、上皮型中皮腫、肺腺癌における各マーカーの陽性率を表 8、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断における各マーカー及び 2 抗体の組み合わせによる診断特性を表 9 に示す。

DAB2 は上皮型中皮腫の 80%が陽性を示したが、肺腺癌は 3%しか陽性を示さなかった。また、Intelectin-1 は上皮型中皮腫の 76%が陽性を示したが、肺腺癌は全例陰性であった。これらの結果から、DAB2、Intelectin-1 はいずれも特異性の高い中皮腫陽性マーカーと考えられた。

Calretinin、D2-40 は上皮型中皮腫の 99%、95%が陽性であったが、肺腺癌における陽性率もそれぞれ 25%、10%と比較的高値であり、特異性に問題がある。

WT1 の陽性率は上皮型中皮腫で 83%、肺腺癌で 0%であり、DAB2、Intelectin-1 とほぼ同程度であった。

2 抗体の組み合わせによる検討では、Intelectin-1 と WT1 を組み合わせた (Intelectin-1 陽性あるいは WT1 陽性のいずれかを満たす場合を陽性と評価する) 場合が感度 93%、特異度 100%と元も高い正診率を示した。

現在上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断における中皮腫陽性マーカーとしては Calretinin、D2-40、WT1 が推奨され、頻用されているが^{10),11)}、DAB2、Intelectin-1 も WT1 と遜色ない診断精度を有するマーカーであり、鑑別診断マーカーパネルに加えるべきである¹²⁾。また、Calretinin、D2-40 を上皮型中皮腫の陽性マーカーとして用いる場合には、これらが肺腺癌においても陽性になる場合がある点に留意する必要がある。

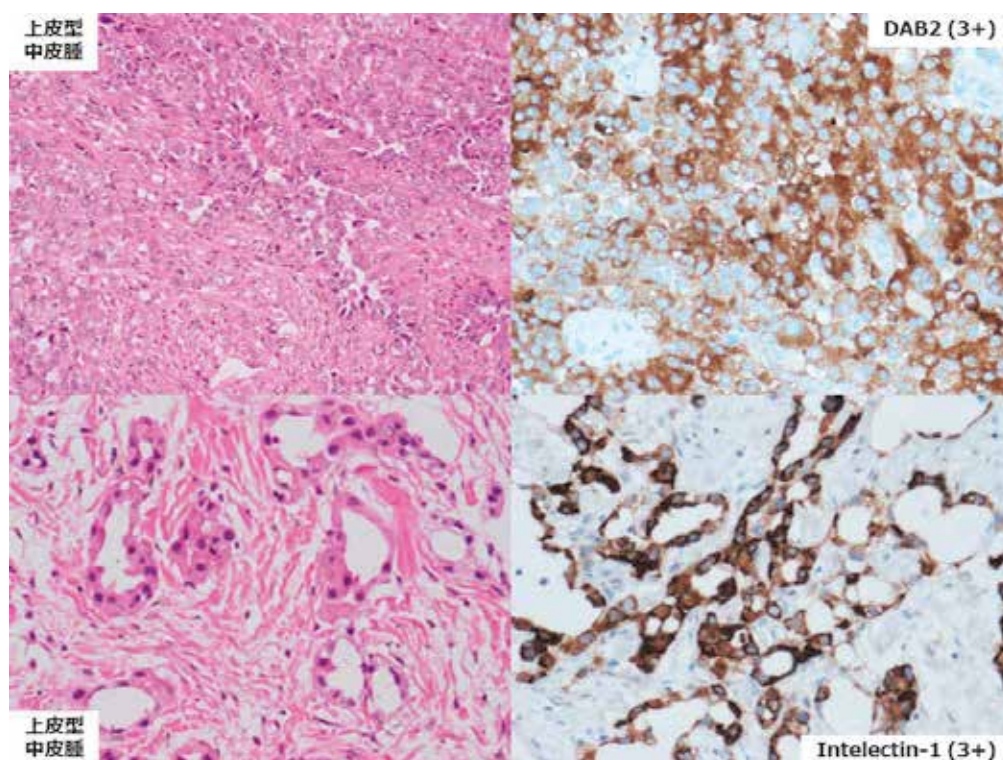


図 12. 上皮型中皮腫の組織像と免疫組織化学的染色像
DAB2、Intelectin-1 が陽性である。

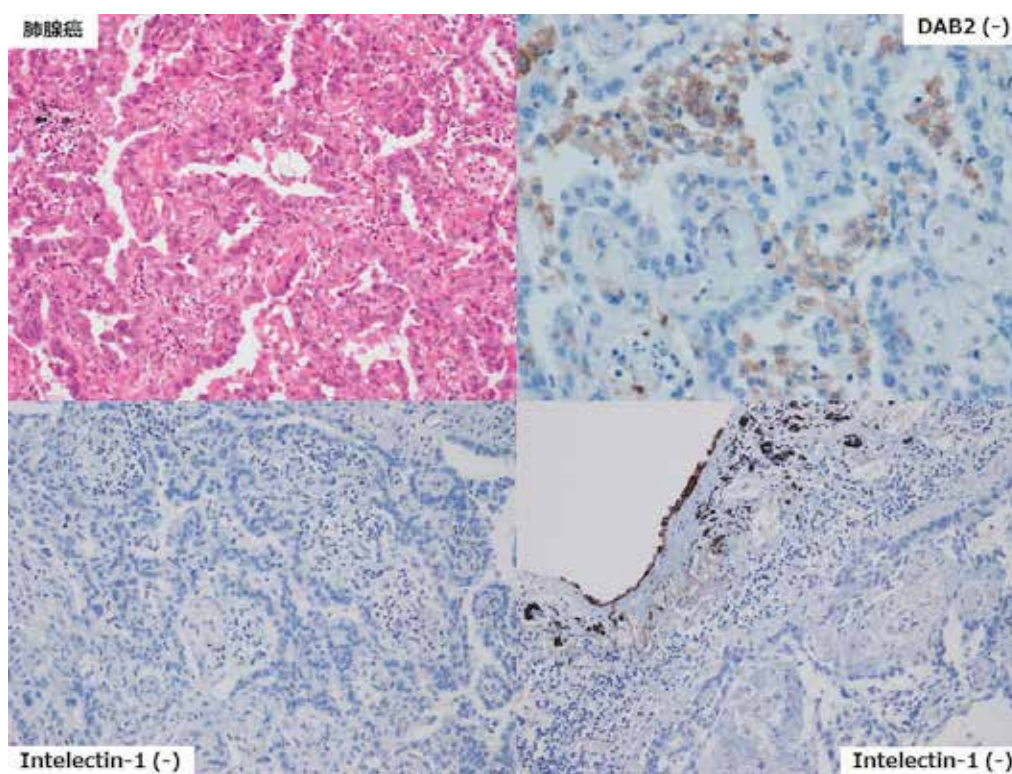


図 13. 肺腺癌の組織像と免疫組織化学的染色像
腫瘍細胞は DAB2、Intelectin-1 陰性である。肺胞マクロファージが DAB2 陽性、
臓側胸膜の中皮細胞と弾力膜が Intelectin-1 陽性を示す。

表 8. 上皮型中皮腫、肺腺癌における各マーカーの陽性率

マーカー	上皮型中皮腫						肺腺癌					
	陽性症例	(%)	染色グレード				陽性症例	(%)	染色グレード			
			0	1+	2+	3+			0	1+	2+	3+
DAB2	60/75	80%	15	12	18	30	2/67	3%	65	2	0	0
Intelectin-1	57/75	76%	18	17	4	36	0/67	0%	67	0	0	0
Calretinin	74/75	99%	1	7	2	65	17/67	25%	50	10	7	0
D2-40	71/75	95%	4	5	6	60	7/67	10%	60	5	2	0
WT1	62/75	83%	13	18	7	37	0/67	0%	67	0	0	0

表 9. 上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断における各マーカー及び
2 抗体の組み合わせによる診断特性

マーカー	感度	特異度
DAB2	80%	97%
Intelectin-1	76%	100%
WT1	83%	100%
Calretinin	99%	75%
D2-40	95%	90%
Intelectin-1 or DAB2	93%	95%
Intelectin-1 and DAB2	60%	100%
Intelectin-1 or WT1	93%	100%
DAB2 or WT1	93%	95%
Intelectin-1 and Calretinin	76%	100%
Intelectin-1 or Calretinin	99%	75%
DAB2 and D2-40	75%	98%
DAB2 or D2-40	100%	86%

4. 結語

本年度研究の結果、上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別診断、肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別診断、上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断のそれぞれにおいて有用な新規マーカーを明らかにすることができた。今後更なる検討によるこれらのマーカーの有用性の確立が望まれる。また、今後もより診断精度の高いマーカーの探索を継続していく必要がある。

参考文献

- 1) 武島幸男, 櫛谷 桂, Amatya VJ. 中皮腫の確定診断のための免疫組織化学的染色に関する検討. 平成 27 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—報告書. 2016
- 2) Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 48(3):452-8.2013
- 3) Hida T, Hamasaki M, Matsumoto S et al. Bap1 immunohistochemistry and p16 fish results in combination provide higher confidence in malignant pleural mesothelioma diagnosis: Roc analysis of the two tests. Pathol Int. 66;563-570.2016
- 4) Hwang HC, Sheffield BS, Rodriguez S et al. Utility of bap1 immunohistochemistry and p16 (cdkn2a) fish in the diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology specimens. Am J Surg Pathol. 40;120-126.2016
- 5) McGregor SM, Dunning R, Hyjek E, et al. Bap1 facilitates diagnostic objectivity, classification, and prognostication in malignant pleural mesothelioma. Hum Pathol. 46;1670-1678.2015
- 6) Cigognetti M, Lonardi S, Fisogni S et al. Bap1 (brca1-associated protein 1) is a highly specific marker for differentiating mesothelioma from reactive mesothelial proliferations. Mod Pathol. 28;1043-1057.2015
- 7) Kushitani K, Takeshima Y, Amatya VJ, et al. Differential diagnosis of sarcomatoid mesothelioma from true sarcoma and sarcomatoid carcinoma using immunohistochemistry. Pathol Int. 58;75-83.2008
- 8) Takeshima Y, Amatya VJ, Kushitani K, et al. Value of immunohistochemistry in the differential diagnosis of pleural sarcomatoid mesothelioma from lung sarcomatoid carcinoma. Histopathology. 54;667-676.2009
- 9) Amatya VJ, Kushitani K, Mawas AS et al. Muc4, a novel immunohistochemical marker identified by gene expression profiling, differentiates pleural sarcomatoid mesothelioma from lung sarcomatoid carcinoma. Mod Pathol 2017. [Epub ahead of print]
- 10) Husain AN, Colby T, Ordonez N, et al Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. Arch Pathol Lab Med. 137(5):647-67.2013
- 11) 環境再生保全機構 . アスベスト (石綿) 健康被害の救済 <https://www.erca.go.jp/asbestos/medical/index.html>
- 12) Kuraoka M, Amatya VJ, Kushitani K, et al. Identification of DAB2 and Intelectin-1 as the Novel Positive Immunohistochemical Markers of Epithelioid

Mesothelioma by Transcriptome Microarray Analysis for its Differentiation from Lung Adenocarcinoma. Am J Surg Pathol. 2017. In press.

