

## 特集：アスベストの健康被害を考える

### 胸膜中皮腫の組織診断における問題点

泉 啓 介, 坂 東 良 美, 宮 本 康 雄

徳島大学大学院ヘルスパイオサイエンス研究部生体防御腫瘍医学講座環境病理学分野

(平成18年3月20日受付)

(平成18年3月24日受理)

#### はじめに

中皮腫の病理診断にはずっと悩まされてきた。胸膜生検で中皮腫あるいは中皮腫疑いとされた症例を剖検してみると肺癌であったというケースもある。最近明るい兆しが見えてきたが、中皮腫の的確な血清診断や遺伝子診断が確立されていない以上は免疫組織化学を駆使した診断に頼らざるを得ないのが現状である。中皮腫の免疫組織化学的な診断とその問題点について概説する。

#### 中皮細胞と中皮腫

肺の表面と胸壁の胸腔面は中胚葉起源の1層の中皮細胞に覆われ、その体腔面には微絨毛が発達して臓器同士がくっつかないようにしている。中皮腫はこの中皮細胞から発生する。良性中皮腫と言われていた限局性の孤立性線維性腫瘍は中皮細胞に由来しないことが明らかになり、「中皮腫」といった場合は悪性中皮腫を指すようになった。ところで、ラットの自然発生中皮腫の多くは精巣鞘膜を含む腹膜から発生する(図1)。発がん物質投与でまれに中皮腫が発生することがあるが、鉄化合物の腹腔内投与では高率に腹膜中皮腫を発生させ得

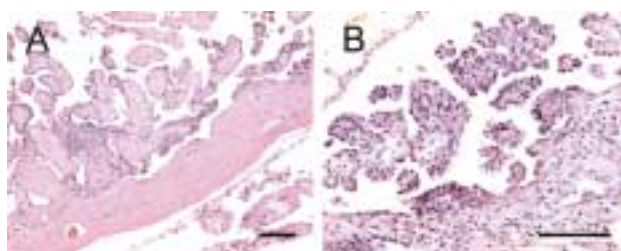


図1 ラット腹膜中皮腫

(A) 120週齢雄 F344ラットの自然発生精巣鞘膜中皮腫 (B) 84週齢雄 F344ラットの発がん物質誘発腹膜中皮腫 Bar = 100µm

る<sup>1)</sup>。一方、ヒトの中皮腫はアスベスト曝露の影響が大きく、その70-80%は胸膜から発生し、まれに腹膜や心膜から発生する。

#### 中皮細胞過形成、胸膜線維化と中皮腫

中皮細胞は炎症等の刺激に対して容易に反応性増殖を起こす。図2Aは腹膜内臓病変の近くにみられた中皮細胞過形成であり、上皮型中皮腫との鑑別が必要である。また、胸膜炎に伴う胸膜の高度の線維化巣は線維形成型中皮腫(図2B)との鑑別を必要とする。

