

# 悪性胸膜中皮腫細胞診断の手引き

第 1.0 版 2017 年 11 月

日本肺癌学会細胞診判定基準改訂委員会：

佐藤之俊，廣島健三，木浦勝行，薄田勝男，大林千穂，河原邦光，桜田 晃，羽場礼次，  
三浦弘之，三窪将史，吉澤明彦

協力委員：柿沼廣邦，竹中明美，三宅真司

中皮腫細胞診評価ワーキンググループ：

第 1 期（2009 年 8 月-2013 年 2 月）. 亀井敏昭，秋田弘俊，大林千穂，岡 輝明，河合俊明，  
河原邦光，児玉哲郎，武島幸男，辻村 亨，鍋島一樹，畠 榮，平野 隆，廣島健三

第 2 期（2013 年 2 月-2014 年 11 月）. 亀井敏昭，青江啓介，秋田弘俊，大林千穂，  
岡 輝明，河合俊明，河原邦光，武島幸男，辻村 亨，鍋島一樹，畠 榮，平野 隆，  
廣島健三，前田昭太郎，松野吉宏

サブグループ：

畠 榮，青木 潤，佐藤正和，渋谷秀美，鳥居良貴，羽原利幸，濱川真治，藤田 勝，  
丸川活司，三浦弘守

## 目 次

I：はじめに	P.2
II：中皮腫診断における体腔液細胞診所見とワーキンググループでの検討結果	P.2
III：中皮腫と癌腫の鑑別	P.4
IV：中皮腫と反応性中皮の鑑別	P.6
V：まとめ	P.9
VI：引用文献	P.10
VII：表	P.14

日本肺癌学会 編

## I. はじめに

我が国で戦後復興、高度成長期の時代に使用した石綿の大半は輸入によるもので、これまでに輸入されたアスベストは 1,000 万トンに達した。1970 年から 1990 年にかけて年間約 30 万トンのアスベストが輸入され、8 割以上は建材に使用された。また、水道管、ガス管、自動車産業、鉄道、造船などにも使用された。2005 年 6 月に石綿工場の周辺の住民に中皮腫が発生していることがわかり、中皮腫は必ずしも労働者が罹患する病気ではないこと、また我が国の中皮腫症例数が年々増加していることが明らかになった。

中皮腫と診断された場合には、石綿健康被害救済法および労災補償で補償される。石綿健康被害救済法は、中皮腫の補償に石綿曝露の関与を求めない。いずれの補償においても、中皮腫としての臨床経過および中皮腫の病理診断が必要である。胸膜中皮腫は胸腔鏡による壁側胸膜あるいは腫瘍の生検が最も確実な診断法である。しかし、中皮腫は主に高齢者に発症し、また発症した時点で全身状態が不良であることがある。このような場合には胸腔鏡は行えないが、体腔液の細胞診断が認定の判断材料となる。中皮腫の細胞所見は、癌腫の胸膜播種や胸膜炎などによる反応性中皮と類似した所見であるため、中皮腫細胞診断においては、詳細な細胞所見の観察とともに免疫組織化学的検討、遺伝子欠失の検討などを加える必要がある。

我が国において中皮腫の体腔液細胞診断に有用な所見が報告され(表 1)<sup>1-4)</sup>、亀井

がこれらをまとめて報告した<sup>5)</sup>。また、その概要は肺癌学会取扱い規約第 8 版に掲載されている<sup>6)</sup>。2015 年に international mesothelioma interest group (IMIG) 中皮腫細胞診ガイドラインが発表されたが、我が国で発表された内容と同様であった<sup>7)</sup>。2017 年に発表された中皮腫病理診断ガイドラインにも中皮腫の体腔液細胞診所見が取り上げられている<sup>8)</sup>。

日本肺癌学会では、2009 年から 2014 年まで、肺癌取扱い規約委員会の細胞診判定基準改訂委員会(委員長:秋田弘俊)に、中皮腫細胞診評価ワーキンググループ(グループ長:亀井敏昭)(以下ワーキンググループ)が設置された。ワーキンググループは中皮腫に造詣の深い日本肺癌学会会員に、細胞検査士グループ(10 名)がサブグループとして加わり、全国の様々な施設での中皮腫、反応性中皮、腺癌の体腔液細胞診所見を比較し、免疫組織化学的検討による中皮腫診断の感度、特異度を評価した。本手引きは、ワーキンググループの検討結果と、中皮腫の細胞診断に必要な免疫染色および遺伝子欠失の検討について記載する。

## II. 中皮腫診断における体腔液細胞診所見とワーキンググループでの検討結果

- ・原因不明の胸水貯留症例は、体腔液細胞診を検討することが勧められる。
- ・臨床的に中皮腫が疑われ、体腔液細胞診で診断がつかない場合は、生検を行うことが勧められる。

