

## 中皮腫シンポジウム

悪性胸膜中皮腫に対する診断・治療の現状と今後の展望

主催：日本産業科学研究所

共催：兵庫医科大学がんセンター

後援：JMIG

— 中皮腫シンポジウム —

悪性胸膜中皮腫に対する診断・治療の現状と今後の展望

開催日時：平成 27 年 12 月 26 日(土曜日) PM1:30~PM5:00

会 場：兵庫医科大学 3 号館 4 階(3-3 講義室)

開会の挨拶：宮地 尚（日本産業科学研究所 理事長）

PM1:30~PM2:30

**第 I 部：悪性胸膜中皮腫の治療の現状と課題**

座 長：東山 聖彦（大阪府立成人病センター呼吸器外科部長、副院長）

1：中皮腫の動向と今後の予測—overview

岸本 卓巳（岡山労災病院 副院長）

2：悪性胸膜中皮腫の診断・治療の現状と課題

中野 孝司（兵庫医科大学 呼吸器内科 主任教授）

3：悪性胸膜中皮腫に対する外科治療法の限界と今後の展望

長谷川 誠紀（兵庫医科大学 呼吸器外科 主任教授）

PM2:30~PM3:30

**第 II 部：悪性胸膜中皮腫の病理診断の新展開**

座 長：石川 雄一（(公財)がん研究会がん研究所 副所長・病理部長）

1：細胞診のみで中皮腫は診断できるか

前田 昭太郎（株式会社 LSI メディエンス 病理・細胞診センター 所長）

2：悪性中皮腫と反応性中皮細胞増生の鑑別

辻村 亨（兵庫医科大学病理学 分子病理部門 主任教授）

3：診断の難しい中皮腫の病理像

河原 邦光（大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 医務局長）

休憩 PM3:30~PM3:45

PM3:45~PM5:00

**第 III 部：中皮腫における CD26 の基礎と臨床**

座 長：諸星 隆夫（横須賀共済病院 呼吸器外科 部長）

1：CD26 と中皮腫 -- overview

藤本 伸一（岡山労災病院 腫瘍内科部長）

2：中皮腫における CD26 の発現と新規抗体療法

山田 健人（埼玉医科大学 病理学 教授）

3：CD26 の機能と治療応用

森本 幾夫（順天堂大学免疫病・がん先端治療学 教授）

日本における中皮腫発生は1995年に500例であったが、その後年々増加して2013年には1,410例となったが、2014年には1,376例と減少した。このような増加の要因は男性の胸膜中皮腫であり、職業性石綿曝露との関連が示唆される。

我々は日本全国で2003年から2008年までに中皮腫で死亡した症例をretrospectiveな検討を行い、診断時年齢の中央値は68歳で、職業歴を聴取できた824例中職業性石綿曝露によって発生した症例が73.7%で、曝露期間中央値は30年であり欧米での報告とほぼ同様であった。職業歴で多かったのは建設業や造船業であった。一方、2003～2005年の診断382例中17.1%、2006～2008年の診断207例中13.9%が中皮腫ではなく、肺がんや結核性胸膜炎など多彩な疾患であった。この傾向はフランス国立判定委員会MESOPATHでの結果とほぼ同様であった。

2014年の環境省石綿健康被害救済法における中皮腫診断率は91.2%とその誤診率は低下しており、日本における中皮腫診断の向上が窺われる。誤診で多いのは、胸膜中皮腫と肺がんあるいは肉腫及び胸膜炎、腹膜中皮腫と女性の卵巣がんである。

世界で人口に対する中皮腫発生が多いのはイギリス、オーストラリア、オランダ、ニュージーランドであり、過去これらの国々での石綿使用量に比例している。主要国で中皮腫が最も増加しているのが日本であり、2030年ころにピークを迎えると予想されている。一方、石綿使用を早く中止したアメリカでは減少傾向にある。

