

15-18 悪性胸膜中皮腫の診断精度の向上及び

治療法に関する研究

主任研究者 産業医学総合研究所 森永 謙二

研究成果の要旨

過去5年間(1997～2002年)の悪性胸膜中皮腫の臨床例、及び過去7年間(1995～2002年)の病理例についてアンケート調査を行い、病理からは悪性中皮腫648例、臨床からは悪性胸膜中皮腫487例を収集した。病理例、臨床例ともに悪性胸膜中皮腫は出生年が1930-35年をピークに釣鐘型の分布を示した。主な集計結果については、すでにアンケート回答者に報告した。これらのうち、355例のプレパレート、208例のブロックの貸し出しの協力が得られる見通しとなった。悪性中皮腫の診断精度の向上をはかるため、中皮腫パネルを開催し、確定診断に難渋した8例について種々の免疫組織化学染色を単一施設で実施、これらの結果を加えて検討した。外科療法については、タルクの腔内散布による胸膜癒着効果と抗腫瘍効果を臨床的・画像診断学的に検討中である。悪性胸膜中皮腫20例について、in vitro 抗癌剤感受性試験を施行し、各種抗癌剤の感受性頻度を調べた結果、cisplatin 28%(5/18), gemcitabine 33%(2/6), vinorelbine 25%(1/4), taxotere 50%(2/4)で、臨床応用の可能性を示唆する結果が得られた。悪性胸膜中皮腫の化学療法については、欧米の進行中の化学療法も参考にし、gemcitabine+ vinorelbine 併用療法の臨床第II相試験の実施マニュアル(試案)を作成した。

研究者所属施設および職名

研究者名	所属施設及び職名
森永 謙二	産業医学総合研究所 部長
井内 康輝	広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授
別所 昭宏	国立病院機構四国がんセンター 医員
中野 孝司 *1	兵庫医科大学総合内科 教授
奥村 栄	癌研究会附属病院 医長
東山 聖彦	大阪府立成人病センター 部長
中野喜久雄	国立病院呉医療センター 医長
平木 章夫 *2	国立療養所山陽病院 医員

青江 啓介 *3	国立病院機構山陽病院 医長
亀井 敏昭 *3	山口県立中央病院 部長

*1 平成15年4月1日～平成15年7月31日

*2 平成15年4月1日～平成16年3月31日

*3 平成16年4月1日～平成16年3月31日

分担研究課題

悪性胸膜中皮腫の診断精度の向上及び罹患動向に関する研究

悪性胸膜中皮腫の形態診断と分子生学的性状に関する研究

悪性胸膜中皮腫の化学療法に関する研究

悪性胸膜中皮腫に対する多剤併用化学療法に関する研究

悪性胸膜中皮腫の外科療法に関する研究

悪性胸膜中皮腫の外科療法に関する研究

悪性胸膜中皮腫に対する集学的治療法の研究

悪性胸膜中皮腫における hnRNPB1、RCAS1 の発現の検討とその意義

日本の悪性胸膜中皮腫における SV40 関与に関する研究

体腔液(胸水)細胞診での悪性中皮腫診断の向上に関する研究

総括研究報告

1 研究目的

悪性胸膜中皮腫は現在のところ発生頻度は低いものの、

全国の人口動態統計によると平成7(1995)年の死亡数は275人であったが、平成15年には566人と倍増している。

また、部位不明の中皮腫も平成 15 年の死亡数は 205 人で中皮腫(全部位)の 23.3%を占めている。我が国では 1970 年代の石綿消費量の増加から、将来の中皮腫の増加が懸念されている。本研究の目的は、全国中皮腫パネルを開催し、種々の免疫組織化学染色の結果の組み合わせを検討し、悪性中皮腫の診断精度の向上を図ることを目的とする。また、これまでの治療方法及び治療成績を明らかにし、延命効果が期待される手術の適応、術式の選択や補助療法の適応、及び全身化学療法を研究する。

