

写真14 上皮型中皮腫と鑑別すべき肺腺癌の胸膜浸潤の所見 (H&amp;E 染色、中拡大)

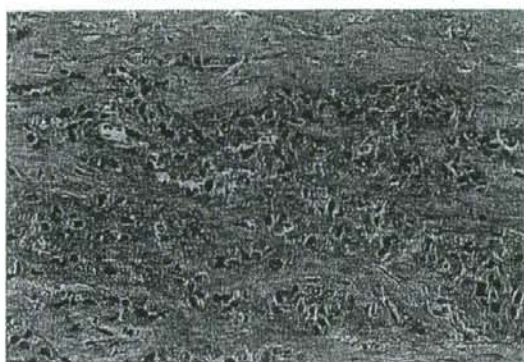
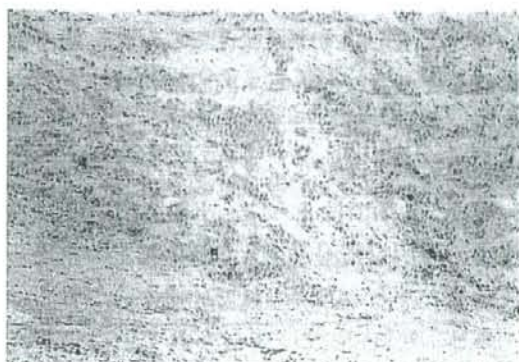


写真15 肺腺癌の CEA の免疫組織化学的所見



一部の腫瘍細胞の細胞質が陽性所見を示す。

#### 4 鑑別診断と免疫組織化学

##### (1) 上皮型中皮腫と肺腺癌との鑑別

前述したように、肺末梢に生じた腺癌が中皮腫様の拡がりを示すことは時に経験する。この場合、肉眼的には、肺内腫瘍の存在の有無を詳細に観察する必要がある。従来は、組織化学的染色によって間質及び腫瘍細胞の細胞膜・細胞質にヒアルロン酸にとむ酸性粘液多糖類をみることで、電子顕微鏡的観察によって、細胞表面に細く長い microvilli をみることが特徴とされてきた。Microvilli の長さとの幅の比 length-width ratio は肺の腺癌のみならず、他臓器からの転移性腺癌と比べても中皮腫では有意に大きいことが示されている。しかし、上記の所見は分化のよい中皮腫に限られることや、電子顕微鏡的観察には労力が必要で時間もかかることから、鑑別の方法として使われることは近年少なくなりつつある。

これに代って免疫組織化学的染色が頻用される。表6に示すように、中皮腫では calretinin (写真13a)、WT-1 (写真13b) が核において100% 近く陽性であり、D2-40 (写真13c)、thrombomodulin は、細胞膜に陽性である。一方、腺癌でのこれらの陽性度が低いことから、鑑別における有用性が高い。逆に、CEA (写真13d)、TTF-1は腺癌で陽性率が高く (写真14、15)、中皮腫では陽性率はきわめて低い。その他には EMA、mesothelin なども鑑別に用いられるが、両者の鑑別の点からみると有用性は低い。これらの所見をみる時、上皮型中皮腫でもその分化の程度を判断する必要がある。Calretinin は高分化上皮型では核につよく陽性を示すが、分化度が下るにつれて陽性細胞の割合は小さくなり、その陽性所見も明確でなくなる。従って、免疫組織化学的染色の所見のみに頼りすぎた診断にならないよう、留意すべきである。

##### (2) 肉腫型中皮腫と真の肉腫との鑑別

前述のごとく H&E 染色による組織所見のみでは真の肉腫との鑑別は難しい。表7のように、cytokeratin に対する抗体である CAM5.2 (写真16a) あるいは AE1/AE3及び WT1 が鑑別に有用である。Calretinin (写真16b) は上皮型ほど陽性細胞の割合は大きくない。真の

表7 肉腫型中皮腫と肉腫、肉腫様癌との鑑別に有用な免疫組織化学的所見 (参考文献<sup>27</sup>より改変)

腫瘍\陽性率	Pan-cytokeratin	Cytokeratin 5/6	Calretinin	WT-1	Thrombomodulin	Smooth-muscle-actin
上皮型中皮腫 (n=10)	100%	100%	100%	69%	81%	50%
肉腫型中皮腫 (N=20)	70%	0%	70%	10%	70%	60%
肉腫 (n=24)	17%	4%	17%	4%	38%	58%
肉腫様癌 (N=10)	90%	0%	60%	0%	40%	10%

肉腫では、それぞれの肉腫にH&E染色での組織所見のみならず、免疫組織化学的所見に特徴があるので、これらを証明できれば肉腫型中皮腫の陰性マーカーとする。例えば末梢神経鞘腫瘍 malignant nerve sheath tumor におけるS-100蛋白、筋原性腫瘍におけるdesmin、平滑筋肉腫におけるh-caldesmon、 $\alpha$ -SMA (smooth muscle actin)、横紋筋肉腫におけるMyoD1、myogeninなどである。しかし、これらの免疫組織化学的染色に用いるマーカーは、肉腫型中皮腫でも一部の例で限局性に陽性となることは心得ておくべきである。

一方、肉腫様変化を示す癌 sarcomatoid carcinoma との鑑別も重要である。肉腫様変化を示す癌では、当然cytokeratinに対する抗体であるCAM5.2、AE1/AE3は陽性となるので肉腫型中皮腫との鑑別にこれらを用いることができない。肉眼所見としては、肺内に原発したと考える腫瘍が存在するかが決め手であり、全体像をみることができず小さな生検材料<sup>26</sup>で判断を求められる場合は、画像所見などから肺内の腫瘍の存在を確認できれば肺癌である。すなわち、免疫組織化学的染色の結果に頼らない総合的判断が求められる。

### (3) 二相型中皮腫と他の二相性を示す腫瘍との鑑別

二相性を示す腫瘍の中で滑膜肉腫の特徴は、発生年齢が若いこと、限局性の腫瘍を作るこ

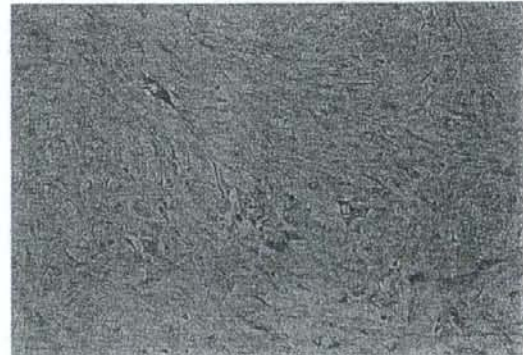
写真16 肉腫型中皮腫

a : CAM5.2の免疫組織化学的所見



びまん性に細胞質に陽性所見を示す。(強拡大)

b : calretininの免疫組織化学的所見



一部の核あるいは細胞質に陽性所見をみる。(強拡大)

とが多いこと、免疫組織化学的染色では上皮様部分は calretinin、EMA、cytokeratin 陽性を示し、肉腫様部分でも calretinin は部分的には陽性となる。従って免疫組織化学的染色では鑑別できない。最も決め手となるのは、染色体分析で X:18 転座をみることや、RT-PCR 法による SYT-SSX 融合遺伝子産物の検出である。<sup>27</sup> 肺芽腫では、上皮様部分は primitive な上皮であり、中皮細胞とは異なり、肉腫様部分も primitive な間質である。癌肉腫では、上皮様部分は多様な形態をとるが中皮細胞の特徴（例えば calretinin の陽性所見など）を示さないことが鑑別点となる。