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

井内 康輝、由佐 俊和

研究目的：

中皮腫の診断困難例については、臨床診断、画像診断、病理学的診断の総合判断が必要であり、臨床医、画像診断医、病理診断医の合議による診断が望まれる。しかし、この総合判断のための合議は、複数あるいは多数の診断医の日程調整や旅費等の経費面で困難なことが多い。

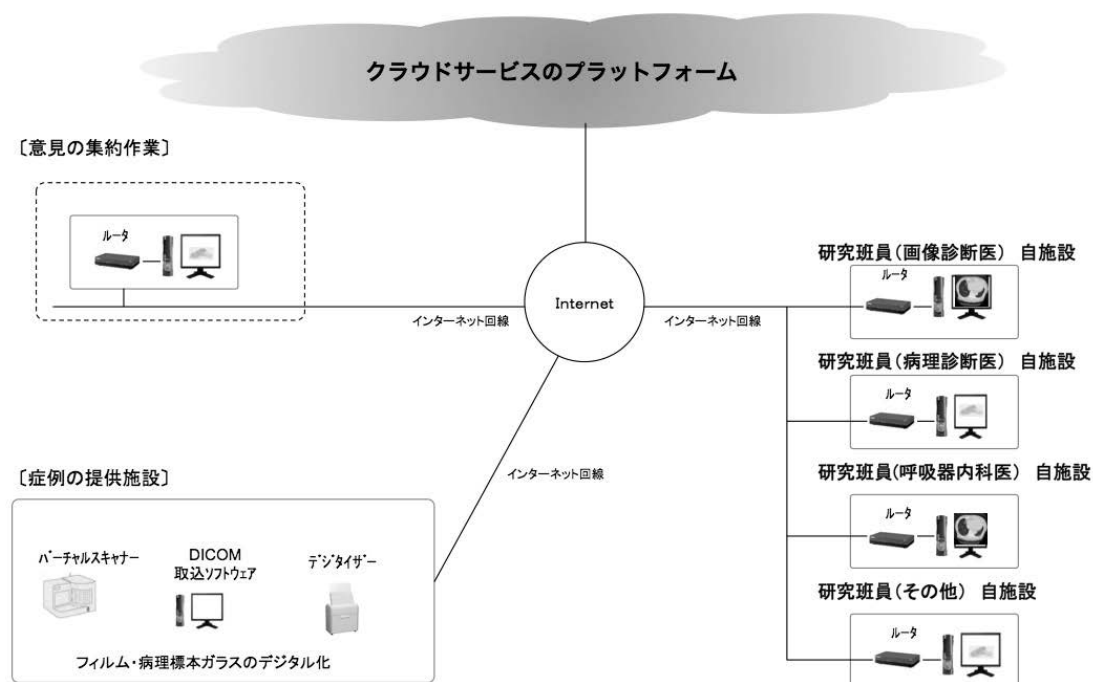
そこで、診断医が自らの施設で判断を下して各自の意見を述べ、これらを集約して、結論をえていくシステムがあれば、結論をえるまでの日数の節約や、経費の節約に繋がり、合理的であり、かつ効率的である。

本研究は、こうした視点から、インターネット回線とクラウドサービスを用いて新しい診断討議システムを構築して、実用化するための検討を加えることを目的とする。

研究方法：

1. 各医療機関(研究班員の所属する施設)で中皮腫を疑った症例について、診断の根拠となった以下の材料を用意する。
 - ①病理検査材料(生検組織標本、細胞診材料、剖検組織材料)
 - ②画像(X線フィルム、CT画像、MRI画像)のDICOMデータ材料
2. 患者の個人情報保護のルールに従って、患者情報を秘匿して、各医療機関から、病理診断センターに送付する。
3. 病理診断センターでは、病理組織標本はバーチャルスライドシステム(Nanozoomer[®]、浜松フォトニクス)を用いデジタルデータとし、画像のDICOMデータは、ポータルシステム、ビューワーシステムによって、クラウドサービスのプラットフォームにあげる(図1)。
4. 診断者(研究班員9名に委嘱する)は、それぞれのGmailアカウントを取得し、これによって診断システムにアクセスし、病理画像、DICOM画像を自施設のブラウザ(コンピューター)で観察し、その診断意見をレポートシステムによって入力してクラウドサービスのプラットフォームにあげる(図1)。
5. 研究分担者(井内)は、これらの意見をまとめ、確定診断を作成し(キー画像も貼布)、診断者にフィードバックする。

図 1：システムの構築図



研究結果：

2016 年に提供された 16 例の一覧を表 1 に示す。

この討議システムによって検討された結果は、中皮腫とされた例 12 例、中皮腫ではないとされた例が 4 例（肺多形癌 2 例、線維性胸膜炎 2 例）である。

2017 年に提供された 11 例の一覧を表 2 に示す。

この討議システムによって検討された結果は、中皮腫とされた例が 8 例、中皮腫ではないとされた例が 3 例（肺多形癌 1 例、線維性胸膜炎 2 例）である。

これらの中で中皮腫ではないとされた 7 例について、それぞれの各診断者の診断意見（氏名は匿名化、記載内容はオリジナルである）と最終診断名（各診断者の意見の集約と添付したキー画像を図 2 から図 15 に示す。

表 1. 2016 年の対象例の一覧表

登録番号	提供施設	病理標本（枚数）	画像	最終診断
2016-001	A 施設	8	CT	中皮腫（低分化上皮型）
2016-002	〃	12	CR,CT	肺多形癌
2016-003	B 施設	9	なし	中皮腫（低分化上皮型）
2016-004	〃	12	なし	中皮腫（非浸潤上皮型）
2016-005	C 施設	14（細胞診）	なし	中皮腫（上皮型）
2016-006	D 施設	9（細胞診）	CT	中皮腫（上皮型）
2016-007	〃	8	なし	線維性胸膜炎
2016-008	〃	8	なし	中皮腫（肉腫型）
2016-009	〃	9	CT	中皮腫（二相型）
2016-010	〃	6	なし	線維性胸膜炎
2016-011	A 施設	9	CR,CT	中皮腫（腹膜、上皮型）
2016-012	〃	12	CT	肺多形癌（剖検例）
2016-013	〃	18	CR,CT	中皮腫（2016-011 と同一）
2016-014	E 施設	7	CR,CT	中皮腫（肉腫型）
2016-015	〃	7	CR,CT	中皮腫（上皮型、粘液産生）
2016-016	〃	9	CR,CT	中皮腫（肉腫型）

表 2. 2017 年の対象例の一覧表

登録番号	提供施設	病理標本（枚数）	画像	最終診断
2017-001	B 施設	7	CR,CT	中皮腫（上皮型）
2017-002	〃	8	CR,CT	中皮腫（肉腫型）
2017-003	〃	8	CR,CT	中皮腫（上皮型）
2017-004	C 施設	15	CT	肺多形癌
2017-005	〃	10	CT	中皮腫（肉腫型）
2017-006	D 施設	10	CR,CT	中皮腫（上皮型）
2017-007	〃	10	CR,CT	中皮腫（二相型）
2017-008	〃	10	CR,CT	中皮腫（肉腫型）
2017-009	〃	9	CR,CT	線維性胸膜炎
2017-010	〃	8	CT	線維性胸膜炎
2017-011	〃	12	CR,CT	中皮腫（二相型）

研究班員の見解 症例No 2016-002

A	右水気胸の状態。右側に肺を取り囲む全周性の結節状の胸膜肥厚あり。肺の無気肺がみられるが、肺癌は明らかでなく中皮腫で矛盾しない。	診断名: 中皮腫
B	提出された標本では腫瘍性病変の主体は胸膜部で、一部に肺実質に浸潤する像がみられる。増殖腫瘍細胞は大型多方形細胞が主体で多核巨細胞や奇形な細胞も混じっている。紡錘形細胞は乏しい。 免疫染色: CAM5.2陽性(強くない)、CK(AE1/AE3)陽性(強くない)、Calretinin陽性、D2-40陰性、WT-1陰性、TTF-1陰性、NapsinA陰性、Claudin4陽性。 CKの染まりが強くはないこと、Claudin4が陽性とせざるを得ない膜性の染まりがあることから、mesotheliomaではなく肺癌(pulmonary giant cell carcinoma)と診断したい。 肺実質との関連をみるため弾力線維染色標本で観察したい。	診断名: 肺がん
C	多形性のある腫瘍細胞がリンパ管侵襲が目立つ。Claudine 4等が陽性を示し、中皮腫マーカーがcalretininのみなので多形性肺がんと診断する。画像では環状胸膜肥厚と胸膜上の多発腫瘍が認められるため鑑別は難しい。	診断名: 肺がん
D	右優位の両側胸水(+)で、右環状胸膜肥厚(+)、胸膜不整も伴っており、悪性胸膜病変の所見である。 含気を認める肺野に原発巣を疑う所見(-)で、中皮腫が考えやすいが、右下葉の虚脱肺内に造影CTにて腫瘍形成がありそう、気管支血管束沿いの病変進展を疑う所見も伴っている。肺門・縦隔リンパ節転移疑い所見も認められ、胸膜病変もやや壊死傾向が強い。肺癌も十分考えられる画像所見である。	診断名: 肺がん
E	画像上は右胸水と胸膜の不整な肥厚を認める。肺内には円形無気肺と思われる腫瘍様の陰影を認めるが原発性肺がんを示唆するような所見は認めない。胸膜の悪性病変と考える。 免疫組織染色の結果(カルレチニンやセラチン陽性、肺癌マーカーは陰性)より、胸膜中皮腫と考える。	診断名: 中皮腫
F	胸部CTにて多房性となった大量の被包化胸水を認めます。一部には腫瘍形成を伴い高度不整・全周性に胸膜が肥厚しています。 画像的には中皮腫等の悪性胸膜病変と考えられます。 免疫染色ではWT-1・D2-40等の中皮マーカー、CEA・TTF-1等の肺癌マーカーがともに陽性となっていますが、Calretininが細胞質のみに陽性であることとClaudin-4が強陽性であることより偽中皮腫様肺癌と考えます。	診断名: 肺がん
G	Sarcomatoid carcinoma of the lung Pleomorphic giant cells, sarcomatous cells, rhabdoid cells Lymphatic invasion *** Intrapulmonary lesion + Calretinin 2+, WT-1 -, D2-40 -, CAM5.2 3+, AE1/AE3 3+, CEA -, TTF-1 -, Napsin A -, Claudin-4 w/cy: 3+, Ber-EP4 w2+, MOC31 3+	診断名: 肺がん

図 2. (2016-002)

最終診断名:
肺がん

所見

7名の投票がありましたが、中皮腫か肺がんかで意見が分れました。病理(2名)は肺がん、放射線(2名)は中皮腫1名、肺がん1名、内科(3名)は中皮腫1名、肺がん2名でした。病理標本では腫瘍の局在は肺内に見えます(EVG染色はありません)。免疫染色では、calretinin(+)ですが、WT-1(-)、D2-40(-)です。肺がんマーカーでは、CEA(-)、TTF-1(-)ですが、claudin-4(+)です。
結論としては、肺内にあると見える腫瘍で、claudin-4陽性ですので、肺がん(多形癌)とするのが妥当でしょう。calretinin陽性のみに頼ることは危険であることを示唆する症例です。

付記

報告症例No:

キー画像

番号

検査日

書き込み

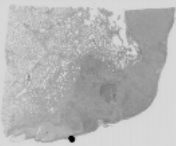
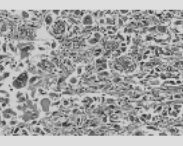
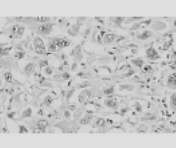
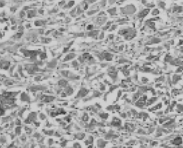





図 3. (2016-002)

— 53 —

研究班員の見解 症例No2016-007

A	脂肪組織層や一部横紋筋を含む壁側胸膜全層が採取。壁全体の4/5~3/4を占めて硝子化を伴う高度線維化層をみる。深層で脂肪組織に及ぶ線維化をみるが線維密度は低く小円形炎症細胞浸潤み集積果も散在。増生する血管には胸膜に垂直に走る血管像をみる。硝子化を伴う線維性肥厚部の紡錘形細胞は細胞密度が低く異型性も弱い。また軽度の浮腫や軽い炎症細胞浸潤を伴っている。増生線維配列は不整な配列像を一部にみるが概ね胸膜に平行な走行を呈している。線維化の高度部と低い部との間には移行をみる。granuloma(-) 免疫染色：CK(AE1/AE3),CAM5.2に陽性の紡錘形細胞は胸腔寄りに多く、深層では少ない。SMAは表層～中層に陽性紡錘形細胞が目立ち深層部では陰性。Desminは表層～中層で陽性細胞像を明瞭に認める。 以上で、採取された標本内ではfibrous pleuritis, highly suspectedと診断。 samplingの可能性も否定できず、follow upは必要。	診断名: その他
B	申し訳ございませんが、私には病理標本のみでの診断能力がありません。	診断名: その他
C	病理のみの症例のようです。	診断名: その他
D	WT-1,calretinin陽性腫瘍細胞のしゅうそくがあり、中皮腫を示唆する所見ではないと思われる	診断名: 中皮腫
E	Fibrous pleuritis Plaque like fibrosis Vague zonaton CAM5.2 surface 1+ AE1/AE3: surface 1+ Desmin : surface 2+ SMA: 3+ Calretinin: trace D2-40: surface 2+ WT-1: -	診断名: その他

図 4. (2016-007)

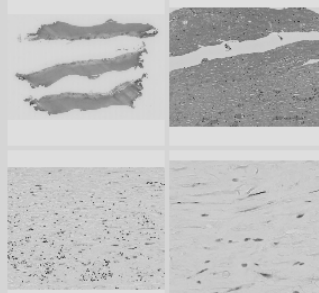
最終診断名:	その他	線維性胸膜炎	キー画像	
所見			☐ 番号 ☐ 検査日 書き込み	
画像が提供できませんでしたので、3名(病理2名、内科1名)から診断をいただきました。病理2名はいずれも線維性胸膜炎、内科1名は中皮腫の診断です。 HE染色では細胞密度の低い膠原線維性組織であり、表面にフィブリンの付着はありますが、いわゆるzonationはみられません。脂肪組織への進展は伴いません。 免疫染色では、胸膜表層部分にみられる異型性に乏しい紡錘形細胞はサイトクラチン(CAM5.2, AE1/AE3)陽性で、かつdesminも陽性です。 これらの所見から、線維性胸膜炎と診断するのが妥当です。				
付記				
報告症例No:				

図 5. (2016-007)

