

表2 アスベスト関連疾患と曝露量

アスベスト関連病態	曝露濃度
非腫瘍性アスベスト関連疾患	
・石綿肺 (asbestosis)	高濃度曝露
・良性石綿胸膜炎/胸水 (asbestos pleurisy)	高濃度～低濃度曝露
・びまん性胸膜肥厚 (diffuse pleural thickening)	高濃度～低濃度曝露
・胸膜プラーク (pleural plaque)	高濃度～低濃度曝露
腫瘍性アスベスト関連疾患	
・原発性肺癌 (bronchogenic carcinoma)	高濃度曝露
・中皮腫 (mesothelioma)	高濃度～低濃度曝露

2.3.2 発育経過

MPMは壁側胸膜の顆粒状腫瘍として初発し、同時に胸水貯留を呈する。早期には腫瘍は壁側胸膜に局限し、同じ壁側胸膜にそって播種される。この時期の臓側胸膜面には播種性腫瘍が認められない (IMIG分類 T1a)。次に臓側胸膜に播種されるようになり (IMIG分類 T1b)、その後、全ての胸膜面を埋め尽くす様に発育する (IMIG分類 T2)。T2のCT像 (図3)はMPMの特徴的な発育形態を示し臨床診断の助けになる。同時に、肺実質、横隔膜への浸潤が始まり、進行すると腹腔に達し腹水貯留を来す。病期が進行すると胸腔内は胸水貯留よりも腫瘤形成が主体となる。胸膜は著明に肥厚し、患側胸郭は徐々に狭小化し、心膜に浸潤すると心嚢液貯留をきたす。

MPMのTNM分類にはIMIG (International Mesothelioma Interest Group) 分類が用いられている。

2.3.3 臨床症状

胸壁浸潤が始まると胸痛や背部痛を自覚する。最も多い臨床症状は呼吸器困難と胸痛である。臨床的に確認することができる最も早期の臨床所見は胸水である。縦隔を変位させる程の胸水貯留もあり、呼吸困難を自覚する。病初期にはドレナージしてもすぐに再貯留するが、進行すると腫瘤形成が主体となり、ドレナージ後も縦隔変位は元に復さなくなる。遠隔転移の頻度は肺癌よりも少ないが、周囲への浸潤が著明であり、胸壁、縦隔、横隔膜に進展しやすい。胸壁、椎体に浸潤すると疼痛が高度になる。



図3 悪性胸膜中皮腫 T2期のCT所見 (全周性の胸膜肥厚が認められる)

3. 診断

3.1 中皮腫の病理組織亜型

中皮腫は上皮型 (epithelioid type, 60%), 肉腫型 (sarcomatoid type, 10%), およびそれらの混在する二相型 (biphasic type, 30%) の病理組織亜型に分類されている。組織亜型は重要な予後因子であり、形態学的な亜分類は重要である。上皮型は治療に対する反応性がよいが、肉腫型はあらゆる治療に抵抗し予後が悪い。稀な特殊亜型として、線維形成型中皮腫やリンパ組織球性中皮腫などがある。前者は腫瘍の50%以上が硝子化線維組織で占められ、良性の線維性胸膜炎との鑑別が問題となる。後者は50%以上がリンパ腫様の病理像を示し、リンパ球・組織球様細胞がそれぞれのマーカーに染色される。高分化型乳頭状中皮腫は中年女性に好発する低悪性度の中皮腫であり、まれに胸膜に発生するが、多くは腹膜発生である。

3.1.1 病理診断

中皮腫の病理診断はHE染色を基本に中皮腫陽性マーカー・中皮腫陰性マーカーの免疫染色性を基に判断する(表3)²⁷⁾。前者は中皮腫が陽性所見を示すカルレチニン、サイトケラチン5/6、WT-1、D2-40などであり、後者は、中皮腫は染色されず、腺癌が陽性所見を示す。これにはCEA、Ber-EP4やTTF-1などがある。

表3 上皮型中皮腫と腺癌との鑑別に有用な中皮腫陽性マーカーと陰性マーカー²⁷⁾

抗体	中皮腫 (陽性率)	腺癌 (陽性率)	有用性
中皮腫陽性マーカー			
Calretinin	陽性 (80-100% ; strong & diffuse)	通常陰性 (5-10% ; focal)	極めて有用
Keratin CK5/6	陽性 (75-100%)	通常陰性 (2-10% ; focal)	極めて有用
WT-1	陽性 (43-93%)	陰性 (0%)	極めて有用
D2-40 (Podoplanin)	陽性 (80-100%)	通常陰性 (7% ; focal)	極めて有用
中皮腫陰性マーカー			
CEA monoclonal	陰性 (5%以下 ; focal)	陽性 (50-90%)	極めて有用
Ber-EP4	通常陰性 (20%以下 ; focal)	陽性 (95-100% ; strong)	極めて有用
TTF-1	陰性 (0%)	陽性 (70-85%)	極めて有用
MOC-31	陰性 (2-10% ; focal)	陽性 (95-100%)	極めて有用
Leu-M1 (CD-15)	陰性 (0%)	陽性 (50-70%)	有用

3.1.2 鑑別診断

上皮型は肺腺癌と、肉腫型は肉腫や多形癌と、二相型は胸膜滑膜肉腫との鑑別が必要である。臨床的に最も問題となるのは、極めて早期のMPM (in-situ mesothelioma) と反応性中皮細胞増生 (atypical mesothelial hyperplasia : AMH) との鑑別である。中皮細胞は胸膜の胸腔側を単層に覆っているが、何らかの刺激を受けると増殖し、しばしば胸膜面から遊離して胸水中にやや異型性を帯びた球状浮遊細胞になる。早期のMPMを疑う症例が発見されても、AMHとの鑑別が難しいため根治的治療に踏み込めないことが多い。IMIGの中皮腫病理診断コンセンサス・ステイトメント²⁷⁾では、MPMはEMA、p53、GLUT-1の陽性率が高く(45%~89%)、一方、反応性中皮細胞増生ではこれらの陽性率が低いものに対してDesminの陽性率が高いこと(80%)、細胞密度が胸腔側に高く、深部の間質には見られないことなどが鑑別に役立つとしている。特殊亜型の線維形成型中皮腫 (desmoplastic mesothelioma) の病理像は良性の線維性胸膜炎に類似している。両者の鑑別はとりわけ難しい。線維形成型中皮腫には僅かな壊死像や限局的な肉腫巣“sarcomatoid foci”が見られ、鑑別に役に有用である。

3.1.3 胸水細胞診

MPMの病理診断の第一歩は胸水細胞診である。しかしながら、細胞診による中皮腫診断には多くの議論がある。IMIG中皮腫病理診断コンセンサス・ステイトメント²⁷⁾では、細胞診でMPMが疑われた場合、組織での確認と臨床データ、画像所見で診断を支持できるものであることを要求している。ERS/ESTSガイドライン²⁸⁾も同様に、細胞診を基にした診断には“high risk of diagnostic error”が起こることを指摘し、細胞診のみの診断はすべきではないとしている。

4. 治療の現状と問題点

4.1 外科治療

4.1.1 外科治療法の現状と問題点

外科治療には、胸膜・肺・横隔膜を一塊として切除する胸膜肺全摘術 (EPP) と患側肺を温存する胸膜切除/肺剥皮術 (P/D) がある。手術侵襲の面からはP/Dの方がEPPよりも選択しやすいが、根治性の指標である肉眼的完全切除率はEPPの方が高い。ところが、MPMはEPPによる完全切除を受けても、胸膜の解剖学的な問題から局所再発は極

めて高率に発生する。何れの術式も、腫瘍細胞の顕微鏡的遺残は避けられず、根治性はR1切除になり、化学療法や放射線療法との併用が必要となる。従って、外科治療は化学療法や放射線療法を組み合わせた集学的治療の一環として実施され、手術単独での治療は意味がない。欧米では腫瘍減量術 (debulking surgery) が実施されることがある。これは腫瘍性に肥厚した臓側胸膜を剥皮し、肺の再膨張を図るとともに他の治療法の効果を高めることが目的であるが、本邦で行われることは殆どない。

侵襲的なMPMに対する外科治療の有効性を明らかにするには無作為化試験での証明が必要である。極めて重要な点であるが、完全切除が可能なMPMに対して、外科治療を行わない治療群 (化学療法単独) を対照とした無作為化比較試験が実際に遂行可能なかどうか、まずその点の確認が必要である。症例の組入れが非常に難しいことが予想されるため、1年間に50例の無作為化組入れをprimary endpointとする臨床試験が英国で実施された (MARS randomized feasibility study)。MARS studyの結果は、世界中の関心が高まる中、2011年に明らかにされた。その結果、EPP群 (24例) と化学療法単独群 (26例) の比較では、EPPは化学療法単独治療よりも治療成績は明らかに劣っているというものであった²⁹⁾。EPP群には手術関連死亡が15.8%と高く、他にも多くの手術関連合併症が見られ、MPM治療におけるEPPの役割を否定するものであった。このMARS studyの報告に関しては生物統計上の大きな問題があることを指摘する報告がある³⁰⁾。

4.1.2 術式は胸膜肺全摘術 (EPP) か胸膜切除/肺剥皮術 (P/D) か?

