

討していく予定である。

悪性中皮腫は全身状態が良い症例においてさえ予後は不良であり、肺非小細胞癌に対する gefitinib や erlotinib あるいは慢性骨髄性白血病に対する imatinib のようなシグナル伝達を阻害する分子標的薬の開発が急務であると考えられた。

【謝辞】

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻・病態機構学講座・腫瘍制御学講座の大学院生、市原英基先生と藤井昌学先生の解析へのご協力に深謝いたします。

【文献】

- 1) Curran D, Sahnoud T, Therasse P, van Meerbeeck J, Postmus PE, Giaccone G: Prognostic factors in patients with pleural mesothelioma: the European Organization for Research and Treatment of Cancer experience. *J Clin Oncol* 16: 145-52, 1998.
- 2) Bottomley A, Coens C, Efficace F, Gaafar R, Manegold C, Burgers S, Vincent M, Legrand C, van Meerbeeck JP; EORTC-NCIC. Symptoms and patient-reported well-being: do they predict survival in malignant pleural mesothelioma? A prognostic factor analysis of EORTC-NCIC 08983: randomized phase III study of cisplatin with or without raltitrexed in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol* 25: 5770-6, 2007.
- 3) Govindan R, Kratzke RA, Herndon JE 2nd, Nihans GA, Vollmer R, Watson D, Green MR, Kindler HL, Cancer and Leukemia Group B (CALGB 30101): Gefitinib in patients with malignant mesothelioma: a phase II study by the Cancer and Leukemia Group B. *Clin Cancer Res* 11: 2300-4, 2005.
- 4) Mathy A, Baas P, Dalesio O, van Zandwijk N: Limited efficacy of imatinib mesylate in malignant mesothelioma: a phase II trial. *Lung Cancer* 50: 83-6, 2005.
- 5) Altomare DA, You H, Xiao GH, Ramos-Nino ME, Skele KL, De Rienzo A, Jhanwar SC, Mossman BT, Kane AB, Testa JR: Human and mouse mesotheliomas exhibit elevated AKT/PKB activity, which can be targeted pharmacologically to inhibit tumor cell growth. *Oncogene* 24: 6080-9, 2005.
- 6) Cao X, Mohiuddin I, Ece F, McConkey DJ, Smythe WR: Histone deacetylase inhibitor downregulation of bcl-xl gene expression leads to apoptotic cell death in mesothelioma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 25: 562-8, 2001.

【背景と目的】

P16 遺伝子は 9p21 に存在する癌抑制遺伝子であり、サイクリン依存性キナーゼ阻害物質として *RB* 蛋白を脱リン酸化、活性化し G1 期停止に導く¹⁾。欧米の報告では、p16 蛋白の発現消失は胸膜中皮腫の 48~100%と高頻度に認められ、胸膜中皮腫の遺伝子異常として知られている。p16 蛋白の発現消失の主な原因は *P16* 遺伝子のホモ接合性欠失であり、その頻度は欧米の研究では 22~74%と報告されている²⁻⁴⁾。悪性腫瘍における遺伝子発現異常の原因として DNA プロモーター領域のメチル化が知られているが、胸膜中皮腫では *P16* 遺伝子のメチル化の頻度は低いと報告されている⁵⁻⁸⁾。ただし、日本人症例における p16 蛋白発現、*P16* 遺伝子のホモ接合性欠失、メチル化の頻度に関し、コンセンサスはない。

本研究の目的は日本人胸膜中皮腫症例における p16 蛋白発現と *P16* 遺伝子の欠失、メチル化の頻度を解析し、胸膜中皮腫の発病や臨床病理学的因子としての p16 蛋白および *P16* 遺伝子の意義を明らかにすることである。

【対象】

日本人胸膜中皮腫 30 症例を対象とした（岡山大学 18 例、岡山労災病院 12 例）。全員男性で、平均年齢は 60.3 歳（38~74 歳）であった。病理診断は生検検体または外科的手術検体を基に行われ、組織型は上皮型 16 例、二相型 8 例、肉腫型 5 例、lymphohistiocytoid 型 (Unusual variant) 1 例であった。30 例のうち、初回治療として 20 例が手術、9 例が化学療法を受け、1 例が無治療であった。腫瘍検体はホルマリン固定後にパラフィン包埋標本として保存され、更に 13 症例の検体は手術時に -80°C で凍結して保存された。

【方法】

(1) 免疫組織化学染色

p16 蛋白の発現の有無を免疫組織化学染色により解析した。パラフィン薄切標本を 10mM クエン酸 (pH6.0) に入れ 15 分間電子レンジで加熱し抗原賦活処理を行い、20 倍希釈した p16 モノクローナル抗体 (Novocastra) に 60 分間反応させた。染色は Envision DAB kit (Dako) とヘマトキシリンで行った。小細胞肺癌標本を positive control として使用した。

(2) Fluorescence in situ hybridizations (FISH) 法

パラフィン薄切標本を脱パラフィン・脱水処理後、0.2N HCl 処理を行い、クエン酸に浸して電子レンジに入れて 30 分間加熱した。次いで、ペプシン溶液に浸したあと、10%中性ホルマリン溶液で固定した。LSI *P16* (9p21) spectrumOrange/CEP spectrumGreen probe (Vysis) を用いて、dual color FISH assay を行った。評価は、蛍光顕微鏡 (BZ-Analyzer, Keyence) を用いて 2 人の研究者が独立に行った。

(3) Methylation specific PCR(MSP) 法

凍結標本 13 検体から DNA を抽出し DNA 1 μ g をバイサルファイト処理した。メチル化特異的プライマーを用い PCR (MSP)を行った。

(4) 予後解析

p16 蛋白の発現の有無と予後の関係について、統計学的に検討した。全生存期間を Kaplan-Meier 法を用いて解析し、log-rank test で検定した。データの解析に際しては StatView® 5.0 Program for Windows (SAS Institute Inc.)を使用した。検定は両側で行い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意差有りとした。

【結果】

(1) 免疫組織化学染色

30 検体のうち、p16 蛋白発現陽性が 6 例(20%)、陰性が 24 例(80%)であった。組織型別の p16 蛋白発現陰性率は、上皮型 75% (12/16)、二相型 75%(6/8)、肉腫型 100% (5/5)、lymphohistiocytoid 型 100%(1/1)であった (表 1)。

(2) FISH 法

FISH assay では、*P16* 遺伝子のホモ接合性欠失が 21 例 (70%) に認められた。組織型別の欠失率は、上皮型 68.8% (11/16)、二相型 50% (4/8)、肉腫型 100% (5/5)、lymphohistiocytoid 型 100%(1/1)であった (表 1)。

表 1. 胸膜中皮腫組織型と p16 FISH 法、免疫組織化学染色法の結果

	症例数	FISH法		免疫染色	
		<i>P16</i> (-)	<i>P16</i> (+)	p16(-)	p16(+)
上皮型	16	11 (69%)	5 (31%)	12 (75%)	4 (25%)
2相型	8	4 (50%)	4 (50%)	6 (75%)	2 (25%)
肉腫型	5	5 (100%)	0	5 (100%)	0
その他	1	1	0	1	0
計	30	21 (70%)	9(30%)	24 (80%)	6(20%)