2 研究成果

(1) 2003 年夏に悪性中皮腫に関する全国アンケートは病理と臨床との 2 部門において実施した。1995 年から 2002 年に生検、手術、剖検にて病理組織学的に悪性中皮腫(全部位)と診断された症例を対象とした。

病理アンケートの配布は、日本病理学会認定病院の常勤病理医 315 名、日本病理学会登録施設(185 施設)の病理部門担当者等計 785 名に行われ、そのうち 160 施設から計 860 症例についての返答があった。性別が明記してあった 504 例中、男性は 400 名(79.4%)、女性は 104 名(20.6%)で、男女比は 3.85:1 であった。出生年・性別が明記してあった 436 例の患者の中央値は 1935 年、平均値は 1936 年で、男女間に差は認められなかった。性別明記の症例 473 例における各組織型の割合は上皮型 249 例(52.6%)、二相型 115 例(24.3%)、肉腫型 104 例(22.0%)、特殊型 5 例(1.1%)であった。職歴が記載されたのは 512 例中 255 例(49.8%)であった。512 例中 148 例(28.9%)で剖検が実施されていた。これら剖検症例中、石綿曝露の最も確実な指標である石綿肺あるいは胸膜プラークの病理学的所見の記載があり性別が判明している 131 例についてみると、石綿肺あるいは胸膜プラークの所見は全体で 59 例(45%)に認められた。男性(103 例)で胸膜プラーク・石綿肺所見の有る人は 50 例(48.5%)であり、女性は 28 例中 9 例(32.1%)であった。

臨床アンケートの配布は、日本肺癌学会評議員 297 名を含む 345 名に対して実施した。対象症例は、1997 年より 2002 年に臨床経験した胸膜中皮腫症例とした。性別が明記してあった 469 例中、男性は 382 例(81.5%)、女性は 87 例(18.6%)で、男女比は 4.34:1 であった。性別及び出生年が明記してあった 469 例については男、女、男女計いずれも平均値、中央値ともに 1937 年であり、病理アンケートと同じであった。臨床症例における診断方法が記入されていた 469 例についての内訳は剖検(5.1%)、手術ブロック(10.7%)の割合が少なく、一方、胸腔鏡下生検

(38.1%)と経皮生検(25.3%)が多かった。細胞診も 7.9%と病理(2.6%)に比べて多かった。

病理・臨床アンケートで得られた悪性胸膜中皮腫の出生年の平均値、中央値は 1930 年代半ばであった。病理例での職業歴から石綿曝露の可能性を、確実にあり、ほぼあり、可能性有り、なし、の 4 段階に分類すると、それぞれ 15.1%、8.0%、44.2%、32.7%であった。他方、剖検された 131 例については石綿肺あるいは胸膜プラークの病理学的所見の記載のあった例は 49%(59 例)あった。臨床例での職業歴から石綿曝露の可能性を、確実にあり、ほぼあり、可能性有り、なし、の 4 段階に分類すると、それぞれ 29.2%、9.0%、18.6%、43.2%であった。ただ、胸部 CT で胸膜プラークが確認されたにもかかわらず、問診で石綿曝露歴の可能性があると判断されなかった例が 7.7%(28 例)みられた。

(2) 悪性胸膜中皮腫の発症要因として欧米ではアスベスト(石綿)以外に SV40 の関与も疑われていたが、生検、手術の行なわれた 35 例(男 32、女 3)の悪性中皮腫(上皮型 12、二相型 9、肉腫型 14)の組織より、TaqMan プローブを用いて SV40 の Tag 配列の有無を検討した。その結果、35 例中 2 例においてのみ SV40 Tag の DNA 配列が認められたことから、日本人においては SV40 感染の頻度は低いこと、また出現頻度の低さから日本人の悪性胸膜中皮腫においてはその発症に大きな関与はしていないと推測される。

