

REFERENCES

1. 村山武彦. 胸膜中皮腫による死亡数の将来予測事例. 岸本卓巳, 編集. 胸膜中皮腫診療ハンドブック, 東京: 中外医学社; 2007:26-33.
2. 西 英行, 鷺尾一浩, 間野正之. 胸膜中皮腫の臨床診断. 日呼外会誌. 2008;22:18-23.
3. Hillerdal G. Malignant mesothelioma 1982: review of 4710 published cases. *Br J Dis Chest*. 1983;77:321-343.
4. Takagi K, Tsuchiya R, Watanabe Y. Surgical approach to pleural diffuse mesothelioma in Japan. *Lung Cancer*. 2001;31:57-65.
5. 東山聖彦, 森永謙二. 全国アンケート調査による本邦の悪性胸膜中皮腫に対する外科治療成績. 胸部外科. 2007;60:19-24.
6. 由佐俊和, 伊豫田明, 門山周文, 佐々木一義, 鈴木 実, 山川久美, 他. 多施設共同研究グループによるびまん性悪性胸膜中皮腫 51 症例の臨床的検討. 肺癌. 2005;45:241-247.
7. 西 英行, 鷺尾一浩, 間野正之. 胸膜中皮腫 79 例の臨床的検討. 日呼外会誌. 2008;22:730-735.
8. Sugarbaker DJ, Flores RM, Jaklitsch MT, Richards WG, Strauss GM, Corson JM, et al. Resection margins, extrapleural nodal status, and cell type determine postoperative long-term survival in trimodality therapy of malignant pleural mesothelioma: results in 183 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1999;117:54-65.
9. Rusch VW, Rosenzweig K, Venkatraman E, Leon L, Raben A, Harrison L, et al. A phase II trial of surgical resection and adjuvant high-dose hemithoracic radiation for malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001;122:788-795.
10. Flores RM, Pass HI, Seshan VE, Dycoco J, Zakowski M, Carbone M, et al. Extrapleural pneumonectomy versus pleurectomy/decortication in the surgical management of malignant pleural mesothelioma: results in 663 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008;135:620-626, 626.e1-3.
11. Schipper PH, Nichols FC, Thomse KM, Deschamps C, Cassivi SD, Allen MS, et al. Malignant pleural mesothelioma: surgical management in 285 patients. *Ann Thorac Surg*. 2008;85:257-264.
12. 玄馬顕一, 加藤勝也, 青江啓介, 井内康輝, 岸本卓巳. わが国における胸膜中皮腫診療の現状 (平成 15~17 年の 3 年間に胸膜中皮腫で死亡した 502 例の臨床的検討). 肺癌. 2008;48:438.
13. Treasure T, Utley M. Mesothelioma: benefit from surgical resection is questionable. *J Thorac Oncol*. 2007;2:885-886.
14. 西 英行, 鷺尾一浩, 玄馬顕一, 岸本卓巳. 悪性胸膜中皮腫に対する胸膜肺全摘術. 肺癌. 2006;46:195-198.
15. 西 英行, 鷺尾一浩, 間野正之. 胸膜中皮腫に対する胸膜肺全摘術. 日呼外会誌. 2008;22:616-619.
16. Krug LM, Pass HI, Rusch VW, Kindler HL, Sugarbaker DJ, Rosenzweig KE, et al. A multicenter U.S. trial of neoadjuvant pemetrexed plus cisplatin (PC) followed by extrapleural pneumonectomy (EPP) and hemithoracic radiation (RT) for stage I-III malignant pleural mesothelioma (MPM). *J Clin Oncol*. 2007;25(Suppl):7561.
17. 由佐俊和. 胸腔内温熱療法. 岸本卓巳, 編集. 胸膜中皮腫診療ハンドブック. 東京: 中外医学社; 2007:164-174.
18. 柏倉祐司, 那須保友, 公文裕巳. 中皮腫に対する遺伝子治療. 岸本卓巳, 編集. 胸膜中皮腫診療ハンドブック, 東京: 中外医学社; 2007:175-181.
19. Marinaccio A, Nesti M, Regional Operational Centers. Analysis of survival of mesothelioma cases in the Italian register (ReNaM). *Eur J Cancer*. 2003;39:1290-1295.

Soluble mesothelin-related protein in pleural effusion from patients with malignant pleural mesothelioma

NOBUKAZU FUJIMOTO, KENICHI GEMBA, MICHIKO ASANO, SAE WADA,
KATSUICHIRO ONO, SHINJI OZAKI and TAKUMI KISHIMOTO

Department of Respiratory Medicine, Okayama Rosai Hospital, Okayama 7028055, Japan

Received October 22, 2009; Accepted December 8, 2009

DOI: 10.3892/etm_00000048

Abstract. Malignant pleural mesothelioma (MPM) is a highly aggressive neoplasm primarily arising from surface serosal cells of the pleura and is strongly associated with asbestos exposure. Patients with MPM often develop pleural fluid as initial presentation. However, cytological diagnosis using pleural fluid is usually difficult and has limited utility. A useful molecular marker for differential diagnosis particularly with lung cancer (LC) is urgently needed. The aim of the present study was to investigate the diagnostic value of soluble mesothelin-related protein (SMRP) in pleural fluid. Pleural fluids were collected from 23 patients with MPM, 38 with LC, 26 with benign asbestos pleurisy (BAP), 5 with tuberculosis pleurisy (TP) and 4 with chronic heart failure (CHF), and the SMRP concentration was determined. All data were analyzed by using non-parametric two-sided statistical tests. The median concentration of SMRP in MPM, LC, BAP, TP and CHF were 11.5 (range 0.90-82.80), 5.20 (0.05-36.40), 6.65 (1.45-11.25), 3.20 (1.65-6.50) and 2.03 (1.35-2.80) nmol/l, respectively. The SMRP concentration was significantly higher in MPM than in the other diseases ($P=0.001$). The area under the ROC curve (AUC) values of the MPM diagnosis was 0.75 for the differential diagnosis from the other groups. Based on the cut-off value of 8 nmol/l, the sensitivity and specificity for diagnosis of MPM were 70.0 and 68.4%, respectively. These results indicate that the SMRP concentration in pleural fluid is a useful marker for the diagnosis of MPM.

Introduction

Malignant pleural mesothelioma (MPM) is a highly aggressive tumor with a poor survival rate that arises from the surface cells of the pleura. It is a rare tumor; however, MPM

has become a very serious public health concern in Japan. A newspaper article, published in June 2005, reported that five residents who had lived near a now-closed asbestos cement pipe plant in Amagasaki, Japan, developed pleural mesothelioma (1). The industrial use of asbestos has been banned in Japan since 2006, but the incidence of MPM is expected to continue increasing for the next few decades due to the past usage of asbestos (2).

MPM has therapeutic and diagnostic challenges. Surgical resection, often combined with radiotherapy or adjuvant chemotherapy, is indicated for the treatment of MPM in the earlier stage. There is a small population of patients who achieve prolonged disease-free survival. Yet the majority of cases are already progressive at the time of diagnosis, and these patients exhibit an extremely poor prognosis (3). Systemic chemotherapy or radiotherapy to date has not had an impact on patient survival for advanced cases. Thus, it is quite important to diagnosis MPM at an early stage. Most MPM cases demonstrate pleural effusion at the time of diagnosis, but cytological diagnosis with pleural effusion is usually difficult and has limited utility. To obtain a definite diagnosis, a thorascopic or percutaneous biopsy should be performed to obtain adequate specimens for pathological and immunohistochemical analyses. Yet, even with these procedures, it is sometimes difficult to differentiate MPM from other pleural diseases including benign asbestos pleurisy (BAP), tuberculosis pleurisy (TP), or pleural metastasis of lung cancer (LC). Several investigators have sought to improve the differential diagnosis of pleural effusion by measuring tumor markers. Shi *et al* reported the usefulness of measuring the pleural carcinoembryonic antigen for the diagnosis of malignant pleural effusion (4). Similar findings were reported regarding cytokeratin 19 fragment 21-1 and carbohydrate antigen (CA) 125, CA15-3 and CA19-9 (5). Aoe *et al* previously reported that the concentration of receptor-binding cancer antigen expressed on Siso cells (RCAS1) was higher in malignant pleural effusion than in non-malignant effusion (6), but the usefulness of these markers has not yet been fully established in clinical practice. A useful molecular marker for the differential diagnosis of these diseases is therefore urgently needed.

Mesothelin is a 40-kDa cell surface glycosylated phosphatidylinositol (GPI)-anchored glycoprotein which has putative functions in cell-to-cell adhesion (7). Mesothelin

Correspondence to: Dr Nobukazu Fujimoto, Department of Respiratory Medicine, Okayama Rosai Hospital, 1-10-25 Chikkomidorimachi, Minamiku, Okayama 7028055, Japan
E-mail: nfuji@okayamaH.rofuku.go.jp

Key words: mesothelin, mesothelioma, asbestos

Table I. Patient characteristics.

