

論文の内容の要旨

論文題目 胸腺腫の臨床病理学的検討
—WHO 組織分類, tissue microarray による免疫組織化学染色を中心に

指導教官 深山正久教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 松岡勇二郎

胸腺腫は胸腺の上皮細胞から発生する腫瘍で、前縦隔では最も頻度が高い。重症筋無力症 myasthenia gravis (以下 MG) や赤芽球癆 pure red cell aplasia (以下 PRCA) 等の自己免疫疾患の合併や組織の多様性、良性から悪性まで含む特殊な腫瘍である。胸腺腫の一部は、病理組織学的には良性にも関わらず浸潤、転移を生じ、臨床的に悪性であることがあり、周囲への浸潤、転移で分類した Masaoka らの病期分類 (以下正岡分類) が広く用いられている。

胸腺腫の組織分類は今まで幾つか報告され、多少の混乱がみられた。1976年、Rosai らが胸腺腫を胸腺の上皮性腫瘍に限定し、浸潤がなく被膜で覆われた良性胸腺腫と、浸潤性の悪性胸腺腫に二分し、腫瘍細胞の形態と、リンパ球の程度で表記した。更に、悪性胸腺腫を細胞学的に異型のない胸腺腫 (悪性胸腺腫, category I) と異型のある胸腺癌 (悪性胸腺腫, category II) に区分した。また1997年 Shimosato らがリンパ球と上皮性腫瘍細胞との比、腫瘍細胞の形態、細胞異型からなる分類も報告した (以下 Shi 分類)。これらの形態分類とは異なり、1985年、Müller-Hermelink らは胸腺腫を正常胸腺の皮質もしくは髄質の類似性より medullary, mixed, predominantly cortical, cortical thymoma に分類し、後に well-differentiated thymic carcinoma という概念を追加した機能分類を提唱した (以下 M-H 分類)。Rosai らの米国の形態分類と、M-H 分類である欧州の機能分類とに分かれ、相互比較が困難な状況となっていた。そこで共通の分類として1999年 World Health Organization より胸腺腫瘍の組織分類 (以下 WHO 分類) が作成された。胸腺上皮性腫瘍は上皮性腫瘍細胞の形態とリンパ球と上皮細胞との割合

より A 型, AB 型, B1 型, B2 型, B3 型, C 型の六つに分類され, それぞれが M-H 分類にも対応する. A 型は紡錘形の上皮性腫瘍細胞からなり, B 型は多角の上皮性腫瘍細胞からなる. 両者の混在するものが AB 型である. B 型はリンパ球の多いものから B1 型, B2 型, B3 型に分類される. C 型は胸腺癌に相当する. WHO 分類の臨床的有用性等について既に幾つかの報告があるが, 多症例を解析したものは未だ限られている. また各型の頻度や予後, B3 型の位置づけなどについて報告者によって多少の違いがみられる.

1994 年, Hishima, Fukayama らは抗 CD5 抗体が胸腺癌および一部の胸腺腫で特異的に染色されることを報告し, 胸腺腫と胸腺癌との区別, 胸腺癌と肺や食道などの扁平上皮癌との鑑別に役立つことが知られている. Strobel らは多発性肝転移を伴う c-Kit 強陽性の胸腺癌でイマチニブが著効した症例を報告している. 種類の抗体が試されているが, CD5 に相当するような有用な他の抗体は少なく, また抗体によっては十分な症例数で検討されていない. 形態のみでは時に区別の難しい B3 型と C 型, A 型との違いや, B3 型の位置づけ, 病期, MG 合併, 予後等を反映する分子マーカーの検討も十分ではない. 1998 年, Kononen らによって組織マイクロアレイ tissue microarray (以下 TMA) が紹介された. TMA はパラフィン包埋された組織から径 0.6~2mm の細い円柱状の組織を採取し, 新しいパラフィンブロックに包埋し直す方法である. この方法は一つのプレパラートに最大 1000 個の組織片を並べることが可能で, 多数の症例を一度に染色することが出来る. TMA によって多くの検体を用いての新しいマーカーの検討が以前と比べ容易となった.

今回, 以上のことを踏まえ, 以下のことを行った.

胸腺上皮性腫瘍に関して

1) WHO 分類について以下のことを検討し, 臨床的有用性を調べる.