ERS/ESTSガイドライン²⁸⁾は、P/Dを緩和のための外科治療法に位置付けているが、最近のP/Dの評価は明らかに変わってきている。従来、P/DはEPPに比べて完全切除率が低く、生存期間もEPPより短いと思われてきた。ところが、P/Dの局所再発率はEPPの2倍であるが、生存期間が有意に長いことが後ろ向きの検討で示され³¹⁾、患側肺を温存した方が治療成績がよい可能性が示唆されている。肺を温存しても肉眼的完全切除は技術的に可能であり、Friedbergらの後ろ向き研究では、P/Dに横隔膜切除±心膜切除を追加するExtended P/D (広範胸膜切除・肺剥皮術) により、38例中37例 (97%) に肉眼的完全切除が得られていることを報告している³²⁾。また、無作為化比較試験ではないが、P/D、EPPのそれぞれの集学的治療の前向き試験では、P/DのMST、2年生存率、5年生存率が勝っている³³⁾。

P/Dは緩和的な外科治療法であったが、胸膜中皮腫に対する“surgery-based multimodal treatment”の治療概念の基で、EPPが不適またはEPPを希望しない患者に対する術式との認識が呼吸器外科医に生まれている。何れの術式も根治性はR1切除になり、化学療法や放射線療法との併用が必要となる。

早期の胸膜中皮腫 (T₁N₀M₀) にP/Dはよい適応であり、肉眼的完全切除を得ることは可能である。一方、早期例には根治性の高いEPPを選択すべきであるとの意見もある。T₂以上に腫瘍が発育すると肺内に腫瘍細胞が浸潤するため、P/Dでは完全切除が不可能になり拡大術式のEPPが必要になる。縮小手術のP/DはEPPよりも治療関連死や術後合併症が少ないという認識であるが、P/D対EPPの比較試験がないので、あくまでも専門医の経験での意見である。現在、患側肺の温存を図る胸膜中皮腫の縮小術式のP/Dが、広範囲に切除する拡大術式のEPPと同等であるのか否か、EPP対P/Dの比較が大きな課題である。

4.2 放射線治療

中皮腫は全ての胸膜に拡がるため照射野が広く、肺・肝・心などの主要臓器への影響が避けられない。従って、通常分割照射による根治照射はEPP後に実施され、外科治療および化学療法との集学的治療の一環として実施される。EPPにより肉眼的完全切除が得られても、胸膜の解剖学的な問題で術後の再発率は非常に高く、術後放射線治療は局所再発の制御に重要である。EPP後の通常の3D照射法 (Conventional 50-54Gy/25-30 fractions) による局所再発率は、0~10%と良好であったとする報告³⁴⁻³⁶⁾がある一方で、80%以上に再発が見られたとの報告もある³⁷⁾。術後放射線治療の有効性に関して、現在、術前化学療法 (CDDP + PEM) に続くEPP±術後放射線治療の第II相無作為化比較試験がEUで進行中である。

強度変調放射線治療 (Intensity-modulated radiotherapy: IMRT) は胸膜中皮腫の様な複雑な形状の腫瘍に適している。胸膜中皮腫に対するIMRTは、導入当初には致死的な合併症が発生したが^{38,39)}、最近の技術の進歩でEPP後のIMRT

に期待が持たれている³⁹⁾。ERS/ESTSの診療ガイドライン(2010年)では、肺を温存した状態での根治照射は禁忌であったが²⁸⁾、Memorial Sloan KetteringのRosenzweigらはP/D後の20例を含む36例にIMRTを実施し、肺臓炎での急性肺毒性での死亡が1例であり、患側肺を温存した状態でも根治照射が可能であることを報告している⁴⁰⁾。しかし、現段階では肺が温存された状態での放射線治療は通常行うべきではなく、IMRTを用いたP/Dの術後照射は日常臨床で選択する治療法ではなく、臨床試験として行うべきである。

4.3 化学療法

4.3.1 初回化学療法

シスプラチン(CDDP)と葉酸拮抗剤であるペメトレキセド(PEM)の併用化学療法の成績が、CDDP単剤投与をコントロールアームとした第Ⅲ相比較試験で示されて以来、CDDP+PEMが胸膜中皮腫の標準的初回化学療法に位置付けされている⁴¹⁾。この臨床試験でCDDP+PEMの奏効率は41.3%、無進行期間中央値(median time to progression; TTP)が5.7か月であり、CDDP単剤投与群より生存期間中央値(Median survival time; MST)が有意に延長し(12.1か月)、肺機能や疼痛の改善も得られている。PEMが臨床に供される前の中皮腫化学療法のキードラッグであったゲムシタビン(GEM)は、PEMと相乗作用を示し、GEM+PEM併用療法が初回化学療法で検討されたが、CDDP+PEMの成績を凌駕するものではなかった⁴²⁾。

CDDPの投与が適さない場合にはカルボプラチン(CBDCA)を用いることが多いが、無作為化比較試験ではないが、CBDCA+PEM(n=861)とCDDP+PEM(n=843)の比較では、それぞれの奏効率は21.7%、26.3%、TTPは6.9M、7M、1年生存率は64%、63.1%であり、ほぼ同等の成績であり⁴³⁾、単アームでのCBDCA+PEMの成績は奏効率が19-22%、MSTが13-15か月である⁴⁴⁾。胸膜中皮腫の初回化学療法にCDDPに代えてCBDCAを使っても効果は期待できる。

PEM上市前の88治療アーム(1965~2001年)のメタアナリシスの結果は、奏効率に限れば、併用療法ではCDDP+ドキシソルビシン(28.5%; p<0.001)が、単剤ではCDDPが最もactiveであった⁴⁵⁾。CDDPを基本とする併用化学療法は、CDDP+GEM、CDDP+イリノテカン、CDDP+ビノレルビン(VNR)の奏効率は概ね25-30%であるが、これらはPEMを含む化学療法後の二次療法に用いられるようになっている。

4.3.2 二次化学療法

PEMを含まない前治療歴がある中皮腫の二次化学療法はPEM単剤で行うが⁴⁶⁾、我が国では2007年からPEMが使われているので、二次化学療法の対象例の殆どはPEMを含む化学療法を受けている。PEM既治療例に対するGEM+VNRの効果は、奏効率10%、MSTは10.9ヶ月であり⁴⁷⁾、GEM+オキサリプラチンはそれぞれ6.9%、6.1か月である⁴⁸⁾。また、PEMによる一次療法が奏効した症例の場合は、再投与が奏効することがある⁴⁹⁾。化学療法の継続期間に関しては、ERS/ESTSの中皮腫ガイドライン²⁸⁾はSDには6コースまで行うことを記載しているが、エビデンスはない。

CALGB(CALGB30901)は、現在、PEM単剤による維持療法と無治療の無増悪生存時間をPrimary Endpointとして、PEM+CDDPまたはPEM+CBDCAによる初回化学療法後に、第Ⅱ相無作為化比較試験を行っているが、初回化学療法後のPEM単剤による維持療法の有益性に関するデータがないのが現状である。

5. 治療法、診断法開発の動向

5.1 鉄・酸化ストレスに焦点を当てた診断・治療法の開発

アスベスト繊維の中で高率に中皮腫を発生させるクロシドライトの鉄含有量は多く、36%が鉄分である。従来、鉄を介した酸化ストレスが中皮腫発生メカニズムの1つの機序として考えられてきた。アモサイトも同様であるが、クリソタイルは繊維成分に鉄分を含まず、また吸入後の肺内滞留時間も短いため、発癌プロセスに酸化ストレスの関与は考えにくかった。しかし最近、Jiangらは成分に鉄を含まないクリソタイルによるラット発癌モデルでも過剰鉄が中皮腫の発生に関与している可能性を明らかにしている⁵⁰⁾。

アスベスト繊維表面の荷電の影響による活性酸素種・活性窒素種産生により中皮細胞が傷害されるが、生体はチオレドキシシン、還元グルタチオンなどが抗酸化的な防御機構として作用する。正常中皮細胞にはチオレドキシシン mRNA やチオレドキシシン還元酵素 mRNA の発現はないが、胸膜中皮腫では高発現している¹²⁾。また、血清チオレドキシシン-1のレベルは中皮腫患者で有意に高くなっていることが示されている¹³⁾。

中皮腫の高危険群に対する化学予防は不成功に終わっているが、キレート剤による鉄負荷の軽減が化学予防に役に立つ可能性は残されている。

5.2 グリコサミノグリカンを標的とした中皮腫治療法

中皮腫の大きな特徴に腫瘍組織中に含まれる多量のグリコサミノグリカン (GAG) があり、ヒアルロン酸 (HA)、コンドロイチン硫酸の増加が知られている⁵¹⁾。かつては胸水中の HA 定量や組織中の HA の証明などが診断に用いられてきた。HA は HA レセプターである CD44 とともに、中皮腫細胞の遊走、増殖・転移、血管新生等の関与が示されている。治療では腫瘍組織中の GAG をターゲットとして、かつては GAG を消化するヒアルロニダーゼを併用した治療法が 1990 年以前に行われていた。現在、GAG を標的とした治療法は、GAG 自体よりも GAG 産生を促進する血小板由来増殖因子 (PDGF) に目が向き、PDGF の経路を抑制するイマチニブを用いた探索的治療が行われている。イマチニブは、単剤では効果がなかったが⁵²⁾、前臨床試験ではあるが GEM との併用で相乗効果が示されている⁵³⁾。PDGF-D は中皮腫細胞の自己増殖因子であり⁵⁴⁾、PDGF-D/PDGF- β receptor は中皮腫細胞の遊走に関与している⁵⁵⁾。中皮腫細胞の遊走能は、胸壁浸潤などの MPM の病態形成に大きく関連しているため、PDGF 標的中皮腫治療法の開発は待たれるところである。