研究班員の見解		症例No.2016-010
A	脂肪組織層を含む壁側胸膜全層が採取。表面はフィブリン層を、その直下部は炎症細胞浸潤層をみ、残る多くの部は高度化した線維の増生より成り血管の増生および炎症細胞を随伴し、腫大した紡錘形細胞の増殖像がみられる。その紡錘形細胞の増殖はいくぶん乱れがあるが基本的には胸膜面に平行に走行する像を呈しているようにみえる。増生血管は胸膜面に垂直に走行する像を認める。深層部は脂肪組織層に線維化が及んでいるが細胞成分は乏しい。全体としてzonationを認める。免疫染色：CK(AE1/AE3),CAM5.2に陽性の紡錘形細胞は胸腔寄りに強く深層では弱い。SMAは表層～中層に陽性紡錘形細胞が目立つが深層部は陰性。Desminは表層～中層で陽性細胞像を明瞭に認める。以上で、採取された標本内ではfibrous and fibrinous pleuritisと診断します。	診断名： その他
B	申し訳ございませんが、私には病理標本のみでの診断能力がありません。	診断名： その他
C	病理のみのようです。	診断名： その他
D	紡錘形細胞が錯綜しており、desminに陽性を示す細胞群が多数を占める。zonationもあり胸膜炎を疑う。	診断名： 良性石綿肺
E	Fibrous pleuritis Zonation+++ CAM5.2 3+表層, AE1/AE3 3+表層, Desmin 2+表層, SMA: 2+, Calretinin trace	診断名： その他

図 6. (2016-010)

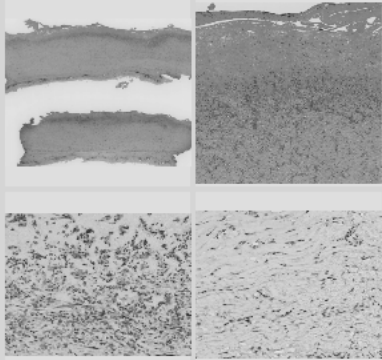
最終診断名:	その他	線維性胸膜炎
所見 画像の入力ができませんでしたので、3名（病理2名、内科1名）の診断にとどまりました。 病理2名は胸膜炎の診断、内科1名も胸膜炎の診断です。 HE染色では、表面にフィブリンの付着、いわゆるzonationの明らかな膠原線維の増生からなります。 免疫染色では、紡錘形細胞はサイトケラチン(CAM5.2, AE1/AE3)陽性で、かつdesminも陽性です。 これらの所見は、胸膜炎の所見に一致します。		キ一画像 ☐ 番号 ☐ 検査日 書き込み 
付記 報告症例No:		

図 7. (2016-010)

研究班員の見解 症例No 2016-012		
A	左胸膜にびまん性、多発腫瘍性病変がみられます。胸郭の容積減少あり。典型的な胸膜中皮腫の所見と考えます。化学療法後と思われますが、経過で病変は縮小しています。右側に石灰化胸膜プラークあり。	診断名: 中皮腫
B	2016-12 左肺・胸膜 【剖検】 ②の肺には気管支内腔や気管支壁に沿った増殖や肺門リンパ節内増殖の、層形成や細胞間橋および軽い角化傾向も一部に見るsquamous cell carcinoma(SCC)をみる。②③④では胸膜部が腫瘍性増殖して肥厚した像がみられ、その腫瘍像は分化度が低い部が多くを占めるが、肺内のSCCの分化度の低い細胞と同質のようにみえ、部により(④)細胞間橋を有したSCC様の像がみられる。免疫染色では、胸膜部の腫瘍細胞はCEA陽性、p40,p63も陽性のように、肺内の腫瘍と胸膜の腫瘍は免疫染色の染まりの程度に違いがあるが、同質の腫瘍を示していると思われる。以上より、胸膜浸潤増殖を強く伴ったpulmonary SCCと診断する。	診断名: 肺がん
C	CTでは両側の石灰化胸膜プラークと左胸膜の全周性の肥厚を認める。左胸壁はすでに変形を来しつつある。胸膜肥厚の一部は腫瘍を形成し、また一部は肋骨を破壊している。病変の首座は胸膜であるが、一部肺内にも腫瘍陰影を認める。 病理では、異型細胞が軟嚢を形成して増殖している。免疫染色ではカルレチニン陽性、D2-40が細胞膜に陽性、その他CEAなど陰性。 上皮型胸膜中皮腫と考えます。	診断名: 中皮腫
D	胸部CTでは左胸膜に腫瘍形成を伴う胸膜沿いの進展を示す腫瘍を認める。また、左下肺には腫瘍形成を認め、左肺門リンパ節転移を認める。また、一部に石灰化を伴う胸膜プラークを認める。腫瘍の病理では、腺腔形成を伴う部位とびまん性の低分化な腫瘍増生を示す部位がある。腺腔形成の部位はカルレチニンは陽性であるが、CEAも陽性を示している。また低分化な腫瘍はクラチンが陰性である。以上から、肺癌の成分と肉腫の成分があるものと思われる。	診断名: その他
E	胸膜には短紡錘形から多角形細胞の増生、肺実質には異型上皮細胞の嚢果形成を認めます。その両者では免疫染色のプロフィールが異なります。 肺内/ 胸膜 calretinin: +/+++ WT-1 -/- D2-40 -/+ CEA: +++/- AE1/AE3: +++/- p63: -/- p40: +/- でした。 これらからは、肺扁平上皮癌と肉腫型中皮腫の合併、あるいは、肺扁平上皮癌の肉腫様変化(多形癌)を考えます。 TTF-1, Claudin-4なども検討したいところです。	診断名: その他

図 8. (2016-012)

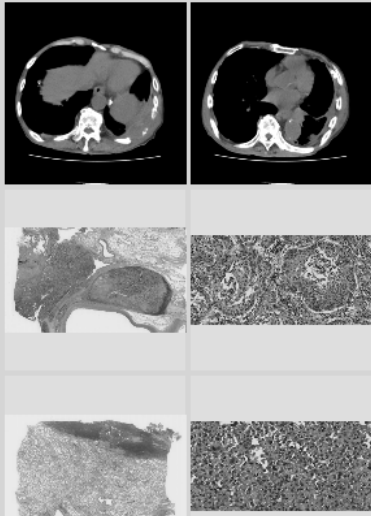
最終診断名: 肺がん		キー画像	
所見 CT画像では、左胸膜のびまん性肥厚がみられ、胸郭の縮小と胸膜での結節形成も伴われます。また、胸郭の縮小もみられます。肺内腫瘍も存在することが疑われます。 剖検時の左肺及び胸膜の標本では、肺内に低分化ながら扁平上皮癌と診断できる病変を認めます。これと明らかな連続性は確認できませんが、胸膜に増殖する腫瘍は異なる組織像を示します。すなわち、多形性を示す核をもつ短紡錘形あるいは多角形の細胞がびまん性増殖を示し、高度な壊死性変化を伴います。 免疫組織化学的染色では、前者の肺内腫瘍では、AE1/AE3(+), D2-40(+), CEA(+), P40(+), calretinin(+), WT-1(-), D2-40(+), CEA(-), NapsinA(-)であり、肉腫型中皮腫とする根拠に乏しく、肉腫様癌と診断するのが妥当です。 従って肺内腫瘍と胸膜腫瘍を一元的に考えるならば、肺原発の肉腫様癌と診断できます。病理医2名、臨床医1名は肉腫様癌に近似した意見であり、臨床医1名、放射線科医1名は中皮腫との意見です。 付記		番号 ☐ 検査日 ☐ 書き込み ☐ 	
報告症例No:			

図 9. (2016-012)

研究班員の見解 症例No.2017-004

A	VATS生検 小さい4片は腫瘍性変化のない脂肪層を含む壁側胸膜。大きい3片は全体に腫瘍性増殖像を呈している。束状不規則不整に交錯した異型紡錘形細胞の増殖がみられ細胞密度は高く肉腫様像(S)がある。またその肉腫様増殖に混じて胞果状～索状の上皮様異型細胞増殖像(E)もみる。免疫染色では、CAM5.2,AE1/AE3はS,Eいずれもfocalな陽性、CalretininはS,E陰性、WT-1はS,E核の染まりなし、D2-40はS,E陽性、Claudin4はEで弱陽性、p40およびp63はEで明瞭に陽性を示しE周囲のS部も陽性。NapsinA,TTF-1,Ber-EP4,MOC-31には陰性。 以上で、mesotheliomaではなく squamous cell carcinoma と診断。	診断名: 肺がん
B	胸部CTでは、左胸膜の肥厚と、一部は腫瘍性の隆起病変を認める。 病理所見では、紡錘形の細胞が密に増殖している。免疫染色ではCAM5.2が一部陽性、AE1/AE3が一部陽性、D2-40が陽性、カルレチニン陰性、WT-1陰性、Claudin-4陰性、p40陽性、p63陽性。 肉腫型の胸膜中皮腫と考えます。	診断名: 中皮腫
C	胸部CTで、左S1+2に2個腫瘍を認め、胸膜に接する。胸膜プラークを認める。多発性腫瘤形成型の中皮腫も疑われるが、肺癌が示唆される。病理組織学的にはP40,63が陽性を示すので、肺扁平上皮癌と診断する。右肺肺癌であれば認められる可能性がある。	診断名: 肺がん
D	Pleomorphic carcinoma invading pleura 異型多角形細胞が胞果を形成して、あるいは、索状に配列して増殖する部分と、異型紡錘形細胞の錯綜性増殖を示す部分の二相性増殖をみとめた。 免疫組織化学的にこれらの細胞は、カルレチニン陰性、WT1陰性、D2-40 陽性、CK5/6上皮細胞成分に陽性、CAM5.2陽性、AE1/AE3紡錘形細胞成分に陽性、EMA上皮様成分に一部陽性、BerEP4陰性、MOC31陰性、シナプトフィジン陰性、CD56陽性、p63陽性、p40陽性、Claudin-4上皮様成分に一部陽性、TTF-1陰性、Napsin A陰性、デスミン陰性、SMA紡錘形細胞成分陽性であった。 これらの所見は、二相型中皮腫としては矛盾する所見であり、肺の多形癌（癌の成分は非角化型扁平上皮癌）の胸膜播種とみなされる。	診断名: 肺がん

図 10. (2017-004)

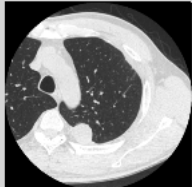
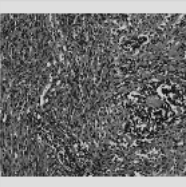
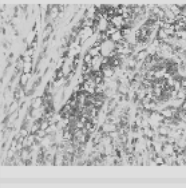
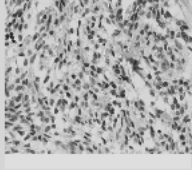
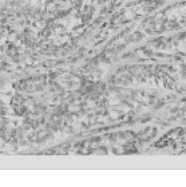
最終診断名: 肺がん		キー画像 ☐ 番号 ☐ 検査日 ☐ 書き込み	
所見 画像では、胸膜に限局性の結節性病変を認めますが、中皮腫より肺癌の可能性が高いとみなされます。 病理像では、異型性の強い紡錘形細胞の増殖が主体を占める腫瘍ですが、低分化な癌腫が示唆される上皮様細胞が一部に混在します。 免疫染色では、サイトケラチンは上皮様部分を中心に陽性、D2-40も陽性ですが、calretininおよびWT-1は陰性です。Desminは陰性です。肺癌マーカーは全て陰性ですが、p40, p63は上皮様部分に陽性です。Claudin-4は上皮様部分の一部で弱陽性です。 これらの所見からは、中皮腫と診断することは困難で、肺原発の多形癌(pleomorphic carcinoma)と診断されます。上皮様部分は低分化型の扁平上皮癌(squamous cell carcinoma)とみなされます。 臨床医1名は中皮腫(肉腫型)、1名は肺がんの診断です。病理医2名はいずれも肺多形癌で上皮様部分は低分化扁平上皮癌との診断です。		 	
付記		 	
報告症例No: 		 	

図 11. (2017-004)

研究班員の見解 症例No 2017-009		
A	右胸水(+)で厚い胸膜肥厚(+), 不整像は軽度です。縦隔側胸膜肥厚は目立たず、右下肺に円形無気肺所見(+), 一見びまん性胸膜肥厚も考えますが、胸膜プラーク(-)、右胸郭容量低下高度で中皮腫をより疑います。	診断名: 中皮腫
B	右胸郭の縮小化と腫瘍性胸膜肥厚があり、粘膜下の腫瘍細胞は上皮成分を含む腫瘍性増殖をしているので中皮腫に矛盾しない	診断名: 中皮腫
C	VATS下右壁側胸膜生検 胸腔側面にフィブリン層、深層に脂肪層・胸内筋膜・横紋筋をみ、脂肪層と壁側胸膜の境界はリンパ濾胞の目立つ小円形細胞の炎症細胞浸潤が目立つ。壁側胸膜は硝子化した強い線維性肥厚を呈し、その線維性増殖は胸膜に平行な方向を示し不規則不整な配列像に乏しい。また、炎症細胞の随伴が目立つ。脂肪層への浸潤像や圧排増殖像はみない。免疫染色では線維性肥厚部の紡錘形細胞はCAM5.2, AE1/AE3に強陽性、Calretinin, D2-40に陽性、SMA陽性、Desmin陽性。 以上で、肥厚した壁側胸膜は、配列の乱れが乏しく、深部浸潤像明らかでなく、Desmin陽性像がみられ、採取された標本内ではfibrous pleuritisと診断する。	診断名: その他
D	右胸水と胸膜肥厚を認め、胸腔内に気腫が見られる。CTでは肥厚した胸膜に接して円形無気肺と思われる腫瘍陰影を認める。両側肺とも気腫性変化が目立つ。 病理所見では、異型細胞が増殖しているように見えますが、その部位では免疫染色ではいずれも陰性と思われる。 画像所見を重視し、胸膜炎と診断させていただきます。	診断名: 良性石綿肺
E	Diffuse pleural thickening (pleuritis), pleura, biopsy Non-Atypical spindle cells proliferation in parallel fashion along pleural cavity. In deep region, marked chronic inflammation is noted. No obvious stromal invasion Vague zonation (+) CAM5.2: 3+ AE1/AE3: 2+ Calretinin: 1+ WT-1: - D2-40: 2+ Desmin: 1+ Surface only SMA: 3+ CD34: -	診断名: その他