胸膜中皮腫および腹膜中皮腫において、通常体腔液貯留が最初の徴候である。体腔

液貯留に出現する細胞は、約 60%を占める上皮型中皮腫と約 20%を占める二相型中皮腫の上皮様成分が脱落したものと考えられる。肉腫型中皮腫（約 20%の発生率）は通常体腔液貯留を示さない。仮に肉腫型中皮腫細胞が体腔液中に出現しても、通常の上皮型中皮腫の細胞所見とは細胞異型が異なり、その正確な細胞診断は困難なことが多い<sup>9)</sup>。

#### 1) 背景

中皮腫症例の体腔液細胞診の背景は、出血性もしくは漿液性が多く、リンパ球や組織球などの炎症細胞が目立つ。壊死性背景は少ない。組織球優位、リンパ球優位の症例数はほぼ等しく、それぞれ 45%であり、好中球優位は約 10%程度である。また、約 10%は粘液性背景（ヒアルロン酸に富み粘稠で、ときに遠心操作が困難であり、摺り合わせ式の塗抹標本作製が必須な場合がある）で、パパニコロウ染色塗抹標本に顆粒状あるいはフィルム状を呈する好酸性蛋白様物質が認められる。

#### 2) 出現様式と細胞集塊の形態

中皮腫細胞の出現量は多く、孤在性に出現すると共に、球状ならびに乳頭状の大型細胞集塊として出現し、細胞集塊の辺縁に瘤状の突出を呈する例が多い。球状細胞集塊が約 70%、乳頭状細胞集塊が約 30%である。これらの細胞集塊の細胞数は、孤在性細胞が 34%、2~4 個の中皮腫細胞から成る細胞集塊が 24%、5~10 個が 18%、11~100 個が 20%、100 個以上が 4%である。

細胞集塊の中心にライトグリーン好性の無構造物質 collagenous stroma（以下 CS）を認めることがある。CS II 型を有する細胞

集塊の出現率は、畠らの報告では 56%であり<sup>3)</sup>、ワーキンググループの検討では 47%である。この CS II 型は PAS 染色陽性、ジアスターゼ抵抗性であり、1 型コラーゲンおよび 3 型コラーゲンが陽性で、ときに 4 型コラーゲンもしくはラミニンが陽性となる（約 10%の症例）。

#### 3) 細胞相互の細胞学的特徴

中皮腫細胞では、窓形成と細胞相接所見が認められる。しかし、反応性中皮の方がこれらの所見の出現率が高い。中皮腫細胞には、相互封入所見に伴い、濱川らが報告した細胞質が瘤状に突出する「hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞（以下 hump 様細胞質突起）」がみられる<sup>4)</sup>。ワーキンググループの検討では、hump 様細胞質突起の出現率は、中皮腫症例は 67.0%で、反応性中皮は 3.0%以下である。なお、hump 様細胞質突起を認める中皮腫症例では、100 個の腫瘍細胞あたり平均 13 個の hump 様細胞質突起を認める。

#### 4) 核所見（大きさ、核形不整、位置、核クロマチン、核小体）

中皮腫細胞の核の大きさはリンパ球の核の 4 倍以上であることが多い。しかし、中皮腫細胞の大きさは反応性中皮より大きく、N/C 比は反応性中皮と比較して小さい場合が多い。

核は、類円形で、核形不整に乏しく、大きさは比較的均一で、細胞中心性である。核のクロマチンは軽度に増量し、典型例は微細顆粒状である。核小体は明瞭で、1 ないし 2 個認められる。

#### 5) 多核細胞（多核率および鏡面像）

佐久間らは、中皮腫は単核細胞の出現率

が 75.2%，2 核以上の多核細胞が 24.8%，腺癌は単核細胞が約 85%，2 核以上の多核細胞が約 15%，反応性中皮は単核細胞が約 90%，2 核以上の多核細胞が約 10%であると報告した<sup>2)</sup>。ワーキンググループの結果は、2 核以上の多核細胞の出現率は、中皮腫は 27.0%，腺癌は 15.5%，反応性中皮は 9.8%である。中皮腫は、2 核以上の多核細胞の割合が高い。一方、反応性中皮では 5 核以上の細胞はほとんど認められない。

また、多核を示す中皮腫細胞の核形は類円形で、ほぼ同じ大きさのものが多く、2 核細胞はホジキンリンパ腫のリード・ステルンベルグ巨細胞と同様の鏡面像を示す。

6) 細胞所見(細胞質の重厚感、細胞辺縁の不明瞭化、オレンジ G 好性細胞)