(3) 全国の医療機関の病理医の協力を得て、126 例(45 施設)を対象として、calretinin, WT-1, Cytokeratin-multi, Cytokeratin(CAM5.2), Cytokeratin 5/6, Vimentin, Thrombomodulin, Mesothelin, CEA, CA19-9, CA-125, Desmin, α -SMA, S-100p, CD34, CD68, p53, Ki-67 の抗体を用いて SAB 法によって免疫組織化学的染色を行った。その結果、11 例(8.7%)は悪性中皮腫以外(反応性の中皮細胞過形成 4 例、癌腫 4 例、急性心外膜炎 1 例、肉腫 1 例、癌肉腫 1 例)と判断された。115 例(男 89 例、女 25、不明 1)の H&E 染色所見及び上記の免疫組織化学的染色による組織型診断は、上皮型 71 例(61.7%)、肉腫型 24 例(20.9%)、二相型 20 例(17.4%)である。免疫組織化学的染色の判定にあたっては、上皮型、肉腫型と二相型を上皮様部分と肉腫様部分に分けて判定し、各抗体の陽性率を検討した結果から、1) 上皮型中皮腫と腺癌との鑑別には、calretinin, WT-1, CEA を組み合わせた染色が有用、2) 上皮型中皮腫と反応性中皮細胞増生との鑑別には EMA, p53, desmin を組み合わせた染色が有用、3) 肉腫型中皮腫と肉腫との鑑別には、calretinin, cytokeratin (AE1/AE3 あるいは CAM5.2) の染色が有用である。

(4) 同様の免疫組織化学染色を体腔液細胞診でも有用かどうかを検討した。悪性中皮腫 28 例(上皮型 19 例、二相型 9 例)、腺癌 52 例の体腔液細胞診検体を対象に EnVision 法により実施した。悪性中皮腫(28 例)での陽性例(陽性率)は、calretinin 28 例(100%)、TM 23 例(82%)、CK 5/6 21 例(75%)、HBME-1 26 例(93%)、Ber-EP4 2 例(8%)、MOC-31 5 例(18%)、EMA 27 例(96%) および m-EMA 26 例(93%)で、CEA および Leu-M1 には全例で陰性であった。悪性中皮腫と腺癌および反応性中皮と腺癌の鑑別には、中皮関連マーカーとして calretinin、腺癌マーカーとして、CEA、MOC-31 および Ber-EP4 の組み合わせによる抗体パネルの応用が有用と思われる。悪性中皮腫と反応性中皮の鑑別には m-EMA が有用であるが、特異度にやや問題が残った。

(5) 悪性中皮腫の診断精度の向上をはかるため、2 年間に中皮腫パネルを 3 回開催し、24 例について検討した。その結果、1) 純粋な上皮型、肉腫型の診断に一致率は比較的高かったが、免疫組織化学染色の結果を加えて判断すると、さらにその一致率は向上した。2) 低分化の上皮型と肉腫型・二相型の区別は病理医間での不一致は回を重ねるにつれ低下した。3) 線維形成型(desmoplastic type)の悪性中皮腫と非腫瘍性の胸膜線維化との鑑別は、少量の生検材料しか与えられない場合、免疫組織化学染色の結果を加味しても診断の一致を得るのは困難であった。