図 12. (2017-009)

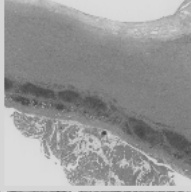
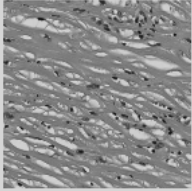
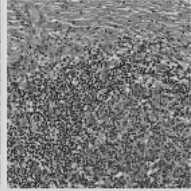
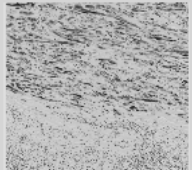
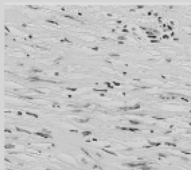
最終診断名: その他		キー画像	
所見 画像では、右胸郭容量の低下、右胸水、胸膜の不整な肥厚(縦隔側は弱い)、円形無気肺などを認めます。びまん性胸膜肥厚を考えますが、中皮腫も否定できません。 病理像では、均一に肥厚した壁側胸膜で、深部の脂肪組織との境界部には高度なリンパ球浸潤を認めます。肥厚部には軽度の異型性を示す紡錘形細胞の増殖を認めますが、低い細胞密度しか示しません。紡錘形細胞の深部脂肪組織への浸潤像は認めません。 免疫染色では、紡錘形細胞はcytokeratin(CAM5.2, AE1/AE3)に強陽性ですが、desmin陽性細胞が広く混在します。 これらの所見は、線維性胸膜炎(あるいはびまん性胸膜肥厚)と診断できます。 臨床医1名は中皮腫、1名は胸膜炎の診断です。放射線科医は胸郭の縮小から中皮腫との診断です。病理医2名は線維性胸膜炎の診断です。		☐ 番号 ☐ 検査日 書き込み      	
付記			
報告症例No: 			

図 13. (2017-009)

研究班員の見解 症例No 2017-010		
A	左側の胸郭の容積減少あり。被包化胸水があり、左下葉の無気肺を伴っています。壁側胸膜の平滑な肥厚がみられ、肥厚は軽度ですが、中皮腫で矛盾しない所見です。	診断名: 中皮腫
B	左胸水(+)で肺尖部主体に縦隔側胸膜肥厚を伴っています。胸膜不整は軽度ですが、中皮腫をより疑います。 胸膜プラーク(-) 肺癌を疑う腫瘍形成(-) 有意サイズのリンパ節腫大(-)	診断名: 中皮腫
C	左胸郭の縮小化と胸膜肥厚有、HE染色でも腫瘍細胞が密度高く存在するので、desmoplastic mesotheliomaと診断する	診断名: 中皮腫
D	左壁側胸膜生検 胸腔側面は出血およびフィブリン層が、深層には脂肪層・胸内筋膜が含まれた肥厚した壁側胸膜。その肥厚した壁側胸膜は硝子化した強い線維の増生で、胸膜に平行な方向性を示し不規則不整な配列に乏しい。炎症細胞の随伴がやや目立っている。脂肪層は薄い浸潤像や圧排増殖像はみない。免疫染色では、CAM5.2, AE1/AE3に強陽性を示す紡錘形細胞は浅層～中層部に分布し、深層部にはみない。Calretinin, D2-40, WT-1に陽性、SMA陽性、Desminに明瞭な陽性。 以上で、肥厚した壁側胸膜の配列の乱れが乏しく、浸潤像明らかでなく、CK陽性増殖細胞は深層部には認めず、またDesminに明瞭な陽性像がみられる。採取された標本内ではfibrous pleuritisと診断する。	診断名: その他
E	画像上は、左胸水を認め、おそらく一部は器質化している。不整な胸膜肥厚は認めない。病理所見でも、悪性病変を疑うような異型細胞は認めないように思います。	診断名: 良性石綿肺
F	Diffuse pleural thickening (pleuritis), pleura, biopsy Non-Atypical spindle cells proliferation in parallel along pleural cavity. In deep region, marked chronic inflammation is noted. No obvious stromal invasion Vague zonation (+) CAM5.2: 3+ AE1/AE3: 2+ Calretinin: 2+ WT-1: - D2-40: 2+ Desmin: 2+ SMA: 3+	診断名: その他

図 14. (2017-010)

最終診断名:	その他
所見 画像では、左胸郭の容量低下、左胸水、胸膜の軽度の肥厚がみられます。 病理像では、壁側胸膜の比較的均一な肥厚がみられます。胸膜表面にはフィブリンの析出がみられ、中層に細胞密度の高い紡錘形細胞の増殖がみられますが、深部では細胞密度は低く、zonationとよべるかもしれません。深部脂肪組織への紡錘形細胞の明瞭な浸潤像はありません。 免疫染色では、紡錘形細胞はcytokeratin (CAM5.2, AE1/AE3)に強陽性です。しかし、desmin陽性所見が明瞭に混在します。 これらの所見から、線維性胸膜炎と診断できます。 臨床医1名は胸膜炎、1名は中皮腫の診断です。放射線科医2名は中皮腫の診断です。病理医2名は線維性胸膜炎の診断です。 付記 報告症例No:	
キー画像 ☐ 番号 ☐ 検査日 ☐ 書き込み	

図 15. (2017-010)

考察：

1. 診断システムの有用性について：

2016 年および 2017 年に提供された 27 例中 7 例（25.9%）が最終診断として中皮腫とならなかったことは、中皮腫の診断にまだまだ困難な点が多いことを示唆している。中皮腫の診断は、臨床診断（血清や胸水による診断）から、放射線画像診断そして病理診断へとすすめられていくのが通例であるが、それぞれを担う診断者が専門性を有していても、約 1/4 程度の例で誤診を生じている。その理由は、それぞれの診断のみでは 100%の信頼がおけないことであり、臨床医、放射線診断医、病理診断医の合議によって最終診断を導くことの重要性を改めて認識することとなった。

しかしながら、本邦においては、中皮腫症例は年間 1,000 例をこえるようになったものの、全国に広がる医療機関においてそれぞれ、少数例が診断されている現状があり、つねに前述の合議ができる体制を用意することは難しい。従ってこれを合理的かつ効率的にすすめていくシステムの構築が必要であるといえる。

本システムは、画像診断医、病理診断医の意見をききながら、コンピューターの専門家（システムエンジニア）が開発したものであり、近年の ICT の発達によるところが大きい。とくに病理画像は容量の大きいことから、この伝送あるいは保存には大きな課題があるが、これらを実用化し、研究班員の間で運用できたことは評価できる。

すなわち、これによって、診断者が一ヶ所に日時を決めて集まることから解放されて、移動時間などを節約できることは大きい。また、こうした討議によって最終的な診断が下される石綿関連疾患をもつ患者の認定作業を担う行政的な部署においては、診断者の旅費や通信費等を節約できることも、このシステムの有用性としてあげられる。

2. 本システムの改良点について：

本システムは、グーグル社のクラウドサービスのプラットフォームを利用し、各症例の放射線画像と病理画像をアップする。各診断者は個有の Gmail アカウントをもち、自らのビューワー（コンピューター）に放射線画像と病理画像をダウンロードして、これらを診断材料として診断意見を作成する。

この各診断者レベルでの作業が、円滑に迅速に行なえることが必要であることから、クラウドサービスへのアクセスとダウンロードのスピードが早く、診断者にダウンロードに要する時間が長いと感じさせないことが必要である。医療機関によっては、他の医療サービス部門としてクラウドサービスがよく利用されており、時間帯によって一斉にダウンロードされるような事態がおこると、ダウンロードのスピ

ードが遅くなり、診断者にとってはトラブルとなる。この点をシステムエンジニアのレベルで改良してもらうことも重要である。

また、各診断者が自らの意見を記入する段階においても、問題としたい所見を图示できるような工夫も必要と思われる。

3. 中皮腫の症例登録への応用：

石綿ばく露による中皮腫をはじめとする様々な疾患については、被害者が日本より早く発生した欧米での研究が先行し、日本はこの 10 年間でそれらの知識を吸収し、かつ発展させてきた。今後は、日本より石綿の使用が遅れ、被害者の発生もこれから増えるアジアの諸国も存在する。これら全世界的な石綿ばく露による問題の解決に対して日本が今後貢献していくためには、中皮腫の分野で云えば、発生数の正確な把握、石綿へのばく露状況の把握、放射線画像や病理画像の保存とその利用などについてシステム化することに取り組む必要がある。

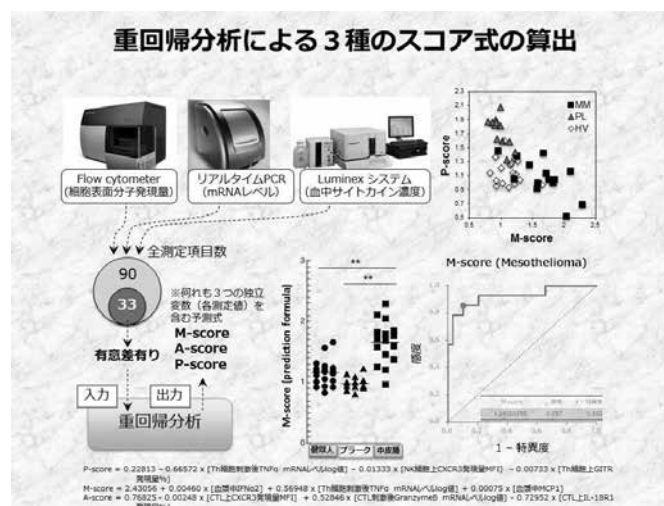
その取り組みはまず、登録システムを作り、正しく診断できた症例を登録し、その所見などの再利用が容易にできるようにしなければならない。現在も一部でその試みは行なわれているが、従来の紙ベースでのシステムにとどまっており、今後の利用価値に問題もある。そこで、今回開発されたシステムを広く用いて、症例登録システムを再構築し、今後の患者の認定作業の円滑化を図るとともに、研究あるいは教育に幅広く用いることを図るべきである。

中皮腫の症例において他疾患との鑑別が困難な症例の収集、的確な鑑別診断の方法に関する研究、及び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の収集、的確な鑑別診断の方法に関する研究

大槻 剛巳

1. 研究分担者らのこれまでの研究について

研究分担者・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。



2. 本研究班の中での検討項目

本研究班の中では、中皮腫の診断の中で特にハイリスクグループのポピュレーションの中でのスクリーニングに適した採血によるデバイスの開発を担当し、その応用として胸水症例などにも適応させることを目的としている。

昨年度までに凝固剤入の末梢血 20ml の採取により、血漿成分をルミネックス法による 29 種類のサイトカイン測定、血球成分についてはフローサイトメトリーを用いて大きさ (FSC) と内部構造 (SSC) により単球、およびリンパ球からは CD4 陽性のヘルパー T 細胞、CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞、および CD56 陽性のナチュラルキラー (NK) 細胞を分画し、それらの中で

新鮮な状況での膜表面発現分子、および遺伝子発現の測定を行った。さらに、血球成分についてはソート後、PMA/イオノマイシンにて一晚刺激後の遺伝子発現も合わせて検討し、これは免疫担当細胞としての潜在能力を示し、アスベストばく露や中皮腫・担癌によって修飾させられている可能性があることによる測定である。

検体の群は健常人、胸膜プラーク症例（アスベストばく露有、担癌無）、悪性中皮腫症例（アスベストばく露・担癌ともに有）であった。

全測定項目 99 のうち 3 群の中で、なんらかの有意差が検出された 33 項目について、重回帰分析を実施し、それぞれの群のみを示唆する公式の検出（最も重要な 3 つの独立変数を用いる）を試みた結果、M-score（中皮腫群を検出）、A-score（健常人群と他の 2 群＝アスベストばく露群を判別）、および P-score（胸膜プラーク群を他の 2 群と判別）という 3 つの予測式を構築することができていた。

ちなみに P-score と M-score でプロットすると 3 群は、異なった領域に分布し、有用性が明らかになった。

またそれぞれのスコアの ROC 曲線は、感度・1-特異度ともに 0.9 前後となり、これも有用性を示唆する結果であった。

なお、カットオフ値で検討すると、ROC 曲線からも想定できるように、10 & 内外の偽陽性あるいは偽陰性が生じており、これは検体数を増やしていかなければならないところである。