- WHO 分類の再現性, 他の組織分類との比較
- WHO 分類の各型の頻度
- WHO 分類と臨床的特徴との関係
- WHO 分類と予後

2) TMA を用いた免疫組織化学染色を施行し, 以下の項目について検討する.

- WHO 分類 (B3 型と C 型, A 型の違い等), 臨床的特徴 (病期や MG 合併, 予後など) を反映する分子マーカーの同定
- 胸腺癌 (C 型胸腺腫) と食道癌, 肺扁平上皮癌との差異, 鑑別となる分子マーカーの検討

対象: 1966 年から 2002 年の東京大学医学部附属病院 135 例と, 1983 年から 2002 年の東京都立駒込病院 62 例の胸腺腫, 胸腺癌 197 例で, 男 111 例, 女 86 例 (男/女 1.29), 年齢 15 歳~78 歳 (平均 51.7 歳) であった.

WHO 分類の再現性, 他の組織分類との比較: 同一症例について WHO 分類と Shi 分類を用いて,

胸腺上皮性腫瘍 40 例を二名の一般若手病理医が別々に連続して診断し、判定者間の一致を検討した。Shi 分類の場合、組織別はかなりの一致 ($\kappa=0.63$)、細胞別は中等度の一致 ($\kappa=0.48$) であったが、細胞異型別は僅かな一致 ($\kappa=0.19$) にとどまった。WHO 分類では中等度の一致 ($\kappa=0.52$) で、ほぼ良好な結果であり、再現性があると考えられる。また WHO 分類の型は A~C 型の 6 種類のみであり、Shi 分類の多様な組み合わせ (二人の医師で 20 種類) と比べると、簡便である。

WHO 分類の各型の頻度:全例分類可能で、A 型 6 例 (3.0%)、AB 型 40 例 (20.3%)、B1 型 42 例 (21.3%)、B2 型 64 例 (32.5%)、B3 型 23 例 (11.7%)、C 型 22 例 (11.2%) であった。C 型はすべて非角化型類表皮癌 (扁平上皮癌) であった。

WHO 分類と臨床的特徴との関係:正岡分類は I 期 74 例 (37.6%)、II 期 62 例 (31.5%)、III 期 28 例 (14.2%)、IVa 期 20 例 (10.2%)、IVb 期 13 例 (6.6%) であった。III、IV 期の割合は A 型 0 例、AB 型 0 例、B1 型 6 例 (14.3%)、B2 型 19 例 (29.7%)、B3 型 15 例 (65.2%)、C 型 21 例 (95.4%) となり、C 型になるほど頻度が高かった。MG 合併は 58 例 (29.4%) で、A 型 0 例、AB 型 7 例 (17.5%)、B1 型 14 例 (30.4%)、B2 型 31 例 (48.4%)、B3 型 5 例 (21.7%)、C 型 1 例 (4.5%) で、有意な偏りがあった ($p=0.0002$)。その他に術後 MG を 4 例 (2.9%) (AB 型 2 例、B2 型 1 例、B3 型 1 例) を認めた。PRCA 合併は AB 型 2 例 (1 例 MG 合併)、B1 型 2 例、B3 型 1 例の 5 例 (2.5%) であった。男女比や年齢は各型で有意な差はなかった。

WHO 分類と予後:腫瘍死は 26 例で A 型 0 例、AB 型 1 例、B1 型 3 例、B2 型 5 例、B3 型 3 例、C 型 14 例、また病期は I 期 2 例、II 期 5 例、III 期 7 例、IVa 期 5 例、IVb 期 7 例であった。C 型になるほど予後不良で、C 型と A および AB 型、B1 型、B2 型、B3 型との間 (いずれも $p<0.0001$)、そして B3 型と A および AB 型との間 ($p=0.0026$) で生存率に有意差があった。正岡分類でも病期が進む程、生存率が低く、III 期と I 期 ($p<0.0001$)、II 期 ($p=0.0005$) との間、IV 期と I 期 ($p<0.0001$)、II 期 ($p<0.0001$) との間で有意差があった。MG 合併や性、年齢 (52 歳までの群と 53 歳以上の群) では有意差を認めなかった。多変量解析では WHO 分類 ($p=0.0066$) や年齢 (高齢者群で予後不良) ($p=0.0292$) で有意差がみられたが、正岡分類では有意な係数は得られなかった ($p=0.2525$)。

