

INVITED REVIEW ARTICLE

中皮腫診断における分子病理

鍋島一樹¹・後藤優子¹・瀧澤克実¹

Molecular Pathology in a Mesothelioma Diagnosis

Kazuki Nabeshima¹; Yuko Goto¹; Katsumi Takizawa¹¹Department of Diagnostic Pathology, Pathological Diagnosis Center, Fukuoka Tokushukai Hospital, Japan.

ABSTRACT — In recent years, the conditions in routine mesothelioma practice have changed dramatically. These changes include (1) the aging of patients, (2) the introduction of a combination of immune checkpoint inhibitors (nivolumab plus ipilimumab) that is superior to conventional chemotherapy, and (3) advances in the pathological diagnosis of cytology specimens, small biopsy tissue, and early-stage lesions. This review article outlines (i) the WHO 2021 classification, which for the first time introduced the category of “benign and preinvasive mesothelial tumors” including mesothelioma in situ, (ii) the morphological ancillary assays based on genetic alterations of mesotheliomas that enabled the diagnosis of the new disease category, and (iii) its application to cytology, followed by (iv) an overview of the genetic alterations in mesothelial tumors and mesothelioma subtypes. Given that over 80% of pleural mesotheliomas initially present with pleural effusions, the role of cytology is expected to become more important. However, there are caveats and pitfalls associated with the application of ancillary assays, and the careful management and evaluation are desirable. Furthermore, diagnosing mesothelioma is challenging for pathologists alone, so it is essential that the results of histology and ancillary assays always be assessed and interpreted together with clinical and imaging findings.

(JJLC. 2023;63:835-843)

KEY WORDS — Mesothelioma, BAP1, CDKN2A, MTAP, NF2

Corresponding author: Kazuki Nabeshima.

要旨 — 近年、中皮腫診療を取り巻く状況は大きく変化してきた：患者の高齢化、従来の化学療法にまさる免疫チェックポイント阻害薬ニボルマブ+イピリムマブ併用の登場、細胞診や小さな生検組織・早期病変における病理診断の進歩である。本稿では(i)前浸潤性中皮腫 mesothelioma in situ を含む「良性および前浸潤性中皮腫瘍」というカテゴリーが初めて加えられた WHO 2021 分類の概略、(ii) その新たな疾患単位の診断を可能とした中皮腫の遺伝子変異に基づく形態学的補助アッセイと

(iii) 細胞診への応用、さらに (iv) 中皮腫瘍および中皮腫亜型と遺伝子変異について概説する。胸膜中皮腫の 8 割以上が胸水で初発することを考慮すると、細胞診の役割がより重要になってくると予測される。ただ補助アッセイの応用には注意点や pitfall もあり、慎重な運用と評価が望まれる。また、中皮腫診断は病理医のみでは難しく、病理組織と代替アッセイの結果を常に臨床所見・画像所見とともに評価・判断することが肝要である。

索引用語 — 中皮腫, BAP1, CDKN2A, MTAP, NF2

はじめに

「中皮腫診断における分子病理」というタイトルをいただいたので、WHO 2021 分類の概略と、この新たな分類を可能とした中皮腫の遺伝子変異に基づく形態学的補助

アッセイについて、その細胞診への応用とともに述べ、最後に中皮腫瘍および中皮腫亜型の遺伝子変異にも言及する。

近年、中皮腫診療を取り巻く状況(患者の年齢・治療・病理診断)に大きな変化が生じてきた。まずは患者の高

¹福岡徳洲会病院病理診断センター/病理診断科。

論文責任者：鍋島一樹。

Table 3. The Pathological Diagnosis of Resection and Biopsy Specimens

Resection specimens (EPD/EPP)	Biopsy specimens
<ul style="list-style-type: none"> Desmoplastic mesothelioma if $\geq 50\%$ of the tumour shows desmoplastic features Biphasic mesothelioma is PM showing $\geq 10\%$ each of epithelioid and sarcomatoid patterns. 	<ul style="list-style-type: none"> Sarcomatoid mesothelioma with desmoplastic features Biphasic mesothelioma is PM showing both epithelioid and sarcomatoid patterns in any proportion

EPD, extended pleurectomy/decortication; EPP, extrapleural pneumonectomy; PM, pleural mesothelioma.

1. Determination of mesothelial origin

Immunohistochemistry should be performed with at least two mesothelial markers and two carcinoma markers.