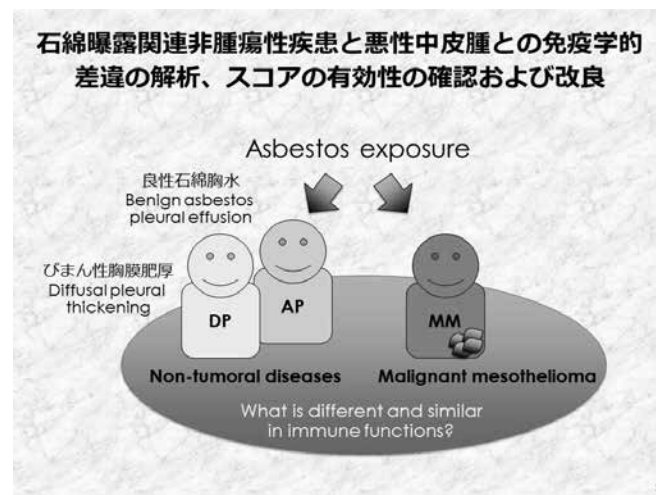
カットオフ値で陰性／陽性を判定した時の 石綿曝露・悪性中皮腫・胸膜プラークの予測能				
		Healthy	Plaque	Mesothelioma
A-score (for asbestos exposure) Cutoff value=1.5876022	A-	88.20% ^a (15/17)	8.30% ^b (1/12)	16.70% ^b (2/12)
	A+	11.80% ^a (2/17)	91.70% ^b (11/12)	83.30% ^b (10/12)
M-score (for mesothelioma) Cutoff value=1.2492035	M-	82.40% ^a (14/17)	100.00% ^a (12/12)	8.30% ^b (1/12)
	M+	17.60% ^a (3/17)	0.00% ^a (0/12)	91.70% ^b (11/12)
P-score (for plaque, no tumor) Cutoff value=1.4253498	P-	94.10% ^a (16/17)	8.30% ^b (1/12)	91.70% ^a (11/12)
	P+	5.90% ^a (1/17)	91.70% ^b (11/12)	8.30% ^a (1/12)
A-score	others	94.10% ^a (16/17)	100.00% ^a (12/12)	25.00% ^b (3/12)
M-score	A+,M+	5.90% ^a (1/17)	0.00% ^a (0/12)	75.00% ^b (9/12)

Each subscript character shows no statistical difference with p<0.05, analyzed by SPSS software with Z test.

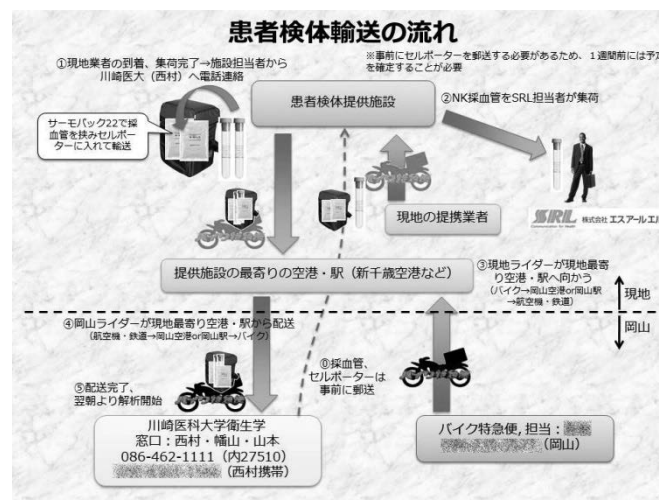
3. 平成 28 年度の試み

1) 検体収集

上記の検討から、平成 28 年度には、石綿ばく露関連非腫瘍性疾患と悪性中皮腫との免疫学的差異の解析と、スコアの有効性の確認とその改良ということを目指して、びまん性胸膜肥厚（DP）、良性石綿胸水および悪性中皮腫症例の検体収集と測定を実施した。

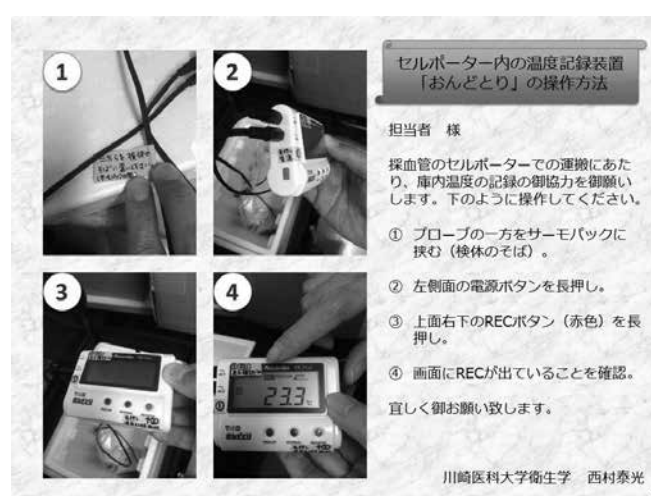


これまでの検討では、当日採血の上、輸送し解析に供与するまでが数時間以内のものを用いていたが、今回の班研究では、さらに将来的に全国的に有用なデバイスとするためには、一晩の輸送期間を寛容しなければならないため、今回はその対応も検討することとした。



すなわち、患者提供施設での採血の後に、NK 活性については、株式会社エスアールエルへの検体の提供、またサーモパックにて川崎医科大学への輸送をするにあたって、セルポーターに入れた後に、提携するバイク便などで最寄りの空港あるいは JR 等の駅に移送し、その後、交通機関の便として取り扱った後に、岡山でのバイク便での回収と、川崎医科大学への移送というステップが必要になってくる。

また今後の調整のためにセルポーター内の温度記録装置「おんどとり」によって、そのモニターも実施することとした。



2) 検体測定

測定については、上記のごとく、サイトカイン濃度の測定、各細胞集団上の細胞の表面分子発現量の測定、さらに各細胞集団をソート収集して新鮮な状態とともに、一晚、PMA/イオノマイシンで刺激した後の遺伝子発現を解析した。

3) 症例一覧

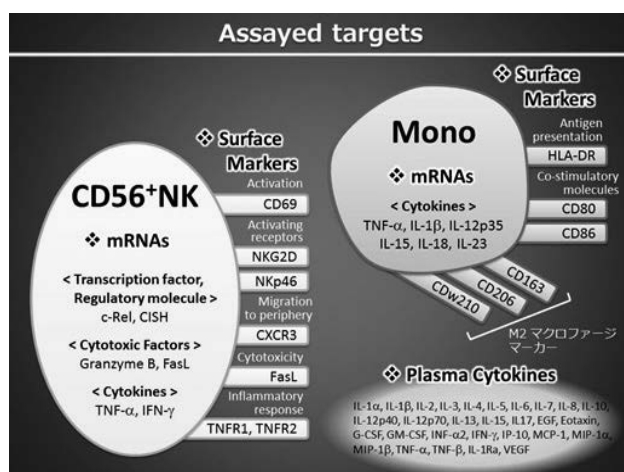
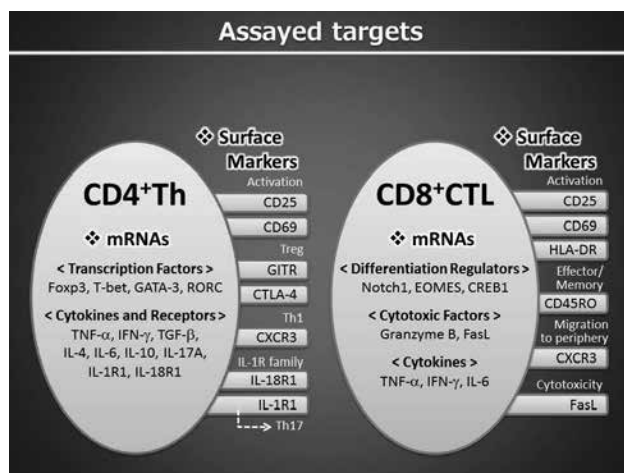
現在の症例の一覧を示す。

現在までに、びまん性胸膜肥厚（DO）13 例、悪性中皮腫（MM）11 例の試料保存・一部解析を完了（※MM-9 の FACS データは状態が悪いため解析不可）した。

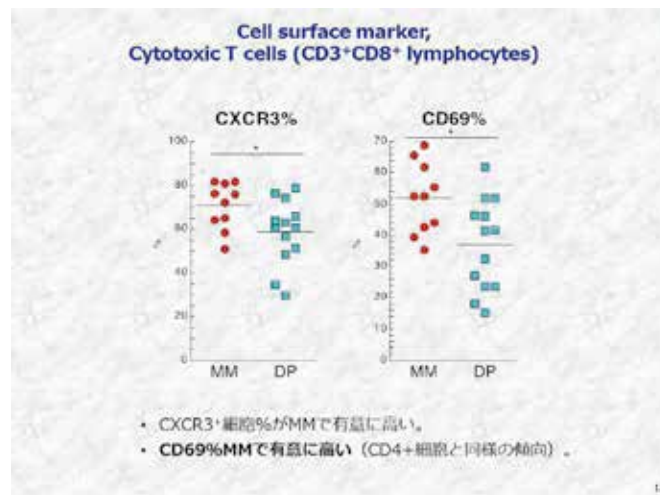
症例一覧					
採血日	採血元	サンプル名	症例	年齢	性別
2015.10.22	岡山労災	K-DP-1	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	81	M
2015.11.9	岡山労災	K-MMA-1	中皮腫	75	M
2015.11.12	岡山労災	K-DP-2	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	74	M
2015.12.7	岡山労災	K-MMA-2	中皮腫	51	M
2015.12.10	岡山労災	K-DP-3	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	77	M
2015.12.14	岡山労災	K-DP-4	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	80	M
2016.1.7	岡山労災	K-DP-5	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	78	M
2016.1.7	岡山労災	K-DP-6	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	79	M
2016.2.1	岡山労災	K-DP-7	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	77	M
2016.2.15	北海道中央労災病院	K-MMA-3	中皮腫	89	M
2016.4.14	岡山労災	K-DP-8	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	74	M
2016.6.1	岡山労災	K-MMA-4	中皮腫	95	M
2016.6.9	岡山労災	K-MMA-5	中皮腫	99	M
2016.6.20	岡山労災	K-DP-9	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	78	M
2016.6.27	岡山労災	K-MMA-6	中皮腫		
2016.7.14	岡山労災	K-DP-10	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)	81	M
2016.8.1	岡山労災	K-DP-11	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)		
2016.8.6	岡山労災	K-MMA-7	中皮腫		
2016.8.8	岡山労災	K-MMA-8	中皮腫		
2016.8.22	岡山労災	K-MMA-9※	中皮腫		
2016.8.29	岡山労災	K-MMA-10	中皮腫		
2016.10.20	岡山労災	K-MMA-11	中皮腫		
2017.1.23	岡山労災	K-DP-12	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)		
2017.1.23	岡山労災	K-DP-13	びまん性胸膜肥厚石線陰(-)		

現在までに、びまん性胸膜肥厚13例、悪性中皮腫11例の試料保存・一部解析を完了
※MM-9のFACSデータは状態が悪いため解析不可

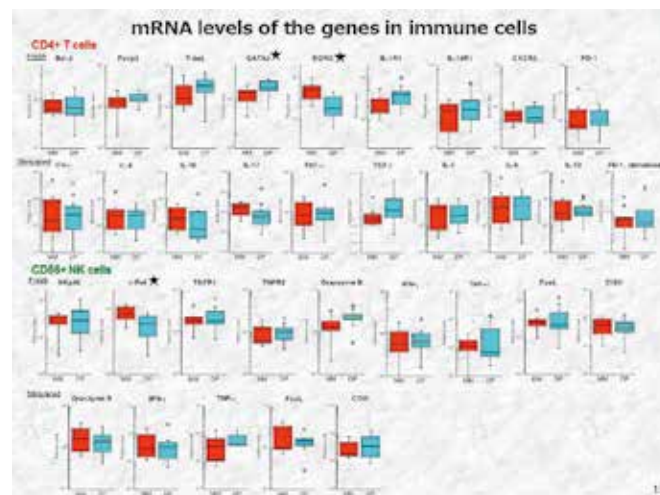
改めて膜表面マーカーの解析について、項目を図示する。



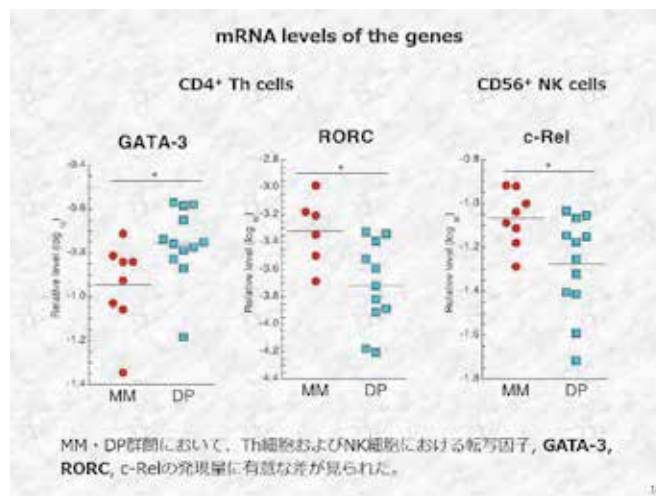
ならびに、上図の下段には、サイトカインについて、表示する。



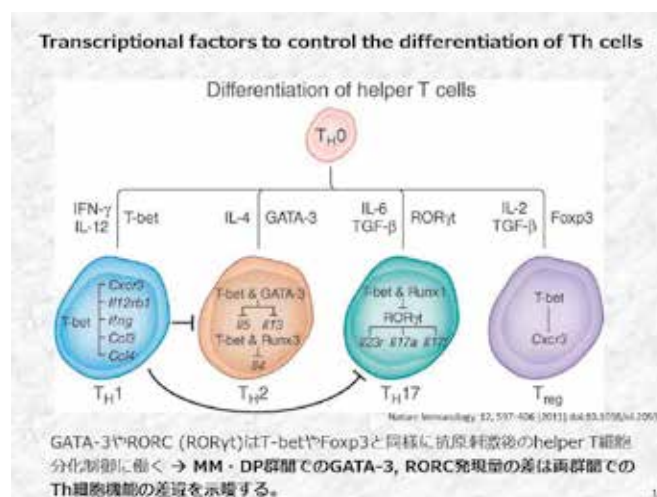
また次の図では、CTL 細胞の CXCR3 の陽性細胞数の率による差、ならびに CD69 の陽性細胞比率を示す。

