

# 日中石綿関連癌診断能力向上プロジェクト第2回訪日研修(病理医向け)

## 研修員帰国報告書

2019年3月8日

石綿健康被害問題は重要な公共衛生の問題であり、長きにわたり、国際社会において、石綿使用がもたらす石綿関連疾患、とりわけ悪性腫瘍が高い注目を集めている。世界保健機関の報告によると、2018年6月までに世界の65の国と地域で石綿の使用が全面的に禁止されているが、依然として1億2,500万人の労働者が業務上で石綿に接触している。石綿ばく露は労働能力を著しく低下させる石綿肺、びまん性胸膜肥厚などの良性疾患だけでなく、命を脅かす悪性中皮腫や肺癌などの石綿関連癌も引き起こす。石綿関連癌診断には複数の学科の協力が必要であり、その中でも病理医の診断レベルが特に重要である。一方で、欧米の専門家を中心とした国際学術団体「国際中皮腫利益団体(IMIG)」は、中皮腫病理組織形態の分類、免疫組織染色、中皮腫治療などについて、比較的内容の充実した技術ガイドラインを編さんし、2年おきに開催される国際学術会議で改定し、世界的な普及を図っている。その一方で、日本では2005年の「クボタショック」後、学術研究が継続的に強化されており、中皮腫多学術専門家診断会議、石綿関連疾患診断委員会、石綿健康被害救済などの制度が日本国内に設けられ、石綿による健康被害の知識水準と病理診断レベルが絶えず向上している。とりわけ悪性中皮腫早期胸腹水細胞学診断、分子生物学技術を利用して行う難しい症例の中皮腫鑑別診断などにおいて、多くの研究成果を上げており、世界先進水準でリードしている。日本の進んだ経験を学ぶため、JICAプロジェクトに基づいて計画を立て、病理医を中心とする第二陣となる研修団を日本に派遣し研修・交流を行った。今回の研修団は11日間の日程で、研修団団員は北京市、山東省、浙江省から参加した。プロジェクト実施責任者である浙江省医学科学院の張幸研究員が団長を務めた。研修団の滞在期間中の生活、研修などいずれの面においても、JICAおよび日本政府の関連機関の多大なる支援を得て、参加者はこの期間に石綿関連癌の病理診断技術を真剣に学び、習得に励み、日本の専門家と積極的に意思疎通を図り、外事行動規律に従い、研修を滞りなく終えた。その詳細を次のとおり報告する。

### 一. 研修交流について

高い石綿関連癌診断力をもつ病理医の育成は、中国で中皮腫診断体系を構築するうえで鍵となる。病理学診断の特徴にもとづき、中国側のプロジェクト実施責任者と日本側の専門家チームが協議を重ね、入念に研修計画を立て、今回の研修目標を中皮腫病理知識の習得を中心とすることに決定し、また実習による研修を多く取り入れた結果、とても良い成果を得ることができた。

#### (一) 病理診断理論研修

##### 1. 悪性中皮腫病理組織学診断

LSIメディエンス病理細胞診センターの前田昭太郎教授による『悪性中皮腫の組織診断と細胞診断』、東京女子医科大学八千代医療センターの廣島健三教授による『中皮腫の病理診断』の講義を受けた。中皮腫は大きくびまん性と限局性の2つに分けられ、胸膜、腹膜、睾丸鞘膜などの部位によく見られるが、石綿による悪性中皮腫は多くがびまん性に広がる。胸膜悪性中皮腫は、石綿関連癌の中で最もよく見られ、腫瘍が大きくなるにつれて臓側胸膜と壁側胸膜の癒着が起こり、肺全体が腫瘍に覆われ圧縮され、腫瘍は葉間胸膜に沿って大きくなり、病例は少ないが肺そのものに浸潤するものも見られる。中皮腫の基本的病理組織形態は、上皮型、肉腫型、二相型の3種類である。胸膜中皮腫は上皮型を主として症例の約50~60%を占め、肉腫型は10%、二相型は30~40%、また腹膜中皮腫は上皮型を主として症例の約80~90%を占める。悪性中皮腫は潜伏期間が長く、病変部位が隠れており、また反応性中皮細胞の増殖、悪性腫瘍胸膜転移など入り混じりやすく、臨床診断がきわめて困難となり、病理診断時にも、免疫組織化や分子遺伝学的検査などの手段と組み合わせなければならない。免疫組織染色の基本原則は最低でも陽性マーカー2つと陰性マーカー2つの使用である。現在公認されているマーカー(EMA, AE1, AE3)、中皮マーカー(Calretinin, D2-40, WT1, Mesothelin, CK5/6)、腺癌マーカー(CEA, Ber-EP4, MOC31)などについて、中