世界における石綿使用は漸減しているとはいえ、アジア・東ヨーロッパ地区では依然としてクリソタイルの使用が継続されており、特に使用量が多いロシア、中国、カザフスタン等での今後の中皮腫の増加が懸念されている。しかし、これらの国々では中皮腫診断が正確に行われていないことから、実際にどの程度の患者が存在しているのかデータがないことが問題である。今後中皮腫の増加が予想される国々に対する日本を中心とした先進国から、中皮腫診断技術を供与する必要性が大きいものと思われる。

## 悪性胸膜中皮腫の診断・治療の現状と課題

兵庫医科大学 呼吸器内科

中野孝司、栗林康造、寺田貴晋、大搦泰一郎、三上浩司、柴田英輔、神谷瞳、政近江利子、金村晋吾、堀尾大介、藤本英利子、幸田裕一、間瀬浩史、守屋友美子、中村智子

悪性胸膜中皮腫(MPM)は極めて予後不良の悪性腫瘍である。大量のアスベスト消費の影響を受け、中皮腫は世界的に増加する傾向があり、我が国では1995年の500人/年から、2013年には1410人/年に急増している。MPMに対する早期診断法と標準的治療法の確立は喫緊の課題である。MPMは壁側胸膜に初発し、全胸膜面を板状に発育進展する特性と胸膜の解剖学的な問題から、完治せしめることが不可能な腫瘍との認識が強い。早期例に対して胸膜肺全摘術(EPP)による肉眼的完全切除を行っても、R1切除に終わることが避けられず、拡大術式での機能障害とQOLの悪化、10%に近い治療関連死亡率(9.5%)に見合う成績が得られていない。切除可能例に対して、長年にわたり術前化学療法+EPP+術後照射が行われてきたが、EPP vs Non-surgeryの比較を目指して計画されたMARS studyが、結論を導くことなく頓挫した現状から、EPPを含むtrimodalityを切除可能MPMの一般的な治療法として位置付けることは難しい。一方、胸膜切除・肺剥皮術(P/D)は、従来、EPPが不適またはEPPを望まない場合に実施されてきたが、2007年から2010年にかけての後方視的臨床研究を基にした“EPP vs P/D”の論争では、P/DはEPPよりも術後のQOLの悪化が少なく、遠隔成績はEPPと同等、もしくはEPPより良好という点に関しては、多くが肯定的であった。ところが、P/Dの術後腫瘍遺残の可能性が、EPPよりも高いことを否定し得るものではなく、このP/Dの好成績は、“P/DではEPPよりも術後化学療法を実施しやすいことが原因”との説明において他にない。そこで、EORTCのsurgery studyでは、術前化学療法+P/D vs P/D+術後化学療法の比較試験が実施されている。一方、MARS IIでは、切除可能MPMに対する化学療法の後、化学療法の続行治療 vs P/D+術後化学療法の比較試験を進めている。

EPPまたはP/Dを主体とする治療法での長期生存例の条件は、化学療法のみでの長期生存の条件と全く同一である。現在のMPMに対する標準的治療法であるシスプラチン(CDDP)+ペメトレキセド(PEM)が開発されてから12年以上が経過したが、CDDP+PEM±ベバシズマブ(BEV)の第Ⅲ相比較試験(MAPS試験、2015年)で、CDDP+PEM+BEVの併用療法が全生存期間を有意に延長させることが示され(18.8M)、今後の標準的化学療法になる可能性が高い。最近の新たな抗中皮腫薬の動向、早期診断上の問題点を含めて、概説する。

悪性胸膜中皮腫に対する外科治療法の限界と今後の展望

兵庫医科大学呼吸器外科 長谷川誠紀

## I 悪性胸膜中皮腫手術の特異性

悪性胸膜中皮腫 (Malignant pleural mesothelioma、以下 MPM) は早期から胸腔内に広くびまん性に発育するため、病期にかかわらず壁側・臓側胸膜を一塊として完全摘出する必要がある。その結果、広大な剥離面積を伴う大侵襲手術にならざるを得ない。さらに、剥離面が壁側あるいは臓側胸膜であるため切除マージンが存在せず、真の根治術 (R0 切除術) は原理的に実施不可能である。そのため MPM の外科治療の目標は肉眼的完全切除 (R1 切除=macroscopic complete resection、以下 MCR) になり、根治術ではなく腫瘍細胞減量術 (cytoreductive surgery) であると認識されている。