ワーキンググループの検討では、細胞の大きさは、中皮腫細胞はリンパ球の 6 倍以上が 61.8%であり、反応性中皮は 6 倍以上が 12.5%である。

中皮腫細胞の細胞質は、比較的豊富なライトグリーン好性で、一般に核周囲は明るく、その周囲は重厚感を増し、同心円状の層板構造を認める。May-Giemsa 染色は重厚感があり好塩基性である。中皮腫細胞の辺縁部は不明瞭化している。これは微絨毛の発達および微絨毛周囲のヒアルロン酸付着によるものと考えられる。

また、中皮腫症例では、しばしば、オレンジ G 好性細胞の出現を認める。佐久間らは、オレンジ G 好性細胞の出現率は、中皮腫例は 74.1%，肺腺癌は 8.0%，卵巣腺癌は 33.3%，反応性中皮は 3.8%と報告した<sup>1)</sup>。電顕標本の脱エポソ切片でオレンジ G 好性細胞を認める症例で、その隣接部の超薄切

片標本にヘテロクロマチンの目立つ変性細胞が微絨毛の発達を認めることから、オレンジ G 好性細胞の一部は中皮腫細胞に由来すると考えられる。体腔液中に出現した腫瘍細胞や中皮細胞が変性した結果、中間径フィラメントが収縮し、その間に分子量が小さいオレンジ G の色素は入るが、分子量が大きいライトグリーン色素は入ることができない。オレンジ G 好性細胞は変性した細胞に由来するいわゆる偽角化と考えられる。

### III.中皮腫と癌腫の鑑別

・ Papanicolaou 染色, Giemsa 染色, PAS 染色など通常の染色を行った体腔液細胞標本で中皮腫の診断を行うことは勧められない。

・ 中皮腫と癌腫の鑑別の鑑別には、セルブロックを含む細胞診標本で免疫組織化学的検討をすることが勧められる。

・ 中皮腫の場合に陽性となる抗体および陰性となる抗体をそれぞれ 2 抗体以上検討し、前者が陽性、後者が陰性であることを確認することが勧められる。

中皮腫診断においては、癌腫を鑑別する必要があり、Papanicolaou 染色, Giemsa 染色, PAS 染色などの通常の染色を行った体腔液細胞診標本のみで中皮腫の診断を行うことは推奨されず、常に免疫組織化学的検討を実施することが推奨される<sup>10)</sup>。単独で確定診断しうるマーカーは存在しないため、免疫組織化学的検討において 2 種の中皮のマーカー（陽性マーカー）と 2 種の癌腫のマーカー（陰性マーカー）を検討する

ことが推奨される<sup>8)</sup>。Fetsch らは、体腔液を用いて、cytospin, smear, Thinprep, セルブロックの各方法で免疫組織化学的検討を比較した結果、セルブロック法が最も染色性が優れることを報告した<sup>11)</sup>。したがって、体腔液検体が提出された場合にはセルブロックによる免疫組織化学的検討が推奨される。

中皮のマーカースとして calretinin, WT-1, podoplanin (D2-40) が、癌腫のマーカースとして CEA (carcinoembryonic antigen), MOC31, Ber-EP4 が有用である。また、肺腺癌と上皮型中皮腫の鑑別には、TTF-1 や Napsin A が有用である。過去に中皮のマーカースとして利用された thrombomodulin, HBME-1 は、中皮腫での感度は高いが、特異度が低い<sup>10)</sup>。

Calretinin は、病理組織ではほぼ全例の上皮型中皮腫の核および細胞質が陽性となる。肺腺癌の 10-15% が陽性であるが、通常は部分的である<sup>8)</sup>。細胞診標本では細胞質が陽性となり、核の染色性は乏しいことが多い。Saad らは、細胞診検体で中皮腫における陽性率は 85% としているが<sup>12)</sup>、ワーキンググループでの陽性率はほぼ 100% である。WT-1 は 75-90% の中皮腫細胞の核が陽性となり、肺腺癌は陰性である<sup>8)</sup>。細胞診検体では、陽性率は 95% と報告されている<sup>12)</sup>。しかし、WT1 は卵巣漿液性癌や原発性腹膜癌も高率に陽性になる (80% 以上)。Podoplanin は、90-100% の中皮腫の細胞膜が陽性である。肺腺癌も陽性になることもあるがその頻度は 15% 以下であり、陽性所見は部分的である<sup>8)</sup>。細胞診検体では、陽性率は 85% と報告されている<sup>12)</sup>。

癌腫のマーカースについては、CEA は、肺腺癌の 80-100% が陽性であるが、中皮腫は陰性であり、中皮腫の陰性マーカースとして信頼性が高い。Saad らは、TTF-1 の中皮腫における陽性率は 0% で、腺癌は 80% と報告しており、中皮腫と腺癌、特に肺腺癌との鑑別に極めて有用である<sup>12)</sup>。Ber-EP4 は、細胞診検体で腺癌の陽性率は 60-70% であり、中皮腫の陽性率は 20% 以下である。MOC31 は、細胞診検体で腺癌の陽性率は 80-100% と高く、中皮腫の陽性率は 10% 以下である。Ber-EP4 と MOC31 は腺癌のマーカースであるが、中皮腫でも 10-20% 程度の症例が部分的に陽性例になる。