(3) MSP

FISH assay で *P16* 遺伝子のホモ接合性欠失が認められた検体で p16 蛋白の発現が認められたものはなかったが、*P16* 遺伝子が保たれている 3 検体で p16 蛋白の発現が認められなかった。3 検体の蛋白発現消失に *P16* 遺伝子のメチル化が関係していることが考えられたため、凍結標本が使用可能であった 13 検体におけるメチル化の状況を調べた。この 13 検体には、先に述べた *P16* 遺伝子が保たれているが p16 蛋白の発現が認められなかった 3 検体のうち、2 検体が含まれていたが、MSP で、その 2 検体にメチル化が認められた。以上の結果から、p16 蛋白の発現消失の原

因が、*P16* 遺伝子のホモ接合性欠失およびメチル化であることが示唆された。

(4) 予後解析

全 30 症例の予後を解析した。全生存期間の中央値 (MST) は 9.6 ヶ月であった。p16 蛋白の発現の有無と予後の関係を調べたところ、サンプルが小さいにも関わらず p16 陰性症例 (MST 8.4 ヶ月) は p16 陽性症例 (MST 12.7 ヶ月) に比較して有意に予後が不良であった ($p=0.040$) (図 1)。

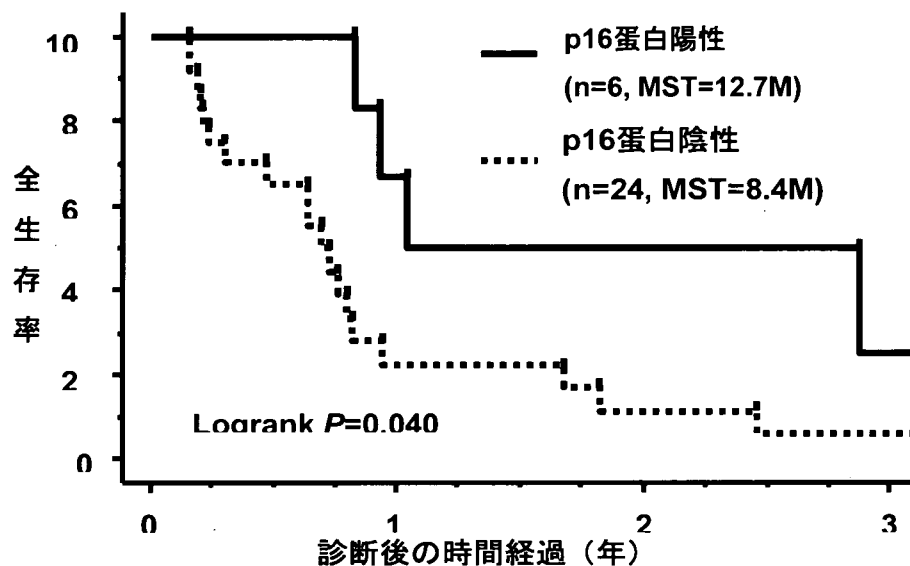


図 1. p16 蛋白発現と生存率

【考察】

今回の研究では、日本人胸膜中皮腫において p16 蛋白の発現消失の頻度が高いことが明らかになった。主な原因は *P16* 遺伝子のホモ接合性欠失であるが、その他に *P16* 遺伝子のメチル化も原因の一つであった。組織学的には、*P16* 遺伝子のホモ接合性欠失が、肉腫型 (100%) において上皮型・二相型 (62.5%) よりも高頻度に認められた。また症例数が少ないのにも関わらず、p16 蛋白の発現消失は統計学的に有意な予後不良因子であった。これらの結果は、欧米の報告に一致するものであった⁹⁻¹¹⁾。Illei らは、胸水中の胸膜中皮腫細胞と、反応性中皮細胞や他の悪性細胞の鑑別に、FISH assay による *P16* 遺伝子のホモ接合性欠失の検出が有用であったことを報告している¹²⁾。また、p16 蛋白の発現が胸膜中皮腫細胞の細胞周期の停止につながることから^{13, 14)}、*P16* 遺伝子を通じた治療法の開発が期待される。われわれの研究結果は、日本人胸膜中皮腫において *P16* 遺伝子が診断や治療につながる可能性を示すものであった。

【結論】

日本人胸膜中皮腫症例では p16 蛋白が高頻度に発現消失しており、*P16* 遺伝子のホモ接合性欠失とメチル化がその原因であった。また、p16 蛋白の発現消失は予後不良因子であった。

【文献】

- 1) Lee AY, Raz DJ, He B, Jablons DM. Update on the molecular biology of malignant mesothelioma. *Cancer* 109: 1454-61, 2007.

- 2) Cheng JQ, Jhanwar SC, Klein WM, Bell DW, Lee WC, Altomare DA, Nobori T, Olopade OI, Buckler AJ, Testa JR. p16 alterations and deletion mapping of 9p21-p22 in malignant mesothelioma. *Cancer Res* 54: 5547-51, 1994.
- 3) Prins JB, Williamson KA, Kamp MM, Van Hezik EJ, Van der Kwast TH, Hagemeyer A, Versnel MA. The gene for the cyclin-dependent-kinase-4 inhibitor, CDKN2A, is preferentially deleted in malignant mesothelioma. *Int J Cancer* 75: 649-53, 1998.
- 4) Illei PB, Rusch VW, Zakowski MF, Ladanyi M. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleural mesotheliomas. *Clin Cancer Res* 9: 2108-13, 2003.
- 5) Merlo A, Herman JG, Mao L, Lee DJ, Gabrielson E, Burger PC, Baylin SB, Sidransky D. 5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers. *Nat Med* 1: 686-92, 1995.
- 6) Toyooka S, Pass HI, Shivapurkar N, Fukuyama Y, Maruyama R, Toyooka KO, Gilcrease M, Farinas A, Minna JD, Gazdar AF. Aberrant methylation and simian virus 40 tag sequences in malignant mesothelioma. *Cancer Res* 61: 5727-30, 2001.
- 7) Wong L, Zhou J, Anderson D, Kratzke RA. Inactivation of p16INK4a expression in malignant mesothelioma by methylation. *Lung Cancer* 38: 131-6, 2002.
- 8) Destro A, Ceresoli GL, Baryshnikova E, Garassino I, Zucali PA, De Vincenzo F, Paolo B, Morengi E, Testori A, Alloisio M, Santoro A, Roncalli M. Gene methylation in pleural mesothelioma: Correlations with clinico-pathological features and patient's follow-up. *Lung Cancer* 2007 (in press).
- 9) Lopez-Rios F, Chuai S, Flores R, Shimizu S, Ohno T, Wakahara K, Illei PB, Hussain S, Krug L, Zakowski MF, Rusch V, Olshen AB, Ladanyi M. Global gene expression profiling of pleural mesotheliomas: overexpression of aurora kinases and P16/CDKN2A deletion as prognostic factors and critical evaluation of microarray-based prognostic prediction. *Cancer Res* 66: 2970-9, 2006.
- 10) Borczuk AC, Taub RN, Hesdorffer M, Hibshoosh H, Chabot JA, Keohan ML, Alsberry R, Alexis D, Powell CA. P16 loss and mitotic activity predict poor survival in patients with peritoneal malignant mesothelioma. *Clin Cancer Res* 11: 3303-8, 2005.
- 11) Ladanyi M. Implications of P16/CDKN2A deletion in pleural mesotheliomas. *Lung Cancer* 49 Suppl 1: S95-8, 2005.
- 12) Robinson BW, Musk AW, Lake RA. Malignant mesothelioma. *Lancet* 366: 397-408, 2005.
- 13) Frizelle SP, Grim J, Zhou J, Gupta P, Curiel DT, Geradts J, Kratzke RA. Re-expression of p16INK4a in mesothelioma cells results in cell cycle arrest, cell death, tumor suppression and tumor regression. *Oncogene* 16: 3087-95, 1998.
- 14) Piperno-Neumann S, Oudar O, Reynier P, Briane D, Cao A, Jaurand MC, Naejus R, Kraemer M, Breau JL, Taillandier E. Transfer into a mesothelioma cell line of tumor suppressor gene p16 by cholesterol-based cationic lipids. *Biochim Biophys Acta* 1611: 131-9, 2003.