#### (4) 中皮腫と中皮細胞の反応性増殖との鑑別

良悪性の鑑別は患者の治療の選択の上で最も重要な鑑別である。まず漿膜の中皮細胞の良性増殖あるいは過形成と上皮型中皮腫の鑑別では、胸膜の深部あるいは胸壁の脂肪組織などへの浸潤をみるのが中皮腫の診断の最もよい指標である。しかし、非腫瘍性の中皮細胞が滲出物の器質化の過程で肥厚した胸膜にとりこまれることもあり、浸潤の判断には注意を要する。線維性胸膜炎と線維形成型中皮腫の鑑別は最も難しい。炎症の場合は胸腔側で細胞密度が高くかつ細胞異型があり、胸壁側では細胞密度は低く膠原線維の量が多いという zonation（層状構造）を示すこと、また、胸膜表面に対して垂直で細長い毛細血管をみるのが特徴とされる（写真17）。<sup>28</sup> 免疫組織化学的染色では、反応性中皮細胞増殖では desmin の陽性率が高く（写真18）、EMA や p53 の陽性率が低いと報告されていることも鑑別診断に用いることができる。<sup>29</sup>

#### (5) 中皮腫と Localized fibrous tumor (LFT) との鑑別

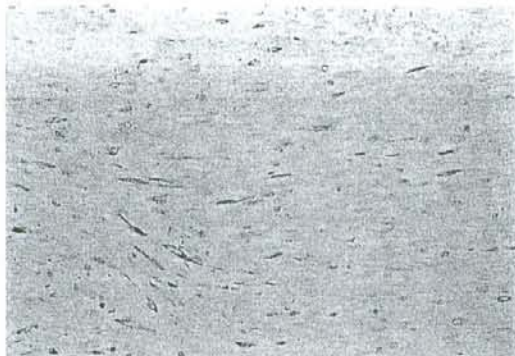
LFT は、石棉へのばく露と無関係に、性差を問わずどの年齢にも発生する。肉眼的には 2~40 cm（平均 6 cm）大の周囲との境界明瞭な比較的硬い腫瘤をつくる。多くは有茎性で、約 80% は臓側胸膜に付着する（写真19a）。肺実質内に発生することもある。断面の色調は

写真17 胸膜炎の組織像



胸腔側（図上）により細胞密度が高いという層状構造がみられ、垂直で細長い毛細血管をみる。（H&E 染色、中拡大）

写真18 胸膜炎における desmin の免疫組織化学的所見



増殖する紡錘形細胞は細胞質に陽性所見を示す。（強拡大）

写真19 localized fibrous tumor

a : 肉眼像



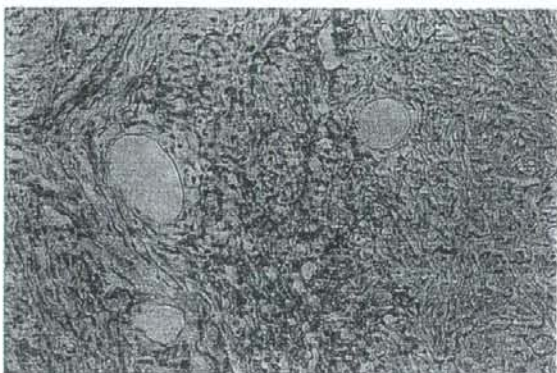
臓側胸膜に茎をもって付着する。

b : 組織像



紡錘形細胞の増殖は血管周皮腫に似た構造を示す。(H&amp;E染色、弱拡大)

c : 免疫組織化学的所見



CD34の陽性所見は中皮腫との鑑別に有用である。(中拡大)

灰白色あるいは一部で黄色で、出血を伴うこともある。組織学的には、紡錘形細胞の増殖からなるが、その細胞密度は部位によりことなる。配列は patternless pattern とよばれる特徴のない像を示すが、部分的には血管周皮腫様パターン pericy-

tomatous pattern、線維肉腫にみる herring-bone パターンなどを伴う (写真19b)。免疫組織化学的染色では、CD34が陽性であることが診断に有用である (写真19c)。この所見はLFTに特異的とはいえないが、中皮腫では全く陰性である。Cytokeratin、desmin、S-100蛋白は陰性である<sup>30</sup>。生物学的態度として多くは良性であるが、悪性の経過をとることもある。悪性例は、大きさが10 cm以上であり、組織学的に多くの核分裂像(4個以上/10HPF)、異型核分裂や細胞の多形性をみること、壊死をみることが報告されている。

## 5 分子生物学的所見

中皮腫の細胞株を用いた研究では、1、2、3、4、5、6、7、9、11、17、22番染色体において、欠失 deletion や転座 translocation が報告されているが、とくに核型分析によって、構造変化は1、3、9番染色体に多くみられ、break point は proximal 1p、3p、proximal 3p、9pに集中しているとされている。Comparative genomic hybridization (CGH) 法による解析では、遺伝子レベルの狭い範囲での loss や gain も報告されているが、

中皮腫に特異的な変化を示す領域は今のところ見いだされていない。Loss of heterozygosity (LOH) 解析では、癌抑制遺伝子の存在を示唆する shortest region が見出されているが、これまでのところ、いずれの region からも中皮腫に特異的な癌抑制遺伝子を見出すに至っていない。

WT1 (Wilms' tumor suppressor gene) は染色体11p13に存在する泌尿生殖器系組織に発現する転写因子であり、この不活性化は Wilms 腫瘍の発生と関連するといわれてきたが、ヒトの中皮腫でも WT1 の点突然変異あるいは欠失が認められている。<sup>31</sup> 腫瘍発生への関与については不明であるが、抗 WT1 モノクローナル抗体は、前述のごとく免疫組織化学的染色で肺腺癌との鑑別に用いられている。

SV40は rhesus monkey cell culture から分離されたウイルスであり、in vitro で細胞の transformation をおこす。このウイルスと腫瘍発生との関連は、その large T viral antigen (Tag) が RB 蛋白、p53蛋白と結合して、これらを不活性化することによると考えられる。また、実験的なハムスターの胸腔内への SV40の投与によって中皮腫が発生し、SV40の感染が中皮細胞のテロメラーゼ活性を促すと報告されている。<sup>32</sup> ヒトの中皮腫でもその47.6%に SV40-like DNA sequence が見いだされ、かつ SV40に汚染されたポリオウイルス、アデノウイルスのワクチンが1950年代、1960年代に使用されていたという事実もあって、SV40と中皮腫発生との関連性については今後も検討する必要がある。

近年、手法が確立されつつあるマイクロアレイを用いて、31例の中皮腫と150例の肺腺癌を比較した報告をみると、中皮腫では Calretinin、VAC- $\beta$ 、MRC OX-2、PTGIS、KIAA 0977の発現量が高く、腺癌では TACSTD1、claudin-7、TITF-1が高値を示した。Real-time quantitative RT-PCR を用いた遺伝子発現の研究では、4種類の遺伝子 (KIAA0977、GDIA1、the L6-related expressed sequence tag [EST]、cytosolic thyroid hormone-binding protein (CTHBP)) の発現によって、予後のよい群 (36ヶ月) と悪い群 (7ヶ月) を分けることができた<sup>33</sup>とされている。また、別の報告では、16遺伝子が up-regulated、26遺伝子が down-regulated であったと報告されている。Up-regulated gene には、糖代謝に関与する hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1)、qp96 (adenotin)、lung-related resistance protein (LRP)、galectin-3 binding protein、Mr 67,000 laminin receptor などが含まれている。<sup>34</sup>

以上のように分子・遺伝子レベルでの研究に関しては、腫瘍の発生機序の解明や、予後の推測因子あるいは分子標的治療のターゲットなどを特定できる状況ではなく、今後の多くの研究の積み重ねが求められる。