	MPM	PMLC	BAP	TP	CHF
No.	23	38	26	5	4
Age (years)					
Median (range)	64 (47-89)	70 (48-90)	75.5 (58-88)	82 (68-88)	74 (68-82)
Gender					
Male/Female	21/2	28/10	26/0	5/0	3/1
Asbestos exposure period (years)					
Median (range)	33 (5-51)	-	30 (3-46)	-	-
Histology					
Epithelioid	15	-	-	-	-
Biphasic	2	-	-	-	-
Sarcomatoid	4	-	-	-	-
Unknown	2	-	-	-	-
Adenocarcinoma		24			
Squamous cell carcinoma		3			
Small-cell carcinoma		4			
Not determined		7			
Stage					
I	3	-	-	-	-
II	2	-	-	-	-
III	9	-	-	-	-
IV	6	-	-	-	-
Unknown	3	-	-	-	-

MPM, malignant pleural mesothelioma; PMLC, pleural metastasis of lung cancer, BAP, benign asbestos pleurisy; TP, tuberculosis pleurisy; CHF, chronic heart failure.

is expressed on normal mesothelial cells (8); however, it is highly overexpressed in cancers such as MPM (9,10), pulmonary carcinomas (11-14) and other neoplasms (15,16). Soluble mesothelin-related protein (SMRP) is recognized as a cleaved fragment of membrane-bound mesothelin (17). Robinson and colleagues reported that serum SMRP levels were elevated in MPM when compared with healthy asbestos-exposed and non-exposed subjects, and with other pulmonary diseases including LC (18). Similar results were reported by Cristaudo *et al* (19) and Schneider *et al* (20) who demonstrated that SMRP blood concentrations were significantly higher in MPM than in LC cases. These findings suggest the usefulness of serum SMRP as a diagnostic or screening marker of MPM.

The SMRP value in pleural fluid was evaluated by Scherpereel *et al* (21) and Pass *et al* (22). Both research groups reported that the pleural SMRP value was higher than that in serum, and the level was higher in MPM than in other pulmonary diseases. Therefore, the aim of the present study was to investigate the SMRP level in pleural fluid in Japanese patients with MPM. For this purpose, SMRP concentrations in pleural fluid from Japanese patients with MPM were examined and compared with those of patients with BAP, TP or LC. Correlations between SMRP and asbestos exposure were also examined.

Materials and methods

Materials. Pleural fluid was collected from patients with MPM. For these cases, pathological diagnosis of MPM was confirmed based on standard H&E staining and positive immunohistochemical reactivity to mesothelial markers such as calretinin, Wilms' tumor 1, or thrombomodulin, and negative reactivity to carcinoembryonic antigen. The clinical stage of MPM was determined according to the International Mesothelioma Interest Group (IMIG) criteria (23) and was based on staging procedures including computed tomographic (CT) scans of the chest and abdomen, magnetic resonance images of the brain and Technetium-99m hydroxymethylene diphosphonate bone scans. Survival data of the patients with MPM were determined from the day of diagnosis to the day of death or last follow-up. Pleural fluid was also collected from patients with LC, BAP, TP and with chronic heart failure (CHF) as controls. LC was diagnosed in cases where lung cancer cells were detected in the pleural effusion. Histological subtypes of LC were based on the World Health Organization (WHO) classification (24). The clinical stage of the disease was assessed using the International Staging System (25). TP was diagnosed in cases in which *Mycobacterium tuberculosis* was detected in the pleural fluid. TP was also diagnosed in cases with higher concentrations of adenosine deaminase

(>50 IU/l) and when lymphocyte dominance was shown in the fluid. CHF was diagnosed in cases which demonstrated transudate fluid with known cardiac diseases. The diagnosis of BAP was determined by exclusion of other specific causes in patients with past asbestos exposure, in which malignant diseases were ruled out with thoracoscopy. Informed consent was provided by all patients, and the study was conducted with approval of the appropriate institutional review boards.

SMRP measurement. SMRP was measured using the chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) (Fujirebio Diagnostics, Malvern, PA, USA) based on the 2-step sandwich method. In brief, 20 μ l of sample was mixed with 180 μ l of sample diluents, then 20 μ l of the diluted sample was incubated with 250 μ l of anti-SMRP antibody-coated ferrite particles at 37°C for 10 min. After washing, 250 μ l of anti-SMRP antibodies coupled with alkaline phosphatase was added and incubated at 37°C for 10 min. After a washing step, 200 μ l of substrate [3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3"-phosphoryloxy) phenyl-1,2-dioxetane disodium salt; AMPPD] solution was added, followed by incubation at 37°C for 5 min. Luminescence at a wavelength of 477 nm was measured, and the SMRP concentration of each sample was calculated with the standard curve method.

Asbestos body burden. Quantification of asbestos bodies was performed using the protocol modified by Kohyama and Suzuki (26). In brief, portions of paraffin-embedded normal lung tissue (1-2 g) obtained from surgery or autopsy were deparaffinized with xylene, then microcut. These were digested with solution containing 5-20% sodium hypochlorite and KOH for 6 h at 60°C. Following digestion, samples were pelleted and resuspended in distilled water. Samples were then mixed well and filtered through a cellulose ester membranous filter which was dehydrated and cut in half. Pieces of the filter were mounted on microscope slides and dried with acetone vapor. Asbestos bodies were then counted, and the asbestos bodies per (wet weight) gram of lung were calculated.

Statistical analyses. Comparisons between groups were performed using the Kruskal-Wallis test and non-parametric analysis using the Mann-Whitney U test. Areas under receiver operating curves (ROC) were calculated using standard techniques. Survival data were determined from the day of diagnosis to the day of death or last follow-up and analyzed based on the Kaplan-Meier method. Correlations between pleural SMRP values and asbestos body or patient survival were calculated based on Pearson's correlation coefficient (PCI). Statistical calculations were performed with SPSS Statistical Package version 11.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Patient characteristics. Between January 2004 and July 2007, pleural fluids were collected from 23 patients with MPM, 38 with LC, 26 with BAP, 5 with TP and 4 with CHF at the Okayama Rosai Hospital. Of the 23 cases (median age 64 years; range 47-89; male/female 21/2) diagnosed with MPM, there were 15 epithelioid, 2 biphasic, 4 sarcomatoid

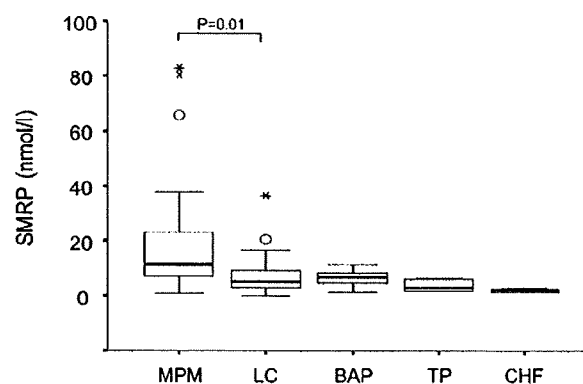


Figure 1. SMRP concentrations in pleural fluid. MPM, malignant pleural mesothelioma; LC, lung cancer; BAP, benign asbestos pleurisy; TP, tuberculosis pleurisy; CHF, chronic heart failure.

and 2 unknown pathological subtypes. According to the IMIG staging system, there were 3 cases in stage I, 2 in stage II, 9 in stage III, 6 in stage IV and 3 unknown. Of the 38 cases (median age 69.5 years; range 46-91; male/female 29/9) diagnosed with LC, there were 24 patients with adenocarcinoma, 4 with small-cell carcinoma, 3 with squamous cell carcinoma and 7 undetermined pathological subtypes. The characteristics of the patients are summarized in Table I.

SMRP value in MPM. According to the clinical stage and pathological subtypes of MPM, a trend was noted in which the SMRP value was higher in advanced stages (III and IV, n=16; median 13.8, range 2.85-82.8 nmol/l) compared with the value in early stages (I and II, n=5; median 7.9, range 2.5-33.9 nmol/l), and higher in epithelioid type (n=13; median 15.4, range 2.2-82.8 nmol/l) than in sarcomatoid (n=4; median 13.8, range 2.85-10.45 nmol/l), though there were no significant differences (P=0.158 and 0.389, respectively).

SMRP and asbestos exposure. Occupational asbestos exposure was revealed in 21 patients with MPM. We examined the duration of asbestos exposure and the SMRP value in the pleural fluid, but no correlation was shown (PCI, -0.069). Quantification of asbestos bodies was performed in 17 cases of MPM. The median number of bodies was 2,180 (239-526,000) per gram of dried lung. We examined the correlation between the SMRP value in pleural fluid and the number of asbestos bodies, but no correlation was found (PCI, -0.156). Survival data was available in 22 cases. No correlation was found between the SMRP value and survival (PCI, -0.179). We compared the survival of two groups, those with a lower concentration of SMRP (\leq 8.0 nmol/l) and those with a higher concentration, but no statistical difference was demonstrated (data not shown).

SMRP value for differential diagnosis. The median concentration of SMRP in MPM, LC, BAP, TP and CHF were 11.5 (range 0.9-82.8), 5.2 (0.05-36.4), 6.65 (1.45-11.25), 3.20 (1.65-6.5) and 2.03 (1.35-2.8) nmol/l, respectively. The SMRP concentration was significantly higher in MPM than in the other diseases (P=0.001, Kruskal-Wallis test, Fig. 1). The area under the ROC curve (AUC) values of the MPM diagnosis

was 0.75 [95% confidence interval (CI), 0.615-0.884] for the differential diagnosis from the other groups. Based on the cut-off value of 8 nmol/l, the sensitivity and specificity for diagnosis of MPM were 70.0 and 68.4%, respectively. The SMRP concentration in MPM was significantly higher than that in LC ($P=0.004$, Mann-Whitney U test). The AUC for the differential diagnosis of MPM and LC was 0.724 (95% CI, 0.583-0.866). Based on the cut-off value of 8 nmol/l, the sensitivity and specificity for diagnosis of MPM were 69.6 and 68.4%, respectively. The SMRP concentration in MPM was significantly higher than in BAP ($P=0.004$, Mann-Whitney U test). The AUC value for the differential diagnosis of MPM and BAP was 0.74 (95% CI, 0.586-0.894). Based on the cut-off value of 8 nmol/l, the sensitivity and specificity for diagnosis of MPM were 69.6 and 69.2%, respectively.

