

令和元年6月7日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08677

研究課題名(和文) 漿膜に発生した石灰化線維性偽腫瘍と悪性中皮腫の鑑別の検討

研究課題名(英文) Research of Differential Diagnosis of Thoracic Tumors Including Pleural Calcifying Fibrous Tumor

研究代表者

清水 重喜 (SHIMIZU, Shigeki)

近畿大学・医学部・准教授

研究者番号：30336672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：石灰化線維性腫瘍の50%の症例で、中皮マーカーが陽性となるため、中皮腫との鑑別が問題となる。石灰化線維性腫瘍ではケラチン染色の陽性率が低く、鑑別点となる。稀な胸膜腫瘍(石灰化線維性腫瘍、孤在性線維性腫瘍、アデノマトイド腫瘍)、肺腫瘍(胎児型腺癌、腸型腺癌)および縦隔腫瘍(anaplasiaを伴う胸腺腫)にて、遺伝子検索を行った。胸膜アデノマトイド腫瘍ではTAF1の遺伝子異常を認めた。anaplasiaを伴う胸腺腫では、p53の遺伝子異常を認めた。腸型肺腺癌では、通常型肺腺癌と同様の遺伝子異常を伴っていた。胎児型肺腺癌の1例では、BRAFの遺伝子異常を認め、多数の遺伝子異常が蓄積されていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

石灰化線維性腫瘍の50%の症例で、中皮マーカーが陽性となるため、線維形成型中皮腫との鑑別が問題となる。石灰化線維性腫瘍ではケラチン染色の陽性率が低いことが鑑別点となる。胸膜アデノマトイド腫瘍ではTAF1の遺伝子異常を認めた。腹腔のアデノマトイド腫瘍では、TRAF7遺伝子異常の報告があり、胸腔と腹腔のアデノマトイド腫瘍は病因が異なる可能性が示唆される。anaplasiaを伴う胸腺腫は、p53 遺伝子異常が加わっており、胸腺癌に準じた対処方法が必要であることが推測される。肺腸型腺癌の免疫染色では、HER2 の発現があり、肺腸型腺癌と大腸癌の肺転移の鑑別に役立つ可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：We examined gene abnormalities of rare thoracic tumors including pleural tumors (one case of calcifying fibrous tumor, six cases of solitary fibrous tumor, one case of adenomatoid tumor), mediastinal tumors (two cases of thymoma with anaplasia), and lung tumors (six cases of enteric adenocarcinoma, three cases of high grade fetal adenocarcinoma, one case of glomus tumor). 50% of calcifying fibrous tumor expressed mesothelial markers. The adenomatoid tumor of the pleura showed TAF1 mutation. Tumor cells revealed p53 mutations in all of the cases in thymoma with anaplasia. The gene abnormalities of enteric adenocarcinomas of the lung are the same as those of usual lung adenocarcinoma, such as EGFR and p53. In addition, the tumor cells of enteric adenocarcinoma of the lung expressed HER2 in all cases. One tumor of fetal adenocarcinoma showed BRAF mutation. Another case was with a number of mutations including USP9X, FANCD2, PTEN, and SYNE1.

研究分野：呼吸器病理

キーワード：胸膜アデノマトイド腫瘍 胸腺腫 腸型肺腺癌 胎児型肺腺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胸部疾患では稀な疾患が多数あり、病理診断に苦慮することがある。そのため、病理学的な鑑別に有用な情報が必要と思われる。

特に、胸膜悪性中皮腫と鑑別が必要な疾患、胸腺癌と鑑別が必要な縦隔疾患、転移性肺腫瘍と鑑別が必要な原発性肺腫瘍で診断が困難な場合がある。具体的には、日常の病理業務にて、胸膜疾患では石灰化線維性腫瘍、アデノマトイド腫瘍、高分化型乳頭状中皮腫にて胸膜悪性中皮腫と鑑別に苦慮した。縦隔腫瘍では、anaplasia を伴う胸腺腫と胸腺癌の鑑別に苦慮したことがある。肺腫瘍では、大腸癌のマーカーである CDX-2 が陽性となる腸型肺腺癌や高悪性度胎児性腺癌と転移性大腸癌の鑑別に苦慮することがある。

これらの中で、肉腫型の胸膜悪性中皮腫と鑑別が問題となる石灰化線維性腫瘍は、サイトケラチンが陽性となった症例や多発症例や播種性病変を伴う症例も報告されており、悪性中皮腫などの悪性疾患との鑑別が問題となる。加えて、我々は、中皮マーカーである WT-1 や D2-40 が陽性となった石灰化線維性腫瘍を経験しており、石灰化線維性腫瘍と肉腫型中皮腫との鑑別の方法を確立する必要があると感じていた。