## 参考文献

- 1 Craighead JE (1982) 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
- 2 Consensus Report (1997), asbestos, asbestosis and cancer: the Helsinki criteria for diagnosis and attribution. *Scand J Work Environ Health* 23: 311-316
- 3 Hillerdal G, Henderson DW (1997) Asbestos, asbestosis, pleural plaques and lung cancer. *Scand J Work Environ Health* 23: 93-103
- 4 Mollo F, Magnani C, Bo P et al (2002) The attribution of lung cancers to asbestos exposure. A pathologic study of 924 unselected cases. *Am J Clin Pathol* 117: 90-95
- 5 立山義朗, 井内康輝, 米原修治他 (1993) アスベスト曝露と肺癌との相関—手術摘出肺を用いた病理学的検討 病理と臨床 11: 967-972
- 6 Hammar SP, Dodson RF (1993) Type and morphology of lung cancer associated with asbestos exposure. In *Pulmonary Pathology* (Dal, DH & Hammar, SP), pp 967-969
- 7 Karjalainen A, Anttila S, Heikkilä L et al (1993) Lobe of origin in lung cancer among asbestos-exposed patients with or without diffuse interstitial fibrosis. *Scand J Work Environ Health* 19: 102-107
- 8 岸槌健太郎 (1995) ヒト肺内に沈着するアスベスト繊維の分析—殊に肺癌、悪性中皮腫発生との相関 広大医誌 43: 279-296
- 9 Nelson HH, Wiencke JK, Gunn L et al (1998) Chromosome 3 p14 alterations in lung cancer: evidence that FHIT exon deletion is a target of tobacco carcinogens and asbestos. *Cancer Res* 58: 1804-1807
- 10 Nelson HH, Christiani DC, Wiencke JK et al (1999) K-ras mutation and occupational asbestos exposure in lung adenocarcinoma: asbestos-related cancer without asbestosis. *Cancer Res* 59: 4570-4573
- 11 北川正信 (1992) 中皮組織の腫瘍、現代病理学大系20、軟部組織、中山書店、東京、253-277
- 12 England DM, Hochholzer L, McCarthy MJ (1989) Localized benign and malignant fibrous tumor of the pleura. *Am J Surg Pathol* 13: 640-658
- 13 Koss MN, Fleming M, Przygodzki RM (1998) Adenocarcinoma simulating mesothelioma: a clinicopathological and immunohistochemical study of 29 cases. *Ann Diag Pathol* 2: 93-102, 1998.
- 14 村上知之, 亀井敏昭, 井内康輝 (2004) 心膜・腹膜および精巣鞘膜発生の中皮腫, 病理と臨床 22: 701-707, 2004
- 15 World Health Organization (1999) *Histological typing of lung and pleural tumours*, Third Edition, Springer, Geneva, 51-54
- 16 日本肺癌学会 (2003) 臨床・病理肺癌取扱い規約、改訂第6版、金原出版、東京、109-156
- 17 Galateau-Salle F, Abdalsamad I, Brambilla E (2000) Interobserver variability in the diagnosis of malignant mesothelioma: preliminary experience of the French Mesothelioma Panel (Mesopath Group) of the National Mesothelioma Survey Program (PNSM), 1998, *Mod Pathol* 13: 209
- 18 Cantin R, Al-Jabi M, McCaughey WTE (1982) Desmoplastic diffuse mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 6: 215-222
- 19 Henderson DW, Attwood HD, Constance TJ et al (1988) Lymphohistocytoid mesothelioma: a rare lymphomatoid variant of predominantly sarcomatoid mesothelioma. *Ultras Pathol* 12: 367-384
- 20 Shanks JH, Harris M, Banerjee SS et al (2000) Mesotheliomas with deciduoid morphology — a morphologic spectrum and a variant not confined to young females. *Am J Surg Pathol* 24: 285-

- 21 Sawh RN, Malpica A, Deavers MT et al (2003) Benign cystic mesothelioma of the peritoneum : a clinicopathologic study of 17 cases and immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptor status. *Hum Pathol* 34 : 369-374
- 22 Mayall FG, Gibbs AR (1992) The histology and immunohistochemistry of small cell mesothelioma. *Histopathology* 20 : 47-51
- 23 Galateau-Salle F, Vignaud JM, Burke L et al (2004) Well-differentiated papillary mesothelioma of the pleura-a series of 24 cases. *Am J Surg Pathol* 28 : 534-540
- 24 小武家俊博、米原修治、井内康輝 他 (1987) 悪性中皮腫、とくに肉腫型の診断ならびに上皮型中皮腫と腺癌との鑑別 病理と臨床 5 : 1290-1299
- 25 Kushitani K, Takeshima Y, Amatya VJ et al. Immunohistochemical marker panels for distinguishing between epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Pathol Inter* 2007 ; 57 : 190-199.
- 26 Kushitani K, Takeshima Y, Amatya VJ et al. Differential diagnosis of sarcomatoid mesothelioma from sarcoma and sarcomatoid carcinoma using immunohistochemistry. *Pathol Inter* 2007 (in press)
- 27 Aubry MC, Bridge JA, Wickert R et al.(2001) Primary monophasic synovial sarcoma of the pleura. *Am J Surg Pathol* 25 : 776-781
- 28 US-Canadian Mesothelioma Reference Panel (2000) The Separation of benign and malignant mesothelioma proliferations. *Am J Surg Pathol* 24 : 1183-1200
- 29 Attanoos RL, Griffin A, Gibbs AR (2003) The use of immunohistochemistry in distinguishing reactive from neoplastic mesothelium. A novel use for desmin and comparative evaluation with epithelial membrane antigen, p53, platelet-derived growth factor-receptor, p-glycoprotein and bcl-2. *Histopathology* 43 : 231-238
- 30 武島幸男、井内康輝 (2004) 胸膜の Localized (solitary) fibrous tumor の病理 病理と臨床 22 : 708-712
- 31 Park S, Schalling M, Bernard A (1993) The Wilms tumours gene WT 1 is expressed in murine mesoderm-derived tissues and mutated in a human mesothelioma. *Nat Genet* 4 : 415-420
- 32 Foddis R, De Rienzo A, Broccoli D (2002) SV40 infection induces telomerase activity in human mesothelial cells. *Oncogene* 21 : 1434-1442
- 33 Gordon GJ, Jensen RV, Hsiao LL (2002) Translation of microarray data into clinically relevant cancer diagnostic tests using gene expression ratios in lung cancer and mesothelioma. *Cancer Res* 62 : 4963-4967
- 34 Singhal S, Wiewrodt R, Malden LD (2003) Gene expression profiling of malignant mesothelioma. *Clin Cancer Res* 9 : 3080-3097

【MOOK 肺癌の臨床 2008-2009】

中皮細胞増殖の良・悪性の病理組織学的鑑別診断

櫛谷 桂 武島幸男 井内康輝

株式会社 篠原出版新社



# 診断・治療 [中皮腫・胸膜, 縦隔腫瘍]

## 中皮細胞増殖の良・悪性の病理組織学的鑑別診断

榑谷 桂, 武島 幸男, 井内 康輝

### はじめに

中皮腫は、わが国においてはまれな腫瘍であったが近年増加傾向にあり、さらに今後急激な患者の増加が予想されている<sup>1)</sup>。これに伴い病理医が中皮腫の病理組織学的診断を行う機会も増加すると考えられるが、症例数が少なく、個々の施設における経験が限られるため、診断の方法や精度は施設間、病理医間で格差が大きく、従来行われてきた中皮腫の病理診断の約10%程度は誤診の可能性がある<sup>2)</sup>とされる。

中皮腫の病理組織学的鑑別診断の対象となる疾患は多岐にわたるが<sup>3)</sup>、多くはヘマトキシリン・エオジン(HE)染色標本における形態像の観察に免疫組織化学的染色の結果を加味することによって鑑別診断がなされる。これらのうち、最も頻度が高い胸膜上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別に関しては、過去に多くの研究があり、免疫組織化学的染色による鑑別診断の方法に関するコンセンサスが形成されつつあるが<sup>4)</sup>、その他の鑑別診断に関してはいまだ十分な検討がされておらず、一定の見解を得るに至っていない。

本稿では、中皮腫の病理組織学的鑑別診断の中でも治療の選択にかかわることから最も慎重でなければならないにもかかわらず、いまだその病理組織学的鑑別診断に関するコンセンサスが得られていない非腫瘍性胸膜病変との鑑別に関して、現在診断に有用と考えられている所見と鑑別の方法について述べてみたい。

### 1 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別

近年、胸腔鏡による診断が積極的に行われるようになり、中皮腫の早期像あるいは初期像が病理学的に診断される機会が少しずつ増えつつある。しかし、切除されたブラの周囲や胸膜プラークを含む限局性の胸膜線維化巣の表層などにおいても中皮細胞の増殖をみることがあるため、胸膜の表層部分のみに中皮細胞の増殖を認める場合、これを腫瘍性とするか否かは判断が難しくなる。