Discussion

In this study, we first examined the SMRP value in pleural fluid from patients with MPM. SMRP was higher in the epithelioid subtype than in the sarcomatoid, and higher in advanced stages (III and IV) than in early stages (I and II), though the differences were not statistically significant. These findings collaborate a previous study by Scherpereel *et al* (21). They examined the SMRP values, both in serum and pleural fluid, and reported that SMRP both in serum and pleural fluid was higher in the epithelioid subtype and in advanced diseases of MPM. The differences in our study were not statistically significant, probably due to the small number of samples, but our results reflect a similar trend in MPM in Japan. In addition, we examined the correlation between pleural SMRP and overall survival of patients with MPM, but no correlation was found. The role of serum SMRP as a prognostic marker was examined by Cristaudo *et al.* In their study, a high SMRP level in serum was an independent negative prognostic factor in patients with MPM (19). The present study is the first report to examine the role of pleural SMRP as a prognostic factor, but these results should be interpreted carefully because of the small number of cases. Further studies are warranted to clarify the role of pleural SMRP as a prognosis predictive marker.

We next examined the usefulness of pleural SMRP as a diagnostic marker of MPM. We compared the SMRP value in the pleural fluid of MPM to that of LC, BAP, TP and CHF. The SMRP value in MPM was significantly higher than in the other diseases. Similar findings were also reported by Scherpereel *et al* (21). They reported that the serum or pleural fluid SMRP level was significantly higher in patients with MPM than in subjects with benign pleural lesions related to asbestos exposure (BPLAE) or in LC. In their report, BPLAE was defined based on the definition by the American Thoracic Society (27), which corresponds with BPE in our study. In our study, subjects with TP and CHF were also included as controls. TP is the single most frequent cause of death by an infectious agent and is also a major cause of pleural effusion (28). Several molecular markers in pleural effusion have been examined as diagnostic markers of TP (29), but the differential diagnosis is still often problematic in clinical practice. Our results revealed, for the first time, the usefulness of pleural SMRP to distinguish MPM and TP.

We also analyzed the correlations between the SMRP concentration and asbestos exposure. We determined the number of asbestos bodies in the lungs of patients with MPM. The duration of occupational asbestos exposure was determined through patient interview. As a result, no correlation was revealed between SMRP values and the duration of asbestos exposure or asbestos bodies in the lung. These findings indicate that elevation of SMRP in the pleural effusion of MPM is not influenced by asbestos, but is one of the cancer-specific events. The mechanisms of accumulation of SMRP in pleural fluid have not as yet been established. SMRP is reported as a proteolytically cleaved fragment of membrane-bound mesothelin (17). The release of SMRP could also be due to a frameshift mutation of the protein (21). Further studies are warranted to examine the mechanisms involved in the elevation of SMRP in MPM.

In conclusion, we examined the SMRP concentration in pleural fluid from patients with MPM, LC, BAP, TP and CHF and demonstrated that the SMRP value in MPM was significantly higher than that in the other diseases. These results indicate the usefulness of pleural SMRP as a diagnostic marker of MPM.

Acknowledgements

This research is a part of the research and development, and dissemination projects related to the 13 fields of occupational injuries and illnesses of the Japan Labour Health and Welfare Organization. This research is supported by the Program for the Promotion of Fundamental Studies in Health Science of the National Institute of Biomedical Innovation of Japan.

References

- Ohshima H: Five cases with mesothelioma living near a now-defunct asbestos cement plant in Amagasaki city. *Mainichi Newspaper* (in Japanese): p1, June 29, 2005.
- Robinson BW and Lake RA: Advances in malignant mesothelioma. *N Engl J Med* 353: 1591-1603, 2005.
- Ray M and Kindler HL: Malignant pleural mesothelioma: an update on biomarkers and treatment. *Chest* 136: 888-896, 2009.
- Shi HZ, Liang QL, Jiang J, Qin XJ and Yang HB: Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in malignant pleural effusion: a meta-analysis. *Respirology* 13: 518-527, 2008.
- Liang QL, Shi HZ, Qin XJ, Liang XD, Jiang J and Yang HB: Diagnostic accuracy of tumour markers for malignant pleural effusion: a meta-analysis. *Thorax* 63: 35-41, 2008.
- Aoe K, Hiraki A, Maeda T, *et al.*: Soluble receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells in pleural fluid: a potential diagnostic marker for malignant pleural effusion. *Chest* 126: 1195-1197, 2004.
- Rump A, Morikawa Y, Tanaka M, *et al.*: Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion. *J Biol Chem* 279: 9190-9198, 2004.
- Chang K, Pai LH, Pass H, *et al.*: Monoclonal antibody K1 reacts with epithelial mesothelioma but not with lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 16: 259-268, 1992.
- Chang K and Pastan I: Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas and ovarian cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 136-140, 1996.
- Ordonez NG: Value of mesothelin immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. *Mod Pathol* 16: 192-197, 2003.
- Ordonez NG: The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 27: 1031-1051, 2003.

12. Scholler N, Fu N, Yang Y, *et al*: Soluble member(s) of the mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family are detectable in sera from patients with ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 11531-11536, 1999.
13. Frierson HF Jr, Moskaluk CA, Powell SM, *et al*: Large-scale molecular and tissue microarray analysis of mesothelin expression in common human carcinomas. *Hum Pathol* 34: 605-609, 2003.
14. Bhattacharjee A, Richards WG, Staunton J, *et al*: Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13790-13795, 2001.
15. Hornick JL, Lauwers GY and Odze RD: Immunohistochemistry can help distinguish metastatic pancreatic adenocarcinomas from bile duct adenomas and hamartomas of the liver. *Am J Surg Pathol* 29: 381-389, 2005.
16. Watanabe H, Okada G, Ohtsubo K, *et al*: Expression of mesothelin mRNA in pure pancreatic juice from patients with pancreatic carcinoma, intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas and chronic pancreatitis. *Pancreas* 30: 349-354, 2005.
17. Hassan R, Bera T and Pastan I: Mesothelin: a new target for immunotherapy. *Clin Cancer Res* 10: 3937-3942, 2004.
18. Robinson BW, Creaney J, Lake R, *et al*: Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma. *Lancet* 362: 1612-1616, 2003.
19. Cristaudo A, Foddìs R, Vivaldi A, *et al*: Clinical significance of serum mesothelin in patients with mesothelioma and lung cancer. *Clin Cancer Res* 13: 5076-5081, 2007.
20. Schneider J, Hoffmann H, Dienemann H, Herth FJ, Meister M and Muley T: Diagnostic and prognostic value of soluble mesothelin-related proteins in patients with malignant pleural mesothelioma in comparison with benign asbestosis and lung cancer. *J Thorac Oncol* 3: 1317-1324, 2008.
21. Scherpereel A, Grigoriu B, Conti M, *et al*: Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Am J Respir Crit Care Med* 173: 1155-1160, 2006.
22. Pass HI, Wali A, Tang N, *et al*: Soluble mesothelin-related peptide level elevation in mesothelioma serum and pleural effusions. *Ann Thorac Surg* 85: 265-272, 2008.
23. Rusch VW: A proposed new international TNM staging system for malignant pleural mesothelioma from the International Mesothelioma Interest Group. *Lung Cancer* 14: 1-12, 1996.
24. Histological Typing of Lung and Pleural Tumors. World Health Organization, Geneva, 1999.
25. Mountain CF: Revisions in the International System for staging lung cancer. *Chest* 111: 1710-1717, 1997.
26. Kohyama N and Suzuki Y: Analysis of asbestos fibers in lung parenchyma, pleural plaques and mesothelioma tissues of North American insulation workers. *Ann NY Acad Sci* 643: 27-52, 1991.
27. Diagnosis and initial management of nonmalignant diseases related to asbestos. *Am J Respir Crit Care Med* 170: 691-715, 2004.
28. Raviglione MC and Luelmo F: Update on the global epidemiology of tuberculosis. *Curr Issues Public Health* 2: 192-197, 1996.
29. Hiraki A, Aoe K, Eda R, *et al*: Comparison of six biological markers for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest* 125: 987-989, 2004.

