

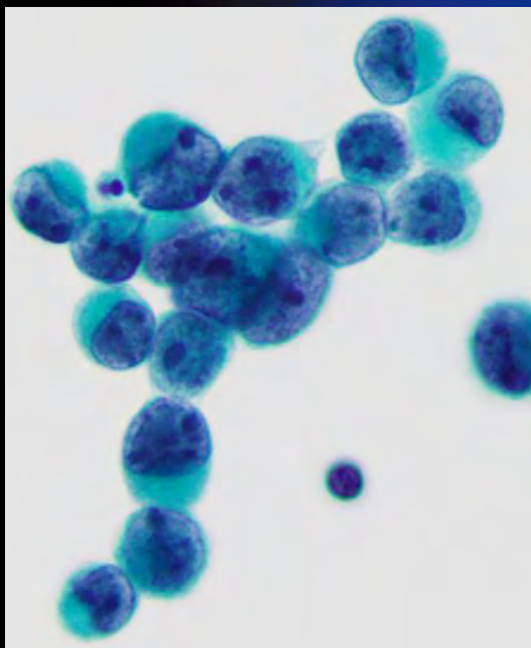
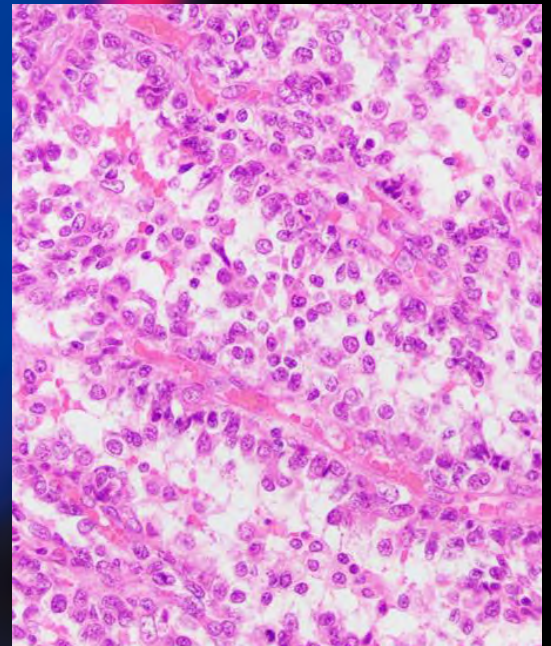
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日臨細胞誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第56巻 第6号 平成29年11月

日本臨床細胞学会雑誌

THE JOURNAL
OF THE JAPANESE
SOCIETY OF CLINICAL
CYTOLOGY



公益社団法人
日本臨床細胞学会

<http://www.jscc.or.jp/>

Vol.56 No. **6**
Nov. 2017

目 次

編集委員巻頭言	星 利良
〈総 説〉	
甲状腺・副甲状腺腫瘍に対する遺伝学的検査	医療法人野口記念会野口病院外科 内野 眞也 (265)
〈原 著〉	
自然尿における集細胞法の改良と BD サイトリッチ™法による診断精度	東京慈恵会医科大学附属病院病院病理部 梅森 宮加・他 (271)
BD SurePath™ 法の余剰検体を用いたハイリスク HPV 検出率と遺伝子型の検討	東京慈恵会医科大学葛飾医療センター病院病理部 梅澤 敬・他 (276)
乳腺粘液癌 (純型, type B) の液状化検体細胞診所見に関する検討	博愛会相良病院病理細胞診室 永尾 聡子・他 (283)
〈調査報告〉	
Diagnostic pitfalls in malignant effusion cytology — Report of a case with breast cancer recurrence 28 years after surgery —	Department of Clinical Laboratory, Japan Community Healthcare Organization Gunma Chuo Hospital Akane Ishida, et al. (289)
〈症 例〉	
淡明細胞型腎細胞癌との鑑別に Giemsa 染色が有用であった血管肉腫の 1 例	国立病院機構福山医療センター臨床検査科 有安 早苗・他 (297)
腰髄に転移した atypical teratoid/rhabdoid tumor の髄液細胞診の 1 例	東京女子医科大学病院中央検査部病理検査室 橋本 哲也・他 (303)
子宮内膜細胞診から推定しえた胆嚢癌子宮転移の 1 例	横浜市立大学附属病院産婦人科 齊藤 真・他 (308)
総目次	(314)
索引用語	(318)
投稿規定	(321)
編集委員会	(328)

*

〈表紙写真〉

Atypical teratoid/rhabdoid tumor の髄液細胞診

(左: パパニコロウ染色, 右: H-E 染色) (橋本哲也・他, 左: Photo. 3a, 306 頁, 右: Photo. 2a, 305 頁)

CONTENTS

Editorial.....Rira Hoshi

Review Article

Genetic testing for thyroid and parathyroid tumors

Shinya Uchino (Endocrine Surg., Noguchi Thyroid Clinic and Hosp. Foundation, Oita)(265)

Original Articles

Combination of wing-typed centrifuge tube and BD CytoRich™ improves cell concentration and diagnostic accuracy in urinary cytology

Miyaka Umemori, et al. (Dept. of Path., The Jikei Univ. Hosp., Tokyo)(271)

High risk HPV rate of detection and the genotyping study used remainder specimen of BD SurePath™ method

Takashi Umezawa, et al. (Dept. of Path., Jikei Univ. Katsushika Med. Center, Tokyo)(276)

Cytologic findings of breast mucinous carcinoma (pure type, type B) in liquid based fine needle aspiration cytology

Satoko Nagao, et al. (Dept. of Cytopath. Lab., Hakuikai Sagara Hosp., Kagoshima)(283)

Investigation Report

Diagnostic pitfalls in malignant effusion cytology

—Report of a case with breast cancer recurrence 28 years after surgery—

Akane Ishida, et al. (Dept. of Clin. Lab., Japan Community Healthcare Org. Gunma Chuo Hosp., Gunma)(289)

Clinical Articles

A case of angiosarcoma in which Giemsa staining was useful in differentiation from clear cell renal cell carcinoma

Sanae Ariyasu, et al. (Dept. of Clin. Lab., National Hosp. Org. Fukuyama Med. Center, Hiroshima)(297)

Atypical teratoid/rhabdoid tumor metastasizing to the lumbar spinal cord

—A case report with cerebrospinal fluid cytological findings—

Tetsuya Hashimoto, et al. (Lab. of Path., Tokyo Women's Med. Univ. Hosp., Tokyo)(303)

A case of metastatic uterine carcinoma from gallbladder cancer suspected by endometrial cytology

Shin Saito, et al. (Dept. of Obst. and Gynecol., Yokohama City Univ. Hosp., Kanagawa)(308)

Index of Contents.....(314)

Index of Key words.....(318)

Notice to contributors.....(321)

Cover Photo

Atypical teratoid/rhabdoid tumor metastasizing to the lumbar spinal cord

(Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Tetsuya Hashimoto, et al., Left : Photo. 3a, p306, Right : Photo. 2a, p305)



編 集 委 員 卷 頭 言

Rira Hoshi

星 利良

がん研究会有明病院臨床病理センター細胞診断部

▶今年を振り返って



日本臨床細胞学会雑誌，平成 29 年第 56 巻第 6 号をお届けします。早いもので，今年最後の号となりました。今年は，米国のトランプ新大統領就任から始まり，中東・欧州のイスラム国による相次ぐテロ，欧州の EU 懐疑派とポピュリズムのせめぎ合い，北朝鮮のミサイル問題等，国際情勢が大きく揺れた年でした。来年もこれらの問題は引き続きそうですが，少しでも早く解決し，より良い国際社会に向かっていくことを期待します。

今年で日本臨床細胞学会雑誌が電子ジャーナル化に踏み切って 2 年が経ちました。細胞診断学が，より一層，医療において必要不可欠な診断ツールとなるために，本誌に掲載された内容が国内外へ広く発信され，実用化・活性化していくことを期待しています。

さて，本号には，総説「甲状腺・副甲状腺腫瘍に対する遺伝学的検査」が掲載されています。ここでは，多発性内分泌腫瘍 (multiple endocrine neoplasia : MEN) の診療標準化・患者支援・治療開発の研究に従事してこられた，医療法人野口記念会野口病院 内野眞也先生に MEN の遺伝学的検査について解説していただいています。MEN は，複数の内分泌臓器および非内分泌臓器に過形成，腺腫，癌が多発する常染色体優性遺伝性疾患です。国内の MEN 患者は 4 千人と推測されており，見過ごされている可能性が高いと考えられています。内分泌腫瘍を発症した患者の中から MEN 患者を診断することは，早期発見・早期治療だけでなく，わが国における診療・治療法の確立にもつながります。特に，*RET* 遺伝子変異を原因とし，甲状腺髄様癌を発症する MEN2 については，平成 28 年度診療報酬改訂にて甲状腺髄様癌における *RET* 遺伝学的検査が保険収載されました。これにより，臨床現場における本遺伝学的検査の必要性について認識が高まり，MEN2 患者の適切な診断・治療につながることを期待されます。こういった現状から，この総説は MEN の遺伝子検査の臨床的有用性を細胞診業務に携わる方々に広く知ってもらおうとともに，細胞診による遺伝子検査が普及する可能性を期待させる，本誌より発信するに相応しい内容となっております。

また，本号には，原著論文 3 編が掲載されています。今回の原著論文はいずれも液状化細胞診 (liquid based cytology : LBC) についての検討内容です。「乳腺粘液癌 (純型, type B) の液状化検体細胞診所見に関する検討」では，LBC 法における乳腺粘液癌の細胞診断



の確立を目的とし有用な細胞所見について検討しています。「自然尿における集細胞法の改良と BD サイトリッチ™法による診断精度」では high grade urothelial carcinoma の診断精度の向上を目的とし LBC 法を用いた標本作製法の改良を検討しています。「BD Sure-Path™法の余剰検体を用いたハイリスク HPV 検出率と遺伝子型の検討」では子宮頸がん検診における LBC の余剰検体を用いた high-risk HPV の検出およびタイピング検査の意義を検討しています。近年、欧米においても注目され、わが国において普及している LBC 法ですが、その詳細な検討はまだ必要と考えられます。この 3 編は LBC 法の有用性を国内外に広く知ってもらい、LBC 法がより普及しうる可能性を期待させる内容となっております。

その他には、症例報告として「子宮内膜細胞診から推定しえた胆嚢癌子宮転移の 1 例」、
「淡明細胞型腎細胞癌との鑑別に Giemsa 染色が有用であった血管肉腫の 1 例」、
「腰髄に転移した atypical teratoid/rhabdoid tumor の髄液細胞診の 1 例」の 3 編が掲載されています。
いずれもまれな病変あるいは診断上細胞診が有用であった症例で、日常診断に役立つ知見が満載です。また、調査報告として「Diagnostic pitfalls in malignant effusion cytology
—Report of a case with breast cancer recurrence 28 years after surgery—」の 1 編が掲載されています。これは乳癌再発例 1 例の細胞形態的・細胞免疫化学的診断の pitfall を詳細に報告しており、必読の価値のある内容です。

来年も、このような論文が多数投稿されることを期待し、より充実した内容となるよう、細胞診断学の重要性を広く伝えていくために力を尽くしていきたいと思っております。

総説

甲状腺・副甲状腺腫瘍に対する遺伝学的検査

内野 真也

医療法人野口記念会野口病院外科

多発性内分泌腫瘍症 2 型は、遺伝的に甲状腺髄様癌・褐色細胞腫・原発性副甲状腺機能亢進症を発症する常染色体優性遺伝性疾患であり、原因遺伝子は *RET* 遺伝子である。わが国では *RET* 遺伝学的検査はすでに保険適用である。乳頭癌や濾胞癌を発生する症候性の遺伝性疾患には、Cowden 症候群、家族性大腸腺腫症、Carney 複合、Werner 症候群などが知られており、これらは原因遺伝子がすでに明らかとなっており、遺伝学的検査は研究レベルで実施されている。一方、非症候性の家族性乳頭癌は全乳頭癌の約 5% にみられるが、原因遺伝子はまだ不明である。

多発性内分泌腫瘍症 1 型は、原発性副甲状腺機能亢進症・膵消化管神経内分泌腫瘍・下垂体腫瘍を主徴とする常染色体優性遺伝性疾患であり、原因遺伝子は *MEN1* 遺伝子である。現在本遺伝学的検査は一部の施設で先進医療として実施されている。副甲状腺機能亢進症顎腫瘍症候群は副甲状腺腫あるいは副甲状腺癌と顎腫瘍、腎腫瘍、子宮病変を主徴とする常染色体優性遺伝性疾患であり、原因遺伝子は *CDC73* 遺伝子であり、研究レベルで実施されている。

Key words : *RET* gene diagnosis, *PTEN* gene diagnosis, *APC* gene diagnosis, *MEN1* gene diagnosis, *CDC73* gene diagnosis

I. はじめに

ある特定の癌が家系内に集積して観察される場合を家族性腫瘍と呼んでいる。家族性という用語は遺伝要因だけでなく、環境要因や生活習慣によるものも含み、また偶然家系内に発生したもの等すべてを含んでいる。これに対して遺伝性という用語は、原因が遺伝性要因の遺伝子異常によるものを指している。したがって、ある疾患が遺伝性かもしれないが、遺伝性の要因がどの程度含まれているかわからない場合は家族性腫瘍という用語を使用する。遺伝要因以外の腫瘍は、個人における定量性に乏しく、癌の発症予

測に関して個々のリスク評価を行うことはきわめて困難である。しかし、単一遺伝子異常による遺伝性腫瘍では、遺伝要因は 0 か 100 のどちらかであり、遺伝している場合は個々の疾病の浸透率を勘案することにより、個々のリスク評価をかなり正確に行うことができる。

本稿では家族性腫瘍の診療と研究体制の構築、ならびに遺伝性・家族性の甲状腺・副甲状腺疾患とその遺伝的検査について述べる。遺伝性・家族性の甲状腺・副甲状腺腫瘍と原因遺伝子を Table 1 に示す。

II. 遺伝性甲状腺腫瘍に対する遺伝学的検査

1. 多発性内分泌腫瘍症 2 型に伴う甲状腺髄様癌

甲状腺髄様癌は本邦の甲状腺癌の約 1.5% と比較的まれである。甲状腺傍濾胞細胞 (C 細胞) より発生し、C 細胞過形成という前癌状態を経て髄様癌に発育伸展する。C 細胞から分泌される血清カルシトニンと CEA は髄様癌の腫瘍マーカーとして用いられている。髄様癌には遺伝性と散発性 (非遺伝性) が存在し、遺伝性は約 30% であり、多発

Genetic testing for thyroid and parathyroid tumors

Shinya UCHINO, M. D., Ph. D.

Endocrine Surgery, Noguchi Thyroid Clinic and Hospital Foundation

論文別刷請求先 〒 874-0902 大分県別府市青山町 7 の 52 医療法人野口記念会野口病院外科 内野真也

平成 29 年 7 月 23 日受付

平成 29 年 8 月 3 日受理

Table 1 遺伝性・家族性の甲状腺・副甲状腺腫瘍と原因遺伝子

疾患名	罹患臓器	甲状腺・副甲状腺の病理組織像	原因遺伝子
家族性・遺伝性の甲状腺腫瘍			
多発性内分泌腫瘍症 2 型 Cowden 症候群	甲状腺, 副腎, 副甲状腺 皮膚, 粘膜, 消化管, 甲状腺, 副甲状腺, 子宮, 乳腺など	甲状腺髄様癌, 副甲状腺過形成 甲状腺濾胞腺腫, 腺腫様甲状腺腫, 乳頭癌, 濾胞癌, 副甲状腺腺腫	<i>RET</i> <i>PTEN</i>
家族性大腸腺腫症	大腸, 胃, 十二指腸, 骨, 軟部組織, 甲状腺 など	甲状腺篩型乳頭癌	<i>APC</i>
Carney 複合	軟部組織, 皮膚粘膜, 神経系, 副腎, 下垂 体, 甲状腺など	甲状腺濾胞腺腫, 腺腫様甲状腺腫, 乳頭癌, 濾胞癌	<i>PRKARIA</i>
Werner 症候群	眼, 皮膚, 性腺, 血管, 甲状腺など	甲状腺乳頭癌, 濾胞癌, 未分化癌	<i>WRN</i>
家族性乳頭癌	甲状腺	甲状腺乳頭癌	不明
家族性濾胞癌	甲状腺	甲状腺濾胞癌	不明
家族性・遺伝性の副甲状腺腫瘍			
多発性内分泌腫瘍症 1 型	副甲状腺, 腸消化管, 下垂体, 胸腺, 副腎	副甲状腺過形成	<i>MEN1</i>
副甲状腺機能亢進症顎腫瘍症候群	副甲状腺, 顎骨, 腎, 子宮	副甲状腺癌, 腺腫, 過形成	<i>CDC73</i>
家族性孤発性副甲状腺機能亢進症	副甲状腺	副甲状腺癌, 腺腫, 過形成	<i>MEN1, CDC73, CaSR</i>

性内分泌腫瘍症 2 型 (multiple endocrine neoplasia type 2 ; MEN2) の一部分症である。MEN2 は甲状腺髄様癌・褐色細胞腫・原発性副甲状腺機能亢進症を主徴とする常染色体優性遺伝性疾患であり、MEN2A と MEN2B に分類される。MEN2A は甲状腺髄様癌・褐色細胞腫・原発性副甲状腺機能亢進症を発症し、MEN2B は甲状腺髄様癌と褐色細胞腫に、舌口唇粘膜神経腫・マルファン様体型・四肢過伸展・腸管神経節腫・角膜神経肥厚などの身体的特徴を有する。FMTC (familial medullary thyroid carcinoma ; FMTC) は家系内に甲状腺髄様癌のみがみられる場合を呼ぶが、これは髄様癌以外の浸透率が低い MEN2A の亜型と考えられている。

MEN2 の原因遺伝子は *RET* 遺伝子であり、変異はホットスポットであるエクソン 10, 11, 13, 14, 15, 16 のいずれかに存在し、変異の部位は臨床病型と深く相関している。遺伝性髄様癌の手術では甲状腺全摘が必要となるが、散発性髄様癌では必ずしも全摘は必要とならない。家族歴や臨床的な判断だけで遺伝性か散発性かを完全に区別することは不可能であるため、すべての髄様癌に対して *RET* 遺伝学的検査が行われる¹⁻³⁾。本邦では、現在 *RET* 遺伝学的検査は甲状腺髄様癌に対して保険適用である。遺伝性髄様癌は若年での発症が多く、その生涯浸透率はほぼ 100% に近いことから、遺伝性が確定している家系の若年の血縁者に対して *RET* 遺伝学的検査が行われる (Photo. 1)。しかし変異が確定している家系の血縁者で、髄様癌がまだ発症していないあるいは臨床検査を行っていない段階 (髄様癌発症が未確定の段階) では、現行の保険診療制度ではまだ患者ではないため、本検査は自費診療として行うこととなる⁴⁾。 *RET* 変異を保有している小児に対する予防的甲状腺

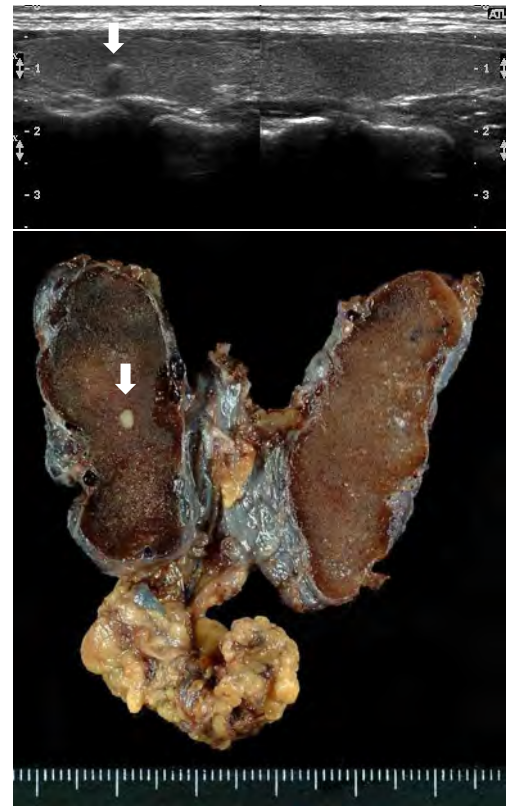


Photo. 1 多発性内分泌腫瘍症 2 型症例における微小髄様癌

コドン 634 変異を有する 20 歳代女性。頸部超音波検査 (上段) にて甲状腺右葉に微小な高エコー (矢印) を認める。カルシトニン誘発刺激試験にて陽性であり、甲状腺全摘術を施行。ホルマリン固定標本 (下段) にて、右葉に 2 mm の髄様癌 (矢印) を認める。

全摘について、米国甲状腺学会が変異部位により髄様癌リスクレベルを3つに分けて全摘時期を示しているが、本邦における指針はまだない²⁾。

2. Cowden 症候群

Cowden 症候群は多発性過誤腫症候群であり、皮膚、粘膜、消化管、甲状腺、副甲状腺、子宮、乳腺、泌尿器、生殖器、中枢神経などに過誤腫性病変や腫瘍を生じる常染色体優性遺伝性疾患である。粘膜皮膚病変として、顔面の外毛根鞘腫、乳頭腫性丘疹などが特徴である。Cowden 症候群患者の約2/3に甲状腺癌（濾胞癌あるいは乳頭癌）、濾胞腺腫、腺腫様結節などが発生する⁵⁾。原因遺伝子は *PTEN* 遺伝子であり、この変異は約80%の患者で証明される。変異はエクソン1-9にみられるが、特にエクソン5, 7, 8に多い⁶⁾。*PTEN* 遺伝学的検査は研究として実施される。

3. 家族性大腸腺腫症に合併する甲状腺乳頭癌

甲状腺乳頭癌の特殊型として篩型乳頭癌が知られている。この組織型はまれにしかみられないが、遺伝性と散发性があり、遺伝性の約半数は家族性大腸腺腫症 (familial adenomatous polyposis : FAP) の一部分症である⁷⁾。FAP は大腸に多数のポリープが発生し、若年で大腸癌を発症する常染色体優性遺伝性疾患であり、原因遺伝子は *APC* 遺伝子である。一般に篩型乳頭癌は35歳以下の若年女性にのみ発生し、予後良好であるが、まれに再発や遠隔転移もある⁸⁾。篩型乳頭の症例では家族性大腸腺腫症の遺伝カウンセリングが必要であり、大腸内視鏡検査と *APC* 遺伝学的検査が勧められる。*APC* 遺伝学的検査は研究として実施される。

4. Carney 複合

Carney 複合は、軟部組織粘液腫、皮膚粘膜色素沈着、神経鞘腫、副腎腫瘍や下垂体腫瘍などを発症する常染色体優性遺伝性疾患である。甲状腺にみられる腫瘍は良性から悪性まで様々である。原因遺伝子は *PRKARIA* 遺伝子であり、Carney 複合家系の約50%に変異が認められる⁹⁾。

5. Werner 症候群

Werner 症候群は早期老化を示す常染色体劣性遺伝性疾患であり、様々な臓器に上皮性あるいは非上皮性の悪性腫瘍を発症する。甲状腺癌は乳頭癌、濾胞癌、未分化癌など、本邦から比較的多くの症例が報告されている¹⁰⁾。原因遺伝子は *WRN* 遺伝子である。

6. 家族性乳頭癌 (非症候性)

非症候性の家族性乳頭癌は、第一度近親者に本人を含めて少なくとも2人以上乳頭癌が認められる場合を呼び、乳頭癌症例の約5%は家族性である。家系内に3名以上乳頭癌が認められる場合は、遺伝性の可能性が高い。臨床的には甲状腺両葉に広く多発することが多い。生命予後は一般の乳頭癌と同程度であるが、再発予後は不良であり、残存

甲状腺や頸部リンパ節などの局所再発が多い¹¹⁾。原因遺伝子はまだ明らかにされていない。非症候性の家族性濾胞癌もまれにみられる。

III. 遺伝性副甲状腺腫瘍に対する遺伝学的検査

1. MEN1 に伴う副甲状腺過形成

多発性内分泌腫瘍症1型 (multiple endocrine neoplasia type 1 ; MEN1) は原発性副甲状腺機能亢進症 (primary hyperparathyroidism ; pHPT)、降消化管神経内分泌腫瘍・下垂体腫瘍・副腎過形成・胸腺神経内分泌腫瘍などを発生する常染色体優性遺伝性疾患である。pHPT は臨床的に血清カルシウム高値、副甲状腺ホルモン高値、尿中カルシウム排泄高値を示し、症状として腎尿路結石、骨粗鬆症、消化性潰瘍などがあげられる。副甲状腺は病理学的には過形成である。手術法は全腺摘出して一部移植するか、3腺半摘出して半腺頸部に残す手術がある (Photo. 2)。

原因遺伝子は *MEN1* 遺伝子であり、変異はコード領域であるエクソン2-10に広く認められ、ホットスポットは存在しない。臨床的に *MEN1* である場合は約80-90%に *MEN1* 変異が認められるが、*MEN1* 変異の部位は臨床病型と相関がない¹²⁾。若年性で家族歴はないが、多腺性副甲状腺病変を示す症例においては、*MEN1* 遺伝学的検査の対象となる¹³⁾。また初回手術で *MEN1* とわからずに1腺しか摘出されていない場合で高カルシウム血症再発がみられた場合も *MEN1* 遺伝学的検査を行う。シーケンスにて変異が認められない場合でも、*MEN1* 遺伝子の欠失あるいは部分欠失が原因となっている場合がある¹⁴⁾。*MEN1* 遺伝学的検査は当院では先進医療として実施しているが、ほとんどの施設では研究として実施されている。

2. MEN2A に伴う副甲状腺過形成

MEN2A に伴う pHPT は、*MEN2* の10-15%に認められる。髄様癌と同時に診断され、治療対象となることが多いが、髄様癌が発症する前に pHPT が発見契機になる場合もまれにある。治療は *MEN1* の pHPT と同様で、全腺摘出して一部移植するか、3腺半摘出して半腺頸部に残す手術である。原因遺伝子は *RET* 遺伝子であるが、保険適用病名は髄様癌に限られている。したがって pHPT のみの病名の場合、*RET* 遺伝学的検査は自費診療となる。

3. 副甲状腺機能亢進症顎腫瘍症候群

副甲状腺機能亢進症顎腫瘍症候群 (hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome ; HPT-JT) は、副甲状腺腺腫あるいは癌、顎腫瘍、腎腫瘍を主徴とする常染色体優性遺伝性疾患である¹⁵⁾。HPT-JT 患者では、10-20歳代の若年で pHPT を発症し、副甲状腺癌が約15%に認められる。また約30-40%

に顎腫瘍, 約 20% に腎病変 (腎嚢胞, ウィルムス腫瘍, 過誤腫など) を, 女性では子宮病変 (子宮筋腺症, 多発性子宮内膜ポリープ, 腺線維腫, 子宮内膜過形成, 子宮筋腫, 腺肉腫など) を合併する. pHPT は単腺性あるいは多腺性である. 単腺性で単腺摘出後に他腺が腫大して高カルシウム血症再発をきたすことがある. 原因遺伝子は *CDC73* 遺伝子であり, HPT-JT 家系の約 50% に *CDC73* 遺伝子の生殖細胞系列変異を認め, 変異はエクソン 1~7 に多い¹⁶⁾. *CDC73* 遺伝学的検査は研究として実施される.

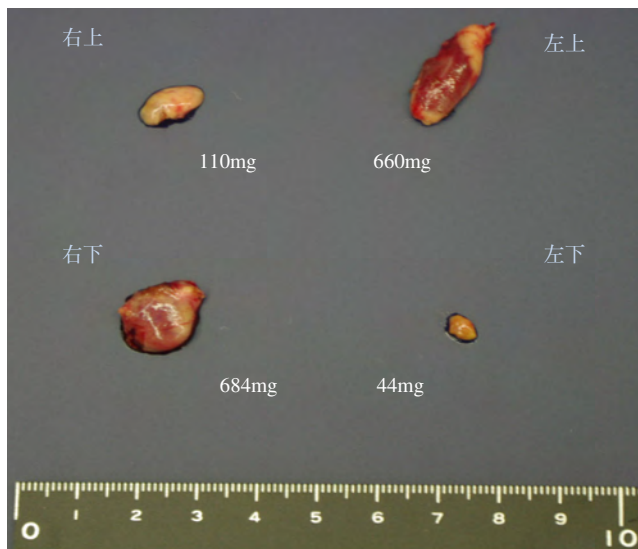


Photo. 2 多発性内分泌腫瘍症 1 型症例における副甲状腺病変 MEN1 変異を有する 50 歳代男性. 多腺腫大にて 4 腺摘出し, 左下正常大の半腺を上腕に移植した.

4. 家族性孤発性副甲状腺機能亢進症

家族性孤発性副甲状腺機能亢進症 (familial isolated primary hyperparathyroidism : FIHP) は, 家族性に非症候性に pHPT が認められる場合を呼ぶ. 副甲状腺腫は単腺性あるいは多腺性で, 病理学的には過形成, 腺腫あるいは癌と多彩である. FIHP 症例の約 20% に *MEN1* 遺伝子変異が, 約 7% に *CDC73* 変異が, 約 15% に *CaSR* 遺伝子変異が認められている¹⁷⁾.

IV. 当院における家族性腫瘍診療と遺伝学的検査体制

当院は, 1922 年 (大正 11 年) 創立の私的保険診療機関であり, 甲状腺専門病院として今年で創立 95 周年を迎えている. ベッド数は 120, 1 日, 平均外来患者数 200 人, 近年の年間甲状腺手術件数は 1100 件である. 手術の主な内訳は, 甲状腺癌 51%, 甲状腺良性腫瘍 21%, バセドウ病 14%, 副甲状腺機能亢進症 4% である. 当院では, 診療録を大切に保管し, 最大限に情報化することに力を注いでいる. カルテ室には大正 11 年以後の紙媒体の診療録は廃棄することなくすべて保存しており, 2004 年以後は電子カルテ化になっている. 甲状腺癌の臨床データに関しては 1945 年以後の症例はすべてデータベース化し, 術前所見・手術所見・病理・術後所見・追跡調査の順にデータを入力整理し, 再発予後データを出している. 16000 例以上の追跡調査を毎年欠かさず継続しており, 予後調査の追跡率は 99.6% であり, 40-50 年生存率を算出し, 患者説明に活用している.

当院は 1994 年より *RET* 遺伝子解析を研究として開始し,

Table 2 当院でルーチンに行っている主な遺伝学的検査

遺伝子名	解析 exon	解析日数
<i>MEN1</i> 遺伝子	exon 2-10 *exon 10 は 2 領域に分割	1~2 週間
<i>RET</i> 遺伝子	exon 10, 11, 13-16 ; hot spot	1~2 週間
<i>CDKN1B/p27</i> 遺伝子	exon 1, 2	約 1 週間
<i>HRPT2/CDC73</i> 遺伝子	exon 1-17	2~4 週間
<i>CaSR</i> 遺伝子	exon 2-7 *exon 4 は 3 領域に分割. exon 7 は 4 領域に分割	2~4 週間
<i>PDS</i> 遺伝子	exon 1-21	2~4 週間
<i>APC</i> 遺伝子	exon 1-15 *exon 15 は 17 領域に分割	2~4 週間
<i>TRβ</i> 遺伝子	exon 4-10	2~4 週間
<i>PTEN/MMAC1</i> 遺伝子	exon 1-9	2~4 週間
<i>SDHB</i> 遺伝子	exon 1-8	2~4 週間
<i>SDHD</i> 遺伝子	exon 1-4	1~2 週間
<i>TSHR</i> 遺伝子	exon 1-10 *exon 10 は 3 領域に分割	2~4 週間
<i>TP53</i> 遺伝子	exon 4-9	2~4 週間

2000年に遺伝子検査室を開設した¹⁸⁾。臨床遺伝専門医、遺伝カウンセラー、看護師、診療記録管理士(家族性腫瘍コーディネーター)、臨床検査技師、遺伝子分析科学認定士と、さまざまなメディカルスタッフを軸に病院全体として家族性腫瘍診療に取り組んでいる¹⁹⁾。現在当院では遺伝性の甲状腺疾患および副甲状腺疾患に関連した20種類以上の遺伝学的検査が可能である(Table 2)。主な遺伝学的検査では、*RET* 遺伝学的検査を保険診療で、*MEN1* 遺伝学的検査を先進医療で、*PTEN*, *APC*, *CDC73* 遺伝学的検査などは研究として実施している。遺伝学的検査対象の場合は、まず臨床遺伝専門医あるいは遺伝カウンセラーによる遺伝カウンセリングを実施し、遺伝学的検査の説明・同意取得後に採血を行う。その後遺伝子検査室においてDNAを抽出し、目的遺伝子をPCRで増幅、シーケンサーにより遺伝子配列の解析を行っている。遺伝子解析に要する日数は遺伝子の種類によって異なるが、おおむね3日~2週間である。現在は次世代シーケンサーを導入し、臨床応用を検討中である。

V. おわりに

遺伝性・家族性の甲状腺・副甲状腺腫瘍の原因遺伝子は近年次々と明らかとなり、臨床的に大きなインパクトを与え、臨床現場においては欠かすことのできないものになってきた。*RET* 遺伝学的検査が保険適用になったように、今後も臨床的に意義のある遺伝学的検査は保険収載へ向けて研究を推進していくことが望まれる。

著者は、開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

Multiple endocrine neoplasia type 2 (MEN2) is autosomal dominantly inherited disease and characterized by medullary thyroid cancer, pheochromocytoma and primary hyperparathyroidism. The causative gene of MEN2 is *RET* oncogene and this gene testing is covered by health insurance in Japan. Genetic analyses of the *PTEN* gene for Cowden syndrome, *APC* gene for cribriform morula variant of papillary thyroid cancer associated with familial adenomatous polyposis, *PRKARIA* gene for Carney complex and *WRN* gene for Werner syndrome are performed by research level. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) is also autosomal dominantly inherited disease and characterized by primary hyperparathyroidism, gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor and pituitary tumor. *MEN1* gene testing is performed by advanced medical care in a few certified medical institution in Japan. *CDC73* gene testing for hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome is performed by research level.

