

ORIGINAL ARTICLE

胸膜中皮腫を中心とした胸水ヒアルロン酸に関する症例調査

藤本伸一¹・青江啓介²・大泉聡史³・上月稔幸⁴・
亀井敏昭⁵・三浦溥太郎⁶・井内康輝⁷・岸本卓巳⁸

Clinical Investigation of Hyaluronic Acid in Pleural Effusion

Nobukazu Fujimoto¹; Keisuke Aoe²; Satoshi Oizumi³; Toshiyuki Kozuki⁴;
Toshiaki Kamei⁵; Hirotarō Miura⁶; Kouki Inai⁷; Takumi Kishimoto⁸

¹Department of Medical Oncology, Okayama Rosai Hospital, Japan; ²Department of Medicine, National Hospital Organization Yamaguchi-Ube Medical Center, Japan; ³Department of Respiratory Medicine, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Japan; ⁴Department of Medicine, National Hospital Organization Shikoku Cancer Center, Japan; ⁵Department of Pathology, Yamaguchi Grand Medical Center, Japan; ⁶Department of Medicine, Yokosuka General Hospital Uwamachi, Japan; ⁷Pathological Diagnostic Center, Japan; ⁸Department of Internal Medicine, Okayama Rosai Hospital, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** We evaluated the usefulness of assessing the hyaluronic acid (HA) level in pleural fluid for the differential diagnosis of malignant pleural mesothelioma (MPM). **Methods.** The data regarding the pleural fluid HA concentration were retrospectively collected from Rosai Hospitals and related facilities in Japan. **Results.** A total of 860 cases were examined, which included 139 cases of MPM, 76 of benign asbestos pleurisy (BAP), 324 of lung cancer (LC), 74 of other malignant conditions (OMC), 120 of infectious pleuritis (IP), 11 of collagen diseases (CD) and 116 cases had other conditions. The median (range) HA concentrations in the pleural fluid were 76,650 (211-33,000,000) ng/ml in the MPM cases, 28,000 (165-152,000) ng/ml in the BAP, 19,000 (800-134,000) ng/ml in the LC, 12,200 (900-157,200) ng/ml in the OMC, 23,400 (900-230,000) ng/ml in the IP, 17,800 (9,000-80,800) ng/ml in the CD and 11,575 (23-90,000) ng/ml in patients with other diseases. The HA levels were significantly higher in MPM cases than in the patients with other diseases. The receiver operating characteristics (ROC) analysis revealed an area under the ROC curve value of 0.818 (95% confidence interval, 0.772-0.864) for the differential diagnosis of MPM. With a cut-off value of 100,000 ng/ml, the sensitivity was 44.5% and the specificity was 98.2%. These results indicate that MPM should be strongly suspected in cases with an elevated concentration of pleural fluid HA. **Conclusion.** The pleural fluid HA concentrations might be useful for the differential diagnosis of MPM.

(JJLC. 2014;54:767-771)

KEY WORDS — Asbestos, Hyaluronic acid, Mesothelioma, Pleural effusion, Tumor marker

Reprints: Nobukazu Fujimoto, Department of Medical Oncology, Okayama Rosai Hospital, 1-10-25 Chikkomidorimachi, Okayama 702-8055, Japan (e-mail: nobufujimot@gmail.com).

Received July 31, 2014; accepted September 5, 2014.

要旨 — **目的.** 胸膜中皮腫の鑑別診断における胸水ヒアルロン酸の有用性を明らかにする. **方法.** 診療録より胸水ヒアルロン酸濃度を抽出し比較検討を行った. **結果.** 計 860 例分の胸水ヒアルロン酸濃度が抽出された. 疾患の内訳は胸膜中皮腫 139 例, 良性石綿胸水 76 例, 肺癌 324 例, 他臓器の悪性腫瘍 74 例, 感染性胸膜炎 120

例, 膠原病 11 例, その他 116 例であり, ヒアルロン酸濃度の中央値は胸膜中皮腫 76,650 ng/ml, 良性石綿胸水 28,000 ng/ml, 肺癌 19,000 ng/ml, 他臓器の悪性腫瘍 12,200 ng/ml, 感染性胸膜炎 23,400 ng/ml, 膠原病 17,800 ng/ml, その他 11,575 ng/ml であった. 胸膜中皮腫における胸水ヒアルロン酸濃度はその他の疾患に比べ有意に高

¹労働者健康福祉機構岡山労災病院腫瘍内科; ²国立病院機構山口宇部医療センター内科; ³北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学部門; ⁴国立病院機構四国がんセンター内科; ⁵山口県立総合医療センター病理科; ⁶横須賀市立うわまち病院内科; ⁷病理診断センター; ⁸労働者健康福祉機構岡山労災病院内科.