2. Discrimination of pleural mesothelioma (PM) from reactive mesothelial proliferation (RMP)

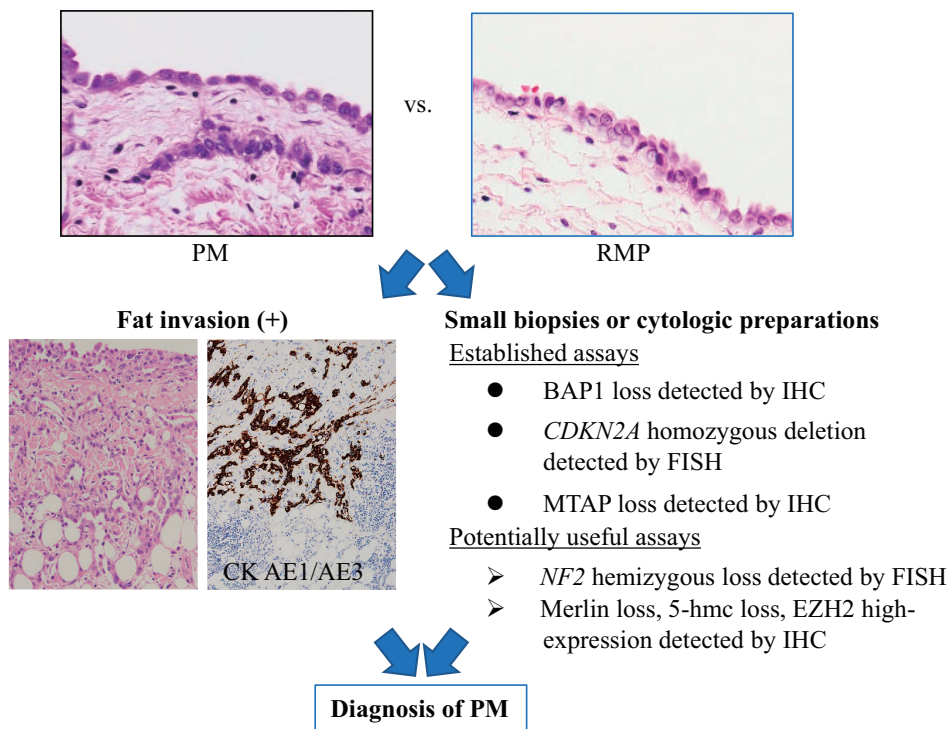


Figure 1. The diagnosis of pleural mesothelioma (PM). When diagnosing PM, the first step is to verify its mesothelial origin using immunohistochemistry (IHC), followed by discriminating PM from reactive mesothelial proliferation (RMP). For this discrimination, fat invasion by tumor cells is a good indicator of malignancy. However, in small biopsies or cytologic preparations, determining malignancy and its discrimination from RMP are sometimes challenging and require ancillary assays, which involve established assays, such as BAP1 IHC, MTAP IHC, and *CDKN2A* FISH, as well as potentially useful but not yet established assays, including *NF2* FISH, Merlin IHC, 5-hmc IHC, and EZH2 IHC. Adjusting staining protocols is essential for each of these IHC assays. Furthermore, the results of morphology and ancillary assays should be correlated with clinical and radiographic findings.

であった。しかし近年、中皮腫の遺伝子変異に基づくアッセイによって、BAP1 (BRCA1 associated protein 1) loss や MTAP (methylthioadenosine phosphorylase) loss, *CDKN2A/p16* (*CDKN2A*) 遺伝子のホモ接合性欠失を確

認することで鑑別が可能となってきた。いずれも単独での診断感度は50~70%と高くはないが、反応性中皮増殖との鑑別において特異度はほぼ100%という点が特筆すべきポイントである。これらについて次項でより詳細に

記載する。尚、かつて鑑別に有用とされた EMA, IMP-3, CD146, GLUT1 はその特異度で劣るので、現在のガイドラインでは日常診療での応用は推奨されていない。²

遺伝子変異に基づく形態学的アッセイ

中皮腫で最も多く体細胞変異やコピー数の異常を呈する遺伝子には *BAP1*, *NF2* (*neurofibromin 2*), *CDKN2A*, *TP53*, *LATS1/2*, *SETD2* がある。³ 特に前3者が多く、いずれもがん抑制遺伝子である。*BAP1* と *CDKN2A* 変異は発がんの初期に生じ、一方 *NF2* 変異は後期に生じるので腫瘍内の部位による違いが見られる。⁴

中皮腫診断における「中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別」のための遺伝子変異に基づくアッセイには、すでに多くの文献が発表され信頼性の確立したものと、特異度が高く有用だと報告されているが、追試報告が少なく確立に至っていないものがある (Figure 1)。前者には免疫染色による *BAP1* loss や *MTAP* loss の検出、FISH (fluorescence in situ hybridization) による *CDKN2A* ホモ接合性欠失の検出があり、後者には FISH による *NF2* ヘミ接合性欠失の検出、免疫染色による *NF2* 蛋白産物 Merlin (moesin-ezrin-radixin-like protein) loss, 5-hmc (5-hydroxymethylcytosine) loss, *EZH2* (enhancer of zeste homolog 2) 高発現の検出がある。⁵

1. *BAP1* loss

BAP1 遺伝子は 3p21 領域に存在するがん抑制遺伝子で、核に存在する deubiquitinase をコードしている。中皮腫で *BAP1* 変異の多いことが 2011 年に報告された。*BAP1* 蛋白には、N 末側に ubiquitin hydrolase domain (UHD), C 末側に核移行シグナルや免疫に用いられる抗体認識部位が存在する。これらをコードする遺伝子部位に比較的広く変異が生じ、そのほとんどが inactivating mutation で、蛋白の発現が失われる・蛋白発現は保たれても核移行シグナル部分が失われる・あるいは機能しない (UHD 内変異のために核移行シグナルの脱ユビキチン化がなされず機能しない) ために、変異陽性例の 88~100% で核での発現を失ってしまう。従って免疫染色を施行すると、反応性中皮を含む正常細胞では *BAP1* は核に発現するが、*BAP1* 変異をきたした中皮腫細胞では核での発現が失われる。これを中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別に用いている (Figure 2A)。