(3) ヒト悪性胸膜中皮腫における HLA class I 発現、腫瘍内浸潤リンパ球および XAGE-1b 抗原発現と臨床病理学的因子の関連性に関する検討

山崎 浩一 大泉 聡史

【背景と目的】

HLA class I 分子はすべての有核細胞と血小板に存在し、感染したウイルスや癌抗原といった内在性抗原と結合して細胞障害性 T 細胞 (CD8 陽性 T 細胞) に提示し免疫反応を惹起する。癌細胞における HLA 分子の発現の低下・欠失は、癌細胞が免疫監視機構から逃避する機序の一つと考えられている。また XAGE-1b 抗原は Cancer / testis antigen の中のひとつである。Cancer / testis antigen は腫瘍の進行と発現に関連があり、転移のポテンシャルが高い腫瘍に発現し、また免疫原性があり、抗原の発現が腫瘍に極めて限局されていることから抗原特異的な腫瘍ワクチンとして応用されつつある。これまでヒト悪性胸膜中皮腫において HLA class I 発現、腫瘍内浸潤リンパ球および XAGE-1b 抗原発現については報告が少なく、今回はこれらの発現と臨床病理学的因子および予後との関連性について検討する。

【対象】

1993 年 5 月～2007 年 8 月の期間における国立病院機構山陽病院 19 症例(主に VATS 生検検体)、また岡山労災病院の 21 症例 (10 症例：手術検体、11 症例：剖検検体) について、HLA class I 発現、腫瘍内浸潤リンパ球 (CD4 陽性および CD8 陽性細胞) および XAGE-1b 抗原の発現を検討した。

【方法】

未染のパラフィン包埋切片を抗 HLA class I-A、B、C 抗体 (EMR8-5、Hokudo)、抗 CD8 抗体 (C8/144B、Dako)、抗 CD4 抗体 (1F6、Novocastra)、抗 CD56 抗体 (1B6、Novocastra)、抗 XAGE-1b 抗体 (USO-9-13) を用いて免疫組織化学染色を行った。HLA class I の発現程度、腫瘍内浸潤リンパ球 (CD4 陽性、CD8 陽性、NK 細胞) の評価、XAGE-1b 抗原の発現を評価し、臨床病理学的因子および予後との関連性を検討した。

【中間結果】

まず HLA class I 発現について、強陽性例が 27 例 (69.2%)、弱陽性例が 12 症例 (30.8%) であったが、陰性例を認めなかった (不适当例 1 例を除く)。HLA class I 発現の低下と臨床病期、組織型、生命予後との間に有意な関連はなかった。またリンパ球浸潤について、CD4 陽性リンパ球と CD8 陽性リンパ球の浸潤の程度に相関関係を認め、手術症例 (剖検検体をのぞく) において CD8T リンパ球の浸潤が強い群において予後が良い傾向にあった (Log-rank test、 $p = 0.054$)。なお XAGE-1b 抗原の発現例は認めなかった。

【考察】

以前の我々の報告では、肺癌においては約 3 分の 1 が HLA class I 陰性であった。肺癌に比べ

て中皮腫では陰性例がなく HLA 発現が保たれている可能性がある。また CD8 陽性リンパ球の浸潤が、予後に関連している可能性が示唆された。

【今後】

抗 CD56 抗体を使用して、さらに NK 細胞の浸潤程度を評価する予定である。

【文献】

- 1) Kikuchi E, Yamazaki K, Torigoe T, Cho Y, Miyamoto M, Oizumi S, Hommura F, Dosaka-Akita H, Nishimura M. HLA class I antigen expression is associated with a favorable prognosis in early stage non-small cell lung cancer. *Cancer Sci.* 2007 98(9):1424-30.

5. 石綿ばく露者に対する従来 HRCT と再構成 HRCT の所見描出能についての検討

加藤 勝也 松尾 恵太郎 岸本 卓巳 玄馬 顕一
青江 啓介 藤本 伸一 小崎 晋司

【はじめに】

High-resolution CT (HRCT)は、びまん性肺疾患の CT 診断に際して有用とされ広く用いられてきたが、他のびまん性肺疾患と同様に石綿関連の肺病変の診断においても有用とされている¹⁾。HRCT の定義は、簡単にまとめると①スライス厚を 2mm 以内とする ②高分解能アルゴリズムを用いる ③Field of view (FOV)は片肺に絞る ということになる²⁾。最近、多検出器型 CT (Multi detector-row CT; MDCT) が開発された。従来の CT は検出器が 1 列しかなく、1 回転当たり 1 枚の画像を作っていたのに対し、MDCT では頭尾方向に 4 列から 64 列と多数の検出器が並び、1 回転で多数の画像を撮ることができるようになった。これに伴い、従来通常の 7mm 厚から 10mm 厚程度で胸部全体を撮像した後に、追加して 1~2mm 厚の HRCT を 1 スライスずつ撮像していた(従来 HRCT)のに対し、胸部全体を多列の MDCT で撮像した Volume data から、再構成することで 0.5~2mm の HRCT を再構成する(再構成 HRCT)ことが可能となってきた。そのメリットとしては、1 回の撮像データから HRCT 像も得られることから、検査時間が短く、また追加の撮影による被爆がないことである。ただし、従来 HRCT と再構成 HRCT の描出能の比較については、まとまった検討がなく、従来 HRCT で得られた所見が再構成 HRCT で得られるのかどうか不明である。そこで今回我々は、石綿ばく露者を対象に、従来 HRCT 像と再構成 HRCT 像の両方を撮像し、その描出能について比較検討したので報告する。

【目的】

石綿ばく露者に対する胸部 CT において、従来 HRCT ならびに再構成 HRCT 間に①石綿肺に特徴的な所見を検出する上で相違があるか否か②固有の画像所見を検出する上での相違が存在するか否かの 2 点について検証する。

【対象と方法】

対象は石綿ばく露歴を有し、従来 HRCT 像と再構成 HRCT 像が同時に得られた 40 例 で、男性 36 名、女性 4 名で年齢は 38~88 才、平均 63 才である。

CT 撮像機種は東芝社製 Aquilion (32 列 MDCT)で、従来 HRCT、再構成 HRCT とともにスライス厚は 1mm、胸部 HRCT 用の高分解能アルゴリズムを用い、FOV は片肺に絞り適宜設定した。肺野条件のみで検討し、描画条件はウインドウレベル -550HU、ウインドウ幅 1500HU に設定した。