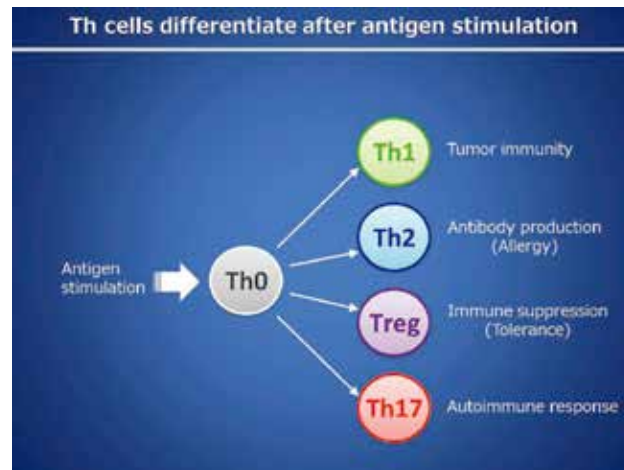


遺伝子発現については、検索した遺伝子群の DP 群と MM 群についての総括的な結果を上図に示す。

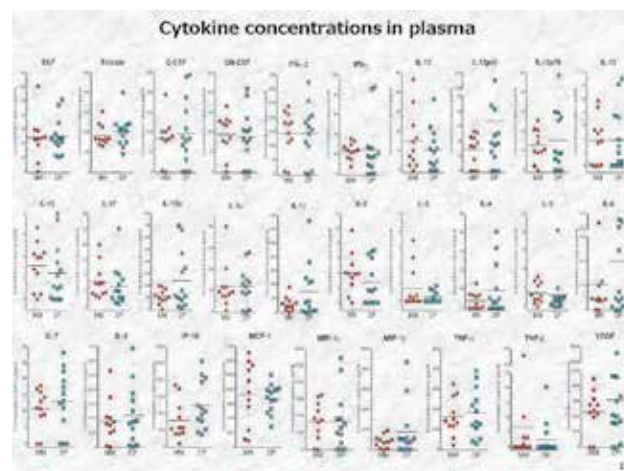


明らかな違いがあったのは CD4 陽性細胞における GATA3 および RORC、NK 細胞における c-Rel であった。

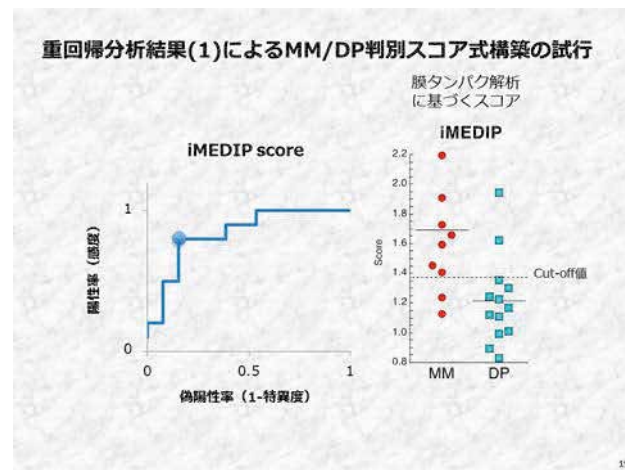
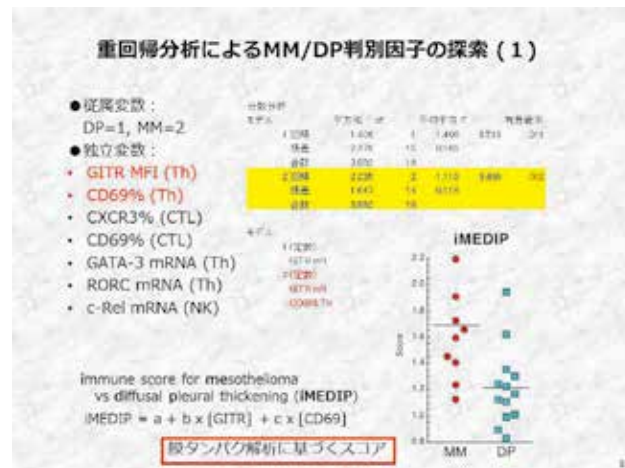




特に GATA3 や RORC については、CD4 陽性のヘルパー T 細胞における亜集団への分化に必須の転写因子でありアスベストばく露とともに、その病態形成に、亜集団への分化に関わる転写因子の発現の違いが生じていることが想定され、興味深い結果となった。

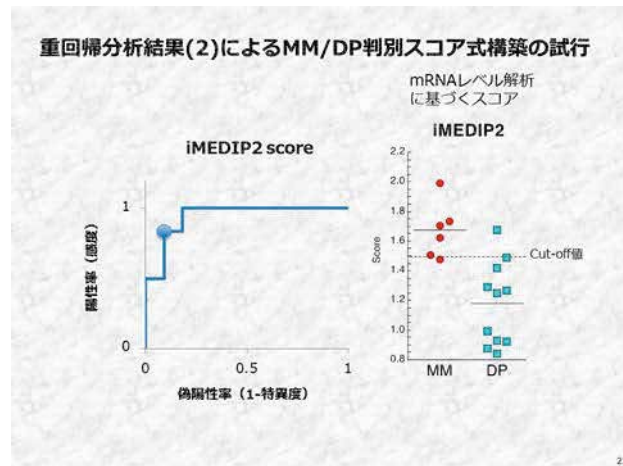


サイトカインについては、現状では明らかな差は認められなかった。
そこで、重回帰分析を用いて、DP 群と MM 群を判別する公式の構築を試みた。



一つは、Th 細胞の GTR と CD69 の発現度による公式である。





また他の一つは Th 細胞における GATA3 と RORC の遺伝子発現の度合いを用いたものである。

いずれも ROC 曲線では、まだ十分なところに至っていないものの、ある程度判別可能と考えられる。また今年度で、班研究は終了となるが、今後も症例を集積することで、明らかな違いを表出することが可能になると思われる。

まとめとして

- びまん性胸膜肥厚 (DP) と悪性中皮腫 (MM) の CD4⁺T (Th) 細胞において制御性 T 細胞マーカー値に差が見られ、MM における GITR 発現量は DP よりも有意に高かった。
- MM・DP 群間では CD4⁺T (Th) 細胞では GATA-3、RORC の、NK 細胞では c-Rel の mRNA レベルに差が見られた。
- GATA-3、RORC は Th 細胞分化のマスター遺伝子であり、MM および DP の疾患背景における免疫動態との関連が示唆される。
- 有意差が見られた因子を独立変数とする重回帰分析を行い MM・DP 判別因子の探索およびスコア式の構築を試行し、膜タンパク発現量または mRNA レベル解析に基づく 2 式を導いた。
- 後者の独立変数は、上述のように helper T 細胞機能のマスター遺伝子であり、従って、算出される数式で免疫動態を測ることは免疫学的にも充分説明可能であり、非常に魅力的である。胸水貯留がみられる石綿ばく露歴患者などへのスクリーニングデバイスとしての応用の可能性が示唆される。

という内容が、平成 28 年度の検討結果となった。

これらの検討は、川崎医科大学衛生学教室の教室員—准教授・西村泰光、助教・武井直子、松崎秀紀、李順姫および研究補助員、幡山圭代、山本祥子、池田美穂による検討の総和としての成果報告であり、報告書誌上ではあるが、改めて彼らの協力と多大な尽力に深謝の意を表するところである。

石綿肺と病理組織診断が下されていた剖検症例の検討 －協力を得られた労災病院症例－

岡本 賢三、岸本 卓巳

【背景・目的】

石綿肺は極めて高濃度の石綿ばく露によって引き起こされる肺線維化病変である。石綿肺は従来から労災補償対象疾患であり、平成 22 年 7 月より著しい呼吸機能障害を伴う石綿肺は石綿健康被害救済対象疾患となり、石綿肺の診断にはそれなりの確かさが求められている。石綿健康被害救済対象疾患の石綿肺として申請された事例をみると、1) 胸膜プラークがみられた、2) BALF や細胞診標本に石綿小体が見られた、3) 肺組織内に石綿小体が見られた、4) ばく露歴があり肺に陰影が認められたことをもって診断が下されている症例が多い。1) 2) 3) は石綿ばく露を裏付けるがそれをもって石綿肺の診断はできず、4) は可能性あるが画像および組織像の特徴をもとに診断が下される必要がある。石綿肺と病理組織診断が下されていたにもかかわらず、私たちの検討で特徴的な線維化所見を欠き石綿肺とは診断できなかった症例を少なからず経験している。

より正しい診断向上のため、私たちは平成 23～25 年度の厚生労働科学研究 労働安全衛生総合研究事業「石綿関連疾患の診断基準及び手法に関する調査研究班」で症例を検討し報告を行ったが、引き続き症例の検討が必要と考えた。

【対 象】

今回の研究では、石綿肺の病理組織診断が下された剖検症例を対象に、本研究班での臨床像および病理組織像の検討協力を各労災病院にお願いした。協力を頂いた横浜労災病院・旭労災病院・香川労災病院・長崎労災病院の 7 症例を検討し得た。

【方 法】

施設により提出頂いた標本は施設によって違いがあり、HE 染色のみの標本、HE および Fe 染色標本、パラフィン包埋肺組織ブロック標本、ホルマリン固定肺組織標本での提出を頂いた。いずれも部位不明であった。染色可能

標本は HE、Elastica-Masson (EMS)、鉄の各染色、および無染色標本を作成し観察した。石綿小体定量計測は 5 症例で行われていた。

【 結果および考察 】

石綿肺の病理組織診断は、光顕での線維化部における石綿小体の確認、および石綿肺線維化の基本とされる細葉中心性線維化（＝peribronchiolar fibrosis、PBF）の有無およびその程度で判定した。ご提供を頂いた限られた標本内での検討だが、その結果は、簡単な臨床像と合わせて示した別表〔表 1、表 2〕のように、石綿肺と診断し得たのは、症例 1、2、3 の 3 例、診断し得なかったのは症例 4、5、6、7 の 4 例であった。

石綿肺と診断した 3 症例と診断できなかった 2 症例をそれぞれ組織像で提示する。

表 1.

症例	年齢	性別	じん肺関連職業歴	喫煙 (B.I.)	胸膜ブランク	びまん性胸膜肥厚
1	81	男性	石綿工場勤務29年（石綿保存材、石綿スレート製品製造）	860	あり（石灰化）	なし（両側胸水）
2	84	男性	アーク溶接等業務15年	？	あり	なし（右胸水）
3	75	男性	保温材取付作業および修理作業19年	1080	あり（石灰化）	あり
4	85	男性	鉱山3年、陶磁器製造4年、陶器窯焼23年、タイル製造6年	0	あり（石灰化）	なし
5	72	男性	発電所などでの機械組立作業23年	2940	あり（石灰化）	なし（右胸水）
6	75	男性	建設業（内装15年）	1260	あり	あり（右胸水）
7	65	男性	造船所での配管石綿取付作業8年	1260	あり	なし

表 2.