5.3 血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) と循環血管内皮細胞数

中皮腫は血清および胸水中の血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) のレベルが高く、予後と逆相関している⁵⁶⁾。VEGF のモノクローナル抗体であるベバシズマブが中皮腫に臨床応用されたが、CDDP + GEM 土ベバシズマブの無作為化比較試験では血管新生阻害薬の有効性が示されなかった⁵⁷⁾。また、PDGF、VEGF を同時に抑制するスニチニブの奏効率は 10%、パタラニブは 11% であり、今の所、血管新生を標的とした治療に芳しい成績は得られていない。中皮腫の循環血管内皮細胞数 (Circulating Endothelial Cell ; CEC) には増加が見られ、CEC が 50 個/末梢血 (4.0 mL) 以上では予後が非常に悪くなる⁵⁸⁾。

5.4 メソテリン標的療法

メソテリン (mesothelin) は正常中皮細胞に存在する 40kDa の cell surface glycoprotein であり、中皮腫や卵巣癌などで高発現していることが知られている。メソテリンの生理的な役割は不明であるが、正常組織での発現が非常に限局しているので、メソテリン高発現腫瘍に対して有力な分子標的となる⁵⁹⁾。抗メソテリン免疫毒素 (Anti-mesothelin immunotoxin) である SS1P は、単剤での第 I 相試験が終了し、中皮腫に対して CDDP + PEM と SS1P の併用投与の第 I 相試験が初回治療として行われ、14 例中 7 例が PR、3 例が SD という結果であった。また、奏効例では血清メソテリンのレベルが有意に低下している⁶⁰⁾。同じく、単剤での第 I 相試験が終了した抗メソテリン・キメラ型抗体 (MORAb-009) の CDDP + PEM との併用による第 II 相試験の成績はまだ明らかにされていない。CRS-207、BAY 94-9343 を始め、中皮腫に対する癌ワクチン療法の臨床成績は明らかではない。

5.5 その他の治療法

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるボリノスタットは、現在、皮膚 T 細胞リンパ腫 (菌状癌と Sezary 症候群) で使用されている。ボリノスタットは中皮腫細胞の TRAIL (TNF- α related apoptosis-inducing ligand) 感受性を高め、PEM 既治療例に対する第 I 相試験では 15% の奏効率が得られ、プラセボとの第 III 相比較試験は終了している。

- 21) Bott M, et al. *Nat Genet.* 43 : 668-672, 2011
- 22) Miki Y, et al. *Science* 266 : 66-71, 1994
- 23) Yoshikawa A, et al. *Cancer Sci*, 103 ; 868-874, 2012
- 24) Mereer RR, et al. *Part Fibre Toxicol*, 7 : 28-38, 2010
- 25) Song Y, et al. *Eur Respir J.* 34 : 559-567, 2009
- 26) Pacurari M, et al. *Environ Health Perspect.* 116 : 1211-1217, 2008
- 27) Husain AN, et al. *Arch Pathol Lab Med*, 133 : 1317, 2009
- 28) Scherpereel A, et al. *Eur Respir J*, 35 : 479-95, 2010
- 29) Treasure T, et al. *Lancet Oncol*, 12 : 763-772, 2011
- 30) Weder W, et al. *Lancet Oncology*, 12 : 1093-1094, 2011
- 31) Flores RM, et al. *J Thoracic Cardiovasc Surg*, 135 : 620-26, 2008
- 32) Friedberg J, et al. *Ann Thorac Surg.* 93 : 1658-67, 2012
- 33) Lang-Lazdunski L, et al. *J Thorac Oncol.* 7 : 737-43, 2012
- 34) Hasani A, et al. *J Thorac Oncol.* 4 : 1010-1016, 2009
- 35) Rusch VW, et al. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 122 : 788-795, 2001
- 36) de Perrot M, et al. *J Clin Oncol.* 27 : 1413-1418, 2009
- 37) Weder W, et al. *Ann Oncol.* 18 : 1196-1202, 2007
- 38) Allen AM, et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 65 : 640-645, 2006
- 39) Chi A, et al. *J Thorac Oncol.* 6 : 1132-41, 2011
- 40) Rosenzweig KE, et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 83 : 1278-1283, 2012
- 41) Vogelzang NJ, et al. *J Clin Oncol*, 21 : 2636-2644, 2003
- 42) Janne PA, et al. *J Clin Oncol.* 26 ; 1465-1471, 2008
- 43) Santoro A, et al. *J Thorac Oncol* 3 ; 756-763, 2008
- 44) Ceresoli GL, et al. *J Clin Oncol.* 24 ; 1443-8, 2006
- 45) Berghmans T, et al. *Lung Cancer*, 38 : 111-121, 2002
- 46) Jassem J, et al. *J Clin Oncol.* 26 : 1698-704, 2008
- 47) ucali PA, et al. *Cancer* 112 : 1555, 2008
- 48) Xanthopoulos A, et al. *J Occup Med Toxicol.*, 2008, 3 : 34 doi : 10. 1186/1745-6673-3-34
- 49) Ceresoli GL, et al. *Lung Cancer*, 72 : 73-77, 2011
- 50) Jiang L, et al. *J Pathol*, 2012 [Epub ahead of print]
- 51) Nakano T, et al. *Cancer*, 57 : 106-110, 1986
- 52) Mathy A, et al. *Lung Cancer*, 50 : 83-86, 2005
- 53) Bertino P, et al. *Clin Cancer Res*, 14 : 541-548, 2008
- 54) Honda M, et al. *Cell Physiol Biochem.* 29 : 667-674, 2012
- 55) Okada A, et al. *Cell Physiol Biochem.* 29 : 241-250, 2012
- 56) Hirayama N, et al. *Respir Med*, 105 : 137-142, 2011
- 57) Kindler HL, et al. *J Clin Oncol*, 30 : 2509-2515, 2012
- 58) Yoneda K, et al. *Ann Surg Oncol.* 2012 [Epub ahead of print]
- 59) Kelly RJ, et al. *Mol Cancer Ther*, 11 : 517-525, 2012
- 60) Hassan R, et al. *J Clin Oncol*, 129 : 15s, 2011 abstr
- 61) Fasola G, et al. *Oncologist.* 12 : 1215-1224, 2007
- 62) Reid A, et al. *T Occup Environ Med*, 62 : 665-669, 2005
- 63) Park EK, et al. *Am J Respir Crit Care Med*, 178 : 832-837, 2008

悪性中皮腫の血清診断における可溶性メソテリン関連ペプチド (SMRP : Soluble Mesothelin-related Peptides) の有用性に関する多施設共同試験

福岡 和也¹⁾・関戸 好孝²⁾・樋田 豊明³⁾・河原 邦光⁴⁾
 太田 三徳⁵⁾・松村 晃秀⁶⁾・岡田 守人⁷⁾・岸本 卓巳⁸⁾
 中野喜久雄⁹⁾・中野 孝司¹⁾

要 旨

悪性中皮腫の血清診断における可溶性メソテリン関連ペプチド (soluble mesothelin-related peptides : SMRP) の診断性能を多施設共同試験によって検討した。対象は、悪性中皮腫 85 例、比較対照疾患としての肺癌 240 例、良性呼吸器疾患 (石綿非関連良性疾患 136 例、石綿関連良性疾患 157 例)、高血圧・慢性心疾患 74 例および石綿曝露歴のない健常者 110 名。Chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) 法による血清 SMRP 濃度測定キット (ルミパルス[®] メソテリン) を用いて血清 SMRP 濃度を測定した。参考基準値を 1.5 nmol/L に設定した場合の各対象の陽性率は、悪性中皮腫 66%、肺癌 21%、石綿非関連良性疾患 18%、石綿関連良性疾患 15%、高血圧・慢性心疾患 9%、健常者 1%であった。また、悪性中皮腫における血清 SMRP 濃度は、比較対照群および健常者に比較して有意に高値であった。原発部位別の陽性率は、胸膜 65%、腹膜 86%であった。悪性胸膜中皮腫の各病期における SMRP 陽性率は、I 期 (64%)、II 期 (67%)、III 期 (55%)、IV 期 (69%) であった。また、各組織型における SMRP 陽性率は、上皮型 (65%)、二相型 (60%)、肉腫型 (75%)、であった。今回のルミパルス[®] メソテリンを用いた試験結果では、悪性中皮腫の血清診断における SMRP の診断性能は、これまでの報告と同等であった。さらに、悪性胸膜中皮腫早期例、肉腫型および腹膜中皮腫における診断的有用性も示唆された。

1) 兵庫医科大学内科学呼吸器 RCU 科 2) 愛知県がんセンター研究所分子腫瘍学部 3) 同 中央病院呼吸器内科 4) 大阪府立病院機構大阪府立呼吸器アレルギー医療センター病理診断科 5) 同 呼吸器外科 6) 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター呼吸器外科 7) 広島大学医学部腫瘍外科 8) 労働者健康福祉機構岡山労災病院内科 9) 国立病院機構呉医療センター呼吸器内科