別刷請求先: 藤本伸一, 労働者健康福祉機構岡山労災病院腫瘍内科, 〒702-8055 岡山市南区築港緑町 1-10-25 (e-mail: nobufujimot@gmail.com).

受付日: 2014 年 7 月 31 日, 採択日: 2014 年 9 月 5 日.

値であり、カットオフ値を 100,000 ng/ml としたところ、胸膜中皮腫の診断における感度は 44.5%、特異度は 98.2% であった。結論、胸水中のヒアルロン酸濃度は、胸

膜中皮腫の鑑別診断の一助となり得る。

索引用語——アスベスト、ヒアルロン酸、中皮腫、胸水、腫瘍マーカー

緒言

胸膜中皮腫は胸膜の中皮細胞由来の予後不良な悪性腫瘍であり、¹ 石綿ばく露との関連が深い。^{2,3} 胸膜中皮腫の確定診断は腫瘍組織からの生検組織を用いた病理診断に基づく。腫瘍組織を得るための最も有用な検査は胸腔鏡検査であり、中皮腫診断におけるゴールド・スタンダードといえる。胸腔鏡検査は、特に局所麻酔下にて施行される場合比較的侵襲は少ないものの、高齢者や合併症を有する患者の場合は本検査の適応から除外されるケースがしばしば見られる。このように、臨床的に胸膜中皮腫が疑われるものの確定診断が得られない、という症例は少なくない。

胸膜中皮腫においては診断時にその 70% 以上の症例で胸水貯留を呈する。⁴ 胸水は臨床現場において比較的容易に採取することが可能であり、鑑別診断において重要な意味合いを持つが、胸水細胞診にて中皮腫の確定診断に達する症例は少なく、中皮腫のうち約 30% にとどまるといわれている。⁵

いわゆる分子生物学的マーカーは、各種の悪性腫瘍において高発現している分子の総称であり、その一部はある種の悪性腫瘍の補助診断や治療効果のモニタリングに臨床応用されている。胸膜中皮腫においてもこれまでにいくつかの分子マーカーが着目され、診断のための有用性について検討されている。なかでもヒアルロン酸は、以前より胸膜中皮腫の胸水中に高濃度で存在することが知られており、⁶⁻⁸ 細胞外マトリクスの主成分として中皮腫細胞の移動や発育に重要な役割を果たしている。Pettersson らの報告では、カットオフ値を 100,000 ng/ml とした場合、胸膜中皮腫では 73% が陽性、炎症性胸膜炎で 23% が陽性であったが、その他の悪性腫瘍や心不全では 1 例も陽性例は認められなかったと報告している。⁶ 悪性中皮腫以外でも、ウイルス性胸膜炎や関節リウマチ患者の胸水中のヒアルロン酸濃度が高値を呈するとの報告がある。⁷ この他、頻度は低いものの癌性胸膜炎、良性石綿胸水、心不全でも同様の報告がある。⁸ われわれはこれまでに、単一施設における後ろ向きを検討を行い他疾患との鑑別、および胸膜中皮腫の診断における胸水ヒアルロン酸の有用性について検討した。⁹ 本研究では、多施設より胸膜中皮腫症例や他の胸水貯留症例を収集し、胸水ヒアルロン酸濃度を胸膜中皮腫診断の指標として用い

る意義について検証した。

研究対象、方法

2001 年 8 月から 2010 年 10 月までの間に、全国各労災病院および本研究における研究協力施設において、胸水貯留をきたし、診断目的にて胸水採取を行われた症例を後ろ向きに集積し、診療録より胸水中のヒアルロン酸濃度を抽出した。ヒアルロン酸濃度は各施設より委託された外部検査施設においてラテックス凝集法にて測定されていた。これらの症例を胸膜中皮腫、良性石綿胸水、肺癌、胸膜中皮腫と肺癌以外の悪性腫瘍、感染性胸膜炎、膠原病、その他の疾患に分類し比較検討した。また可能な限り carcinoembryonic antigen (CEA)、アデノシンデアミナーゼ (ADA) 値についてもデータを収集した。データの収集に当たっては、厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」を遵守し、労働者健康福祉機構が定める倫理審査手順に沿って同機構が妥当性の評価を行った。統計学的手法としては、多群間の比較には Kruskal-Wallis 検定を用い、独立した 2 群間の比較には Mann-Whitney 検定を用いた。