皮腫診断における役割と欠陥を両名の教授が詳細に解説し、これらの免疫組織化マーカーは通常、上皮型中皮腫の診断を大いに助けるが、二相型または肉腫型中皮腫においては、何らかの抗原が示す喪失によりその診断価値について検討が必要であることを指摘した。講義で両名の教授は、上皮型中皮腫と反応性中皮細胞、および肉腫型中皮腫と線維性胸膜炎の鑑別診断時に、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション(FISH)による p16 遺伝子のホモ接合性欠失検査がこれらの疾患の鑑別診断で大きな役割を果たし得るといった新技術の運用を強調した。このほか、BRCA 関連タンパク質-1 (BAP1) や MTAP などいくつかのタンパク質発現量の変化の解析は、現在も多くが一部の難しい症例の診断や鑑別診断に応用されている。現在の中国においてこれらは中皮腫診断と鑑別診断のいずれにおいても未だ応用されていない。

## 2. 悪性中皮腫の細胞学診断

中皮腫は初期段階では通常胸腹水を形成し、その中の細胞成分変化も腫瘍細胞診断に用いることができる。日本は中皮腫の細胞学診断において世界水準と比べても進んでおり、体液中の細胞採取、切片作製、染色方法から結果判断などに至るまでの操作規定の基準および技術体系が構築されているほか、研修体制も整っている。年 1 回の中皮腫細胞学診断研修会では日本全国の病理医を対象とした研修が実施されており、中皮腫細胞学診断技術を全国に広めている。今回、研修団は第 17 回中皮腫細胞学診断実習研修会の全日程に参加した。研修会では、福岡病理・細胞学センター所長兼細胞学診断部部長の亀井敏昭教授による『体腔積液細胞学検査中皮腫における診断の用途と限局』、神戸常盤大学保健科学部の畠榮博士による『中皮腫細胞学検査におけるギムザ染色の用途』、日本医科大学多摩永山病院の片山博徳博士による『中皮腫体液細胞学技術』、公立昭和病院臨床検査科の濱川真治博士による『中皮腫細胞学診断における標本作製法の実際』などの講義を聴講した。日本の専門家により、細胞の塊の出現様式、孤立性細胞の連続性特徴、多核細胞内核の性状および細胞質と細胞膜の変化などの、典型的な中皮腫細胞の形態学的特徴について詳細な解説がなされ、さらに悪性中皮腫細胞と反応性中皮細胞、肺癌細胞の形状、染色などの生化学的、細胞生物学的根拠が仕組みの観点から述べられた。我々はプログラムを通して、中皮腫細胞学診断も組織病理診断と同様に、細胞塊、パラフィン包埋後に、切片作製とともに免疫組織染色を行うことでより正確な診断ができることを知った。また、中皮腫の症例でよく見られるオレンジ G 好性細胞の由来およびその診断意義についても理解した。

日本の専門家により、細胞学診断における各種染色技術の応用について解説が行われた。例えば、約 25% の上皮型中皮腫がヒアルロン酸を生成し、約 66% の肺腺癌が中性ムチンを生成し、これらの分泌物は HE 染色で識別することができる。細胞学的診断の過程で、HE 染色に明らかな細胞外分泌物が見られた場合は、他の染色方法を応用して鑑別を行う。例えば過ヨウ素酸シッフ反応(PAS)染色を用いて中性ムチンと細胞質グリコゲンを区別する。アルシアンブルー染色が透明ヒアルロン酸に対して特異性をもつため、異なる染色方法は上皮型中皮腫と肺腺癌の鑑別診断に役立つ。日本の専門家はプログラムの中で、症例と結びつけて我々に貴重な経験を伝授し、中皮腫細胞学診断の限局性についても詳細に説明がなされた。

### (二) 実操作訓練

#### 1. パパニコロウ染色と免疫組織染色

研修団は 2 日間にわたり日本医科大学多摩永山病院で実習を行った。病理診断科技師長の片山博士が研修員にパパニコロウ染色と免疫組織染色方法、および日本の専門家が創始した、細胞切片をスライドガラスに移す細胞転写法について説明し、細胞切片をスライドガラスに移す目的は、細胞試料が少ない問題を解決することであり、同時に多種免疫組織染色を完成させることも可能であると説明した。片山先生は、これらの技術はいずれも中皮腫細胞学診断の鍵となる旨を強調した。片山先生の指導のもと、研修員は各自が盲試料 1 セットを用いて実際に操作し、染色からフィルムリーディングまでの工程を完了させた。実習を通して研修員は、細胞形態の観察におけるパパニコロウ染色の重要性を理解し、不正確な操作法は偽陽性あるいは偽陰性の実験結果をもたらす可能性があるなどの実験の要点を習得した。