症例	提出標本	標本上の石綿小体	線維化	PBF線維化 Grade	診断	石綿小体本/g (day)
1	HE2枚	多数（線維化部）	胸膜直下からの不規則不整な線維化 非石綿じん肺線維化もあり	3-2	非石綿粉じん線維化加味しているが石綿線維化あり	計測なし
2	2片、各種染色施行	多数（腔内～線維化部）	細葉中心性線維化が明瞭で黒色粉じん高度だが小体多数	2-3	非石綿粉じん線維化加味しているが石綿線維化あり	計測なし
3	2片、各種染色施行	腔内～線維化部	胸膜下からの蜂巣肺伴う線維化 黒色粉じんと小体沈着のRB線維化	2 (-3)	高度線維化部は非定型だがPBFみ石綿肺線維化あり	279,489
4	HE6枚	認め難い	DM,MDFの非石綿粉じん肺線維化	0	石綿肺線維化なし	5,743
5	5片、各種染色施行	腔内>>>線維化部	胸膜下から広がる線維化あり RB壁中心線維化乏しい	0	線維化あるが石綿肺線維化なし	278,088
6	HE11枚	少数（腔内）	RB壁中心の黒色粉じん沈着みるが線維化乏しい（軽いDM）	0	びまん性胸膜肥厚あるが石綿肺線維化なし	14,580
7	5片、各種染色施行	腔内に多くRB線維化部は少数	胸膜下からの不規則不整線維化 非石綿粉じん主体の細葉中心線維化	1程度？	線維化あるが石綿肺線維化とは診断し得ない	50,964

PBF : peribronchiolar fibrosis

DM : dust macule

MDF : mixed dust fibrosis

RB : respiratory bronchiole

〔症例 1〕：図 1、図 2、図 3

81 才、男性、石綿工場で石綿保存材・石綿スレート製品製造 29 年。HE 標本 2 枚（部位不明）。組織像は、dust macule や肺門肺内リンパ節に非石綿粉じん性の高度線維化をみるが、多数の石綿小体を伴う石綿線維化としての細葉中心性線維化（PBF 像）や胸膜直下からの不規則不整分布の線維化像をみる〔Grade3-2 石綿線維化〕。非石綿線維化像もみられ定型的ではないが石綿肺と診断した。

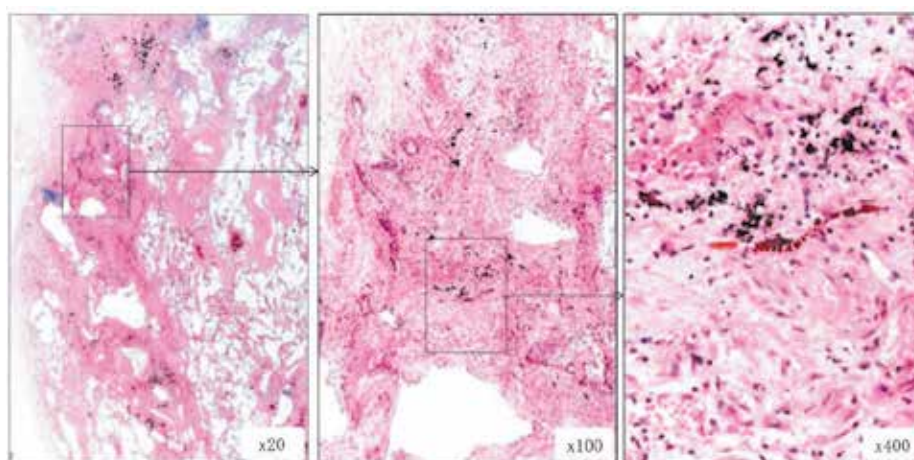


図 1. 胸膜下からの不規則な分布の線維化と細葉中心部に石綿小体を容易に認める。

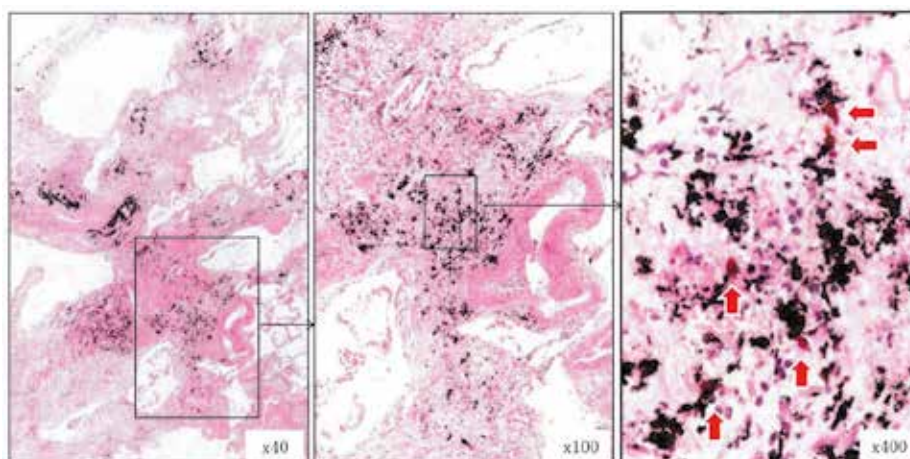


図 2. 不規則な分布の線維化と細葉中心部に黒色粉じんが目立ち、石綿小体を数多く認める。

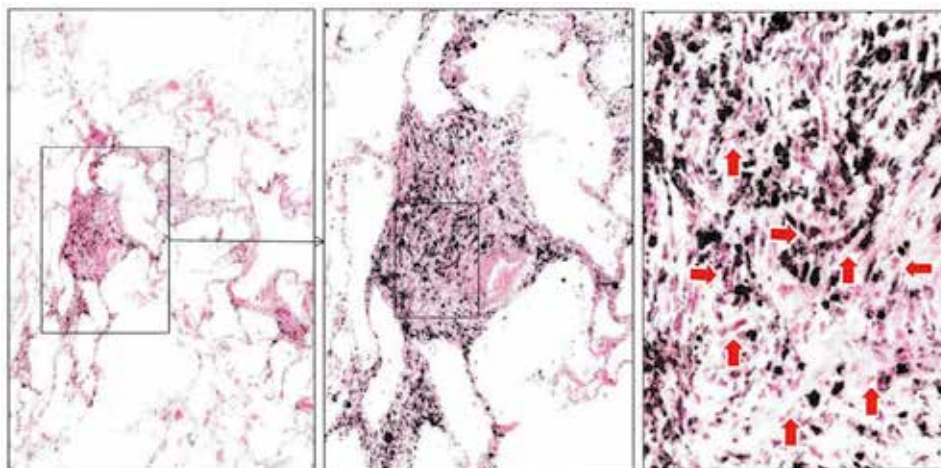


図 3. dust macule 様黒色粉じん沈着を伴う線維化像と疎な部に石綿小体数多く認める。

〔症例 2〕：図 4、図 5、図 6

84 才、男性、アーク溶接等の業務 15 年。標本は 2 ヶ所（部位不明）で各種の染色施行。組織像は、不規則不整な線維性変化がやや強くみられ、その線維化部の細葉中心部に黒色粉じん沈着を高度にみ、その粉じんとともに多数の石綿小体が認められる。非石綿粉じんによる線維化とともに石綿による線維化もあるとみなし、石綿肺〔Grade2-3〕と診断した。

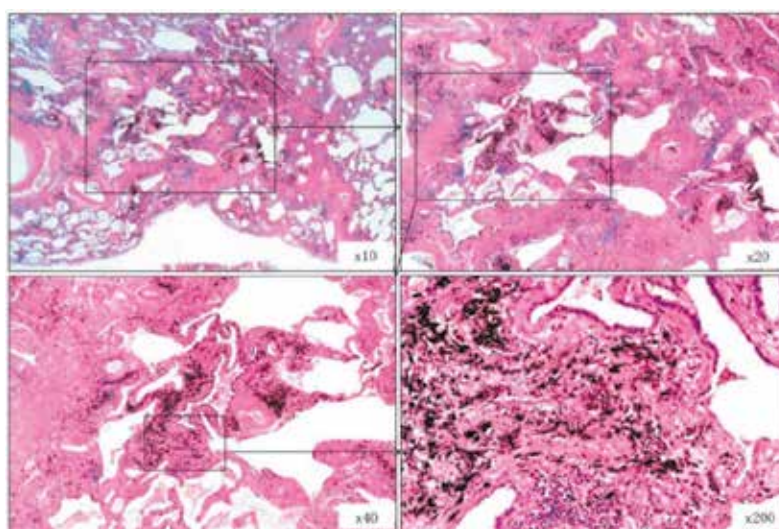


図 4. 不規則不整な線維化で細葉中心性線維化もみられる。
細葉中心性部に黒色粉じんを強くみる。

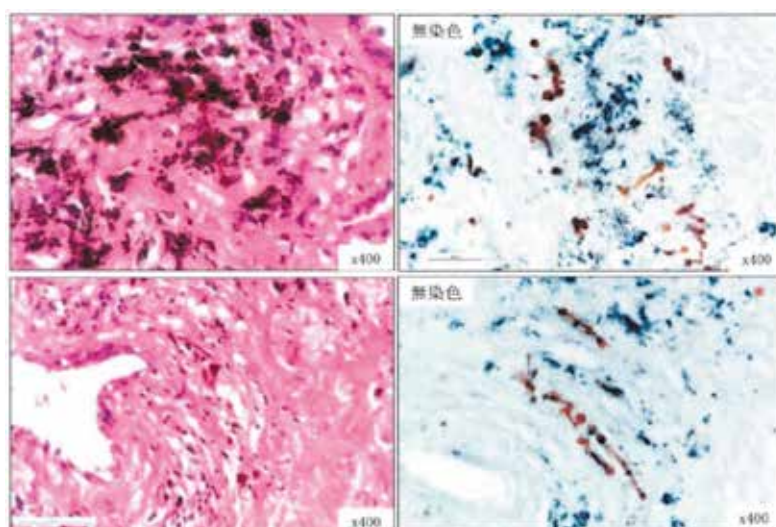


図 5. 細気管支中心性に黒色粉じんの沈着とともに数多くの石綿小体を認める。

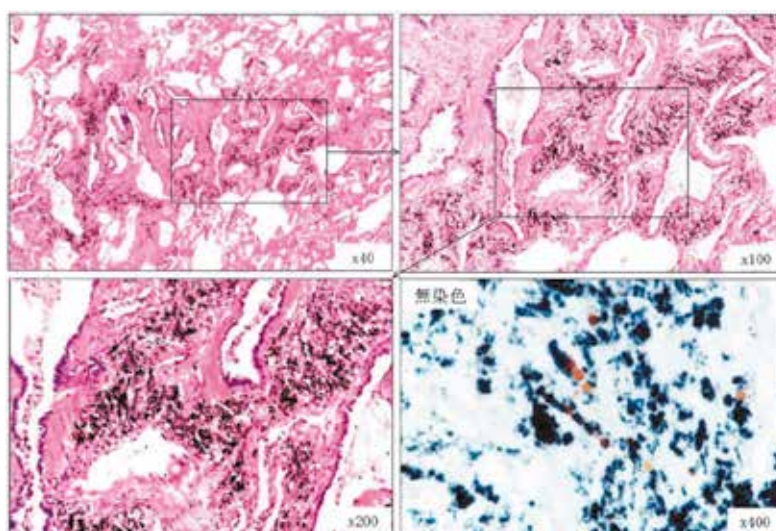


図 6. 黒色粉じんが目立つ細葉中心部から広がる線維性変化と、数多くの石綿小体を認める。

〔症例 3〕：図 7、図 8

75 才、男性、保温材取付作業および修理事業 19 年。標本は 2 ヶ所（部位不明）で各種の染色施行。組織像は、黒色粉じん沈着がやや目立つが、石綿小体を伴う細気管支中心性線維化 PBF が強くはないが認められる。胸膜下から広がる幅広い線維化は UIP パターンの蜂巣肺像をみる。その高度線維化部にも細葉中心性に石綿小体を数は多くないが伴っている。高度線維化部は定型的な石綿線維化像とは異なるが Grade2 の PBF 像はみられ石綿肺線維化はあると診断した。