結果

上記の期間中に胸水中のヒアルロン酸濃度が測定され、本研究のために集積された症例は 860 例であった。各施設における疾患別の症例集積数を Table 1 に示す。疾患群毎の内訳は、胸膜中皮腫 139 例、良性石綿胸水 76 例、肺癌 324 例、他臓器の悪性腫瘍の胸腔内転移 74 例、感染性胸膜炎 120 例、膠原病 11 例、その他の疾患 116 例である。その他の疾患の大半はうっ血性心不全、肝硬変が占めた。

胸水中のヒアルロン酸濃度の中央値（範囲）は、胸膜中皮腫 76,650 ng/ml (211~33,000,000 ng/ml)、良性石綿胸水 28,000 ng/ml (165~152,000 ng/ml)、肺癌 19,000 ng/ml (800~134,000 ng/ml)、他臓器の悪性腫瘍の胸腔内転移 12,200 ng/ml (900~157,200 ng/ml)、感染性胸膜炎 23,400 ng/ml (900~230,000 ng/ml)、膠原病 17,800 ng/ml (9,000~80,800 ng/ml)、その他の疾患では 11,575 ng/ml (23~90,000 ng/ml) であった (Figure 1)。胸膜中皮腫とそれ以外の疾患において Kruskal-Wallis 検定を用いて比較したところ、明らかな有意差が認められた ($P < 0.001$)。Mann-Whitney 検定を用いた 2 群間の比較では、胸膜中

Table 1. The Numbers of Cases Collected at Each Facility

	n	Disease						
		MPM*	BAPE†	LC‡	OMC§	IP	CD¶	Others
Okayama Rosai Hospital	336	51	45	81	22	69	6	62
Yamaguchi-Ube Medical Center	183	27	15	88	10	23	5	15
Shikoku Cancer Center	160	12	3	92	32	5	0	16
Kagawa Rosai Hospital	109	5	9	42	9	23	0	21
Hokkaido University Hospital	32	10	0	20	1	0	0	1
Kanto Rosai Hospital	6	6	0	0	0	0	0	0
Tokyo Rosai Hospital	6	5	1	0	0	0	0	0
Chiba Rosai Hospital	5	5	0	0	0	0	0	0
Asahi Rosai Hospital	5	3	2	0	0	0	0	0
Tohoku Rosai Hospital	4	4	0	0	0	0	0	0
Hokkaido Chuo Rosai Hospital	3	3	0	0	0	0	0	0
Toyama Rosai Hospital	3	3	0	0	0	0	0	0
Yamaguchi Rosai Hospital	3	3	0	0	0	0	0	0
Nagasaki Rosai Hospital	3	2	1	0	0	0	0	0
Kashima Rosai Hospital	1	0	0	0	0	0	0	1
Hamamatsu Rosai Hospital	1	0	0	1	0	0	0	0
Total	860	139	76	324	74	120	11	116

*malignant pleural mesothelioma, †benign asbestos pleural effusion, ‡lung cancer, §other malignant condition, ||infectious pleuritis, ¶collagen disease.

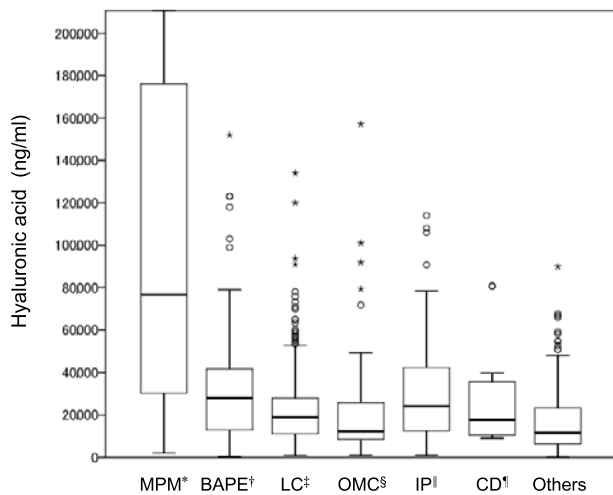


Figure 1. Comparison of the hyaluronic acid concentrations in pleural fluid. *malignant pleural mesothelioma, †benign asbestos pleural effusion, ‡lung cancer, §other malignant condition, ||infectious pleuritis, ¶collagen disease.