中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別における *BAP1* loss の有用性に関して、我々のものも含めて 12 の研究・1500 例ほどの結果をまとめたメタ解析研究がある。⁶ *BAP1* loss は中皮腫全体で 55% に認められ、一方、反応性中皮増殖では全く見られず、両者の鑑別における特異度は 100% である。しかし *BAP1* loss は上皮様中皮腫では 74% に認められるが、肉腫様中皮腫では 7% にとどま

り、肉腫様中皮腫の診断には有用ではない。

2. *CDKN2A* ホモ接合性欠失 (ホモ欠失)

CDKN2A は 9p21 領域に存在するがん抑制遺伝子で細胞周期の制御因子である。この領域には *CDKN2A* 以外にも、*p14^{ARF}*, *p15^{INK4B}*, *MTAP* というがん抑制遺伝子が存在する。中皮腫にこの領域のホモ欠失が生じることが 1994 年に報告され、2000 年以降、そのホモ欠失を FISH にて検出することが中皮腫診断に用いられている (Figure 2B)。この FISH による *CDKN2A* ホモ欠失に関しても、中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別に関するメタ解析結果が報告されている。セルブロックにおける 17 の研究の解析で、全体での感度 (pooled sensitivity) は 0.62 で、胸膜中皮腫の約 62% にこの *CDKN2A* ホモ欠失が認められ、その特異度はすべての研究において 100%,⁷ つまり *BAP1* loss と同様に、反応性中皮増殖では全く認められないという点が重要である。

BAP1 loss と *CDKN2A* ホモ欠失の診断感度はそれぞれ 50% 台、60% 台と決して高くない。しかし両者の併用によってその診断感度は 80% 台へと上昇する。⁷ これは日常診療においては十分に有用なレベルである。しかし FISH の汎用性は低いので、その代用となる *MTAP* 免疫染色が開発された。⁸

3. *MTAP* loss

先述のとおり 9p21 領域には、*CDKN2A* 以外にも、*p14^{ARF}*, *p15^{INK4B}*, *MTAP* というがん抑制遺伝子が存在し、中でも *MTAP* と *CDKN2A* は一緒に高率に欠失する。しかも肺癌とは異なり、*MTAP* が単独で欠失する例は中皮腫では報告されていない。さらに、その遺伝子欠失を蛋白産物の発現消失として捉える良いモノクローナル抗体が、*CDKN2A* ではなく、*MTAP* には存在したので、それを利用して FISH による *CDKN2A* ホモ欠失検出の代替免疫染色アッセイが成立した (Figure 3A)。*BAP1* loss は核における発現消失で判断するが、*MTAP* loss は細胞質における発現消失で判断する。これまでの結果から、FISH にて *CDKN2A* ホモ欠失を示す症例の 70~80% では *CDKN2A* のみならず *MTAP* も欠失し、従って免疫染色による *MTAP* loss も認められる。残りの 20~30% では、*CDKN2A* のみが失われ、*MTAP* は保持されるので、*MTAP* loss は見られない。先述のとおり中皮腫では *MTAP* のみが失われることはないので、*MTAP* loss による *CDKN2A* ホモ欠失検出の特異度はほぼ 100%、感度は 70~80% ということになる (Figure 3B)。^{8,9}

免疫染色による *BAP1* loss と *MTAP* loss の併用によって、中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別における診断感度は *BAP1* loss と *CDKN2A* ホモ欠失の併用と同様に 80% 台に上昇する。^{9,10} この診断感度をもう少し 100% 近くまで上げるためには、中皮腫で変異する遺伝子トッ