2. 研究の目的

稀で病理学的な鑑別が困難な胸部疾患において、免疫染色を含めた病理学的検討および遺伝子異常の検討を行い、鑑別に有用な所見を検出することを試みた。

特に、胸膜の石灰化線維性腫瘍などの胸膜腫瘍と胸膜悪性中皮腫との鑑別を目的とした。免疫染色所見と FISH 法を用いて、重要な鑑別疾患である悪性中皮腫と孤立性線維性腫瘍との病理学的な鑑別方法の確立および石灰化線維性腫瘍の発生機序解明を試みる。病理学的な鑑別方法の確立ができれば、予後良好な石灰化線維性腫瘍を予後不良な悪性中皮腫などと誤診することが減少する。漿膜発生の石灰化線維性腫瘍の発生機序解明により疾患概念の再構築の一助になる可能性がある。

また、anaplasia を伴う胸腺腫と CDX-2 が陽性となる原発性肺腫瘍の検討も同時に行った。anaplasia を伴う胸腺腫は胸腺癌との鑑別を目的とし、CDX-2 が陽性となる原発性肺腫瘍は大腸癌の肺転移との鑑別を目的とした。

3. 研究の方法

1) 石灰化線維性腫瘍などの胸膜腫瘍に関して

(A) 石灰化線維性腫瘍

漿膜発生の石灰化線維性腫瘍の鑑別診断で最も重要な線維形成性悪性中皮腫との鑑別について検討する。5 例の漿膜線維形成性悪性中皮腫の集積を試みる。臨床所見検討および HE 所見検討：石灰化線維性腫瘍および線維形成性悪性中皮腫の症例の性別、診断時の年齢、予後、画像所見(播種巣の有無、単発あるいは多発など)を調査する。石灰化線維性腫瘍症例は、確実に石灰化線維性腫瘍であることを確認するため、「腫瘍が硝子化した膠原線維の集積からなり、砂粒体様の石灰化巣とリンパ球や形質細胞の浸潤を混ざる」といった病理所見を確認する。パンサイトケラチン、中皮細胞マーカーおよび BAP1 の免疫染色：パンサイトケラチンである AE1/AE3 と CAM5.2 の免疫染色を行う。中皮細胞マーカーである calretinin, D2-40, WT-1 の免疫染色を行う。BAP1 に関しては、蛋白発現消失の有無を検討する。p16 FISH: p16 の欠失の検討をするため、p16 FISH を施行する。悪性中皮腫との鑑別が目的のため、通常の悪性中皮腫の基準で、

カットオフ値を設定する。石灰化線維性腫瘍を次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析する。

石灰化線維性腫瘍と孤在性線維性腫瘍の関連が報告されており、両者の関連を検討するため、孤在性線維性腫瘍 6 例にて次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析も加える。

(B) 他の稀な胸膜腫瘍

胸膜のアデノマトイド腫瘍 1 例と浸潤を伴う高分化型乳頭状中皮腫 1 例の経験もあるため、次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析する。

2) anaplasia を伴う胸腺腫に関して

anaplasia を伴う胸腺腫と思われる症例に関して、AE1/AE3, CK5/6, CD5, CD3, CD20, c-kit, CD1a, Ki-67, p53 などの免疫染色にて、胸腺腫と胸腺癌の鑑別を行う。anaplasia を伴う胸腺腫と診断可能であった症例にて、次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析する。

3) CDX-2 陽性の原発性肺腫瘍に関して

肺原発の腸型腺癌にて、病理形態学および免疫染色的検討を行う。加えて、次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析する。また、Tissue microarray にて多数の肺腫瘍症例で CDX-2 を染色し、CDX-2 が陽性で、形態的にも大腸癌の転移と鑑別が必要な他の腫瘍を選択し、次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析する。

4) その他

上記以外の胸部疾患にて、検討が必要な場合には次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常を解析する。

4 . 研究成果

1) 石灰化線維性腫瘍などの胸膜腫瘍に関して

(A) 石灰化線維性腫瘍

「腫瘍が硝子化した膠原線維の集積からなり、砂粒体様の石灰化巣とリンパ球や形質細胞の浸潤を混ざる」といった病理所見を確認し、8 症例の石灰化線維性腫瘍の検討を試みたが、5 例のみで、免疫染色が可能であった。1 例のみで、AE1/AE3 および CAM5.2 が陽性を呈した。中皮マーカーでは、カルレチニンは全例で陰性であった。WT-1 は 3 例にて陽性を呈し、D2-40 は 4 例にて陽性を呈した。WT-1 と D2-40 の両者が陽性の症例は 3 例であった。