以上の理由から、MPM 手術は不良な risk/benefit を原理的に内包している。

**II 悪性胸膜中皮腫手術** MPM 手術には以下の 2 つがあり、いずれも目的は MCR である。両者とも極めて大侵襲・ハイリスクな手術である。

### 1. 胸膜肺全摘術 (Extrapleural pneumonectomy、以下 EPP)

EPP とは壁側および臓側胸膜を患側肺と一塊にして摘出する術式で、必要があれば横隔膜、心膜も一塊に摘出する。

### 2. 胸膜切除/肺剥皮術 (Pleurectomy/decortication、以下 P/D)

患側肺を温存しつつ壁側および臓側胸膜を切除する術式である。

過去 10 年以上にわたり、2 つの術式の優劣や選択基準についての論争が行われたが、近年、ほぼすべての MPM 手術は P/D で行われるべきとのコンセンサスが成立しつつある。

## III 外科治療の現状

EPP、P/D いずれの術式も化学療法や放射線療法と組み合わせた集学的治療の一環となる。過去に幾つかの臨床試験が行われたが、ほとんどが MST20 ヶ月前後で、満足すべき結果は得られていない。

兵庫医大では 2012 年 9 月より段階的に P/D を開始、2013 年 1 月以後は切除可能 MPM 全例に対する術式選択方針を「MCR が達成できる最小侵襲手術 (すなわち P/D)」とし、必要に応じて横隔膜・心膜切除再建、肺実質切除、EPP への移行を行っている。3 年間で 40 例あまりに P/D を行ったが、現時点で生存率は EPP に遜色なく、術後 QOL は明らかに優位である。

細胞診のみで中皮腫の診断はできるか

前田昭太郎

LSI メディエンス 病理・細胞診センター

日本医科大学多摩永山病院 病理部

1993年に、医学雑誌Cancerに「中皮腫をpositive（陽性）としうる“sensitivity”が細胞診では26%、胸腔鏡下生検では98%」と報告され、現在もその数字が独り歩きしている感がある。しかし上記報告で対象とされたのは1973～1990年の中皮腫症例である。細胞診に免疫染色が行われなかった当時、浸潤増殖を確認し、免疫染色も行うことができた胸腔鏡下生検と比較して、体腔液細胞診で中皮腫をpositive（陽性）と診断することに苦慮したであろうことは容易に理解できる。

しかし1990年以降、中皮細胞に対する抗体が出現し、さらに2000年以降は中皮腫細胞と反応性中皮細胞の鑑別に有用な抗体も出現するとともに、「セルブロック法」「細胞転写法」を用いた免疫染色も実用化され、その結果当然のことながら体腔液細胞診材料を用いた中皮腫の診断能力は著しく改善された。

本シンポジウムでは、「細胞診のみで中皮腫の診断はできるか」のテーマをいただいた。当然のことながら、「Yes」である。但し、体腔液細胞診のみで中皮腫の診断を行うための「条件」がありません。以下にその条件1～5を記載したが、講演ではその内容について詳細に述べ、実例も提示し、体腔液細胞診による中皮腫の診断能力の改善について言及したい。

条件1：臨床情報を十分理解して診断する（臨床とのコミュニケーション）。

条件2：対象は上皮型～2相型中皮腫である。

条件3：中皮腫の細胞診（パパニコロウ・ギムザ染色、PAS反応）に精通していること（経験の重要性）。

条件4：体腔液細胞診材料（細胞転写法・セルブロック法）を用いて免疫染色を行う。

1) 適切な検体：固定条件（固定までの時間など）

2) 適切な抗体の選択：質（抗体のクローンなど）、量（複数の抗体）

3) 適切な染色技術

4) 免疫染色結果に対する適切な判定（陽性・陰性）

条件5：必要に応じて、体腔液細胞診材料（細胞転写法・セルブロック法）を用いてp16遺伝子欠失（FISH法）の検索を行う。

## 悪性中皮腫と反応性中皮細胞増生の鑑別

辻村 亨 (兵庫医科大学 病理学 分子病理部門)