近年、claudin 4 が中皮腫の陰性マーカースとして有用であることが報告された。2007 年に Facchetti らは、claudin 4 が正常の中皮、反応性中皮、中皮腫は陰性で、癌腫の漿膜転移の 98.3%、原発性の癌腫の 88.1% が陽性になり、また、体腔液細胞診標本に出現する反応性中皮および中皮腫は陰性で、癌腫の転移は 96.8% が陽性であることを報告した<sup>13)</sup>。2010 年に Lonardi らは、体腔液細胞診標本を検討し、癌腫では 99.1% の症例が陽性であるが、反応性中皮、中皮腫は全例が陰性であることを報告した<sup>14)</sup>。Claudin 4 は、中皮腫は陰性で、腺癌、扁平上皮癌のいずれも陽性になるが、多形癌や紡錘細胞癌は陰性であることが多い<sup>15)</sup>。したがって、多形癌や紡錘細胞癌と肉腫型中皮腫の鑑別は困難であるが、体腔液細胞診標本に出現する腫瘍細胞の多くは上皮型中皮腫あるいは二相型中皮腫であるので、claudin 4 はその鑑別に有用であると考えられる。

#### IV. 中皮腫と反応性中皮の鑑別

- ・ 中皮腫と反応性中皮の鑑別に有用な抗体が存在するが、その結果のみで鑑別することは勧められない。
- ・ 中皮腫と反応性中皮の鑑別に、FISH 法による p16 の欠失、および免疫組織化学的に BAP1 を検討することが勧められる。
- ・ FISH 法による解析は、手技に精通した施設で行うことが勧められる。
- ・ 診断が困難な場合は、経験豊富な専門家に意見を聞くことが勧められる。

Hasteh らは、体腔液のセルブロックで免疫組織化学的検討を行い、EMA が陽性で desmin が陰性の症例は中皮腫の 98%、反応性中皮の 2% にみられ、逆に EMA が陰性で desmin が陽性の症例は反応性中皮の 86% に認められたが、中皮腫にはみられなかったと報告した<sup>16)</sup>。また、Kuperman らは、体腔液のセルブロックを用いた免疫組織化学的検討に EMA と Glut-1 を併用することにより中皮腫と反応性中皮が鑑別できると報告した<sup>17)</sup>。Sato らは体腔液細胞診標本において、2 種の抗 CD146 抗体 (OJ79 と EPR3208) を検討し、中皮腫は 94%、90% が陽性で、反応性中皮は全例が 2 抗体ともに陰性であることを報告した<sup>18)</sup>。

ワーキンググループの検討では、体腔液の細胞診断で中皮腫と反応性中皮を鑑別する場合、Glut-1 は感度 92%、特異度 80%、EMA は、感度 80%、特異度 80%、CD146 は感度 90%、特異度 95% である。Desmin は反応性中皮の感度は 85%、特異度は 90% である。

以上のように、上皮型中皮腫で陽性率が高い抗体や反応性中皮で陽性率が高い抗体が存在するが、これらのどの抗体も、またどの抗体の組み合わせを用いても、100% 確実に上皮型中皮腫と反応性中皮を鑑別することができない<sup>8)</sup>。一方、fluorescence in situ hybridization (FISH) による p16 のホモ接合性欠失や、免疫組織化学的検討による BRCA1 associated protein 1 (BAP1) の消失は、中皮腫には認められるが、反応性中皮には認められないことから、この 2 つの方法は、中皮腫と反応性中皮の鑑別に有用で、併用をすると中皮腫の診断率が高まる<sup>8)</sup>。

##### 1. p16 のホモ接合性欠失 (FISH 法)

p16 (CDKN2A, p16<sup>INK4a</sup>) は、染色体 9p21 領域に存在する INK4 ファミリーの 1 つで、Cdk4 と結合し、そのキナーゼ活性を阻害するがん抑制遺伝子である。2003 年に Illei らは、中皮腫および反応性中皮の体腔液細胞診標本を用いて FISH で p16 のホモ接合性欠失を検討し、ホモ接合性欠失は中皮腫には存在するが反応性中皮には存在せず、中皮腫と反応性中皮の鑑別に FISH が有用であることを報告した<sup>19)</sup>。2008 年に Onofre らは、体腔液細胞診標本を用いて FISH で p16 の欠失の検討をし、中皮腫の 90.9% にホモ接合性欠失あるいはヘテロ接合性欠失を認めるが、反応性中皮には欠失を認めないことを報告した<sup>20)</sup>。2010 年に Savic らは、体腔液細胞診標本で FISH により、CEP 3, CEP 7, CEP 17, 9p21 (p16) を検討し、中皮腫の 79% にこれらのいずれかの異常が認められるが、反応性中皮には