## 2. ディスカッション型顕微鏡での病理フィルムリーディング実例討論

研修団は石綿確定診断委員会に参加し、委員が中皮腫の難しい症例を分析、討論、鑑定する全過程を重点的に見学した。石綿確定診断委員会の病理専門家はディスカッション型顕微鏡で擬似中皮腫症例の病理組織切片と細胞切片について議論を行い、意見を統一し、判断結果を記録する。これらは委員会での中皮腫診断の際の参考とされる。委員会終了後、研修員らは労働者健康安全機構の手配により、ディスカッション型顕微鏡を囲んで座り、広島教授より中皮腫病理診断の指導・説明を受けた。教授は、会議で討論された 22 例の典型的症例について顕微鏡を使いながら重点的に解説し、研修員は解説を聞きながら真剣に病理切片を観察し、中皮腫の組織学的特徴と細胞学的特徴、中皮腫診断における免疫組織染色の役割について細かい部分までを体得した。理論と実践を組み合わせた研修により、研修員は中皮腫の組織細胞学的特徴を視覚化して認識し、病理診断の知識を深めた。

## 3. 第 17 回中皮腫細胞診実習研修会への参加

研修団は、日本の環境省傘下の環境再生保全機構が日本医大で主催した第 17 回中皮腫細胞診実習研修会に参加した。細胞診実習研修会の講師は日本の権威ある病理医により構成され、講義と検鏡実習を組み合わせた方式を用いて、全国から集まった細胞診断医に対して研修を実施した。研修中、日本の専門家により、体腔液細胞学検査の中皮腫診断における役割、異なる染色方法、特徴、細胞学検査診断書の記述について解説が行われた。検鏡実習は細胞診実習研修会の重要な研修内容で、各研修員は単独で 36 例の典型的な症例の検鏡練習を行わなければならない。各症例の検鏡時間は 4 時間に定められていた。顕微鏡で各症例の組織細胞形態の特徴を観察し、免疫組織染色の結果も踏まえて自分の判断を出してから、専門家が出した診断結果を参照して自身の中皮腫細胞診断の正確性を判断した。専門家は研修員に 36 例のうちの 5 例について解説を行った後、研修員の判断が難しいと感じた箇所や疑問に関して説明を行った。実操作により研修員は典型的な中皮腫の細胞学的特徴について知見を深め、また個々の非典型的な症例に対する認識をよりいっそう深めた。

### (三) 診断関連知識の学習

今回の研修員は全員病理専門であり、研修参加者の石綿関連疾患への認識を高める手助けとなるよう、日本の専門家により職業衛生と職業病理関連のプログラムが用意された。主に次のものがあつた。1. 環境再生保全機構石綿健康被害救済部の森永謙二顧問医師による「疫学における中皮腫の関連知識」をテーマとした講義、2. 国立労働安全衛生総合研究所の神山宣彦教授による「石綿の鉱物学および石綿小体がもたらす肺癌の評価」をテーマとした講義、3. 千葉労災病院・アスベスト疾患センターの由佐俊明教授による「石綿ばく露の医学的指標」をテーマとした講義、4. 横須賀市立うわまち病院顧問の三浦溥太郎教授による「中皮腫、良性石綿胸水、びまん性胸膜肥厚」をテーマとした講義。専門家によるこれらの素晴らしい講義により、石綿ばく露と石綿関連癌との関係、中皮腫と石綿肺癌の臨床特徴、疫学的特徴について全面的に理解し、その中でも、特に研修団の関心を引いたのは、日本の石綿肺癌の診断であつた。石綿ばく露による肺癌は、臨床と病理学上では一般的な肺癌と違いがないため、肺癌が石綿ばく露によるものかどうかを臨床診断することは非常に困難である。日本の「労働者災害補償保険法」では、石綿肺癌を認定する時の重要な基準の 1 つは、肺組織切片に石綿小体または石綿繊維が存在することである。特に石綿小体は、日本公共衛生医師と臨床医師が行った共同研究で、石綿肺癌の診断における石綿ばく露の医学的指標として重要とされている。日本では、臨床医は、石綿肺癌の診断時に、患者が石綿に接触したかどうかを判断するために、患者の職歴と生活環境を調べなければならない。また、石綿小体計測検査は診断の重要な参考指標となっている。中国で石綿小体は石綿ばく露の生体マーカーと認識されてはいるが、まだ計測検査の基準が設定されておらず、各臨床病院もそれに応じた業務を未だ実施していない。したがって、石綿小体の計測方法および基準の習得は、本研修の重要任務の 1 つであつた。