文献

- 1) American Thyroid Association Guidelines Task Force, Kloos, R. T., Eng, C., Evans, D. B., Francis, G. L., Gagel, R. F., et al. Thyroid 2009; 19: 565-612.
- 2) 日本内分泌外科学会, 日本甲状腺外科学会, 編. 甲状腺腫瘍診療ガイドライン. 東京: 金原出版株式会社; 2010. 102-104.
- 3) 多発性内分泌腫瘍症診療ガイドブック編集委員会, 編. 多発性内分泌腫瘍症診療ガイドブック. 東京: 金原出版株式会社; 2013. 117-118.
- 4) 塚谷延枝, 内野真也, 松本佳子, 大野 毅, 菊地勝一, 渡邊紳. *RET* 遺伝学的検査の保険適用. 日本内分泌・甲状腺外科学会雑誌 2017; 34: 37-40.
- 5) Nosé, V. Familial thyroid cancer: a review. Mod Pathol 2011; 24 Suppl 2: S19-33.
- 6) Blumenthal, G. M., Dennis, P. A. *PTEN* hamartoma tumor syndromes. Eur J Hum Genet 2008; 16: 1289-1300.
- 7) 内野真也, 野口志郎. 家族性大腸ポリポーシス (FAP) に合併する甲状腺乳頭癌. ホルモンと臨床 2004; 52: 267-270.
- 8) Uchino, S., Ishikawa, H., Miyauchi, A., Hirokawa, M., Noguchi, S., Ushima, M., et al. Age- and gender-specific risk of thyroid cancer in patients with familial adenomatous polyposis. J Clin Endocrinol Metab 2016; 101: 4611-4617.
- 9) Vezzosi, D., Vignaux, O., Dupin, N., Bertherat J. Carney complex: Clinical and genetic 2010 update. Ann Endocrinol (Paris) 2010; 71: 486-493.
- 10) Lauper, J. M., Krause, A., Vaughan, T. L., Monnat, R. J. Jr. Spectrum and risk of neoplasia in Werner syndrome: a systematic review. PLoS One 2013; 8: e59709.
- 11) Uchino, S., Noguchi, S., Kawamoto, H., Yamashita, H., Watanabe, S., Yamashita, H., et al. Familial nonmedullary thyroid carcinoma characterized by multifocality and a high recurrence rate in a large study population. World J Surg 2002; 26: 897-902.
- 12) Lemos, M. C., Thakker, R. V. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene. Hum Mutat 2008; 29: 22-32.
- 13) Uchino, S., Noguchi, S., Sato, M., Yamashita, H., Yamashita, H., Watanabe, S., et al. Screening of the *MEN1* gene and discovery of germ-line and somatic mutations in apparently sporadic parathyroid tumors. Cancer Res 2000; 60: 5553-5557.
- 14) Fukuuchi, A., Nagamura, Y., Yaguchi, H., Ohkura, N., Obara, T., Tsukada, T. A whole *MEN1* gene deletion flanked by Alu repeats in a family with multiple endocrine neoplasia type 1. Jpn J Clin Oncol 2006; 36: 739-744.
- 15) 内野真也, 松本佳子, 伊藤亜希子. MEN 以外の家族性副甲状腺機能亢進症. 日本内分泌・甲状腺外科学会雑誌 2015; 32: 179-183.
- 16) Carpten, J. D., Robbins, C. M., Villablanca, A., Forsberg, L.,

- Presciuttini, S., Bailey-Wilson, J., et al. *HRPT2*, encoding parafibrin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome. *Nat Genet* 2002 ; 32 : 676-680.
- 17) Giusti, F., Cavalli, L., Cavalli, T., Brandi, M. L. Hereditary hyperparathyroidism syndromes. *J Clin Densitom* 2013 ; 16 : 69-74.
- 18) 内野真也. 家族歴と遺伝子診断. 日本甲状腺学会雑誌 2013 ; 4 : 142-143.
- 19) 内野真也, 古長嘉美, 河野沙織, 木村 渚, 渡辺弘子, 樋口まる美・ほか. 家族性腫瘍に対する院内の取り組み. 日本遺伝看護学会誌 2015 ; 14 : 61-63.
-

原 著

自然尿における集細胞法の改良と BD サイトリッチ™法による診断精度

梅森 宮加^{1,3)} 梅澤 敬²⁾ 堀口 絢奈^{1,3)} 土屋 幸子¹⁾
春間 節子¹⁾ 副島友里恵³⁾ 沢辺 元司³⁾ 鷹橋 浩幸¹⁾

東京慈恵会医科大学附属病院病院病理部¹⁾, 東京慈恵会医科大学葛飾医療センター病院病理部²⁾,
東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科分子病態検査学分野³⁾

目的 : High-grade urothelial carcinoma (HGUC) の診断精度を向上させるため, 標本作製法の改良を試みた。

方法 : 自然尿 491 検体を対象とし, 遠心管ウイングタイプと従来遠心管を使用し BD サイトリッチ™法で標本作製を行った。2 種類の遠心管における, 正常の上皮細胞数と異型細胞の検出率を算出し, 疑陽性例を再評価し組織診断と比較した。

成績 : 上皮細胞数の中央値は, 遠心管ウイングタイプが 37.5 個, 従来遠心管が 14.0 個, 異型細胞の検出率はそれぞれ 13.6%, 2.7%であり, 遠心管ウイングタイプで共に向上した ($p < 0.001$)。疑陽性例の再評価では, 陰性 6 例, 異型細胞 53 例, 悪性疑い 74 例, 悪性 2 例であった。異型細胞 15 例中 9 例 (60%) と悪性疑いの 35 例中 24 例 (69%) が組織診で HGUC と診断された。

結論 : 標本作製に遠心管ウイングタイプと BD サイトリッチ™法を用いることで, 細胞回収量と異型細胞の検出率向上に寄与する。

Key words : Urine, Liquid based cytology, BD Cytorich, Bladder carcinoma, Diagnostic accuracy

I. はじめに

自然尿に対する細胞診 (以下: 尿細胞診) は, 経尿道的膀胱腫瘍切除術 (以下: TUR-BT) 後の follow-up や尿路系腫瘍のスクリーニング検査として広く用いられている。繰り返し実施可能であり, 患者への負担が少ないといったメリットがある。一方で, 自然剥離した細胞が検査の対象であるため, 細胞数が少ないといった欠点があり, 検査精度が低いとの報告がある¹⁾。そのため, これまでに尿細胞診の診断精度向上のため, 標本作製の検討が多数報告されている^{2~6)}。

今回われわれは, 細胞回収量を上げるための標本作製法と尿細胞診の診断精度について若干の知見が得られたので報告する。

Combination of wing-typed centrifuge tube and BD CytoRich™ improves cell concentration and diagnostic accuracy in urinary cytology

Miyaka UMEMORI^{1,3)}, C. T., I. A. C., Takashi UMEZAWA²⁾, C. T., C., M. I. A. C., Ayana Horiguchi^{1,3)}, C. T., I. A. C., Sachiko TSUCHIYA¹⁾, C. T., I. A. C., Setsuko HARUMA¹⁾, C. T., I. A. C., Yurie SOEJIMA³⁾, M. T., Motoji SAWABE³⁾, M. D., Hiroyuki TAKAHASHI¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, The Jikei University Hospital

²⁾Department of Pathology, The Jikei University Katsushika Medical Center

³⁾Department of Molecular Pathology, Graduate School of Health Care Sciences, Tokyo Medical and Dental University

論文別刷請求先 〒105-8471 東京都港区西新橋3の19の18 東京慈恵会医科大学附属病院病院病理部 梅澤 敬

平成 28 年 10 月 4 日受付

平成 29 年 7 月 18 日受理

II. 対象と方法

2013年2月～2013年5月の4ヵ月間に提出された自然尿491検体を対象とした。集細胞法には遠心管ウイングタイプ（アジア器材）と従来遠心管の2種類の遠心管を用いた（Photo. 1）。研究期間の前半（2013年2～3月）は従来遠心管を、後半（2013年4～5月）では遠心管ウイングタイプを使用し、1検体に対し1種類の遠心管を用いて集細胞を行った。おのこの対象症例数は遠心管ウイングタイプが228例（男：女＝163：65）、従来遠心管が263例（男：女＝202：61）であった。標本作製には、用手法で実施可能であるBDサイトリッチ™法（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）を用いた⁷⁾。尿は全量（最大45ml）を遠心管に移し3000rpm/2分（株式会社コクサン、卓上遠心機H-28F）遠心し、沈渣を回収した。その沈渣にBDサイトリッチ™レッド保存液を加え、溶血と細胞の半固定を行い

3000rpm/2分遠心した。沈渣に蒸留水500μlを加えよく混和後、専用プレコートスライド上に取り付けたチャンバー内に全量加え、10分間静置し細胞を塗抹した。Papanicolaou染色はティシュー・テックプリズマ（サクラ精機株式会社）で行った。BDサイトリッチ™標本の細胞分布は、13mm円内に均一に塗抹され、従来法のように偏りがないため⁸⁾、5ヵ所をランダムに抽出し、対物40倍で上皮細胞（扁平上皮細胞、尿路上皮細胞）をカウントし、その平均値を算出した。統計処理はマンホイットニーのU検定を行った（有意水準は $p<0.05$ ）。また、細胞診の結果より異型細胞の検出率についても算出した。

次に、遠心管ウイングタイプとBDサイトリッチ™法にて疑陽性と評価された135例を対象とし、日本臨床細胞学会が提唱した報告様式⁹⁾に準拠して再評価後、組織診断と比較した。

本研究は慈恵医大倫理委員会の承認を得ている〔27-047(7931)〕。

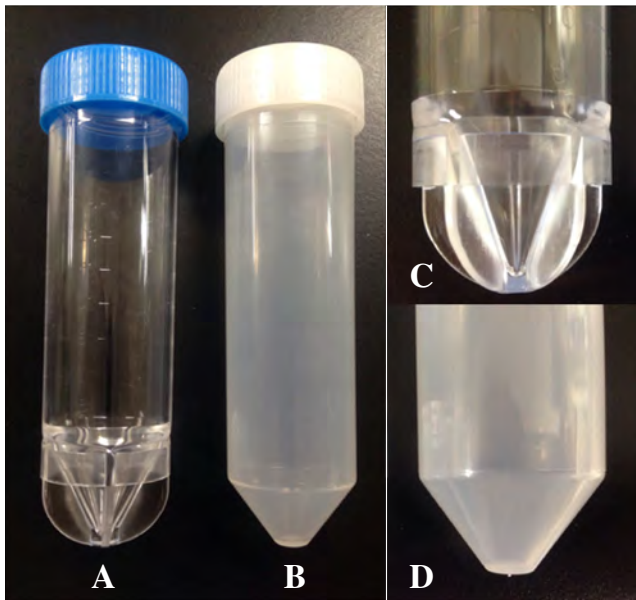


Photo. 1 A : Centrifuge tube of the wing-type centrifuge
B : Centrifuge tube of the conventional-type centrifuge
C : Enlargement of the tip in the wing type
D : Enlargement of the tip in the conventional type

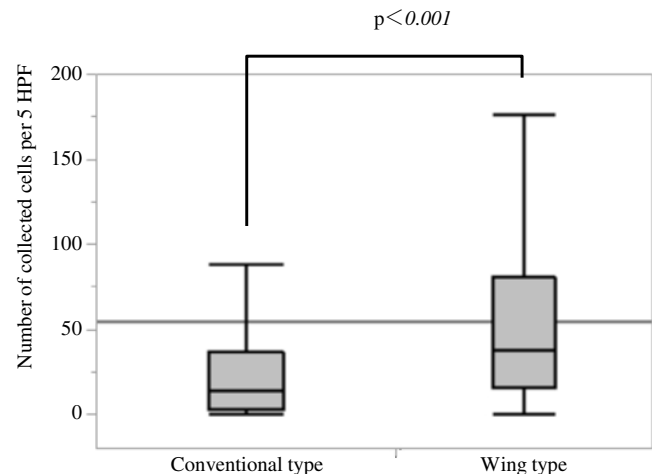


Fig. 1 Comparison of the collected cell number between the two types of centrifuge tube.

Table 1 Cases of BD CytoRich liquid-based cytological classification

Processing method	No. of Patients (%)				Total
	Negative	Suspicious	Positive	Suspicious + Positive	
Wing type	197 (86.4%)	24 (10.5%)	7 (3.1%)	31 (13.6%)*	228 (100%)
Conventional type	256 (97.3%)	6 (2.3%)	1 (0.4%)	7 (2.7%)	263 (100%)
Total	453 (92.3%)	30 (6.1%)	8 (1.6%)	38 (7.7%)	491 (100%)

* $p<0.001$

Table 2 Cytological and histological diagnosis of "Suspicious cases"

	No. of patients (%)				Total
	Negative	Atypical Cells	Suspicious for malignancy	Malignant	
Benign	0 (0)	3 (5.8)	7 (13.5)	0 (0)	10 (19.2)
LGUC	0 (0)	3 (5.8)	4 (7.7)	0 (0)	7 (13.5)
HGUC	0 (0)	9 (17.3)	24 (46.2)	2 (3.8)	35 (67.3)
Total	0 (0)	15 (28.8)	35 (67.3)	2 (3.8)	52 (100)

III. 結 果

491 検体の細胞回収量の結果を Fig. 1 に、細胞診の結果を Table 1 に示した。上皮細胞数の中央値 (\pm SD) は、遠心管ウイングタイプが 37.5 個、従来遠心管が 14.0 個であり、遠心管ウイングタイプでは有意に細胞回収量が向上した ($p < 0.001$)。

BD サイトリッチ™法では、遠心管ウイングタイプで疑陽性 24 例、陽性 7 例であり、従来遠心管で疑陽性 6 例、陽性 1 例であった。異型細胞の検出率は、遠心管ウイングタイプで 13.6%、従来遠心管で 2.7% と遠心管ウイングタイプで有意に増加した ($p < 0.001$)。

細胞診で疑陽性であった 135 例の再評価の結果、陰性 6 例、異型細胞 53 例、悪性疑い 74 例、悪性 (urothelial carcinoma) 2 例であった。135 例中 52 例 (38.5%) で TUR-BT が施行され、異型細胞の 15 例中 9 例 (60%) と悪性疑いの 35 例中 24 例 (69%) が高異型度尿路上皮癌 (high-grade urothelial carcinoma 以下: HGUC) であった (Table 2)。

組織診にて HGUC と診断された症例の細胞診標本では、細胞の N/C 比が高く、クロマチンが増加し核形不整を伴う小型異型細胞が少数みられた (Photo. 2)。

IV. 考 察

尿細胞診は、膀胱癌をはじめ、上部尿路系の尿管癌や腎盂癌、TUR-BT 後の follow-up には欠かせない検査で、主に尿路系疾患に対して最初に行われることが多い。自然剥離した細胞を対象とするため、細胞数が乏しいといった欠点があり、直接塗抹法での細胞保持率は、乾燥固定によるギムザ染色を 100% とすると、95% エタノール固定による Papanicolaou 染色では 31% と、約 7 割の細胞は剥離し鏡検の対象となることなく捨てられていると報告されている¹⁰⁾。これは尿細胞診の精度管理上、きわめて大きな問題であり、これまでにさまざまな検体処理法の検討が行われてきたが、その報告には施設間差がある²⁻⁶⁾。尿細胞診は、このような問題が改善されずに実施されており、細胞の回

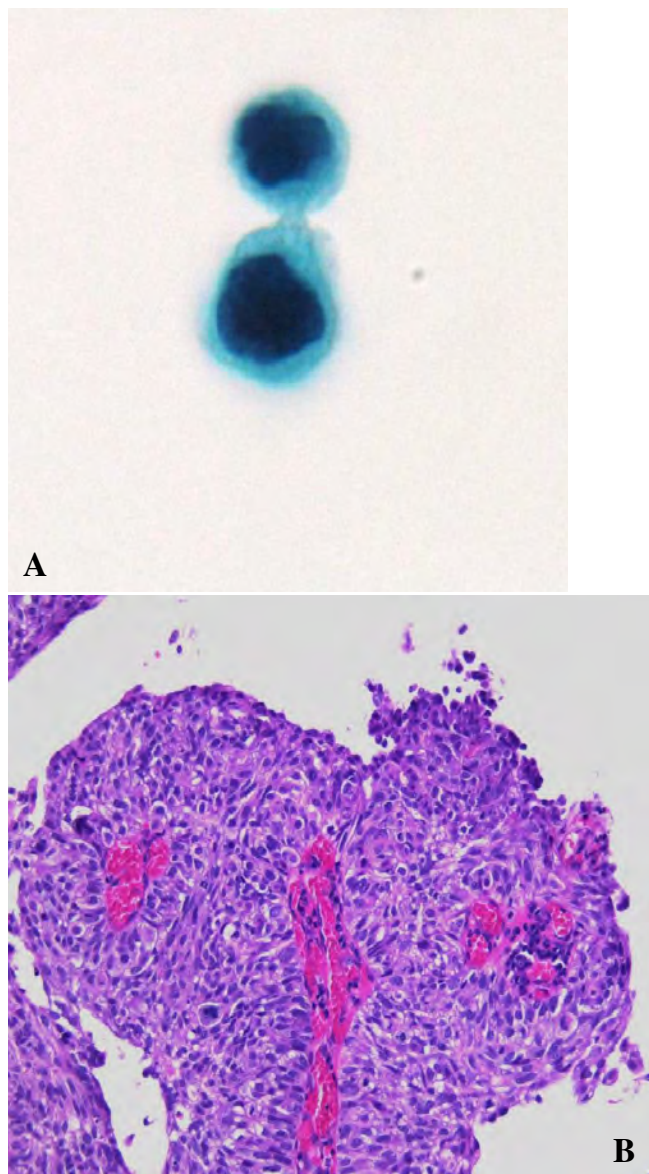


Photo. 2 A : Intermediate cells with hyperchromatic nuclei, irregular nuclear borders and a N/C ratio exceeding 0.7 (Pap. staining, $\times 100$).
B : Histological finding of Suspicious for malignancy specimens showing high-grade urothelial carcinoma (HE staining, $\times 40$).

収率向上や標準化された標本作製法が求められる。

近年、標本のクオリティーを上げるために開発された液状化検体細胞診 (Liquid based cytology 以下: LBC) は、細胞を限られた範囲に塗抹する標本作製システムである。その LBC はメーカーにより検体処理原理やスライドガラスへの塗抹原理が異なる。当院で導入した非婦人科用の BD サイトリッチ™法は、沈渣に水を加えることで細胞表面を負に荷電させ、プラスに荷電した専用のプレコートスライドガラスにイオン結合によって細胞を強固に吸着させる特徴がある。また、塗抹範囲は 13 mm 円内の限られた範囲に標準化されており、スクリーニングの負担が減少するといったメリットがある。梅森ら¹¹⁾は、BD シュアパス™法による気管支洗浄液を用いたグロコット染色での検討で、加熱でも細胞剥離せずに良好に保持できると述べている。アルコール固定や染色過程で生じる細胞剥離を回避でき、遠心により回収された少数の異型細胞の回収率を上げることが可能である。土田ら¹²⁾は、従来の細胞塗抹法であるすり合わせ法と比較して、すべての LBC 法は上皮細胞の回収率を上げるが、特に BD シュアパス™法は最も細胞の回収率が良好であったと述べ、その理由として、荷電による細胞保持を挙げている。従来法と LBC 法の比較では、異型細胞の回収率、陽性率とも LBC 法のほうが高いと報告されている^{4,13)}。

遠心により尿中に含まれる細胞を回収することが最も重要なことであり、本研究では先端の異なる 2 種類の遠心管を用い、BD サイトリッチ™法で作製した標本と比較したところ、遠心管ウイングタイプで有意に細胞回収量が向上した ($p < 0.001$)。検討に用いた遠心管は、底面積が直径 2 mm の遠心管ウイングタイプと直径 6 mm の従来遠心管であり、遠心時の遠心力は遠心半径に依存するため、両者の遠心力による負荷は同等である。相違点として遠心管ウイングタイプは、先端が鋭利で傾斜があり、沈渣が遠心管の先端に密に集まることで、デカント時の細胞損失を最小限に抑え、細胞回収量の増加を可能にしていると考えられる。よって、BD サイトリッチ™法による荷電を利用した塗抹法に加え、遠心管ウイングタイプを用いることで、診断の対象となる細胞を増加させ尿細胞診の精度がより向上すると考えられる。われわれの検討では、小型異型細胞の検出率は、遠心管ウイングタイプを用いた集細胞法で統計学的にも有意に高く、特に少数の異型細胞の検出に寄与すると考えられた。

自然尿中にみられる N/C 比の高い核形不整を伴う、小型異型細胞の検出率を上げることは、HGUC の発見に重要であると考えられる。遠心管ウイングタイプによる集細胞法を用いた BD サイトリッチ™法は、細胞の回収量と保持率

が良好であり、HGUC を含む異型細胞の検出率の向上に寄与する。

筆者らは、開示すべき利益相反はありません。

論文の要旨は第 52 回日本臨床細胞学会秋期大会 (大阪) 2013 年 11 月で発表した。

Abstract

Objective : We attempted to improve the cell collection methods during the preparation of urine specimens and performed cytological analysis for high-grade urothelial carcinoma (HGUC) to increase the diagnostic accuracy.

Study Design : The study specimens comprised 491 natural urine samples. We compared the numbers of the collected cells and the detection rates of the atypical cells between the wing-type and conventional-type of centrifuge. Suspicious cases were compared to the histological diagnosis.

Results : The median of the collected cell number and the detection rate of the atypical cells in the wing-type centrifuge were significantly larger than those of the conventional-type ($p < 0.001$). The "Suspicious cases" included six Negative, 53 Atypical cells, 74 Suspicious for malignancy, and two Malignant. Nine out of 15 (60%) Atypical cells, and 24 out of 35 (69%) Suspicious for malignancy were histologically diagnosed as HGUC. The specimens assessed as Suspicious contained small atypical cells.

Conclusion : Usage of the wing-type centrifuge can improve cell collection numbers and atypical cell detection.

文 献

- 1) Raab, S. S., Grzybicki, D. M., Vrbin, C. M., Geisinger, K. M. Urine cytology discrepancies : frequency, causes, and outcomes. *Am J Clin Pathol* 2007 ; 127 (6) : 946-953.
- 2) 山本津由子, 青木 潤, 佐々木なおみ, 谷山清己, 難波鉦二. 新しい尿細胞診標本作製法—呉共済病院法—. *Clin Cytol* 1998 ; 37 (3) : 292-297.
- 3) 古谷津純一. 尿細胞診の標本作製方法. *Med Technol* 2004 ; 32 : 684-688.
- 4) 大崎博之, 中村宗夫, 長町 健, 荻野哲朗. 尿細胞診の検体処理方法の検討. *日臨細胞会誌* 2005 ; 44 (4) : 215-218.
- 5) 小椋聖子, 清水恵子, 江木さつき, 則松良明, 桜井幹己. 低異型度尿路上皮癌の検討—標本作製法を中心に—. *日臨細胞会誌* 2006 ; 45 (4) : 232-237.
- 6) 鷺谷清忠, 今野稔子, 石井 明, 根 裕人, 山谷千晴, 東海林琢男・ほか. Liquid based cytology (Thinprep) による尿細胞診の検討. *日臨細胞会誌* 2008 ; 47 (4) : 282-286.
- 7) 山城勝重, 平紀代美. BD LBC Reference Book 体腔液編. 東京 : 日本ベクトン・ディッキンソン ; 2011.
- 8) 芦川智美, 梅澤 敬, 野村浩一, 恩田威一, 神谷直樹, 山田

- 恭介・ほか. サーベックスブラシ™を用いた split-sample による BD シュアパス™液状化細胞診と直接塗抹法における標本適否の比較. 日臨細胞会誌 2014 ; 53 (2) : 89-93.
- 9) 日本臨床細胞学会, 編. 細胞診ガイドライン 1 婦人科・泌尿器 2015 年版. 東京 : 金原出版 ; 2015. 176-179.
- 10) 西 国広. 細胞診のすすめ方 第3版. 東京 : 近代出版 ; 2012. 8-15.
- 11) 梅森宮加, 梅澤 敬, 高橋 潤, 堀口絢奈, 土屋幸子, 沢辺元司・ほか. BD シュアパス™液状標本を用いたグロコット染色の検討—喀痰・気管支洗浄液—. 医学検査 2014 ; 63 : 758-761.
- 12) 土田 秀, 中里宜正, 神山晴美, 布瀬川卓也, 吉田 勤, 飯島美砂・ほか. 液状化細胞診を用いた尿細胞診の検体処理法の検討. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 (5) : 406-410.
- 13) Elsheikh, M. T., Kirkpatrick, L. J., Wu, H. H. Comparison of ThinPrep and cytopsin preparations in the evaluation of exfoliative cytology specimens. Cancer Cytopathol 2006 ; 08 : 144-149.
-

BD SurePath™法の余剰検体を用いたハイリスク HPV 検出率と 遺伝子型の検討

梅澤 敬¹⁾ 落合 和彦²⁾ 山田 恭輔³⁾ 落合 和徳³⁾
 岡本 愛光³⁾ 磯西 成治⁴⁾ 九十九葉子⁵⁾ 沢辺 元司⁶⁾
 池上 雅博⁷⁾

東京慈恵会医科大学葛飾医療センター病院病理部¹⁾, 東京慈恵会医科大学葛飾医療センター産婦人科²⁾,
 東京慈恵会医科大学産婦人科学講座³⁾, 東京慈恵会医科大学第三病院産婦人科⁴⁾, 大森赤十字病院検査部⁵⁾,
 東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科分子病態検査学分野⁶⁾, 東京慈恵会医科大学病理学講座⁷⁾

目的: 子宮頸部擦過細胞診における HR-HPV 検出率と遺伝子型を検討し, 子宮頸癌検診における HR-HPV 検出および HR-HPV タイピング検査の意義を検証することを目的とした。

方法: SIL の経過観察者および 2 次検診者いずれも 20 歳以上を対象とした。BD シュアパス™法で ASC-US 以上に対し, 余剰検体で HR-HPV 遺伝子検査および生検を行い分析した。

成績: 134 例中 108 例 (80.6%) が HR-HPV 陽性で, 型が判明した 86 例中, 16, 52 および 58 型でおのの 10% 以上と高く, これら 3 つで 48.8% (42/86) を占めていた。CIN2 以上において, 16, 52 および 58 型いずれかを含む割合は 82.6% (38/46) で, これに 18, 31 および 33 型を加えると 95.7% (44/46) であった。CIN2 以上および CIN2 未満における HR-HPV の陽性率は, おのの 92.3% (48/52) および 68.0% (34/50) であった。

結論: CIN2 以上の HR-HPV 型は 16, 52, 58, 18, 31 および 33 型が多く, ASC-US 以上でこれら 6 つの型が検出された場合には, 他の HR-HPV 型よりも慎重な管理が必要であることが示唆された。

Key words : Uterine cervical cytology, High-risk human papillomavirus, BD SurePath™, Genotyping, Liquid based cytology

High risk HPV rate of detection and the genotyping study used remainder specimen of BD SurePath™ method

Takashi UMEZAWA¹⁾, C. T., C. M. I. A. C., Kazuhiko OCHIAI²⁾, M. D., Kyosuke YAMADA³⁾, M. D., Kazunori OCHIAI³⁾, M. D., Aikou OKAMOTO³⁾, M. D., Seiji ISONISHI⁴⁾, M. D., Yoko TSUKUMO⁵⁾, C. T., I. A. C., Motoji SAWABE⁶⁾, M. D., Masahiro IKEGAMI⁷⁾, M. D.