対象者の画像所見の評価のために、40 名の被験者(被験者 ID1-40)に対し、従来 HRCT と再構成 HRCT を同日に撮像し、それぞれフィルムに出力し読影実験を試行した。読影実験は下記 10 項目に関する画像所見を独立した 6 名(読影者 ID1-6)の読影者により、有り無しの二値データとして判定した。読影者の内訳はいずれも専門医資格を有する呼吸器内科医 5 名、放射線科診断医 1 名である。読影は、患者名や ID などのデータはすべて消去した状態でフィルムを作成し、従来 HRCT と再構成 HRCT を順不同に 80 枚(フィルム ID1-80)連続で行った。よって読影者は従来 HRCT、

再構成 HRCT のいずれを読影しているのか、また従来 HRCT、再構成 HRCT の読影結果についても知ることなく、80 枚を読影していることとなる。

検討項目は従来の石綿肺関連の HRCT 所見に関する報告を参考に^{3),4)}、以下の 10 項目とした(表 1)。Subpleural curvilinear opacity (図 1)、Subpleural dotlike opacity (図 2)、Subpleural branching opacity (図 1)、Fibrotic consolidation (図 3)、Emphysema、Honeycombing、Traction bronchiectasis、Mosaic attenuation (図 4)、Ground-glass opacity、Interlobular septal thickening(図 5)

表 1. HRCT 読影実験検討項目

• Subpleural curvilinear opacity	☆△
• Subpleural dotlike opacity	☆△
• Subpleural branching opacity	☆
• Fibrotic consolidation	☆△
• Emphysema	
• Honeycombing	☆△
• Traction bronchiectasis	☆△
• Mosaic attenuation	☆
• Ground-glass opacity	
• Interlobular septal thickening	

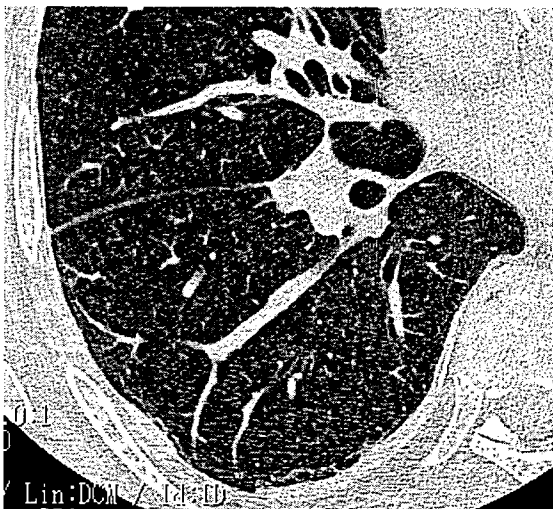


図 1. Subpleural curvilinear opacity,
Subpleural branching opacity

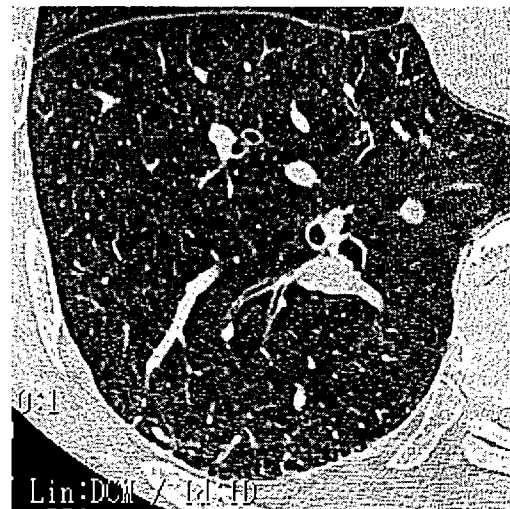


図 2. Subpleural dotlike opacity



図 3. Fibrotic consolidation



図 4. Mosaic attenuation



図 5. Interlobular septal thickening

統計解析は以下①、②のごとくに行った。個人差、読影者の個人差を考慮するため、上記 10 所見の有無を (0/1) とする。

① 石綿肺に固有な所見を表 1 における☆は石綿肺に特徴的とされる 7 所見、△はそのうち石綿肺により特異的と考えられる 5 所見と定義し、石綿肺スコア (1 所見があると 1 を加算) を算出し、従来 HRCT と再構成 HRCT 間で、個人差、読影者個人差、性、年齢を考慮した上で差が存在するか否かを、Generalized linear latent and mixed model を使用して検討する。従属変数を 2 種類のスコア、説明変数を再構成 HRCT 使用の有無 (無しの場合は従来 HRCT の意)、共変量を、性、年齢とし、被験者個人、読影者を nested cluster として扱った。説明変数に対する係数の有意差検定をもって判定を行う。 $p < 0.05$ の場合には、従来 HRCT と再構成 HRCT の間に差があると判定、 $p \geq 0.05$ の場合には有意差がないと判定する。

② 上記 10 所見の有無に関して、従来 HRCT と再構成 HRCT 間の相違が、各所見別に存在するか否

かを検討した。Generalized linear latent and mixed model を適応し、link function に logit 変換を用い、従属変数を所見の有無、説明変数を再構成 HRCT 使用の有無、共変量を、性、年齢とし、被験者個人、読影者を nested cluster として扱った。Generalized linear latent and mixed model にて評価が不可能な場合には、代替的に logistic model を用い、説明変数を再構成 HRCT 使用の有無、共変量を、性、年齢、読影者としたモデルで検証する。関連の指標は、オッズ比（係数による自然数の累乗）を用いる。いずれのモデルを用いた場合も、説明変数に対する係数の有意差検定をもって判定を行う。p<0.05 の場合には、従来 HRCT と再構成 HRCT の間に差があると判定、p≥0.05 の場合には有意差がないと判定する。

【結果】

① 表 1 の☆で示された 7 所見によるスコアで評価したモデルにおける、再構成 HRCT 使用に対する係数は-0.029762 (95% CI: -0.0223023~0.0163499), p=0.763 であった。これは従来 HRCT を用いても、再構成 CT を用いても、7 所見の有無に基づく石綿肺の診断においては、差がない、ということを示す。本モデルでは、被験者、測定者の誤差はモデル内で考慮されており、両者の差がないことが示された。表 1 の△で示される 5 所見に基づくスコアによるモデルでも、同様の結果で（係数-0.0091667 [95%CI: -0.0292856~0.0109523, p=0.372]あった。

② 結果を表 2 に示す。上記検討で用いられた 7 所見、5 所見に用いられている所見のうち、Subpleural dotlike opacity、Mosaic attenuation は、統計学的に有意に従来 HRCT と再構成 HRCT の間で差があることが示された。例えば Subpleural dotlike opacity は、再構成 HRCT では従来 HRCT よりも 0.45 倍陽性になりやすい、つまり 55%検出されにくい、という傾向を示した。Mosaic attenuation に関しては、反対に再構成 HRCT の方が 2.81 倍陽性となりやすいという傾向を示した。その他の石綿肺の判定に用いる所見に関しては、有意な差は認められなかった。従来 HRCT と再構成 HRCT には、各々の所見に対して長短があることが解析結果から示されたが、①の解析に示されるように、石綿肺の判定において、基本的にほぼ同等の能力があることが示されたと言える。

表 2. 所見別にみた、HRCT に対する Helical CT の陽性所見が得られる可能性の検討

(オッズ比表示)

