

Ⅲ. 症例報告

Ⅲ. 1 リンパ節腫大を主訴とし遺伝子解析により診断された原発不明悪性黒色腫

田坂 佳資¹⁾ 田中 康博¹⁾ 新里 偉咲¹⁾
橋本 公夫²⁾ 高蓋 寿朗^{1, 3)}

¹⁾ 西神戸医療センター 免疫血液内科

²⁾ 西神戸医療センター 病理科

³⁾ 現 国立病院機構 呉医療センター 血液内科

要 旨

症例は55歳の男性。2012年10月初めより腹部膨満、左頸部リンパ節腫脹を自覚したため前医を受診。Positron emission tomography-computed tomography (PET-CT) 検査で全身性リンパ節腫大を認めた。開腹リンパ節生検を施行したが診断に至らず、胸腹水が出現してきたため同年11月当科へ転院となった。前医のリンパ節生検標本を再検討したところ、免疫染色でMelan A, HMB-45, S100が陽性であり悪性黒色腫のリンパ節転移と診断した。転院後、急速に病状は悪化し、前医では認めていなかった多発性肝転移巣が出現し、多臓器不全をきたして永眠された。病理解剖で腫瘍性病変をほぼ全身に認め、明らかな原発巣と考えられる病変は確認できなかった。転移巣の遺伝子解析の結果、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法でEWSR1 split signalは陰性で、BRAF遺伝子のV600E変異をヘテロに認めたため原発不明の悪性黒色腫と診断した。

キーワード：悪性黒色腫、淡明細胞肉腫、リンパ節腫脹、BRAF遺伝子変異

(神戸市立病院紀要 53：53-58, 2014)

A case of malignant melanoma of unknown primary site presented as lymphadenopathy and diagnosed with genetic analysis

Keiji Tasaka¹⁾, Yasuhiro Tanaka¹⁾, Isaku Shinzato¹⁾, Kimio Hashimoto²⁾, Toshiro Takafuta^{1,3)}

¹⁾ Department of Hematology and Clinical Immunology, Nishi-Kobe Medical Center, Kobe, Japan

²⁾ Department of Pathology, Nishi-Kobe Medical Center, Kobe, Japan

³⁾ Department of Hematology, National Hospital Organization Kure Medical Center, Hiroshima, Japan

Abstract

A 55-year-old man visited a local hospital because of multiple lymph node enlargement. He noticed abdominal distention and multiple swelling of lymph nodes in the left cervical region in October 2012. PET-CT revealed systemic multiple lymph nodes enlargement and ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG) uptake in the same lesions. Open biopsy of intra-abdominal lymph nodes was performed, but the findings were not adequate to make a pathological diagnosis. Bilateral pleural effusion and massive ascites rapidly progressed after the open biopsy; hence, the patient was then transferred to our hospital. Through a pathological re-examination in our pathology department, a diagnosis of lymph node metastasis of malignant melanoma was made. After the diagnosis, the patient's condition progressively deteriorated, and multiple liver metastases appeared at about 1 month. He died of multiple organ failure. With his family's approval, autopsy was performed. Amelanotic melanoma cells involved multiple organs and lymph nodes, but the original focus was not uncovered. V600E mutation of the BRAF gene was detected in the autopsy samples, but EWSR1 split signal was not detected by FISH method. The final diagnosis was malignant melanoma, not clear cell sarcoma.

Key words : Malignant melanoma, Clear cell sarcoma, Lymph node enlargement, BRAF mutation

(Kobe City Hosp Bull 53：53-58, 2014)

はじめに

悪性黒色腫は皮膚や消化管、網膜などに存在するメラノサイトが癌化した腫瘍で、全身の臓器に転移をきたす予後不良の疾患である¹⁾。皮膚原発悪性黒色腫の場合、転移巣が出現した際には原発巣が消失する現象が報告されている²⁾。また、近年の遺伝子検査の進歩により、悪性黒色腫における遺伝子異常が判明し、臨床応用が可能な時代となってきた。今回我々は、リンパ節腫大で発見された悪性黒色腫の症例を経験した。PET-CT検査と病理解剖を行うも原発巣は特定できず、原発不明と判断した。淡明細胞肉腫と鑑別するために遺伝子検査を行い、最終的に原発不明の悪性黒色腫と診断した。リンパ節転移で発見される原発不明の悪性黒色腫は比較的まれ³⁾であり、淡明細胞肉腫との鑑別にも遺伝子検査が有用であると考えられたため、文献的考察を加えて報告する。