炎症を伴ったブラなどの胸膜表面に立方状ないし低円柱状に腫大した中皮細胞がしばしば観察されるが、多くの場合これらの中皮細胞は単層で、乳頭状構造や間質への浸潤を疑わせる所見はない。このような病変はsimple mesothelial hyperplasiaと呼ばれ<sup>5)</sup>、中皮腫との鑑別が問題となることはない。しかし、中皮細胞の重層化した増殖や、胸膜表面に限局して存在しても個々の細胞に高度の細胞異型性を認める場合があり、炎症によって反応性に腫大・増生した非腫瘍性中皮細胞なのか、上皮型中皮腫の初期像(mesothelioma-in-situ)なのかの鑑別が問題となる。また、肥厚した臓側胸膜あるいは壁側胸膜表層において、中皮細胞からなる小腺腔様構造を膠原線維性組織中に認める場合、繰り返された炎症によって取り込まれた非腫瘍性中皮細胞なのか上皮型中皮腫の初期浸潤像なのか鑑別しなければならない。また、細胞異型性が低いが、中皮細胞が乳頭状増殖像を示す場合は、高分化型乳頭状中皮腫(well differentiated papillary mesothelioma)と反応性中皮細胞過形成の鑑別が必要となる<sup>5)</sup>。高分化型乳頭状中皮腫の乳頭構造は、小血管の増生を伴った線維性間質の表層を1層の均一な立方状の中皮細胞が被覆し、中皮細胞の異型は軽度であり、原則として浸潤性増殖は認めないとされるが<sup>6)</sup>、実際の切片上では判断に迷う例も少なくない。中皮細胞増殖が腫瘍性であるか否かは、基本的には図1に示すように浸潤の深さで決めることが奨められ

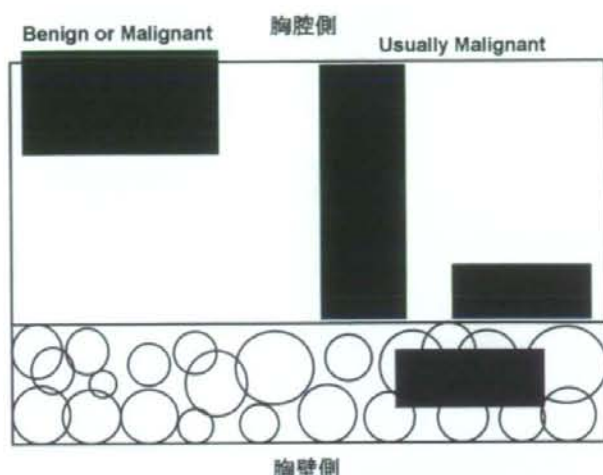


図1 肥厚した胸膜における中皮細胞の分布による良悪性の鑑別

(文献4, p1185より引用・改変)

ているが<sup>27)</sup>、この立場は一般的に浸潤のない病変は悪性腫瘍としないという見解に基づいている。こうした場合は異型性のある中皮細胞の増殖を“atypical mesothelial proliferation”として良悪性の判定を避ける傾向にある<sup>5)</sup>。非腫瘍性中皮細胞が胸膜組織内に存在する場合は、繰り返された胸膜炎においては明瞭な層形成 (zonation) を伴った線維性あるいは器質化胸膜炎の像が観察されることが多いため、これを見い出して胸膜炎であることを確認することが有用である。小さな生検材料しか病理診断に提供されない場合は上記のような浸潤や炎症の存在の判断も不可能となるので、臨床医が生検を行う際には、できる限り量を多く、かつ胸膜の全層を含む組織を採取することを願いたい。

これまで、反応性中皮細胞過形成と上皮型中皮腫の鑑別のために免疫組織化学的染色を行った報告はいくつかある(表1)<sup>8-20)</sup>。Ramaelら<sup>8)</sup>、Kafiriら<sup>12)</sup>、Espositoら<sup>13)</sup>は、中皮腫では多くの症例がp53蛋白陽性であったのに対して、非腫瘍性中皮細胞はいずれもp53蛋白陰性であったと報告している。Curyら<sup>11)</sup>、Attanoosら<sup>15)</sup>、Wolanskiら<sup>16)</sup>は、中皮腫の多くがEMA (epithelial membrane antigen) 陽性であったのに対して、非腫瘍性中皮細胞ではEMA陽性の症例は少なかったと報告している。また、Attanoosら<sup>15)</sup>とScoones & Richman<sup>18)</sup>は、多くの中皮腫がdesmin陰性であったのに対して、非腫瘍性中皮細胞ではdesmin陽性を示す例が多かったと報告している。われわれも45例の上皮型中皮腫と31例の非腫瘍性中皮細胞について、desmin, EMA, p53蛋白, その他の抗体を用いて鑑別を試みたが(表2) (Data Not Published), これによると、正常中皮細胞ないし反応性中皮細胞過形成においてはdesminが陽性、EMAは陰性である一方(図2)、分化型上皮型中皮腫では多くの例でdesminは陰性であり、EMAが陽性(図3)である。p53蛋白は、われわれの検討においても、反応性中皮細胞過形成において過剰発現を示すことはほとんどなく、中皮腫であることを示唆する所見と考えられる。しかし、中皮腫における陽性率は30%未満にとどまることから、陽性マーカーとしては感度が低く、陽性でない例を中皮腫でないとすることができない点が難点である。また、MUC-1, Ki-67も中皮腫の陽性マーカーとしての有用性が示唆されるが、感度、特異度の面でEMA, desminに劣る。

結論として、EMA, p53, desminの所見を良悪性の鑑別に使うことに否定的な見解を述べる報告もあるが<sup>9)</sup>、参考所見として使うことには有用性が認められる<sup>21)</sup>。また最近、胸膜中皮腫と非腫瘍性中皮細胞の鑑別における有用性が期待される新たな抗体としてGLUT-1などが報告されており<sup>22)</sup>、今後のさらなる有用性の高いマーカーの検討が待たれる。

表 1 免疫組織化学的染色による上皮型中皮腫と非腫瘍性中皮細胞の鑑別に関する報告例

マーカー	報告者	陽性率	
		上皮型中皮腫	非腫瘍性中皮細胞
p53	Ramael <sup>7)</sup>	25/33(75.8%)	0/40(0%)
	Mayall <sup>8)</sup>	19/35(54.3%)	0/20(0%)
	Cagle <sup>9)</sup>	19/40(47.5%)*	0/13(0%)
	Cury <sup>10)</sup>	30/31(96.8%)*	13/20(65%)
	Kafiri <sup>11)</sup>	14/20(70%)*	0/20(0%)
	Esposito <sup>12)</sup>	30/35(85.7%)*	0/20(0%)
	Roberts <sup>13)</sup>	68/94(72.3%)	9/11(81.8%)
	Attanoos <sup>14)</sup>	27/60(45%)	0/40(0%)
EMA	Cury <sup>10)</sup>	30/31(96.8%)*	5/20(25%)
	Roberts <sup>13)</sup>	74/94(76.6%)	6/11(54.5%)
	Attanoos <sup>14)</sup>	48/60(80%)	8/40(20%)
	Wolanski <sup>15)</sup>	103/141(73.0%)*	0/73(0%)
Desmin	Attanoos <sup>14)</sup>	6/60(10%)	34/40(85%)
	Hurlimann <sup>16)</sup>	9/16(56.3%)*	—
	Scoones <sup>17)</sup>	4/27(14.8%)	8/10(80%)
Bcl-2	Cury <sup>10)</sup>	0/31(0%)*	0/20(0%)
	Attanoos <sup>14)</sup>	0/15(0%)	0/15(0%)
	Segers <sup>18)</sup>	5/62(80.6%)*	0/44(0%)
p170gp	Roberts <sup>13)</sup>	36/88(40.9%)	2/11(18.2%)
	Ramael <sup>19)</sup>	29/30(96.7%)	0/35(0%)