Evaluation of the usefulness of SMRP (Soluble Mesothelin-related Peptides) for the diagnosis of malignant mesothelioma

Kazuya Fukuoka, Takashi Nakano et al *Division of Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine*

Key words : malignant mesothelioma (悪性中皮腫), SMRP, soluble mesothelin-related peptides (可溶性メソテリン関連ペプチド), biomarker (バイオマーカー), early detection of mesothelioma (悪性中皮腫の早期診断)

はじめに

悪性中皮腫 (malignant mesothelioma, MM) は体腔内面を広く覆う漿膜に発生する腫瘍で、胸膜、腹膜、心膜、および非常にまれではあるが、精巣鞘膜からも発生する。この中で、胸膜由来の悪性胸膜中皮腫 (malignant pleural mesothelioma : MPM) が最も多い。これまで、MM は非常にまれな疾患とされてきたが、本疾患と石綿曝露との密接な関連性が報告されてから半世紀が経過した現在、その罹患者数および死亡者数は世界的に急激な増加を辿っている^{1,2)}。MPM の予後は不良であり、生存期間中央値は 9~17 カ月とされている³⁾。MPM の早期発見は非常に困難であり、確定診断が得られた時点では、すでに進行期である症例が大多数を占める。MPM に対する標準的治療法はいまだに確立されておらず、手術療法によって腫瘍が肉眼的に完全切除されても治癒に至る症例は極めて少ない。したがって、治療成績の向上には、疾患の早期発見と手術療法に化学療法や放射線療法などを組み合わせた集学的治療を確立することが極めて重要な役割を果たす⁴⁾。

MPM の早期診断には、画像検査や胸腔鏡検査の進歩とともに、血清や体腔液診断に有用なバイオマーカーの開発が必要不可欠である。現在、MPM の血清診断における新規バイオマーカーとして最も注目されている分子が、可溶性メソテリン関連ペプチド (soluble mesothelin-related peptides : SMRP) である⁵⁾。SMRP 本体の蛋白であるメソテリンは、睪嚢腫、卵巣癌、中皮腫やその他の癌に過剰発現する 40 kDa の細胞膜表面に存在する糖蛋白である。メソテリンは癌特異的抗原ではなく、胸膜、腹膜および心膜の正常中皮細胞にも発現する分化抗原と考えられている。メソテリンの遺伝子は 69 kDa の前駆蛋白 (mesothelin/megakaryocyte potentiating factor : MPF family proteins) をコードし、この糖蛋白は furin-like proteinase で切断後 N 末端側は 31 kDa の MPF として血中に放出される。C 末端側 40 kDa の糖蛋白は

メソテリンとして細胞膜に結合している。メソテリンには 3 種類の variant form が知られおり、そのうちのひとつは修飾されたカルボキシル基終末をもち、GPI アンカーを欠如するため細胞膜から遊離する。この soluble isoform が SMRP に相当するとされる⁶⁾。2003 年、Robinson らは血清 SMRP の MPM における診断的意義に関する最初の報告を行った⁷⁾。近年、SMRP を認識する 2 種類のモノクローナル抗体 (OV569 と 4H3) を用いた新しい定量的 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) キットである MESOMARK™ の開発によって、血清 SMRP 濃度の測定が可能となった。このキットを用いて、SMRP の MPM に対する診断性能を検討した研究が欧米や豪州から報告されている^{8)~16)}。

今回、われわれは、MESOMARK™ と同一の抗体を用いた chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) 法による血清 SMRP 濃度測定キット (ルミパルス® メソテリン) を用いて、MM 血清診断における SMRP の診断性能を多施設共同試験によって検討した。

I. 試験実施施設および対象

本試験は、愛知県がんセンター、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター、国立病院機構近畿中央胸部疾患センター、兵庫医科大学、兵庫県立成人病センター、労働者健康福祉機構岡山労災病院、国立病院機構呉医療センターの合計 7 施設にて、各施設の倫理委員会の審査・承認を受けて、2005 年から 2006 年に多施設共同試験として実施した。

対象は、各施設を受診した MM 患者および対照疾患患者のうち、試験参加に関して文書で同意が得られた被験者および健常者 (石綿曝露歴のない院内ボランティア) の計 802 例である。MM85 例のうち、MPM は 77 例で、7 例が悪性腹膜中皮腫、1 例が精巣鞘膜由来の中皮腫であった。比較対照疾患の内訳は、肺癌、良性呼吸器疾患 (石綿非関連良性疾患および石綿関連良性疾患)、石綿曝露歴のない高血圧・慢性心疾

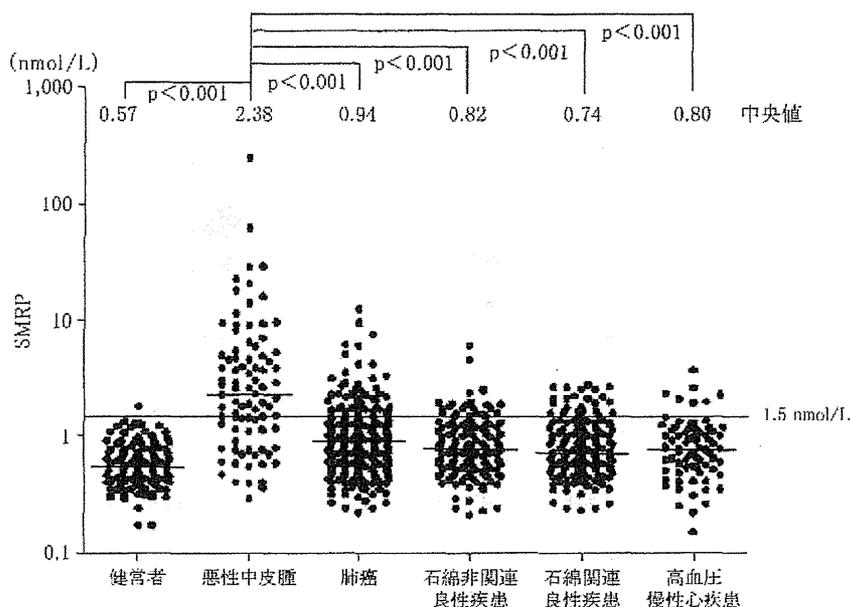


図 1 悪性中皮腫および対照疾患における血清 SMRP 濃度の分布

表 1 悪性中皮腫および対照疾患における血清 SMRP 濃度および陽性率

	健常者	悪性中皮腫	肺癌	石綿非関連 良性疾患	石綿関連 良性疾患	高血圧・ 慢性心疾患
症例総数	110	85	240	136	157	74
中央値 (nmol/L)	0.57	2.38	0.94	0.82	0.74	0.80
SD (nmol/L)	0.30	28.57	1.36	0.74	0.58	0.62
陽性数	1	56	51	24	24	7
陽性率	1%	66%	21%	18%	15%	9%

SD : standard deviation

患であった (表1)。

II. 血清 SMRP 濃度の測定

すべての被験者に対して採血を実施し、速やかに血清を分離後、 -80°C にて凍結保存した。

血清 SMRP 濃度は、体外診断用医薬品として2010年10月に認可されたルミパルス[®]メソテリン (富士レピオ株式会社製造) を用いて測定した。本キットは、米国、カナダ、ヨーロッパおよびオーストラリア等で販売されているELISA法によるSMRP測定キットである

MESOMARKTMと同一の抗体を用いた、2ステップサンドイッチ法に基づくCLEIA法によるSMRP測定試薬である。本試薬は、全自動化学発光酵素免疫測定システム用試薬であり、約30分間で測定が完了し、測定範囲は0.1から100 nmol/Lに及ぶ。MESOMARKTMとの相関性は、ほぼ1:1であり、同等の測定結果の得られることが報告されており、参考基準値は両者ともに1.5 nmol/Lに設定されている⁹⁾¹⁷⁾。

統計学的解析には、statistical package for social science (SPSS) を使用し、2群間の有意

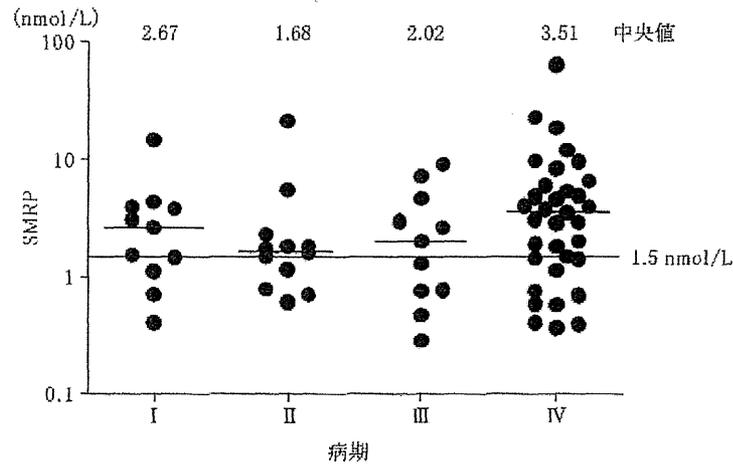


図2 悪性胸膜中皮腫の各病期における血清 SMRP 濃度の分布

表2 悪性胸膜中皮腫の各病期における血清 SMRP 濃度および陽性率

	I	II	III	IV
症例総数	11	12	11	35
中央値 (nmol/L)	2.67	1.68	2.02	3.51
SD (nmol/L)	3.92	5.67	2.93	11.05
陽性数	7	8	6	24
陽性率	64%	67%	55%	69%