#### 上皮型悪性中皮腫と肺腺癌の鑑別のための免疫組織化学マーカー

分化型の上皮型悪性中皮腫(図2C, 2D)は乳頭状あ

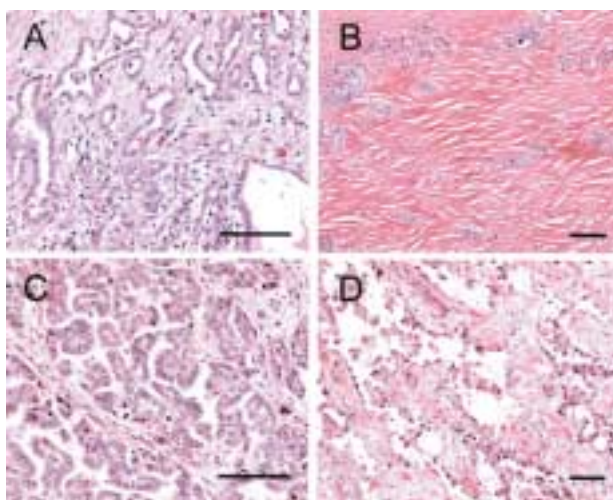


図2 中皮細胞過形成と中皮腫の組織学的所見

(A) 内臓に伴う中皮細胞過形成 (B) 線維形成型中皮腫 (C, D) 高分化上皮型中皮腫 Bar = 100µm

るいは管状構造を示すことが多く、肺腺癌の胸膜播種との鑑別は必ずしも容易ではない。これまでそれらの鑑別のための免疫組織化学マーカーが数多く報告されてきた。最近では特異性が高い抗体が多く開発され、適切な抗体パネルでもってかなり診断できるようになってきた。たとえば、カルシウム結合蛋白の calretinin 陽性、高分子サイトケラチンの cytokeratin 5/6陽性、CEA 陰性、糖蛋白の MOC 31陰性の場合には強く中皮腫を示唆するといった具合である。Table 1 は Ordóñez, N. G.による上皮型悪性中皮腫60例と肺腺癌50例における免疫染色の結果である<sup>2)</sup>。この結果から、「上皮型悪性中皮腫に陽性の抗体2つ、腺癌に陽性の抗体2つのパネル」で診断することが推奨されていてわれわれもよく用いている。しかし、低分化の上皮型悪性中皮腫の場合は calretinin, cytokeratin 5/6とも反応は弱く、陽性細胞は少なく、診断を確定することは容易ではない(図3)。最近、リンパ管内皮マーカーである D2 40が感度・特異性ともに高い新たな中皮細胞陽性マーカーであると報告されている<sup>3)</sup>。二相型中皮腫の場合は滑膜肉腫との鑑別を要し、自験例では生材料を用いた SYT-SSX 融合遺伝子の証明が後者の診断に有用であった(図4)。肉腫型中皮腫の場合は中皮腫のマーカーである pancytokeratin や calretinin とそれぞれの肉腫の特異抗体の組み合わせが用いられる。

Table 1. Immunohistochemical data

Marker	Epithelioid mesothelioma (60 cases)	Lung adenocarcinoma (50 cases)
cytokeratin 5/6	100%	2%
calretinin	100%	8%
WT 1	93%	0%
mesothelin	100%	38%
thrombomodulin	77%	14%
HBME-1	85%	68%
CD 44 S	73%	48%
N-cadherin	73%	30%
vimentin	55%	38%
EMA	93%	100%
E-cadherin	40%	88%
CA 19-9	0%	48%
Ber-EP 4	18%	100%
BG-8	7%	96%
leu-M 1	0%	72%
TTF-1	0%	74%
B 72.3	0%	84%
CEA	0%	88%
MOC-31	8%	100%

(Ordóñez, N.G., Am. J. Surg. Pathol., 2003.)

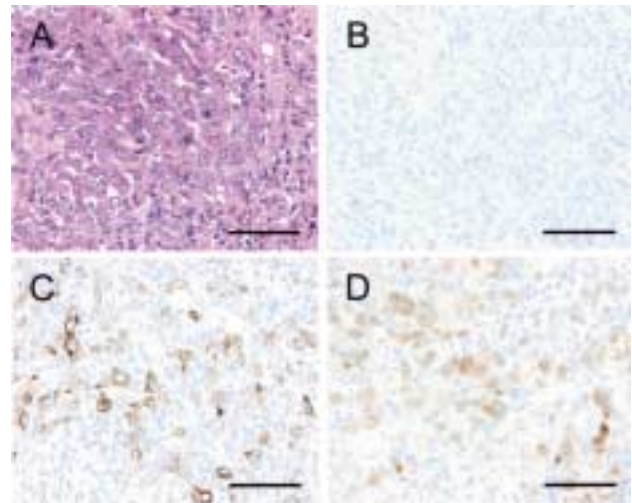


図3 低分化胸膜上皮型中皮腫における免疫染色  
(A) HE 染色 (B) CEA 染色 (C) cytokeratin 5/6染色 (D) calretinin 染色 Bar = 100µm

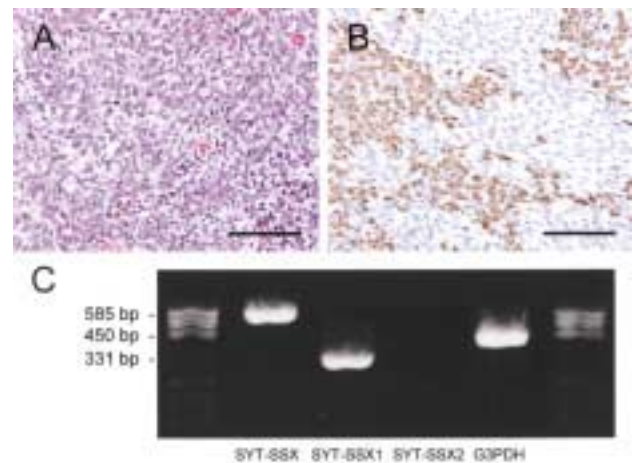


図4 滑膜肉腫  
(A) HE 染色 (B) AE1/AE3 染色 (C) 凍結材料における SYT-SSX1 融合遺伝子の証明 Bar = 100µm

#### 中皮腫19例と肺腺癌19例の免疫組織化学的検討

われわれは抗体パネルの設定のために悪性中皮腫(上皮型および二相型)19例、肺腺癌19例を用いて calretinin, cytokeratin5/6, mesothelin, D2 40, CEA, MOC 31 の6種類の抗体を用いた免疫組織化学的検討を行い、それぞれのマーカーの感度、特異性を検討した。Table 2に示すように、単独の抗体としては calretinin, cytokeratin5/6が高い感度、特異性を示した。calretinin は乳頭状・管状の配列を示す分化型の中皮腫には強陽性を示したが、充実性に増殖する分化度の低い部分は染色性が弱