I. 症 例

患 者：55歳、男性

主 訴：腹部膨満感、左頸部リンパ節腫脹

既往歴：25歳 左踵骨粉碎骨折、32歳 腰椎ヘルニア手術

家族歴：父が前立腺癌、喉頭癌

現病歴：2012年10月初めより全身倦怠感、腹部膨満、

排便困難、左頸部リンパ節腫大を自覚したため、10月中旬に近医より前医を紹介受診となった。PET-CT検査で全身性リンパ節腫大を認め、診断目的で開腹リンパ節生検を施行した。しかし、確定診断に至らず、胸腹水が出現してきたためリンパ腫疑いにて11月中旬当院免疫血液内科に転院となった。

入院時現症

体温36.4℃、血圧167/128mmHg、脈拍72/分、SpO₂（経皮的動脈酸素飽和度）97%（O₂3L 経鼻カヌラ）。意識清明、ECOG PS（Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status）3、眼瞼結膜は貧血様、左鎖骨上窩に4cm大の硬いリンパ節を触知、肺野にラ音を聴取せず、心雑音は聴取せず、腹部は膨満し波動あり、臍周囲にリンパ節と同様な硬い腫瘤を触知、腸音に異常なし、肝臓・脾臓を触知せず、前胸部・右下腿の皮膚に黒子を多数認めた。

血液生化学検査（表1）

WBCは正常範囲であったが、CRP 7.6 mg/dl, LDH 1195 IU/lと高値を認めた。TP 6.0 g/dl, Alb 2.6 g/dlと低値であった。悪性黒色腫で異常を認める5-SCD（5-S-cysteinyl-dopa）は804.5nmol/Lと上昇していた。

WBC	8200	×10 ⁶ /L	Glu	98	mg/dl	IgG	1440	mg/dl
Stab	4	%	TP	6.0	g/dl	IgA	146	mg/dl
Seg	79	%	Alb	2.6	g/dl	IgM	58	mg/dl
Lym	9	%	T-Bil	0.4	mg/dl	5-SCD	804.5	nmol/L
Mono	6	%	AST	22	IU/L			
Eos	1	%	ALT	13	IU/L			
RBC	371	×10 ¹⁰ /L	γ-GTP	50	IU/L			
Hb	11.0	g/dl	Alp	267	IU/L			
Ht	34.8	%	LDH	1195	IU/L			
Plt	37.4	×10 ¹⁰ /L	CPK	23	IU/L			
Ret	17	‰	Amy	229	IU/L			
			T-choI	136	mg/dl			
PT(INR)	1.1		UA	4.8	mg/dl			
aPTT	26.1	sec	BUN	11	mg/dl			
Fib	449	mg/dl	Cr	0.54	mg/dl			
D-dimer	8.53	μg/ml	Na	139	mEq/L			
			K	3.8	mEq/L			
			Ca	8.6	mg/dl			
			CRP	7.6	mg/dl			

5-SCD（5-S-cysteinyl-dopa）；正常値1.5-8.0

表1. 入院時血液検査所見

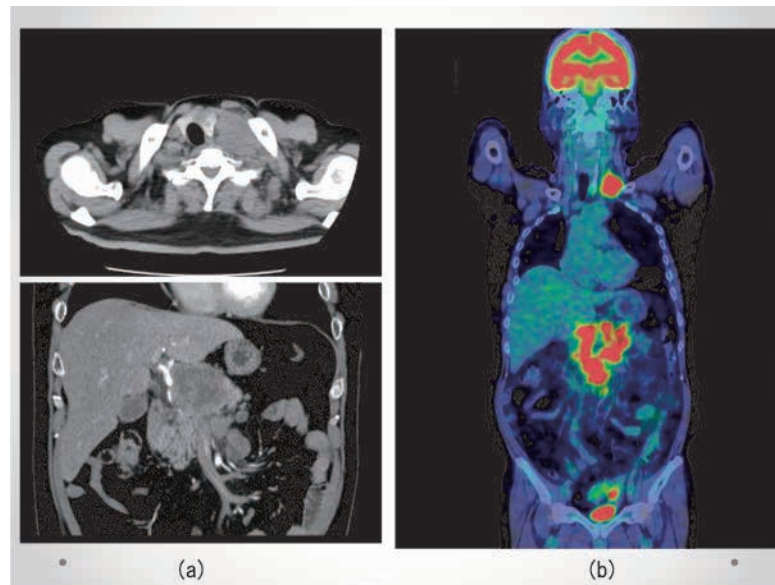
画像所見 (図1)