SD : standard deviation

差検定は Mann-Whitney 検定を用いて行った。各図中には測定値の中央値を示した (単位は nmol/L)。

III. 結 果

1. 健常者における血清 SMRP 濃度

石綿曝露歴のない健常者 110 例の血清 SMRP 濃度を測定し、測定結果を対数変換した結果、SMRP 測定値の正規分布が確認された。SMRP 測定値は、1 例 (1.86 nmol/L) を除き、すべて参考基準値 (1.5 nmol/L) 未満であった (陰性率 99.1%)。

2. MM および比較対照疾患における血清 SMRP 濃度および陽性率 (図 1, 表 1)

血清 SMRP 濃度の参考基準値を 1.5 nmol/L

とした場合、この値よりも高値を示す症例の割合 (陽性率) は、それぞれ MM66% (56/85 例)、肺癌 21% (51/240 例)、石綿非関連良性疾患 18% (24/136 例)、石綿関連良性疾患 15% (24/157 例)、高血圧・慢性心疾患 9% (7/74 例) であった。MM における血清 SMRP 濃度は、比較対照群および健常者に比較して有意に高値であった。MM の原発部位別の陽性率は、胸膜 65% (50/77 例)、腹膜 86% (6/7 例) であった。

3. MPM 各病期における血清 SMRP 濃度および陽性率 (図 2, 表 2)

病期が確定した MPM69 例について、各病期における血清 SMRP 濃度および陽性率を検討した結果、各病期間での血清 SMRP 濃度に有意差はなく、陽性率は、それぞれ I 期 64% (7/

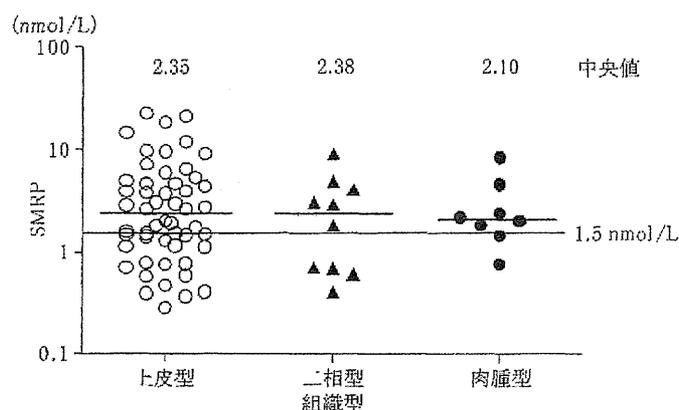


図3 悪性胸膜中皮腫の各組織型における血清 SMRP 濃度の分布

表3 悪性胸膜中皮腫の各組織型における血清 SMRP 濃度および陽性率

	上皮型	二相型	肉腫型
症例総数	52	10	8
中央値 (nmol/L)	2.35	2.38	2.10
SD (nmol/L)	5.19	2.72	2.48
陽性数	34	6	6
陽性率	65%	60%	75%

SD : standard deviation

11例), II期 67% (8/12例), III期 55% (6/11例), IV期 69% (24/35例)であった。

4. MPM 各組織型における血清 SMRP 濃度および陽性率 (図3, 表3)

組織型の確定し得た MPM70例の内訳は, 上皮型 52例, 二相型 10例, 肉腫型 8例であった。各組織型間における血清 SMRP 濃度に有意差はなく, 陽性率は, それぞれ上皮型 65% (34/52例), 二相型 60% (6/10例), 肉腫型 75% (6/8例)であった。

IV. 考 察

近年, SMRP を認識する 2 種類のモノクローナル抗体 (OV569 と 4H3) を用いた新しい定量的 ELISA キットである MESOMARK™ の開発によって, 血清 SMRP 濃度の測定が可能と

なった⁸⁾⁻¹⁶⁾。これらの報告では, 血清 SMRP 濃度は健常者および石綿曝露者, 石綿関連良性胸膜疾患, 肺癌などの対照疾患に比較して, MM において有意に上昇していた⁸⁾⁻¹⁶⁾。MESOMARK™ と同一の抗体を使用した CLEIA キットであるルミパルス® メソテリンを用いた本試験においても, 血清 SMRP 濃度は, 健常者および肺癌, 良性呼吸器疾患, 高血圧・慢性心疾患に比較して MM において有意に上昇していた。この結果は, MM 血清診断における SMRP の高い診断性能と測定結果の普遍性および再現性を意味するものと考えられた。これまでの MESOMARK™ を用いた測定報告では, MM における血清 SMRP 濃度中央値は 0.79 から 2.39 nmol/L の範囲に分布していた⁵⁾⁻¹⁶⁾。本試験における MM の血清 SMRP

濃度中央値も 2.38 nmol/L であり、この範囲内に含まれていた。参考基準値（カットオフ値）に関しては、健常者を対象とした結果から、MESOMARK™ およびルミパルス® メソテリンともに、1.5 nmol/L に設定されている⁹⁾¹⁷⁾。本試験において、健常者 110 名のうち 99% が、血清 SMRP 濃度 1.5 nmol/L（参考基準値）未満であった。この参考基準値の条件下で、MM における SMRP の陽性率（感度）は 66% であった。一方、これまでの MESOMARK™ を用いた測定報告では、SMRP の感度は 48% から 80%（中央値 68.2%）と報告されており、ルミパルス® メソテリンの感度もこれらの測定報告に匹敵するものと考えられる。

MPM における SMRP 陽性率は 65% であり、腹膜中皮腫を含む MM 全症例の陽性率と概ね同等であった。MPM 各病期間での血清 SMRP 濃度と陽性率に有意差はなく、I-II 期においても、III-IV 期に匹敵する陽性率が得られた。このことは、本キットが高感度の測定系であることから、早期例においても血清 SMRP の検出が可能であることが推察された。Pass らは¹³⁾、II 期以上の症例は I 期症例に比較して血清 SMRP 濃度が有意に上昇することを報告しているが、その他の報告では病期と血清 SMRP 濃度との明らかな関連性は指摘されなかった⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾。今後、MPM 早期診断マーカーとしての SMRP の意義を明らかにするために、早期例を中心とした検討が必要になるものと考えられる。

MPM の各組織型と血清 SMRP 濃度との関連性に関して、本試験では、各組織型間での血清 SMRP 濃度と陽性率に有意差はなく、上皮型のみならず肉腫型においても 75% が陽性を示した。これまでの MESOMARK™ を用いた測定報告では、組織型と血清 SMRP 濃度との関連性については一定の見解が得られておらず、上皮型が肉腫型に比較して有意に高値であるという報告⁷⁾⁸⁾¹⁰⁾¹⁵⁾と、本試験と同様、各組織型間で有意差はないとする報告⁹⁾¹¹⁾¹³⁾¹⁴⁾とに分かれている。

MM の診断には、石綿曝露歴、臨床症状、血液生化学検査、画像および内視鏡検査、体腔液細胞診、生検病理組織診などを駆使した総合的なアプローチが必要とされる⁴⁾。しかしながら、高齢者や全身状態不良例では、侵襲的検査の適応外となることも多く、診断に苦慮する場合も少なくない。このような症例では、MM に対して診断性能の高いバイオマーカーによる血清診断が重要な役割を担う。ルミパルス® メソテリンによる血清 SMRP 濃度測定は、一般の血液検査と同様、患者から採取した血清または血漿を用いて全自動分析装置にて約 30 分間で測定が完了する。したがって、患者への侵襲もなく、技術的にも容易に短時間で測定結果を得ることが可能であることから、今後、本キットは、MM を疑う患者に対して汎用されていくことが予想される。また、MM 発症リスクの高い石綿曝露者を対象とした血液スクリーニング検査のひとつとして用いられることも想定される。

おわりに

現状では、石綿曝露者に発症した胸水貯留が良性石綿胸水であるのか、MPM の初期症状であるのかを鑑別することは困難である。しかし、この時期での診断機会を逸することは早期 MPM の発見を見逃すこととなる。今回の検討では、SMRP 測定が MPM の早期診断に有用なバイオマーカーとなることを示唆する結果が得られており、今後のさらなる研究の成果に期待が寄せられる。

文 献

- 1) 中野孝司. 悪性胸膜中皮腫. 呼吸 28 : 509-515, 2009.
- 2) 中野孝司. 悪性胸膜中皮腫（びまん性悪性胸膜中皮腫）. 別冊日本臨床 呼吸器症候群（第 2 版）10 : 380-384, 2009.
- 3) Tsao AS, Wistuba I, Roth JA, Kindler HL : Malignant pleural mesothelioma. J Clin Oncol 27 : 2081-2090, 2009.
- 4) 福岡和也, 田中文啓, 辻村 亨, 玉置知子, 長谷