\* 中皮腫の組織亜型不明

表 2 上皮型中皮腫と非腫瘍性中皮細胞における各マーカーの陽性率

マーカー	分化型上皮型中皮腫	非腫瘍性中皮細胞
Calretinin	45/45(100%)	31/31(100%)
EMA	44/45(97.8%)	7/31(22.6%)
Desmin	7/45(15.6%)	29/31(93.5%)
MUC-1	43/45(95.6%)	11/31(35.5%)
p53	22/38(28.9%)	0/31(0%)
Ki-67	28/43(65.1%)	5/31(16.1%)

※括弧内は陽性率。p53, Ki-67は腫瘍全体の10%以上、それ以外は1%以上に陽性所見を認めるものを陽性とする。

## 2 線維形成型中皮腫と線維性あるいは器質化胸膜炎の鑑別

線維形成型中皮腫とは、腫瘍の50%以上の領域が肉芽様あるいは癩痕様の細胞密度の低い線維性結合組織からなり、一部に高い細胞密度や細胞異型性をみることで、胸膜外の脂肪組織や骨格筋組織あるいは肺への浸潤または壊死の存在などで示される悪性所見をみる例と定義されるが<sup>6)</sup>、一部の生検で診断が求められる場合、時間の経過した胸膜の炎症との鑑別が難しくなる。線維形成型中皮腫(図4)と線維化あるいは器質化胸膜炎(図5)の鑑別点は表3のようにあげられている<sup>7)</sup>、いわゆる“zonation”(層状構造)とは、図5

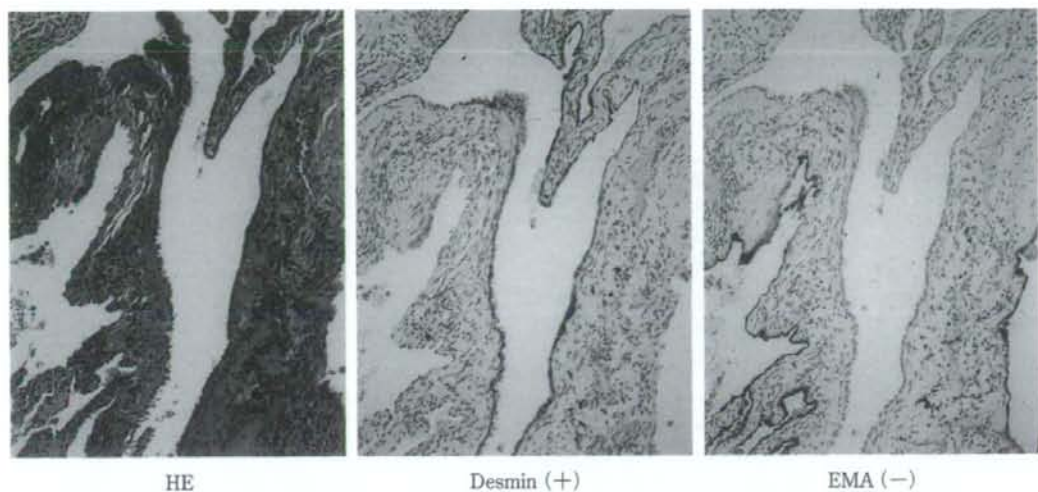


図2 反応性中皮細胞過形成の組織所見 (HE染色および免疫組織化学的染色)  
中皮細胞はdesminに陽性, EMAは陰性である。一方, 肺胞上皮細胞がEMAに陽性を示している。

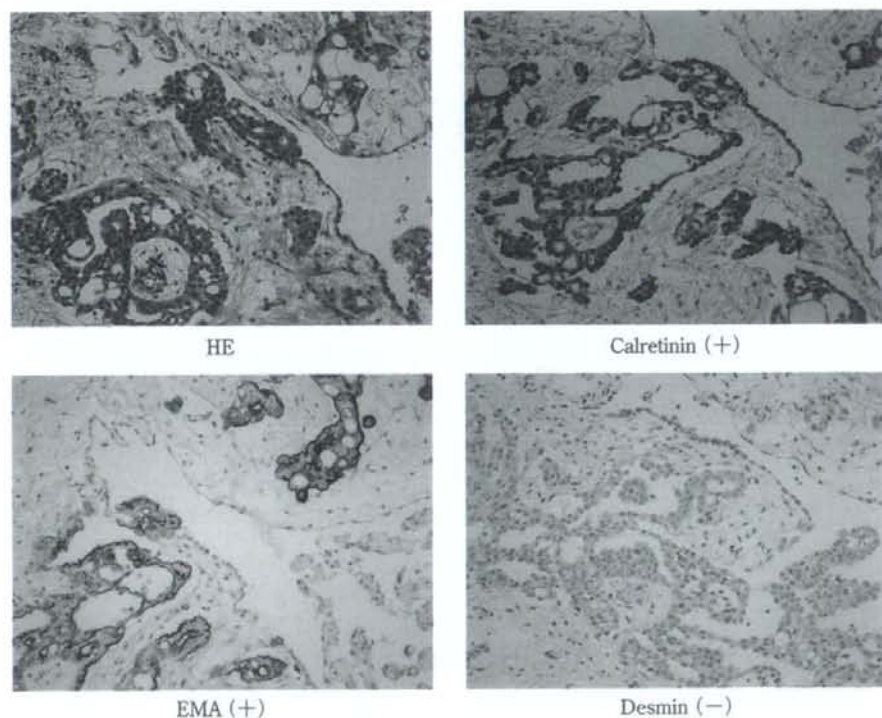


図3 上皮型中皮腫の組織所見 (HE染色および免疫組織化学的染色)  
腫瘍細胞はcalretinin, EMAに陽性, desminは陰性である。一方, 小型立  
方状~扁平な非腫瘍性中皮細胞がcalretinin, desminに陽性を示している。

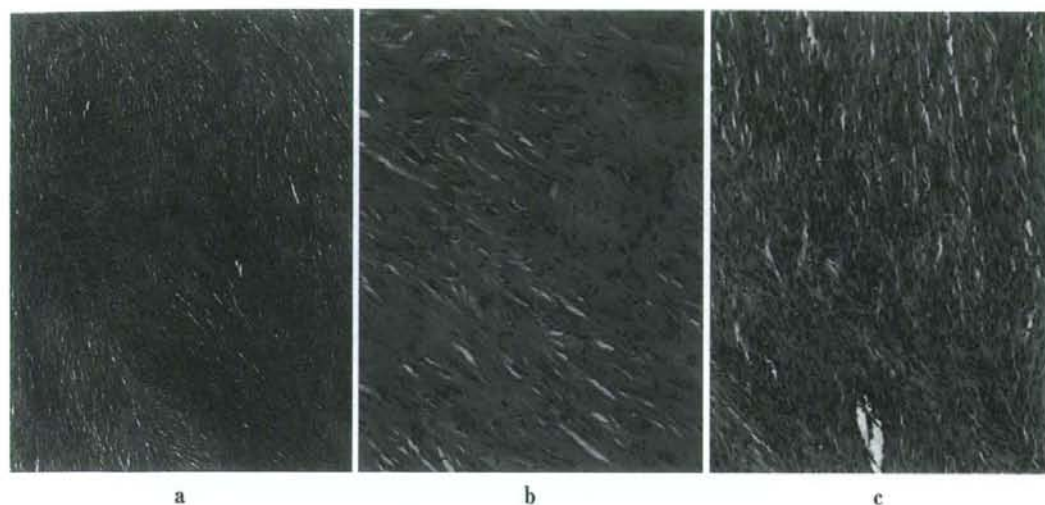


図4 線維形成型中皮腫の組織所見 (HE染色)