皮腫と他の疾患群の間には明らかな有意差が認められた。次に胸膜中皮腫とそれ以外の症例について、receiver operating characteristics (ROC) 曲線を作成し検討したところ、area under the ROC curve (AUC) 値は0.818 (95% 信頼区間 0.772~0.864) であった (Figure 2)。Youden's index¹⁰を用いて得られた最適のカットオフ値は59,650 ng/mlであり、その際の胸膜中皮腫の診断にお

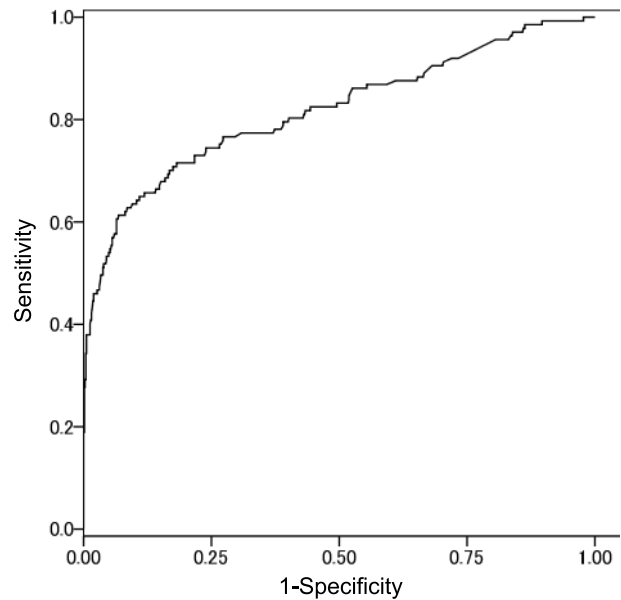


Figure 2. The results of the receiver operating characteristics analysis of the use of the hyaluronic acid concentration for the differential diagnosis of malignant pleural mesothelioma.

ける感度は61.3%、特異度は93.1%であった。またカットオフ値を100,000 ng/ml, 150,000 ng/ml, 200,000 ng/mlとした場合の感度はそれぞれ44.5%, 29.2%, 22.6%であり、特異度はそれぞれ98.2%, 99.6%, 99.9%であった。胸水中のヒアルロン酸濃度が100,000 ng/ml以上で

Table 2. The Features of the Cases Other Than Malignant Pleural Mesothelioma with a Hyaluronic Acid Concentration More Than 100,000 ng/ml

Case	Disease	Hyaluronic acid (ng/ml)	CEA § (ng/ml)	ADA ¶ (IU/l)
1	Pharyngeal cancer	101,000	83.1	15.6
2	BAPE*	103,000	0.9	30.2
3	Pleuritis	106,000	2.2	16.9
4	Tbc†	108,000	3.2	123.4
5	Tbc	114,000	1.8	114.5
6	BAPE	118,000	1.5	13.6
7	LC‡	120,000	2.1	16.1
8	BAPE	123,000	3.1	17.7
9	BAPE	123,000	0.9	18.7
10	LC	134,000	13979.4	149.0
11	BAPE	152,000	0.9	21.5
12	Renal cancer	157,200	ND	32.3
13	Pyothorax	230,000	4.8	ND

*benign asbestos pleural effusion, †tuberculous pleuritis, ‡lung cancer, §carcinoembryonic antigen, ||not determined, ¶adenosine deaminase.