- 川誠紀, 中野孝司 : 中皮腫に対する早期診断指標の探索的研究. 日衛誌 (Jpn. J. Hyg.) **66** : 553-557, 2011.
- 5) Scholler N, Fu N, Yang Y, Ye Z, Goodman GE, Hellstrom KE, Hellstrom I : 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.
- 6) Hassan R, Bera T, Pasten I : Mesothelin : a new target for immunotherapy. *Clin Cancer Res* **10** : 3937-3942, 2004.
- 7) Robinson BWS, Creaney J, Lake R, Nowak A, Musk AW, Klerk ND, Winzell P, Hellstrom KE, Hellstrom I : Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma. *Lancet* **362** : 1612-1616, 2003.
- 8) Scherpereel A, Grigorlu B, Conti M, Gey T, Gregoire M, Copin MC, Devos P, Chahine B, Porte H, Lassalle P : Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Am J Respir Crit Care Med* **173** : 1155-1160, 2006.
- 9) Beyer HL, Geschwindt RD, Glover CL, Tran L, Hellstrom I, Hellstrom KE, Miller MC, Verch T, Allard WJ, Pass HI, Sardesai NY : Mesomark : a potential test for malignant pleural mesothelioma. *Clin Chem* **53** : 666-672, 2007.
- 10) Cristaudo A, Foddìs R, Vivaldi A, Guglielmi G, Dipalma N, Filiberti R, Neri M, Ceppi M, Paganuzzi M, Ivaldi GP, Mencoboni M, Canessa PA, Ambrosino N, Chella A, Mutti L, Puntoni R : Clinical significance of serum mesothelin in patients with mesothelioma and lung cancer. *Clin Cancer Res* **13** : 5076-5081, 2007.
- 11) Creaney J, Van Bruggen I, Hof M, Segal A, Musk AW, de Klerk N, Horick N, Skates SJ, Robinson BW : Combined CA 125 and mesothelin levels for the diagnosis of malignant mesothelioma. *Chest* **132** : 1239-1246, 2007.
- 12) Amati M, Tomasetti M, Scartozzi M, Mariotti L, Alleva R, Pignotti E, Borghi B, Valentino M, Governa M, Neuzil J, Santarelli L : Profiling tumor-associated markers for early detection of malignant mesothelioma : an epidemiologic study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17** : 163-170, 2008.
- 13) Pass HI, Wali A, Tang N, Ivanova A, Ivanov S, Harbut M, Carbone M, Allard J : Soluble mesothelin-related peptide level elevation in mesothelioma serum and pleural effusions. *Ann Thorac Surg* **85** : 265-272, 2008.
- 14) Schneider J, Hoffmann H, Dienemann H, Herth FJF, Meister M, 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.
- 15) Creaney J, Yeoman D, Demelker Y, Segal A, Musk AW, Skates SJ, Robinson BWS : Comparison of osteopontin, megakaryocyte potentiating factor, and mesothelin proteins as markers in the serum of patients with malignant mesothelioma. *J Thorac Oncol* **3** : 851-857, 2008.
- 16) Portal JAR, Becerra ER, Rodriguez DR, Michavila IA, Martinez AQ, Roza CD, Jimenez AL, Montes II, Rivas PC : Serum levels of soluble mesothelin-related peptides in malignant and nonmalignant asbestos-related pleural disease : Relation with past asbestos exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **18** : 646-650, 2009.
- 17) 中町 衛, 桑原明子, 村上 弘, 皆川英孝, 森山和重 : ルミパルス メソテリンの基礎性能評価. 医学と薬学 **65** : 261-267, 2011.

* * *

REVIEW ARTICLE

悪性胸膜中皮腫の早期発見への糸口
—中皮腫の細胞学的特徴を分子レベルで考える—

辻村 亨¹・佐藤鮎子¹・鳥井郁子¹・
亀井敏昭²・長谷川誠紀³・中野孝司⁴

Clues to the Early Diagnosis of Malignant Pleural Mesothelioma
—Evaluation of Cytological Features at the Molecular Level—

Tohru Tsujimura¹; Ayuko Sato¹; Ikuko Torii¹;
Toshiaki Kamei²; Seiki Hasegawa³; Takashi Nakano⁴

¹Division of Molecular Pathology, Department of Pathology, Hyogo College of Medicine, Japan; ²Division of Pathology, Yamaguchi Grand Medical Center, Japan; ³Department of Thoracic Surgery; ⁴Division of Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** Cytological features of malignant pleural mesothelioma (MPM) in the pleural effusion cytology are cyanophilic thick cytoplasm, cell-in-cell engulfment, and multinucleated cells. There is a possibility that intermediate filaments are involved in the formation of cyanophilic thick cytoplasm, and cell adhesion molecules, which trigger cell fusion, play an important role in the formation of cell-in-cell engulfment and multinucleated cells. We examined the expression of intermediate filaments and cell adhesion molecules in MPM and reactive mesothelium (RM). **Methods.** The gene expression profiling of MPM and RM was analyzed by Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array. The expression of intermediate filaments in MPM was compared with that in RM. In addition, immunocytochemistry of CD146 was performed on cytological specimens of MPM and RM using 2 clones of CD146 antibody. **Results.** Various intermediate filaments were expressed in MPM at higher levels than those in RM. MPM were positive for CD146 by either clone, whereas RM were negative for both clones. **Conclusion.** The high expression of intermediate filaments in MPM may play a role in the formation of cyanophilic thick cytoplasm. CD146 and other cell adhesion molecules may participate in the formation of cell-in-cell engulfment and multinucleated cells.

(JLCC 2012;52:196-200)

KEY WORDS — Malignant pleural mesothelioma, Reactive mesothelium, CD146, Cell adhesion molecule, Intermediate filament

Reprints: Tohru Tsujimura, Division of Molecular Pathology, Department of Pathology, Hyogo College of Medicine, 1-1 Mukogawa-cho, Nishinomiya, Hyogo 663-8501, Japan (e-mail: tohru@hyo-med.ac.jp).

要旨 — **目的.** 悪性胸膜中皮腫 (MPM) の胸水細胞診では、細胞質に重厚感がみられ、細胞封入像や多核細胞が高頻度に出現する。細胞質の重厚感には中間径フィラメントが関与し、細胞封入や多核細胞の形成には細胞融合を促す細胞接着分子が重要な役割を果たしている可能性がある。そこで、我々は、MPMと反応性中皮 (RM) における中間径フィラメント及び細胞接着分子の発現を比較した。 **方法.** MPMとRMの遺伝子発現プロファイル

を Affymetrix Array により取得し、中間径フィラメントの発現を検討した。MPMとRMの細胞診標本を作製して、細胞接着分子 CD146 に対する抗体 (2種類のクローン) を用いて免疫染色を行った。 **結果.** MPMでは、RMに比較して、種々の中間径フィラメントが強く発現していた。CD146免疫染色では、MPMはどちらかのクローンに対して陽性を示したのに対して、RMはいずれのクローンに対しても陰性であった。 **結論.** MPMにお

¹兵庫医科大学病理学 (分子病理); ²山口県立総合医療センター病理科; 兵庫医科大学 ³呼吸器外科学, ⁴内科学 (呼吸器・RCU科).
別刷請求先: 辻村 亨, 兵庫医科大学病理学 (分子病理), 〒663-

8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1 (e-mail: tohru@hyo-med.ac.jp).

※第 51 回日本肺癌学会総会イブニングシンポジウム「中皮腫診断と細胞診」.

ける中間径フィラメントの高発現が、細胞質の重厚感を生み出していると考えられた。CD146などの細胞接着分子の高発現が、細胞封入や多核細胞の形成に関与してい

ることが示唆された。

索引用語——悪性胸膜中皮腫, 反応性中皮, CD146, 細胞接着分子, 中間径フィラメント

はじめに

悪性胸膜中皮腫 (malignant pleural mesothelioma, 以下 MPM) は胸水貯留で発症することが多く, 胸水検査が診断の第一歩になる。MPM では初期病変から胸水中に MPM 細胞が遊離して胸水細胞診が陽性になることが多く, 胸水細胞診は MPM の早期診断に重要な役割を担っている。MPM の胸水細胞診では, 細胞質の重厚感や細胞封入像が特徴的で, 2核以上の多核細胞も高頻度に出現する。¹ このような細胞学的特徴は, 癌細胞で集積された悪性細胞としての特徴 (核の大型化や核形の不整) とは大きく異なっている。

中間径フィラメントは, 細胞骨格を構成する線維であり, Type I: 酸性ケラチン, Type II: 塩基性ケラチン, Type III: ビメンチン, デスミン, グリア線維性酸性蛋白質, ペリフェリン, Type IV: ニューロフィラメント, インターネキシン, シネミン, シンコイリン, Type V: ラミン, Type VI: ネスチンに分類される。² MPM 細胞は

ケラチンばかりでなくビメンチンも発現し, 癌細胞よりも中間径フィラメントが発達していることから, MPM 細胞の細胞質が重厚感を来す機序に, 中間径フィラメントの関与が考えられる。また, MPM では2核細胞や多核細胞に加えて細胞封入像を高頻度に認めることから, 多核細胞の形成には細胞分離不全よりも細胞融合が深く関与すると考えられ, 細胞融合は細胞接着を第一歩として始まることを考え合わせると, 多核細胞の形成には細胞接着分子が重要な役割を果たしている可能性がある。そこで, 我々は, MPM と反応性中皮 (reactive mesothelium, 以下 RM) における中間径フィラメント及び細胞接着分子の発現を比較し, MPM の細胞学的特徴を分子レベルで検討した。