層形成はみられず (a), 瘢痕組織様の領域 (b) と細胞密度・細胞異型度の高い領域 (c) からなる。

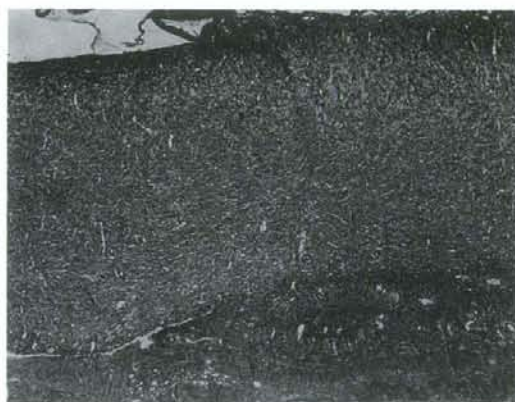


図5 線維性胸膜炎の組織所見 (HE染色)

胸腔側にはフィブリンの滲出を伴い、毛細血管の増生が目立つ肉芽組織様の像を経て膠原線維の増生が目立つ瘢痕組織様の像へ移行する層状構造 (“zonation”) を示す。胸膜表面に対し垂直方向に走行する毛細血管が目立つ。

に示すように、胸腔側にフィブリンの滲出を伴い毛細血管の増生が目立つ領域があり、胸壁側へ近づくに従って徐々に膠原線維が豊富になって細胞密度は低くなるという細胞密度の段階的変化のことである。表層側で増殖する毛細血管は、細長く胸膜に対し垂直方向に走行することが特徴であるとされる。脂肪組織、骨格筋などの間質への浸潤性増殖は悪性の根拠となるが、胸膜炎が胸壁軟部組織まで波及した場合、脂肪組織や骨格筋組織を取り込むように線維化が生じ、浸潤性増殖との鑑別が困難な場合もある。

小さな生検材料での診断を求められる場合、胸膜の全層が観察できないため、zonationや浸潤性増殖の有無が判断できず、診断に苦慮することが多い。また、悪性の根拠となる肉腫様所見も腫瘍の一部にしか

表3 線維性あるいは器質化胸膜炎と線維形成型中皮腫の鑑別点

線維性あるいは器質化胸膜炎	線維形成型中皮腫
細胞密度の段階的变化 ("zonation") あり 表層側→高い, 深部→低い	"zonation"を認めない
表層側の細胞は異型的である	異型性は低い
胸膜表面に対し垂直な毛細血管あり	毛細血管は目立たない
間質 (深部脂肪組織) への進展なし	間質への浸潤あり
壊死巣なし	壊死巣あり
肉腫様所見を示す部分なし	肉腫様所見を示す部分あり
間質 (深部脂肪組織) への結節状進展なし	間質への結節状進展あり

(文献5より引用・改変)

認められない場合があるので、小さい検体ではこの部分が採取されない可能性が高くなる。したがって、上皮型中皮腫と反応性中皮細胞過形成の鑑別で述べたと同様に、生検に際しては胸膜の全層が検体に含まれるような材料が採取されることが肝要である。

一般的には高度の細胞異型は悪性の根拠となるが、線維形成型中皮腫と線維性胸膜炎の鑑別においては必ずしもこの原則は当てはまらず、胸膜炎の表層にみられる紡錘形細胞が高度の炎症性異型を示し、中皮腫細胞は異型性が低く線維芽細胞様にみえる、という通常とは逆のパターンを示すことに注意する必要がある。この細胞異型のみで中皮腫の判断をすると大きな誤りをおかすことが多い。

免疫組織化学的染色による線維形成型中皮腫と線維性あるいは器質化胸膜炎の鑑別に関する報告は過去には少ない、Manganoらは、線維形成型中皮腫におけるp53蛋白陽性率は線維性胸膜炎より高かったものの、統計学的な有意差は認められなかったと報告している<sup>23)</sup>。また、Curyらは、14例の線維性胸膜炎のうち3例(21.4%)がp53蛋白陽性、6例(42.9%)がEMA陽性であり、bcl-2は全例が陰性であったと報告しており<sup>11)</sup>、Scoonesらは、線維性胸膜炎10例のうち9例がdesmin陽性を示したと報告している<sup>18)</sup>。しかし、これらの報告では、線維形成型中皮腫と線維性胸膜炎の間での各マーカーの陽性率の比較は行われておらず、これらのマーカーの鑑別診断における有用性は現時点では明確でない。

われわれの自験例における検討(Data Not Shown)では、線維性あるいは器質化胸膜炎では、表層近くに増殖する紡錘形細胞は中皮細胞マーカー(calretinin, WT1, D2-40など)およびcytokeratin(AE1/AE3, CAM5.2)に陽性を示し、中皮細胞の性格を示している。また、線維形成型中皮腫とは異なりdesminが陽性を示す。さらに $\alpha$ -smooth muscle actin(SMA)も陽性で、筋線維芽細胞myofibroblastの性格も併せ持つと考えられる(図6)。これは、中皮細胞は元来二相型の組織像、すなわち上皮細胞様性格と間葉系細胞様性格を示す能力があることを示唆している。一方、線維形成型中皮腫では、calretinin, cytokeratinは陽性であるが、desminは陰性(図7)である。Desminは上皮様の中皮細胞過形成と上皮型中皮腫の鑑別でも有用であったが、線維形成型中皮腫と線維性胸膜炎の鑑別においても有用であり、中皮細胞が腫瘍性か否かのよい指標と考えられる。

## まとめ

胸膜中皮腫と非腫瘍性胸膜病変の鑑別では、少量の生検材料による診断を行う際に胸膜の全層が観察できず、診断が困難となる場合が多い。生検を行う際には必ず胸膜の全層が検体に含まれるよう、可能な限り深く、十分な量の組織を採取することを改めて強調したい。免疫組織化学的染色ではdesmin, EMAなどが鑑別に有用であるが、これらの鑑別診断における役割は現時点では感度・特異度が低く、補助的なものにとどまるといわざるを得ない。今後、網羅的な遺伝子解析などの研究の進展によって胸膜中皮腫と非腫瘍性胸膜病変の鑑別に有用な方法が開発されることが期待される。

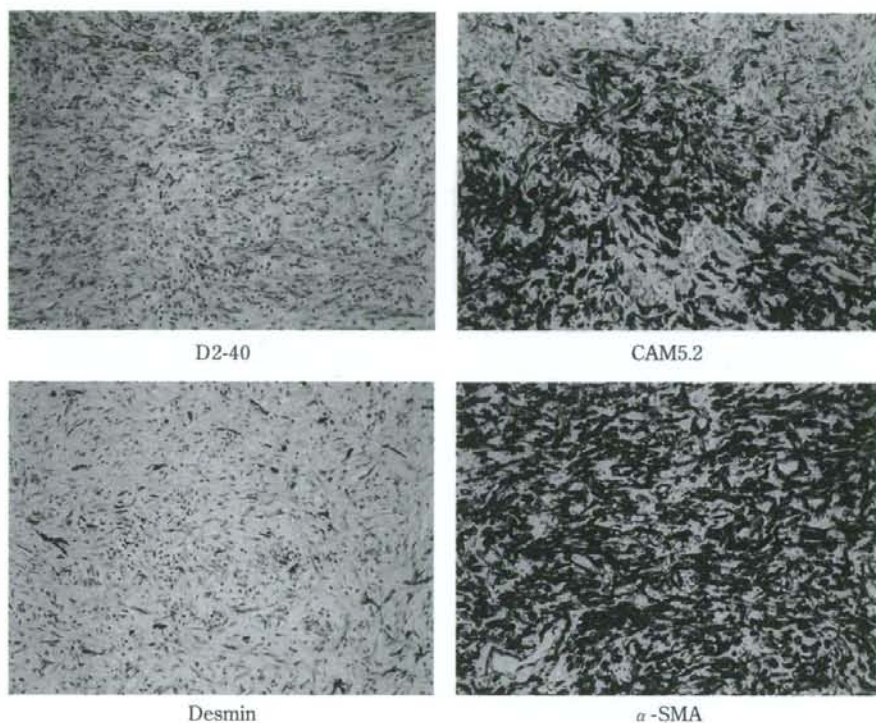


図6 線維性胸膜炎の組織所見 (免疫組織化学的染色)