第2部 社会問題となった疾患と病理学<環境>

1. アスベスト

井内康輝

病理と臨床【臨時増刊号】・別刷

2009 vol. 27

東京／文光堂／本郷

1. アスベスト

井内康輝*

はじめに

人類は古来、アスベスト(石綿)を日常生活において物の包装等に用いていた。例えばエジプトでは紀元前数百年頃に、ミイラを覆うためにアスベスト布が使われていたし、平安時代の日本でも奥州藤原氏がミイラにアスベスト布を使っていたことが平泉で発見されたミイラで確認されている。また、かぐや姫で有名な竹取物語(平安中期作)には、“火鼠の皮衣”と呼ばれてアスベスト布が登場する。江戸時代には平賀源内は秩父で発見したアスベストで織った布を使用し、これを“火流布”と名づけている。

明治時代、日本は本格的なアスベストの工業利用を始め、その利用量は徐々に増加したが、アスベストの体内への吸引・沈着による臓器障害について関心が払われることはなかった。第二次世界大戦後の経済成長のもとでは、産業界にとって有用な物質であるアスベストを社会から排除することは難しく、日本においてはアスベスト使用の法的規制の歩みは欧米に比べて20~30年遅れ、これが後年へ禍根を残す結果となった。本項では、こうしたアスベスト使用の歴史的な事

実をふまえて、アスベストによる臓器障害に関する病理学的情報をどのように社会に発信してきたか、考えてみたい。

I. アスベストとは何か

アスベストとは、工業的に用いられる繊維状鉱物の総称であり、鉱物名ではない¹⁾。鉱物学上の名称は結晶構造と化学組成の2要素によって決められるものであり、この点からは、アスベストという名称にはさまざまな鉱物が含まれており、その定義は鉱物学とは別に定めることが必要となる。WHOは1973年、“アスベストとは、多様な物理化学的性質をもつ天然の繊維状ケイ酸塩鉱物の総称で、クリソタイル、アクチノライト、アモサイト、アンソフィライト、クロシドライト、トレモライトに分類される”とした(表1)。ILO(1986)も同様の定義を用い、日本の労働関連法令でもこの6種類の鉱物名をあげている。

アスベストと呼ばれる6種類の鉱物は鉱物学的には蛇紋石族のクリソタイルと角閃石族のその他5種類に分けられるが、クリソタイルはすべて繊維状であるの

表1 アスベスト(石綿)の分類

	鉱物名	石綿名	化学組成式
蛇紋石族 Serpentines	クリソタイル (chrysotile)	クリソタイル (温石綿 chrysotile)	$Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ 12001-29-5*
角閃石族 Amphiboles	グリユネ閃石 (grunerite) リーベック閃石 (曹閃石 riebeckite) アンソフィライト (直閃石 anthophyllite) トレモライト (透閃石 tremolite) アクチノライト (陽起石 actinolite)	アモサイト (褐石綿 amosite) クロシドライト (青石綿 crocidolite) アンソフィライト石綿 (fibrous anthophyllite) トレモライト石綿 (fibrous tremolite) アクチノライト石綿 (fibrous actinolite)	$(Mg, Fe)_7Si_8O_{22}(OH)_2$ 12172-73-5* $Na_2Fe_3^{2+}Fe_2^{3+}Si_8O_{22}(OH)_2$ 12001-28-4* $Mg_7Si_8O_{22}(OH)_2$ 77536-67-5* $Ca_2Mg_5Si_8O_{22}(OH)_2$ 77536-68-6* $Ca_2(Mg, Fe)_5Si_8O_{22}(OH)_2$ 77536-66-4*

* : CAS No. (Chemical Abstracts Number) (文献1より改変)。

* 広島大学大学院医歯薬学総合研究科病理学

表2 アスベスト(石綿)の特性

1. 木綿や羊毛と見間違ふほどにしなやかで糸や布に織れる(紡織性)
2. 引張りに強い(抗張力)
3. 摩擦・摩耗に強い(耐摩擦性)
4. 燃えないで高熱に耐える(耐熱性)
5. 熱や音を遮断する(断熱, 防音性)
6. 薬品に強い(耐薬品性)
7. 電気を通しにくい(絶縁性)
8. 細菌・湿気に強い(耐腐食性)
9. 比表面積が大きく, 他の物質との密在性に優れる(親和性)
10. 安価である(経済性)

(文献1より改変)

でアスベストとみなしてよいが, 角閃石族には, 肉眼的にも顕微鏡的にも繊維状でない鉱物があり, そのうち繊維状であるもののみがアスベストである。繊維状であることの定義は, 顕微鏡レベルでアスペクト比 aspect ratio (長さとの幅の比) が3かそれ以上である粒子とするのが一般的である。

II. アスベストの特性とその用途

アスベストが工業的に有用である理由は表2にあげられる。こうした特性はアスベスト以外の単一の天然

鉱物等にはみられないので, アスベストは“奇跡の鉱物”と呼ばれてきた。その用途はこれらの特性を生かして表3のように幅広い。日本でのこうした用途を歴史的にみると, 明治時代の後半に保温材やシール材としての生産が開始され, 大正時代に建築材料の生産が始まったとされる。第二次世界大戦以降は経済復興, 高度経済成長のもとで, 自動車のブレーキや機械類等, 建材分野での屋根材・壁材等, 煙突等のパイプ状製品, 継ぎ目等に使うパッキング・ガスケット等での利用が増加した。

また, 1955年頃から吹付け施工が広く行われた。すなわちアスベスト60%, セメント40%程度の割合で混合して, 学校, ビル, ホテル, 体育館, 駐車場等において, その鉄骨に吸音, 断熱・耐火, 結露防止等の目的で広く吹き付けられた。これにはアスベストの中でもクロシドライトが特に多く用いられた。数十年後の今日, 吹き付けられたものの劣化によるアスベストの飛散が, 重大な環境汚染をひき起こしている。

III. アスベストの生産量と輸入量および規制の推移

世界的にみると, 産業界で使用されてきたアスベストは, クリソタイル, アモサイト, クロシドライト, アンソフィライトの4種類であるが, そのうちクリソ

表3 アスベスト(石綿)の用途

	製品名	使用部門	使用箇所
石綿製品	石綿糸 石綿布 石綿パッキング, ひも 石綿ゴム引テープ 石綿ゴム加工 ジョイントシート 石綿板(ミルボード) ブレーキライニング ランバー(ヘミット) 電解隔膜 石綿紙	熱を使用する各部門 造船, 製鉄, 自動車 機関車, 製鉄, 化学工業 船舶, 化学, 機械, 製紙 船舶, 発電所, 機械, 化学 蒸気を使用する各部門 船舶, ガス, 鉄鋼, 自動車 船舶, 自動車, 機械, 鉄道 電気工業, 鉄道 硫安工業, ソーダ工業 電気, ソーダ	石綿糸, パッキング 防火カーテン, パッキング ドア, 蓋の高熱部分 エンジンカバー, 薬品槽の蓋 パッキング 蒸気フランジのパッキング 防熱壁, パッキング 自動車のブレーキ, 捲揚機 耐熱母体 電気分解の隔膜 電線絶縁紙
セメント製品	石綿スレート 石綿円筒 石綿高圧管	工場, 家屋等 工場, 家屋等 電気, 水道	防火壁 煙突 上水道, 電線
その他	アスファルト混合 鑄鉄管ライニング 潤滑用グリース	建築, 自動車 機械, 土木 機械	屋根, 自動車車体, タイル 鑄鉄管 ベアリング用グリース

(文献1より改変)

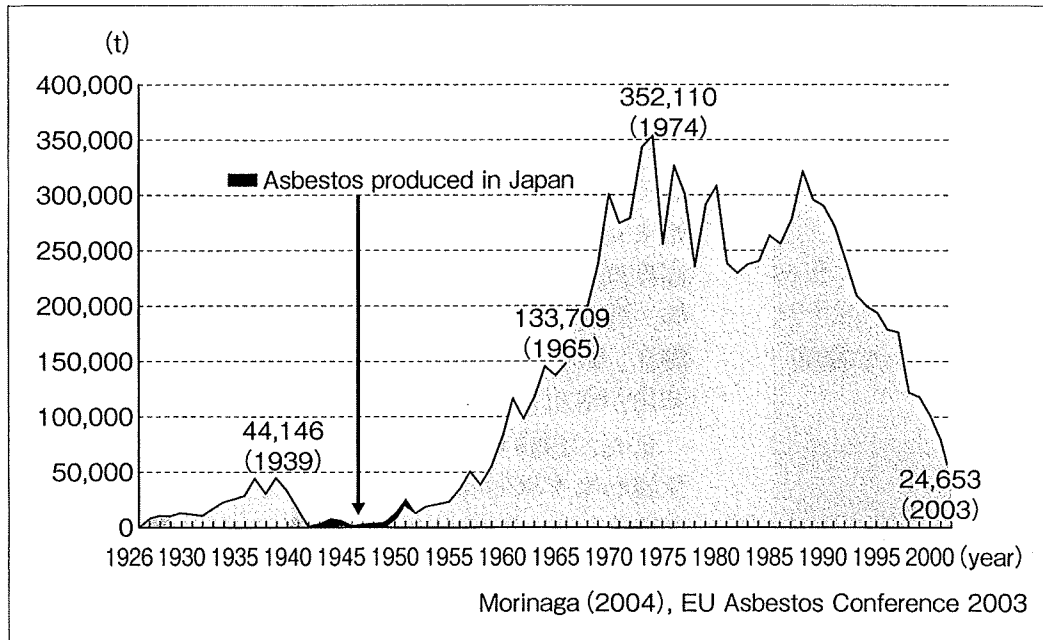


図1 日本のアスベスト輸入量(使用量)の推移

表4 世界および日本におけるアスベスト使用の規制

1972年	WHO: アスベストの発癌性を指摘
1973年	アメリカ: アスベストの吹付けを禁止(日本: 1975年)
1986年	ILO: 石綿管理条約の締結→クロシドライトとアモサイトの使用禁止
1990~93年	オーストリア, オランダ, イタリア, フィンランド, ドイツ: アスベストの使用禁止
1995年	日本: 労働安全衛生法施行令の改正→含有する製品の製造・輸入・使用の禁止
2004年	日本: クリソタイルを含むすべてのアスベストの製造・輸入・使用の禁止(一部を除く)
2005年	日本: アスベスト使用の全面禁止(代替品のない一部を除く)