所見	Odds			
	ratio	95%CI	p-value	Model
<u>Subpleural curvilinear opacity</u>	1.42	0.82-2.47	0.214	GLLAMM
<u>Subpleural dotlike opacity</u>	0.45	0.24-0.85	0.014	GLLAMM
<u>Subpleural branching opacity</u>	0.91	0.57-1.48	0.714	GLLAMM
<u>Fibrotic consolidation</u>	1	0.49-2.02	1	Logistic
Emphysema	3.14	1.29-7.64	0.011	GLLAMM
<u>Honeycombing</u>	1.26	0.58-2.71	0.559	Logistic
<u>Traction bronchiectasis</u>	0.69	0.35-1.38	0.296	Logistic
<u>Mosaic attenuation</u>	2.81	1.01-7.83	0.049	GLLAMM
Ground-glass opacity	1.99	0.97-4.08	0.062	GLLAMM
Irregular interlobular septal thickening	1.2	0.77-1.88	0.425	GLLAMM

下線は石綿肺に特徴的とされる 7 所見

太字は下線の所見のうち石綿肺により特異的と考えられる 5 所見

【まとめ】

石綿ばく露者 40 名に対し、従来 HRCT と再構成 HRCT を同時に試行し、その所見描出能の差異について読影実験を試行し、統計学的に分析検討した。個々の所見については、従来 HRCT、再構成 HRCT の間で若干の描出能の差があったが、石綿肺関連の HRCT 所見全体としての描出能の差異は認められなかった。

HRCT による石綿肺の評価において、従来 HRCT と再構成 HRCT の相違を科学的に検証した結果、両者に大きな差は認められないことが示された。

【文献】

- 1) 審良正則: アスベスト関連肺疾患の画像診断. 日本胸部臨床 65: 414-424, 2006.
- 2) 村田喜代史、高橋雅士、高桜竜太郎: HRCT の基礎と正常肺. 呼吸 19: 698-705, 2000.
- 3) Huuskonen O, Kivisaari L, Zitting. High-resolution computed tomography classification of lung fibrosis for patients with asbestos-related disease. Scand J Work Environ Health. 27:106-12, 2001.
- 4) Akira M, Yamamoto S, Inoue Y. High-resolution CT of asbestosis and idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Roentgenol. 181:163-9, 2003.

6. 石綿ばく露の基礎研究

(1) 石綿小体の計数についての検討

木下 博之

【目的】

これまで石綿は、重要な工業材料、あるいは建材や工業製品として大量に用いられてきた。そのばく露対策は、主として作業者の安全・健康確保の点からすすめられてきたが、一般環境中に飛散した石綿繊維のばく露にも注目が集まっている。平成 19 年度も前年度から検討を進めてきた法医剖検試料を用いた石綿ばく露に関する検討を継続して行った。

【方法】

兵庫県の阪神地区（芦屋市、西宮市、尼崎市、伊丹市、宝塚市、川西市、猪名川町）の全ての法医解剖を担当している兵庫医科大学法医学講座において、1983 年から 1987 年に行われた法医解剖例のうち、肺組織の保存されているホルマリン固定肺組織 187 例を用いた。また、1974 年から 1983 年の試料のうち、平成 18 年度の検討で検出下限値が 50 本以上であった試料 113 例についても再検討を行い、合計 300 例について検討を行った。なお保存されている組織は肺の一部のみであり、採取部位は一定していない。

試料の調製および石綿小体の計数は神山の方法¹⁾に従って行った。平成 18 年度は検出下限値（標本から仮に 1 本の石綿小体が検出された場合の肺乾燥重量 1g あたりの石綿小体数）を 50 本以下に設定したが、石綿小体を判断・計測する際のばらつきなども考慮し、本年度は検出下限値を 100 本以下に設定し直した。また、平成 18 年度の検討では 10 歳未満の小児例からは石綿小体がほとんど検出されなかったことから、10 歳未満の例は検討対象から除外した。なお本研究は兵庫医科大学倫理委員会の承認を得て行った。

【結果および考察】

対象とした 300 例の年齢性別分布は、男性 209 例（年齢 10 歳から 85 歳、平均：46.73±14.97 歳）、女性 91 例（年齢 11 歳から 86 歳、平均：50.14±19.21 歳）であった。年齢性別分布を図 1 に示す。

石綿小体の検出数を図 2 に示す。今回対象とした 300 例のうち、肺乾燥重量 1g あたり 101 本以上の石綿小体が観察された例は 78 例（26.0%；男性 60 例（28.7%）、女性 18 例（19.8%））であった。最も多く検出された例では、肺乾燥重量 1g あたり 60,000 本を超える石綿小体が観察され、職業ばく露があったと推定されるレベルであった。

図1. 300例の年齢性別分布

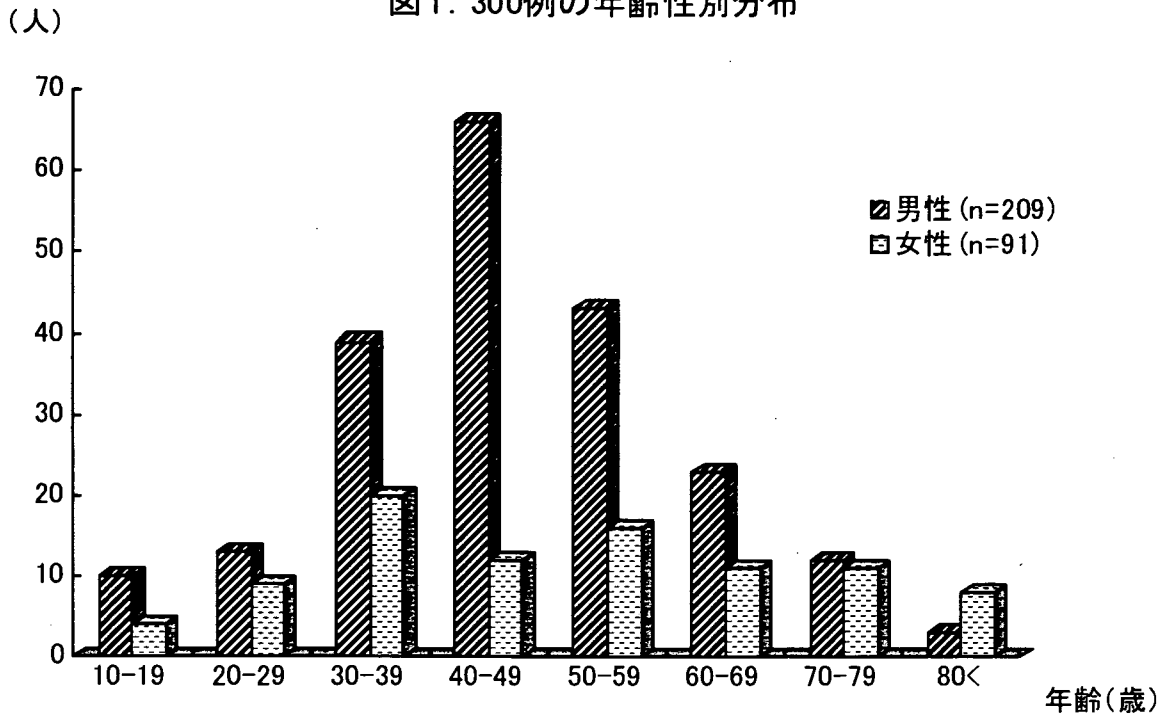
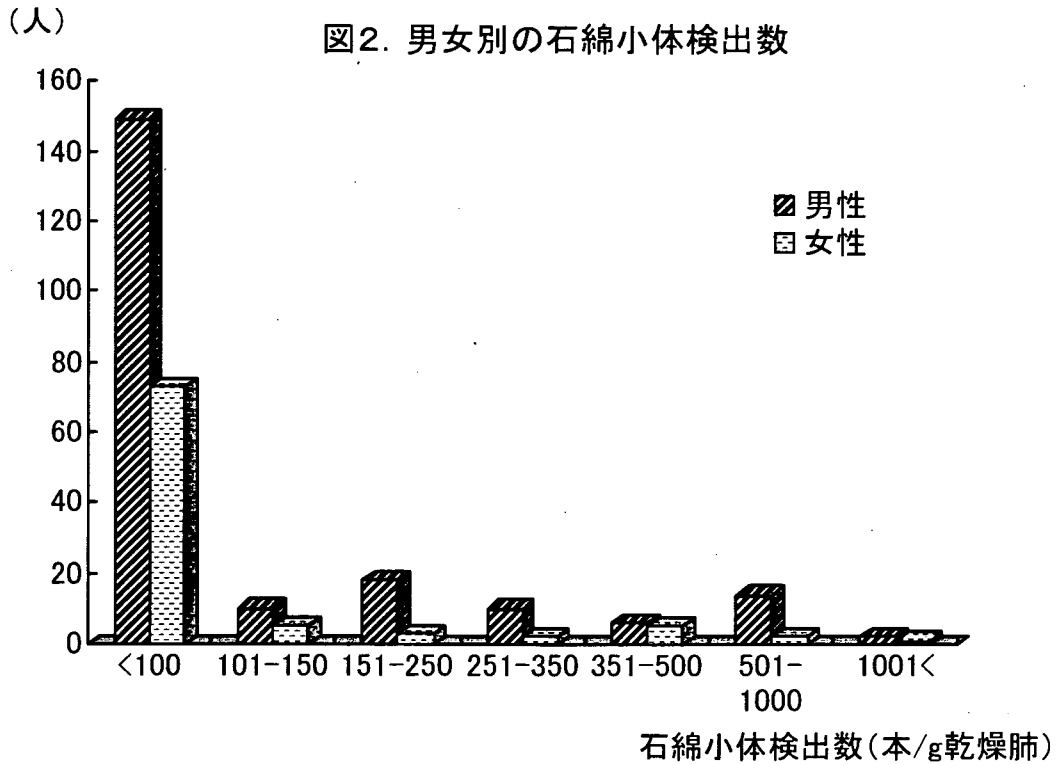