## (四)政府機関の訪問・交流

訪日期間中、研修団は労働者健康安全機構、環境再生保全機構を訪問し、関連機関の組織構成や業務内容、運営メカニズムなどについて勉強した。労働者健康安全機構勤労者医療・産業保健部の小川裕由課長から、日本における石綿使用の歴史や、石綿関連企業の監督管理と石綿を取扱う作業に従事した労働者の健康管理などについて詳しい説明があった。環境再生保全機構石綿健康被害救済部の大内田由紀子課長代理から、日本の石綿輸入量、石綿ばく露の実態調査と中皮腫による死者数の経年データ、労働者災害補償保険制度と石綿健康被害救済制度の対象者などについて説明があり、特に「石綿健康被害救済法」や、法律に規定された補償内容、適用疾患と申請手順などについて重点的な紹介があった。訪問中、研修員は説明を聞きながら、日本の専門家と活発かつ踏み込んだ交流を行い、直接議論し、大変勉強になった。

## (五)終了式

訪日日程最終日の午後、環境再生保全機構の会議室にて、JICA 主催による研修終了式が行われた。まずは、日本側専門家の森永謙二教授、三浦溥太郎教授、由佐俊明教授、神山宣彦教授、大内田由紀子氏に時間を割いていただき、研修員からの中皮腫の臨床診断や予防などに関する質問に対し回答を行い、研修内容への理解を深めた。それから、研修員が研修参加の感想や、学んだことおよび提案について発表し、張幸団長は研修団を代表して終了の挨拶を行い、各方面からの支援に対して感謝の意を述べた。最後に、JICA から各研修員に研修修了証を授与した。

## 二. 研修交流の感想について

今回の 11 日間の研修で、研修参加者は皆、研修日程とプログラム内容に大変満足し、今回の研修で多くを学ぶことができたと感じている。石綿関連癌の病理診断の新しい知識を学ぶことができ、日本の石綿健康被害のために制定された法律法規を理解することができた。主な感想は次のとおりである。

### 1. 石綿癌の病理診断知識の全面的更新

病理組織学と細胞学診断は中皮腫を正確に診断する重要ポイントであり、日本の専門家は心を尽くされ、中皮腫病理診断のすべての内容を研修員に伝えられた。これは今回の病理医研修団の一番の収穫であった。特に、研修員が不慣れた細胞学診断について、日本の専門家が中皮腫細胞の成長の動きや形態学的な微視的特性について研修員に詳しく紹介し、異なる染色方法(パパニコロウ、Giemsa、HE、アルシアンブルー、PAS)を通して、中皮腫の異なる亜型およびその他の中皮腫症例において、細胞の形態が示すものと分泌物(透明ヒアルロン酸と酸性ムコ多糖)と比較した。その中でも細胞学診断時のパパニコロウ染色法の重要性が印象深かった。研修員は石綿関連癌、とりわけ中皮腫の組織学と細胞学診断に関する新たな知識を身につけた。体液細胞標本をもとにした中皮腫の正確診断をめぐる論争があるが、これは中皮腫細胞の十分な分化がその中皮腫の性質により識別するとき、それらと反応性中皮区を区別することが難しいため、また同様に、細胞が明らかに悪性を示したときに、中皮腫細胞と腺癌細胞を区別することが難しいためでもある。だが、体液から十分な細胞数が得られたなら、また、組織化学、免疫組織化学染色測定検査を組み合わせれば、細胞診断に有利に働き、しかも中皮腫早期診断のよい方法であるといえる。このほか、重要な点として、中皮腫の診断およびその反応性中皮とその他腫瘍の鑑別診断には十分な組織試料の採取が必要であり、多くの状況は胸腔鏡または開胸手術で生検検体を採取する。腫瘍結節が肉眼では見えず、びまん性胸膜肥厚しか見えない場合には、壁側胸膜と臓側胸膜に詳しい胸腔鏡検査を行い、疑わしい部分は試料を採取することが推奨される。これらの病理診断知識は病理医が中皮腫を診断するときに非常に重要である。