頸胸腹部CT (computed tomography) 検査では左鎖骨上窩、傍腹部大動脈領域、腓頭部周囲、腸間膜根部に不均一に造影を受けるリンパ節腫大を多数認めた。

PET-CT検査では左鎖骨上窩、傍腹部大動脈、腓周囲、腸間膜のリンパ節、下行結腸からS状結腸にFDGの高度集積を認めた。

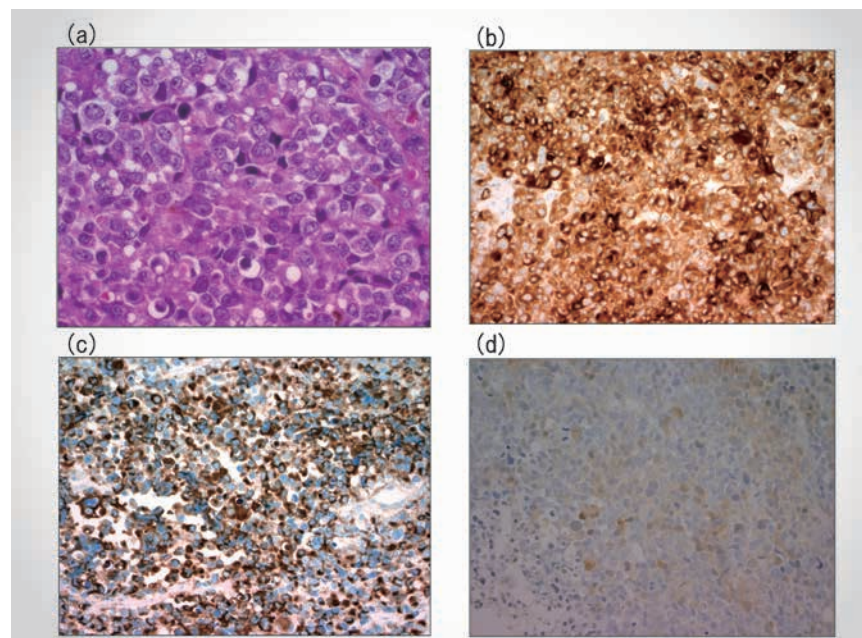
開腹リンパ節生検標本 (図2)

リンパ節は特定の配列を示さない腫瘍細胞により構造が破壊され、強い壊死を伴っていた。腫瘍細胞は核小体が明瞭で円形から卵円形で大小不同のある核をもち、好酸性のやや広い多角形の胞体をもっていた。一部の腫瘍細胞で褐色の微小な顆粒を持つ細胞を認めた。免疫組織染色ではMelan A, HMB-45, S100がいずれも陽性であった。



- a) (上図) 頸部造影CT画像
左鎖骨上窩にリンパ節腫大を認めた。
(下図) 腹部造影CT画像
傍腹部大動脈領域、腓頭部周囲、腸間膜根部に不均一に造影を受けるリンパ節腫大を認めた。
- b) PET-CT画像
左鎖骨上窩、傍腹部大動脈、腓周囲、腸間膜のリンパ節、下行結腸からS状結腸にかけてFDGの高度な集積を認めた。

図1. 入院時画像所見



- a) HE (Hematoxylin-Eosin) 染色
b) Melan A免疫染色
c) HMB-45免疫染色
d) S100免疫染色

図2. 病理組織所見

II. 臨床経過

前医で施行された開腹リンパ節生検の標本を当院病理部で再度検討したところ、悪性黒色腫のリンパ節転移と診断された。右下腿前面の黒子より皮膚生検を実施するも異常細胞を認めなかった。転院時より両側胸水貯留を認め、左胸水の細胞診は陽性であったため左癌性胸膜炎の合併と考えた。前医での上下部内視鏡検査では明らかな原発巣を認めず、TxNxM1, stage IVと判断した。転院時はECOG PS 3で、stage IVの悪性黒色腫のため対症療法の方針とした。

約1ヶ月前の前医でのCT検査では認めていなかったが、第3病日の造影CT検査で多発性肝転移が出現しており、急速進行性であった。徐々に黄疸と腎機能障害が進行し、多臓器不全をきたし第28病日に永眠された。家族の了承を得て、病理解剖を施行した。