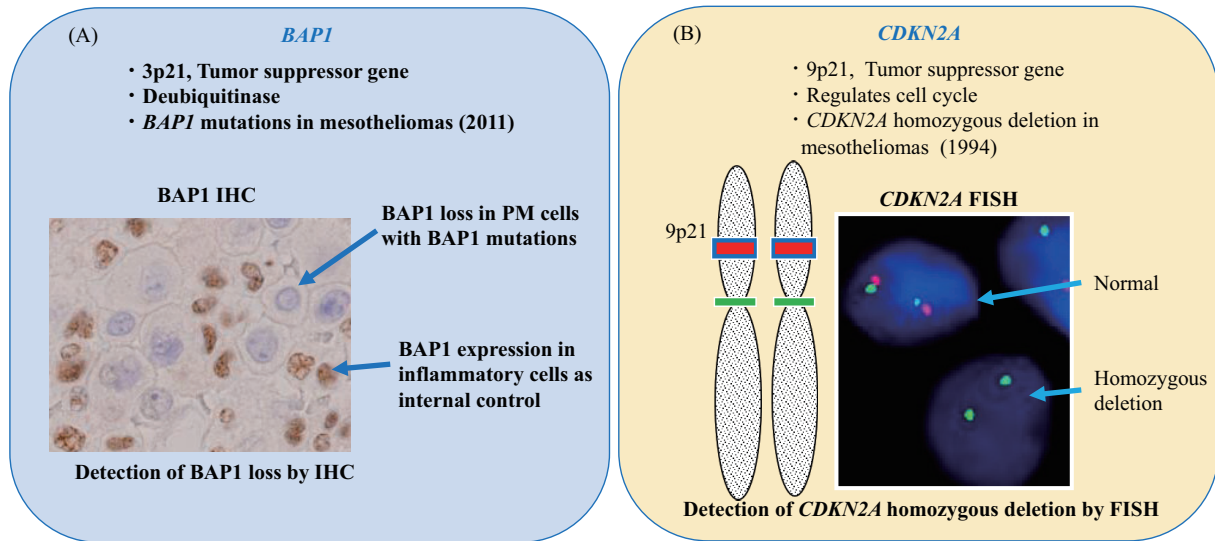


Figure 2. IHC-detected BAP1 loss and FISH-detected *CDKN2A* homozygous deletion (HD). (A) The *BAP1* gene is located in the 3p21 region and sometimes shows a loss of expression of its protein product in the nuclei because of inactivating mutations. This phenomenon is illustrated in the present IHC finding, showing a loss of BAP1 protein expression in nuclei of PM cells with BAP1 mutations, while inflammatory cells, which serve as internal controls, express BAP1 in their nuclei. (B) The *CDKN2A* gene is located in the 9p21 region, which is labeled with red fluorescence in FISH. Thus, *CDKN2A* HD is detected by loss of two red signals, as shown above. IHC, immunohistochemistry.

ブ3のもう一つ、*NF2* 遺伝子に着目することとなる。

4. *NF2* ヘミ接合性欠失 (ヘミ欠失)

NF2 は 22q12 の領域に存在するがん抑制遺伝子で、Merlin 蛋白をコードし、Hippo signal 伝達系を介して細胞増殖を制御しており、1995 年に中皮腫の 40~50% に変異が見られることが報告されている (Figure 4A).¹¹ FISH を用いると組織でもセルブロックでも、中皮腫細胞は主としてモノソミーパターンのヘミ欠失を呈し、腹膜中皮腫では約 35%、胸膜中皮腫では約 50% に認められる (Figure 4B). しかし反応性中皮増殖においてカットオフ値以上の *NF2* ヘミ欠失が見られることはなく、BAP1 loss, *CDKN2A* ホモ欠失と同様に、中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別における特異度は 100% である。我々の胸膜中皮腫に関する多施設共同研究 (組織 106 例, セルブロック 107 例, 反応性中皮増殖 37 例) において、上記の鑑別に関しては従来のアッセイの併用では BAP1 loss と *CDKN2A* ホモ欠失の併用が 94.2% と最も診断感度が高いが、さらに *NF2* ヘミ欠失を加えるとその診断感度を 98.1% とほぼ 100% 近くにまで高めることができた。¹² 従って、FISH 施行可能な施設においては *NF2* FISH によるヘミ欠失の検出は有用な診断手段である。

5. Merlin loss

NF2 遺伝子変異の中皮腫診断への応用に関しては、その蛋白産物 Merlin の免疫染色が有用であるとの報告も

出てきた。¹⁰ 反応性中皮や *NF2* 変異のない中皮腫では細胞膜での Merlin 発現が認められるが、変異を示すものでは失われる (Merlin loss) というものである (Figure 4C). 反応性中皮病変で Merlin loss を呈するものはなく、従って BAP1 や MTAP と同様に中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別において特異度 100% である。反応性中皮病変との鑑別において、Merlin loss は単独では診断感度 52% だが、BAP1 loss と MTAP loss にさらにこの Merlin loss を加えると診断感度は 79% から 90% に上昇する。他の研究機関からの追試結果を待たねばならないが、現在までのところ米国から 2 つの支持するデータが報告されている。我々も追試中であるが、上記の報告を支持する結果が得られつつある。

代替免疫染色アッセイと遺伝子変異

代替免疫染色はどの施設でも行えてとても有用であるが、すべての遺伝子変異を検出できるわけではないことを理解しておくことは大切である。Chapel らは 84 例の中皮腫で NGS (next-generation sequencing) を用いた遺伝子解析結果と免疫染色結果を比較検討し、BAP1 および Merlin 免疫染色結果はそれぞれその 86%、77% が NGS による遺伝子変異の有無と一致していた。¹⁰ 残りの 14%、23% では免疫染色にて loss はなかったが NGS では遺伝子変異が認められた、あるいはその逆もあったと