あった症例は860例中74例で、全体の8.6%であった。これらの74例のうち61例(82.4%)は胸膜中皮腫であり、胸膜中皮腫以外で100,000 ng/ml以上であった例はTable 2に示す13例(全体の1.5%)であり、内訳は良性石綿胸水が5例、結核性胸膜炎が2例、肺癌が2例、咽頭癌、腎癌の胸腔内転移がそれぞれ1例ずつ、結核以外の感染性胸膜炎が2例(膿胸の1例を含む)であった。このうち、結核性胸膜炎の2例は、Table 2に示すように胸水中のADA値がそれぞれ123.4 IU/l、114.5 IU/lと著明な高値を呈しており、またいずれの症例においても発熱などの感染症状に加え、PCR法による胸水中の遺伝子検索にて結核菌の存在が証明されていた。また肺癌の2例は胸水細胞診において疑義の余地なく肺癌と診断されていた。このうち1例はTable 2に示すように胸水中のCEA値が著明な高値を呈していた。腎癌の症例についても臨床経過より診断には疑義の余地はなかった。感染性胸膜炎と診断されている2例は、いずれも発熱などの感染症状や炎症反応などを呈し、特に膿胸の症例は特異的な胸水の性状などから臨床診断に疑義の余地は見られなかった。それ以外の咽頭癌の1例と良性石綿胸水の5例については臨床経過や画像を含めた検査所見からの診断は困難であり、診断の確定には胸腔鏡下胸膜生検を要した。

考 察

われわれは最近、岡山労災病院における胸膜中皮腫並びに他の疾患における胸水中のヒアルロン酸濃度を中心に解析した。その結果、1)胸水中のヒアルロン酸濃度が100,000 ng/mlを上回る場合、その大半の症例は胸膜中皮

腫であること、2)中皮腫以外の疾患である場合、他の臨床徴候、画像所見、あるいは胸水の性状や抗酸菌を含む細菌学的な検討を加えることで、肺癌や結核性胸膜炎を含めた感染性胸膜炎の大半は臨床診断が可能であること、3)良性石綿胸水において胸水中のヒアルロン酸濃度が100,000 ng/mlを上回る症例が散見されること、を報告した。⁹ただその際の検討では特に胸膜中皮腫以外の疾患の症例集積数は十分とはいえず、多施設、多症例における検討が必要と思われた。本研究では前述の岡山労災病院のデータに加え全国の各労災病院、および北海道大学病院、国立病院機構四国がんセンター、国立病院機構山口宇部医療センターを中心にデータを加え、860例に及ぶデータが集積された。各施設の特徴を反映して疾患の分布に多少の違いがあるものの、ある程度実臨床を反映した疾患の分布といえると思われる。その結果今回の検討でも、胸膜中皮腫では他の胸水を呈する疾患に比べ明らかにヒアルロン酸濃度は高値を呈しており、胸膜中皮腫の診断マーカーとしての有用性が改めて示唆された。実臨床において胸膜中皮腫を強く疑う目安の数値とされている100,000 ng/mlをカットオフ値とした場合、胸膜中皮腫の診断における感度は44.5%、特異度は98.2%に達していた。このことから、胸水ヒアルロン酸濃度が高値である場合、まず胸膜中皮腫を念頭に置く必要があることが改めて示されたと考える。

胸膜中皮腫の確定診断は病理診断によるものであり、胸腔鏡などの検査により十分量の腫瘍組織を元に各種の免疫組織学的検索を踏まえた上で診断されるべきであるが、胸膜中皮腫患者の多くは過去の石綿ばく露から30年から40年に及ぶ潜伏期間を経て発症することが多い

ため、高齢であることが多く、合併症などのため侵襲を伴う検査が見送られるケースが少なからずある。今回の検討において、胸水ヒアルロン酸濃度が100,000 ng/ml以上であった場合、胸膜中皮腫である確率は74例のうち61例で82.4%である。このカットオフ値で、ヒアルロン酸値のみで中皮腫と診断した場合、13例が偽陽性、つまり中皮腫でないのに中皮腫と診断されることとなる。しかしTable 2に示したこれらの症例のうち、約半数は発熱などの臨床徴候や検査所見、画像所見より臨床診断が比較的容易になされている。ただこれらの症例を除く下咽頭癌の1例と良性石綿胸水の5例については、臨床経過や画像を含めた検査所見からの診断は困難であり、診断の確定には胸腔鏡下胸膜生検を要した。なおこれらの良性石綿胸水の5例は、その後の経過観察においても胸膜中皮腫の発症は認められていない。この結果より、胸水中のヒアルロン酸濃度に一般臨床において通常施行されうる検査所見を加えることにより、大半の症例は臨床診断に到達しうるといえる。具体的には、発熱などの感染症状の有無、血液検査における白血球数、CRP値などの炎症所見の有無、画像所見、さらには胸水の性状、細胞診に加え一般細菌や抗酸菌の塗抹、培養、および結核菌群核酸同定(PCR法)などがあげられる。さらに他の胸水マーカーとしてCEA、ADAなどもその一助となり得る。たとえばTable 2に示した咽頭癌の1例と肺癌の2例のうちの1例では胸水CEA値が著明な高値を呈しており、胸膜中皮腫以外の疾患を示唆する所見といえる。またADAは結核性胸膜炎において高値を呈することが多く、一般的に40 IU/lを上回る場合は結核性胸膜炎である可能性が高いといわれているが^{11,12} 今回の検討ではそれ以外の疾患群においても40 IU/lを上回る症例も散見されており、鑑別診断には慎重である必要がある。