方法

1) 遺伝子発現プロファイル

MPM (16例) と RM (2例) を対象とした。生検された腫瘍組織及び体腔液に含まれる細胞を短期培養するこ

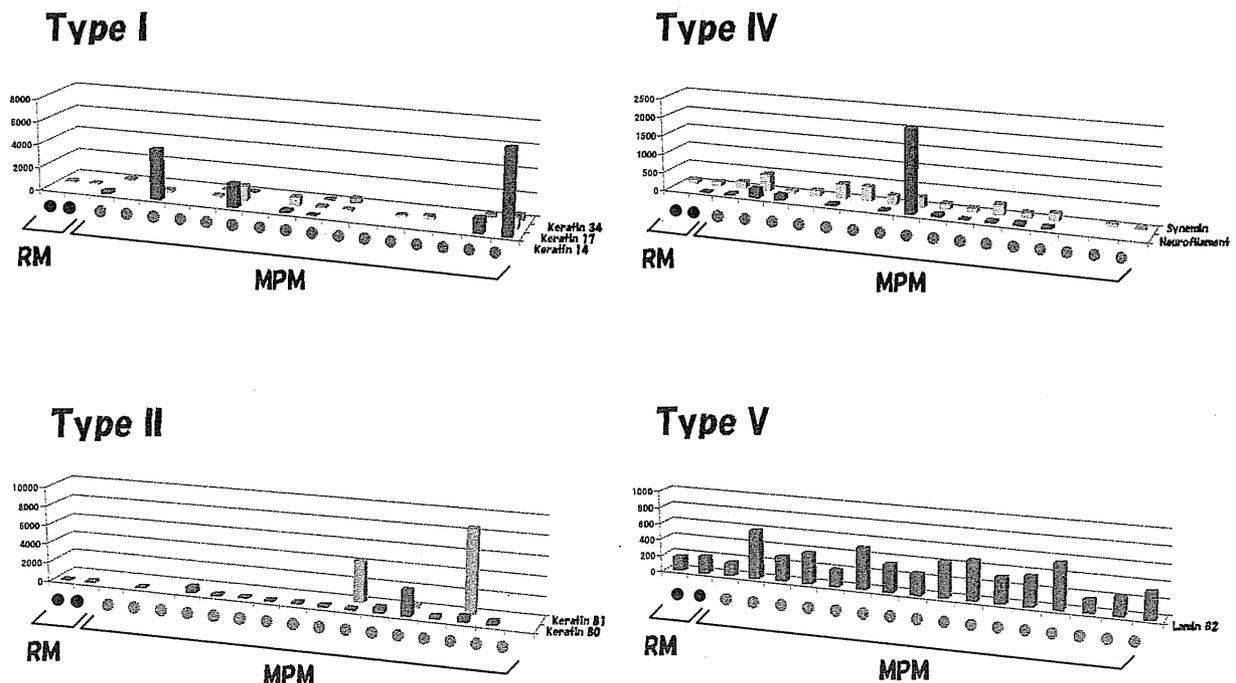


Figure 1. Expression of intermediate filaments in MPM. Various intermediate filaments, such as keratin 14, keratin 80, synemin, and lamin B2, are up-regulated in MPM, as compared with RM, at the mRNA level. A closed circle indicates each RM case, and a hatched circle each MPM case.

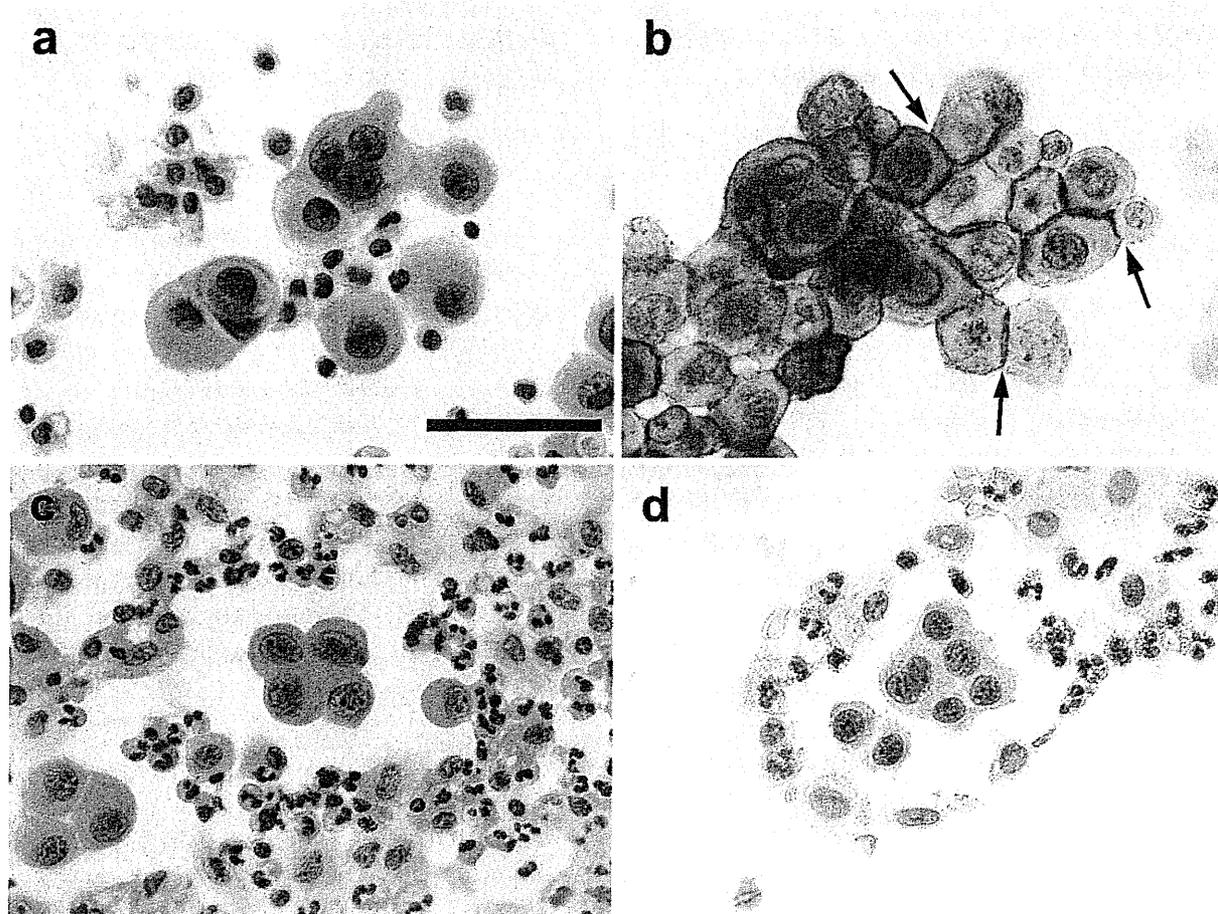


Figure 2. Expression of CD146 detected by clone OJ79 in MPM, but not in RM. a, b: MPM. c, d: RM. a, c: Papanicolaou stain. b, d: immunostaining with OJ79. MPM showed membranous immunostaining with strong signals at the apposing surfaces of cell-cell interactions (arrows) (b), but RM showed no or faint expression of CD146 (d). Scale bar indicates 50 μm (Modification from Reference 5).

とにより MPM 細胞あるいは RM 細胞を単離した。これらの細胞から mRNA を抽出し、その遺伝子発現プロファイルを Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array により取得した。このプロファイルをもとに、MPM に発現する中間径フィラメントを検討した。

2) CD146 免疫染色

MPM (23 例) と RM (28 例) を対象とした。これらの細胞診標本 (47 例; 塗抹標本, 4 例; 細胞転写標本) を作製して、細胞接着分子 CD146 に対する 2 種類の抗体 (抗 CD146 マウスモノクローナル抗体, Invitrogen 社, クローン OJ79 と抗 CD146 ウサギモノクローナル抗体, Epitomics 社, クローン EPR3208) を用いて免疫染色を行った。抗 CD146 抗体 (クローン EPR3208) を使用する場合は、抗原賦活用緩衝液 (DAKO 社, S1700) に浸漬し、温浴槽を用いて 98°C で 20 分間の前処理を行った。検出には ChemMate ENVISION キット / HRP (DAB) (DAKO 社, K5007) を用いた。

免疫染色強度を、4 段階 (陰性 = 0, 弱陽性 = 1, 中等度陽性 = 2, 強陽性 = 3) で半定量的に評価・スコア化し、Mann-Whitney U 検定により統計学的に解析した。

結 果

1) 中間径フィラメントの発現

MPM (16 例) と RM (2 例) の遺伝子発現プロファイルを比較すると、MPM において種々の中間径フィラメントの mRNA 発現が亢進していた (Figure 1)。

2) CD146 の発現

抗 CD146 抗体 (クローン OJ79) による免疫染色では、MPM の 94% (15/16) に CD146 の発現を認めた。CD146 の発現は、MPM の細胞膜に認め、特に細胞同士が相接する細胞接着部位において強かった。一方、RM の全例 (11/11) に CD146 の発現はみられなかった (Figure 2)。また、抗 CD146 抗体 (クローン EPR3208) による免疫染色においても、MPM の 90% (19/21) に CD146 の発現を認め、