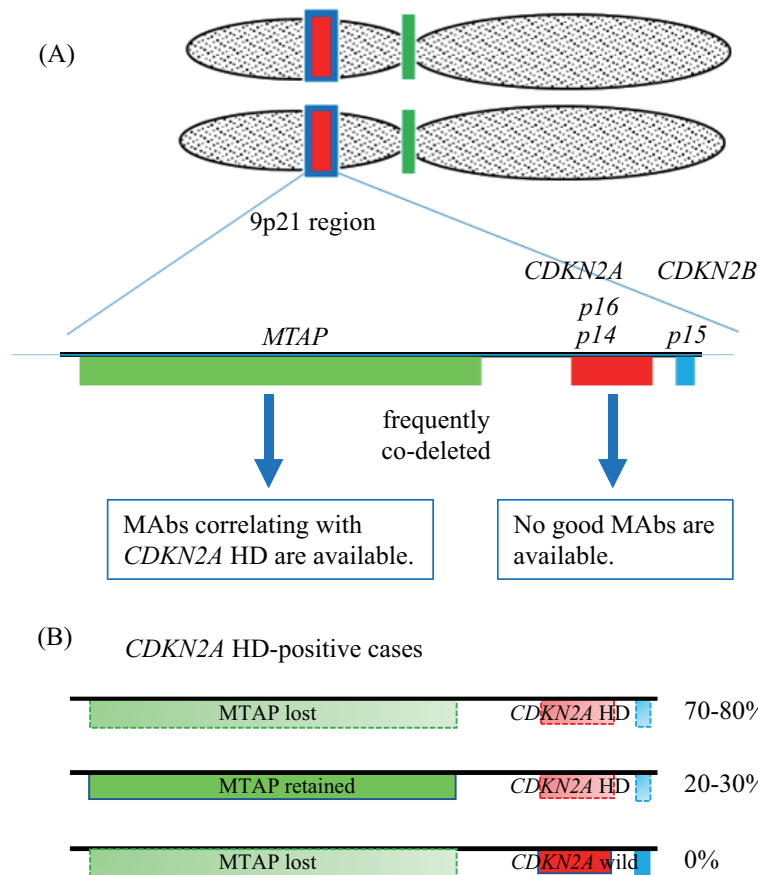


Figure 3. Methylthioadenosine phosphorylase (MTAP) IHC as a surrogate for FISH for *CDKN2A* homozygous deletion (HD). (A) The MTAP gene is a tumor suppressor gene located at the telomere side adjacent to *CDKN2A* on chromosome 9p21. In mesotheliomas, *MTAP* HD always co-exists with *CDKN2A* HD. Thus, MTAP IHC using a monoclonal anti-MTAP primary antibody yielded excellent specificity and acceptable sensitivity for detecting *CDKN2A* HD. (B) In 70%-80% of mesothelioma cases, the *MTAP* and *CDKN2A* genes are co-deleted, while 20%-30% of the cases only show *CDKN2A* HD, with *MTAP* retained. IHC, immunohistochemistry.

している。また、MTAP lossのあった39例はすべて*CDKN2A*欠失を認めた。免疫染色にてlossを認めたにもかかわらず、NGSにて変異が検出できなかった症例については、その原因としてNGSでsequenceできた細胞数が少なく変異が検出閾値以下になってしまったこと、miRNA制御や機能喪失型の遺伝子再構成 (loss-of-function rearrangement) などによる蛋白発現の消失の可能性を挙げている。

エピジェネティック変化に関連した免疫染色

中皮腫の遺伝子変異のみならずエピジェネティック変化に基づいた免疫染色アッセイも報告されている。DNAのメチル化に関連した5-hmcとヒストンのメチル化に

関連したEZH2である¹³⁻¹⁵ともに核における発現を検出するが、5-hmcは発現消失(5-hmc loss)を評価し、EZH2は高発現を捉える。5-hmcは50%以上の細胞核におけるlossを陽性とする、中皮腫 vs 反応性中皮増殖の鑑別において感度92%(BAP1との併用では98%)、特異度100%、一方EZH2は50%以上の細胞核における高発現を陽性とする、上記の鑑別においてBAP1 loss、MTAP lossとの併用で感度87%、特異度100%である。ともに特異度100%であるが、カットオフ値前後の判定が難しい症例がある。