悪性中皮腫と反応性に増生する中皮細胞との鑑別は、治療方針を決定する上で極めて重要な診断意義をもつ。しかし、中皮では、基底膜が未発達であるために、炎症に伴って非腫瘍性中皮細胞が孤立性或いは索状や腺管を形成して間質へ混入したり滲出性器質化組織に取り込まれたりすることがあり、このような中皮細胞の取り込み像と中皮腫細胞の浸潤像とを鑑別することが極めて難しい場合がある。このために、異型中皮細胞の深部脂肪組織への浸潤像を唯一の悪性の根拠とし、胸膜の表層で増殖する病変及び明らかな深部脂肪組織への浸潤を確認できない病変は、良悪を問わず一括して異型中皮増生(atypical mesothelial proliferation)として取り扱うことが推奨されてきた。また mesothelioma *in situ* は、異型中皮細胞が、間質に浸潤しないで単層或いは多層性に胸膜表層で増殖・進展する病変として報告されたが、その診断には ①浸潤性の悪性中皮腫が、同じ検体(生検された他の部位)か、その後のフォローアップの生検或いは剖検によって確かめられること ②アスベスト曝露歴のない症例では診断すべきでない の条件が付け加えられている。従って、このような概念の mesothelioma *in situ* は、浸潤した明らかな悪性中皮腫病巣が存在して、その一部が胸膜表層に増殖・進展した病変、或いは胸膜に播種した病変を指している可能性が高く、腫瘍発生における真の *in situ* の意味合いは少ない。

一方、最近、ビデオ補助胸腔鏡が発達し、詳細な胸腔内の観察や十分な胸膜生検が行われるようになり、早期中皮腫の胸腔所見や組織像が少しずつ明らかになってきた。中皮細胞の良悪判定に有用な抗体(EMA, desmin, CD146, IMP3, Glut1, p53, BAP1)が見出され、これらの抗体を用いた免疫染色が補助診断法として用いられるようになった。また、悪性中皮腫では高頻度に *p16* 遺伝子のホモ接合性欠失が見出されている。悪性中皮腫の全例においてホモ接合性欠失が検出されているわけではないが、調べられた全ての非腫瘍性中皮細胞で欠失がみられないことから、*p16* 遺伝子にホモ接合性欠失が検出される場合は悪性中皮腫と診断できる。

本講演では、悪性中皮腫と反応性中皮細胞増生の鑑別について、免疫染色や *p16* FISH などの補助診断法を含めて概説する。

### 参考文献

1. Acta Cytologica. 59:2-16, 2015
2. Cancer Cytopathol. 123:449-453, 2015
3. Arch Pathol Lab Med. 137:647-667, 2012
4. Mod Pathol. 28:1360-1368, 2015
5. Am J Surg Pathol. 38:681-688, 2014

## 診断の難しい中皮腫の病理像

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター医務局長 河原邦光

石綿 (Asbestos、アスベスト) の問題が、大きく取り上げられるようになった契機は、2005 年 6 月に、クボタ旧神崎工場 (兵庫県尼崎市) で、多数の工場労働者やその周辺の住民が、石綿暴露による悪性中皮腫や肺癌によって死亡していることを伝えた報道であった。これを契機として、「石綿災禍」が、過去にない規模の災害・公害であることが明らかになった。そして、それ以降も、中皮腫労災・救済法認定数、中皮腫死亡数は増加を続けているのが現状である。このような状況に対し、本邦において、2006 年 2 月に成立したいわゆる「石綿新法」によって、石綿の健康被害の補償や救済に、さまざまな法律・制度が措置されることとなった。演者の河原も、平成 23 年より、中央環境審議会環境保健部石綿審査分科会の専門委員として、補償や救済の為に全国から申請されてきた多くの悪性中皮腫・肺癌事例について、その病理組織診・細胞診の診断の正否について、実際にガラス標本を鏡検して、審査を行ってきた。本日は、それらの経験もふまえて、演者が、悪性中皮腫を診断する上で診断の難しい病理組織像、特に診断に際して pitfall になると思われた点を、自験例 4 例 (上皮型 2 例、肉腫型 1 例、線維形成型 1 例) を呈示しながらお話ししたい。