異常を認めないことを報告した<sup>21)</sup>。

中皮腫の組織診断でも p16 のホモ接合性欠失の検討の有用性が報告されている<sup>22-24)</sup>。IMIG 中皮腫病理診断ガイドラインによると、上皮型および二相型中皮腫は 70%、肉腫型中皮腫は 90-100%に p16 のホモ接合性欠失を認める<sup>8)</sup>。一方、我が国の胸膜中皮腫 262 例の組織標本を検討した結果、p16 のホモ接合性欠失の頻度は、上皮型中皮腫 73.5%(125/170) , 二相型中皮腫 92.1%(35/38), 肉腫型中皮腫 100%(54/54) であり、欧米の報告よりも、二相型中皮腫および肉腫型中皮腫における頻度が高い<sup>25)</sup>。腹膜中皮腫 29 例における p16 のホモ接合性欠失の頻度は、上皮型中皮腫 52%(13/25), 二相型中皮腫 50%(1/2), 肉腫型中皮腫 50%(1/2)であった<sup>25)</sup>。

FISH は中皮腫の体腔液細胞のセルブロックにも応用することができ、p16 のホモ接合性欠失は中皮腫の 73-76%に認められることが報告された<sup>26,27)</sup>。この値は、上皮型中皮腫における p16 のホモ接合性欠失の頻度 (約 70%)<sup>8,25)</sup>に一致している。

Matsumoto らは中皮腫症例の胸水細胞診検体を検討し、相互封入所見 (hump 様細胞質突起を伴うものと伴わないものを含む)、3 核以上の多核細胞、10 個以上の細胞からなる細胞集塊に有意に p16 のホモ接合性欠失が認められることを明らかにした<sup>28)</sup>。

体腔液細胞診に出現する異型細胞の p16 のホモ接合性欠失の有無は、同一症例の中皮腫の組織における p16 のホモ接合性欠失の有無に一致する<sup>26,29)</sup>。また、体腔液細胞診において p16 のホモ接合性欠失パターンを示す細胞の比率は、同一症例の中皮腫の

組織における p16 のホモ接合性欠失パターンを示す細胞の比率と同様である<sup>26,29)</sup>。体腔液細胞診標本に出現する異型細胞は、中皮腫の腫瘍細胞を反映しているため、体腔液細胞診標本を免疫組織化学的に検討して、FISH により p16 のホモ接合性欠失を検討することにより、上皮型中皮腫 (あるいは二相型中皮腫)の多くが診断可能である<sup>8)</sup>。

しかし、p16 のホモ接合性欠失は、肺癌の約 30%に認められ、また膵臓癌、平滑筋肉腫、骨肉腫などでも認められるため<sup>25,30,31)</sup>、その解釈には注意が必要である。また、体腔液細胞診の FISH による判定には以下に示す問題点がある。

FISH は各施設によりプロトコールが異なり、シグナルの評価方法も異なる。通常、Abbott 社の probe を用いるが、p16 に対応する probe の大きさは CEP9 に対応する probe よりも小さく、シグナルが見えにくい。したがって、判定に用いるカットオフ値は施設毎に設定する必要がある<sup>23,24,26,28)</sup>。

FISH においては、前処置として蛋白分解酵素を用いる。セルブロック標本の FISH においては、中皮腫細胞に特徴的な相互封入所見や細胞辺縁の不明瞭化などは判断できず、中皮腫細胞と背景の炎症性細胞との鑑別が難しい。また、細胞集塊の形態もわからないこともある。p16 のホモ接合性欠失が存在する場合は、中皮腫細胞を評価していることが予測されるが、ホモ接合性欠失が存在しない場合は、中皮腫細胞を評価しているのか、炎症性細胞を評価しているのか、判断が難しい。したがって、細胞の構造を保つように蛋白分解酵素の反応時間