(6) 悪性胸膜中皮腫の外科療法については、胸膜肺全摘術、胸膜切除+剥皮術、胸膜癒着術などが用いられているが、それぞれ単独での延命効果は明らかでない。胸膜肺全摘術後に cisplatin 6mg/m² 連日と vindesine 3mg/m² 毎週投与での化学療法と三次元原体照射による放射線療法 50Gy との同時併用療法を、3 例(50~66 歳男性、臨床病期は 期 1、期 2、病理病期(IMIG 分類)は T2N0M0、T3N0M0、T3N2M0、上皮型 2、二相型 1) に対し施行した。術後の重篤な合併症はなく、同時放射線化学療法での Grade 3 以上の毒性は好中球減少だけであり、全例認めたが、それに伴う発熱はなかった。治療は遅延なく全例完遂でき、再発は症例 1 と症例 2 でそれぞれ術後 12 カ月と 5 カ月にいずれも患側胸郭の照射野外に認めたが、照射野内には再発がなく症例 1 は術後 26 ヶ月生存中である。症例 3 は全ての胸腔が照射野に含まれ、かつ Dose-volume histogram での制限を設定した三次元放射線治療計画を立てた。その結果、患側胸郭での再発はなかったが、術後 9 ヶ月で対側胸腔内へ浸潤した。以上のことから、悪性胸膜中皮腫の根治治療は局所制御が重要であり、特に集学的治療での放射線治療は綿密な三次元放射線治療計

画が必要と考えられた。

他の 1 施設では 5 例の悪性胸膜中皮腫に対してタルクの胸腔内散布を施行し、胸膜癒着効果と抗腫瘍効果を臨床的・画像診断学的に検討した。胸水貯留防止における短期効果(3 ヶ月)は 4 例に見られたが、施行後 6 ヶ月以上生存した 4 例における長期癒着効果は 2 例のみであった。腫瘍制御効果は 1 例に見られている。

(7) 悪性胸膜中皮腫 24 例について collagen gel droplet embedded culture drug test (CD-DST) による抗癌剤感受性試験を行った結果、21 例(88%)で CD-DST 法が成功した。各種抗癌剤の感受性頻度は、cisplatin(CDDP): 5/20 (25%)、carboplatin: 2/18 (11%)、adriamycin(ADR): 1/14 (7%)、etoposide: 2/12 (17%)、mitomycin: 1/13 (8%)、vindesine: 1/12 (8%)、5-fluorouracil: 0/11 (0%)、gemcitabine(GEM): 3/8 (38%)、vinorelbine: 1/5 (20%)、taxotere(TXT): 3/6 (50%)であり、CDDP と新規抗癌剤(GEM, TXT)で感受性ありの症例頻度が若干高かったが、非小細胞肺癌での多くの薬剤が 20-30%の感受性を示したとと比較すると、悪性胸膜中皮腫が化学療法に極めて抵抗性があることが in vitro の結果からも示されていると考えられる。

化学療法に温熱(43℃)を加えた in vitro 温熱抗癌剤感受性試験も行い、MPM に対する局所温熱化療との関係についても検討を加えた。43℃-CD-DST 施行症例 14 例では、加熱効果により、CDDP では平均 1.1 倍、CBDCA では平均 1.2 倍の抗腫瘍効果増大を示した。これら 14 例に対し術後胸腔内温熱化療を施行し、43℃ in vitro 感受性あり 4 例となし 10 例を局所無増悪生存(Kaplan-Meier 法)で検討すると、術後 6 ヶ月は 100%と 60%、MST は 12 ヶ月と 8 ヶ月となり、統計学的には有意ではないが前者で良好な局所制御を得ることができた(p=0.19)。

(8) 現在まで進行悪性胸膜中皮腫に対して様々な化学療法が試みられてきたが、長期生存を期待できるような治療法はまだ確立されていない。進行性悪性胸膜中皮腫に対して gemcitabine+ vinorelbine 併用療法の臨床第 II 相試験の実施マニュアル(試案)を作成した。

3 倫理面への配慮

免疫組織化学染色の実施及び中皮腫パネルを実施する際の病理標本(ブロック、体腔液細胞診検体)については、個人識別コードを用い、患者同定に関わる個人情報はない。個人情報は、個々の研究データとは別に保管し、漏洩することがないように保管者を定め、厳重に保管している。遺伝子検索を実施する際には、厚生労働省・文部科学省の定めるところの遺伝子解析に関する倫理指針に基づいて行う。