¹⁾Departments of Pathology, Jikei University Katsushika Medical Center

²⁾Departments of Obstetrics and Gynaecology, Jikei University Katsushika Medical Center

³⁾Departments of Obstetrics and Gynaecology, Jikei University

School of Medicine

⁴⁾Departments of Obstetrics and Gynaecology, Jikei University Daisan Hospital

⁵⁾Departments of Pathology, Omori Red Cross Hospital

⁶⁾Section of Molecular Pathophysiology, Graduate School of Health Care Sciences, Tokyo Medical and Dental University

⁷⁾Departments of Pathology, Jikei University School of Medicine

論文別刷請求先 〒125-8506 東京都葛飾区青戸 6 の 41 の 2 東京慈恵会医科大学葛飾医療センター病院病理部 梅澤 敬

平成 29 年 5 月 8 日受付

平成 29 年 6 月 27 日受理

I. はじめに

Human papillomavirus は150種類以上の遺伝子型が存在するといわれている¹⁾。その中で子宮頸癌に関与する、いわゆる high-risk human papillomavirus (以下, HR-HPV) の型は少なくとも13種類とされ²⁾、遺伝子解析が網羅的に行われるとともに、発癌メカニズムの解明も進んでいる^{3,4)}。近年, atypical squamous cells of undetermined significance (以下, ASC-US) においてHR-HPVの有無を明確にする意義が認められ^{5,6)}、2010年4月, HR-HPV 13種類の型(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59)および68型を一括して検出するHPV DNA「キアゲン」Hybrid Capture II (以下, HC II, 株式会社キアゲン)が本邦で保険適用となった。その後, 66型を加えた14種類の型において16および18型を単独で, 残り12種類の型を一括で検出するHR-HPV核酸同定検査がASC-USのトリアージに用いられるようになった。さらには, 子宮頸がんスクリーニングにおいて子宮頸部擦過細胞診(以下, 細胞診)とHR-HPV核酸同定検査との併用の検討も進んでいる^{7,8)}。

一方, HR-HPV核酸タイピング検査は, 生検組織診でcervical intraepithelial neoplasia (以下, CIN) 1およびCIN2と診断された患者の治療方針を決めるため, 本邦では2011年に2,000点の保険適用となり, 現在ではCIN1および2においてHR-HPV13種の型(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68型)のタイピングが行われている⁹⁻¹³⁾。これにより13種類の型のうち混合感染も含め, どの型が陽性であるかによりCIN3や悪性のリスクが高い型のHR-HPVと他の型とを区別して, CIN1および2の管理や治療法を選択することが可能となった¹⁴⁾。

Liquid based cytology (以下, LBC) は, 標本作製後の残り検体を用いてHR-HPV遺伝子検査(HR-HPV核酸同定検査およびHR-HPV核酸タイピング検査)をはじめとする分子生物学的検索に利用できるといった優れた検査システムである¹⁵⁻¹⁸⁾。LBCはフィルター法によるシンプレップ®法(ホロジックジャパン株式会社)とセルプレップ法(ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社), 密度勾配法によるBD シュアパス™法(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)や類似のタクアス™法(MBL医学生物学研究所)に大別される。シンプレップ®法とBD シュアパス™法ではHR-HPV遺伝子検査への応用に関して多数報告されている^{6,15-17)}。

今回, BD シュアパス™法でASC-US以上に対し, 余剰検体を用いたHR-HPV核酸検査, および生検組織診を行い, 細胞診結果, HR-HPV核酸検査結果および生検組織診

の関係性を検討し, 子宮頸癌検診におけるHR-HPV検出およびHR-HPV核酸タイピング検査の意義を検証した。

II. 方 法

研究期間は, 2011年7月~2012年11月とした。本研究は, 子宮頸部扁平上皮内病変(squamous intraepithelial lesions: 以下, SIL)の経過観察者, および子宮頸部の異常を指摘され東京慈恵会医科大学附属病院産婦人科を受診した20歳以上の慈恵医大倫理委員会で承認[22-189(6366)]された方法で同意を得られた症例を対象として検討した。検体はサーベックスブラシ®(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)を用いて採取し, ブラシ先端をBD シュアパス™バイアル(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)に回収し病理検査室に搬送した。細胞診標本作製は, 半自動化によるBD シュアパス™システム(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)で実施し, BD プレップステイン™(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)で自然沈降により塗抹し, Papanicolaou染色まで行った。細胞診の評価はベセスダシステムに準拠した。細胞診標本作製後, BD シュアパス™バイアルの2.0mlの余剰検体を, HC IIによる核酸同定検査またはクリニチップ® HPV(積水メディカル株式会社)によるHR-HPV核酸タイピング検査に供給するため株式会社エスアールエル(東京)に提出した。なお, 余剰検体は4℃で保存し, 7日以内に株式会社エスアールエルへ提出, 冷蔵にて輸送され, 3日以内に測定された。クリニチップ® HPVはLAMP法によるターゲットDNAの増幅と遺伝子解析装置ジェネライザー(積水メディカル株式会社)を用いた電流検出型DNAチップ法により, 特異的かつ短時間にHR-HPVの型判別を行う検査であり, 2011年5月1日付けでHPVジェノタイプ判定として保険収載された。本研究当初はHC IIにてHR-HPV核酸同定検査を行っていたが, 途中からクリニチップ® HPVによるHR-HPV核酸タイピング検査に切り替えた。ASC-US以上の症例に対し可能なかぎり生検組織診を行った。

細胞診結果, HR-HPV遺伝子検査結果および生検組織診の関係性を分析した。

本研究は慈恵医大倫理委員会の承認を受け[22-189(6366)], 全例とも説明と同意を得た。

III. 結 果

対象者134例の平均年齢±SD(年齢幅)は38.0±8.9歳(20~66歳)であった。細胞診とHR-HPV遺伝子検査の関係性をTable 1に示した。ASC-US以上のHR-HPV陽性率は

Table 1 High-risk HPV distribution detection rate in accordance with the cytology results. N = 134

		Cytologic diagnosis				Total
		ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL +	
High-risk HPV	Positive	19	5	26	58	108
	(%)	(57.6)	(83.3)	(76.5)	(95.1)	(80.6)
	Negative	14	1	8	3	26
	(%)	(42.4)	(16.7)	(23.5)	(4.9)	(19.4)
	Total	33	6	34	61	134

Correlation : ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance ; ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion ; HSIL +, high-grade squamous intraepithelial lesion or higher ; HPV, human papillomavirus ; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion.

Table 2 High-risk HPV type distribution in accordance with the cytology results. N = 86

		Cytologic diagnosis				Total
		ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL +	
High-risk HPV	Positive					
	Overall (%)	7 (8.1)	4 (4.7)	17 (19.8)	58 (67.4)	86
	16 (%)	1 (4.5)	1 (4.5)	2 (9.1)	18 (81.8)	22 (25.6)
	18 (%)	—	—	—	2 (100)	2 (2.3)
	31 (%)	—	—	1 (25.0)	3 (75.0)	4 (4.7)
	33 (%)	—	—	—	4 (100)	4 (4.7)
	35 (%)	1 (100)	—	—	—	1 (1.2)
	39 (%)	2 (100)	—	—	—	2 (2.3)
	45 (%)	—	—	—	—	—
	51 (%)	—	—	1 (33.3)	2 (66.7)	3 (3.5)
	52 (%)	—	1 (9.1)	2 (18.2)	8 (72.7)	11 (12.8)
	56 (%)	—	—	3 (75.0)	1 (25.0)	4 (4.7)
	58 (%)	1 (11.1)	1 (11.1)	1 (11.1)	6 (66.7)	9 (10.5)
	59 (%)	2 (100)	—	—	—	2 (2.3)
	68 (%)	—	1 (50.0)	1 (50.0)	—	2 (2.3)
	2 types (%)	—	—	5 (41.7)	7 (58.3)	12 (14.0)
	3 types + * (%)	—	—	1 (12.5)	7 (87.5)	8 (9.3)

Correlation : ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance ; ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion ; HSIL +, high-grade squamous intraepithelial lesion or higher ; HSIL+, high-grade squamous intraepithelial lesion or higher ; HPV, human papillomavirus ; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion ; * : 3 types +, 3 types or more.

80.6% (108/134) で、そのうち ASC-US では 57.6% (19/33) の陽性であった。HR-HPV 陽性 108 例中、HC II 陽性は 22 例、クリニチップ® HPV により遺伝子型が判明したのは 86 例であった。

細胞診の評価と HR-HPV 遺伝子型が判明した 86 例の内訳を Table 2 に示した。単独検出が 76.7% (66/86)、2 種類混合例が 14.0% (12/86) および 3 種類以上の混合例が 9.3% (8/86) であった。HR-HPV 単独での検出率は、16、52 および 58 型の順でそれぞれ 25.6% (22/86)、12.8% (11/86) および 10.5% (9/86) と、これら 3 つの型で 48.8% (42/86) を占めていたが、18 型の単独検出は 2.3% (2/86) にとどまり、45 型の単独検出はなかった。複数の HR-HPV が検出された混合例を含めると、16、52 および 58 型の順で、そ

れぞれ 33.7% (29/86)、24.4% (21/86) および 19.8% (17/86) と、これら 3 つの型の単独および混合例で全体の 66.2% (57/86) を占めた。最多の HR-HPV 混合数は 5 種 (18、31、52、56 および 58 型) であった。細胞診で high-grade squamous intraepithelial lesions (以下、HSIL) 以上の HR-HPV 陽性率は 67.4% (58/86) であった。20 例の HR-HPV 混合例はすべて LSIL 以上で、そのうち 14 例は HSIL 以上であった。

生検組織診は 134 例中 102 例に実施され、CIN2 以上および CIN2 未満における HR-HPV の陽性率は、おのおの 92.3% (48/52) および 68.0% (34/50) であり、統計学的に有意差が認められた ($p=0.002$, Fisher's exact test)。また、positive predictive value (以下、PPV) は 58.5% (48/

Table 3 Correlation between the histologic characteristics and high-risk HPV detection.
N = 102

		Histologic characteristics		Total
		CIN2+	<CIN2	
High-risk HPV	Positive	48	34	82
	Negative	4	16	20
	Total	52	50	102

Correlation : CIN2+, cervical intraepithelial neoplasia 2 or higher ; <CIN2, less than cervical intraepithelial neoplasia 2 ; HPV, human papillomavirus

Positive rate of high-risk HPV in CIN2+ : 92.3% (48/52)
Positive rate of high-risk HPV in <CIN2 : 68.0% (34/50)] p=0.002 (Fisher's exact test)

Positive predictive value : 58.5% (48/82)

82) であった (Table 3).

HR-HPV 型が判明した 86 例のうち, 生検組織診が実施された 69 例に対する細胞診の評価と生検組織診が CIN2 以上の結果を Table 4 に示した. 生検組織診での CIN2 以上は 66.7% (46/69) であった. CIN2 以上であった 46 例の内訳は, CIN2, CIN3, 上皮内腺癌および腺癌でのおおの 29 例, 14 例, 1 例および 2 例であった. CIN2 以上において, 16, 52 または 58 型のいずれかを含ま割合は 82.6% (38/46), これに 18, 31 または 33 型を加えると 95.7% (44/46) であった. 35, 39, 45, 56 または 59 型が含まれる CIN2 以上はなかった (Table 4).

IV. 考 察

本研究では子宮頸癌のハイリスク者を対象に, HC II またはクリニチップ®HPV による HR-HPV 核酸検査を行い, 細胞診, HR-HPV および CIN の関係性を検討し, 細胞診における HR-HPV 核酸検査の意義を検証した. HR-HPV の陽性率は全体の 80.6%, 細胞診が HSIL 以上では 67.4% と, HSIL と評価した LBC の余剰検体で検討した Gao ら¹⁹⁾ の報告 96.2% (325/338) と同様の陽性率であった. また, CIN2 以上における HR-HPV の陽性率は CIN2 未満より有意に高く, HR-HPV と CIN2 以上との関連が認められたが, PPV は 58.5% にとどまり, ASC-US トリアージの限界が示唆された.

日本で検出される HR-HPV 型は 52, 16, 58 および 51 型の順で高いと報告されており²⁰⁾, 海外と比較すると 16 および 18 型の頻度が低く, 52 と 58 型の頻度が高いといった特徴がある^{3,9,10,13,21~23)}. 池田ら⁹⁾ はクリニチップ®HPV による 63 例の検討において 16, 52 および 58 型の順で検出率が高く, 18 型と他の HR-HPV 型は 10% 以下であったと報告している. 本研究においても HR-HPV 単独の検出率は 16, 52 および 58 型の順で高く, これら 3 つの型で 48.8% を占め,

混合型を含めると全体の 66.2% を占めていたが, 18 型はわずか 6 例 (単独: 2 例, 混合型 4 例) と全体の 7.0% にすぎず, 同様の結果となったが, 18 型単独の 2 例は腺癌と上皮内腺癌, 混合型の 1 例は CIN2 であり, 検出数が少なくても軽視することはできない. 産婦人科診療ガイドラインでは, CIN1-2 の管理において 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 または 58 型のいずれかが陽性の病変では進展リスクが高いので, それ以外の HPV 陽性例と分けて管理することが示されている¹⁴⁾. これら 8 種類の HR-HPV 型は病変が消失しにくく, CIN2 が 5 年以内に CIN3 に進展するリスクは 40.5% で, 他の型 (39, 51, 56, 59 および 68 型) での進展率 16.7% より高いと報告されている¹³⁾. 本研究でも, 進展リスクが高いとされている 8 種類の単独例での CIN2 以上の割合は, 76.2% (32/42), 他の型での CIN2 以上の割合は 28.6% (2/7) と統計学的な有意差が認められた (p=0.022, Fisher's exact test). しかし, 進展リスクが高いとされている 35 型の単独例での CIN2 以上は認められず, 45 型については単独例も認められなかった. 35 および 45 型は本邦での検出割合 3% 未満と少ないため²⁰⁾, 本研究の症例数では捉えることができなかったと考えられた. また, 他の型では 56 型については 4 件の生検組織診が実施され CIN2 は認められなかったことから進展リスクの低さが示唆されたが, 39 および 59 型については生検組織診の実施例がなく, 考察ができない. これらは本研究の症例数の少なさによる限界と考えられた.

2 種類以上の HR-HPV の混合例のうち生検組織診が行われた 20 例中 11 例は CIN2 以上であり, 特に 3 種以上の HR-HPV の混合例での CIN2 以上の割合は 87.5% (7/8) と 2 種混合例の 41.7% (5/12) に比べ高かったことから, より多種による混合例の進展リスクの高さが推察されたが, 症例数が少なく, 統計学的な有意差は認められなかった (p=0.070, Fisher's exact test). 今後, 長期追跡調査などさらなる検討が必要である.

Table 4 High-risk HPV distribution and ratio detection rate in cases with CIN 2 or more severe lesions. N = 69

	Cytologic diagnosis				Total
	ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL+	
Positive					
Overall	2	4	14	49	69
CIN2+	1	1	2	42	46*
16	—	1	1	16	18
CIN2+	—	1	0	16	17
18	—	—	—	2	2
CIN2+	—	—	—	2	2
31	—	—	—	1	1
CIN2+	—	—	—	1	1
33	—	—	—	2	2
CIN2+	—	—	—	2	2
35	1	—	—	—	1
CIN2+	0	—	—	—	0
39	—	—	—	—	—
CIN2+	—	—	—	—	—
45	—	—	—	—	—
CIN2+	—	—	—	1	1
51	—	—	—	1	1
CIN2+	—	—	—	1	1
52	—	1	2	7	10
CIN2+	—	0	0	5	5
56	—	—	3	1	4
CIN2+	—	—	0	0	0
58	1	1	1	5	8
CIN2+	1	0	0	4	5
59	—	—	—	—	—
CIN2+	—	—	—	—	—
68	—	1	1	—	2
CIN2+	—	0	1	—	1
2 types	—	—	5	7	12
CIN2+	—	—	1	4	5
3 types+ †	—	—	1	7	8
CIN2+	—	—	0	7	7

Correlation : ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance ; ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion ; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion ; HSIL+, high-grade squamous intraepithelial lesion or higher ; HPV, human papillomavirus.

* : CIN2 (29cases), CIN3 (14cases), AIS (1case), Adenocarcinoma (2cases) ; † : 3 types+, 3 types or more.

CIN3に進展しやすく消失しにくい8種類のHR-HPV型については、他のHR-HPVと異なり、コルポ診の実施やより短い期間での経過観察など慎重な管理が必要となる。そのため、フォローアップとして定期的実施する子宮頸部擦過細胞診の品質管理も重要となる¹⁹⁾。

LBCの残り検体をHR-HPV核酸検査に利用するためには、十分な細胞数の確保が必要であり²⁴⁾、細胞の採取においては、採取量が多いサーベックスブラシ[®]が適していると考えられる。また、BD シュアパス[™]法は、サーベックスブラシ[®]先端を取り外し、そのまま専用バイアルに回収するため検体の取りこぼしがなく、余剰検体(2.0 ml)の

確保も標準化されているため、検体の保存に適していると考えられる。Zhaoら¹⁷⁾はBD シュアパス[™]法の余剰検体からHR-HPV核酸検査を行い、HR-HPV核酸検査が実施できなかったunsatisfactory HC IIは、0% (0/972)と報告している。本研究においても検査不能例はなく、BD シュアパス[™]法の余剰検体はHR-HPV核酸検査に利用可能であることが示された。

本研究において、CIN2以上のHR-HPV型は16, 52, 58, 18, 31および33型が多くを占めており、ASC-US以上でこれら6つの型が検出された場合では、他のHR-HPV型よりも慎重な管理が必要であると考えられた。このことは保険

診療でのHR-HPVによるASC-US トリアージや、細胞診とHR-HPV 核酸検査との併用検診におけるHR-HPVのタイピングの必要性を示唆するものであり、さらなるデータの集積が必要であると考えられた。

本研究に、利益相反はありません。

謝辞 本研究に協力をして下さいました、東京慈恵会医科大学附属病院、葛飾医療センター、附属第三病院、附属柏病棟の病院病理部及び産婦人科のスタッフの皆様へ深謝します。標本作製では、梅森宮加氏、堀口絢奈氏、土屋幸子氏、春間節子氏に協力頂き深謝致します。

Abstract

Objectives : We investigated the detection rate and genotypes of HR-HPV in endocervical cytology specimens to examine the importance of HR-HPV detection and HR-HPV genotyping in cervical cancer screening.

Study Design : The study population was composed of women being followed up by periodic checkups for SIL and those undergoing secondary health examinations : the women from both subgroups were aged ≥ 20 years. Cases with ASC-US or more severe abnormalities on BD SurePath™ were subjected to genotyping for HR-HPV and underwent cervical biopsy.

Results : Of the 134 subjects examined, 108 (80.6%) were found to be positive for HR-HPV. There were 86 subjects in whom the HR-HPV types could be identified, with types 16, 52 and 58 accounting for $\geq 10\%$ of cases each, and for 48.8% (42/86) overall. Of the subjects with CIN 2 or more severe lesions, 82.6% (38/46) were found to be positive for any of the HR-HPV types 16, 52 and 58, with this percentage increasing to 95.7% (44/46) when types 18, 31 and 33 were also included. The HR-HPV positive rates in cases with CIN 2 or more and < CIN 2 lesions were 92.3% (48/52) and 68.0% (34/54), respectively.

Conclusion : HR-HPV types 16, 52, 58, 18, 31 and 33 were common in subjects with CIN 2 or more severe lesions. Therefore, particular care is required in the management of cases where any of these HR-HPV types is identified in the presence of ASC-US or more severe abnormalities.

文 献

- 1) 岩田 卓. 日本における HPV の疫学—HPV タイプと子宮頸癌の関連性. 医学のあゆみ 2016 ; 258 : 129-132.
- 2) World Health Organization. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. Fact sheet, Updated June 2016 ; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>
- 3) Muñoz, N., Bosch, FX., de, Sanjosé, S., Herrero, R., Castellsagué, X., Shah, K. V., et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003 ; 348 : 518-527.

- 4) Narisawa-Saito, M., Kiyono, T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis : roles of E6 and E7 proteins. Cancer Sci 2007 ; 98 : 1505-1511.
- 5) Stoler, M. H., Wright, T. C. Jr., Sharma, A., Apple, R., Gutekunst, K., Wright, T. L., et al. High-risk human papillomavirus testing in woman with ASC-US cytology : results from the ATHENA HPU study. Am J Clin Pathol 2011 ; 135 : 468-475.
- 6) 小林孝子, 元井 信, 岡田美恵子, 吉藤彩子, 和田榮津子, 今川真由美・ほか. ベセスダシステム 2001 における ASC-US の細胞像—従来法と液状検体 (ThinPrep) 法による比較検討—. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 : 526-534.
- 7) 立花美津子, 河西十九三, 黒川裕子, 大木洋子, 早田篤子, 藤澤武彦・ほか. 集団検診における液状化検体細胞診・HPV-DNA 検査併用検診の有用性に関する検討. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 : 545-551.
- 8) Hiromura, K., Gunji, M., Fujino, M., Ito, M. Human papilloma virus infection in healthy women in Japan. 日臨細胞会誌 2014 ; 53 : 366-370.
- 9) 池田 聡, 永田千草, 島袋剛二, 鈴木恵子. 子宮頸部異形成患者に対するクリニチップ™を用いた HPV 検出. 日農医誌 2014 ; 63 : 29-34.
- 10) 竹原和宏, 中村絃子, 川上洋介, 西脇森衛, 戸田 環, 西村俊直・ほか. 子宮頸部病変における HPV genotype について. 日臨細胞会誌 2011 ; 50 : 147-151.
- 11) Guan, P., Howell-Jones, R., Li, N., Bruni, L., de, Sanjosé, S., Franceschi, S., et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women : a meta-analysis from cervical infection to cancer. Int J Cancer 2012 ; 131 : 2349-2359.
- 12) Baleriola, C., Millar, D., Melki, J., Coulston, N., Altman, P., Rismanto, N., et al. Comparison of a novel HPV test with the Hybrid Capture II (hc II) and a reference PCR method shows high specificity and positive predictive value for 13 high-risk human papillomavirus infections. J Clin Virol 2008 ; 42 : 22-26.
- 13) Matsumoto, K., Oki, A., Furuta, R., Maeda, H., Yasugi, T., Takatsuka, N., et al. Predicting the progression of cervical precursor lesions by human papillomavirus genotyping : a prospective cohort study. Int J Cancer 2011 ; 128 : 2898-2910.
- 14) 日本産科婦人科学会・日本産婦人科医会. 産婦人科診療ガイドライン—婦人科外来編 2014. 東京 : 公益社団法人日本産科婦人科学会事務局 ; 2014.
- 15) Ko, V., Tambouret, R. H., Kuebler, D. L., Black-Schaffer, W. S., Wilbur, D. C. Human papillomavirus testing using hybrid capture II with SurePath collection : initial evaluation and longitudinal data provide clinical validation for this method. Cancer Cytopathol 2006 ; 108 : 468-474.
- 16) 二谷悦子, 志賀朋子, 東岩井 久, 高橋正宣. 液状化検体細胞診 TACAS による HPV DNA 検査の有用性—HPV DNA 「キアゲン」 HC II 専用検体採取キットとの比較—. 医学検査 2014 ; 63 : 609-614.
- 17) Zhao, F. H., Hu, S. Y., Bian, J. J., Liu, B., Peck, R. B., Bao, Y. P., et al. Comparison of ThinPrep and SurePath liquid-based cytology and subsequent human papillomavirus DNA testing in China.

- Cancer Cytopathol 2011 ; 119 : 387-394.
- 18) 森村 豊, 寅磐亮子, 佐藤奈美, 塚原 孝, 佐藤美賀子, 柴田眞一・ほか. 子宮がん集団検診で LSIL, HSIL 例への HPV 検査を併用した精密検査と経過追跡について. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 : 323-329.
 - 19) Gao, F. F., Austin, R. M., Zhao, C. Histopathologic follow-up and human papillomavirus DNA test results in 290 patients with high-grade squamous intraepithelial lesion Papanicolaou test results. Cancer Cytopathol 2011 ; 119 : 377-386.
 - 20) Sasagawa, T., Maehama, T., Ideta, K., Irie, T., Fujiko Itoh J-HERS Study Group. Population-based study for human papillomavirus (HPV) infection in young women in Japan : A multicenter study by the Japanese human papillomavirus disease education research survey group (J-HERS). J Med Virol 2016 ; 88 : 324-335.
 - 21) Clifford, G. M., Smith, J. S., Aguado, T., Franceschi, S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer : a meta-analysis. Br J Cancer 2003 ; 89 : 101-105.
 - 22) Smith, J. S., Lindsay, L., Hoots, B., Keys, J., Franceschi, S., Winer, R., et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions : a meta-analysis update. Int J Cancer 2007 ; 21 : 621-632.
 - 23) Bosch, F. X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C. J., Shah, K. V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol 2002 ; 55 : 244-265.
 - 24) 山寄肇史, 後藤吉成, 長野 誠, 山口敏和. 液状化検体細胞診 (LBC) 用固定保存液の HPV 検査に対する保存性検討. 機器・試薬 2014 ; 37 : 659-662.
-

原 著

乳腺粘液癌（純型，type B）の液状化検体細胞診所見に関する検討

永尾 聡子¹⁾ 前田ゆかり¹⁾ 皆倉 愛美¹⁾ 北園 暢子¹⁾
 畑中 一仁²⁾ 梅北 善久³⁾ 大井 恭代⁴⁾

博愛会相良病院病理細胞診室¹⁾，鹿児島大学大学院医歯学総合研究科腫瘍学講座病理学分野²⁾，
 鳥取大学医学部病理学講座器官病理学分野³⁾，博愛会相良病院病理診断科⁴⁾

目的：標準化された標本作製法である液状化検体細胞診（liquid based cytology；LBC）法を用いた乳腺粘液癌の細胞診断を確立する。

方法：2013年9月から2015年12月までの間に穿刺吸引細胞診が実施され、当院にて粘液癌純型と組織学的に確定診断された10例のうち、LBC標本上に十分な上皮細胞集塊が観察された7例を対象とした。LBC標本は直接塗抹後にBD サイトリッチ™レッド保存液にて針内洗浄し作製した。検討項目は粘液・上皮細胞集塊・血管それぞれの出現様式と腫瘍細胞像である。

成績：組織学的に全例type Bであった。粘液はすべての症例でさまざまな大きさに断片化してみられた。粘液は透明感があり、ときにスジ状であった。上皮細胞は全例小型から中型の集塊で出現し、筋上皮細胞はみられず、構築は充実性や孤立散在性が多かった。全例核異型は軽度であり、細顆粒状細胞質を有する症例が4例（57.1%）に、枝分かれする細い血管が4例（57.1%）に観察された。

結論：LBC法で粘液癌を推定するには断片的な粘液を拾い上げることが重要であり、細顆粒状細胞質や枝分かれする繊細な血管は診断の手助けになると考えられた。

Key words : Breast, Liquid based cytology, Mucinous carcinoma, Mucin, Vessel

I. はじめに

乳腺細胞診断は臨床所見、画像所見との整合性を確認しつつ運用することで乳腺疾患の診療において重要な役割を果たしてきた。近年、乳癌検診の普及や画像技術の進歩により、小さな病変が発見される機会が増え、簡便で低侵襲、低コストの穿刺吸引細胞診に対するニーズが高まっている。しかし、穿刺吸引細胞診を広く活用するためには診断

精度の施設間差や標準化といった課題が存在する。従来法のみでは十分な診断精度が得られない場合、診断精度の標準化に液状化検体細胞診（liquid based cytology；LBC）法が有用となる可能性が考えられる。

LBC法は標準化された標本作製方法であり、細胞回収率の向上、免疫染色への応用など、診断精度の向上および効率化が報告されており^{1,2)}、乳腺細胞診領域においても、LBC法による診断標準化が期待される。しかしながら、LBC法では標本作製法の違いから、背景所見や細胞所見の

Cytologic findings of breast mucinous carcinoma (pure type, type B) in liquid based fine needle aspiration cytology

Satoko NAGAO¹⁾, C. T., I. A. C., Yukari MAEDA¹⁾, C. T., I. A. C., Manami KAIKURA¹⁾, C. T., I. A. C., Yoko KITAZONO¹⁾, C. T., J. S. C., Kazuhito HATANAKA²⁾, M. D., Yoshihisa UMEKITA³⁾, M. D., Yasuyo OHI⁴⁾, M. D.

¹⁾Department of Cytopathology Laboratory, Hakuikai Sagara Hospital

²⁾Department of Molecular and Cellular Pathology, Field of Oncology,

Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

³⁾Division of Organ Pathology, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Tottori University

⁴⁾Department of Pathology, Hakuikai Sagara Hospital

論文別刷請求先 〒 892-0833 鹿児島県鹿児島市松原町3の31 博愛会相良病院病理細胞診室 永尾聡子

平成28年10月23日受付

平成29年7月31日受理

Table 1 Clinicopathological characteristics of the 7 patients

		number of cases
Age at operation (years)	median	64
	range	49-82
Tumor size (mm)	median	12
	range	7-36
Nuclear grade	1	5
	2	2
	3	0
Estrogen receptor (IHC)	≥10%	7
	<10%	0
HER2 (IHC)	positive	0
	negative	7
pN	pN0	5
	pN1mi	1
	>pN1a	0
	pNx	1

変化がみられ、診断に用いるにあたっては十分な検証が必要である³⁻⁵⁾。特に、乳腺領域ではLBC法による背景粘液の消失あるいは減少が粘液を伴う疾患の細胞診診断に与える影響が危惧されている⁶⁾。そこで、今回、粘液癌のLBC標本における細胞所見をBDサイトリッチTM法にて検討し、診断に有用な所見について評価を行った。

II. 対象および方法

2013年9月から2015年12月の間に当院にて穿刺吸引細胞診が実施され、標本適正と診断された2027例中、当院にて根治術が実施され、粘液癌純型と確定診断された10例を対象とした。臨床病理学的事項はカルテより抜粋し、組織型分類はWHO分類に従って行った。外来受診時、吹き出し法にて直接塗抹を行った後、BDサイトリッチTMレッド保存液を使用し針内洗浄し、LBC標本を作製した。LBC標本を再鏡検し、十分な上皮細胞集塊を得られた7例について以下の項目について検討を行った。

1. 粘 液：粘液の有無を詳細に観察した。さらに粘液の大きさをマイクロメーターで計測し、小型(250 μ m未満)、中型(250-500 μ m)、大型(500-1000 μ m)、超大型(1000 μ m以上)に分類した。また、粘液の形態学的特徴を検討した。

2. 乳管上皮細胞集塊：乳管上皮細胞集塊の最大径をマイクロメーターで計測し、小型集塊(250 μ m未満)、中型集塊(250-500 μ m)、大型集塊(500-1000 μ m)、超大型集塊(1000 μ m以上)に分類した。また、集塊の構築について、充実性、孤立散在性、腺管状、篩状、索状、乳頭状、シート状に分類した。同時に筋上皮細胞の有無について評価を

Table 2 Cytomorphological features of pure mucinous carcinoma in CytorichTM RED liquid-based cytology

		n	%
Mucin	size (μ m)	presence	7 100
		<250	7 100
		250-500	7 100
		500-1000	5 71.4
Epithelial component	cluster size (μ m)	≥1000	4 57.1
		<250	7 100
		250-500	7 100
		500-1000	1 14.3
architecture	architecture	≥1000	0 0
		solid	7 100
		discohesive	7 100
		tubular	2 28.6
		cribriform	1 14.3
		travascular	0 0
		papillary	0 0
nuclear atypia	nuclear atypia	sheet	0 0
		mild	7 100
		moderate	0 0
nucleoli	nucleoli	severe	0 0
		distinct	3 42.9
		granular	4 57.1
cytoplasm	cytoplasm	granular	4 57.1
		thin vessel	4 57.1
Vessel	Vessel	presence	4 57.1

行った。

3. 乳管上皮細胞：核異型の程度、および細胞質の性状について症例ごとに評価を行った。

4. 血 管：血管の有無を確認し、血管の形状、太さ、筋上皮細胞の付着の有無について評価を行った。

III. 結 果

7例の臨床病理学的背景をTable 1に示す。症例は全例女性であり、年齢は49-82歳、平均65歳、中央値64歳、臨床腫瘍径は平均16.4mm、中央値12mmであった。核異型度はgrade 1が5例、grade 2が2例、全例エストロゲンレセプター陽性HER2陰性であった。リンパ節転移なしが5例、微小転移症例が1例、1例は高齢のためリンパ節は検索されなかった。組織型は全例粘液癌純型type Bであり、直接塗抹従来法では全例悪性と診断され、組織型は粘液癌が推定されていた。

LBC標本での細胞所見は以下のとおりである(Table 2)。

1. 粘 液

すべての症例に粘液が確認された。粘液は断片的に認められ(Photo. 1)、その大きさはさまざまであり、小型、中型は全例(100%)に、大型は5例(71.4%)に、超大型は4例(57.1%)にみられた。粘液はライトグリーンから青紫色に染色された。粘液の濃さは薄いものから濃いものまで混在してみられ、ところどころでスジ状粘液がみられた

(Photo. 2). 粘液は透明感があり, 粘液内の上皮細胞所見の観察は容易であった.

2. 乳管上皮細胞集塊

乳管上皮細胞集塊の大きさは小型, 中型は全症例にみられ, 大型集塊は1例(14.3%)にみられた. 構築は充実性, 孤立散在性は全例(100%)に見られ, 腺管状2例(28.6%), 篩状1例(14.3%)であった(Photo. 3). 索状, 乳頭状, シート状の構築はみられなかった. いずれの乳管上皮細胞集塊にも筋上皮細胞はみられなかった.

3. 乳管上皮細胞像

7例全例に軽度の核異型がみられた. 明瞭な核小体が3例(42.9%)にみられた. 6例は細胞質に厚みがあり, 4例

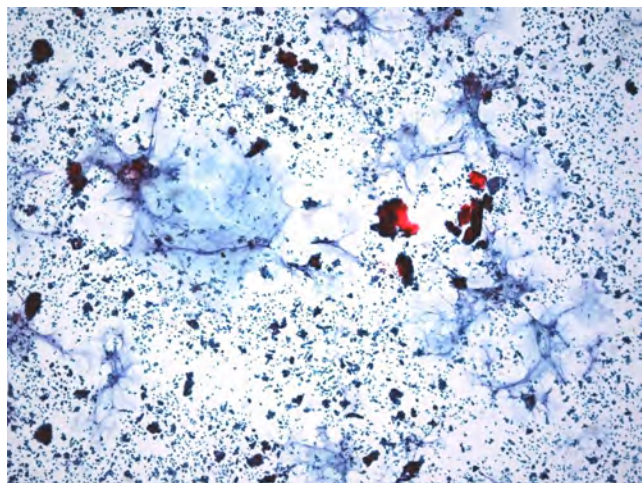


Photo. 1 Representative cytological features of pure mucinous carcinoma in a LBC specimen. Fragmented mucin and epithelial clusters of small-to-medium sizes are noted (Papanicolaou staining, $\times 4$).

は細顆粒状細胞質を有していた(Photo. 4a). 細胞質内粘液空胞が1例(14.3%)にみられた(Photo. 4b).

4. 血管

枝分かれする細い血管が4例(57.1%)にみられた. 血管は繊細で, 筋上皮細胞の付着のない裸血管であり, しばしば粘液と混在してみられた(Photo. 2b, Photo. 5).