FISH および代替免疫染色と細胞診

先述のごとく、中皮腫の組織学的診断には(1)中皮起

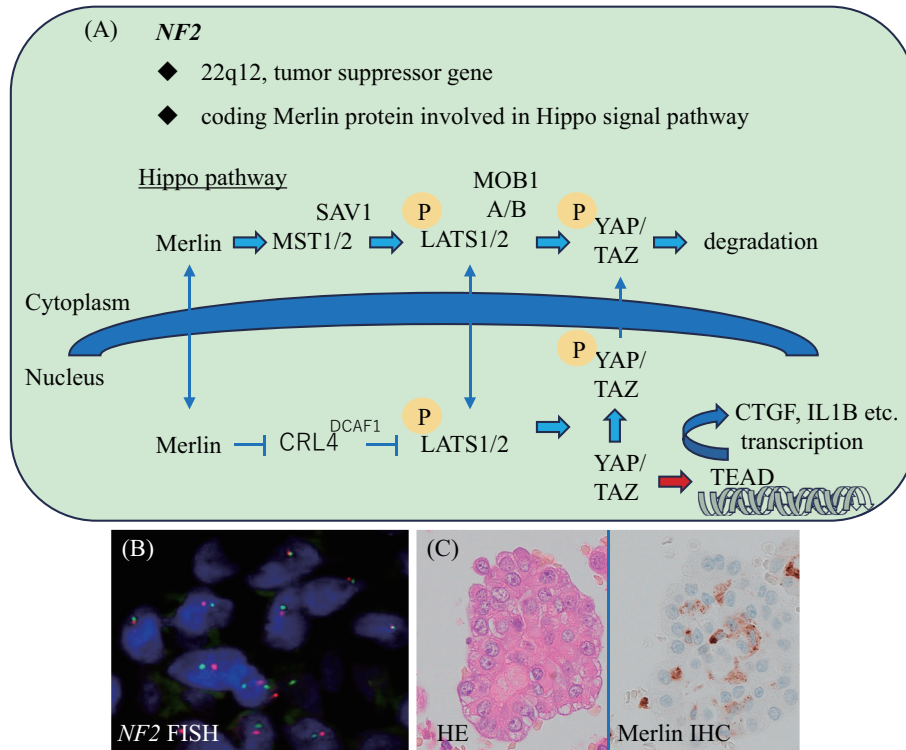


Figure 4. Application of *NF2* FISH and Merlin immunohistochemistry (IHC) to discrimination of pleural mesothelioma vs. reactive mesothelial proliferation. (A) *NF2* is a tumor suppressor gene located on chromosome 22q12.2 encoding moesin-ezrin-radixin-like protein (Merlin), which regulates cell proliferation via the Hippo signaling pathway. Reproduced from ref. 11 with some modification. (B) The monosomy pattern of hemizygous loss is the dominant form of *NF2* deletion, which is seen in approximately 50% of PM cases using FISH. (C) Loss of cell membrane expression of Merlin detected by IHC is found in approximately 50% of PM cases, most of which show *NF2* alterations.

源の確認、(2) 反応性中皮増殖との鑑別という手順が必要である。もちろん形態学的判断が最も重要であることは言を俟たないが、(1)には免疫染色による確認が必須、(2)には脂肪組織以深への浸潤の確認あるいはこれまで述べてきた FISH や代替免疫染色が有用である。同じ原則が体腔液細胞診での診断にも当てはまる (Figure 1)。FISH や代替免疫染色も細胞診材料、特にセルブロックへの応用が可能である。胸膜中皮腫ではその 80% 以上が胸水にて初発し、細胞診が最初の診断材料となり得ることを考えるとその重要性が理解できる。米国・カナダの 55 施設の調査では約 2/3 の施設で体腔液細胞診にて中皮腫の最終診断が行われている現状が 2013 年に報告されている。¹⁶ また、細胞診のみで中皮腫と診断された症例と、組織診で上皮型中皮腫と診断された症例では、その後の治療を含めて予後に差がない。¹⁷ 細胞診における FISH や代替免疫染色の有用性に関してもすでに多くの報告がなされている。^{7,18,19}

ただし注意すべき点もある。細胞診材料では固定がホ

ルマリンとは異なり [特に LBC (liquid-based cytology) ではそれぞれのシステムで固定液が異なる]、免疫染色の反応性がホルマリン固定とは違うので、それぞれの施設での方法の適正化が必要である。そして内在性陽性コントロール細胞が適正に染まっているところで発現消失 (BAP1 loss, MTAP loss) を確認することが必須である。また、腫瘍細胞が集塊ではなく、孤在散在性に認められる場合には、良悪の判定のために中皮起源の確認も同時に必要となり、二重染色が求められる。

一方、方法としての限界もある。まず脂肪組織浸潤は捉えることができない。従って前浸潤性中皮腫 MIS の診断は細胞診では確定できず、組織生検・画像所見が必要である。また、肉腫型中皮腫の細胞は一般的に胸水中に剥脱してこないため、線維性胸膜炎 vs 線維形成性中皮腫が鑑別となるような状況では細胞診陰性という結果は何も意味しない。生検による確認が必要である。

中皮腫瘍および中皮腫亜型と遺伝子変異

1. アデノマトイド腫瘍

中皮由来の良性腫瘍で、腺管様の組織構築を特徴とする。多くは男女の生殖臓器に見られ、胸膜では稀である。生殖臓器のアデノマトイド腫瘍ではほぼ全例で *TRAF7* (tumor necrosis factor receptor associated factor 7) 遺伝子のミスセンス変異が認められる。²⁰

2. 高分化乳頭状中皮腫瘍 WDPMT

非浸潤性の異型に乏しい中皮細胞にて被覆された乳頭状腫瘍で、腹膜に多いが、胸膜や精巣鞘膜にも生じる。腹膜では良性腫瘍として分類されているが、胸膜の WDPMT の多くは経過の緩やかな再発性の腫瘍である。¹ 腹膜の WDPMT 10 例の NGS 解析によって、*TRAF7* (8 例) あるいは *CDC42* (2 例) いずれかのミスセンス変異が認められた。²¹ 一方、5 例の WES (whole exome sequencing) 解析では *EHD1*, *ATM* などのミスセンス変異は認められたが、*TRAF7*, *CDC42* の変異は検出されていない。²² ただ両者に共通しているのは浸潤性中皮腫に特徴的な *BAP1*, *SETD2*, *NF2*, *CDKN2A* などの変異や欠失が見られていないという点である。