図2. 男女別の石綿小体検出数



年齢階級別にみた 101 本以上の石綿小体検出例の割合を図 3 に示す。男性では 40 歳代以降（男性；30 歳代：12.8%、40 歳代：28.7%、50 歳代：37.2%、60 歳代：39.1%、70 歳代：58.3%）で、女性では 60 歳代以降（女性；40 歳代：16.7%、50 歳代：18.8%、60 歳代：36.4%、70 歳代：36.4%）で比較的高率に 101 本以上の石綿小体が観察された。男女とも年齢の増加とともに 101 本以上の石綿小体が検出される割合が高くなる傾向がみられた。

図3a. 石綿小体検出例の割合(男性)

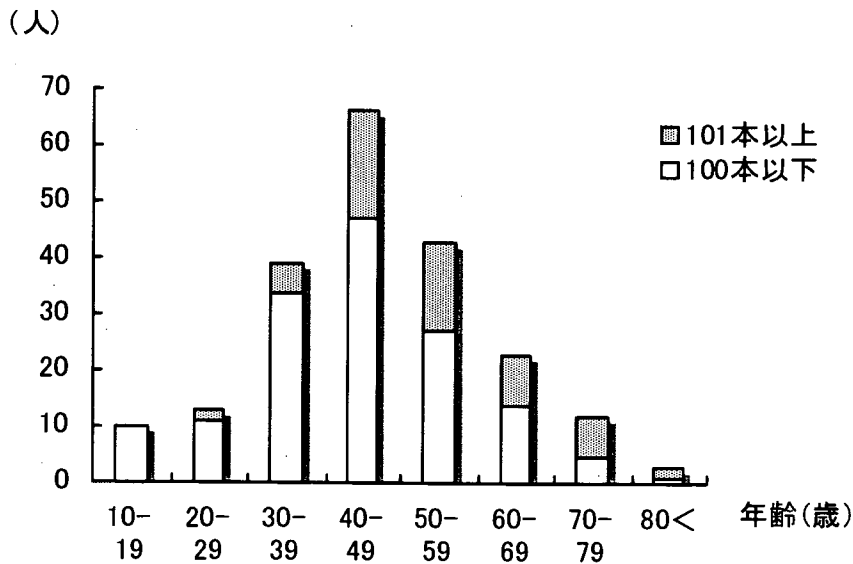
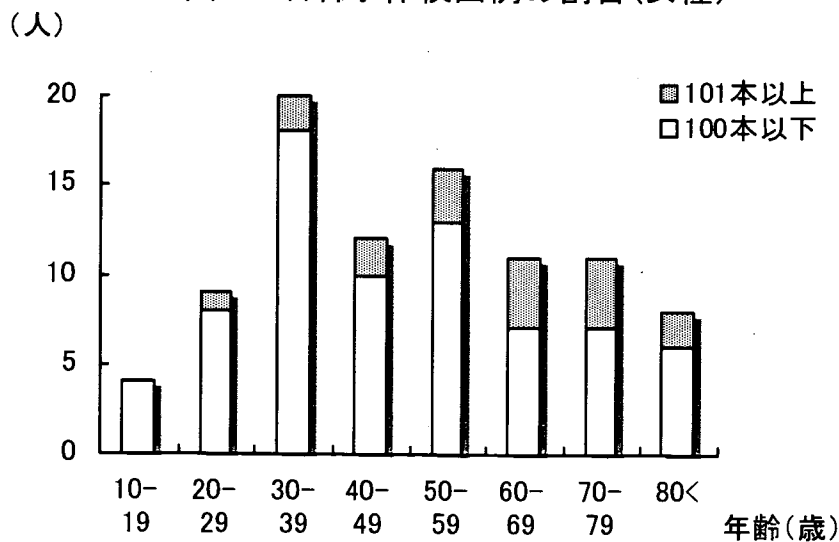
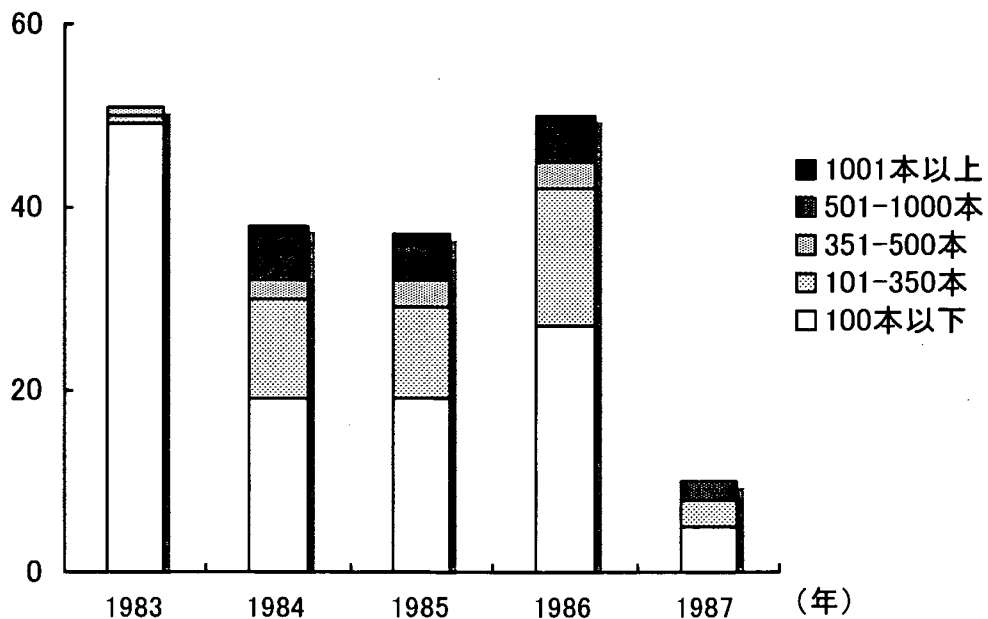