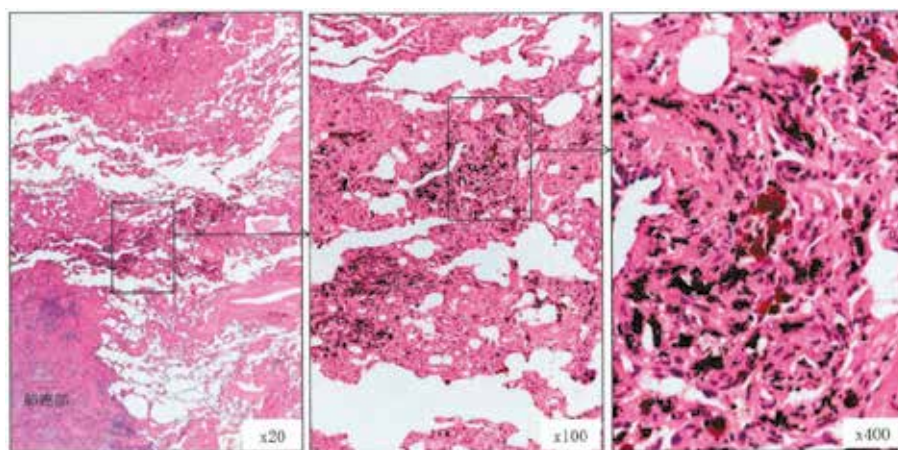


図 7. 呼吸細気管支壁～周囲肺胞壁に広がる線維化と黒色粉じん＋数多くの石綿小体を認める。

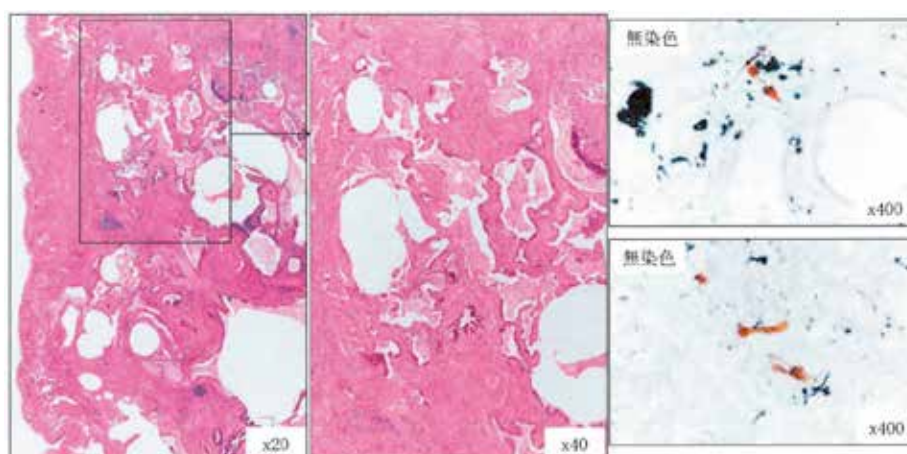


図 8. UIP パターンの線維化と程度の弱い細葉中心部の黒色粉じんおよび石綿小体を認める。

石綿肺と診断できなかった症例を 2 例提示する。

〔症例 4〕：図 9、図 10

85 才、男性、鉱山 3 年、陶磁器製造 4 年、陶器窯焼 23 年、タイル製造 6 年。呼吸細気管支壁および周囲に広がる非石綿黒色粉じん沈着が高度に見られ dust macule および mixed dust fibrosis の線維化像を呈している。しかしいずれの部にも石綿小体は認め難い。石綿肺としての線維化 PBF 像は認めず石綿肺とは診断できなかった。

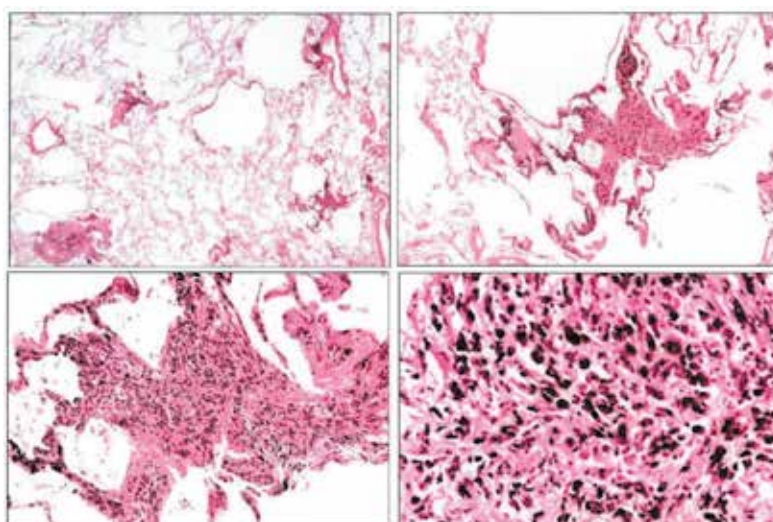


図 9. 細気管支中心性に高度の黒色粉じん沈着による dust macule 様の線維化をみる。
細葉中心型肺気腫を随伴している。石綿小体は認め難い。

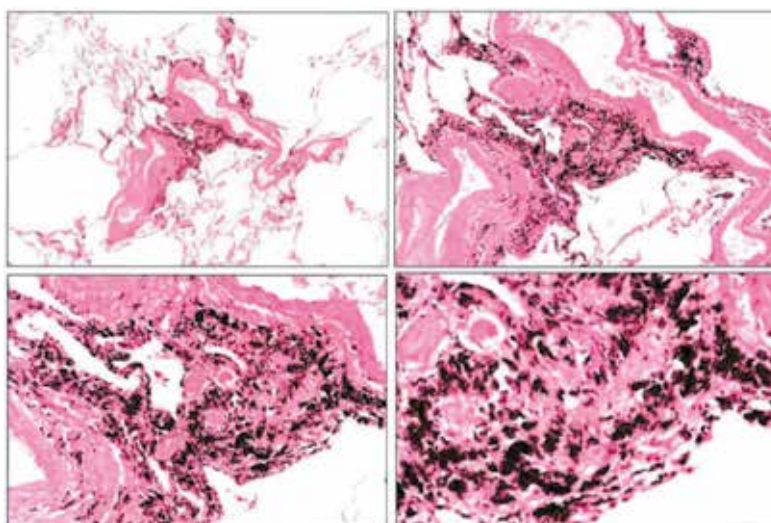


図 10. 呼吸細気管支壁部中心性に高度の黒色粉じん沈着による線維化をみる。
石綿小体は認め難い。

〔症例 5〕：図 11、図 12

72 才、男性、発電所での機械組立作業 23 年。胸膜下から不整に広がる閉塞型主体の線維化がみられるが細気管支中心性粉じん沈着は乏しい。不整線維化のみない部での呼吸細気管支壁部には黒色粉じん沈着像をみるが線維性肥厚は弱い。石綿小体は少なからず認めたが呼吸細気管支壁周囲線維化部には乏しく、多くは肺胞腔内の分布であった。石綿線維化としての PBF 像は明らかでなく石綿肺とは診断できなかった。

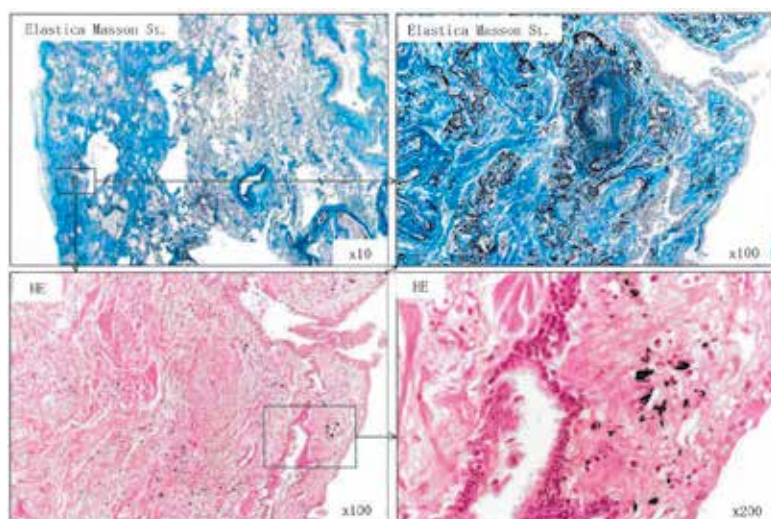


図 11. 胸膜下からの閉塞型主体線維化を認める。
細気管支中心部の粉じん沈着は弱く石綿小体も認め難い。

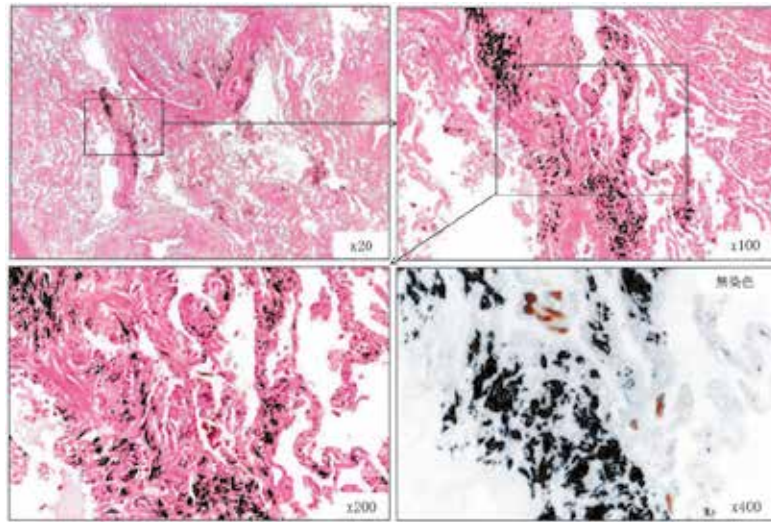


図 12. 呼吸細気管支壁部中心性に黒色粉じん沈着と軽度の線維化。
肺胞腔内石綿小体をみるが線維化部には認め難い。

他の症例は組織像で示さないが、症例 6 は、びまん性胸膜肥厚がみられたものの PBF を思わせる線維化像は全くみられず石綿小体も鉄染色標本で全標本中 2 本であり石綿肺線維化像は全く認めなかった。症例 7 は、職歴では石綿大量ばく露の可能性を思わせ、組織上も胸膜から広がる不規則な線維化像がみられたが、細葉中心性の線維化は非石綿黒色粉じん主体の線維化像で、石綿小体はその線維化部にもみられたものの程度が弱く、Grade1 程度が重なっている可能性はあるが石綿線維化 PBF 像と診断できず石綿肺と診断し得なかった。

病理解剖で石綿肺と病理診断が下されていた症例を本研究班で 7 例検討し得た。病理組織学的に石綿肺と診断する基本的病変は細気管支中心性線維化 peribronchiolar fibrosis (PBF) 像であるが、その基本像がまだ十分に理解されていない現状が本研究においても明らかになった。

今回の研究対象症例において、石綿肺と診断したものの非石綿粉じんによる線維化が合併していた例、線維化像が非石綿粉じん由来優位の例、また、線維化像が殆ど非石綿粉じん由来と思われる例など、非石綿粉じんが絡んでいる症例が多かった。今までの検討例においてもそのような例が少なからずあった。日本においては大量石綿ばく露を受けている場合には、同時に他の非石綿粉じんのばく露も受けていることが多いためであろうと思われる。石綿肺の診断にはそのことも考慮しながらの慎重な診断が必要である。

参考文献

- 1) Roggli VL et al: Pathology of asbestosis. An update of the diagnostic criteria, Arch Pathol Lab Med. 134(3):462-480.2010
- 2) Roggli VL. Oury TD. Sporn TA.: Pathology of Asbestos-Associated Diseases. Asbestosis. second edition, Springer-Verlag New York. 71-103.2004
- 3) Craighead JE.: The pathology of asbestos-associated diseases of the lung and pleural cavities: Diagnostic criteria and proposed grading schema. Arch Pathol Lab Med. 106:544-596.1982
- 4) Travis WD et al: Occupational lung disease and pneumoconiosis. Atlas of nontumor pathology, fascicle 2, Armed Forces Institute of Pathology, Washington D C. 793-856.2002
- 5) Honma K et al: Proposed criteria for mixed-dust pneumoconiosis: definition, descriptions, and guidelines for pathologic diagnosis and clinical correlation. Hum Pathol. 35(12):1515-1523.2004
- 6) Arakawa H, Kishimoto T, Ashizawa K, Kato K, Okamoto K, Honma K, Hayashi S, Akira M. : Asbestosis and other pulmonary fibrosis in asbestos-exposed workers: high-resolution CT features with pathological correlations. Eur Radiol Sep 3.2015
- 7) 岡本賢三：職業性肺疾患．病理と臨床．32:1117-1126.2014
- 8) 岡本賢三：石綿肺の病理 石綿肺の病理学的特徴．石綿関連疾患の病理とそのリスクコミュニケーション（第1版）（井内康記輝 編著），篠原出版新社．東京．130-142.2015

おわりに

「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―」は平成 26 年度から開始され本年度が最終年度となった。

胸膜中皮腫の画像については岡山労災病院症例に加えて山口宇部医療センター、札幌南三条病院の症例を検討することができ、日本全国での画像パターンについて研究範囲を広めることができた。詳細な画像所見を追及してこれらの所見のどの因子が予後に影響を与えるかについても検討した。

胸膜中皮腫症例の末梢血免疫担当細胞やサイトカインが中皮腫病態に与える役割について石綿ばく露によって発症する良性胸膜病変であるびまん性胸膜肥厚症例を対照としてどのような差異があるのかについても症例を増やして検討できた。また、胸水 SLPI については早期中皮腫と良性石綿胸水の鑑別に有用であるマーカーであることも明らかにされた。

病理学的な診断マーカーとしては上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成、肉腫型中皮腫と肺肉腫様癌の鑑別に有用なマーカーを探索した。また、上皮型中皮腫と肺癌鑑別のための新しいマーカーとして DAB2 と Intelectin-1 について、その有用性を確認した。さらに遠隔診断システムを使用した班員内での遠隔診断法により複数の専門医からの意見を聴取することにより短時間でなおかつ確実な診断方法の新しい診断システムとして構築できることを確認した。今後このシステムを利用して迅速で正確な診断が行われるようになると確信している。

平成 29 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

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 28 年度 総括・分担研究報告書

平成 29 年 3 月 31 日発行

発行：研究代表者 岸本 卓巳

〒702-8055 岡山市南区築港緑町 1-10-25
独立行政法人 労働者健康安全機構 岡山労災病院