増生する紡錘形細胞は中皮細胞系マーカーのD2-40, CAM5.2に加え, desmin,  $\alpha$ -SMAが陽性を示す。

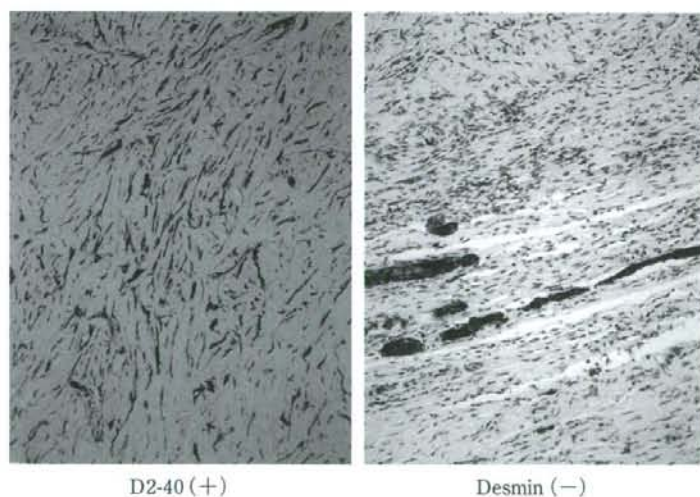


図7 線維形成型中皮腫の組織所見 (免疫組織化学的染色)

腫瘍細胞は中皮細胞系マーカーのD2-40に陽性を示したが, desminは陰性である。腫瘍の浸潤により巻き込まれた胸壁の骨格筋組織がdesminに陽性を示している。

## 文 献

- 1) 森永謙二：中皮腫の疫学、病理と臨床 22：660-666, 2004
- 2) 井内康輝：胸膜中皮腫の免疫組織化学的染色による確定診断, MOOK肺癌の臨床2007-2008, 篠原出版社, 東京, 263-273, 2007
- 3) 井内康輝, 武島幸男, 榎谷 桂：胸膜中皮腫の病理学的鑑別診断と免疫組織化学的染色の有用性, 胸膜中皮腫診療ハンドブック, 中外医学社, 東京, 100-110, 2007
- 4) Ordóñez NG. What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. *Hum Pathol* 38: 1-16, 2007
- 5) Churg A, Cagle PT, Roggli VL: Separation of benign and malignant mesothelial proliferations, AFIP Atlas of Tumor Pathology, Series 4, Tumors of the serosal membranes, Silver spring, AFIP Press, 83-102, 2006
- 6) Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, et al: World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, IARC Press, Lyon, 2004
- 7) Churg A, Colby TV, Cagle PT, et al: The separation of benign and malignant mesothelial proliferations. *Am J Surg Pathol* 24: 1183-1200, 2000
- 8) Ramael M, Lemmens G, Eerdekens C, et al: Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. *J Pathol* 168: 371-375, 1992
- 9) Mayall FG, Goddard H, Gibbs AR: p53 immunostaining in the distinction between benign and malignant mesothelial proliferations using formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 168: 377-381, 1992
- 10) Cagle P, Brown R, Lebovitz R: p53 immunostaining in the differentiation of reactive processes from malignancy in pleural biopsy specimens. *Hum Pathol* 25: 443-448, 1994
- 11) Cury P, Butcher D, Corrin B, Nicholson A: The use of histological and immunohistochemical markers to distinguish pleural malignant mesothelioma and in situ mesothelioma from reactive mesothelial hyperplasia and reactive pleural fibrosis. *J Pathol* 189: 251-257, 1999
- 12) Kafiri G, Thomas DM, Shepherd NA, et al: p53 expression is common in malignant mesothelioma. *Histopathology* 21: 331-334, 1992
- 13) Esposito V, Baldi A, De Luca A, et al: p53 immunostaining in differential diagnosis of pleural mesothelial proliferations. *Anticancer Res* 17: 733-736, 1997
- 14) Roberts F, Harper C, Downie I, et al: Immunohistochemical analysis still has a limited role in the diagnosis of malignant mesothelioma. A study of thirteen antibodies. *Am J Clin Pathol* 116: 253-262, 2001
- 15) Attanoos RL, Griffin A, Gibbs AR: The use of immunohistochemistry in distinguishing reactive from neoplastic mesothelium. A novel use for desmin and comparative evaluation with epithelial membrane antigen, p53, platelet-derived growth factor-receptor, P-glycoprotein and Bcl-2. *Histopathology* 43: 231-238, 2003
- 16) Wolanski KD, Whitaker D, Shilkin KB, et al: The use of epithelial membrane antigen and silver-stained nucleolar organizer regions testing in the differential diagnosis of mesothelioma from benign reactive mesothelioses. *Cancer* 82: 583-590, 1998
- 17) Hurlimann J: Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesothelioma. *Hum Pathol* 25: 753-757, 1994
- 18) Scoones D, Richman P: Expression of desmin and smooth muscle actin in mesothelial hyperplasia and mesothelioma. *J Pathol* 169s: 166A, 1993
- 19) Segers K, Ramael M, Singh SK, et al: Immunoreactivity for bcl-2 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. *Virchows Arch* 424: 631-634, 1994
- 20) Ramael M, van den Bossche J, Buysse C, et al: Immunoreactivity for P-170 glycoprotein in malignant mesothelioma and in non-neoplastic mesothelium of the pleura using the murine monoclonal antibody JSB-1. *J Pathol* 167: 5-8, 1992
- 21) International Mesothelioma Panel: Immunohistochemical findings in reactive versus neoplastic processes. Pathology of malignant mesothelioma, Springer, London, 145-147, 2006
- 22) Kato Y, Tsuta K, Seki K, et al: Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 20: 215-220, 2007
- 23) Mangano WE, Cagle PT, Churg A, et al: The diagnosis of desmoplastic malignant mesothelioma and its distinction from fibrous pleurisy. A histologic and immunohistochemical analysis of 31 cases including p53 immunostaining. *Am J Clin Pathol* 110: 191-199, 1998



【MOOK 肺癌の臨床 2008-2009】

## 中皮腫発生に関わるエピジェネティクス

河野秀和 Amatya Vishwa Jeet 武島幸男 井内康輝

株式会社 篠原出版新社

# 診断・治療 [中皮腫・胸膜, 縦隔腫瘍]

## 中皮腫発生に関わるエピジェネティクス

河野 秀和, Amatya Vishwa Jeet, 武島 幸男, 井内 康輝

### はじめに

中皮腫患者の大半はアスベストへの曝露歴を持つことから、中皮腫はアスベストによるがんとされているが、遺伝子レベルからみた発がんの機序については不明といわざるをえない。他のがんで明らかとなりつつある特異的な遺伝子の欠失や点突然変異が中皮腫においては少ない。すなわち、これまでの報告をみると、p16遺伝子のhomozygous deletionやNF2遺伝子の変異が見い出される率が高いものの、ras, p53, Rbなど他のがんにおいて高率に見い出される遺伝子異常は中皮腫ではきわめて低率である。したがってgeneticな異常についてはマイクロアレイ法などを用いた遺伝子発現の網羅的解析を行って、中皮腫の発生・増殖・進展に関わる特異的な変化を見出す必要があるが、加えてepigeneticな遺伝子発現の制御の立場からも検討することが重要と考えられる。

腫瘍において、epigeneticな遺伝子発現制御の立場からその異常を検討されている因子としては、DNAメチル化に関わる酵素、メチル化DNA結合蛋白質やヒストン蛋白質の修飾酵素などがある。しかしその他にも、クロマチンや染色体本来の機能が発揮されるためにはインスレーターやnon-coding RNAなどにより正確なタイミングでクロマチンの構造変換が起こる必要があることから、DNA、ヌクレオソーム、クロマチン、染色体というそれぞれの視点から染色体ゲノムの制御機構を把える必要性も指摘されている。

こうした知見を踏まえて本稿では、これまでに報告された中皮腫におけるepigeneticな異常、とくにDNAプロモーター領域の異常メチル化について焦点をあてて概説し、さらに、われわれの行った研究の成果も紹介したい。