悪性中皮腫はその多くが過去のアスベストばく露に起因する、予後不良な悪性腫瘍である。中皮腫の予後の改善のためには、新規治療法の開発のほか、早期診断、鑑別診断、治療効果や予後予測のためのバイオマーカーの開発が必要である。

CD26 は 110KDa の膜蛋白質で DPPIV 酵素を含むヒト T 細胞共刺激及び活性化分子である。CD26 は T 細胞などの免疫細胞に加えて悪性中皮腫細胞においても強発現していることが報告されている。またヒト化 CD26 抗体は早期の臨床試験においてその安全性と有効性が示唆されており、新規治療法として期待されている。

本シンポジウムでは、中皮腫組織における CD26 の発現、および中皮腫患者における血清あるいは胸水中の可溶性 CD26 (sCD26) および DPPIV 酵素活性の測定結果を報告し、中皮腫における臨床バイオマーカーとしての有用性について報告する。

中皮腫患者における血清中の sCD26 および DPPIV 酵素活性を、石綿ばく露歴があり胸膜プラークを有する患者と比較したところ、有意に低値であった。また中皮腫患者における血清中の sCD26 および DPPIV 酵素活性は、その進行に伴いさらに低下する傾向が見られた。また上皮型中皮腫における胸水中の sCD26 を他の胸膜疾患と比較したところ、有意に高値であった。

中皮腫組織における CD26 の発現を免疫組織染色にて解析したところ、CD26 の発現は上皮型症例において陽性例が多く、また化学療法施行例では部分奏功あるいは病勢安定例において陽性例の割合が多かった。予後について検討したところ、CD26 発現が陽性例の予後は陰性例に比べ良好であった。また血清中の DPPIV 酵素活性と予後との関連が示唆された。

これらの結果から、中皮腫のスクリーニング、早期診断、鑑別診断あるいは化学療法に対する反応、予後予測因子としての CD26 の有用性が示唆された。

中皮腫における CD26 の役割は多岐にわたっており、今後 CD26 抗体を用いた新規抗体療法の展開とともに、バイオマーカーとしての有用性についてもさらに確立していくことが期待される。

CD26 は、ヒト正常組織では T リンパ球の一部、内皮細胞、肝毛細胆管、腎尿細管上皮などで発現しているが、様々ながんで高発現が認められる。そこで現在、この CD26 を標的としたヒト化モノクローナル抗体 YS110 による新規抗がん療法の開発が進められている。ここでは、以下の 2 点について報告する。

#### 1) 臨床検体における CD26 発現評価法の確立と中皮腫における CD26 発現

CD26 は細胞膜貫通型 II 型糖蛋白質であり、多くのモノクローナル抗体が作出されてきたが、ホルマリン固定パラフィン切片で免疫染色できる抗体はなかった。そこで、尿素変性させた抗原 CD26 を用いて新規モノクローナル抗体 19-32 を作成し、臨床検体で免疫染色できる抗体の開発に成功した。中皮腫症例検体を用いて、この 19-32 抗体および市販ポリクローナル抗体で免疫染色を施行したところ、それぞれの抗体により、上皮型で 90%、85%、肉腫型で 50%、30% の陽性率が得られ、19-32 抗体が臨床検体における CD26 発現評価に適していることが明らかとなった。また中皮腫細胞での CD26 発現は、光学顕微鏡での観察では細胞膜、細胞質に認められたが、免疫電子顕微鏡ではさらに核内にもその発現が見られた。