これまで述べてきたように、胸水中のヒアルロン酸濃度は胸膜中皮腫の鑑別診断において有用である。実臨床における有用性のみならず、石綿健康被害救済制度などの運用において、高齢や合併症など何らかの理由により病理診断が得られていないものの胸水中のヒアルロン酸濃度が高値を呈する症例において、1)胸膜の腫瘍性肥厚、不整な肥厚など画像的に胸膜中皮腫として矛盾しないこと、2)発熱や炎症反応など、明らかに感染症を疑わせる所見がないこと、3)CEAやADAが極端な高値でないことなどを確認し、さらに臨床経過などを十分吟味し胸膜中皮腫を認定していくことも考慮すべきと思われる。ただ本来は胸膜中皮腫の診断は病理診断によるものであり、胸腔鏡などの検査により十分量の腫瘍組織を元に各種の免疫組織学的検索を踏まえた上で診断されるべきで

ある。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

謝辞：本研究は、環境省請負業務「平成23年度石綿関連疾患に係る医学的所見の解析調査（胸水ヒアルロン酸、胸水腫瘍マーカー測定値に基づく中皮腫診断補助検査の確立に関する調査編）」の一部として行った。また本研究は独立行政法人労働者健康福祉機構「労災疾病等13分野医学研究・開発・普及事業」によるものである。

REFERENCES

- Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Kato K, Takeshima Y, Inai K, et al. Treatment and survival analyses of malignant mesothelioma in Japan. *Acta Oncol.* 2013;52:803-808.
- Gemba K, Fujimoto N, Kato K, Aoe K, Takeshima Y, Inai K, et al. National survey of malignant mesothelioma and asbestos exposure in Japan. *Cancer Sci.* 2012;103:483-490.
- Kishimoto T, Gemba K, Fujimoto N, Aoe K, Kato K, Takeshima Y, et al. Clinical study on mesothelioma in Japan: Relevance to occupational asbestos exposure. *Am J Ind Med.* 2010;53:1081-1087.
- Fujimoto N, Aoe K, Gemba K, Kato K, Yamazaki K, Kishimoto T. Clinical investigation of malignant mesothelioma in Japan. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2010;136:1755-1759.
- Renshaw AA, Dean BR, Antman KH, Sugarbaker DJ, Cibas ES. The role of cytologic evaluation of pleural fluid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Chest.* 1997; 111:106-109.
- Pettersson T, Fröseth B, Riska H, Klockars M. Concentration of hyaluronic acid in pleural fluid as a diagnostic aid for malignant mesothelioma. *Chest.* 1988;94:1037-1039.
- Hillerdal G, Lindqvist U, Engström-Laurent A. Hyaluronan in pleural effusions and in serum. *Cancer.* 1991;67: 2410-2414.
- Söderblom T, Pettersson T, Nyberg P, Teppo AM, Linko L, Riska H. High pleural fluid hyaluronan concentrations in rheumatoid arthritis. *Eur Respir J.* 1999;13:519-522.
- Fujimoto N, Gemba K, Asano M, Fuchimoto Y, Wada S, Ono K, et al. Hyaluronic acid in the pleural fluid of patients with malignant pleural mesothelioma. *Respir Investig.* 2013;51:92-97.
- Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer.* 1950;3:32-35.
- 青江啓介, 平木章夫, 村上知之. 結核性胸膜炎の診断と治療—とくに胸水中サイトカイン測定の意義について—。結核。2004;79:289-295.
- Ogata Y, Aoe K, Hiraki A, Murakami K, Kishino D, Chikamori K, et al. Is adenosine deaminase in pleural fluid a useful marker for differentiating tuberculosis from lung cancer or mesothelioma in Japan, a country with intermediate incidence of tuberculosis? *Acta Med Okayama.* 2011;65:259-263.