図3b. 石綿小体検出例の割合(女性)



(人)

図4. 年次別にみた石綿小体検出例



剖検年次別にみた石綿小体検出例の割合を図4に示す。

今回の検討では対象期間が短いため、経年的な推移を観察するのは困難であるが、きわめて低いレベルではあるものの、乾燥肺組織 1g あたり 101 本以上の石綿小体は比較的高い割合で検出された。

【まとめ】

肺組織からの石綿小体検出数は、年齢層が高くなるに従い増加する傾向がみられ、きわめて低いレベルではあるが、日常生活における石綿へのばく露が示唆される。発生源や由来を推定するために、今後は、電子顕微鏡や分散染色法も併用して石綿の種類を同定することも考慮する必要がある。

【参考文献】

1) 神山宣彦 病理と臨床 22(7) 667-674, 2004.

(2) 肺がん症例における肺内石綿小体数と石綿関連画像所見の検討

大西 一男

【目的】

石綿関連疾患の中でも肺がんは中皮腫と異なり、その診断は比較的容易ではあるが、背景に石綿ばく露があるか否かの判断は困難な場合が多く、肺内石綿小体数の計測が石綿ばく露の判断の一助とされている。肺内石綿小体数の計測は以前は肺湿重量 5g 当りで行われていた^{1)~4)}が、現在は乾燥肺重量 1g 当りの小体数が労災認定においても基準とされている⁵⁾。しかし、この乾燥肺 1g 当りの石綿小体数によって、現在の臨床肺がん例がどの程度の石綿ばく露なのかを明らかにした報告は比較的少ない^{6) 7) 8)}。一方、胸膜プラークや石綿肺の存在は石綿ばく露の根拠となるが、CT 画像を参照しても、なお石綿肺の診断は困難な症例が多い。また、石綿肺の早期所見とされる胸膜下曲線状陰影や胸膜下粒状影、胸膜下網状影などが注目されている^{9) 10)}が、これらと肺内石綿濃度との関連をみた報告はない。そこで、臨床肺がん症例と石綿ばく露が疑われる肺がん症例の肺内石綿小体濃度を乾燥肺重量法で計測すると共に、可能な症例では画像所見との関連を検討した。なお、本検討は神戸労災病院倫理委員会の承認を得て実施した。

【対象】

対象は臨床肺がん症例における肺内石綿小体数を計測する本研究のために、岡山労災病院、富山労災病院、神戸労災病院の肺がん剖検例、及び承諾の得られた肺がん手術例、男性 54 例、女性 15 例の計 69 例で、平均年齢は 73.3 ± 8.0 歳である。また、画像所見は検討できなかったが、職業性石綿ばく露の可能性が疑われる肺がん症例として、近隣他病院よりの依頼例 11 例(全例男性)、労働基準監督署よりの依頼例 27 例(男性 23 例、女性 4 例)、環境再生保全機構からの依頼例 33 例(男性 27 例、女性 6 例)、合計 71 例(男性 61 例、女性 10 例)を比較対照例としてあわせて検討した(表 1)。

【方法】

(1) 石綿小体の計測方法：神山らの方法^{11) 12)}に準じ、ホルマリン固定肺組織 1~2 g を用いて湿重量を測定した。次いで、110℃の乾燥機で肺組織を十分に乾燥させ、乾燥肺重量を計測した後、組織消化液 K-200 を用いて組織消化を行った。遠沈を 3 回繰返して洗浄後、上清を破棄し、沈渣を蒸留水で 50 ml に定容化した。この 50 ml 試料懸濁液から精密ピペットで 5 ml を採取し、セルローズエステル・メンブランフィルターを用いて吸引ろ過を行いフィルター上に試料を捕集した。フィルターを乾燥・半切し、アセトン蒸気を吹き付けて透明化の後、エンテランニューにて封入し、標本を作製した。位相差顕微鏡を用い、フィルター全面の石綿小体を計数後、1g 乾燥肺あたりの石綿小体濃度を計算した。計算式は、石綿小体濃度 (AB/g 乾燥肺) = 計測石綿小体数 ÷ (分取率 × 乾燥肺重量) を用いた。

(2) 胸部X線写真およびCTの読影：呼吸器科医3人が、他の情報を知らずに独立して、1cm厚のCT写真を、HRCTを参考とせずに、肺がん占拠部位の反対側肺野と胸膜所見を読影した。上、中、下肺野につき、最初は病変の程度を含めて読影し、後に各所見につき、有り無しに分類した。胸膜下病変は胸膜より1cm以内の病変とした。他の胸膜病変と離れ、プラークの特徴を有する病変はプラークと認識した。場合により病変の経時変化を比較して読影した。

(3) 職歴調査：労災病院の症例は入院時の職歴聴取および診療録記載の職業を利用し、他病院、労働基準監督署および環境再生保全機構よりの症例は依頼用紙に記載された職業とした。

石綿ばく露の観点から、これらの職業をばく露可能性が大きい、ばく露可能性が疑われる、可能性が少ないおよび不明・記載なしの4群に分類した。可能性大の職種には石綿製品製造や加工業、港湾荷役、配管作業、大工・建築業、溶接作業、造船・艀装作業、船員などが、また、可能性が疑われる職種には旧海軍、運送業・運転手、ゴム工場作業、機械製造・鉄工作業、耐火煉瓦製造業などが含まれていた。可能性が少ない職種としては警察官、会社員や公務員、教員、主婦、小売や飲食業、漁業、理髪業などがあった。

【結果】

(1) 臨床肺がんと依頼肺がんの職業分布 (表1)

臨床肺がん69例の内訳は男性54例、女性15例で、平均年齢は73.3 ± 8.0歳で、依頼肺がん71例は男性61例、女性10例、平均年齢は71.0 ± 7.4歳であった。職歴聴取上の石綿ばく露の可能性によって分類すると、臨床肺がんでは、可能性が大あるいは疑われるものが32%、可能性が少ないものが48%であるのに対して、依頼肺がんでは可能性が大あるいは疑われるものが70%、可能性が少ないものが6%であり、依頼肺がん群に職業性石綿ばく露が多く含まれていた。

表1. 対象となった臨床肺がんと依頼肺がんの職業分布

		臨床肺がん	依頼肺がん
症例数	男性	54	61
	女性	15	10
	合計	69	71
平均年齢		73.3 ± 8.0	71.0 ± 7.4
石綿	大	8	41
ばく露可能性	疑い	14	9
	小	33	4
	不明	14	17