を短くするなどの工夫が必要である<sup>26)</sup>。

## 2. BAP1 (免疫組織化学的検討)

BAP1 遺伝子は染色体 3p21.1 領域に局在するがん抑制遺伝子であり、BAP1 蛋白は核に存在する。2011 年に BAP1 の突然変異が中皮腫の 23% (12/53) に認められ、突然変異あるいは免疫組織化学的検討による BAP1 の消失は、中皮腫の 42%に見られることが報告された<sup>32)</sup>。また同年に、germline に BAP1 の突然変異を有する 2 家系に中皮腫や葡萄膜の悪性黒色腫が多発していること報告がされた (BAP1-related cancer syndrome)<sup>33)</sup>。2015 年に、免疫組織化学的検討における BAP1 の消失は、BAP1 遺伝子の異常 (突然変異, 欠失, 増幅) に相関することが報告された<sup>34)</sup>。同年に Cigognetti らは、BAP1 の免疫組織化学的検討において中皮腫の 66%の症例で BAP1 の消失を認めるが、反応性中皮過形成は消失を認めないことを明らかにし、中皮腫と反応性中皮過形成の鑑別において特異度が 100%であると報告した<sup>35)</sup>。また、細胞診のセルブロック標本に適用できることも報告された<sup>35, 36)</sup>。2015 年に McGregor らは、BAP1 の消失は上皮型中皮腫の 77%, 二相型中皮腫の 49%に認められるが、肉腫型中皮腫には認められないことを報告した<sup>37)</sup>。我が国における胸膜中皮腫 92 例において BAP1 の消失の頻度は、上皮型中皮腫 64% (37/58), 二相型中皮腫 55% (11/20) で、肉腫型中皮腫には認められなかった (0/14)<sup>25)</sup>。しかし、Cigognetti らによると、BAP1 の消失の頻度は上皮型 70%, 二相型 60%, 肉腫型 13%, 線維形成型 20%である<sup>35)</sup>。そ

の他、欧米の報告で肉腫型中皮腫における BAP1 の消失の頻度は 15-57%と報告されている<sup>34, 38, 39)</sup>。

BAP1 の消失は、肺癌や卵巣癌では極めてまれであることが報告されているため<sup>40, 41)</sup>、BAP1 が消失した場合は、中皮腫が疑われる。しかし、中皮腫以外にも、悪性黒色腫、肝内胆管癌、腎淡明細胞癌などでも BAP1 が消失するため<sup>42-44)</sup>、その解釈には注意が必要である。また、BAP1 を免疫組織化学的に検討する場合、背景の炎症性細胞の核が陽性であることが必要である。固定が悪い場合や、体腔液に溶血などの処理を加えた場合、背景の細胞も BAP1 が染色されないことがあり、このような場合に、異型細胞の BAP1 の染色性の判断をしてはならない。

## 3. p16 のホモ接合性欠失と BAP1 の消失の組み合わせ

Hwang らは、胸水のセルブロックを用いて FISH による p16 のホモ接合性欠失と免疫組織化学的染色による BAP1 の消失を検討した<sup>27)</sup>。その結果、セルブロックにおいて中皮腫は p16 のホモ接合性欠失が、11 例中 8 例 (73%) にみられ、BAP1 の消失は 15 例中 10 例 (67%) にみられた。一方、反応性中皮には、p16 のホモ接合性欠失、BAP1 の消失を認めなかった。2 法を組み合わせると、上皮型中皮腫は 11 例中 11 例 (100%) がいずれかの異常を認め、反応性中皮と鑑別する場合に、感度、特異度ともに 100%であった。しかし、Kinoshita らの検討では、上記 2 法を併用した場合、感度は 84%, 特異度は 100%であり、必ずしも



この 2 法で確定診断ができるわけではない  
45)。

## V. まとめ

今後 15 年から 20 年に亘ってアスベスト  
曝露に関連した中皮腫症例が急増する。原  
因不明の体腔液貯留の細胞診断を行う場合  
には、常に中皮腫を念頭におく必要がある。

中皮腫が疑われる場合は、中皮腫としての  
細胞所見の観察、免疫組織化学的検討によ  
る癌腫との鑑別、さらに反応性中皮との鑑  
別のために FISH による p16 の欠失の検討  
および BAP1 の免疫組織化学的検討が必須  
である。