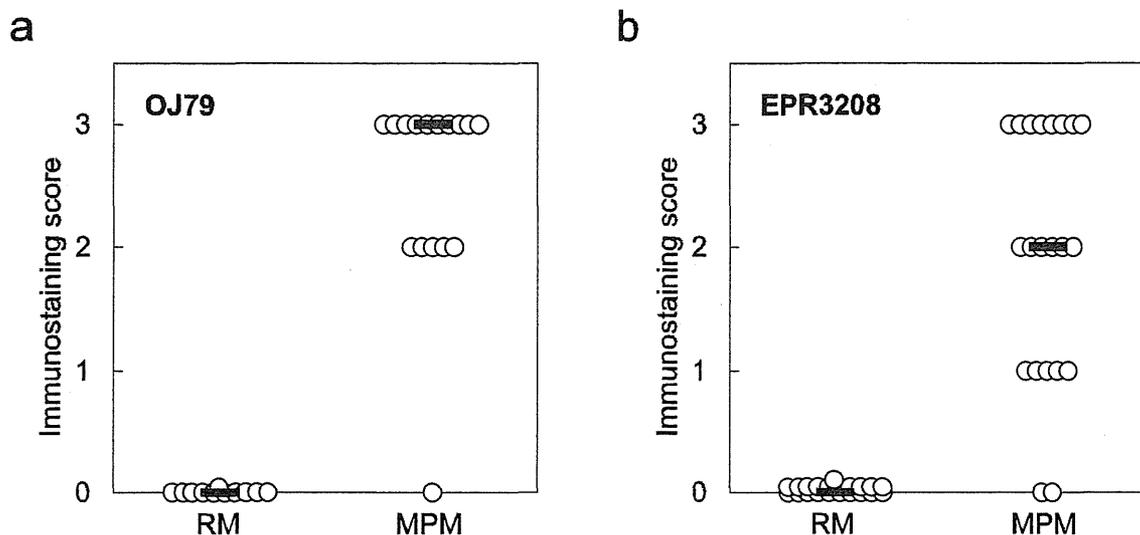


Figure 3. Distributions of CD146 immunostaining score. a: score of OJ79. b: score of EPR3208. Circles represent immunostaining scores and the horizontal bars indicate the median value. CD146 expression detected by both clones, OJ79 and EPR3208, in MPM was significantly higher than that in RM ($p < 0.001$) (Modification from Reference 5).

RMの全例(21/21)にCD146の発現はみられなかった。さらに、MPMの免疫染色スコアは、RMの免疫染色スコアに比較して、有意に高かった (Figure 3)。

考 察

胸水細胞診では、MPM細胞は、孤立散在性のものからマリモ状、乳頭状、球状などの細胞集塊を形成して出現するものがみられ、出現様式は多彩である。大きな細胞集塊が出現することはMPMの胸水細胞診における特徴の1つであるが、MPMの細胞学的特徴は、孤立散在性細胞や小さな細胞集塊にみられることが多い。MPM細胞の細胞質は、比較的豊富でライトグリーン好性を示し、核の周囲から辺縁部にかけて重厚感が増し、同心円状に層が形成されたように観察される。MPMにおいて、種々の中間径フィラメントのmRNA発現がRMよりも充進していたことは、核を囲むように籠状に発達した中間径フィラメントが細胞質に重厚感をもたらす成因の1つであることを支持する。電子顕微鏡の観察によれば、MPM細胞の細胞質内に豊富な中間径フィラメントが認められている。^{3,4}

RMでは細胞接着分子CD146の発現が認められないのに対して、多くのMPMにはCD146の発現が確認された。体腔液細胞診におけるCD146免疫染色では、MPMに対して感度90%以上、特異度100%を示し、CD146はMPMとRMとの鑑別に極めて有用なマーカーになると考えられる。^{5,6} 従来、MPMとRMとの鑑別には、epithelial membrane antigen,⁷ デスミン,⁸ glucose

transporter-1⁹などが用いられてきたが、CD146を加えることで、MPMの診断精度は向上すると期待される。最近、MPMにはCD146と相同性がある細胞接着分子CD166 (activated leukocyte cell adhesion molecule) が発現することが報告された。¹⁰ また、MPMの腫瘍マーカーとして注目されているメソテリンも細胞接着分子として機能する。¹¹ CD146の発現がMPM細胞の接着部位に強くみられることから、中皮細胞の腫瘍化に伴って細胞膜に発現するようになったCD146などの細胞接着分子が、細胞融合の引き金となり、細胞封入や多核細胞などのMPMに特徴的な細胞所見を生み出している可能性がある。

結 語

MPMの細胞学的特徴を分子レベルで検討した。MPMに特徴的な細胞形態の変化をもたらす分子異常が明らかになれば、その分子をマーカーに用いた補助診断を導入することにより、MPMの診断精度が向上すると期待される。

本論文内容に関連する著者の利益相反：中野孝司〔企業の職員・法人の代表〕特定非営利活動法人日本中皮腫研究機構

REFERENCES

1. 亀井敏昭, 岡村 宏, 浜田秀美. 中皮腫の細胞診断(1)細胞学的特徴と免疫組織化学. 亀井敏昭, 石川雄一, 三浦博太郎, 井内康輝, 森永謙二, 編集. アスベストと中皮腫.

- 東京：篠原出版新社；2007:256-266.
2. Prasad S, Soldatenkov VA, Srinivasarao G, Dritschilo A. Intermediate filament proteins during carcinogenesis and apoptosis (Review). *Int J Oncol*. 1999;14:563-570.
 3. Sakuma N, Kamei T, Ishihara T. Ultrastructure of pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma in malignant effusions as compared with reactive mesothelial cells. *Acta Cytol*. 1999;43:777-785.
 4. Dardick I, Jabi M, McCaughey WT, Deodhare S, van Nostrand AW, Srigley JR. Diffuse epithelial mesothelioma: a review of the ultrastructural spectrum. *Ultrastruct Pathol*. 1987;11:503-533.
 5. Sato A, Torii I, Okamura Y, Yamamoto T, Nishigami T, Kataoka TR, et al. Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. *Mod Pathol*. 2010;23:1458-1466.
 6. Sato A, Torii I, Tao LH, Song M, Kondo N, Yoshikawa Y, et al. Establishment of a cell line from a Japanese patient useful for generating an in vivo model of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Sci*. 2011;102:648-655.
 7. Wolanski KD, Whitaker D, Shilkin KB, Henderson DW. The use of epithelial membrane antigen and silver-stained nucleolar organizer regions testing in the differential diagnosis of mesothelioma from benign reactive mesothelioses. *Cancer*. 1998;82:583-590.
 8. Hurlimann J. Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesotheliomas. *Hum Pathol*. 1994;25:753-757.
 9. Kato Y, Tsuta K, Seki K, Maeshima AM, Watanabe S, Suzuki K, et al. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol*. 2007;20:215-220.
 10. Ishiguro F, Murakami H, Mizuno T, Fujii M, Kondo Y, Usami N, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule is involved in motility and invasion of malignant pleural mesothelioma. In: *The 10th international conference of the International Mesothelioma Interest Group*. Kyoto: 2010.
 11. Chang K, Pastan I. Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:136-140.

11 器質化肺炎(図 49)

器質化肺炎(organizing pneumonia ; OP)は終末および呼吸細気管支の炎症の結果、これらの気道に肉芽組織が充填した病態である。OPは細気管支周囲の気腔に分布するため、ときに小葉中心性陰影を認めることもある。実際には、コンソリデーションまたはすりガラス陰影が斑状、非区域性に分布することも多い。胸膜直下に病変がみられる場合もある。大小の結節やリング状陰影(reversed halo sign)を伴うこともある。ときに辺縁が不整で胸膜陥入像やair bronchogramを伴うために、肺野型肺癌との鑑別が問題となる場合がある。肺炎の経過中に肺癌に類似した画像所見を呈する場合があります、診断には注意が必要である。病変を経時的に経過観察すると、器質化肺炎は縮小傾向があるため、鑑別は可能である。しかし、陰影のサイズが不変、あるいは増大する場合には肺癌が否定できず、生検が必要である。

12 円形無気肺(図 50)

円形無気肺は、円形ないし卵円形の腫瘤影を呈する末梢性無気肺である。その発生機序は、気胸や胸水貯留による肺容積減少時に胸膜直下の肺・胸膜に折れ込みが生じ、フィブリンの析出によって折れ込みが固定され、肺の部分的な含気不全、虚脱、浮腫、線維化などが加わり、限局性無気肺病変を生じることが推定されている。良性石綿胸水後に発生することが多いとされるが、結核性胸膜炎や肺炎随伴胸膜炎、珪肺症や心不全に伴う胸水貯留に伴って発生することもある。自覚症状に乏しく、胸部X線写真で偶然発見される機会が多い。

画像所見の特徴は、①肥厚した胸膜面から鋭角に立ち上がる腫瘤影、②肺血管・気管支の腫瘤影への円弧状の収束(comet tail sign)、③腫瘤内気管支透亮像、④病巣部位の肺葉容積減少などである。病理組織学的には臓側胸膜の腫瘤内への穹入を認めることが診断根拠となる。鑑別診断としては、胸膜に近接する腫瘤影を呈する原発性肺癌、転移性肺腫瘍、器質化肺炎、慢性膿胸、被包化胸水などが挙げられる。