床が発見され、わずかな量の算出が始まった。加えて朝鮮半島や満州(中国東北部)での鉱床の開発が行われ、1944年には年間8,000 tの産出量を示したが、これらのアスベストは主に軍用の船舶や航空機の製造に用いられた。

日本のアスベストの輸入量の推移を図1に示す。第二次世界大戦前は5万 t未満であったが、1950年以降年々増加し、1974年に35万2千 t(最高値)に達した。その後は表4に示すように使用規制が始まり、2000年以降は10万 tを下回って2005年にはついにほぼゼロとなった。しかしこれまでに日本に輸入されたアスベストの総量はおよそ1,000万 tに達し、これがさまざまな形でヒトの健康被害の原因となっているのである。

タイルが90%以上を占め、次いでアモサイト、クロシドライトの順である。クリソタイルはカナダ、南アフリカ、ロシア、中国、ブラジル、イタリアの順に産出量が多い。アモサイトは南アフリカ、クロシドライトは南アフリカ、オーストラリア、中国等に産出国は限られている。世界の産出量は1992年の約335万トン(t)から、1998年の約176万 tへと約半分に減少している。1988年の産出量の国別順位は、ロシア、カナダ、中国、ブラジルである。

一方日本では、明治・大正時代には、アスベストの産出はなく、専らカナダ、南アフリカ等からの輸入に依存してきたが、日中戦争の進展とともに輸入が途絶えたため、国内のアスベスト鉱山の開発が進められた。その結果、1937年、北海道富良野地方でクリソタイル鉱床が、熊本県松橋地方でアンソフィライト鉱

IV. アスベストによる健康被害の歴史

1. アスベスト(石綿)肺

ヨーロッパでは、アスベストを1800年代の初めから使ってきたが、これによる健康被害が問題となり初めたのは、アスベスト産業が本格的に勃興した1800年代末である。すなわち、フランスのアスベスト紡織工場では1890年から1895年の間に16人の労働者の死亡があり、またイギリスでも1899年、11人の若い男性(30歳代まで)の死亡があり、そのうち1例が剖検されて進行の早い肺疾患と記録されている。1924年になり、Cookeによって33歳の女性労働者の肺の病理

所見が報告され“pulmonary asbestosis (石綿肺)”と初めて命名されている。

一方、日本でのアスベスト肺の最初の報告は1929年、鈴木らによってなされている(45歳、男性例)。その後も大阪府下の泉南地方を中心に、アスベストを扱う工場従業員におけるアスベスト肺が報告され、大阪府下では1985年末までに、アスベスト肺によって管理4とされている、あるいは合併症による要療養患者は182人にのぼる²⁾。

2. 肺 癌

1935年、アメリカのLynch & SmithとイギリスのGloyneはほぼ同時に、アスベスト肺に肺癌を合併した事例を報告している。しかし、アスベストへの曝露と肺癌の関係が疫学的に証明されたのは、1955年に至ってイギリスのDollの報告であり、アスベストを扱う工場で20年以上働く労働者の肺癌の死亡率が一般の13.75倍であったことに基づく。また、Dollは1971年、喫煙とアスベストへの曝露は相乗的に肺癌のリスクを高めることも示唆した。

日本では1960年、瀬良らによってアスベスト工場従業員の肺癌が報告されたのが嚆矢といえる。以後、アスベストを扱う労働者のコホート調査が行われ、肺癌による死亡の相対危険度は2~6倍とされている²⁾。

3. 中皮腫

中皮腫 mesothelioma の名称は1931年、Klempere と Rabin によってはじめて用いられたが、この腫瘍がアスベストへの曝露と関連することが明らかとなったのは、1959年、Wagner らの報告による。彼らは南アフリカのクロシドライト鉱山の従業員およびその家族、鉱山周辺の住民等に32例の胸膜中皮腫の集中的な発生を観察したのである。その後、アスベストを扱う造船所従業員らの調査が行われた結果、1972年、WHO (IARC) の会議において、アンソフィライト以外のすべての種類のアスベストが中皮腫をひき起こすが、その作用はクロシドライトが最も強く、次いでアモサイト、クリソタイトの順とされた。

日本では1973年、小泉らによって、約40年間アスベスト加工に従事した63歳、男性の胸膜中皮腫例が報告され、1974年には、姜らによってアスベスト製品の製造に従事した65歳、男性の胸膜中皮腫例が報告されているが、これらはいずれもアスベスト肺を合併していた。その後の中皮腫の発生数については、1956年から1996年までの日本病理解剖輯報の解析に

よると、胸膜1,213例、腹膜431例、心膜108例、精巣鞘膜6例、その他28例、計1,786例であり、年平均約45例が報告されていることになる。

4. その他の胸膜疾患

良性石綿胸水(胸膜炎)およびその後遺症としてのびまん性胸膜肥厚という概念と、疾患とは呼べないがアスベストへの曝露と密接な関連がある病態としてよく知られる胸膜プラーク(胸膜肥厚斑)がある。

アスベストを扱う労働者に胸膜プラークをしばしば認めることは1930年代から報告されていたが、1960年フィンランドのKiviluotoによってアンソフィライト鉱山の周辺住民にも胸膜プラークが認められ、胸膜プラークは職業性曝露のみならず、環境曝露によっても生じることが明らかとなった。アスベストによる胸水貯留あるいはびまん性の胸膜肥厚の存在は、日本においても1960年代から知られ、1970年代に胸膜プラークの存在とともに胸膜炎の所見としての報告がなされている。

V. アスベストによる健康被害の補償と救済

日本では1947年労働基準法とそれに基づく使用者の災害補償責任を果たすものとして、労働者災害補償保険法が制定された。それらによって、業務上の理由による負傷あるいは疾病に罹患した場合は、療養給付、休業給付、障害給付、遺族給付、疾病年金等の形で給付が行われる。対象となる業務上の疾病は、厚生労働省の省令で定められており、アスベストによるものとしてこの中に、塵肺の一種としての石綿(アスベスト)肺、アスベストに曝露される業務に基づく肺癌および中皮腫、良性石綿胸水およびびまん性胸膜肥厚があげられている³⁾。

肺癌については、一般的にはその大半は喫煙が主因と考えられていることから、業務上の疾病として認定される基準は厳しい。すなわち、胸部X線検査、胸部CT検査により胸膜プラークが認められること、または肺内にアスベスト小体またはアスベスト繊維が一定量以上認められた場合で、かつ、アスベスト曝露作業への従事期間が10年以上である場合とされている。

一方、中皮腫の場合は、肺癌と認定基準が異なり、胸部X線検査で塵肺法に定める第1型以上であるアスベスト肺の所見が得られていること、またはアスベ

表5 アスベスト曝露による肺癌とする基準(肺癌の発症リスクを2倍以上に高めるとみなされる条件)

<p>1. 胸部 X線検査または胸部 CT検査にて、胸膜プラークが認められ、かつ、胸部 X線検査で、塵肺法第4条第1項に定める第I型以上と同様の肺線維化所見(いわゆる不整形陰影)があつて、胸部 CT検査においても肺線維化所見が認められること</p> <p>2. 肺内アスベスト(石綿)小体またはアスベスト(石綿)繊維の量が一定量以上*認められること</p> <p>*乾燥肺重量1gあたり5,000本以上のアスベスト小体もしくは200万本以上(5 μm超, 2 μm超の場合は500万本以上)のアスベスト繊維が認められること、または気管支肺胞洗浄液1 mLあたり5本以上のアスベスト小体が認められること</p>
--

ト曝露作業への従事期間が1年以上ある場合で、胸膜、腹膜、心膜または精巣鞘膜の中皮腫であること、とされる。これは肺癌と異なり、ほとんどの中皮腫の発生原因はアスベストへの曝露と考えられることによる。

平成17年(2005年)6月、株式会社クボタが、旧神崎工場周辺の住民における中皮腫患者への見舞金支給を決定したことが大きく報道され(いわゆる“クボタショック”)、同年12月政府は、“労災補償を受けずに死亡した労働者、家族および周辺住民の被害への対応について、その救済のための新たな法的措置を講ずる”ことを表明した。これを受けて「石綿(アスベスト)による健康被害の救済に関する法律」がつけられ、この法律は平成18年2月の国会において異例の早さで成立し、同年3月27日に施行された。

この法律に基づく救済給付の対象となる疾病は、中皮腫と肺癌に限定された。その理由は、中皮腫と肺癌は多くの患者が短時間で死に至ることから、この制度が迅速な救済をはかることを目的としていることを考え、まず、両者のみを指定疾病とするのがよいと判断されたのである。第二次世界大戦後の日本ではアスベストが大量にかつ広範囲に使用されたことから、どこでどのような形でアスベストに曝露したかを一般生活環境の中で特定することは困難であるという認識のもとに、アスベスト曝露の証明は不必要とされた。給付の内容は、医療費、療養手当と亡くなられた場合の葬祭料とからなる。

この救済制度においては、中皮腫の場合は、救済の対象となるために中皮腫の医学的判定が重視される。その内容は「医学的判定に係る留意事項」として公表されているが、この中には、胸部 X線検査あるいは胸部 CT検査による画像所見と、HE染色および免疫組織化学的染色による病理学的な中皮腫の確定診断の

必要性が述べられている。この制度の運用によって、これまでまれな腫瘍として多くの病理医が年に1例も経験することのなかった中皮腫が、一定の基準に基づいて精度高く診断されなければならない状況が生まれることとなった。