3. 前浸潤性中皮腫 MIS

1 層の中皮細胞が中皮表面を覆う病変で、浸潤は見られないが、*BAP1* loss, *MTAP* loss, *CDKN2A* ホモ欠失のいずれかが認められる病変である。¹ その 60% は平均 5 年ほどをかけて浸潤性中皮腫へと進行する。²³ まだ報告例が少ないのでわずか 2 例の WES 解析であるが、*BAP1* の体細胞変異およびコピー数欠失のみが認められ、浸潤性中皮腫に見られる他の遺伝子変異は認められなかった。²⁴ *BAP1* 変異が中皮腫の発がん過程で最初に生じる変異で、他の変異が重なることによって浸潤性中皮腫へと進行していくのだろうと推論している。しかし日本からは *BAP1* loss はなく、*MTAP* loss と *CDKN2A* ホモ欠失を呈した MIS 症例が報告されており (しかもこの症例は後に肉腫型中皮腫が生じている)、²⁵ 正確な評価のためにはより多くの症例の集積が必要である。

4. 限局型胸膜中皮腫

組織学的にはびまん性中皮腫と変わりはないが、男女差はなく、アスベスト曝露との関連も不明瞭で、臨床経過もより穏やかである (外科的切除で 48% が 18 か月～11 年の follow up にて再発なし、再発しても限局型として再発する)。稀な亜型なので 6 例の NGS 検討ではあるが、変化は多彩で、(i) *BAP1* 変異型、(ii) *TRAF7* 変異型、(iii) GNH (genomic near-haploidization) 型に分け得ると報告されている。²⁶ (i) と (iii) はびまん性中皮腫でも見られる変化であるが、(ii) は WDPMT、生殖臓器のアデノマトイド腫瘍などで見られる変化である。

5. 腹膜中皮腫

胸膜中皮腫と比較してアスベスト曝露との関連が弱く、各年齢層の女性により多く見られる。近年比較的多数例の NGS による遺伝子解析が報告されている。^{27,28} Offin らによる 50 例の解析では、変異は *BAP1* に最も多く (60%), *NF2* (24%), *SETD2* (22%), *TP53* (16%) と続く。²⁸ コピー数解析では *CDKN2A* 欠失は稀で、GNH が 8% に見られた。

BAP1 変異陽性症例は野生型に比べて有意に予後不良であった。Hung らによる 26 例での解析では、*BAP1* 野生型を呈した群 (31%) には *TP53*, *TRAF7*, *SUZ12* の変異が認められ、*TP53* 変異を示す 1 例は GNH を呈した。²⁷ また、腹膜中皮腫には少数ながら *EWSR1-YY1*, *EWSR1-ATF1*, *FUS-ATF1* 融合遺伝子と *ALK* 遺伝子再構成が報告されている。

おわりに

病理診断において HE での形態学的所見がすべての礎であることに異論はないであろう。しかし近年の免疫組織化学および分子生物学的手法の功績にも目を見張るものがある。ことに中皮腫に特徴的な遺伝子変異をどの施設でも施行可能な免疫染色で捉える代替アッセイは、診断の精度と感度を大いに上げるとともに、細胞診にも応用可能であったことと相俟って、診断の一般化に大いに貢献した。ただその運用には注意点や pitfall もあり、慎重な運用と評価が望まれる。また、診断は病理医のみでは困難で、病理組織と代替アッセイの結果を常に臨床所見・画像所見とともに評価・判断することが求められる。

本論文内容に関連する著者の利益相反：鍋島一樹 [研究費・助成金などの総額] 環境省「令和 2 年度石綿関連疾患に係る医学的所見の解析調査業務 (中皮腫の遺伝子異常に基づく診断法の開発に関する調査編)」(代表：鍋島一樹) 600 万円、環境省「令和 4 年度石綿関連疾患に係る医学的所見の解析調査業務 (新たな免疫染色抗体を用いた中皮腫診断法の開発)」分担 100 万円 (代表：廣島健三)

REFERENCES

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic Tumours. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021.
2. Husain AN, Colby TV, Ordóñez NG, Allen TC, Attanoos RL, Beasley MB, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma — 2017 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142:89-108.
3. Hmeljak J, Sanchez-Vega F, Hoadley KA, Shih J, Stewart C, Heiman D, et al. Integrative Molecular Characteriza-