## VI. 引用文献

- 1) 佐久間暢夫, 岡村宏, 渋田秀美, ほか: 体腔液検体中に認められるオレンジG好性細胞の検討. 日本臨床細胞学会雑誌 47:351-354, 2008.
- 2) 佐久間暢夫, 亀井敏昭, 渋田秀美, ほか: 核数に注目した反応性中皮, 肺腺癌および悪性中皮腫の特徴. 日本臨床細胞学会雑誌 41:145-149, 2002.
- 3) 畠榮, 鐵原拓雄, 三宅康之, ほか: 体腔液細胞診における Collagenous stroma を有する細胞集塊の細胞学的特徴ならびに診断的意義について. 日本臨床細胞学会雑誌 35:217-223, 1996.
- 4) 濱川真治, 森一磨, 柏崎好美, ほか: 悪性中皮腫症例の体腔液に出現した hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞の検討. 日本臨床細胞学会雑誌 42:10-16, 2003.
- 5) 亀井敏昭: 中皮腫診断での体腔液細胞診の特徴と考え方. 井内康輝編. 石綿関連疾患の病理とそのリスクコミュニケーション. 東京, 篠原出版新社, 2015, p103-112.
- 6) 佐藤之俊, 廣島健三, 伊豫田明, ほか: 細胞診 日本肺癌学会編. 臨床・病理肺癌取扱規約(第8版). 東京, 金原出版, 2017, p125-148.
- 7) Hjerpe A, Ascoli V, Bedrossian CW, et al.: Guidelines for the cytopathologic diagnosis of epithelioid and mixed-type malignant mesothelioma. Complementary statement from the international mesothelioma interest group, also endorsed by the international academy of cytology and the papanicolaou society of cytopathology. Acta Cytol 59:2-16, 2015.
- 8) Husain AN, Colby TV, Ordonez NG, 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, 2017.
- 9) 亀井敏昭, 渋田秀美, 岡村宏, et al.: アスベスト曝露と中皮腫の病理診断. 診断病理 27:265-272, 2010.
- 10) 廣島健三, 石川雄一, 岡田守人, ほか. 悪性胸膜中皮腫病理診断の手引き. 2013; 第1.0版 :[Available from: <https://www.haigan.gr.jp/uploads/photos/647.pdf>.
- 11) Fetsch PA, Abati A: Immunocytochemistry in effusion cytology: a contemporary review. Cancer 93:293-308, 2001.
- 12) Saad RS, Lindner JL, Lin X, et al.: The diagnostic utility of D2-40 for malignant mesothelioma versus pulmonary carcinoma with pleural involvement. Diagn Cytopathol 34:801-806, 2006.
- 13) Facchetti F, Lonardi S, Gentili F, et al.: Claudin 4 identifies a wide spectrum of epithelial neoplasms and represents a very useful marker for carcinoma versus mesothelioma diagnosis in pleural and peritoneal biopsies and effusions. Virchows Arch 451:669-680, 2007.
- 14) Lonardi S, Manera C, Marucci R, et al.: Usefulness of Claudin 4 in the cytological diagnosis of serosal effusions. Diagn Cytopathol 39:313-317, 2011.
- 15) Ordonez NG: Value of claudin-4

- immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. *Am J Clin Pathol* 139:611-619, 2013.
- 16) Hasteh F, Lin GY, Weidner N, et al.: The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. *Cancer Cytopathol* 118:90-96, 2010.
- 17) Kuperman M, Florence RR, Pantanowitz L, et al.: Distinguishing benign from malignant mesothelial cells in effusions by Glut-1, EMA, and Desmin expression: An evidence-based approach. *Diagn Cytopathol* 41:131-140, 2013.
- 18) Sato A, Torii I, Okamura Y, et al.: Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. *Mod Pathol* 23:1458-1466, 2010.
- 19) Illei PB, Ladanyi M, Rusch VW, et al.: The use of CDKN2A deletion as a diagnostic marker for malignant mesothelioma in body cavity effusions. *Cancer* 99:51-56, 2003.
- 20) Onofre FB, Onofre AS, Pomjanski N, et al.: 9p21 Deletion in the diagnosis of malignant mesothelioma in serous effusions additional to immunocytochemistry, DNA-ICM, and AgNOR analysis. *Cancer* 114:204-215, 2008.
- 21) Savic S, Franco N, Grilli B, et al.: Fluorescence in situ hybridization in the definitive diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology. *Chest* 138:137-144, 2010.
- 22) Monaco SE, Shuai Y, Bansal M, et al.: The diagnostic utility of p16 FISH and GLUT-1 immunohistochemical analysis in mesothelial proliferations. *Am J Clin Pathol* 135:619-627, 2011.
- 23) Chung CT, Santos Gda C, Hwang DM, et al.: FISH assay development for the detection of p16/CDKN2A deletion in malignant pleural mesothelioma. *J Clin Pathol* 63:630-634, 2010.
- 24) Wu D, Hiroshima K, Matsumoto S, et al.: Diagnostic usefulness of p16/CDKN2A FISH in distinguishing between sarcomatoid mesothelioma and fibrous pleuritis. *Am J Clin Pathol* 139:39-46, 2013.
- 25) 廣島健三, 鍋島一樹, 辻村亨, ほか. 平成 28 年度環境省請負業務. 平成 28 年度石綿関連疾患に係る医学的所見の解析調査業務 (FISH 法等を用いた中皮腫診断法の開発に関する調査編) 報告書. 2017.
- 26) Hiroshima K, Wu D, Hasegawa M, et al.: Cytologic differential diagnosis of malignant mesothelioma and reactive mesothelial cells with FISH analysis of p16. *Diagn Cytopathol* 44:591-598, 2016.
- 27) Hwang HC, Sheffield BS, Rodriguez S, et al.: Utility of BAP1 immunohistochemistry and p16 (CDKN2A) FISH in the diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology specimens. *Am J Surg Pathol* 40:120-126, 2016.
- 28) Matsumoto S, Nabeshima K, Kamei T, et al.: Morphology of 9p21 homozygous