この制度では肺癌については、喫煙者、非喫煙者に関わらず肺癌の発症リスクを2倍以上に高める量のアスベスト曝露があつたとみなされる場合に認定されることから、手術や剖検で得られた非腫瘍部末梢肺組織を用いてアスベスト小体あるいはアスベスト繊維の計測・定量が行われるようになった。その判定基準は表5に示すが、この定量作業では試料作製の技術や顕微鏡下でのアスベストの判定が難しいことから、一定の設備があり、訓練を受けたスタッフ(臨床検査技師等)のいる施設での計測・定量でなければ認められにくい状況にある。組織標本において末梢肺にアスベスト小体が多量に認められる場合は、ほぼ同様に評価されている。

VI. アスベストによる病変の病理学

1. 剖検例を用いたアスベストへの曝露状況の把握

我々の教室では、1985年に当時まれであった中皮腫の剖検例を経験したことをきっかけとして、1984年から1987年にかけての連続的な剖検例194例を対象に、末梢肺でのアスベスト小体の定量を行った。当時は現在と異なり、Smith & Naylorの溶解法(次亜塩素酸ナトリウムによる)を用い、右肺S3領域の湿重量5gの末梢肺から定量したものであり、現在の乾燥重量であらわされる値とは数値が異なる。しかし、得られた結果は194例中192例(99%)においてアスベスト小体を認め(最低2本, 最高445,000本)、当時職業性の曝露レベルとされた501本以上のアスベスト小体を認めた例も27例(14.0%)存在するという、驚くべきものであった⁴⁾。この事実から我々は、一般生活環境下でのアスベストへの曝露が予想以上に広がっていることを指摘し、将来、我々の周辺で中皮腫の発生が増加するであろうことを予測した。また、同様の方法によって、1957~1984年の剖検例に比べ1984~1987年の剖検例における認められるアスベスト小体の量が多いこと、文献的に報告されている日本の他地域におけるアスベストへの曝露状況に比べ広島県下居住例での値が大きいことも明らかにした。この結果は、その

後広島県において特に瀬戸内沿岸地域で中皮腫が高率に発生したこととよく符合する。

2. 手術例を用いたアスベスト曝露による肺癌の検討

一般に手術や剖検で観察される肺癌がアスベスト曝露に起因するか否かを病理学的に決めることは難しい。しかし疫学的には、アスベスト曝露者での肺癌発生のリスクは高く、さらにリスクの上昇には喫煙との相乗効果があることが指摘されている。そこで、こうした“アスベスト関連肺癌”を病理学的に証明しうるか否かを、手術的に摘出された肺癌例84例を用いて検討した⁶⁾。これらを組織標本上でのアスベスト小体の出現頻度、溶解法によるアスベスト小体の定量および組織学的な呼吸細気管支周囲の線維化を指標として層別化を試みた結果、アスベスト小体の定量によって高度曝露者とみなされ、アスベスト肺の特徴とされる呼吸細気管支周囲の線維化とアスベスト小体が観察できる例をアスベストへの曝露と関連が深い肺癌と判断すると、84例中7例(8.3%)がこれに相当し、これに準ずる9例を加えた16例(19.0%)がアスベストへの曝露と関連する可能性があるとして推測した。しかし現在なお、アスベスト肺の定義は世界的にみても不確実であり、特発性肺線維症(IPF)との区別はできていない状況である。その上に“asbestosis-cancer theory”，すなわち肺線維化を基盤とする肺癌の発生という考え方ではなく、アスベスト繊維そのものが発癌要因であるとする“asbestos-cancer theory”を重視するならば、アスベストによる肺癌と判断する際に、これまでのように病理学的所見を材料とすることは不適切かもしれない。

3. 中皮腫の診断精度の向上

中皮腫の病理診断においては、従来は組織学的所見に加えて、ヒアルロン酸優位の酸性粘液多糖類の存在を腫瘍細胞の細胞膜面上あるいは細胞質内で証明することとともに、電子顕微鏡観察で中皮細胞の特徴である細くて長いmicrovilliを観察することが診断方法として勧められていた⁷⁾。しかし、酸性粘液多糖類の証明も電顕的観察も、分化度の高い中皮腫には有効な手段であるが、上皮型でも分化度が低くなった場合や肉腫型では証明することが難しく、一般論としては中皮腫の診断に必須とはいえない。特に電顕的観察については、検索の範囲が狭く、これにかかる労力や時間を考えると、いずれの医療機関においても実施できる検

査手段ではない。

前述したように今日、中皮腫の正確な診断は患者の補償や救済に直結することから、精度の高い診断が、病理医のいるすべての医療機関において可能になるようにしなければならない。近年、中皮腫の診断に有用なマーカーとなる抗体が数多く見出され、これらを用いた免疫組織化学的染色が中皮腫の診断には必須となってきた。いずれの抗体も単独で確定的な診断を得るに十分なものではないが、いくつかの抗体を組み合わせることでその結果を総合的に判断することで診断精度は飛躍的に向上する(表6)。ただし中皮腫の組織型が上皮型か肉腫型か、鑑別する疾患が肺癌なのか卵巣癌なのか、あるいは非腫瘍性の中皮細胞過形成なのか線維性胸膜炎なのか等を考え、鑑別に適した抗体を選ぶ必要がある。現在有用とされる免疫組織化学的染色を用いて過去の中皮腫例の診断を再検討してみると、画像診断や臨床所見も併せた検討の結果、その約15%程度においては中皮腫の診断は誤りとみなさざるをえないことも判明した。この事実は、補償・救済の是非のみならず、今後の課題である適切な治療法の開発やその効果判定にも重大な影響を及ぼすことを考えると、中皮腫の病理診断の精度の向上にさらに取り組まなければならない。

4. アスベストによる発癌機序の解明

アスベストによる中皮腫、肺癌の発生は疫学的には証明されているといえるが、病理学的研究等に基づく、それらの発生・増殖・進展の機序の解明は遅れているといわざるをえない。これらを解明することが、新たな治療法、特に分子標的治療や新たな抗癌剤の開発に繋がり、さらに、早期発見や予防の方法にも有用な知見を与えることになるからである。

肺癌については、前述したように、肺線維化を基盤としてそのリモデリングの過程での発癌が考えられてきたが、現在までの知見として、アスベスト曝露によって生じたと思われる肺癌は必ずしも末梢型の腺癌が多いわけではなく、発生部位も組織型も多様である。一方で、疫学的には喫煙との相乗効果が示されていることから、アスベスト繊維がタバコ中の発癌物質を吸着し、それらを肺内へ運搬することが発癌に関与している可能性が指摘される。事実、我々の検討でも、肺癌例に沈着するアスベスト繊維は細くて長い繊維の割合が大きく、種類としては鉄含量の多いクロシドライトよりアモサイトの方が多という結果を得ており¹²⁾、アスベスト繊維そのものによる発癌より、タバコその

表6 中皮腫の診断に有用な免疫組織化学的染色の抗体

	陽性マーカー	陰性マーカー	
上皮型中皮腫	calretinin D2-40 WT1 thrombomodulin	肺腺癌との鑑別	CEA TTF-1 NapsinA surfactant apoprotein
		卵巣癌との鑑別	BerEP4 MOC31 ER PgR
		反応性中皮細胞過形成の場合は右の所見を示すことが多い	desmin (+) EMA (+) p53 (-) glut-1 (-)
肉腫型中皮腫	cytokeratin (CAM5.2, AE1/AE3) D2-40 WT1 calretinin	肉腫との鑑別	smooth muscle actin desmin S-100 蛋白 CD34 等
線維形成型中皮腫		線維性胸膜炎の場合は右の所見を示すことが多い	desmin (+)

他の経気道的な発癌物質への曝露を助長する作用が大きいことが示唆される。

一方中皮腫については、これまでの分子・遺伝子レベルの研究成果をみると、肺癌等で高頻度に点突然変異等の異常を示す p53 遺伝子、ras 遺伝子等の特異的変異は見出されていない。中皮腫細胞株での検討によると、p16^{INK4a} の欠失や NF2 (マーリン) の高頻度の不活化が報告されている。アスベストによる発癌機序については、アスベストが鉄を含むという点から、フリーラジカルの産生とそれによる酸化的 DNA 傷害の可能性が示唆される。しかし、経気道的に吸引されたアスベスト繊維の気道内での移動経路や、なぜ胸膜、腹膜等の中皮細胞が発癌の標的となるのか、またアスベスト曝露と中皮腫発生に量-反応関係がないのはなぜか、あるいは曝露から中皮腫発生までの経過が30年から40年と長いのはなぜか等、解明できていない事象があまりにも多く、今後さらなる研究の発展が望まれる。

おわりに

我々がアスベストによる中皮腫や肺癌の研究をはじめてすでに20年以上が経つ。1980年代の日本では研究者による提示は、職業性悪性腫瘍の範囲を出ず、社

会を大きく動かすことはなかった。その後の研究も症例の少なさもあって大きな進展がなかったが、2005年のクボタショック以降、連日のマスコミ報道に後押しされる形で法律の制定、救済制度の発足があり、急に厚生労働省、文部科学省等からの関連する研究費も潤沢に提供されるようになった。現在では、早期発見のための検診の普及、血清診断のマーカーの開発、集学的治療法の確立、新規分子標的治療の開発等が競って行われているが、アスベストによる発癌の基礎的研究の不足が響いて、いまだ大きな進歩を見出せない状況にある。