IV. 考 察

純型の粘液癌は全乳癌の約2%とまれであるが⁷⁾, 特徴的な細胞像および組織像を呈する. 一般的な粘液癌の細胞所見は豊富な粘液と低異型度の上皮細胞集塊であり⁸⁾, 特に純型の粘液癌は浸潤巣全体に細胞外粘液を伴うことから, 標本全体に大量の粘液がみられることが多い⁹⁾. 癌細胞集塊は粘液中に浮遊するようにみられ¹⁰⁾, 厚みのある粘液に癌細胞集塊が包み込まれる繭玉状の出現形態はときに粘液癌の診断根拠となる. Cyrtaらは従来法にて粘液癌純型5例のうち, 粘液の占める面積の割合はスメアの25-50%が2例, 50-75%が2例, >75%が1例と報告し, 豊富な粘液は粘液癌と診断するためには必須の所見と述べている¹¹⁾. 一方, LBC法では一般的に粘液が減少することが指摘されている^{3,5,6,12,13)}. 実際に今回のわれわれの検討でも標本全体を占める粘液は観察されず, 粘液は断片化し, さまざまな大きさで出現していた. 特に小型から中型のものが多く, 薄い粘液が小型集塊で少量のみ出現する症例もみられた. 粘液は透明感があり, しばしばスジ状に出現しており, 従来法とは異なる出現様式であった. LBC標本で粘液を同定するためには従来法とは異なる粘液出現パターンを考慮して, 高倍で注意深く観察することがポイントと思

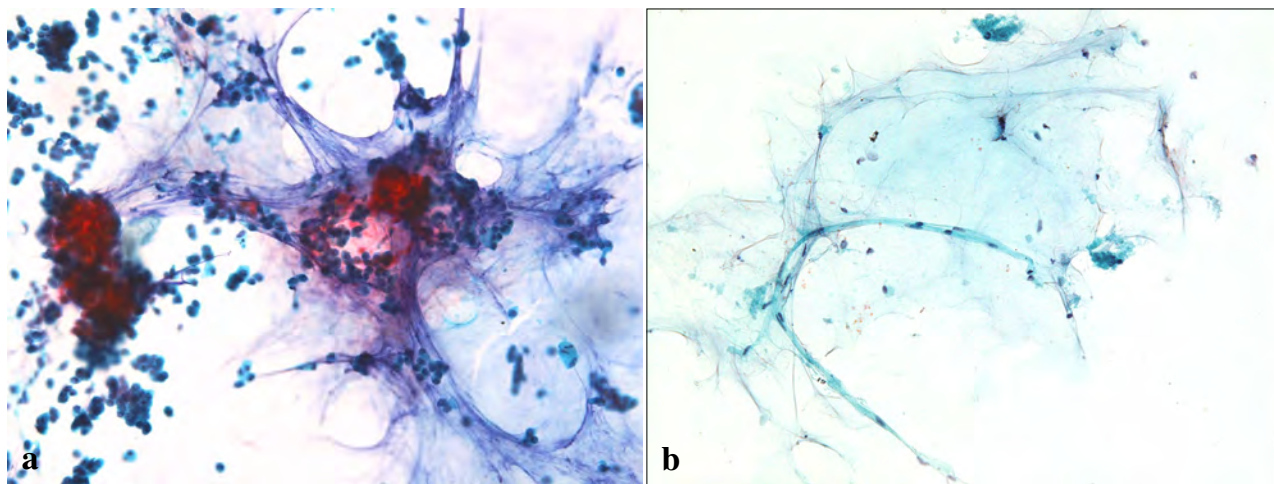


Photo. 2 Features of mucin in a LBC specimen. a : Transparent and thick mucin with streaks (Papanicolaou staining, $\times 20$). b : Thin mucin with delicate vascular channels (Papanicolaou staining, $\times 20$).

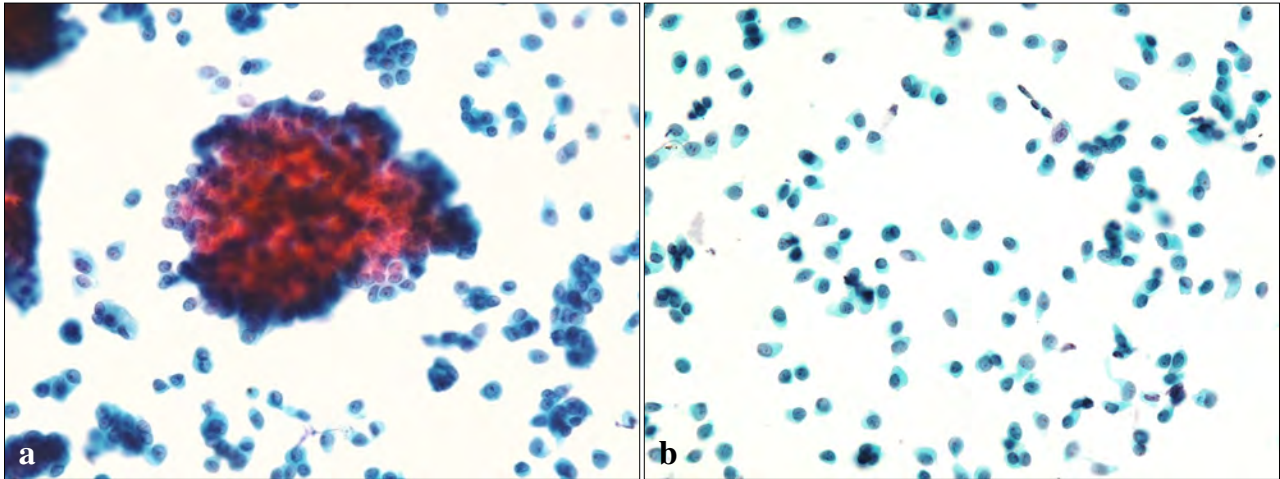


Photo. 3 Characteristic features of a cancer cell cluster (Papanicolaou staining, $\times 40$). a : solid, b : discohesive.

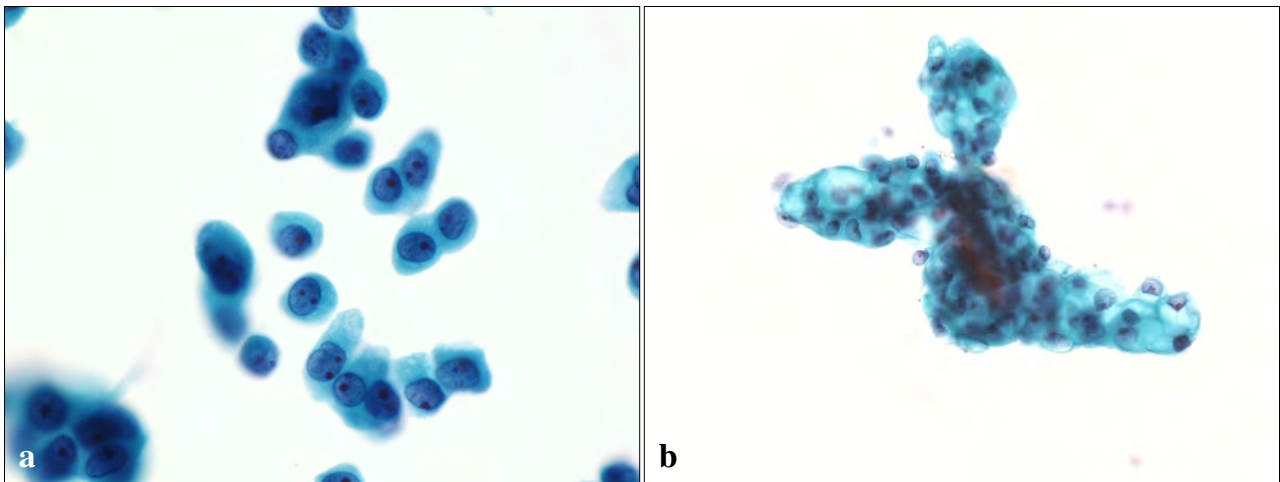


Photo. 4 Cytological features of cancer cells. a : granular cytoplasm and mild nuclear atypia with prominent nucleoli (Papanicolaou stain, $\times 100$). b : cell cluster with intracellular mucin (Papanicolaou staining, $\times 40$).

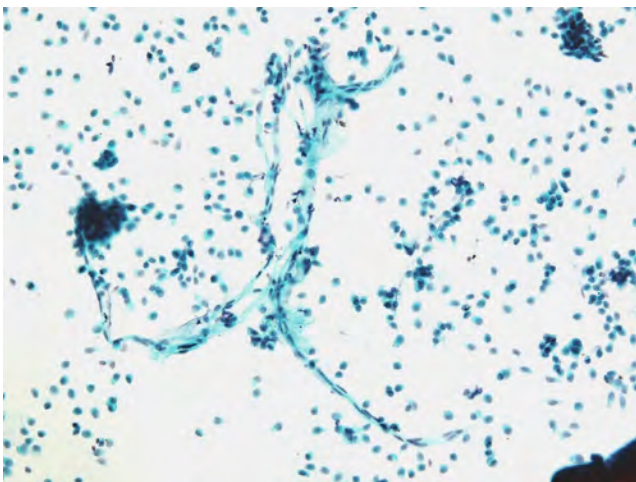


Photo. 5 Characteristic feature of delicate and branched vascular channels (Papanicolaou staining, $\times 20$).

われた。

一方、上皮細胞の評価はLBC法では容易となった。従来法では粘液に埋もれて細胞像の観察が困難な症例をしばしば経験する。しかし、LBC標本では粘液と上皮細胞集塊は平面的に配列し、集塊が粘液と重なり合うことは少なく、重なり合ったとしても粘液は透明感があり、細胞所見の観察は容易であった。集塊の大きさは小型から中型で、筋上皮細胞を伴っておらず、悪性を疑うことが可能であった。また、核異型は軽度であるが、細胞所見が明瞭であることから、従来法よりも悪性の診断は容易と思われた。

Lauricicaらは粘液癌における穿刺吸引細胞診の診断能を従来法のパパニコロウ染色とギムザ染色およびThin-Prep法と比較し、ThinPrep法は悪性の診断精度が最も高いが、粘液癌と診断する割合は最も低いことを示した¹⁴⁾。

その原因として, ThinPrep法を含むLBC法では標本作製過程において背景粘液が除去されることが一因と考えられる。今回われわれが検討を行ったBDサイトリッチ™法はThinPrep法よりアルコール濃度が低く, 粘液は凝固せずに上清として多くは除去されるが, 実際には除去しきれなかった粘液が自然沈降法によりスライドガラス上に吸着し, スジ状粘液として観察することが可能であった。粘液癌診断の鍵となる粘液の出現量や出現様式は標本作製法により異なる可能性があり, 今後の検討課題と考えられる。

組織学的にWHO分類では粘液癌純型は細胞成分の少ないtype Aと細胞成分の多いtype Bに分類され, type Bではしばしば神経内分泌分化を伴う⁷⁾。今回の検討症例は全例type B症例であり, 細顆粒状細胞質が7例中4例にみられた。細顆粒状細胞質は神経内分泌分化を示唆しており¹⁵⁾, これら4例すべて組織学的に神経内分泌マーカー(chromogranin Aあるいはsynaptophysin)陽性であった。井上らは従来法において, type Bの細胞所見を顆粒状細胞質, 顆粒状クロマチン, 腫大した核小体と報告している¹⁶⁾。われわれの検討でも明瞭な核小体が3例にみられた。Cyrtaらは従来法の検討で純型では全例核小体はなかったと報告しているが¹¹⁾, LBC法では細胞所見が明瞭化し, 核小体をとらえやすくなる可能性が考えられる。

1例において豊富な細胞質内粘液空胞がみられた。病理組織学的に印環細胞様所見が純型粘液癌, 特にtype Bにおいてときにみられることが報告されており¹⁷⁾, 細胞診においても細胞質内粘液空胞を伴う粘液癌の報告がみられる^{10,11)}。LBC法では細胞形態が従来法より明瞭化するため, 今後, さらに細胞質内粘液空胞が指摘される機会が増える可能性がある。

今回の検討で特徴的であった所見の一つが枝分かれする細長い毛細血管の出現である。粘液癌の組織所見として従来指摘されており, 穿刺吸引細胞診でも同様な報告があるが^{14,18)}, 今回の検討では7例中4例で明瞭に観察された。血管は時に粘液と混在してみられ, 筋上皮細胞の付着はなく, 細長く分枝状であり, 特徴的な形態を示していた。LBC標本では従来法より所見が明瞭化しており, 粘液癌を推定するにあたり, 有用な所見と考えられた。

今回の検討では粘液癌純型のうち, type A症例については十分な細胞量が得られず, 検討をなしえていない。その原因として, 吹き付けによる直接塗抹を行った後にLBC検体を作成したことにより, 十分な細胞を得ることができなかったと考えられる。しかし, LBC法は粘液を除去するシステムとなっていることから¹⁹⁾, 豊富な細胞外粘液に腫瘍細胞が包まれているtype A症例では, 細胞の回収率が減少する可能性も考えられ, この点については今後の詳細な検

討が待たれる。

今回, われわれは粘液癌純型のLBC法による細胞診所見をBDサイトリッチ™法にて検討し, 粘液は断片的に出現すること, 腫瘍細胞は小型集塊で出現し, 低異型度核を有すること, しばしば細顆粒状の細胞質を有し, 細い枝分かれする血管がみられることなどを明らかにした。粘液の出現パターンは従来法と異なっており, LBC法で粘液癌と診断するためには粘液を適切にとらえることが重要と思われた。また, type AはLBC法では不適正となる可能性も危惧され, 症例の蓄積が望まれる。今回の検討は従来法による標本を作成した後に作成したLBC標本を分析しており, さまざまな修飾が考えられる。LBC法を実臨床で用いるためには, さらに多数例の細胞所見を集積し, その特徴を習得することが必要と考えられる。

著者らは, 開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は第57回日本臨床細胞学会総会(2016年, 神奈川県)にて発表した。

Abstract

Objective : The aim of the present study was to establish an algorithm for cytological diagnosis of mucinous carcinoma of the breast by a standardized liquid based cytology (LBC) method.

Study design : We reviewed the findings in 10 fine-needle aspiration cytology specimens obtained from patients who had been histologically diagnosed as having pure mucinous carcinoma at Sagara hospital between September 2013 and December 2015. LBC specimens had been prepared by washing out the needle in Cytorich™ RED after the preparation of conventional smears. The morphological characteristics of mucin, epithelial clusters, cancer cells and vessels were evaluated in 7 of the 10 cases in which sufficient epithelial cells were found on the LBC slides.

Results : Histologically, all the cases had been diagnosed as having type B mucinous carcinoma. Examination of the LBC specimens in these cases revealed the following features : 1) fragmented mucin, with various sizes of fragments ; 2) transparent mucin with streaks ; 3) solid and discohesive clusters of small-to-medium sizes ; 4) mild nuclear atypia. Granular cytoplasm and delicate branching vessels, which are characteristic features of mucinous carcinoma, were observed in four cases (57.1%).

Conclusion : One of the most characteristic features of mucinous carcinoma in LBC specimens is the presence of fragmented mucin. Findings of a granular cytoplasm of the cells and delicate vessels may be helpful.

文 献

- 1) Tripathy, K., Misra, A., Ghosh, J. K. Efficacy of liquid-based cytology versus conventional smears in FNA samples. *J Cytol* 2015 ; 32 : 17-20.
- 2) Wauters, C. A., Kooistra, B., Strobbe, L. J. The role of laboratory processing in determining diagnostic conclusiveness of breast fine needle aspirations : conventional smearing versus a mono-layer preparation. *J Clin Pathol* 2009 ; 62 : 931-934.
- 3) Michael, C. W., Hunter, B. Interpretation of fine-needle aspirates processed by the ThinPrep technique : cytologic artifacts and diagnostic pitfalls. *Diagn Cytopathol* 2000 ; 23 : 6-13.
- 4) Ryu, H. S., Park, I. A., Park, S. Y., Jung, Y. Y., Park, S. H., Shin, H. C. A pilot study evaluating liquid-based fine needle aspiration cytology of breast lesions : a cytomorphological comparison of SurePath® liquid-based preparations and conventional smears. *Acta Cytol* 2013 ; 57 : 391-399.
- 5) Feoli, F., Ameye, L., Van Eeckhout, P., Paesmans, M., Marra, V., Arisio, R. Liquid-based cytology of the breast : pitfalls unrecognized before specific liquid-based cytology training-proposal for a modification of the diagnostic criteria. *Acta Cytol* 2013 ; 57 : 369-376.
- 6) Gerhard, R., Schmitt, F. Liquid-based cytology in fine-needle aspiration of breast lesions : A review. *Acta Cytol* 2014 ; 58 : 533-542.
- 7) Lakhani, S. R., Ellis, I. O., Schnitt, S. J., Tan, P. H., Vijver, M. J. WHO Classification of Tumours of the Breast. Lyon : IARC Press : 2012. 60-62.
- 8) Koss, L. G. Koss's Diagnostic Cytology. Philadelphia : Lippincott : 2006. 1109-1110.
- 9) Gupta, R. K., McHutchison, A. G., Simpson, J. S., Dowle, C. S. Value of fine needle aspiration cytology of the breast, with an emphasis on the cytodagnosis of colloid carcinoma. *Acta Cytol* 1991 ; 35 : 703-709.
- 10) 公益社団法人日本臨床細胞学会. 細胞診ガイドライン 2. 乳腺・皮膚・軟部骨. 東京 : 金原出版 ; 2015. 55-56.
- 11) Cyrta, J., Andreiuolo, F., Azoulay, S., Balleyguier, C., Bourgier, C., Mazouni, C., et al. Pure and mixed mucinous carcinoma of the breast : fine needle aspiration cytology findings and review of the literature. *Cytopathology* 2013 ; 24 : 377-384.
- 12) Leung, C. S., Chiu, B., Bell, V. Comparison of ThinPrep and conventional preparations : nongynecologic cytology evaluation. *Diagn Cytopathol* 1997 ; 16 : 368-371.
- 13) Veneti, S., Daskalopoulou, D., Zervoudis, S., Papasotiriou, E., Ioannidou-Mouzaka, L. Liquid-based cytology in breast fine needle aspiration. Comparison with the conventional smear. *Acta Cytol* 2003 ; 47 : 188-192.
- 14) Laucirica, R., Bentz, J. S., Khalbuss, W. E., Clayton, A. C., Souers, R. J., Moriarty A.T. Performance characteristics of mucinous (colloid) carcinoma of the breast in fine-needle aspirates : observations from the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Nongynecologic Cytopathology. *Arch Pathol Lab Med* 2011 ; 135 : 1533-1538.
- 15) Tse, G., Tan, P. H., Schmitt, F. Fine Needle Aspiration Cytology of the Breast. New York : Springer ; 2013. 124-126.
- 16) 井上 香, 和田由加里, 小原昌彦, 水野圭子, 黒田直人. 当院における乳腺粘液癌 11 例の細胞学的検討. *日臨細胞会誌* 2015 ; 54 : 233-237.
- 17) Hoda, S. A., Brogi, E., Koerner, C. A., Rosen, P. P. Rosen's Breast Pathology. Philadelphia : Lippincott : 2014. 629.
- 18) Ventura, K., Cangiarella, J., Lee, I., Moreira, A., Waisman, J., Sinsir, A. Aspiration biopsy of mammary lesions with abundant extracellular mucinous material. Review of 43 cases with surgical follow-up. *Am J Clin Pathol* 2003 ; 120 : 194-202.
- 19) Kenyon, S., Sweeney, B. J., Happel, J., Marchilli, G. E., Weinstein, B., Schneider, D. Comparison of BD SurePath and Thin-Prep Pap systems in the processing of mucus-rich specimens. *Cancer Cytopathol* 2010 ; 25 : 244-249.

調査報告

Diagnostic pitfalls in malignant effusion cytology

—Report of a case with breast cancer recurrence 28 years after surgery—

Akane ISHIDA¹⁾, C. T., I. A. C., Makoto SAITO¹⁾, C. T., I. A. C., Taihei NAGASE¹⁾, C. T., I. A. C.,
Hideo ARAI²⁾, M. D., Hayato IKOTA²⁾, M. D., Takaaki SANO²⁾, M. D., Junko HIRATO²⁾, M. D.,
Shinji SAKURAI^{1,3)}, M. D.

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Japan Community Healthcare Organization Gunma Chuo Hospital,

²⁾Department of Pathology, Gunma University Hospital,

³⁾Diagnostic Pathology, Japan Community Healthcare Organization Gunma Chuo Hospital

Objective : Differential diagnosis among primary lung adenocarcinoma, malignant mesothelioma and breast cancer metastasis is difficult in cases of malignant pleural effusion. We discussed the morphological and immunohistochemical pitfalls in the differential diagnosis among these conditions based on pleural fluid cytology.

Study Design : At first, we report the case of a 62-year-old woman who had undergone resection for breast cancer 28 years ago and presented with malignant pleural effusion. Additionally, immunohistochemical analysis was conducted on 16 invasive lobular and 24 invasive ductal carcinoma cases of the breast.

Results : The cytological findings of pleural effusion were consistent with a diagnosis of malignant mesothelioma. Immunohistochemically, the tumor cells in the pleural fluid cytology specimen were positive for cytokeratin 7, EMA, calretinin, CEA and estrogen receptor, and negative for cytokeratin 20, MOC-31, cytokeratin 5, D2-40, WT-1, CD146, progesterone receptor, HER2, GCDFFP-15, TTF-1 and napsin A. Based on the histological and immunohistochemical findings of a pleural biopsy specimen, we finally concluded that the tumor was a breast lobular carcinoma recurrence. Additional immunohistochemical revealed that three of 16 (19%) invasive lobular carcinomas (ILC) and 12 of 24 (50%) invasive ductal carcinomas (IDC) of the breast were positive for MOC-31, and three of 16 ILC (19%) and two of 24 IDC (8%) were positive for calretinin.

Conclusion : It is important to be aware that there are morphological and immunohistochemical pitfalls in the differential diagnosis among primary lung adenocarcinoma, malignant mesothelioma and breast cancer metastasis based on pleural fluid cytology.

Key words : Pleural effusion, Breast lobular carcinoma, Malignant mesothelioma, Lung adenocarcinoma, Differential diagnosis

I. Introduction

Body cavity fluid cytology is simple and is one of the most informative strategies used in the diagnosis of disease, especially malignant tumors. In pleural effusion cytology, differ-

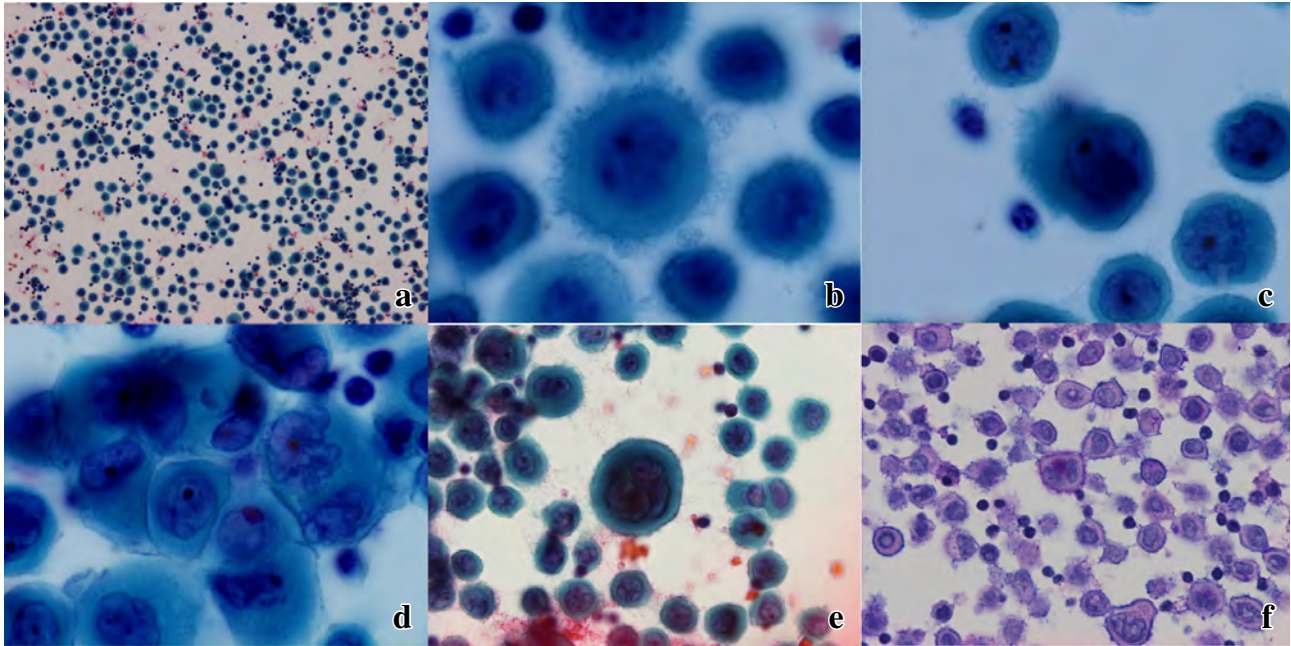


Photo. 1 Findings of pleural fluid cytology. a : The cytology specimen showed hypercellularity, the cell population mainly consisting of small lymphocytes and large non-cohesive tumor cells (Pap. staining, $\times 100$). b : The large tumor cells showed thick light green cytoplasm with long microvilli (Pap. staining, $\times 1000$). c : Some tumor cells showed cilia-like structures with rims (Pap. staining, $\times 1000$). d : Most tumor cells showed central or partly eccentric round nuclei (Pap. staining, $\times 1000$). e : Some multinucleated giant cells were also found (Pap. staining, $\times 400$). f : Few tumor cells showed PAS-positive mucin in the cytoplasm (Pap. staining, $\times 200$).

ential diagnosis of primary lung adenocarcinoma and malignant mesothelioma is very important but often a difficult problem, and there have been many reports that have discussed how to distinguish these tumors. Moreover, metastatic adenocarcinomas in pleural effusion should also be distinguished from primary lung adenocarcinomas and malignant mesothelioma.

Breast cancer is the most common malignant tumor which metastasizes to the pleural cavity^{1,2)}. Compared with carcinomas in other organs, breast cancer often recurs much later, about 5-10 years after surgery. Moreover, a few breast cancer cases have been reported to recur more than 20 years after surgery³⁻⁸⁾. Recently, Ono et al. reported the possible role of the microRNA derived from bone marrow mesenchymal stem cells in promotion of breast cancer cell dormancy⁹⁾. As a problem for pathologic diagnosis in such late recurrent cases, it might be difficult to obtain detailed clinical records of the first surgery if patients were seen at different hospitals, and differential diagnosis of a primary or metastatic tumor would be more difficult.

We report here a very rare case of a breast lobular carcinoma that metastasized to the pleura 28 years after surgery,

which could not be distinguished from a primary lung adenocarcinoma or malignant mesothelioma using effusion cytology and immunohistochemistry. Moreover, we also discuss the pitfalls of using immunohistochemistry in the differential diagnosis of these tumors.

II. Case

A 62-year-old Japanese woman with dyspnea was referred to our hospital. Computed tomography (CT) of the lung demonstrated the presence of a massive right pleural effusion and right lung atelectasis. No lesion was found in the lung. Laboratory data showed high levels of the following tumor markers : CEA (22.5 ng/ml), CA125 (109.5 U/ml), CA15-3 (220.9 u/ml) and BCA225 (550 U/ml). Hyaluronic acid content of the effusion was high (26,000 ng/ml). Effusion cytology was performed. The patient was referred to Gunma University Hospital (Gunma, Japan), where the patient had undergone surgery for breast cancer 28 years ago, although the pathological record of that surgery was not retained. Pleural biopsy was performed in that hospital. The patient is still alive until now.

1. Cytologic and immunohistochemical findings of the effusion

The mass, analyzed using effusion cytology, showed marked hypercellularity and it was composed of small lym-

Table 1 The first antibodies used in the immunohistochemical study

First antibody	Sorce	Clone
Cytokeratin 7	EPITOMICS	EPR1619Y
Cytokeratin 20	EPITOMICS	EPR1622Y
EMA	Nichirei Bioscience	E29
MOC-31	Cell Marque Corporation	MOC-31
Cytokeratin 5	EPITOMICS	EPR1600Y
Calrteinin	DAKO	DAK Calret 1
D2-40	Cell Marque Corporation	D2-40
CD146	EPITOMICS	EP54
WT-1	EPITOMICS	CAN-R9 (IHC)-56-2
CEA	Cell Marque Corporation	(Polyclonal)
TTF-1	EPITOMICS	EP1584Y
Napsin A	Nichirei Bioscience	(Polyclonal)
Estrogen Receptor	DAKO	SP-1
Progesterone Receptor	DAKO	PgR636
HER2	EPITOMICS	SP3
E-Cadhelin	EPITOMICS	EP700y
GCDFP-15	EPITOMICS	EPR1582

phocytes and non-cohesive large tumor cells (Photo. 1a). The large tumor cells showed thick light green cytoplasm with long microvilli. Some tumor cells showed cilia-like structures around or on one side of the rim (Photo. 1b, c). Most tumor cells showed central and partly dislocated round (Photo. 1d), oval or pleomorphic nuclei with prominent nucleoli. The fine granular chromatin was increased. Some multinucleated giant cells were also found (Photo. 1e). Few tumor cells showed PAS-positive mucin production in the cytoplasm (Photo. 1f). From these cytologic findings, we suspected that the tumor was a malignant mesothelioma, although hump-like cytoplasmic processes or so-called pair cells were not found.

Immunohistochemical studies were performed by using an effusion cell block (Table 1) and the results are summarized in Table 2. Tumor cells were diffusely positive for cytokeratin 7 (CK7) (Photo. 2a), EMA (Photo. 2b) and estrogen receptor (ER) (Photo. 2c) and few tumor cells were positive for calretinin (Photo. 2d) and CEA (Photo. 2e). Tumor cells were completely negative for cytokeratin 20 (CK20), MOC-31 (Photo. 2f), cytokeratin 5, D2-40, WT-1, TTF-1, napsin A, progesterone receptor (PgR), HER2, E-cadherin and GCDFP-15. Immunohistochemistry for breast cancer markers (ER, PgR, HER2, GCDFP-15) and E-cadherin was performed after the study of pleural biopsy below, so we could

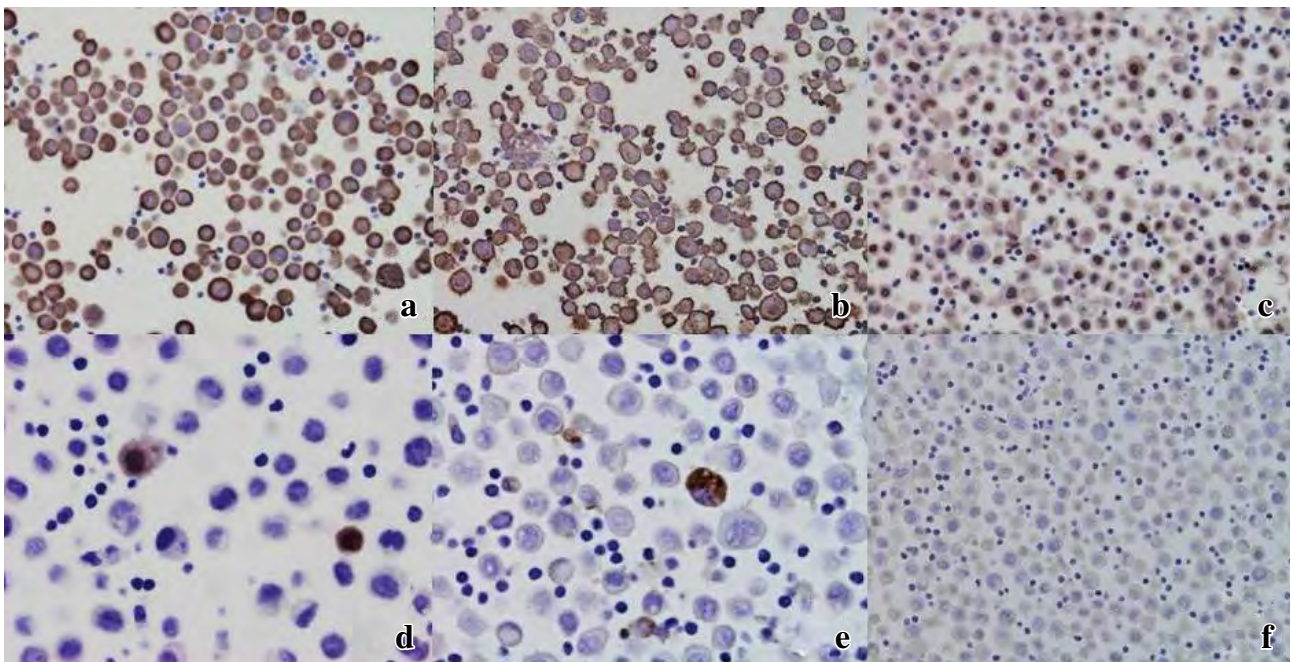


Photo. 2 a-f : Immunohistochemistry of cell block sections showing tumor cells diffusely positive for CK7 (a : $\times 200$), EMA (b : $\times 200$) and ER (c : $\times 200$), focally positive for calretinin (d : $\times 400$) and CEA (e : $\times 400$), and negative for MOC-31 (f : $\times 200$).