(2) 肺内石綿小体数の分布 (図1, 図2)

肺内石綿小体数は臨床肺がんでは最高 39574 本、最小 0 本の間分布し、その大多数が 1000 本以下に連続性に分布した。1000~5000 本には 5 例が分布した。一方、依頼肺がんでは、小体数は 2366101 本から 0 本まで分布し、100000 本以上のもの 5 例、10000 本以上は 10 例に認められた。10000 本以下のカーブを見ると、8000~1000 本までほぼ切れ目なく連続性に分布しており、1000 本以下でも連続性は途切れていなかった。

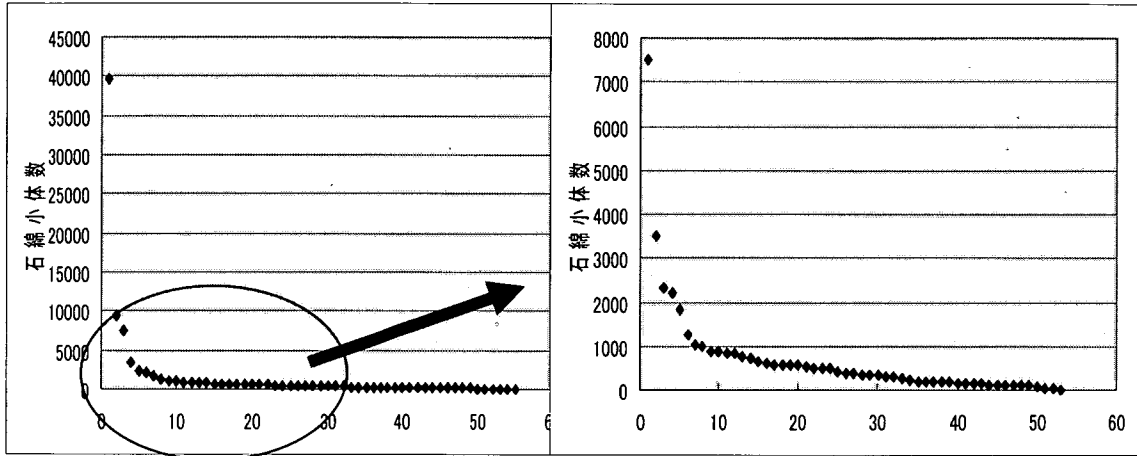


図1. 臨床肺がんにおける肺内石綿小体数の分布 (右は 10000 本以下の拡大を示す)

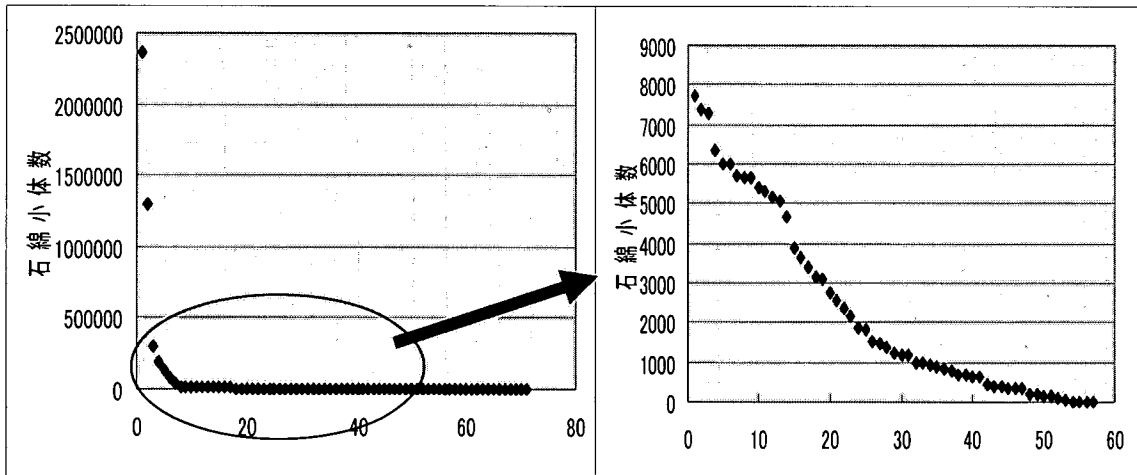


図2. 依頼肺がんにおける肺内石綿小体数の分布 (右は 10000 本以下の拡大を示す)

(3) ばく露可能性別肺内石綿小体数の分布 (表2)

乾燥肺 1g 当りの石綿小体濃度を 1000 本以下、1000~5000 本、5000 本以上に分類し、ばく露可能性別に検討した。

臨床肺がん 69 例中 5000 本以上の小体は 5 例 (7.2 %) に認められたが、53 例 (76.8 %) では小体数は 1000 本以下であった。職歴聴取上、石綿ばく露が疑われるか、または可能性大と考えられた 22 例では 5000 本以上は 3 例のみで 16 例は 1000 本以下であった。5000 本

以上の石綿小体を認めた職歴不明の2例については再度の調査にもかかわらず、職業性石綿ばく露歴は確認できなかった。また、1000～5000本の範囲には全体の15.9%に当たる11例が分布した。

一方、依頼肺がんでは71例中27例(38.0%)に5000本以上の小体が認められたが、26例(36.6%)で1000本以下であった。また、ばく露の可能性が大および可能性有りとなされた50例中22例が5000本以上であり、少ないと考えられた4例では全例が1000本以下であった。1000～5000本の範囲には全体の25.4%に当たる18例が分布した。これらの18例中13例はばく露が疑われた職種であった。また、臨床肺がん職歴不明14例中2例に、また、依頼肺がんの職歴不明17例中5例に5000本以上の高濃度ばく露が認められた。

表2. 臨床肺がんと依頼肺がんのばく露可能性別肺内石綿小体数の分布

対象	ばく露可能性	症例数	5000以上	1000～5000	1000以下
臨床肺がん	大	8	2	1	5
	疑い	14	1	2	11
	小	33	0	3	30
	不明	14	2	5	7
小計		69	5	11	53
依頼肺がん	大	41	22	8	11
	疑い	9	0	5	4
	小	4	0	0	4
	不明	17	5	5	7
小計		71	27	18	26

(4) 肺内石綿小体濃度と画像所見の関連 (表3)

胸部X線写真およびCT所見は画像を読影できた臨床肺がん69例について行った。胸膜プラークは石綿小体5000本以上の5例中1例に、1000本以上の16例中4例(25.0%)に、1000本未満の53例中2例(3.8%)に認められた。また、肺線維症を示す蜂巢肺所見は5000本以上の症例には認められず、5000本以下の64例に4例認められたが、円形無気肺やびまん性胸膜肥厚を呈した症例はなかった。胸膜下曲線状陰影類似の陰影は1000本未満に4例、1000～5000本未満に1例認められたが、5000本以上の症例には認められなかった。4例に認められた類似陰影は典型的な石綿肺初期の胸膜下曲線状陰影とやや異なっており、症例ごとにその経過や他の所見を参考に詳細に検討すると、一過性の陰影、蜂窩肺の周辺部、癌性肺リンパ管症と考えられるものなどが混じていた。

(5) 肺がんの組織型と肺内石綿小体濃度との関連 (表4)

69例全体では腺癌33例(47.8%)、扁平上皮癌25例(36.2%)であり、小細胞癌、大細胞癌が各々4例認められた。1000本以上のばく露では16例中9例(56.3%)が腺癌であり、