このアスベストによる臓器傷害の研究を通して、我々病理学的研究に携わる者は、社会による一時的な評価に左右されることなく、常日頃疑問に思うところをテーマとして地道に研究を続けていくことの重要性を痛切に感じる。研究の成果は一朝一夕に得られるものではない。研究者としてのゆるぎない信念がいつの日か大きな社会的貢献に繋がることを信じて、研究を継続することこそが肝要であることを、しみじみと思わざるをえない。

文 献

- 1) 神山宣彦：石綿の基礎知識。石綿ばく露と石綿関連疾患，第I部，三信図書，東京，2008，17-54
- 2) 森永謙二：石綿関連疾患の医学的解説。石綿ばく露と石綿関連疾患，第II部，三信図書，東京，2008，91-136

- 3) 森永謙二：石綿関連疾患の補償と救済. 石綿ばく露と石綿関連疾患, 第三部, 三信図書, 東京, 2008, 231-273
- 4) 立山義朗, 山本篤志, 栗原寛治他：最近の194剖検例における肺内のアスベストに関する所見, 広島医学 1989, 42 : 878-886
- 5) 徳岡昭治, 立山義朗, 楠部滋他：剖検肺におけるアスベスト小体沈着状態の経年的推移に関する研究, 広島医学 1989, 42 : 1398-1405
- 6) 立山義朗, 井内康輝, 米原修治他：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 1993, 11 : 967-973
- 7) 小武家俊博, 米原修治, 井内康輝他：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の鑑別. 病理と臨床 1987, 5 : 1290-1299
- 8) Kushitani, K., Takeshima, Y., Amatya, V.J. et al. : Immunohistochemical marker panels for distinguishing between epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Pathol Int* 2007, 57 : 190-199
- 9) Kushitani, K., Takeshima, Y., Amatya, V.J. et al. : Differential diagnosis of sarcomatoid mesothelioma from true sarcoma and sarcomatoid carcinoma using immunohistochemistry. *Pathol Int* 2008, 58 : 75-83
- 10) Takeshima, Y., Amatya, V.J., Kushitani, K. et al. : A useful antibody panel for differential diagnosis between peritoneal mesothelioma and ovarian serous carcinoma in Japanese cases. *Am J Clin Pathol* 2008, 130 : 771-779
- 11) Takeshima, Y., Amatya, V.J., Kushitani, K. et al. : D2-40 utility for the differential diagnosis between pleural sarcomatoid mesothelioma and lung sarcomatoid carcinoma. *Histopathology* (in press)
- 12) 岸槌健太郎：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 1995, 43 : 279-296

中皮腫の鑑別診断

井内 康輝

広島大学大学院医歯薬学総合研究科病理学

中皮腫の鑑別診断

井内 康輝

広島大学大学院医歯薬学総合研究科病理学

(平成 21 年 4 月 2 日受付).

要旨: アスベスト曝露に関連する中皮腫は近年増加が著しいが、この傾向は今後 2030 年頃まで続くと予想される。中皮腫患者は労災補償制度あるいは石綿健康被害救済法 (2006 年施行) によって補償・救済されているが、その認定の状況を見ると、申請者の 10% 以上が中皮腫として認められていない。これは主として中皮腫の病理診断の不適切さによると思われる。中皮腫の病理学的診断における鑑別診断の重要性が指摘される。

中皮腫の発生部位は正常で漿膜の存在部位すなわち、胸膜、腹膜、心膜、精巣鞘膜に限られるが、胸膜発生例が圧倒的に多い。肉眼的には限局型に比べびまん型が圧倒的に多いが、肺癌の胸膜進展例が偽中皮腫様所見を示すこともある。中皮腫の組織型は上皮型、肉腫型、線維形成型、二相型に分けられるが、その他にも多くの特殊型がある。こうした組織像の多彩さゆえにしばしば鑑別が困難な例に遭遇するが、これらの鑑別に際しては、それぞれの組織像に対応した抗体を適切に選択した免疫組織化学的染色が有用である。とくに中皮細胞の増殖病変の良悪性の鑑別が、患者に過大な治療的侵襲を無用と与えないためにも重要である。

(日職災医誌, 57: 183—189, 2009)

—キーワード—

免疫組織化学的染色, 抗体

1. はじめに

アスベスト (石綿) への曝露によって生じる悪性腫瘍の代表である中皮腫は、近年本邦においてその増加が著しい。これは本邦のアスベストの輸入量 (本邦での生産量はごく少ないので、輸入量が使用量に等しい) をみると、1960 年代から 1970 年代にかけて約 5 万トンから約 35 万トンにまで急増したことと関連する。本邦における輸入量は 1990 年代半ばまで 20 万トン以上を維持しており、本邦でのこれまでの輸入総量は 1,000 万トンを超える¹⁾。この事実は、中皮腫の多くは、最初にアスベストへの曝露を受けてから 30 年から 40 年後に発生することを考えると、今後も 2030 年頃までは、現在の発生数が継続することを示唆している。

従来、アスベストの曝露による疾患は、主としてアスベストを扱う労働者における職業病として扱われ、中皮腫についても、労災補償制度のもとで患者への補償が行われてきたが、その数は 2003 年までは年間 100 例を超えることはなかった。しかし、2004 年には 128 例、2005 年には 503 例、2006 年には 1,006 例が補償の対象となり、その急増が指摘される。一方、2005 年夏に生じたいわゆ

る“クボタショック”(尼崎市の旧クボタ神崎工場周辺での中皮腫患者の発生) によって、アスベストを扱う工場周辺でも中皮腫が発生することが知られ、これを契機にアスベスト製品の使用者を含めた一般生活環境のもとでも中皮腫の発生があることが疑われるに至り、アスベスト曝露は公害病の様相を帯びてきた。この事実から 2006 年 3 月、新たに“石綿健康被害救済法”が制定・施行され、従来の労災補償制度では補償対象とならない人々の救済が広く行われることとなった。

現時点での被害者の補償・救済の認定の状況をまとめると表 1 のようになるが、これで見ると申請例の 10% 以上が中皮腫として認められていないことがわかる。これらの不認定の原因の主なもの、中皮腫の病理診断が不完全・不適切である可能性が考えられる²⁾。

そこで本稿では、中皮腫の病理学的診断のプロセスについて述べ、とくに他疾患との鑑別について、どのような点に注意を払うべきかを述べてみたい。

2. 中皮腫の発生部位と肉眼所見

中皮腫は正常で中皮細胞の存在する部位から発生する悪性腫瘍であり、胸膜、腹膜、心膜、精巣鞘膜に発生は

表1 アスベスト曝露による中皮腫患者の補償・救済の認定の状況

1. “労災保険制度”による補償	給付請求の決定数	1,145 件
	(平成 18 年 4 月～平成 19 年 3 月)	
	支給	1,006 件 (88%)
	不支給	139 件 (12%)
2. “石綿健康被害救済法”による救済	受付件数	1,926 件
	(平成 18 年 3 月～平成 20 年 3 月)	
	中皮腫と判定できる	1,152 件 (66%)
	中皮腫と判定できない	181 件 (10%)
	その他 (審査中)	404 件

表2 中皮腫の発生部位

部位	割合
胸膜	80～90%
腹膜	10%
心膜	2～3%
精巣鞘膜	< 1%



図1 びまん型中皮腫の肉眼像 (ホルマリン固定後)

限られる。その他の部位、例えば縦隔、肝、卵巣などに生じたとする報告もあるが、これらは腫瘍の広範な進展のために発生部位が不明確となったための局在診断である可能性があり、中皮腫の局所進展が早期におこることを考慮した上で発生部位を推測する必要があると考える。

部位別の割合は表2に示す通り、胸膜が圧倒的に多い。性別と組み合わせると、胸膜例の90%が男性であるのに対して、腹膜例はその約25%が女性である。本邦では諸外国に比べて女性における腹膜発生例が多い傾向にあるが³⁾、これら女性の腹膜中皮腫がアスベストへの曝露によ



図2 限局型中皮腫の肉眼像 (ホルマリン固定後)

るものかについて今後の検討が必要である。

その肉眼所見は部位によってやや異なる。胸膜ではびまん型(図1)と限局型(図2)に分けられるが、前者が圧倒的に多い。中皮腫の大半は壁側胸膜に小結節として発生し、直ちに胸膜面に播種性に拡がり、胸膜表面を被うような拡がりを示すと考えられる。この時点で臓側胸膜との癒着が生じ、肺を囲繞する形態をとる。これに対して限局型は、発生した部位に形成された結節が胸壁方向あるいは肺実質方向に増殖・進展して腫瘤を形成し臨床的に気づかれる。いずれはびまん型と同様の進展を示すと考えられるので、進行期になると、限局型とよぶことのできる例は少ない⁴⁾。

定型的中皮腫の肉眼像はびまん型であるが、肺癌とくに末梢肺に生じた肺腺癌が同様の拡がりを示す場合があり、こうした例を偽中皮腫様肺癌(肺腺癌) pseudomesotheliomatous carcinoma (adenocarcinoma) とよぶ⁵⁾(図3)。すなわち肉眼像がびまん性であっても肺腺癌との鑑別は必要である。一方、限局型の場合は肺癌(とく



図3 偽中皮腫様肺癌の肉眼像（ホルマリン固定後）

表3 中皮腫の組織型分類

組織型		割合
上皮型	epithelioid type	60%
肉腫型	sarcomatoid type	20%
線維形成型	desmoplastic type	
二相型	biphasic type	20%
特殊型		< 1%
脱落膜様型	deciduoid type	
リンパ組織球様型	lymphohistiocytoid type	
高分化乳頭型	well differentiated papillary type	
その他	others	