### 1 DNAメチル化に関わる分子

DNAのメチル化による修飾は、遺伝子の塩基配列を変えることなく、すなわち、遺伝子のコードするアミノ酸配列情報を変えることなく、その発現を制御することができる<sup>1)</sup>。生じたメチル化は安定して次世代の細胞に受け継がれるが、一方でメチル化は、必要に応じてメチル基がはずされるという可塑性という特徴を持つ<sup>2)</sup>。

真核生物では一部の例外を除いて、DNAのシトシン塩基(C)の5位がメチル化修飾を受ける(図1)<sup>1)</sup>。動物では、脊椎動物への進化を遂げた際にゲノムの塩基配列が増加したが、時を同じくしてDNA中のシトシン塩基のメチル化の割合が増えたといわれる<sup>1)</sup>。脊椎動物では、シトシン塩基に次いでグアニン塩基のメチル化の程度が高く、マウスのゲノムでは、CpG配列の約80%がメチル化修飾を受けているといわれる。

メチル化の機序は、S-アデノシル-L-メチオニンからDNAメチルトランスフェラーゼの働きでメチル基が転移される<sup>1)</sup>。マウスのゲノムをみると、G+C含量が相対的に高い領域が島状に存在し、多くの場合、ハウスキーピング遺伝子のプロモーターとなり低メチル化状態にある。一般に、転写されている遺伝子のプロモーター領域は低メチル化状態にあり、不活性な遺伝子のプロモーター領域は高度にメチル化されている。プロモーター領域に存在する転写因子がメチル化されると、ほとんどの転写因子はDNAに結合できなくなる。また、メチル化されたDNAを特異的に認識して結合する蛋白質が存在し、このメチル化DNA結

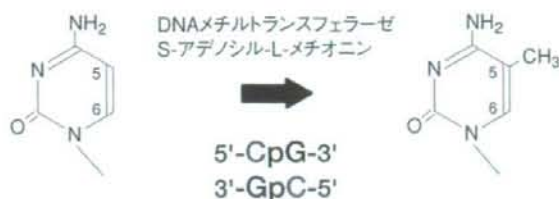


図1 シトシン塩基のメチル化修飾 (文献1より翻訳・転載)

真核生物のゲノムDNAは、シトシン塩基の5位の炭素はDNAメチルトランスフェラーゼの働きでメチル化修飾を受ける。脊椎動物ではメチル化修飾の標的塩基配列はCpGとなっている。

合蛋白質を介して転写が阻害されている場合がある<sup>2)</sup>。

メチル化の役割としては、DNAメチル化に先だって転写が抑制されることがしばしば観察されることから、遺伝子発現の抑制にDNAのメチル化は二次的なものであり、長期的に遺伝子をサイレンシングするための一種の記憶として機能していると考えられている<sup>2)</sup>。

## 2 がんにおける遺伝子のepigeneticな異常

がんにおけるepigeneticな異常には、DNAメチル化の異常、ヒストン修飾の異常、ゲノムインプリンティングの異常などがあげられる<sup>3)</sup>。DNAメチル化の異常としては、高メチル化状態と低メチル化状態があげられるが(表1)<sup>4)</sup>、高メチル化は遺伝子発現抑制に、低メチル化は遺伝子発現増加につながる。がんにおけるDNAメチル化異常の特徴としては、ゲノムワイドな低メチル化を示す一方、ある特定の遺伝子プロモーターのCpGアイランドにおける部分的な高メチル化がしばしば認められる。前者は染色体不安定性を引き起こすと考えられ<sup>5)</sup>、後者は高メチル化した遺伝子のmRNAへの転写を抑制することにより遺伝子の不活化を引き起こすとされる<sup>3)</sup>。

ヒストン修飾の異常としては、ヒストンの脱アセチル化、すなわちHistone deacetylase inhibitor (HDACI)により中皮腫細胞株のアポトーシスが誘導されることがよく検討されている<sup>6,7)</sup>。

ゲノムインプリンティングの異常とは、例えば、細胞増殖の促進に働くIGF2 (insulin-like growth factor) 遺伝子は、正常では父親由来のアレルのみが発現するが、本来発現しないはずの母親由来のアレルが活性化され、IGF2の発現量が増加することとなる。このようにインプリンティングを受けて本来は発現しないアレルからも遺伝子発現が起こり、両アレル性発現となることをインプリンティングの消失 (loss of imprinting: LOI) といい、Beckwith-Wiedemann症候群などのインプリンティング疾患に加え、ウイルムス腫瘍、大腸癌、肺癌、卵巣癌などさまざまな腫瘍でIGF2のLOIがみられる<sup>8)</sup>。

がんにおけるこうした異常はがん治療のターゲットとしても注目されている。高メチル化により不活化された遺伝子は、DNAメチル化阻害剤たとえば5-Aza-2'-deoxycytidineで遺伝子発現を正常に回復させることが可能であり、また、ヒストンの脱アセチル化についても、Histone deacetylase inhibitor (HDACI)により同様の効果が期待できる。この点が、geneticな異常との大きな違いである。

## 3 発がん過程におけるDNA異常メチル化の役割

発がん過程においては、さまざまな遺伝子が、異常メチル化により不活化されていることが知られてい

表1 がんにおけるDNAメチル化の変化

<b>ゲノム全体の低メチル化</b>	
ゲノム全体の低メチル化	→ レトロトランスポジションの増加?
プロモーター領域CpGアイランドの低メチル化	→ がん抗原, がん遺伝子の発現
メチル化可変領域の低メチル化	→ LOIの誘発
<b>部分的な高メチル化</b>	
プロモーター領域CpGアイランドの高メチル化	→ がん抑制遺伝子の遺伝子サイレンシング, 非特異的な遺伝子サイレンシング, 使われていない遺伝子のDNAメチル化
非プロモーター領域CpGアイランドの高メチル化	→ 意義は不明
メチル化可変領域の高メチル化	→ LOIの誘発

(文献4より転載)

表2 DNAメチル化により不活化される遺伝子の例

VHL	腎がん (19%)
RB	散発性網膜芽腫 (14%)
p16	非小細胞肺癌 (26%), 乳がん (31%), 大腸がん (40%), 膀胱がん (67%), 神経膠腫 (23%), 多発性骨髄腫 (75%), 非ホジキンリンパ腫 (15~21%)
p15	急性骨髄性白血病 (67~88%), 急性リンパ性白血病 (41~71%), 多発性骨髄腫 (67%)
BRCA1	散発性乳がん (29%)
E-cadherin	肝がん (67%), 乳がん (42%)
hMLH1	大腸がん (22%), 胃がん (74%)
DAPK	非ホジキンリンパ腫 (84%), 非小細胞肺癌 (25~44%)
FHIT	食道がん (14%)
APC	胃がん (83%), 大腸がん (18%), 乳がん (36%)
RASSF1A	非小細胞肺癌 (40%)
TSLC1	非小細胞肺癌 (83%)
SFRP1	大腸がん (85%), 子宮がん (12%), 膀胱がん (18%)
HIC1	乳がん (67%)

(文献3より翻訳・改変)

る(表2)<sup>3)</sup>。家族性腫瘍の原因遺伝子として同定されたがん抑制遺伝子の多くが、散発性の腫瘍においても異常メチル化により不活化されている。さらに、細胞周期調節遺伝子、アポトーシス関連遺伝子など、がん化において重要ながん関連遺伝子が異常メチル化により不活化されることも報告されている。RLGS (restriction landmark genomic scanning) や、メチル化阻害剤により発現が誘導される遺伝子をcDNAマイクロアレイにより解析した結果から、がんにおいては、全遺伝子のうち数%は異常メチル化により不活化されていると推定されている<sup>8,9)</sup>。また、メチル化される遺伝子にはメチル化を受けやすい、いわゆる感受性が存在するとも考えられている<sup>10)</sup>。感受性の高いがんはCpG island methylation phenotype (CIMP)を有し、CIMPは散発性腫瘍におけるマイクロサテライト不安定性の原因として重要であるばかりでなく、家族歴を伴う大腸癌で高率に認められることから、メチル化を制御する遺伝子の異常あるいはメチル化異常を引き起こす環境要因の関与している可能性がある<sup>11)</sup>。