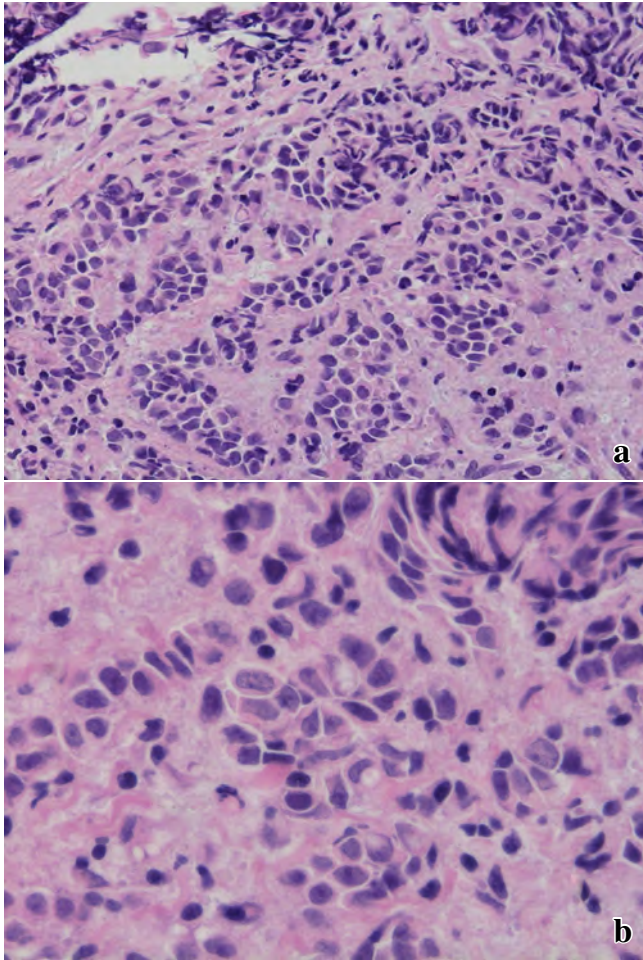


Photo. 3 a, b : Pleural biopsy. Tumor cells proliferating singly, in Indian file fashion, and in clusters with lymphocyte infiltration (a, HE staining, $\times 100$; b, HE staining, $\times 200$).

not distinguish between lung adenocarcinoma, malignant mesothelioma and breast adenocarcinoma from the immunohistochemical results of effusion cytology.

2. Histologic and immunohistochemical findings of the pleural biopsy

A pleural biopsy of the thickened right parietal pleura was performed using thoracoscopy. Histopathologically, small and relatively uniform tumor cells were seen to have proliferated singly, in “Indian file” fashion, and in clusters with lymphocyte infiltration (Photo. 3a, b). Some tumor cells had intracytoplasmic lumens with Alcian-blue positive mucin (Photo. 4a). Immunohistochemically, tumor cells were positive for CK7, EMA, CEA, ER (Photo. 4b) and PgR (Photo. 4c), and negative for CK20, MOC31, CK5, calretinin (Photo. 4d), D2-40 (Photo. 4e), WT-1 (Photo. 4f), TTF-1, Napsin A, HER2, E-cadherin and GCDFP-15 (Table 2).

From the histologic and immunohistochemical results, the

tumor of the pleural biopsy was finally diagnosed as metastatic lobular carcinoma of the right breast, the primary site of that was resected 28 years ago.

3. MOC-31 and calretinin expression in breast adenocarcinomas

Additionally, we analyzed immunohistochemical expression of MOC-31 and calretinin in 16 cases of invasive lobular carcinoma and 24 cases of invasive ductal carcinoma of the breast, which were biopsied or surgically resected at Gunma Chuo Hospital. Three of 16 invasive lobular carcinomas (19%) and 12 of 24 invasive ductal carcinomas (50%) were positive for MOC-31, and three of 16 invasive lobular carcinomas (19%) and two of 24 invasive ductal carcinomas (8%) were diffusely or focally positive for calretinin (Table 3).

III. Discussion

For this case, we were able to obtain enough tumor cells from the effusion for cytologic examination and performed immunohistochemical analysis using effusion cell blocks. Nevertheless, we could not differentially diagnose the origin and histological type of tumor for the following reasons. First, for differential diagnosis, we only listed lung adenocarcinoma or malignant mesothelioma because CT analysis did not reveal any primary tumor sites except for the right pleura, and we did not know the patient's past medical history of her right breast cancer at first. Second, morphologically, separated single tumor cells with long microvilli appeared to be consistent with malignant mesothelioma cells.

However, immunohistochemical results were inconsistent with a diagnosis of either lung adenocarcinoma or malignant mesothelioma because only few tumor cells were positive for calretinin, and completely negative for other mesothelioma markers such as D2-40 and WT-1, and because tumor cells were also positive for one of the lung adenocarcinoma markers, CEA, but negative for MOC-31, TTF-1 and napsin A. Thus, we could not diagnose the origin or histological type of the tumor.

After the patient was transferred to Gunma University Hospital, a pleural tumor biopsy was performed and the tumor was diagnosed as a metastatic lobular carcinoma of the breast, the primary site of which was resected 28 years ago, although we could not obtain a detailed medical record or histological sections from that tumor.

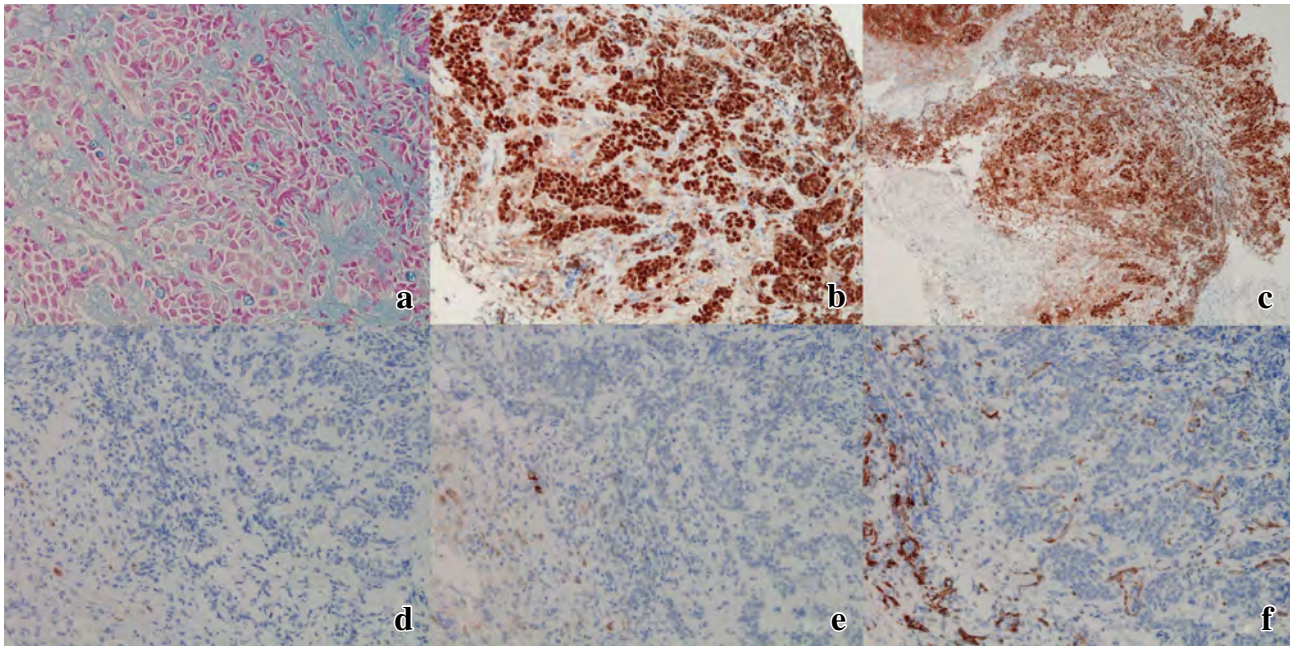


Photo. 4 a-f : Tumor cells were found to be positive for mucin using Alcian-blue staining (a ; $\times 100$). Immunohistochemistry of the biopsy specimens showed positive staining of the tumor cells for ER (b ; $\times 40$) and PgR (c ; $\times 40$), and negative staining for calretinin (d ; $\times 40$), D2-40 (e ; $\times 40$) and WT-1 (f ; $\times 40$).

Table 2 Immunohistochemical findings of a pleural fluid cell block and pleural biopsy specimen

	First antibody	Immunoreactivity	
		effusion cell block	pleural biopsy
Epithelial marker	Cytokeratin 7	+	+
	Cytokeratin 20	-	-
	EMA	+	+
	MOC-31	-	-
Mesothelioma marker	Cytokeratin 5	-	-
	Calretinin	+ (few)	-
	D2-40	-	-
	WT-1	-	-
Lung adenocarcinoma marker	CEA	+ (few)	+
	TTF-1	-	-
	Napsin A	-	-
Breast adenocarcinoma marker	Estrogen Receptor	+	+
	Progesterone Receptor	-	+
	HER2	-	-
	E-Cadherin	-	-
	GCDFP-15	-	-

Karrison et al. reported the follow-up data about the dormancy of breast cancers. In that, most breast cancers recur within the first 10 years after surgery, and only one case of breast carcinoma, recurred 26 years after surgery among 192 patients followed 26-45 years⁸⁾. From the result, they thought that the limit of breast cancer dormancy appeared to

be between 20 and 25 years. To our knowledge, since 1983 only 23 breast cancer cases that have recurred more than 25 years after surgery have been reported in Japan^{3~7)}, the longest period of which was 50 years⁷⁾. In those late recurrent cases, the sites of the tumor metastasis varied^{3~5)}, and the most common sites were local skin and chest wall, whereas

Table 3 Immunohistochemistry for MOC-31 and calretinin in invasive lobular and ductal carcinomas

	Breast adenocarcinoma			
	invasive lobular carcinoma		invasive ductal carcinoma	
	positive	negative	positive	negative
MOC-31	3	13	12	12
Calretinin	3	13	2	22

only four of 23 (17.4%) reported cases recurred in the pleura. Takahashi et al.¹⁰⁾ reported that only 9.6% of all metastatic breast cancers recurred in the pleura in Japanese cases. Thus, the pleural cavity is not one of the common sites of recurrent breast carcinoma. However, Danner et al.¹⁾ reported that 115 of 431 malignant pleural effusion cases (27%) were metastatic breast carcinomas, and Antic et al.²⁾ also reported that 249 of 490 (50.8%) malignant pleural effusions were breast cancer in origin. Thus, breast carcinoma is common in cases of malignant pleural effusion.

However, it has been reported that the frequency of lobular carcinoma was 9.3-15.6% of invasive breast cancer^{11,12)}, and Antic et al.²⁾ reported that lobular carcinomas accounted for only 0.8% of pleural and 21.6% of peritoneal effusions of metastatic breast carcinomas. Previous clinical studies have reported that invasive lobular carcinoma of the breast tends to metastasize to the peritoneal cavity rather than to the pleural cavity. From these reports and in our case, in which invasive lobular carcinoma of the breast recurred in the pleural cavity 28 years after surgery of the primary site, this is thought to be quite rare.

In addition to the rare metastasis described above, there were some difficulties and pitfalls associated with the differential diagnosis using cytologic findings in our case. In cytologic differential diagnosis between lung adenocarcinoma and malignant mesothelioma, the scattered single cell pattern of tumor cells preferentially indicated a mesothelioma origin. However, in general, cytologic findings of metastatic lobular carcinoma in the effusion have also been reported to show a single cell/mesothelial-like cell pattern, reminiscent of reactive mesothelial cells or malignant mesothelioma, which confounded the diagnosis. Danner et al.¹⁾ reported on the single cell appearance with a hyperchromatic nucleus and scanty cytoplasm, small cell cluster, linear arrangement and encircled or bull's-eye pattern as the basic pattern of a lobular carcinoma in the effusion. Jin et al.¹³⁾ reported a similar case with ours, in which lobular carcinoma recurred in

the effusion 16 years after surgery, and pointed out the difficulty for morphological distinction between lobular carcinoma and reactive/atypical mesothelial cells. However, these reports did not describe microvilli of tumor cells as a distinction between lobular carcinoma and mesothelioma cells, although we found long microvilli on the surface of tumor cells.

To our knowledge, many previous reports have emphasized long microvilli as a characteristic finding of malignant mesothelioma^{14,15)}, but not of lobular carcinoma in effusion cytology, although ultrastructural analysis revealed microvilli in lobular carcinoma cells¹⁶⁾. Although we do not know the rate of appearance of microvilli in the cytology of lobular carcinoma cases, it might be better not to consider microvilli of tumor cells as a specific finding of mesothelioma when using malignant effusion cytology. From these findings, we also thought that the distinction between metastatic lobular carcinoma of the breast and mesothelioma was quite difficult to diagnose without past clinical records and immunohistochemical studies.

However, there was also another pitfall in our case related to our use of immunohistochemistry in trying to make the distinction between lung adenocarcinoma, lobular carcinoma and mesothelioma. Previously, there have been many reports concerning immunohistochemical markers that have been used to distinguish between primary lung adenocarcinoma and mesothelioma. However, there have been only a few reports on the differential diagnosis between mesothelioma and metastatic carcinoma, especially breast carcinoma.

Most lung adenocarcinomas (more than 90%) have been reported to be positive for CEA, but it has been reported that more than half of breast adenocarcinoma also positive, and none of mesothelioma are positive for CEA^{17,18)}.

Estrogen receptor (ER) expression is not specific for breast adenocarcinoma. That has also been reported in 18% of lung adenocarcinoma cases¹⁹⁾. Of the ER families, expression of ER-beta has been reported in 79% of peritoneal mesothelioma²⁰⁾, but ER expression in pleural mesothelioma has not been reported.

Antic et al.²⁾ reported that all metastatic breast carcinomas in pleural and peritoneal effusions were positive for BerEp4, MOC-31, ER, B72.3 or CEA, and negative for calretinin, WT1, mesothelin, or cytokeratin 5/6. On the other hand, Morrison et al.²¹⁾ reported that positivity for MOC-31 was

抄 録

observed in 73% of metastatic breast adenocarcinomas and Pai et al.²²⁾ reported that 89% of invasive lobular carcinomas exhibited diffuse positive staining for MOC-31. In our additional examination, invasive lobular carcinomas were less positive for MOC-31 than invasive ductal carcinomas of the breast.

Saad et al.²³⁾ reported that 17 of 20 mesotheliomas were positive for calretinin, but three of 10 lung adenocarcinomas were also positive, thus, sensitivity of calretinin was high but specificity was low. As for breast carcinomas, Lugli et al.²⁴⁾ reported that 1.9% of invasive ductal carcinomas of the breast at primary sites were strongly positive for calretinin, whereas 10.2% of ductal carcinomas and 1.3% of lobular carcinomas at metastatic sites were strongly positive for calretinin, which implied that breast carcinomas tended to express calretinin at metastatic sites more than at primary sites. In our additional examination, calretinin expression was also observed in three of 16 invasive lobular carcinomas (19%), and in two of 24 invasive ductal carcinomas (8%) at primary sites. Although few calretinin positive cells in our effusion cytology might be non-neoplastic mesothelial cells mixed in tumor cells, we should recognize that some breast cancer cases would be positive for calretinin.

In conclusion, we have reported a rare case of malignant pleural effusion, in which a breast lobular carcinoma metastasized 28 years after surgery. The cytological pattern of the lobular carcinoma was quite similar to that of a mesothelioma, and none of the immunohistochemical phenotypes appeared to be specific enough to be able to distinguish between lung adenocarcinoma, mesothelioma and lobular carcinoma. Thus, awareness of the potential for very late recurrence of breast carcinomas, morphological resemblance between lobular carcinomas and mesotheliomas, and absence of any specific markers is important for accurate diagnosis of metastatic lobular carcinomas. Clinical record review and additional pleural biopsy would be helpful in difficult cases. We should always consider the possibility of making a diagnosis of a breast carcinoma when using effusion cytology, even though there is no primary tumor in the breast.

The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript.

目的：悪性中皮腫、肺腺癌との鑑別が困難であった乳癌再発症例を経験した。診断における形態学的、免疫組織化学的なピットフォールについての検討とあわせて報告する。

方法：28年前に乳癌の手術歴のある、右側悪性胸水をきたした62歳の女性症例を報告する。さらに16例の乳腺浸潤性小葉癌および24例の浸潤性乳管癌について免疫組織化学的検討を追加した。

成績：胸水穿刺細胞診では形態学的に悪性中皮腫が疑われた。Cell block 作製後の免疫染色で腫瘍細胞は、cytokeratin 7, EMA, calretinin, CEA, estrogen receptor 陽性, cytokeratin 20, MOC-31, cytokeratin 5, D2-40, WT-1, CD146, progesterone receptor, HER2, GCDPF-15, TTF-1, napsin A 陰性であった。これらの結果からは確定診断にはいたらず、最終的に転院先で施行された胸腔生検により、腫瘍は28年前に切除された右側浸潤性小葉癌の再発と診断された。

追加で行った検討では、乳癌のうちのおの浸潤性小葉癌16例中3例(19%)、浸潤性乳管癌24例中12例(50%)がMOC-31陽性、おのおの3例(19%)、2例(8%)がcalretinin陽性であった。

結論：悪性胸水における悪性中皮腫、原発性肺腺癌、乳癌再発の鑑別診断には形態学的、免疫組織化学的にピットフォールが存在する。診断に際してはこれらを念頭にいれ、既往歴と併せて慎重に鑑別することが重要である。

References

- 1) Danner, E. D., Gmelich, T. J. A comparative study of tumor cells from metastatic carcinoma of the breast in effusions. *Acta cytol* 1975 ; 19 : 509-518.
- 2) Antic, T., Gong, Y., Sneige, N. Tumor type and single-cell/mesothelial-like cell pattern of breast carcinoma metastases in pleural and peritoneal effusions. *Diagn Cytopathol* 2012 ; 40 : 311-315.
- 3) Shiraishi, N., Nakamura, A., Kakisako, K., Inomata, M., Adachi, Y., Kitano, S. Late Recurrence of breast cancer-report of eight cases. *J Jpn Surg Assos* 2002 ; 63 : 853-856.
- 4) Shimomura, M., Kagawa, N., Yamashita, M., Nakahara, H., Uru-shihara, T., Fukuda, Y. Local recurrence of breast cancer 32 years after modified radical mastectomy—A case report—. *J Jpn Surg Assos* 2008 ; 69 : 2499-2504.
- 5) Fukuda, N., Shibuya, K., Maruno, K., Sugiyama, Y., Mizuguchi, K., Murata, N. A case of breast cancer recurred by skin and lymph node metastasis 38 years after radical mastectomy. *J Jpn Surg Assos* 2008 ; 69 : 1620-1624.
- 6) Minagawa, S., Matsuama, A., Tsutsui, S., Inoue, A., Oota, M., Tagawa, T., et al. A case of breast cancer with metastasis to the bone and the chest wall at 50 years after mastectomy. *J Hiroshima Med Assos* 2010 ; 63 : 398-401.
- 7) Ishizuna, K., Ota, D., Fukuuchi, A., Teraoka, M., Fujii, A., Mori, M., et al. Two cases in which breast cancer recurred 25 or more years after mastectomy. *J Jpn Surg Assos* 2011 ; 72 : 863-868.

- 8) Karrison, G. T., Ferguson, J. D., Meier, P. Dormancy of mammary carcinoma after mastectomy. *J Natl Cancer Inst* 1999 ; 91 : 80-85.
- 9) Ono, M., Kosaka, N., Tominaga, N., Yoshioka, Y., Takeshita, F., Takahashi, R. U., et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells contain a microRNA that promotes dormancy in metastatic breast cancer cells. *Sci Signal* 2014 ; 332 : ra63.
- 10) Takahashi, H., Takahashi, M., Taguchi, K., Sasaki, F., Todo, S. Prognostic factors affecting the survival after recurrence of breast cancer. *J Jpn Surg Assos* 2002 ; 63 : 2875-2882.
- 11) Li, I. C., Anderson, O. B., Daling, R. J., Moe, E. R. Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma. *JAMA* 2003 ; 289 : 1421-1424.
- 12) Ehemann, R. C., Shaw, M. K., Ryerson, B. A., Miller, W. J., Ajani, A. U., White, C. M. The changing incidence of in situ and invasive ductal and lobular breast carcinomas : United States, 1999-2004. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009 ; 18 : 1763-1769.
- 13) Jin, M. Y., Hirshowitz, L. S., Apple, K. S. Metastatic lobular carcinoma of the breast in pleural fluid : diagnostic pitfall for mesothelial cells. *The Open Breast Cancer Journal* 2011 ; 3 : 49-52.
- 14) Yang, H. C. G. Long microvilli of mesothelioma are conspicuous in pleural effusions processed by ultrafast papanicolaou stain. *Cancer* 2003 ; 99 : 17-22.
- 15) DeMay, M. R. 2005. Cytology of malignant mesothelioma. In : *Malignant mesothelioma* : p481-489.
- 16) Eusebi, V., Pich, A., Macchiorlatti, E., Bussolati, G. Morphofunctional differentiation in lobular carcinoma of the breast. *Histopathol* 1977 ; 1 : 301-314.
- 17) Ordonez, N. G. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma. Differentiation of mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1989 ; 13 : 276-291.
- 18) Esteban, J. M., Felder, B., Ahn, C., Simpson, J. F., Battifora, H., Shively, J. E. Prognostic relevance carcinoembryonic antigen and estrogen receptor in breast cancer patients. *Cancer* 1994 ; 74 : 1575-1583.
- 19) Lau, S. K., Chu, P. G., Weiss, L. M. Immunohistochemical expression of estrogen receptor in pulmonary adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006 ; 14 : 83-87.
- 20) Pillai, K., Pourgholami, M. H., Chua, T. C., Morris, D. L. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013 ; 139 : 987-994.
- 21) Morrison, C., Marsh, W. J., Frankel, L. W. A comparison of CD10 to pCEA, MOC-31, and hepatocyte for the distinction of malignant tumors in the liver. *Mod Pathol* 2002 ; 15 : 1279-1287.
- 22) Pai, R. K., West, R. B. MOC-31 exhibits superior reactivity compared with Ber-EP4 in invasive lobular and ductal carcinoma of the breast : a tissue microarray study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2009 ; 17 : 202-206.
- 23) Saad, R. S., Lindner, J. L., Lin, X., Liu, Y. L., Silverman, J. F. The diagnostic utility of D2-40 for malignant mesothelioma versus pulmonary carcinoma with pleural involvement. *Diagn Cytopathol* 2006 ; 34 : 801-806.
- 24) Lugli, A., Forster, Y., Haas, P., Nocito, A., Bucher, C., Bissig, H., et al. Calretinin expression in human normal and neoplastic tissue : A tissue microarray analysis on 5233 tissue samples. *Hum Pathol* 2003 ; 34 : 994-999.

症 例

淡明細胞型腎細胞癌との鑑別に Giemsa 染色が 有用であった血管肉腫の 1 例

有安 早苗¹⁾ 柳井 広之²⁾ 福田由美子¹⁾ 中桐智香子¹⁾
佐藤 正和³⁾ 園部 宏⁴⁾

国立病院機構福山医療センター臨床検査科¹⁾, 岡山大学病院病理診断科²⁾, 国立病院機構岩国医療センター臨床検査科³⁾,
労働者健康安全機構岡山労災病院中央検査部病理診断科⁴⁾

背景：穿刺吸引細胞診にて淡明細胞型腎細胞癌との鑑別が問題となった血管肉腫を経験し、その診断に Giemsa 染色が有用であったので報告する。

症例：患者は 50 歳代、男性。体調不良の精査時に CT にて後腹膜腫瘍および多発転移を認めた。転移リンパ節より穿刺吸引細胞診および組織生検が行われた。細胞診パパニコロウ染色標本では、N/C 比が低く、細胞質がレース状で、核小体の目立つ明るい核を有する細胞が、上皮様結合を示す集塊で認められた。腎明細胞癌との鑑別が問題となったが、Giemsa 染色標本では明瞭な赤血球内包像を認め、血管肉腫を疑った。生検組織は大型円形～楕円形核をもつ細胞が密に増殖する像であった。免疫染色で腫瘍細胞は CD31, D2-40 陽性を示し、血管肉腫と診断された。

結論：血管肉腫はまれな腫瘍である。なかでも後腹膜血管肉腫は、画像診断が難しく、予後不良な腫瘍である。よって、穿刺吸引細胞診断は重要な位置づけにあり、精度の高い診断が望まれる。その細胞診断においては Giemsa 染色での赤血球内包像が有用であった。

Key words : Angiosarcoma, Giemsa staining, Erythrophagocytosis, Clear cell renal cell carcinoma

I. はじめに

血管肉腫は頭頸部皮膚に好発する高悪性度腫瘍で、後腹膜原発症例はまれである¹⁾。今回、CT 画像および転移巣の穿刺吸引細胞診 (fine needle aspiration cytology : FNAC) にて、淡明細胞型腎細胞癌 (clear cell renal cell carcinoma : CCRCC) との鑑別が問題となり、診断に Giemsa 染色が有用であった後腹膜血管肉腫を経験した。その細胞像を中心に報告する。

II. 症 例

患 者：50 歳代、男性。
既往歴、**家族歴**：特記事項なし。
現病歴：食欲不振、体重減少の精査目的で受診した。単

A case of angiosarcoma in which Giemsa staining was useful in differentiation from clear cell renal cell carcinoma

Sanae ARIYASU¹⁾, C. T., I. A. C., Hiroyuki YANAI²⁾, M. D., Yumiko FUKUDA¹⁾, C. T., I. A. C., Chikako NAKAGIRI¹⁾, C. T., Masakazu SATO³⁾, C. T., Hiroshi SONOBE⁴⁾, M. D.

¹⁾Department of Clinical Laboratory, National Hospital Organization Fukuyama Medical Center

²⁾Department of Pathology, Okayama University Hospital

³⁾Department of Clinical Laboratory, National Hospital Organization Iwakuni Medical Center

⁴⁾Department of Pathology, Japan Labour Health and Welfare Organization Okayama Rosai Hospital

論文別刷請求先 〒720-8520 広島県福山市沖野上町 4 の 14 の 17 国立病院機構福山医療センター臨床検査科 有安早苗

平成 29 年 2 月 2 日受付

平成 29 年 7 月 11 日受理

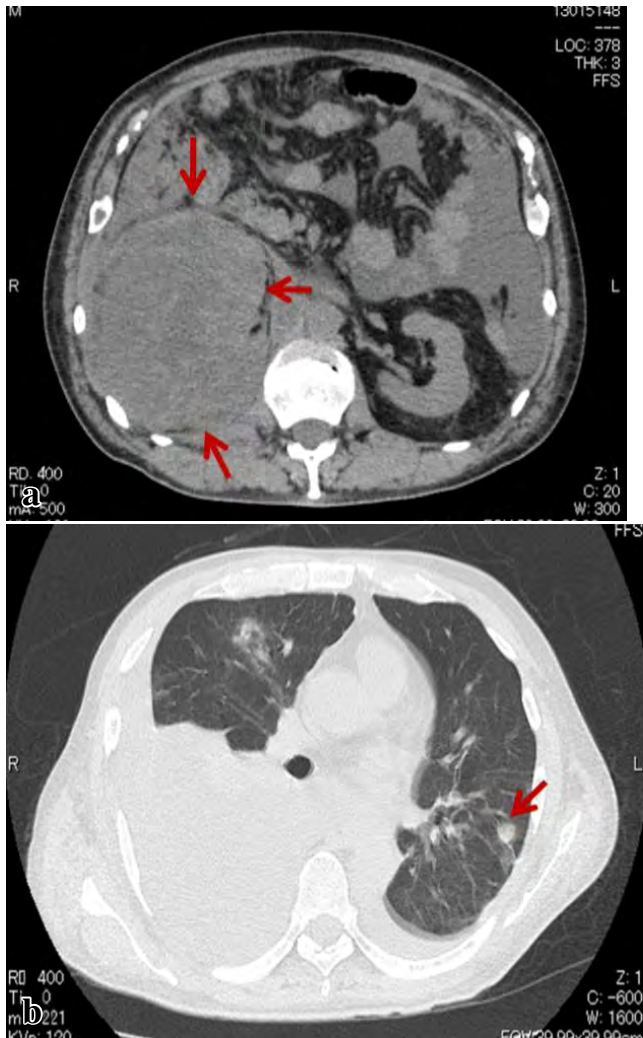


Photo. 1 a : Abdominal computed tomography scan findings. A large tumor measuring 13 cm at the maximum diameter is present in the right abdomen. b : Chest computed tomography scan findings. A metastatic nodule is visible in the left lung.