(WHO分類, 2004, 日本肺癌学会分類, 2003による)

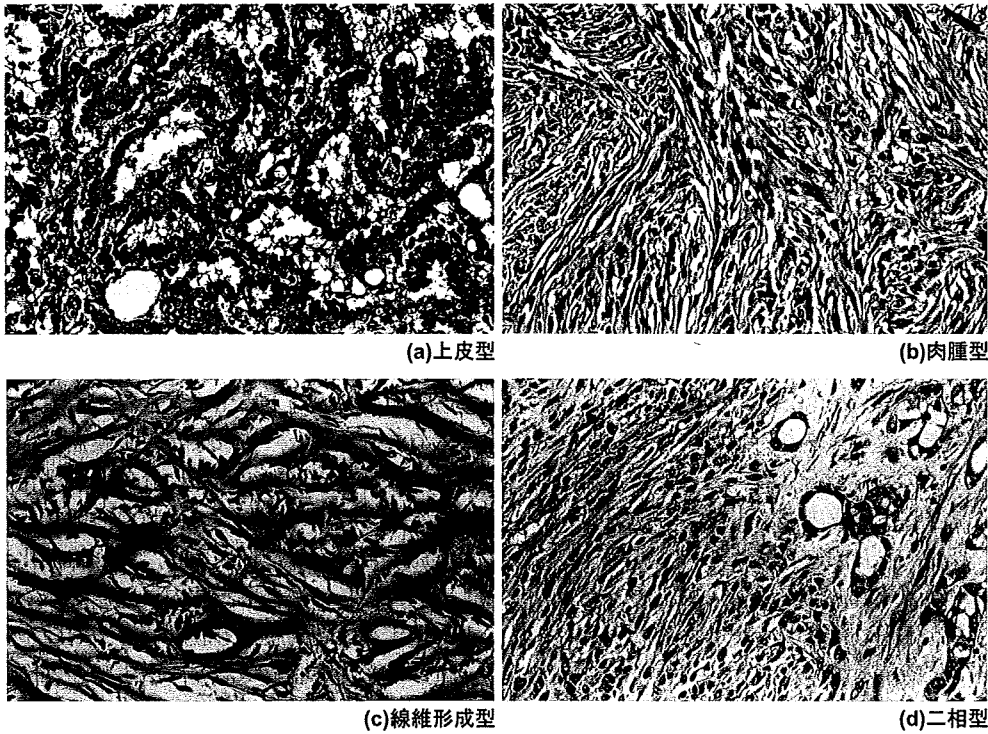


図4 中皮腫の組織像（HE染色，強拡大）

に肉腫様癌), 肺原発の肉腫, 胸膜や胸壁に生じた肉腫など他の多くの悪性腫瘍との鑑別が難しいことが多く, 限局型中皮腫と診断する場合は, 他の悪性腫瘍を否定することが必須である。

腹膜中皮腫については, 臨床的には腹水貯留型と結節形成型に分けられることが多いが, 病理学的にみると, 前者はびまん型, 後者は限局型に相当すると考えられる。頻度としては前者が圧倒的に多い。大きな結節は大網や腸間膜に形成されることが多いが, よくみると結節周囲を中心に腹膜への広範囲な進展がすでにあることが多い。

心膜中皮腫は数少ない。殆どがびまん型であり, 自験例では, 心膜腔への心嚢水の貯留による心不全で発症し, CT検査などで心膜のびまん性肥厚と癒着をみる。まれ

表4 中皮腫の鑑別診断—他の悪性腫瘍との鑑別

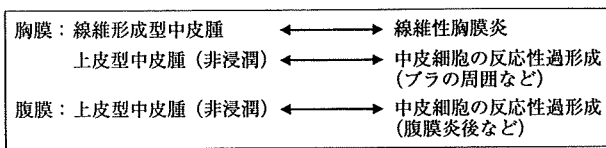
胸膜：上皮型	←→	肺腺癌の進展 他臓器腺癌の胸膜転移
肉腫型	←→	肺肉腫様癌の進展 肺・胸膜の肉腫 胸壁の肉腫
二相型	←→	肺原発の癌肉腫の進展 胸膜の二相型滑膜肉腫
腹膜：上皮型	←→	卵巣漿液性腺癌の進展 腹膜原発漿液性腺癌 他臓器腺癌の腹膜転移
肉腫型	←→	腹腔内臓器や後腹膜組織の肉腫
二相型	←→	腹腔内臓器原発の癌肉腫の進展

に心膜を中心に大きな結節をつくることもある。精巣鞘膜に生じる中皮腫については, 自験例では全て限局性に

表5 中皮腫の鑑別診断に用いる抗体

	陽性となる抗体	陰性となる抗体
上皮型中皮腫	Calretinin WT1 Thrombomodulin D2-40	-Lung adenocarcinoma- CEA TTF-1 Napsin A Surfactant apoprotein -Ovarian serous adenocarcinoma- Ber EP-4 MOC-31 Estrogen receptor (ER)
肉腫型中皮腫	CAM5.2 (cytokeratin) AE1/AE3 (cytokeratin)	Desmin, h-caldesmon MyoD1, Myoglobin CD34, KP1 など

表6 中皮細胞増殖病変—良悪性の鑑別



結節をつくる。これは精巣鞘膜腔がきわめて狭いことによると考えられる。

3. 中皮腫の組織型と鑑別疾患

中皮腫の組織型分類⁹⁾を表3に示す。上皮型では高分化な場合は乳頭・腺管状構造をとり、ヒアルロン酸優位の粘液産生を示すが(図4a)、低分化になると、充実性胞巣が主体の組織像をとる。腫瘍細胞も、正常中皮細胞に似て類円形で均一な核をもち細胞質に乏しい小型細胞からなる高分化な例から、核異型が目立ち、細胞質の豊かな大型細胞からなる低分化な例まで多様である。

肉腫型(図4b)は紡錘形細胞の束状配列や花むしる状配列 storiform pattern などからなるが、間質にヒアルロン酸は乏しい。核の多形性がつよい例もある。腫瘍細胞間の膠原線維量が増し(いわゆる desmoplasia)、かつ細胞密度が低下し、細胞異型性も乏しくなる例を線維形成型 desmoplastic type という⁹⁾(図4c)。いわゆる desmoplasia の強い例は肉腫型に限らず上皮型でもありうる。

二相型(図4d)は上記の上皮型と肉腫型が混在してみられる場合であるが、WHO分類では、いずれかが10%以上混在するという量的な判断基準を加えている。

この他にも中皮腫は様々な組織像をとることが知られており、それらが特殊型として示されているが、いずれも頻度は低い。細胞質が淡明で豊かとなり、核が類円形で中心に位置すると脱落膜細胞に類似し、脱落膜型 decidual type と称される。リンパ球の混在がつよく、かつ腫瘍細胞が組織球様にみえる例はリンパ組織球様型 lymphohistiocytoid type とよばれる。線維血管性のコアをもち、よく分化した細胞の乳頭状配列からなる例は高分化乳頭型中皮腫 well differentiated papillary mesothe-

lioma (WDPM) とよばれ、良好な予後を示すとされる。その他には骨・軟骨基質を産生する例、肺小細胞癌のように小型細胞からなる例、多胞性嚢胞を形成する例などがある。

上記のように組織像が多彩であるので、中皮腫と鑑別すべき他の悪性腫瘍をあげると表4となる⁹⁾。胸膜の上皮型では、肺癌とくに肺腺癌との鑑別が難しい。生検の小さな材料で上皮型中皮腫か肺腺癌の胸膜進展かを区別するには、免疫組織化学的染色が必須である。腹膜の上皮型では、卵巣癌との鑑別が難しい。卵巣の上皮性悪性腫瘍は卵巣の表層上皮由来とされ、腹膜の中皮細胞とは近縁である。また、まれながら腹膜癌と称される腫瘍もあり、これらの鑑別のためには免疫組織化学的染色が必須である。胸膜の肉腫型では肺の肉腫様癌(多形癌)との鑑別に苦慮することが多く、免疫組織化学的染色でも決め手に乏しい場合は、肺内に腫瘍があるか否かで決めざるをえない。胸膜でも腹膜でも、肉腫型中皮腫と真の肉腫との鑑別も必要であり、中皮腫と各肉腫のそれぞれが診断できる特異的なマーカーを用いた免疫組織化学的染色による鑑別が行われる。二相型では、二相性を示す他の悪性腫瘍が鑑別にあがる。胸膜ならば肺の癌肉腫や胸膜の二相型滑膜肉腫、腹膜ならば卵巣や子宮の癌肉腫との鑑別が必要である。

以上述べてきた鑑別診断においては、免疫組織化学的染色がしばしば有用である。上皮型、肉腫型に大別して、中皮腫として陽性となる抗体、陰性となる抗体をあげると表5のようになる。正常の中皮細胞で陽性となる中皮細胞マーカーとしては calretinin, WT1, thrombomodulin, D2-40 が用いられるが、前2者は核に、後2者は細胞膜に陽性となる。Cytokeratin (CAM5.2, AE1/AE3) は、上皮型では細胞質に強陽性となるが、肺腺癌や卵巣癌でも陽性であるので鑑別診断には用いることができない。肺腺癌では CEA, TTF-1, Napsin A, surfactant apoprotein などが陽性となり、これらを中皮腫としては陰性マーカーとして用いる⁹⁾。卵巣の漿液性腺癌では、BerEP-4, MOC-31, estrogen receptor (ER) の陽性