腫瘍の多くが線維であり、FISH や網羅的な遺伝子解析は困難であった。現在は、1 例のみ次世代シーケンサーを施行中である。

石灰化線維性腫瘍の 50% の症例で、WT-1 あるいは D2-40 が陽性となるため、線維形成型中皮腫との鑑別が問題となると考えられる。石灰化線維性腫瘍ではケラチン染色の陽性率が低く、鑑別の一助となると思われる。

(B) 他の稀な胸膜腫瘍

稀な胸膜腫瘍(孤在性線維性腫瘍 6 例、アデノマトイド腫瘍 1 例)の次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常の解析を行った。胸膜アデノマトイド腫瘍では TAF1 の遺伝子異常を認めた。腹腔のアデノマトイド腫瘍では、TRAF7 遺伝子異常の報告があり、胸腔と腹腔のアデノマトイド腫瘍は病因が異なる可能性が示唆される。孤在性線維性腫瘍に関しては、報告のある異常以

外には特徴的な所見は認めなかった。

2) anaplasia を伴う胸腺腫に関して

AE1/AE3, CK5/6, CD5, CD3, CD20, c-kit, CD1a の免疫染色にて、anaplasia を伴う胸腺腫と考えられる症例 2 例を認めた。AE1/AE3 と CK5/6 が陽性の上皮細胞には著しい核異型があるが、CD5 と c-kit は陰性で、CD3 および CD1a などの免疫染色にて、腫瘍内に多くの immature T cell の浸潤を伴っていた。次世代シーケンサーにて網羅的に遺伝子異常の解析を行い、2 例ともに p53 遺伝子異常を伴っていた。P53 の免疫染色では、1 例で強陽性を呈していた。anaplasia を伴う胸腺腫は、CD5, c-kit, immature T-cell の浸潤などから、胸腺腫と診断されるが、p53 遺伝子異常が加わっており、胸腺癌に準じた対処方法が必要であることが推測される。

3) CDX-2 陽性の原発性肺腫瘍に関して

Tissue microarray にて、CDX-2 の免疫染色を行い、腸型腺癌と胎児型腺癌が陽性となった。腸型腺癌 5 例および胎児型腺癌 3 例にて、病理学のおよび次世代シーケンサーにより検索を行った。

病理形態学的に、腸型腺癌 5 例全例で、STAS の所見を認めた。腸型腺癌の全例で、免疫染色的に HER2 の発現を認めた。3 例では細胞膜に陽性であり、2 例は細胞質に陽性であった。遺伝子解析では、p53, EGFR の遺伝子異常を認め、通常型の肺腺癌との遺伝子異常の異なりは明らかではなかった。1 例では、未治療であるが、EGFR の治療耐性に関わる遺伝子異常を伴っていた。胎児型肺腺癌では、1 例で BRAF の遺伝子異常を認めた。胎児型腺癌の他の 1 例では、USP9X, FANCD2, PTEN, SYNE1 などの多数の遺伝子異常を認めた。

4) その他

稀な肺原発の glomus tumor においても、遺伝子検索を行った。転座ではないが、NOTCH1 の遺伝子異常を伴っていた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Shimizu S, Yoon HE, Ito N, Tsuji T, Funakoshi Y, Utsumi T, Sakaguchi M, Tsujimura T, Kasai T, Hiroshima K, Matsumura A. A Case of Solitary Well-Differentiated Papillary Mesothelioma with Invasive Foci in the Pleura. *Pathol Int.* 2017 Jan;67(1):45-49 (査読あり).

(投稿準備中)

- (1) 肺原発の腸型腺癌に関して。5 例の腸型腺癌の臨床、病理形態および遺伝子検索の結果について、投稿の準備をしている。近日中に投稿する。
- (2) anaplasia を伴う胸腺腫 2 例の case report の投稿の準備をしている。近日中に投稿する。

(投稿予定)

- (1) 胸膜のアデノマトイド腫瘍の case report を作成中である。

- (2) 肺胎児性腺癌の遺伝子異常と肺癌の CDX-2 陽性肺癌の頻度に関して論分を作成する予定である。現在は追加実験中である。
- (3) 肺原発の glomus tumor の case report を作成中する予定である。

〔学会発表〕(計 2 件)

- (1) 須田健一、小原 秀太、西野将矢、藤野智大、古賀教将、千葉真人、下治正樹、武本智樹、光富徹哉、清水重喜。腸型肺腺癌の 3 切除例。第 109 回 日本肺癌学会関西支部学術集会，2019
- (2) 大谷知之、清水重喜、榎木英介、佐藤隆夫、伊藤彰彦、千葉真人、武本智樹、光富徹哉。CT ですりガラス様陰影を呈し、組織学的に肺グロムス腫瘍を疑った肺腫瘍の 1 例。第 109 回 日本肺癌学会関西支部学術集会，2019

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特記事項なし。

6 . 研究組織

(1)研究分担者

(2)研究協力者

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。