- tion of Malignant Pleural Mesothelioma. *Cancer Discov.* 2018;8:1548-1565.
4. Zhang M, Luo JL, Sun Q, Harber J, Dawson AG, Nakas A, et al. Clonal architecture in mesothelioma is prognostic and shapes the tumour microenvironment. *Nat Commun.* 2021;12:1751.
 5. Churg A, Naso JR. The Separation of Benign and Malignant Mesothelial Proliferations: New Markers and How to Use Them. *Am J Surg Pathol.* 2020;44:e100-e112.
 6. Wang LM, Shi ZW, Wang JL, Lv Z, Du FB, Yang QB, et al. Diagnostic accuracy of BRCA1-associated protein 1 in malignant mesothelioma: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8:68863-68872.
 7. Girolami I, Lucenteforte E, Eccher A, Marletta S, Brunelli M, Graziano P, et al. Evidence-based diagnostic performance of novel biomarkers for the diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology. *Cancer Cytopathol.* 2022;130:96-109.
 8. Hida T, Hamasaki M, Matsumoto S, Sato A, Tsujimura T, Kawahara K, et al. Immunohistochemical detection of MTAP and BAP1 protein loss for mesothelioma diagnosis: Comparison with 9p21 FISH and BAP1 immunohistochemistry. *Lung Cancer.* 2017;104:98-105.
 9. Nabeshima K, Hamasaki M, Kinoshita Y, Matsumoto M, Sa-ngiamwibool P. Update of pathological diagnosis of pleural mesothelioma using genomic-based morphological techniques, for both histological and cytological investigations. *Pathol Int.* 2022;72:389-401.
 10. Chapel DB, Hornick JL, Barlow J, Bueno R, Sholl LM. Clinical and molecular validation of BAP1, MTAP, P53, and Merlin immunohistochemistry in diagnosis of pleural mesothelioma. *Mod Pathol.* 2022;35:1383-1397.
 11. Sekido Y, Sato T. NF2 alteration in mesothelioma. *Front Toxicol.* 2023;5:1161995.
 12. Sa-Ngiamwibool P, Hamasaki M, Kinoshita Y, Matsumoto S, Sato A, Tsujimura T, et al. Usefulness of NF2 hemizygous loss detected by fluorescence in situ hybridization in diagnosing pleural mesothelioma in tissue and cytology material: A multi-institutional study. *Lung Cancer.* 2023;175:27-35.
 13. Chapel DB, Husain AN, Krausz T. Immunohistochemical evaluation of nuclear 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) accurately distinguishes malignant pleural mesothelioma from benign mesothelial proliferations. *Mod Pathol.* 2019;32:376-386.
 14. Shinozaki-Ushiku A, Ushiku T, Morita S, Anraku M, Nakajima J, Fukayama M. Diagnostic utility of BAP1 and EZH2 expression in malignant mesothelioma. *Histopathol.* 2017;70:722-733.
 15. Yoshimura M, Kinoshita Y, Hamasaki M, Matsumoto S, Hida T, Oda Y, et al. Highly expressed EZH2 in combination with BAP1 and MTAP loss, as detected by immunohistochemistry, is useful for differentiating malignant pleural mesothelioma from reactive mesothelial hyperplasia. *Lung Cancer.* 2019;130:187-193.
 16. Paintal A, Raparia K, Zakowski MF, Nayar R. The diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology: a reappraisal and results of a multi-institution survey. *Cancer Cytopathol.* 2013;121:703-707.
 17. Muruganandan S, Alfonso H, Franklin P, Shilkin K, Segal A, Olsen N, et al. Comparison of outcomes following a cytological or histological diagnosis of malignant mesothelioma. *Br J Cancer.* 2017;116:703-708.
 18. Kinoshita Y, Hida T, Hamasaki M, Matsumoto S, Sato A, Tsujimura T, et al. A combination of MTAP and BAP1 immunohistochemistry in pleural effusion cytology for the diagnosis of mesothelioma. *Cancer Cytopathol.* 2018;126:54-63.
 19. Berg KB, Churg AM, Cheung S, Dacic S. Usefulness of methylthioadenosine phosphorylase and BRCA-associated protein 1 immunohistochemistry in the diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology specimens. *Cancer Cytopathol.* 2020;128:126-132.
 20. Goode B, Joseph NM, Stevers M, Van Ziffle J, Onodera C, Talevich E, et al. Adenomatoid tumors of the male and female genital tract are defined by TRAF7 mutations that drive aberrant NF- κ B pathway activation. *Mod Pathol.* 2018;31:660-673.
 21. Stevers M, Rabban JT, Garg K, Van Ziffle J, Onodera C, Grenert JP, et al. Well-differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum is genetically defined by mutually exclusive mutations in TRAF7 and CDC42. *Mod Pathol.* 2019;32:88-99.
 22. Shrestha R, Nabavi N, Volik S, Anderson S, Haegert A, McConeghy B, et al. Well-differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum is genetically distinct from malignant mesothelioma. *Cancers.* 2020;12:1568.
 23. Churg A, Galateau-Salle F, Roden AC, Attanoos R, von der Thusen JH, Tsao MS, et al. Malignant mesothelioma in situ: morphologic features and clinical outcome. *Mod Pathol.* 2020;33:297-302.
 24. Dacic S, Roy S, Lyons MA, von der Thusen JH, Galateau-Salle F, Churg A. Whole exome sequencing reveals BAP1 somatic abnormalities in mesothelioma in situ. *Lung Cancer.* 2020;149:1-4.
 25. Minami K, Jimbo N, Tanaka Y, Hokka D, Miyamoto Y, Itoh T, et al. Malignant mesothelioma in situ diagnosed by methylthioadenosine phosphorylase loss and homozygous deletion of CDKN2A: a case report. *Virchows Arch.* 2020;476:469-473.
 26. Hung YP, Dong F, Dubuc AM, Dal Cin P, Bueno R, Chirieac LR. Molecular characterization of localized pleural mesothelioma. *Mod Pathol.* 2020;33:271-280.
 27. Hung YP, Dong F, Torre M, Crum CP, Bueno R, Chirieac LR. Molecular characterization of diffuse malignant peritoneal mesothelioma. *Mod Pathol.* 2020;33:2269-2279.
 28. Offin M, Yang SR, Egger J, Jayakumaran G, Spencer RS, Lopardo J, et al. Molecular characterization of peritoneal mesotheliomas. *J Thorac Oncol.* 2022;17:455-460.