病理解剖

左胸水貯留と多量の腹水貯留を認めた。肉眼的に腸間膜根部を中心に累々と腫大する腫瘍組織を認めた。腫瘍組織は十二指腸の粘膜下に多結節性に広がり、胆嚢壁や肝脾実質内、左腎臓内に浸潤していた。また、大網や膀胱漿膜には播種性病変を認め、後腹膜から縦隔、気管分岐部や頸部のリンパ節に広範なリンパ節転移を認めた。組織学的には胃壁のリンパ管、左腎静脈、右副腎、骨髄内、精巣周囲のリンパ管内に腫瘍細胞の浸潤を認めた。

腫瘍組織は開腹生検したリンパ節と同様の組織像であったが、胞体に明らかな褐色の顆粒を持つ細胞は確認できなかった。免疫染色ではMelan AとHMB-45が広範に陽性で、Ki-67標識細胞が高率にみられた。明らかな原発巣と考えられる皮膚や食道、直腸病変は確認できなかった。

病理解剖所見より無色素性悪性黒色腫 (amelanotic melanoma) あるいは淡明細胞肉腫が疑われたため、病理解剖時に採取した腫瘍組織を用いて遺伝子検査を行った。淡明細胞肉腫に特徴的なEWSR1遺伝子の転座をFISH法で検討したが、EWSR1 split signalは陰性であった。一方、悪性黒色腫で高頻度に認められるBRAF遺伝子の変異をdirect sequence法による解析で検討したところ、V600E変異をヘテロに認めた (図3)。

以上より、最終的に原発不明の悪性黒色腫と診断した。

III. 考察

本例はリンパ節腫大で発見された原発不明の悪性黒

色腫である。

悪性黒色腫は皮膚や消化管、網膜などに存在するメラノサイトが癌化した腫瘍で、50歳代以上の年齢に発症する非常に予後不良な疾患である¹⁾。メラノサイトはメラニン色素を含有しているため悪性黒色腫はその名のおり黒色を呈することが多いが、癌化により色素を失った無色素性悪性黒色腫も報告されている⁴⁾。皮膚原発悪性黒色腫は強い光線により皮膚病変を拡大して観察するダーモスコープを用いた観察法であるダーモスコピーにより早期診断が可能となってきたが、進行すると所属リンパ節に転移し、その後肺、脳などの遠隔臓器に転移をきたす。転移巣の症状で発見された報告もあるが、その際には皮膚の原発巣が自然退縮し原発不明で発見された報告も散見される²⁾。

Das Guptaら⁵⁾は原発不明の悪性黒色腫の診断基準は、(1) 眼球摘出の既往のないこと、(2) 母斑、慢性爪周囲炎、皮膚の傷痕に対しての切除や電気焼灼の既往がないこと、(3) 病巣の確認されたリンパ節を所属リンパ節とする領域の皮膚に治療痕がないこと、(4) 眼、肛門、外陰部の精査にて異常がないことの4項目をすべて満たすことと述べている。本例の場合には、詳細な病歴聴取により(1)(2)(3)は認めなかった。また、前医での上下部内視鏡検査で異常を認めず眼以外の(4)を満たした。眼科的診察を行えなかったため網膜原発の可能性は否定できないが、眼症状を認めていないことより原発不明の悪性黒色腫と診断した。また、本例は生前にPET-CT検査を撮影し病理解剖を行うも原発巣と考えられる病巣を認めなかったことも原発不明を示唆する所見と考える。原発巣が不明である理由には悪性黒色腫がリンパ節や体腔の組織内に迷入しているmelanocyteから発生しうること^{6,8)}、皮膚などの別の場所に原発巣があり、これが転移を来して原発巣が自然退縮することなどが挙げられる。悪性黒色腫の原発巣の自然退縮例の頻度は欧米では2~8%ぐらい、本邦では約19例しか報告されていない^{1,3)}。本例の場合、詳細な病歴聴取を行うも自然退縮の既往ははっきりしなかった。

本例はリンパ節生検標本では一部の腫瘍細胞の胞体に顆粒を認めたが、病理解剖時の標本では顆粒をほぼ認めずamelanotic melanomaの可能性が考えられた。原発不明のamelanotic melanomaの鑑別には淡明細胞肉腫が挙げられる。淡明細胞肉腫は30~40歳代の若年者の腱や腱索などの軟部組織に発症する稀な肉腫で、高率にリンパ節転移を呈する疾患である。免疫組織学的には悪性黒色腫と同様、HMB-45, S100な