Table 2. Immunohistochemical analysis of pleural mesothelioma and lung adenocarcinoma

Marker	Epithelioid mesothelioma ( 19 cases )	Lung adenocarcinoma ≈ ( 19 cases )
cytokeratin 5/6	17/19( 89% )	1 /19( 5% )
calretinin	16/19( 84% )	2 /19( 11% )
mesothelin	12/19( 63% )	4 /19( 21% )
D 2-40	15/19( 79% )	0 /19
CEA	0 /19	17/19( 89% )
MOC-31	0 /19	7 /19( 44% )

く、染色性にばらつきが見られた。免疫染色の前処置として熱処理の際に高 pH の緩衝液を使用することにより、染色のムラが若干改善された。D 2-40は腫瘍細胞の細胞膜に陽性を示すが、我々の結果でも特異性が100%であり、感度も79%と高い値を示した。細胞接着蛋白の一つである mesothelin は感度、特異度ともに他のマーカーより低い値を示した。しかし、中皮腫細胞の大部分は mesothelin によって細胞膜が全体に濃く染まるが、肺腺癌では細胞質がびまん性に染まるものが3例、ごく一部の細胞膜に染まるものが1例という結果であり、それぞれの染色像が異なることで鑑別に有用である可能性が示唆された。Wilms 腫瘍関連遺伝子産物である WT 1 が感度・特異度ともに高い上皮型中皮腫の陽性マーカーとして優れていると報告されている<sup>2)</sup>。しかし、われわれの検討では中皮腫細胞の核に陽性を示す例が少なく、また発現強度も弱いため、実際の病理診断に使用するにはさらなる検討が必要であると考えられた。thrombomodulin も特異性が高いと報告されているが、われわれの検討では中皮腫細胞の細胞膜に陽性を示す例もあったが染色が弱く、鑑別に有用とは考えられなかった。上皮型中皮腫の陰性マーカーとしては CEA が感度・特異度ともに高く、鑑別に有用と考えられた。MOC 31は肺小

細胞癌細胞の培養株を免疫原として分離された上皮細胞の細胞膜を貫通する糖蛋白であり、中皮腫に対する陰性マーカーとして有用とされている。しかし、われわれの検討では感度は100%であったものの、肺腺癌での染色性が弱く、判定に困難を感じた症例が多かった。

おわりに

いくつかの抗体を組み合わせた免疫組織化学は中皮腫と他の腫瘍との鑑別に有用であるが、実際には生検でもって中皮腫と確定できない症例にしばしば遭遇する。中皮腫の分化度が低い場合に加えて、組織の固定が良くない場合、生検材料が小さすぎる場合、採取時の組織の挫滅が著しい場合もその原因になる。できるだけ良質の材料を提出してほしい。腫瘍の凍結材料を保存しておいてほしい。また、剖検でも診断確定ができない場合もあり、更なる診断技術の向上が望まれる。

文 献

- 1) Okada, S., Hamazaki, S., Toyokuni, S., Midorikawa, O.: Induction of mesothelioma by intraperitoneal injections of ferric saccharate in male Wistar rats. *Br. J. Cancer* 60: 708-11, 1989
- 2) Ordóñez, N.G.: The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 27: 1031-51, 2003
- 3) Ordóñez, N.G.: D 2-40 and podoplanin are highly specific and sensitive immunohistochemical markers of epithelioid malignant mesothelioma. *Hum. Pathol.* 36: 372-80, 2005

## *Diagnostic issues of pleural mesothelioma by immunohistochemical markers*

*Keisuke Izumi, Yoshimi Bando, and Yasuo Miyamoto*

*Department of Molecular and Environmental Pathology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

This minireview discusses diagnostic issues of mesothelioma by immunohistochemical markers. A large number of immunohistochemical markers for distinction between pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma has been reported to date. Ordóñez, N.G. described that calretinin, cytokeratin 5/6 and WT-1 are the best positive markers, and carcinoembryonic antigen (CEA), MOC-31 and Ber-EP 4 are the best negative markers for mesothelioma, and recommended the selection of two positive and two negative markers. We evaluated the significance of calretinin, cytokeratin 5/6, mesothelin, CEA, MOC-31 and new marker D 2-40 in 19 mesotheliomas and 19 lung adenocarcinomas. We concluded that calretinin, cytokeratin 5/6, D 2-40 and CEA are the most stable immunohistochemical markers for diagnosis of mesothelioma.

Key words : pleural mesothelioma, immunohistochemistry