- deletion-positive pleural mesothelioma cells analyzed using fluorescence in situ hybridization and virtual microscope system in effusion cytology. *Cancer Cytopathol* 121:415-422, 2013.
- 29) Hida T, Matsumoto S, Hamasaki M, et al.: Deletion status of p16 in effusion smear preparation correlates with that of underlying malignant pleural mesothelioma tissue. *Cancer Sci* 106:1635-1641, 2015.
- 30) Mohseny AB, Tiekens C, van der Velden PA, et al.: Small deletions but not methylation underlie CDKN2A/p16 loss of expression in conventional osteosarcoma. *Genes Chromosomes Cancer* 49:1095-1103, 2010.
- 31) Kawaguchi K, Oda Y, Saito T, et al.: Mechanisms of inactivation of the p16INK4a gene in leiomyosarcoma of soft tissue: decreased p16 expression correlates with promoter methylation and poor prognosis. *J Pathol* 201:487-495, 2003.
- 32) Bott M, Brevet M, Taylor BS, et al.: The nuclear deubiquitinase BAP1 is commonly inactivated by somatic mutations and 3p21.1 losses in malignant pleural mesothelioma. *Nat Genet* 43:668-672, 2011.
- 33) Testa JR, Cheung M, Pei J, et al.: Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nat Genet* 43:1022-1025, 2011.
- 34) Nasu M, Emi M, Pastorino S, et al.: High Incidence of Somatic BAP1 alterations in sporadic malignant mesothelioma. *J Thorac Oncol* 10:565-576, 2015.
- 35) Cigognetti M, Lonardi S, Fisogni S, et al.: BAP1 (BRCA1-associated protein 1) is a highly specific marker for differentiating mesothelioma from reactive mesothelial proliferations. *Mod Pathol* 28:1043-1057, 2015.
- 36) Andrici J, Sheen A, Sioson L, et al.: Loss of expression of BAP1 is a useful adjunct, which strongly supports the diagnosis of mesothelioma in effusion cytology. *Mod Pathol* 28:1360-1368, 2015.
- 37) McGregor SM, Dunning R, Hyjek E, et al.: BAP1 facilitates diagnostic objectivity, classification, and prognostication in malignant pleural mesothelioma. *Hum Pathol* 46:1670-1678, 2015.
- 38) Hwang HC, Pyott S, Rodriguez S, et al.: BAP1 Immunohistochemistry and p16 FISH in the Diagnosis of Sarcomatous and Desmoplastic Mesotheliomas. *Am J Surg Pathol* 40:714-718, 2016.
- 39) Sheffield BS, Hwang HC, Lee AF, et al.: BAP1 immunohistochemistry and p16 FISH to separate benign from malignant mesothelial proliferations. *Am J Surg Pathol* 39:977-982, 2015.
- 40) Andrici J, Jung J, Sheen A, et al.: Loss of BAP1 expression is very rare in peritoneal and gynecologic serous adenocarcinomas and can be useful in the differential diagnosis with abdominal mesothelioma. *Hum Pathol* 51:9-15, 2016.
- 41) Andrici J, Parkhill TR, Jung J, et al.:

Loss of expression of BAP1 is very rare in non-small cell lung carcinoma. *Pathology* 48:336-340, 2016.

42) Yoshimura M, Kinoshita Y, Hamasaki M, et al.: Diagnostic application of BAP1 immunohistochemistry to differentiate pleural mesothelioma from metastatic pleural tumours. *Histopathology*, 2017.

43) Andrici J, Goepfert B, Sioson L, et al.: Loss of BAP1 Expression Occurs Frequently in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Medicine (Baltimore)*

95:e2491, 2016.

44) Koopmans AE, Verdijk RM, Brouwer RW, et al.: Clinical significance of immunohistochemistry for detection of BAP1 mutations in uveal melanoma. *Mod Pathol* 27:1321-1330, 2014.

45) Kinoshita Y, Hida T, Hamasaki M, et al.: A combination of MTAP and BAP1 immunohistochemistry in pleural effusion cytology for the diagnosis of mesothelioma. *Cancer*, 2017.

## VII. 表

表 1. 中皮腫診断に役立つ細胞診所見

=====
1) 背景の粘液様物質 (ヒアルロン酸)
2) 多数の中皮腫細胞の出現 (孤立性, 球状・乳頭状細胞集塊)
3) Collagenous stroma を有する細胞集塊
4) 細胞の大きさ (リンパ球の 6 倍以上)
5) 核の大きさ (リンパ球の 4 倍以上)
6) 窓形成および細胞相交所見
7) 相互封入像および hump 様細胞質突起
8) 細胞質の重厚感
9) 細胞質辺縁の不明瞭化
10) 2 核以上の多核細胞の出現率増加 (出現細胞の 25%程度)
11) オレンジ G 好性細胞
=====