BRAF遺伝子の1799番目のTがAに変異することにより、V600E変異をヘテロに認めた。

図3. 遺伝子検査

どが陽性となる⁹⁾。淡明細胞肉腫ではEWSR1-ATF1あるいはEWSR1-CREB融合遺伝子が腫瘍細胞に特異的に認められるため、診断的価値が高い^{10,12)}。一方、悪性黒色腫にはBRAF遺伝子のV600E変異を認めることが多いと報告されている¹¹⁾。本例の場合、リンパ節生検組織でも病理解剖組織でも免疫染色でmelanocyte differentiationを示すMelan AとHMB-45などが陽性で原発巣が不明であったため遺伝子検査を行ったところ、BRAF遺伝子のV600E変異を確認できた。原発不明の悪性黒色腫と淡明細胞肉腫の鑑別には病理組織学的な検査に、本例で行ったような遺伝子検査を追加することで診断精度を上げることができると考えた。本邦ではいまだ使用できないも米国ではBRAF阻害剤であるvemurafenib¹³⁾やdabrafenib¹⁴⁾などの分子標的薬を使用することで、悪性黒色腫の予後は改善すると報告されている。淡明細胞肉腫と悪性黒色腫を正確に鑑別することは患者の予後を左右することになるため、遺伝子検査は非常に有用と考えた。

本例はリンパ節転移で発見された原発不明のBRAF遺伝子V600E変異をもつamelanotic melanomaである。悪性黒色腫はリンパ節転移で発見され、原発巣を認めず淡明細胞肉腫との鑑別を要することがあるため、今後は遺伝子検査が診断・治療方針の決定の一助になると考えた。

文 献

- 1) 松谷秀樹, 大石 晋, 吉崎孝明, 他: 後腹膜にのみ病変を認めた悪性黒色腫の1例. 日消外会誌 41: 2081-2086, 2008
- 2) 辻本友高, 野本重敏, 山口英郎, 他: 原発巣の完全自然消退を認めた転移性悪性黒色腫の1例. Skin Cancer 16: 179-183, 2001
- 3) Cormier JN, Xing Y, Feng L, et al: Metastatic melanoma to lymph nodes in patients with unknown primary sites. Cancer 106: 2112-2020, 2006
- 4) 幸田公人, 高木祐子, 石地尚興, 他: 鼠径リンパ節転移で診断された無色素性黒色腫の1例. 臨皮 58: 579-582, 2004
- 5) Das Gupta T, Bowden L, Berg JW: Malignant melanoma of unknown primary origin. Surg Gynecol Obstet 117: 341-345, 1963
- 6) Chang P, Knapper WH: Metastatic melanoma of unknown primary. Cancer 49: 1106-1111, 1982
- 7) Rutter JE, deGraaf PW, Kooymon CD, et al: Malignant melanoma of the pancreas: primary tumor or unknown primary? Eur J Surg 160: 119-120, 1994
- 8) Jonk A, Kroon BB, Rumke P, et al: Lymph node metastasis from melanoma with an unknown primary

sites. *Br J Surg* 77 : 665–668, 1990

- 9) Antonescu CR : Clear cell sarcoma of soft tissue. WHO classification of tumors of soft tissue and bone (4th edition), In: Fletcher C, Bridge J, Hogendoorn P, et al, Lyon : IARC press, 221–222, 2013
- 10) Wang WL, Mayordomo E, Zhang W, et al: Detection and characterization of EWSR1/ATF1 and EWSR1/CREB1 chimeric transcripts in clear cell sarcoma (melanoma of soft parts). *Mod Pathol* 22 : 1201–1209, 2009
- 11) Davies H, Bignell GR, Cox C, et al : Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417 : 949–954, 2002
- 12) Yang L, Chen Y, Cui T, et al : Identification of biomarkers to distinguish clear cell sarcoma from malignant melanoma. *Hum Pathol* 43 : 1463–1470, 2012
- 13) Chapman P, Hauschild A, Robert C, et al : Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Eng J Med* 364 : 2507–2516, 2011
- 14) Hauschild A, Grob J, Demidov L, et al : Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma : a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 380 : 358–365, 2012