### 2. 中皮腫診断時における免疫組織染色などの方法の重要性の理解

悪性中皮腫に対して 100%特異性と感性をもった単一の免疫組織化の指標がなく、しかも各症例は臨床表現と腫瘍組織分類の多様性があるため、免疫組織化指標の選択も変わらないということは決してなく、一対の抗体を選

んで染色し、検査結果を基にして分析診断を行う必要がある。悪性胸膜中皮腫病理診断の手引きによる提言に基づいて、特異性 $\geq 80\%$ の陽性と陰性の染色を用いる。中皮腫診断においては、それぞれの免疫組織指標に異なる価値がある。例えば calretinin、D2-40、WT1、CK5/6、MOC-31、Ber-EP4、Claudin4 などは中皮腫と上皮細胞を区別するために使われ、EMA、Glut-1、CD146、Desmin などは組織が良性か悪性かを判定するために使われ、その他腫瘍のマーカーの識別に使われる。また、BAP1、p16INK4A、MTAP などの一部の腫瘍抑制遺伝子の検査も中皮腫診断の正確度を高める。免疫組織化学は悪性中皮腫 BAP1 欠失の有効なスクリーニング手段であるが、血液またはその他非悪性組織の DNA シークエンシングは、生殖細胞変異の存在の有無の確定に必要である。p16INK4A 欠失は悪性中皮腫で最もよく見られる遺伝子突然変異の 1 つであり、FISH で検査できる p16INK4A 遺伝子のホモ接合性欠失は中皮腫の判断に役立つ。BAP1 の免疫組織染色と FISH による p16INK4A 遺伝子のホモ結合性欠失検査を合わせて応用することは、反応性中皮腫の増殖と悪性皮膚腫瘍との区別に役立つ。研修を通して、研修員は中皮腫病理標本の免疫組織染色をどのように実施するかについて多くを理解し、認識した。

### 3. 細胞学診断の基礎技術の習得

現在、中国の中皮腫組織と細胞学診断は HE 染色が多く、パパニコロウ染色やギムザ染色の運用は少ないが、日本の病理学専門家は中皮腫の組織細胞学的特徴に基づいて数種の異なる染色手段を選択し、組織細胞形態学的観察を行うことができる。パパニコロウ染色は脱落膜細胞の染色の中で最もよい染色方法で、細胞核構造が明瞭、色分別が鮮明、透明度が高い、細胞液の染色が鮮やかななどの特徴を備え、上皮細胞および中皮組織の標本に適している。一方で、ギムザ染色は青色のアルカリ性染料(アズール B とメチレンブルー)の濃度が高く、細胞核の染色に適している。顕微鏡で細胞出現を観察する形式で、中皮腫と反応性中皮および腺癌の区別に役立つ。ギムザ染色では中皮腫の細胞の境界が不明瞭となることも確認でき、発達した微絨毛をもつ。これらはいずれも、HE 染色では明確に現れない細胞形態学的変化である。また、HE 染色は切片中に明らかな分泌物の背景が見られる場合、再度 PAS 染色とアルシアンブルー染色を行う。実習過程で専門家は、細胞試料の作製および組織と細胞学診断病理染色過程で遭遇する各種問題について説明し、また細胞転写法をうまく利用して細胞試料量が少ない、検査指標が多種にわたるといった問題を解決した。これらの経験と技法はいずれも参考に値する。

### 三. プロジェクト今後の活動に対する提言

11 日間にわたる第 2 回目の訪日研修において、学習および実習、また技術面における日本の専門家との討論・交流は、いずれも良い結果を得ることができた。また、JICA 中国事務所や日本の関連行政部門との連携を強化し、日本の専門家陣との友情を深めることもできた。第 1 回目の研修団が言及した討論の時間不足、病院訪問がないなどの不十分な点が、今回、森永教授の努力によりすべて解決された。研修団は今回の研修が滞りなく終了し、所期の目標が達成できたことを全員で認識している。この病理医研修については、できる限り病理フィルムリーダー診断研修の時間を増やし、また一部の判断が難しい病症例の討論を増やして、病理医の実診断能力を着実に高めることができるよう、皆が希望している。

最後に、第 2 回目の研修に対する JICA 本部と JICA 中国事務所からのご支援、ご指導に心より感謝するとともに、日本の専門家陣の素晴らしいプログラムと実習指導、特に研修プログラムを、心を込めて組んでくださった森永教授に対し、また黄永実氏の的確、完璧な通訳により、研修員が関連の知識を正確に把握できたことに対しても感謝したい。

馮玲芳執筆 張幸校閲