#### 2) YS110 の中皮腫に対する抗腫瘍メカニズムと抗がん剤-YS110 結合分子の開発

YS110 は *in vitro* および *in vivo* で CD26 陽性中皮腫細胞の増殖を抑制する。この時、YS110 は細胞表面で CD26 と結合した後、カベオリンを介したエンドサイトーシスにより細胞質へ移行するが、中皮腫細胞を含むがん細胞においては特異的に YS110/CD26 の一部が 1 時間以内に核内に輸送される。さらに核内の CD26 は、RNA ポリメラーゼ II サブユニット POLR2A の転写を抑制して細胞増殖を阻害することが明らかとなった。そこで YS110 に RNA ポリメラーゼ II 阻害剤 TR1 を結合させた Antibody-Drug Conjugate(ADC:YS110-TR1)を作成したところ、*in vitro* および *in vivo* で中皮腫細胞の増殖抑制および細胞死を誘導することが判明した。この YS110-TR1 は、免疫機構 (ADCC および CDC) を介した抗体による抗がん作用に加えて、がん細胞特異的に RNA ポリメラーゼ II を転写および蛋白質レベルで阻害することで、相加・相乗的な抗がん効果が期待できると考えている。

## CD26 の機能と治療応用について

順天堂大学大学院医学研究科

免疫病・がん先端治療学講座

森本幾夫

CD26 分子は 110KDa の膜蛋白質で DPPIV 酵素を含むヒト T 細胞共刺激及び活性化分子である。我々は CD26 単クローン抗体の開発、CD26cDNA の単離を世界に先駆けて行い、当分子の機能と構造の研究では最先端に位置している。CD26 陽性 T 細胞腫瘍株や T 細胞クローンを用い *in vitro* で CD26 抗体を処理すると cyclin dependent kinase inhibitor の p21 が誘導され細胞周期が止まることを見出し、T 細胞腫瘍株を移植した免疫不全マウスへの抗体投与で腫瘍の縮小や生存延長が見られ、CD26 抗体が T 細胞異常を示す免疫病や CD26 陽性 T 細胞リンパ腫などの治療に有効な可能性を示した。当初これら疾患への新規治療開発をめざし良質なヒト化 CD26 抗体を開発した。

CD26 は T 細胞などの免疫細胞に加えて上皮系細胞など幅広く分布しており、悪性中皮腫細胞株、肺癌細胞株などでも強く発現していることを明らかにした。

特にアスベストばく露で発症する悪性中皮腫は今後益々増加すると予想され、アリムタ、シスプラチンなどの治療が行われているが生存期間は約 1 年と極めて予後不良で有効な新規治療法開発は急務である。

悪性中皮腫細胞株を免疫不全マウスに移植し、ヒト化 CD26 抗体を投与したところ腫瘍の縮小及び生存延長が認められ、ヒト化 CD26 抗体は本モデルにおいても有効性を示した。CD26 は正常中皮には発現しないが、上皮型悪性中皮腫では約 8 割に発現しており、悪性中皮腫の新規治療法として有望な可能性を示した。サルを用いたヒト化 CD26 抗体の前臨床試験で安全性を確認したことから、アリムタなど抗がん剤治療抵抗性の CD26 陽性悪性中皮腫及びその他固形癌患者を対象にフランスで本抗体の第 I 相臨床試験を施行し平成 26 年 9 月に第 I 相臨床試験は終了した。安全性が確認されるとともに有効性を示唆する結果も得られ、特に悪性中皮腫 19 例中 10 例が Stable Disease(SD)となり、うち 5 例では 6 ヶ月以上 SD が継続した。更に *in vitro* において CD26 陽性 T 細胞は CD3 及び CD26 抗体刺激により IL-10 の強産生及び LAG3 分子の高発現などが認められ、免疫抑制性機能も存在していることが明らかとなり、本抗体には PD-1 や CTLA-4 抗体のように免疫チェックポイントブロックにも作用する可能性が示唆された。本講演では最新の臨床試験データやヒト化 CD26 抗体の抗腫瘍作用について詳しいメカニズムについて紹介する予定である。