TMA を用いた免疫組織化学染色:TMA を用いて胸腺上皮性腫瘍 133 例で 33 種類の抗体による免疫組織化学染色 (以下免染) を施行した。c-Kit や β -Catenin、MMP-2、p63、Bcl-2、Cytokeratin (以下 CK) 5/6、CK19、CD5 などの抗体で、WHO 分類で陽性率に有意な偏りがみられた ($p<0.05$)。c-Kit や CD5 では C 型の陽性率が高く、CK5/6、CK19 では B3 型が高く、有意差を認め、両者の鑑別に有用である。また MMP-2 は C 型での発現が低く、B2 型、B3 型で高い値を示した。 β -Catenin、p63 では AB 型、B1 型で発現が低い傾向がみられた。Bcl-2 は C 型の発現が高かったが、B3 型でも陽性がみられた。また B3 型と A 型間では B3 型で β -catenin が、A 型で CD15 が有意に高発現であった。更に正岡分類では c-Kit や VEGF、Bcl-2、CD5 で有意差がみられた ($p<0.05$)。C 型を除いた A 型~B3 型胸腺腫では Bcl-2 や VEGF、MMP-2、CK5/6 で有意差があり、これらの抗体は進行度と関連すると考えられる。MG 合併症例には CK5/6、CK19 陽性率が有意に高く、C 型を除い

た胸腺腫でも有意差がみられた。多変量解析では有意差が認められなかったが、c-Kit (p=0.0207) や Bcl-2 (p=0.0243), CD5 (p=0.0114) の陽性例は陰性例と比べ予後不良であった。B3 型のみ、もしくは C 型のみで生存率に有意差が生じる分子マーカーは無かった。

食道癌、肺扁平上皮癌との比較：食道扁平上皮癌 24 例、肺扁平上皮癌 24 例にも TMA を用いて同様に免疫染色を施行し、胸腺癌（C 型胸腺腫）の結果と比較した。c-Kit や Bcl-2, CD5 は胸腺癌で陽性、食道癌、肺癌で陰性が多く、逆に CD44 や p53 は胸腺癌で陰性、食道癌、肺癌で陽性が多かった。有意差がみられ (p<0.05), これらの抗体は鑑別診断に有用である。

以上、197 例の胸腺上皮性腫瘍（胸腺腫、胸腺癌）について WHO 分類、TMA を用いた免疫染色を中心に臨床病理学的検討を行い、以下のようなことがわかった。

1) WHO 分類は予後因子の一つであり、臨床上有用と考えられる。

- WHO 分類は再現性があり、簡便である。
- 全例で分類可能であり、A 型が少なく、B2 型が最も多かった。C 型はすべて非角化型類表皮癌であった。
- 組織間で病期に有意差があり、B3 型、C 型になるほど進行していた。MG 合併の頻度にも有意差があり、A 型、C 型で少なく、B2 型で多かった。
- A 型で腫瘍死は無く、腫瘍死の半数以上が C 型であった。C 型とその他の型との間、B3 型と A および AB 型との間で生存率に有意差を認め、多変量解析でも WHO 分類は独立した因子であった。
- B3 型は予後や MG 合併など臨床的にも C 型等とは異なる組織型であることがわかった。

2) 更に TMA を用いた免疫染色で以下のことが示された。

- B3 型と C 型間で CK5/6, CK19 が B3 型で、c-Kit や CD5 が C 型で陽性率が有意に高かった。また B3 型と A 型間では β -catenin が B3 型で、CD15 が A 型で有意に高発現であり、これらの分子マーカーは組織型の診断、区別の参考となる。B3 型は免疫組織化学的にも C 型などの他の組織型とは異なることが示された。
- Bcl-2 や CK5/6, VEGF, MMP-2 は病期と関連した。
- CK5/6, CK19 は MG 合併例で高発現した。
- 各組織型内での差はなかったが、c-Kit や CD5, Bcl-2 の陽性例は予後不良であった。
- c-Kit や CD5, Bcl-2 は C 型胸腺腫（胸腺癌）で陽性、CD44 や p53 は食道癌、肺扁平上皮癌で陽性であり、これらは鑑別診断に有用である。