純 CT では右腎は原型をとどめず、長径 13 cm 程度の内部構造不均一な大きな腫瘍となり、腎周囲や肝実質への浸潤を認めた (Photo. 1a)。また、大量の腹水貯留や多発転移を認めた (Photo. 1b)。本腫瘍の良悪性および組織型推定を目的に、転移リンパ節の一つである鎖骨上窩リンパ節より FNAC が施行され細胞像から血管肉腫を疑った。確定診断のため施行された同部位のリンパ節生検にて血管肉腫と診断された。その後、化学療法を開始したが効果がなく、全身状態が悪化し、初診より 35 日後に死亡した。

III. 細胞所見

パパニコロウ染色標本では、多数の変性赤血球、小型リ

ンパ球を背景に、上皮様結合を示す細胞集塊を認めた (Photo. 2a)。核が外方に配列する腺様集塊もみられた。個々の細胞は比較的 N/C 比が低く、細胞質は淡明、レース状で、核小体の目立つ明るい類円形核を有していた (Photo. 2b)。集塊周囲には弧在性異型細胞も多数みられ、一部には核が圧排された印環細胞様細胞も認めた (Photo. 2c)。細胞質のレース状所見や異型に乏しい核所見、ならびに CT 画像所見で腎癌を疑っていたことから、CCRCC が鑑別に挙げられた。

Giemsa 染色標本でも同様に、強い出血性背景に上皮様集塊、弧在性細胞を認めた。強拡大像では、腫瘍細胞の細胞質に内包される多数の赤血球がみられた (Photo. 3a)。また、ヘモジデリンが沈着した腫瘍細胞もみられた (Photo. 3b)。

FNAC 穿刺針洗浄液から作製した LBC 標本 (BD Sure Path, Cytorich Red) で行った免疫染色では、腫瘍細胞は CD31, D2-40 に陽性を示した (Photo. 4)。

Giemsa 染色標本の赤血球内包および免疫染色結果から、細胞判定は悪性、推定病変は血管肉腫とした。

また、腹水細胞診では、強い炎症を背景に核腫大した弧在性細胞を少数認めたが、これらは免疫染色にて CD31 陰性を示し、腹水中に血管肉腫由来の細胞は確認できなかった。

IV. 組織所見

後腹膜原発巣の生検組織は壊死が主体で診断不能であったため、穿刺吸引細胞診と同部位のリンパ節生検にて組織診断が行われた。リンパ節断面は肉眼的に黒色調で、組織学的にも高度な出血を伴っていた。HE 標本では、大型円形～楕円形核をもつ細胞が密に増殖し、核分裂像を散見した (Photo. 5)。免疫染色で腫瘍細胞は CD31 に陽性 (Photo. 6a)、D2-40 は部分陽性 (Photo. 6b)、CD34, Factor VIII は陰性を示した。以上の染色結果より血管肉腫と診断された。なお、CCRCC で陽性を示す CD10, PAX8 は陰性であった。

V. 考 察

血管肉腫は全肉腫の 1% 未満とまれな腫瘍であり¹⁾、皮膚、潜在性軟部組織に好発するが、種々の臓器での発生が報告されている²⁾。軟部発生のみならず後腹膜発生は特に頻度が低く、全血管肉腫の 3% 程度といわれる³⁾。後腹膜発生の血管肉腫の臨床的特徴は、腫瘍が周囲臓器を圧排するまで無症状のことが多いうえ、術前の画像診断も難しく、

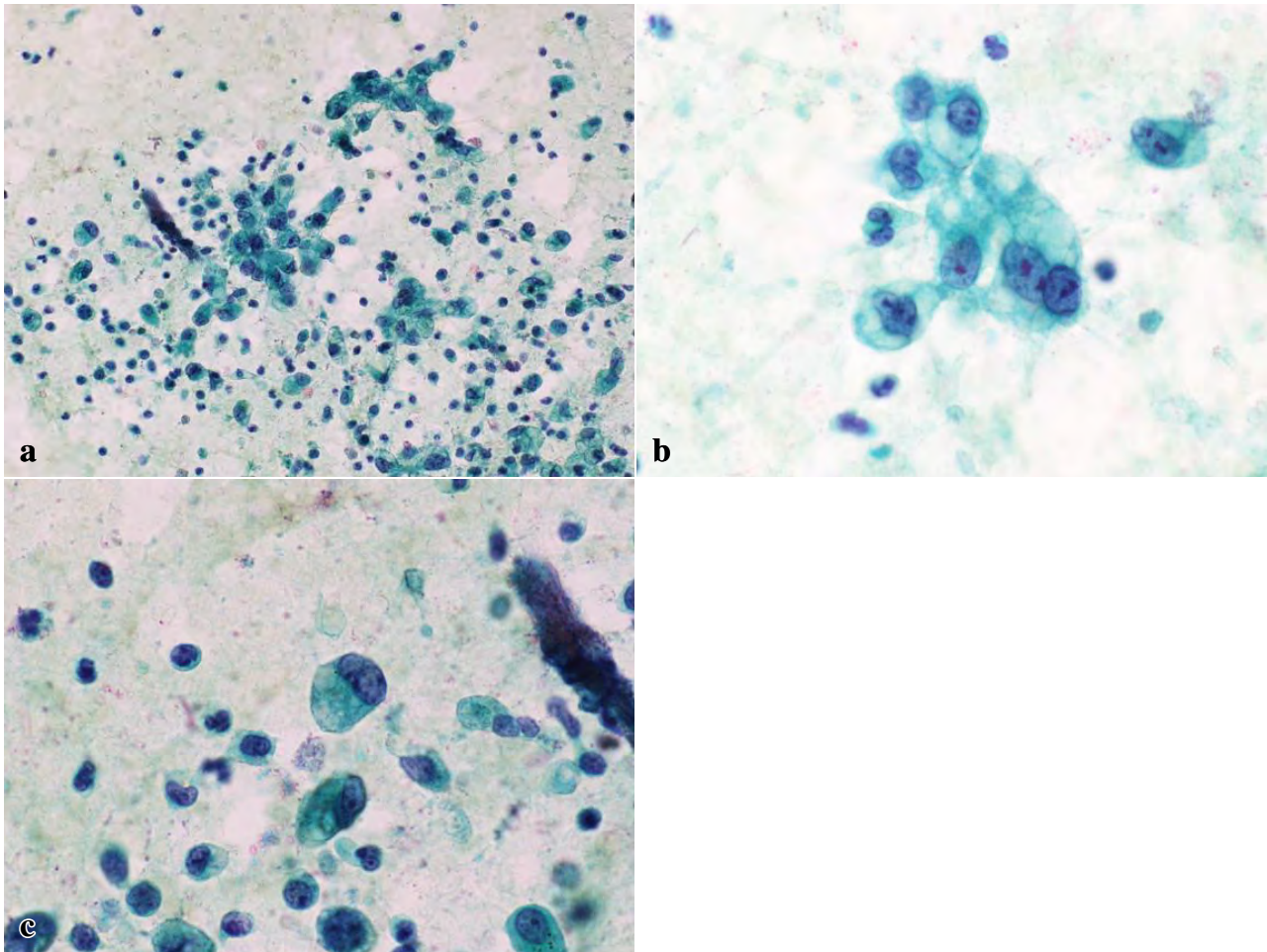


Photo. 2 Cytological findings of a supraclavicular lymph node (Pap. staining, a : $\times 20$, b, c : $\times 60$). a : Epithelioid clusters are present in a hemorrhagic background. b : The epithelioid cells have clear nuclei with prominent nucleoli and vacuolated cytoplasm. c : Signet ring-like cells.

きわめて予後不良とされる⁴⁾。野口ら⁵⁾の血管肉腫 19 例をまとめた報告でも、術前画像検査で血管肉腫と診断された症例はないとされ、術前 FNAC での組織型推定は重要な位置づけにあると考えられる。本例も画像所見からは腎癌が疑われていた。

血管肉腫の組織像は腫瘍細胞が管腔形成し赤血球を入れる血管腫状部、紡錘形細胞が束状配列する紡錘形細胞部、上皮様大型類円形細胞がシート状や胞巣状配列を示す未分化部、の 3 つの発育形態が相互に移行し混在する像を示す。また、CD31, CD34, factor VIII など血管内皮マーカーを高頻度に発現することが特徴とされる²⁾。このような組織像を反映する細胞所見として、血管腔形成像を反映した腺房様配列集塊、細胞質内血管腔を反映する印環細胞様細胞、赤血球内包像などが血管肉腫に特徴的な細胞像といわれている^{6~9)}。本例においては印環細胞様細胞 (Photo. 2c) と赤血球内包像 (Photo. 3a) を認めたが、最も高頻度に観察されるといわれている腺房様配列集塊は認めなかった。

これは、本例は上皮様類円形細胞がシート状や胞巣状配列で増殖する未分化部分が主体であったためと考える。

血管肉腫の細胞像に関する報告の多くは乳癌 FNAC 症例であり、なかでも乳癌治療後の続発性血管肉腫に関する報告が多い^{6,8)}。一方、後腹膜腔発生の血管肉腫に関する報告は少なく⁵⁾、腎腫瘍との鑑別を論じた報告はない。

本例は、画像所見から腎癌が疑われていたことと、パパニコロウ染色標本での異型に乏しい細胞所見から、腎明細胞癌との鑑別を要した。Photo. 7 に腎明細胞癌の細胞像を示す。パパニコロウ染色標本における細胞集塊の形状、N/C 比、核所見は本例と非常によく似ているが、細胞質の空胞状所見に違いがあり、本例では隔壁の明瞭なレース状であるのに対し、腎明細胞癌では泡沫状である (Photo. 7a)。さらに Giemsa 染色標本では、腎明細胞癌はパパニコロウ染色標本同様、微細空胞が密に充満しているのに対し (Photo. 7b)、本例ではパパニコロウ染色標本でレース状に観察された部分に赤血球が内包されている。両者はパパニ

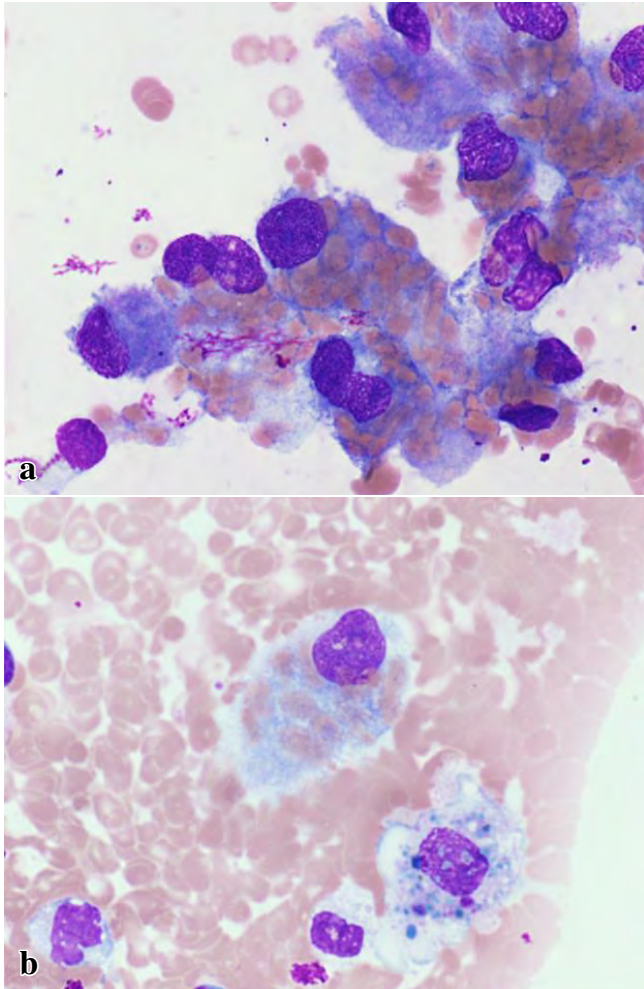


Photo. 3 Cytological findings of a supraclavicular lymph node (Giemsa staining, $\times 60$). a : Erythrophagocytosis. b : Intracytoplasmic hemosiderin pigments.

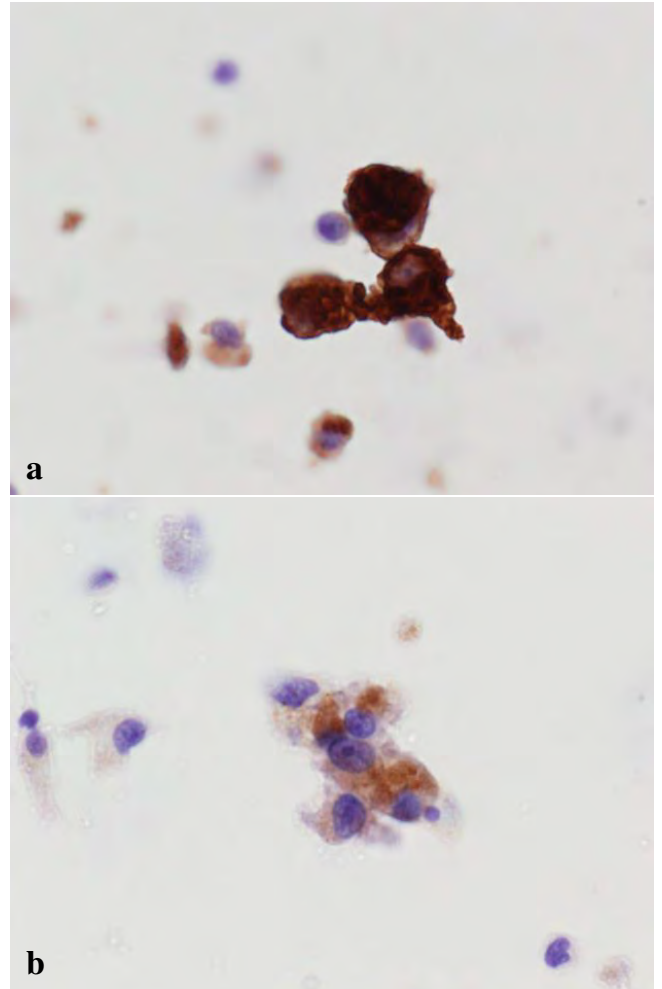


Photo. 4 Immunocytochemical findings ($\times 60$). a : CD31. b : D2-40. The tumor cells show prominent cytoplasmic staining with CD31 and D2-40.

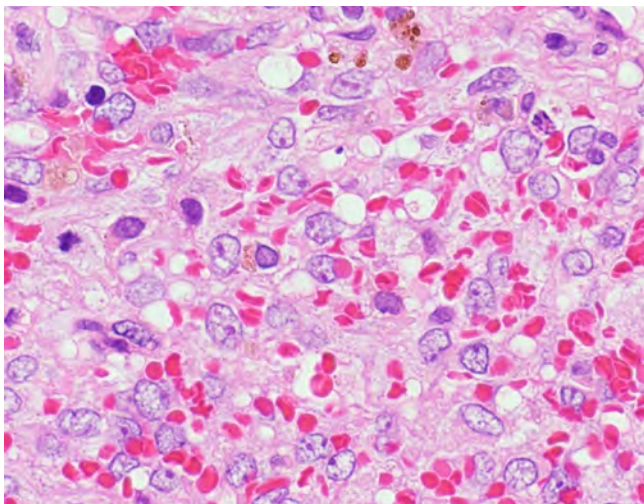


Photo. 5 Histological findings (Hematoxylin and eosin staining, $\times 60$). The tumor shows dense proliferation of epithelioid tumor cells with a vacuolated cytoplasm. Some tumor cells contain erythrocytes in their cytoplasm.

コロウ染色標本の所見は酷似しているものの、Giemsa 染色標本で観察される強い出血性背景や、赤血球を内包する細胞質所見が鑑別点になると考える。

Giemsa 染色標本が細胞所見をとらえるのに非常に有用な例はこれまでも多数報告されている^{10,11)}。異染性を利用した間質粘液の証明や造血系腫瘍の細胞質内顆粒、神経内分泌細胞の顆粒などは診断の鍵となる所見である。細胞質の質感を反映する染色性は体腔液中細胞の由来を判断する重要な所見になる。本例の赤血球内包像も診断の鍵となる Giemsa 染色標本ならではの重要な所見である。

今回、細胞像で腎明細胞癌と鑑別を要する血管肉腫を経験した。血管肉腫は Giemsa 染色標本の所見から本腫瘍を推察し、免疫染色に CD31, D2-40 を選択することで、FNAC での診断が可能な腫瘍と考える。そのためには、細胞像の特徴から本腫瘍を鑑別に挙げられることが肝要である。

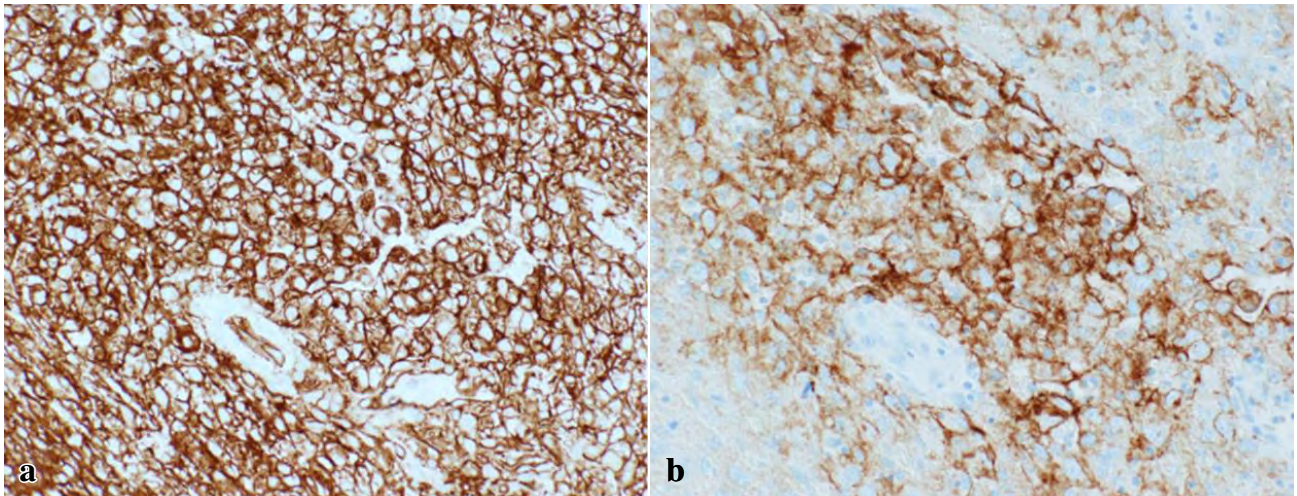


Photo. 6 Immunohistochemical findings ($\times 20$). a : CD31. b : D2-40. The tumor cells show prominent membrane staining with CD31 and D2-40.

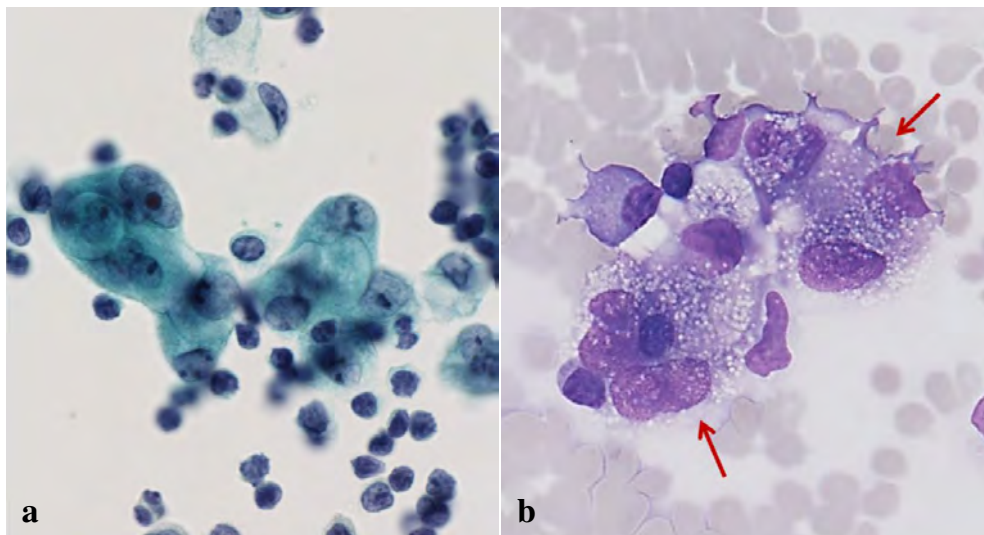


Photo. 7 Cytological findings of clear cell renal cell carcinoma ($\times 60$). a : Pap. staining. b : Giemsa staining. The tumor cells are similar to angiosarcoma cells, but no erythrocytes are seen in their cytoplasm.

VI. 結 語

Abstract

血管肉腫は発生頻度の低いまれな腫瘍であるが、原発不明腫瘍として転移リンパ節で遭遇する機会はある。画像診断が難しく、予後不良な腫瘍であることから、穿刺吸引細胞診断は重要な位置づけにあり、精度の高い診断が望まれる。その細胞診断においては Giemsa 染色所見が非常に有用な腫瘍と考える。

本論文に関して開示すべき利益相反状態はありません。

Background : We report herein on a case of metastatic angiosarcoma that appeared similar to clear cell renal cell carcinoma on fine needle aspiration. Giemsa staining was useful for the differential diagnosis.

Case : A man in his 50s presented in poor physical condition. Imaging examinations revealed a retroperitoneal tumor and multiple metastases. On aspiration cytology, there were epithelioid cell clusters in a hemorrhagic background. The epithelioid cells had clear nuclei with prominent nucleoli and vacuolated cytoplasm. Although these cytological findings were similar to those of clear cell renal cell carcinoma,

erythrophagocytosis was noted on Giemsa staining.

Histologically, the tumor showed nested proliferation of polygonal cells with large round nuclei. No vascular formation was seen. The tumor cells were positive for CD31 and D2-40. Based on these findings, the tumor was diagnosed as an angiosarcoma.

Conclusion : Giemsa staining highlighted erythrophagocytosis, which is a characteristic of angiosarcoma and is useful in cytological diagnosis.

文 献

- 1) Weiss, S.W., Godblum, J.R. Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors (5th ed.). Philadelphia : Mosby ; 2008. pp 703-721.
- 2) 岩田 純. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 軟部腫瘍. 東京 : 文光堂 ; 2011. pp 95-100.
- 3) Naka, N., Ohsawa, M., Tomita, Y., Kanno, H., Uchida, A., Aozasa, K. Angiosarcoma in Japan. A review of 99 cases. *Cancer* 1995 ; 75 : 989-996.
- 4) 中村小源太, 絹川 常, 田中國晃, 辻 克和, 古川 亨, 橋本好正・ほか. 後腹膜腔に発生した血管肉腫の1例. *泌尿紀要* 2000 ; 46 : 169-171.
- 5) 野口 剛, 太田純一, 石垣華子, 小貫竜昭, 加藤善健, 森山正敏. recombinant interleukin-2 が奏功した後腹膜血管肉腫の1例. *日泌尿会誌* 2012 ; 103 : 697-703.
- 6) Pohar-Marinesk, Z., Lamovvec, J. Angiosarcoma in FNA smear : diagnostic accuracy, morphology, immunocytochemistry and differential diagnosis. *Cytopathol* 2010 ; 21 : 311-319.
- 7) Lui, K., Layfield, L. Cytomorphologic features of angiosarcoma on fine aspiration biopsy. *Acta Cytotol* 1999 ; 43 : 407-415.
- 8) 尾田三世, 有廣光司, 金子佳恵, 清水智美, 小田 恵, 丸橋由加里・ほか. 乳房皮膚に発生した続発性血管肉腫の1例. *広島臨細胞会誌* 2015 ; 36 : 73-78.
- 9) Geller, R. L., Hookim, K., Sullivan, H. C., Stuart, L. N., Edgar, M. A., Reid, M. D. Cytologic feature of angiosarcoma : A review of 26 cases diagnosed on FNA. *Cancer Cytopathol* 2016 ; 124 : 659-668.
- 10) 西 国広. 迅速細胞診におけるギムザ染色の活用—体腔液—. *Medical Technology* 2002 ; 30 : 813-822.
- 11) 西 国広. 細胞診断におけるパパニコロウ染色, ギムザ (メイギムザ) 染色の利点と欠点. *Medical Technology* 2005 ; 33 : 88-92.

症 例

腰髄に転移した atypical teratoid/rhabdoid tumor の 髄液細胞診の 1 例

橋本 哲也¹⁾ 金室 俊子¹⁾ 野並 裕司¹⁾ 藍原 康雄²⁾
川俣 貴一²⁾ 山本 智子^{3,4)} 澤田 達男^{3,4)} 長嶋 洋治³⁾

東京女子医科大学病院中央検査部病理検査室¹⁾, 同 脳神経外科²⁾,
同 病理診断科³⁾, 東京女子医科大学第一病理学教室⁴⁾

背景 : Atypical teratoid/rhabdoid tumor (AT/RT) は小児に好発するまれな高悪性度中枢神経系胎児性脳腫瘍で, WHO 分類では grade IV に分類される. 今回, われわれは術後再発し, 腰髄に転移した AT/RT を経験したので, 髄液細胞診を中心に報告する.

症例 : 7 歳男児, 脳幹部に発生した AT/RT の既往があり, 術後に放射線治療と化学療法が行われ, 経過観察されていた. 手術から 3 年後に急性水頭症となり, 画像検査上, 腰髄 (L4-5) に転移が示唆された. 髄液細胞診では好酸性細胞質封入体をもつラブドイド細胞を含む異型細胞が観察された. 細胞診断は陽性で, 免疫細胞化学では INI-1 陰性が確認され, AT/RT の転移と推定診断された.

結論 : 術後 3 年で腰髄転移をきたし, 髄液細胞診を行った AT/RT の 1 例を経験した. 乳幼児または小児の髄液中に類円形異型細胞の増生が観察され, 特にラブドイド細胞を認めた場合, INI-1 の発現の有無を確認するための免疫染色が有用と考える.

Key words : Atypical teratoid/rhabdoid tumor, Cerebrospinal fluid cytology, INI-1, Case report

I. はじめに

Atypical teratoid/rhabdoid tumor (AT/RT) は, 乳幼児期に好発する胎児性脳腫瘍の一つで, 小児脳腫瘍の 1~2% を

占める. 多くは, 1 年以内に死亡する高悪性度腫瘍で WHO 分類では grade IV に分類される¹⁾. 今回, われわれは術後 3 年で, 腰髄転移をきたした AT/RT の症例を経験したので, 髄液中にみられた腫瘍細胞像を中心に報告する.

II. 症 例

症 例 : 7 歳, 男児.

家族歴・生育歴 : 特記すべき事項なし.

3 歳時, 繰り返す嘔吐のため来院した. 画像上, 延髄左外側から左小脳脚にかけて広がる腫瘍性病変が認められた (Photo. 1a). 脳幹部悪性腫瘍が疑われ, 当院脳神経外科で開頭腫瘍摘出術が施行された. 病理組織学的に AT/RT と診断され, 術後, 放射線療法と化学療法を施行, 経過観察されていた. しかし, 術後約 3 年で急性水頭症のため救急搬送された. 原発部位には画像上明らかな腫瘍は認められなかったが (Photo. 1b), L4-5 椎体レベルを中心とした硬

Atypical teratoid/rhabdoid tumor metastasizing to the lumbar spinal cord—A case report with cerebrospinal fluid cytological findings—

Tetsuya HASHIMOTO¹⁾, C. T., Toshiko KANAMURO¹⁾, C. T., I. A. C., Yuji NONAMI¹⁾, C. T., I. A. C., Yasuo AIHARA²⁾, M. D., Takakazu KAWAMATA²⁾, M. D., Tomoko YAMAMOTO^{3,4)}, M. D., Tatsuo SAWADA^{3,4)}, M. D., Yoji NAGASHIMA³⁾, M. D.

¹⁾Laboratory of Pathology, ²⁾Department of Neurosurgery, ³⁾Department of Surgical Pathology, Tokyo Women's Medical University Hospital

⁴⁾Department of Pathology, Tokyo Women's Medical University
論文別刷請求先 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8 の 1 東京女子医科大学病院中央検査部病理検査室 橋本哲也

平成 29 年 3 月 24 日受付

平成 29 年 6 月 7 日受理

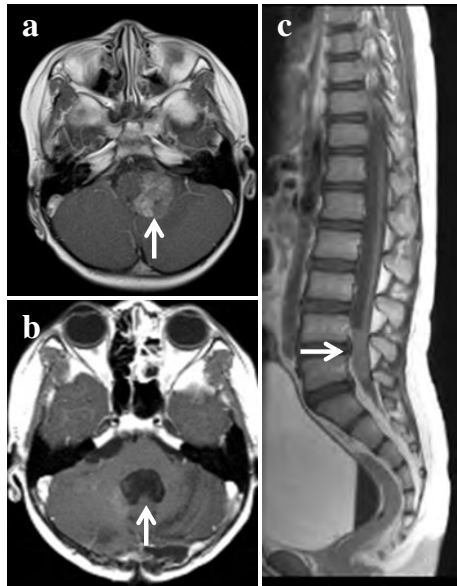


Photo. 1 Findings of magnetic resonance imaging.
 a : The initial MRI revealed a tumor occupying the left lateral part of the medulla oblongata and the left cerebellar peduncle. b : In the MRI obtained 3 years after the surgery, while no recurrence was observed at the operative site. c : A tumor was observed in the intradural space at the L4-5 level.

膜内腫瘍が仙髄終末部と連続性につながっていることが伺えた (Photo. 1c). 髄液細胞診が施行され、細胞診断は陽性で、AT/RTの転移と推定された。その後、約1年で大量化学療法後の重症免疫不全による合併症のため亡くなられた。

III. 手術時病理組織所見

類円形核を有する腫瘍細胞が、血管間質に沿って、乳頭状ないし偽ロゼット状に増生していた (Photo. 2a, b)。また、細胞相互間の結合性を欠き特定の構造を形成しない部分も観察された (Photo. 2c)。好酸性細胞質封入体をもつラプトイド細胞もみられた (Photo. 2c, inset)。免疫染色では、vimentin, epithelial membrane antigen (EMA), α -smooth muscle actin (SMA) (+); desmin, glial fibrillary acidic protein (GFAP), INI-1 (-) で (Photo. 2d, e), AT/RT と診断された。

IV. 再発時髄液細胞所見

Papanicolaou 染色では、血液成分や炎症細胞を背景に、

N/C 比が高く、核偏在性で、明瞭な核小体をもつ異型細胞を集塊状ないし散在性に認めた (Photo. 3a)。細胞質内に封入体様の所見を呈するラプトイド細胞が散見された。核分裂像や相互封入像も認められた。Giemsa 染色でも同様に、ラプトイド細胞を認めた (Photo. 3b)。PAS 反応では、封入体様構造の部分に明らかな陽性所見は認められなかったが、細胞質に顆粒状に陽性を示した (Photo. 3c)。細胞転写法による免疫染色では、vimentin, GFAP, SMA (+); EMA, desmin, CD99, INI-1 (-) を示した (Photo. 3d-f)。

セルブロック標本では、核偏在性で明瞭な核小体をもつ異型細胞を少数認めた。集塊形成は認めなかった。セルブロック標本での免疫染色では、vimentin, SMA(+); EMA, desmin, CD99, GFAP, INI-1 (-) を示した。以上より、AT/RTの髄液播腫と推定診断された。

V. 考 察

胎児性脳腫瘍は髄芽腫、中枢神経系神経外胚葉性腫瘍 (CNS PNET)、AT/RTの3つの腫瘍型に分類され、それぞれの型によって予後や治療法の選択が異なっているため、それらの鑑別診断が重要であるとされている²⁾。

AT/RTは小児に好発する悪性の中枢神経系腫瘍で、小児脳腫瘍の1~2%を占め、3歳以下に好発する。性差は、男児が女児と比較して1.6~2倍高い¹⁾。初発症状は、頭蓋内圧亢進による嘔気・嘔吐であることが多い。好発部位は後頭蓋窩が多いとされてきたが、近年の免疫組織学・遺伝子解析により診断精度が向上し、テント上からの発生がテント下と比べて1.3倍高いといわれている³⁾。病理組織学的には、PNET様要素および間葉系、上皮系要素など多彩な組織要素を含む腫瘍で、好酸性細胞質封入体をもつラプトイド細胞の出現を特徴としているが、明らかな封入体構造をもたない小型腫瘍細胞の出現を認めることもある^{2,3)}。神経鞘腫でみられるような柵状配列や、上衣腫でみられるような血管周囲型偽ロゼット構造がみられる報告もある⁴⁾。遺伝子異常としては、例外症例を除き、特徴的なINI-1/*hSNF5* 遺伝子の不活性化を伴っている。INI-1 遺伝子は22番染色体長腕 (22q11.2) にあり、ATP依存性 switch and sucrose non-fermenting (SWI/SNF) chromatin remodeling complex の構成因子であり、細胞の増殖や分化に関与する種々の遺伝子発現を制御し、癌抑制遺伝子としての機能を有する⁵⁾。INI-1 蛋白は正常細胞やほとんどの腫瘍性細胞の核に発現しているが、AT/RT、悪性ラプトイド腫瘍、類上皮肉腫では陰性化する⁶⁾。そのためAT/RTの診断に当たっては免疫組織化学によって、INI-1の陰性化を確認することが重要である。しかし、最近ではINI-1 遺伝子変異がみ

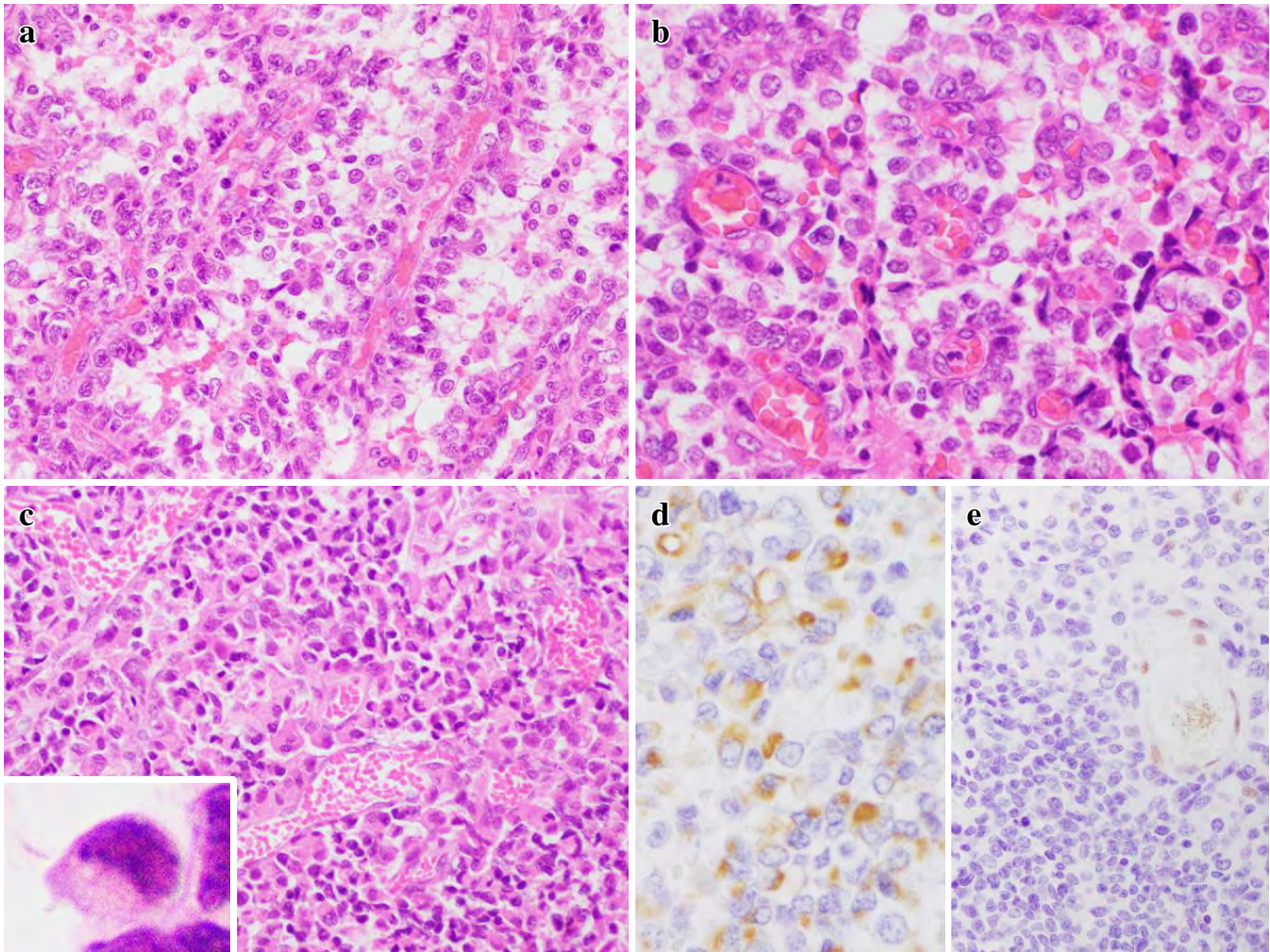


Photo. 2 Histological and immunohistochemical findings of the resected specimen.

a, b : Tumor cells forming pseudopapillary and pseudorosette structures (H & E staining, $\times 40$). c : Solid growth without specific structures is also observed (H & E staining, $\times 40$). The tumor contains rhabdoid cells possessing eccentric nuclei, eosinophilic cytoplasm and intracytoplasmic inclusion bodies (inset, $\times 100$). d : The tumor cells show positive cytoplasmic immunostaining for vimentin ($\times 40$). e : The tumor cells are negative for INI-1 expression ($\times 40$).

られず INI-1 陽性の AT/RT 報告も確認されている。これは、*INI-1* 遺伝子と同様に ATP 依存性 SWI/SNF chromatin remodeling complex の構成因子に属する *BRG1* 遺伝子が不活化を示すことが報告されている^{7,8)}。

AT/RT の髄液中における細胞学的特徴として、1: 大型の細胞、2: 明瞭な核小体を伴い偏在する核、3: 孤在性もしくは結合性の弱い腫瘍細胞集塊を形成、4: 背景の炎症細胞出現、という報告がある^{9,10)}。本例は AT/RT の既往があり、画像上腰髄転移が示唆された時の髄液細胞診で、これらの特徴に一致する細胞所見を認め、セルブロック法・細胞転写法による免疫染色で INI-1 陰性であったことから、陽性、AT/RT の転移と推定診断された。細胞診断上、AT/RT との鑑別疾患として、髄芽腫、PNET、rhabdoid meningioma、MPNST、悪性リンパ腫、横紋筋肉腫（胎児型）、転移性低分化癌、悪性黒色腫などが挙げられる。しかし、

これらを細胞像のみで鑑別するのは困難であり、診断確定のためには免疫細胞化学で INI-1 の陰性化を確認することが必要である。本例では、既往より組織型の推定が比較的容易であったが、乳幼児期や小児期で髄液中にラブドイド細胞を含む類円形細胞の増生を認めた際には、細胞診においても INI-1 を含む複数の一次抗体を用いた免疫細胞化学を考慮する必要があると考えられる。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は第 57 回日本臨床細胞学会春期大会（2016 年 5 月）において発表した。

謝辞：本論文を執筆するにあたり、ご協力頂きました東京女子医科大学病院 坂寄 隆司技師に深謝致します。

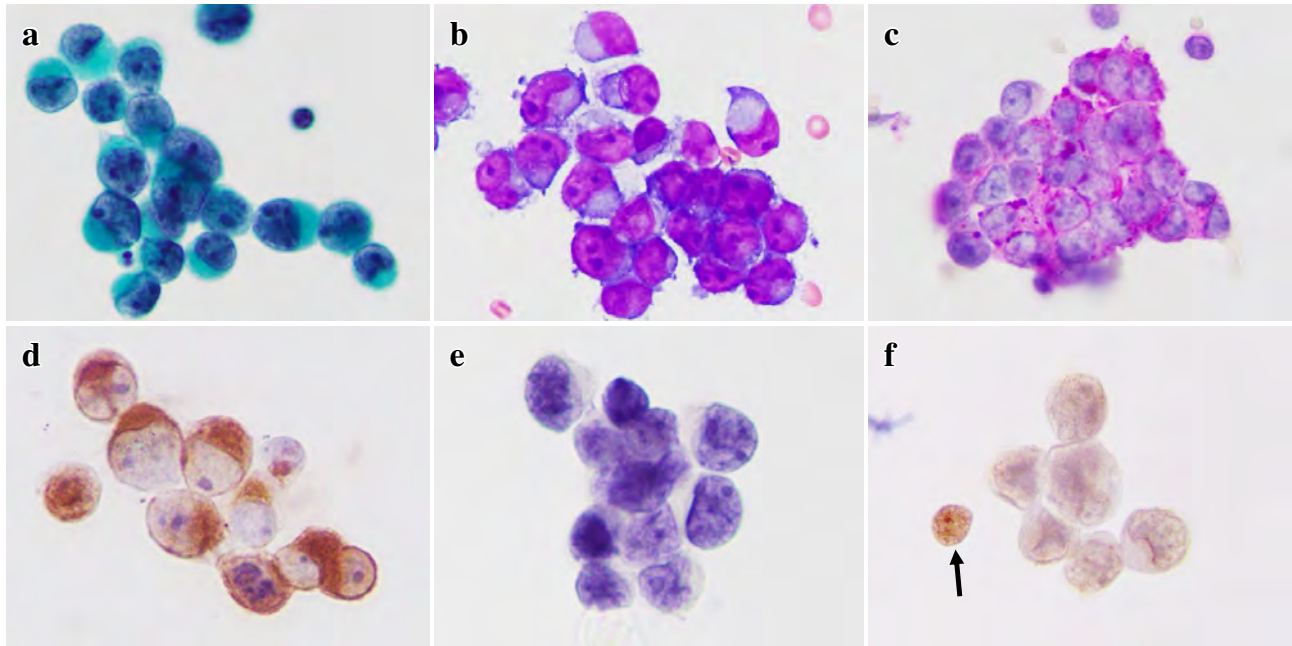


Photo. 3 Cytological and immunocytochemical findings on cell transfer technique.

a, b : Atypical cells showing a high nuclear/cytoplasmic ratio with eccentric nuclei and prominent nucleoli. Rhabdoid cells are observed (a : Papanicolaou staining, b : Giemsa staining, $\times 100$). c : Cytoplasm show granular PAS reaction ($\times 100$). d : The atypical cells show positive cytoplasmic immunostaining for vimentin ($\times 100$). e : The atypical cells show negative immunostaining for desmin ($\times 100$). f : The atypical cells lack INI-1 expression, whereas the lymphocytes show positive immunostaining for the protein (arrow) ($\times 100$).

Abstract

文 献

Background : Atypical teratoid/rhabdoid tumor (AT/RT) is a rare embryonal neoplasm of the central nervous system, classified into WHO grade IV, that frequently affects young children. Herein, we report the cerebrospinal fluid (CSF) cytological findings in a case of AT/RT in a case with postoperative development of intradural metastasis at the lower lumbar vertebral level with CSF dissemination.

Case : A 7-year-old boy with AT/RT of the brain stem was treated by surgery and postoperative chemotherapy and radiation. Three years after the surgery, he presented with hydrocephalus of acute onset. Magnetic resonance imaging of the head revealed a tumorous lesion in the lumbar spinal cord. Cytology of the CSF showed atypical round cells with occasional rhabdoid morphology, and immunohistochemistry revealed negative staining of the cells for INI-1 protein. Based on these findings, the patient was diagnosed as having recurrent metastatic AT/RT.

Conclusion : To establish the cytological diagnosis of AT/RT, it is important to demonstrate the absence of INI-1 protein expression by immunocytochemistry, especially when the tumor cells exhibit round cell morphology with rhabdoid cells.

- 1) Judkins, A. R., Eberhart, C. G., Wesseling, P., Hasselblatt, M. Atypical teratoid/rhabdoid tumor. Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., eds. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Lyon : IARC Press : pp209-212, 2016.
- 2) 平戸純子. 胎児性脳腫瘍の鑑別病理診断. *Neuro-Oncol 進歩* 2014 ; 21 : 9-21.
- 3) 岡 秀宏. Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor (AT/RT) の最新知見. *Neuro-Oncol 進歩* 2013 ; 20 : 12-16.
- 4) Horiguchi, H., Nakata, S., Nobusawa, S., Uyama, S., Miyamoto, T., Ueta, H. et al. Adult-onset atypical teratoid/rhabdoid tumor featuring long spindle cells with nuclear palisading and perivascular pseudorosettes. *Neuropathology* 2017 ; 37 : 52-57.
- 5) DiPatri, A. J. Jr., Sredni, S. T., Grahovac, G., Tomita, T. Atypical teratoid/rhabdoid tumors of the posterior fossa in children. *Childs Nerv Syst* 2015 ; 31 : 1717-1728.
- 6) 松山篤二, 久岡正典. 腫瘍の鑑別に用いられる抗体 (各臓器別) 軟部 免疫組織化学 診断と治療選択の指針. *病理と臨* 2014 ; 32 (臨時増刊号) : 268-273.
- 7) Hasselblatt, M., Gesk, S., Oyen, F., Rossi, S., Viscardi, E., Giangaspero, F. et al. Nonsense mutation and inactivation of

- SMARCA4 (BRG1) in an atypical teratoid/rhabdoid tumor showing retained SMARCB1 (INI-1) expression. *Am J Surg Pathol* 2011 ; 35 (6) : 933-935.
- 8) Schneppenheim, R., Fruhwald, M. C., Gesk, S., Hasselblatt, M., Jeibmann, A., Kordes, U., et al. Germline nonsense mutation and somatic inactivation of SMARCA4/BRG1 in a family with rhabdoid tumor predisposition syndrome. *Am J Hum Genet* 2010 ; 86 (2) : 279-284.
- 9) Lu, L., Wilkinson, E. J., Yachnis, A. T. CSF Cytology of atypical teratoid/rhabdoid tumor of the brain in a two-year-old girl : A case Report. *Diagn Cytopathol* 2000 ; 23 : 329-332.
- 10) Huang, E. C., Guzman, M. A., De Girolami, U., Cibas, E. S. Cytologic characterization of atypical teratoid/rhabdoid tumor in cerebrospinal fluid. *Cancer Cytopathol* 2014 ; 122 : 903-908.
-

症 例

子宮内膜細胞診から推定しえた胆嚢癌子宮転移の 1 例

齊藤 真¹⁾ 松永 竜也¹⁾ 最上 多恵¹⁾ ルイズ横田奈朋¹⁾
 日比谷孝志²⁾ 古屋 充子²⁾ 佐藤美紀子¹⁾ 宮城 悦子¹⁾

横浜市立大学附属病院産婦人科¹⁾, 同 病理診断科・病理部²⁾

背景：子宮外原発悪性腫瘍の子宮転移はまれで、特に胆嚢癌の子宮転移の報告は少ない。われわれは子宮内膜細胞診で胆嚢癌の子宮転移を疑いえた 1 例を経験したので報告する。

症例：55 歳，4 経妊 3 経産。胆嚢癌の初回治療終了 2 年後に不正性器出血を伴う下腹痛を認め当科を受診した。画像所見で子宮体部後壁筋層内に 30 mm の不整形で内部が不均一な腫瘍が検出された。子宮内膜細胞診では、比較的綺麗な背景に、長楕円形の核を有する高円柱形の異型細胞集塊が一部重積性を伴ってシート状に出現していた。子宮内膜組織診では、異型腺組織が既存の内膜腺と筋層内に飛び地状に浸潤する像がみられた。いずれも典型的な類内膜癌と異なる所見で、既往の胆嚢癌の転移が疑われた。出血の治療と確定診断目的に開腹術を施行した。骨盤内では、ダグラス窩が子宮と直腸とに癒着した腫瘍で占拠され、子宮の完全摘出は困難だった。

結論：摘出検体の組織診では腫瘍細胞が内膜間質および筋層内に飛び地状に浸潤する既往の胆嚢癌と同様の像がみられた。免疫染色でも既往の胆嚢癌検体と一致した所見であり、最終的に胆嚢癌の子宮転移と診断した。

Key words : Gallbladder cancer, Metastasis, Uterine tumor, Endometrial cytology, Immunohistochemistry

I. 緒 言

子宮外原発悪性腫瘍の子宮転移は子宮悪性腫瘍の 0.001-0.1%^{1,2)}と少なく、胆嚢癌からの転移はそのうち 1.5%¹⁾であり、子宮頸部または内膜細胞診・組織診像を観察する機会は非常にまれである。今回われわれは、腹痛、不正性器出血を主訴に受診した症例に対し子宮内膜細胞診所見から

A case of metastatic uterine carcinoma from gallbladder cancer suspected by endometrial cytology

Shin SAITO¹⁾, M.D., Tatsuya MATSUNAGA¹⁾, M.D., Tae MOGAMI¹⁾, M.D., Naho RUIZ YOKOTA¹⁾, M.D., Takashi HIBIYA²⁾, M.D., Mitsuko FURUYA²⁾, M.D., Mikiko ASAI-SATO¹⁾, M.D., Etsuko MIYAGI¹⁾, M.D.

¹⁾Department of Obstetrics and Gynecology, ²⁾Department of Pathology, Yokohama City University Hospital

論文別刷請求先 〒 236-0004 横浜市金沢区福浦 3 の 9 横浜市立大学附属病院産婦人科 齊藤 真

平成 29 年 3 月 29 日受付

平成 29 年 6 月 28 日受理

既往の胆嚢癌の子宮転移を疑うことができた 1 例を経験したので、細胞・組織像も含め文献的考察を加えて報告する。

II. 症 例

症 例：55 歳女性，特記すべき合併症なし

主 訴：腹痛，不正性器出血

現病歴：44 歳で閉経後，性器出血はなかった。胆嚢癌の初回治療終了 2 年後に不正性器出血を伴う下腹痛が出現したため，当院外科から紹介され当科を受診した。

既往歴：53 歳 胆嚢癌 IVA 期 {中分化型管状腺癌，se，si (十二指腸)，pHinf2，pBinf3，ypT4N1M0}。術前化学療法として Gemcitabine + S-1 併用療法を 3 サイクル施行後，拡大肝右葉尾状葉切除術，臍頭十二指腸切除術，腸瘻増設術，門脈合併切除再建術を施行した。術後補助化学療法として Gemcitabine + S-1 療法を 8 サイクル施行した。

家族歴：父：胃癌，母：乳癌

現 症：身長 160 cm，体重 48 kg，BMI 18.75

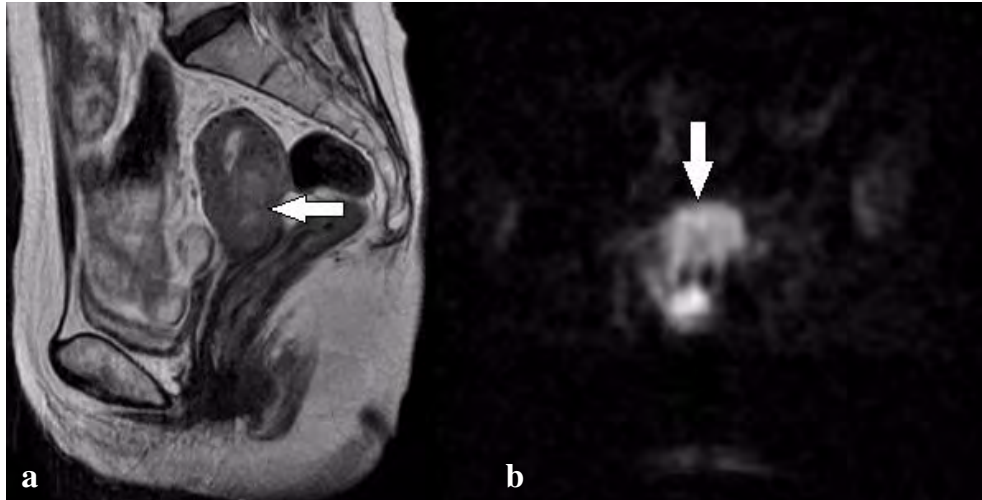


Photo. 1 Pelvic MRI (a : T2-weighted image, arrowhead ; b : Diffusion-weighted image). The tumor measuring 3 cm in diameter on the posterior wall of the uterine body visualized as a hyperintensity on T2-weighted images (arrow). The lesion visualized as a non-uniform high signal intensity on the diffusion-weighted image. The uterine endometrium is thin, and disrupted by the tumor in the lower part of the body.

腹部：平坦，軟

陰鏡診：子宮腔部に異常を認めず。子宮内腔より少量の出血を認めた。

内診：子宮は正常大であったが硬く触知された。可動性は不良であり，ダグラス窩に表面不整で硬い腫瘤を触知し，同部位には軽度の圧痛を認めた。

臨床検査所見：CEA 4.0 ng/ml (基準値 0.6-3.8 ng/ml)，CA19-9 44 U/ml (基準値 1-37 U/ml)，CA125 16 U/ml (基準値 8-36 U/ml)，白血球数 5700 / μ l，赤血球数 403×10^4 / μ l，Hb 10.2 g/dl，Ht 31.6%，血小板数 生化学検査に異常なし。

画像所見：経腔超音波：子宮後壁筋層内に 26 mm の不整形で高輝度の腫瘤像を認めた。

MRI：T2 強調画像で子宮体部後壁筋層内に 30 mm 大の高信号で内部不均一な高信号腫瘤が認められ，周囲筋層との境界は不明瞭であった。この腫瘤は拡散強調画像では子宮体部後壁筋層内からダグラス窩にかけて不均一な高信号を呈し悪性が示唆された (Photo. 1)。子宮内膜は 5 mm 厚で年齢相当に萎縮しており，拡散強調画像でも異常を認めなかったが，体下部では一部に途絶がみられ，筋層内の腫瘤が内膜を圧排，浸潤している可能性が示唆された。両側付属器領域に明らかな病変は認めなかった。

CT：上述の子宮筋層内腫瘤に加え，傍大動脈領域に 17 mm の腫大リンパ節が認められ，腫瘍のリンパ節転移が疑われた。

術前病理学的所見

子宮内膜吸引細胞診：陽性。比較的綺麗な背景に，長楕円形の核をもつ N/C 比の高い類縁形から高円柱形の異型

細胞の異型細胞集塊が一部重積性を伴いシート状に多数出現していた。腺腔形成は少なかった (Photo. 2)。異型細胞は類縁形から高円柱形であり，細胞質は粘液やグリコーゲンの貯留は認められなかった。核縁は厚く平滑さを欠いており，クロマチンが非常に微細なため核が淡明に観察された。核小体は大きく明瞭であった。この所見は薄い核縁で平滑な類円形の核を有する類円形細胞像を呈するいわゆる I 型体癌 (類内膜癌 Grade 1, Grade 2) とは異なる所見であった。鑑別疾患としては II 型体癌 (類内膜癌 Grade 3, 明細胞癌，漿液性癌) および転移性腺癌が挙げられた。特に子宮内膜由来としては細胞診の背景が綺麗であること，胆嚢癌の既往を有することから，胆嚢癌の再発転移の可能性を視野にその後の精査を進めた。

子宮頸部・頸管細胞診：腺癌。正常頸管腺細胞集塊に内膜細胞診と同様な異型細胞が多数混在しており，内膜からの混入と考えられた。

子宮内膜組織診 (子宮内膜搔爬検体)：既存の萎縮した子宮内膜と筋層内に，長楕円形の核をもち N/C 比の高い高円柱形の異型細胞が少数存在し飛び地状に腺管を形成していた。細胞の控滅が多く確定診断にはいたらなかったが，鋭匙を用いた内膜生検検体でありながら，筋層組織も同時に採取されていることから，病巣の首座は内膜ではなく，画像検査で指摘された筋層内腫瘤であり，これが一部子宮内腔に露出している可能性が推測された (Photo. 3)。

治療経過・手術所見：前述のごとく，画像検査，子宮内膜細胞診，組織生検，そして既往の悪性疾患から，胆嚢癌の再発子宮転移が最も疑わしいと考えたが確定診断にはい

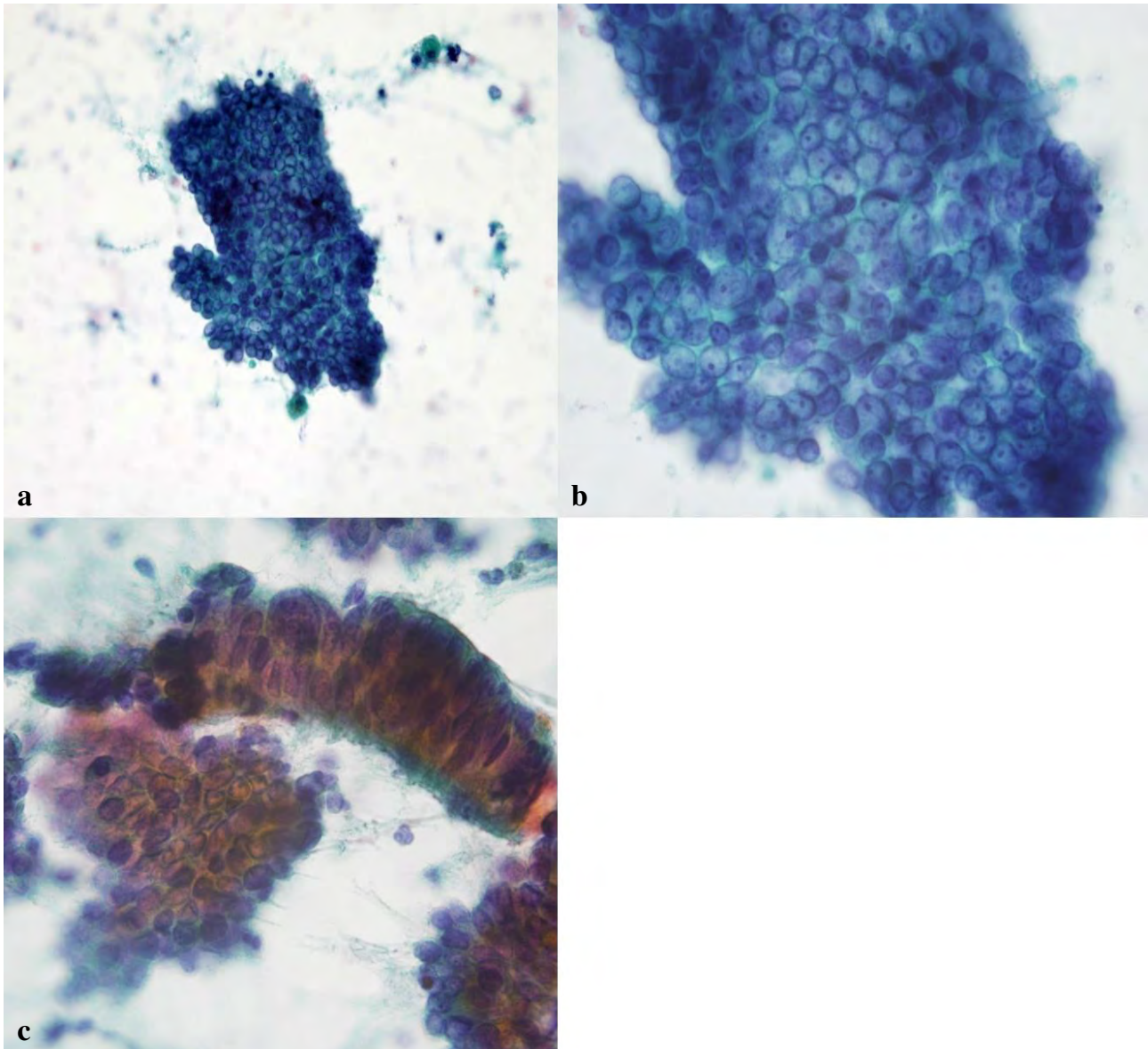


Photo. 2 Endometrial cell cytology (Papanicolaou staining, a : objective, $\times 20$, b : objective, $\times 63$, c : objective, $\times 20$). Cylindrical heterogeneous cell clusters with long elliptical nuclei in a clear background.

たらなかった。確定診断および持続する不正性器出血の治療目的に開腹手術とし、子宮全摘術を施行する方針とした。開腹すると、腹腔内に淡血性の腹水を少量認めた。両側卵巣は肉眼的に正常、子宮は正常大であるものの触診では異常に硬く触知された。腸間膜を含む腹膜には播種結節はみられなかったものの、ダグラス窩には粟粒状播種を伴う3 cm大の腫瘤が存在し、子宮後面と直腸に固着し易出血であった。子宮全摘出は困難と判断されたが、止血目的に子宮腔上部切断術を施行し、さらに診断目的で両側付属器摘出術、大網生検術を施行した。

術後病理学的所見

腹水細胞診：陰性

摘出検体所見：子宮剖面には後面において内腔から後壁にかけて境界不明瞭な35×25×10 mmの黄白色充実性の腫瘤が認められた(Photo. 4)。組織学的には、淡明な細胞質、長楕円形の核、大きく明瞭な核小体を有した高円柱形の異型細胞が管腔構造を形成しながら子宮筋層内へ飛び地状に侵入性浸潤していた(Photo. 5)。腫瘍は子宮後壁漿膜表面、左卵巣実質、右卵管采にも浸潤していた。既存の内膜が残存しているにもかかわらず、腫瘍が筋層深くまで侵入性浸潤を呈していた。これらの所見は内膜原発腺癌としては非典型的であり、既往の胆嚢癌再発転移の可能性を考慮して免疫組織化学染色を追加した。腫瘍腺管はCK7、CK20、p16^{INK4A}、CDX2陽性、ER、PgR、PAX8が陰性であ

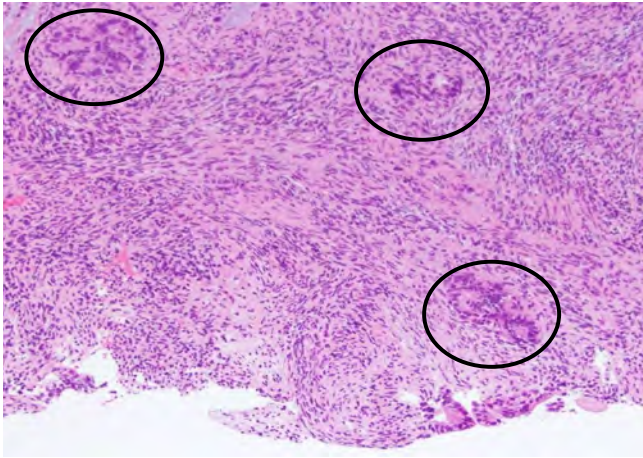


Photo. 3 Endometrial tissue (curetage tissue, HE staining, objective $\times 40$). The endometrium is atrophied. Proliferating cylindrical heterotypic cells with a clear cytoplasm forming ducts contained in an abundant stroma; and strong invasiveness is suspected (black circle).

り、既往の胆嚢癌と免疫組織化学的特徴と一致した。これらの所見より、最終的に本例を胆嚢癌の子宮転移と診断した。

術後経過：化学療法（Gemcitabine, Cisplatin）を6サイクル施行するもダグラス窩の腫瘍は縮小せず、また傍大動脈リンパ節に新規病変を認め化学療法は無効と判断された。さらに下腹部痛の疼痛緩和目的に放射線治療を施行したが、悪液質が進行し、子宮摘出後7ヵ月で癌死した。

III. 考 察

近年、がんの集学的治療が進歩したことにより進行がんであっても長期生存が可能となり、従来生じにくいと考えられていた遠隔臓器への転移を呈す事例が増加していること、画像・病理診断等の各種技術が向上したことにより、従来まれであると考えられていた子宮外原発悪性腫瘍の子宮転移を診断する機会は増加していると推測される。

転移性子宮腫瘍の原発として欧米では乳癌、本邦では胃癌が多いと報告されているが^{3,4)}、胆嚢癌原発の子宮転移はまれであり報告もきわめて少ない。Kumarらは子宮外原発癌の子宮転移63例（手術検体20例、剖検43例）中、胆嚢癌が原発であったのはわずかに3例（4.8%）と報告している⁵⁾。また田中らは子宮内膜吸引細胞診により悪性細胞が認められた子宮外原発癌37例のうち、胆嚢癌原発子宮転移例は1例（2.7%）であったと報告している⁶⁾。その報告では、子宮内膜から異型細胞が検出されたものの、最終的な診断は子宮摘出検体および剖検所見からなされており、本例のように術前の子宮内膜細胞診で胆嚢癌子宮転移を推定

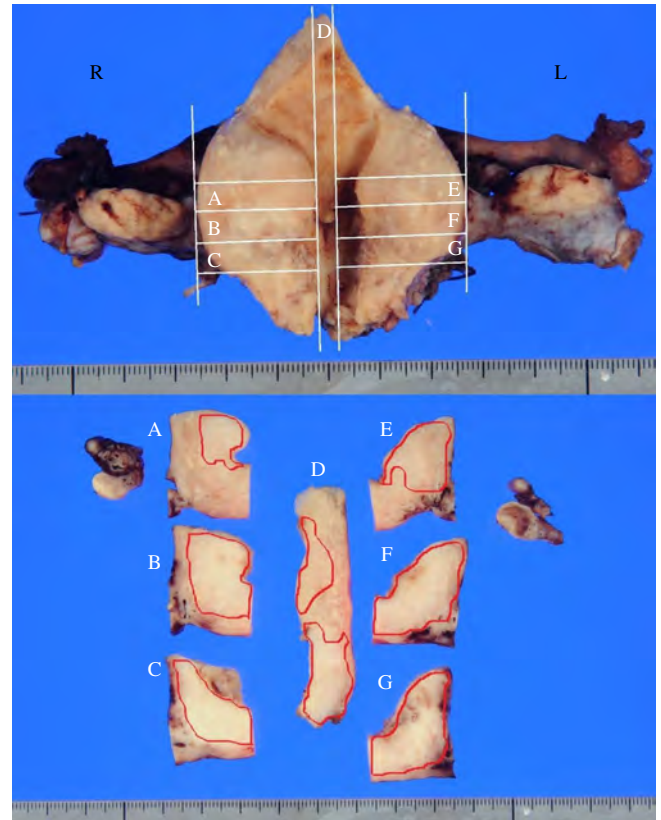


Photo. 4 Macroscopic findings of the removed uterus. A solid white mass measuring 3 cm in diameter occupying the lumen and invading the deep muscle layers of the uterus (the tumor mass border is marked with a red line).

した例はまれであると考えられる。

一般的に細胞診断で類内膜癌は、壊死性背景に細胞集塊が出現し、核クロマチンはより粗造で核小体も小型である。逆に子宮の転移性腺癌の細胞学的所見は背景に壊死がみられないことが多い⁷⁾。本例の子宮内膜細胞診で検出された異型細胞は、比較的綺麗な背景に長楕円形の核をもつN/C比の高い類縁形から高円柱形の異型細胞の集塊が、一部重積性を伴いシート状に多数出現していた。この異型細胞は類縁形から高円柱形であって、核縁は厚く平滑さを欠いていた。前述のとおり、薄い核縁で平滑な類円形の核を有する類円形細胞像を呈するI型体癌とは異なる所見であり、鑑別診断としてII型体癌および転移性腺癌が挙げられた。次に子宮内膜由来としては細胞診の背景が綺麗であること、胆嚢癌の既往を有することから、胆嚢癌の再発転移の可能性を術前に推測した。その結果、負担の大きい拡大手術を行わず、患者への侵襲を少なくする方針を立てることができた。

胆嚢癌の免疫染色ではCK7とCK20が陽性であることが診断の指標になるが、特異的な免疫染色マーカーはなく、

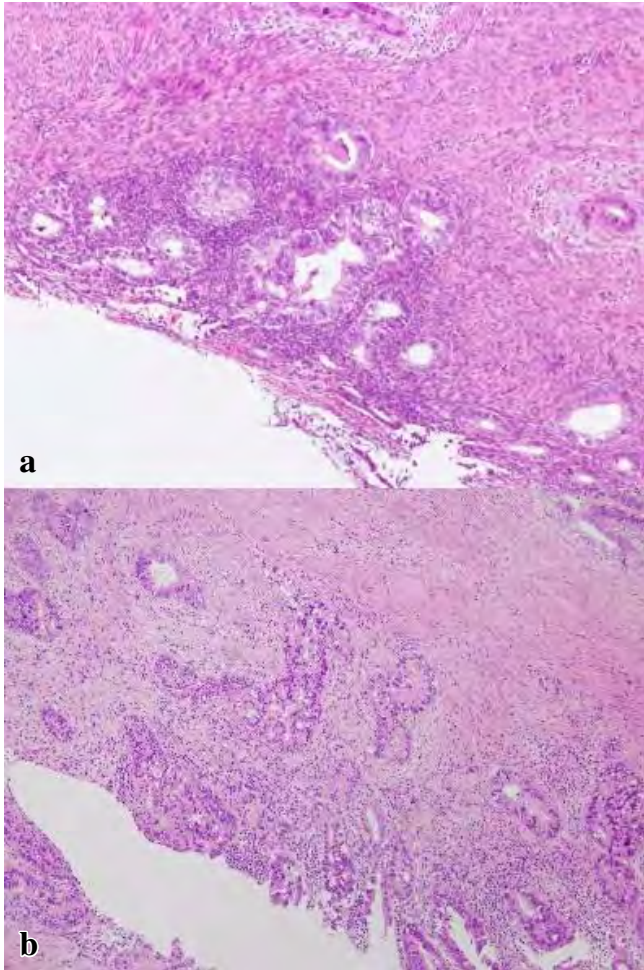


Photo. 5 Histopathological findings of the endometrial tissue (a : Surgically removed tissue, HE staining, objective $\times 10$) and of the previously treated gallbladder cancer (b : HE staining, objective $\times 10$). a : The endometrium is atrophied, consistent with the age of the patient. In contrast, highly heterotypic cells with conspicuous nucleoli forming ducts are found infiltrating the interstitium. b : Atypical gland cells similar to those seen in the endometrium are found invading the gallbladder muscle layer. Diagnosis : moderately differentiated tubular adenocarcinoma.

病理診断の際苦慮することがある⁸⁾。一方、高分化型の類内膜癌ではエストロゲン受容体 (ER), プロゲステロン受容体 (PgR) が陽性となることがある⁹⁾。さらに近年、ミューラー管由来の遺伝子翻訳因子である PAX8 が女性内性器原発癌の診断に有用なマーカーとして用いられている。Laury らの報告によると、PAX8 は子宮類内膜癌 155 例中 152 例 (98%) で陽性を示す高感度のマーカーであり¹⁰⁾、本例でも PAX8 が陰性であったことは子宮内膜癌と胆嚢癌の鑑別診断に有用であった。

子宮外原発癌の子宮内膜への転移機序は、リンパ行性ま

たは血行性に子宮に直接または卵巣転移を介するもの、腹膜播種の子宮漿膜側からの直接浸潤、癌性腹水の卵管を経由した逆行性流入など多様な機序が考えられる。本例の場合、術中所見でダグラス窩は腫瘍塊で閉鎖しており、播種性転移の可能性が示唆された。しかし、子宮内の転移巣が子宮下部後面のみならず体部全体、びまん性に浸潤していること、左卵巣実質にも腫瘍を認めたこと、術前 CT で傍大動脈リンパ節転移が疑われたことから、胆嚢癌がリンパ行性もしくは血行性に子宮へ転移した可能性も考えられる。

今回、子宮内膜細胞診で早期から胆嚢癌転移を推定しえた 1 例を経験した。術前に胆嚢癌の転移を考慮し、手術時の侵襲を低減できたことは意味があったと考える。診断の過程で病理学的所見だけでなく臨床経過、臨床所見など総合的に検討することが重要である。

本論文に関連して、開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は、第 54 回日本臨床細胞学会秋季大会で発表した。

Abstract

Background : Uterine metastasis from extrauterine malignant tumors is rare. In particular, there are few reports of uterine metastasis from gallbladder cancer. We report a case in which uterine metastasis from a malignant tumor was suspected from the findings on endometrial cytology.

Case : The patient was a 55-year-old female. She visited our hospital with the chief complaint of lower abdominal pain with atypical genital bleeding 2 years after the initial therapy for gallbladder cancer had been completed (operation and chemotherapy). MRI imaging examinations revealed an irregularly shaped tumor mass measuring 30 mm in diameter in the posterior myometrium, with intratumoral heterogeneity. Endometrial cytology revealed high columnar heterogeneous cells agglutinate with a long elliptical nuclei appeared in a clear background. Histopathological examination of the endometrium revealed coexisting atypical gland tissue and existing normal endometrial glands infiltrating the endometrium and myometrium. These features were different from those of typical endometrioid cancer, and the lesion was suspected as a metastasis from the gallbladder cancer. A laparotomy was performed for controlling the bleeding and for obtaining a definitive diagnosis. It revealed a tumor mass was occupying the pelvis that was adherent to the uterus and rectum in the pouch of Douglas, and total removal of the uterus was difficult.

Conclusion : Histological examination of the resected specimen revealed a features consistent with those of the previously treated gallbladder cancer, with the tumor cells infiltrating the endometrial stroma and myometrium. Immunostaining assay also revealed results consistent with those of the previously treated gallbladder cancer. Therefore, we diagnosed the lesion as a uterine metastasis from gallbladder cancer.

文 献

- 1) Ng, A. B. P., Teeple, D., Lindner, E.A., Reagan, J.W. The cellular manifestation of extrauterine cancer. *Acta Cytol* 1974 ; 18 : 108-117.
- 2) 加藤久盛, 西中健二, 中沢経夫, 中山裕樹, 岡島弘幸, 中村満美子・ほか. 転移性子宮癌の 4 症例—子宮外臓器原発の悪性細胞が子宮頸部および内膜細胞診に出現した症例の検討も加えて—. *日臨細胞会誌* 1994 ; 33 (4) : 679-686.
- 3) 塩澤 学, 今田敏夫, 利野 靖, 田中淳一, 高橋 誠, 近藤治郎. 胆嚢癌術後長期経過して子宮転移を認めた 1 例. *日本臨床外科医学会雑誌* 1997 ; 58 (12) : 2982-2985.
- 4) Miyagi, E., Kato, H., Onose, R., Matsushita, N., Kameda, Y., Nakazawa, T., et al. Positive endometrial cytology associated with primary gastric adenocarcinomas : clinical and cytopathologic findings in 16 patients. *Int J Clin Oncol* 2000 ; 5 : 229-235.
- 5) Kumar, N.B., Hart, W.R. Metastases to the uterine corpus from extragenital cancers : A clinicopathologic study of 63 cases. *Cancer* 1982 ; 50 : 2163-2169.
- 6) 田中尚武, 平井康夫, 竹島信宏, 楯 真一, 岡野滋郎, 南 敦子・ほか. 子宮外原発悪性腫瘍に対する子宮内膜吸引細胞診の検討. *日臨細胞会誌* 2000 ; 39 (3) : 131-136.
- 7) 清水道生. 婦人科病理診断トレーニング. 東京 : 医学書院 ; 2010. 103.
- 8) 今田浩生. 腫瘍の鑑別に用いられる抗体 (各臓器別) 9. 胆. *病理と臨* 2014 ; 32 : 132-138.
- 9) 安田政実. 腫瘍の鑑別に用いられる抗体 (各臓器別) 16. 女性生殖器 a. 子宮. *病理と臨* 2014 ; 32 : 179-190.
- 10) Laury, A.R., Perets, R., Piao, H., Krane, J.F., Barletta, J.A., French, C., et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2011 ; 35 : 816-826.

日本臨床細胞学会雑誌 第56巻 (2017年) 総目次

総説

- 甲状腺・副甲状腺腫瘍に対する遺伝学的検査……………内野 真也 265

原著

- 内視鏡的経鼻腭管ドレナージ留置下腭液細胞診における腭上皮内腫瘍性病変の鑑別……………佐々木健司・他 1
 体腔液細胞診の免疫細胞化学における CytoRich Red 保存液の固定効果
 ——カルレチニンと CD146 の発現比較——……………高瀬頼妃呼・他 9
 大阪における細胞検査士のための継続的精度改善活動の評価……………矢羽田一信・他 15
 高齢者における乳腺粘液癌の細胞学的検討と文献的考察……………白幡 浩人・他 75
 子宮頸部・内膜スミア two-color pattern の解析……………石井 恵子・他 85
 高崎市における子宮頸がん検診での液状化検体細胞診導入成果……………三浦 宏弥・他 123
 甲状腺穿刺吸引細胞診における LBC プレップ 2 を用いた液状処理細胞診 (LBC)……………山口 朋美・他 130
 顕著なアポクリン分化を伴う浸潤性小葉癌の細胞像……………佐々木 瞳・他 163
 口腔細胞診におけるベセスダシステム SIL の取扱いに関する検討
 ——パパニコロウ分類/3 段階分類との関連——……………関根 浄治・他 203
 口腔扁平上皮癌擦過細胞診における細胞量、細胞所見および正診性に関する従来法と
 液状化検体細胞診 (SurePath 法) の比較検討……………久山 佳代・他 210
 口腔顎顔面領域に発症する各種病変における穿刺吸引細胞診の有用性に関する検討……………山本 泰・他 218
 子宮頸部擦過細胞診における従来法と BD シュアパス™法の HSIL 以上の陽性率と
 標本適否の比較……………梅澤 敬・他 225
 自然尿における集細胞法の改良と BD サイトリッチ™法による診断精度……………梅森 宮加・他 271
 BD SurePath™法の余剰検体を用いたハイリスク HPV 検出率と遺伝子型の検討……………梅澤 敬・他 276
 乳腺粘液癌 (純型, type B) の液状化検体細胞診所見に関する検討……………永尾 聡子・他 283

調査報告

- Diagnostic pitfalls in malignant effusion cytology
 ——Report of a case with breast cancer recurrence 28 years after surgery——……………Akane Ishida, et al. 289

症例

- 甲状腺乳頭癌に随伴したコレステリン肉芽腫でアステロイド小体を認めた 1 例……………日野 寛子・他 21
 左鼻腔に発生した嗅神経芽細胞腫 (olfactory neuroblastoma) の 1 例……………成富 真理・他 27
 液状検体法を導入した子宮内膜細胞診が有効であった未分化子宮肉腫の 1 例……………岩崎 和美・他 33
 子宮頸部原発平滑筋肉腫の 1 例……………竹田(寺田) 倫子・他 92
 細胞診において診断しえた大胸筋および気管原発顆粒細胞腫の 2 例……………才荷 翼・他 96
 著しく形質細胞への分化を示した甲状腺 MALT リンパ腫の 1 例……………林 真也・他 101
 胸膜病変を伴った関節リウマチの 1 例——胸水中の細胞所見について——……………町田 浩美・他 107
 ラブドイド細胞を主体とした耳下腺筋上皮癌の 1 例……………那須 篤子・他 137
 肺動脈血吸引細胞診が有用であった悪性腫瘍関連肺高血圧症の 2 例……………松尾 梢恵・他 143
 外陰部に発生した顆粒細胞腫の 1 例……………松浦 祐介・他 149
 膀胱洗浄液細胞診で推定しえた G-CSF 産生膀胱癌の 1 例……………小堺 智文・他 172

気管支肺胞洗浄液中にアスベスト小体を認めたい草染土塵肺の 1 例	原武 晃子・他	178
胆嚢原発小細胞神経内分泌癌の 1 例	杉山 佳代・他	182
腔頸部細胞診にて見出された自由生活線虫の 1 例	増田友紀江・他	189
Biliary intraepithelial neoplasia の 1 例	長山 大輔・他	232
空胞状の細胞質を多数認めた睪 solid-pseudopapillary neoplasm の 1 例	高橋 里実・他	237
子宮頸部大細胞神経内分泌癌の 1 例	三浦 理絵・他	244
腎盂に発生した microcystic urothelial carcinoma の 1 例	西周 裕晃・他	250
淡明細胞型腎細胞癌との鑑別に Giemsa 染色が有用であった血管肉腫の 1 例	有安 早苗・他	297
腰髄に転移した atypical teratoid/rhabdoid tumor の髄液細胞診の 1 例	橋本 哲也・他	303
子宮内膜細胞診から推定しえた胆嚢癌子宮転移の 1 例	齊藤 真・他	308

短 報

混合型子宮頸癌（腺癌，小細胞癌）の 1 例	高根澤裕介・他	39
R-IHC® を使用した迅速免疫染色による胃がん術中腹腔細胞診に向けた検討	池田 聡・他	41
頭蓋骨ランゲルハンス細胞組織球症の 1 例——細胞質所見と免疫細胞化学染色の有用性——	林 裕司・他	112
乳腺 cystic hypersecretory carcinoma の 1 例	松家 由紀・他	193
心嚢液中に腫瘍細胞が認められた ACTH 産生胸腺原発非定型的カルチノイドの 1 例	刀稱亀代志・他	255

The Journal of the Japanese Society of Clinical Cytology Vol.56 (2017)

Index of Contents

Review Article

- Genetic testing for thyroid and parathyroid tumors Shinya Uchino 265

Original Articles

- Cytological differentiation of pancreatic intraepithelial neoplasia by cytologic diagnosis of pancreatic juice obtained by endoscopic nasopancreatic drainage Kenji Sasaki, et al. 1
- The fixation effect of CytoRich Red preservative fluid in immunocytochemistry of effusion cytology—Comparison of calretinin and CD146 expression— Yorihiko Takase, et al. 9
- Evaluation of the Continuous Quality Improvement Program for Cytotechnologists in Osaka Kazunobu Yahata, et al. 15
- Cytological characteristics of mucinous carcinoma of the breast in the elderly with bibliographical considerations Hiroto Shirahata, et al. 75
- Clinicopathological study of the two-color pattern (TCP) on cervical and endometrial cytologic smears Keiko Ishii, et al. 85
- Effect of introduction of liquid based cytology on cervical cancer screening in Takasaki-shi Hiroya Miura, et al. 123
- Fine needle aspiration cytology of thyroid nodules by liquid based cytology using LBC PREP2 Tomomi Yamaguchi, et al. 130
- Cytological findings of invasive lobular carcinomas with marked apocrine differentiation Hitomi Sasaki, et al. 163
- Management of squamous intraepithelial lesion as a new cytological diagnostic class in the Bethesda system in oral cytology—Correlation between the Bethesda system and the Papanicolaou/three-grade classifications— Joji Sekine, et al. 203
- Comparative study of cell amount, cell findings and accuracy for conventional smear method and LBC (SurePath method) in oral squamous cell carcinoma cases Kayo Kuyama, et al. 210
- A study on utility of fine needle aspiration cytology in the oral and maxillofacial regions Hiroshi Yamamoto, et al. 218
- Comparison of the positive rate of HSIL or worse and percentage of unsatisfactory specimens between BD SurePath™ and conventional methods Takashi Umezawa, et al. 225
- Combination of wing-typed centrifuge tube and BD CytoRich™ improves cell concentration and diagnostic accuracy in urinary cytology Miyaka Umemori, et al. 271
- High risk HPV rate of detection and the genotyping study used remainder specimen of BD SurePath™ method Takashi Umezawa, et al. 276
- Cytologic findings of breast mucinous carcinoma (pure type, type B) in liquid based fine needle aspiration cytology Satoko Nagao, et al. 283

Investigation Report

- Diagnostic pitfalls in malignant effusion cytology
—Report of a case with breast cancer recurrence 28 years after surgery— Akane Ishida, et al. 289

Clinical Articles

- A case of papillary carcinoma of the thyroid with a cholesterol granuloma containing asteroid bodies Hiroko Hino, et al. 21
- A case of olfactory neuroblastoma of the left nasal cavity Mari Naritomi, et al. 27
- Endometrial liquid based cytology (LBC) is useful for the diagnosis of undifferentiated

uterine sarcoma (UUS)	Kazumi Iwasaki, et al.	33
Leiomyosarcoma of the uterine cervix	Noriko Takeda, et al.	92
Granular cell tumors of the pectoralis major muscle and trachea diagnosed by cytology —Two case reports—	Tsubasa Saika, et al.	96
A case of thyroid MALT lymphoma with extreme plasma cell differentiation	Shinya Hayashi, et al.	101
Cytological findings of the pleural fluid in a case of rheumatoid arthritis with pleural involvement	Hiromi Machida, et al.	107
A case of parotid gland myoepithelial carcinoma mainly composed of rhabdoid cells	Atsuko Nasu, et al.	137
Two cases of pulmonary hypertension associated with malignancy diagnosed by pulmonary blood aspiration cytology	Kozue Matsuo, et al.	143
Granular cell tumor of the vulva—Report of a case—	Yusuke Matsuura, et al.	149
Bladder washing cytology of granulocyte-colony stimulating factor-producing carcinoma of the urinary bladder—Report of a case, with cytohistologic correlations—	Tomonori Kozakai, et al.	172
A case of rush dust (“Igusa Sando”) pneumoconiosis	Akiko Haratake, et al.	178
A case of small cell neuroendocrine carcinoma of gallbladder	Kayo Sugiyama, et al.	182
A case of free-living nematode infection diagnosed by cervical cytology	Yukie Masuda, et al.	189
Cytopathological findings in a case of biliary intraepithelial neoplasia	Daisuke Nagayama, et al.	232
A case of solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas in which the majority of cells showed vacuolated cytoplasm	Satomi Takahashi, et al.	237
A case of large cell neuroendocrine cancer of the uterine cervix—Study of the cytological and histological findings—	Rie Miura, et al.	244
A case of microcystic urothelial carcinoma of the renal pelvis	Hiroaki Saishu, et al.	250
A case of angiosarcoma in which Giemsa staining was useful in differentiation from clear cell renal cell carcinoma	Sanae Ariyasu, et al.	297
Atypical teratoid/rhabdoid tumor metastasizing to the lumbar spinal cord —A case report with cerebrospinal fluid cytological findings—	Tetsuya Hashimoto, et al.	303
A case of metastatic uterine carcinoma from gallbladder cancer suspected by endometrial cytology	Shin Saito, et al.	308

Brief Notes

A case of cervical cancer with a combination of adenocarcinoma and small cell carcinoma components	Yusuke Takanezawa, et al.	39
Ultra-rapid immunostaining of ascitic fluid using R-IHC [®] for rapid intraoperative cytological diagnosis of gastric cancer	Satoshi Ikeda, et al.	41
A case of Langerhans cell histiocytosis of the cranial bone—Case report with emphasis on the cytological features—	Yuji Hayashi, et al.	112
A case of cystic hypersecretory carcinoma in the breast	Yuki Matsuka, et al.	193
A case of ACTH-producing primary thymic atypical carcinoid with tumor cells in the pericardial fluid	Kiyoshi Tone, et al.	255

日本臨床細胞学会雑誌 第56巻 (2017年) 索引用語

	Page [No.]		
95% ethanol fixative	9[1]	Continuous quality improvement program	15[1]
A		Conventional smear	225[5]
Angiosarcoma	297[6]	Conventional smear method	210[5]
<i>APC</i> gene diagnosis	265[6]	Cytology	1[1], 15[1], 27[1], 85[2], 96[2], 101[2], 149[3], 163[4], 182[4], 232[5], 244[5]
Apocrine differentiation	163[4]	CytoRich Red	9[1]
Aspiration cytology	21[1], 218[5]	D	
Asteroid body	21[1]	Diagnostic accuracy	225[5], 271[6]
Atypical Cell	203[5]	Differential diagnosis	289[6]
Atypical teratoid/rhabdoid tumor	303[6]	E	
B		Elderly patients	75[2]
BD Cytorich	271[6]	Emperipolesis	172[4]
BD SurePath™	276[6]	Endometrial cytology	33[1], 308[6]
BD SurePath™ Liquid based cytology	225[5]	Endoscopic nasopancreatic drainage	1[1]
Bile	182[4], 232[5]	Erythrophagocytosis	297[6]
Bile duct	232[5]	EUS-FNA	237[5]
Biliary intraepithelial neoplasia	232[5]	F	
Bladder carcinoma	271[6]	Fine needle aspiration cytology	75[2], 130[3], 137[3]
Bladder washing cytology	172[4]	Free living nematode	189[4]
Breast	75[2], 163[4], 283[6]	G	
Breast cancer	143[3]	Gallbladder	182[4]
Breast lobular carcinoma	289[6]	Gallbladder cancer	308[6]
Broncho alveolar lavage cytology	178[4]	Genotyping	276[6]
C		Giemsa staining	297[6]
Calretinin	27[1]	Granular cell tumor	96[2], 149[3]
Case report	27[1], 33[1], 96[2], 101[2], 137[3], 149[3], 172[4], 178[4], 189[4], 232[5], 237[5], 250[5], 303[6]	Granular necrotic background	107[2]
CD146	9[1]	Granulocyte-colony stimulating factor-producing tumor	172[4]
<i>CDC73</i> gene diagnosis	265[6]	H	
Cerebrospinal fluid cytology	303[6]	High-risk human papillomavirus	276[6]
Cervical cancer screening	123[3]	Histiocytes	107[2]
Cervical cytology	189[4]	Homer Wright rosette	27[1]
Cholesterol granuloma	21[1]	HPV	123[3]
Clear cell renal cell carcinoma	297[6]		
Clear cell variant	237[5]		

I

Immunohistochemistry ····· 244[5], 308[6]
 INI-1 ····· 303[6]
 Invasive lobular carcinoma ····· 163[4]

L

Large cell neuroendocrine cancer ····· 244[5]
 LBC ····· 210[5]
 Leiomyosarcoma ····· 92[2]
 Liquid based cytology ····· 33[1], 123[3], 130[3],
 271[6], 276[6], 283[6]
 Lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH)
 ····· 85[2]
 Lung adenocarcinoma ····· 289[6]

M

Malignant mesothelioma ····· 9[1], 289[6]
 MALT lymphoma ····· 101[2]
MEN1 gene diagnosis ····· 265[6]
 Metastasis ····· 308[6]
 Microcystic urothelial carcinoma ····· 250[5]
 Mucin ····· 283[6]
 Mucinous carcinoma ····· 75[2], 283[6]
 Myoepithelial carcinoma ····· 137[3]

N

Neuroendocrine carcinoma ····· 182[4]

O

Odontogenic cyst ····· 218[5]
 Odontogenic tumor ····· 218[5]
 Olfactory neuroblastoma ····· 27[1]
 Oral and maxillofacial region ····· 218[5]
 Oral cytology ····· 203[5], 210[5]
 Oral squamous cell carcinoma ····· 210[5]

P

Pancreas ····· 1[1], 237[5]
 Pancreatic intraepithelial neoplasia ····· 1[1]
 Papillary carcinoma ····· 21[1], 130[3]

Parotid gland ····· 137[3]
 Pectoralis major muscle ····· 96[2]
 Plasma cell ····· 101[2]
 Pleural effusion ····· 289[6]
 Pleural effusion cytology ····· 107[2]
 Polycythemia vera ····· 143[3]
PTEN gene diagnosis ····· 265[6]
 Pulmonary artery blood aspiration cytology ····· 143[3]
 Pulmonary hypertension ····· 143[3]
 Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy ····· 143[3]
 Pyloric gland metaplasia (PGM) ····· 85[2]

Q

Quality control ····· 15[1]

R

RET gene diagnosis ····· 265[6]
 Rhabdoid ····· 137[3]
 Rheumatoid arthritis ····· 107[2]
 Rush dust (“Igusa Sendo”) pneumoconiosis ····· 178[4]

S

Salivary gland tumor ····· 218[5]
 Self-assessment test ····· 15[1]
 SIL ····· 203[5]
 Small cell carcinoma ····· 182[4]
 Solid-pseudopapillary neoplasm ····· 237[5]
 SurePath method ····· 210[5]

T

TACAS™ ····· 123[3]
 The Bethesda System ····· 203[5]
 Thyroid ····· 21[1], 101[2], 130[3]
 Trachea ····· 96[2]
 Two-color pattern (TCP) ····· 85[2]

U

Undifferentiated uterine sarcoma ····· 33[1]
 Unsatisfactory rate ····· 225[5]
 Urine ····· 271[6]
 Urine cytology ····· 250[5]

Urothelial carcinoma, giant cell variant	172[4]
Uterine cervical cytology	276[6]
Uterine cervical neoplasm	225[5]
Uterine cervix	85[2], 92[2], 244[5]
Uterine tumor	308[6]

V

Vessel	283[6]
Vulva	149[3]

日本臨床細胞学会雑誌投稿規定

1. 投稿資格

原則として投稿者は共著者も含め日本臨床細胞学会会員に限る。

2. 掲載論文

- 1) 論文の種別は総説, 原著, 調査報告, 症例報告, 特集, 短報, 読者の声である。
- 2) 投稿論文は臨床細胞学の進歩に寄与しうるもので, 他誌に発表されていないものに限る。
- 3) 論文作成に際しては, プライバシー保護の観点も含め, ヘルシンキ宣言 (ヒトにおける biomedical 研究に携わる医師のための勧告) ならびに臨床研究に関する倫理指針 (厚生労働省 (平成 15 年 7 月 30 日, 平成 16 年 12 月 28 日全部改正, 平成 20 年 7 月 31 日全部改正) が遵守されていること。

※これらの指針は, 学会誌 1 号に記載。

- 4) 論文の著作権は本学会に帰属し, 著者は当学会による電子公開を承諾するものとする。セルフ・アーカイブ (自身のホームページ, 所属機関のリポジトリなど) においては表題, 所属, 著者名, 内容抄録の公開は学会誌の発行の後に認められる。
- 5) 論文投稿に際し, 著者全員の利益相反自己申告書 (様式 2) を添付すること。なお, 書式は <http://www.jacc.or.jp/member.html> からダウンロードし用いる。この様式 2 の内容は論文末尾, 文献の直前の場所に記される。規定された利益相反状態がない場合は, 同部分に, 「筆者らは, 開示すべき利益相反状態はありません。」などの文言を入れる。

3. 投稿形式

- 1) 原則として“電子投稿”とする。
- 2) 電子投稿の際には, 以下のサイトからアクセスする。
<https://www.editorialmanager.com/jjacc/>

4. 執筆要項

1) 文章と文体

- (1) 用語は和文または英文とする。
- (2) 平仮名, 常用漢字, 現代仮名づかいを用いる。ただし, 固有名詞や一般に用いられている学術用語はそ

の限りではない。英文での投稿原稿の場合も和文の場合に準ずる。

- (3) 度量衡単位は cm, mm, μm , cm^2 , ml, l, g, mg など CGS 単位を用いる。
 - (4) 外国人名, 適当な和名のない薬品名, 器具および機械名, または疾患名, 学術的表現, 科学用語については原語を用いる。大文字は固有名詞およびドイツ語の名詞の頭文字に限る。
 - (5) 医学用語は日本臨床細胞学会編集の「細胞診用語解説集」に準拠すること。また, その略語を用いても良いが, はじめに完全な用語を書き, 以下に略語を用いることを明らかにする。
- 2) 原稿の書き方 (電子投稿でない場合)

原稿はワープロを用い, A4 判縦に横書きし, 1 行 25 字で 20 行を 1 枚におさめる。上下左右に 30 mm 程度の余白をとり, 左揃えとする。文字は 12 ポイント相当以上を用いるのが望ましい。

3) 電子ファイル

以下の電子ファイル形式を推奨する。

Word, WordPerfect, RTF, TXT, LaTeX2e (英文のみ), AMSTeX, TIFF, GIF, JPEG, EPS, Postscript, PICT, PDF, Excel, PowerPoint.

なお, 写真の解像度は, 雑誌掲載サイズで 300dpi 以上が目安である。

4) 総説・原著・調査報告・症例報告・短報論文の様式

(1) 構成

タイトルページ, 内容抄録, 索引用語 (key words), 本文, 利益相反状態の開示, 英文抄録, 文献, 写真, 図, 表の順とする。原稿には通し頁番号をふる。タイトルページ (1 枚目) には, 当該論文における修正稿回数 (初回, 修正 1 など), 論文の種別 (原著, 症例報告, 短報など), 和文の表題 (50 字以内), 著者名, 所属のほか論文別刷請求先, 著作権の移譲と早期公開に対する同意を明記する。

2 枚目には内容抄録, 索引用語を記載する。本文は内容抄録とは別に始める。

(2) 著者

著者名は直接研究に携わった者のみに限定する。著者数は以下のとおりとし, それ以外の関係者は本文末に謝辞として表記されたい。

原著：10名以内
 調査報告：8名以内
 症例報告：8名以内
 短報：5名以内
 総説：1名を原則とする

(3) 内容抄録

短報を除いて500字以内にまとめ、以下のような小見出しをつける。

原著と調査報告：目的、方法、成績、結論
 症例報告：背景、症例、結論
 総説と特集：論文の内容に応じて適宜設定

(4) 索引用語

論文の内容を暗示する英語の単語 (Key words) を5語以内で表示する。原則として、第1語は対象、第2語は方法、第3語以下は内容を暗示する単語とする。

key words 例：

胆嚢穿刺吸引細胞診—胆嚢癌4例の細胞像と組織像—

Gallbladder, Aspiration, Cancer, Morphology
 肝細胞癌についての1考察

Hepatocellular carcinoma, Morphology, Review
 喀痰中に卵巣明細胞腺癌細胞が見出されたまれな1例

Clear cell adenocarcinoma, Cytology, Sputum,
 Metastasis, Case report

(5) 本文および枚数制限

a. 原著・総説・調査報告

本文、文献を含め10,000字以内 (A4判20頁) とする。

図・表 (写真を含まず) は、10枚以内とする。

写真の枚数に制限はないが、必要最少限の枚数とする。

b. 症例報告

本文、文献を含め6,000字以内 (A4判12頁以内) とする。

図・表 (写真を含まず) は、5枚以内とする。

写真の枚数に制限はないが、必要最少限の枚数とする。

c. 短報

出来上がり2頁以内とする。

写真は2枚以内 (組み合わせは各々2枚以内)、

図表は計1枚までとする。

写真2枚と図表1枚が入った場合の本文 (I. はじめに～) と文献は1,500字程度 (A4判3頁)

を目安とする。

(6) 英文抄録

本文とは別紙に、表題の英訳およびローマ字つづりの著者名、所属の英文名、および抄録内容を記す。著者名のあとに、以下の略号を用いてそれぞれの称号あるいは資格を付記する。

医師：M. D. M. D., M. I. A. C. M. D., F. I. A. C.

歯科医師：D. D. S. とし、それ以外の称号あるいは資格は医師と同様に付記する。

臨床検査技師：M. T., C. T., J. S. C., C. T., I. A. C., C. T., C. M. I. A. C., C. T., C. F. I. A. C.などを記載する。抄録内容は英語で200語以内 (ただし表題、著者名、所属名はのぞく) とし、以下のような小見出しをつけてまとめる。

原著と調査報告：Objective, Study Design, Results, Conclusion

症例報告：Background, Case (または Cases), Conclusion

総説：論文の内容に応じて適宜設定

短報：小見出しをつけずに100語以内にまとめる

(7) 文献

a. 主要のものに限る。

原著・特集・調査報告：30編以内

症例報告：15編以内

短報：5編以内

総説：特に編数の制限を定めない

b. 引用順にならべ、本文中に肩付き番号を付す。

c. 文献表記はバンクーバー・スタイルとし、誌名略記について和文文献は医学中央雑誌刊行会、英文文献は Index Medicus に準ずる。参考として以下に例を記載する。

【雑誌の場合】

著者名 (和名はフルネームで、欧文名は姓のみをフルスペル、その他はイニシャルのみで6名まで表記し、6名をこえる場合はその後を“・ほか”、“et al”と略記する)。表題 (フルタイトルを記載)。雑誌名 発行年 (西暦)：巻：頁—頁。

【単行本の場合】

著者名、表題、発行地：発行所：発行年 (西暦)。なお、引用が単行本の一部である場合には表題の次に編者名、単行本の表題を記し、発行年、頁—頁。

他者の著作物の図表を論文中で使用する場合は、原著者 (あるいは団体) より投稿論文を電子公開することを含めた許諾が必要で、これを証明

する書類を添付する。

(8) 図・表・写真

- a. 図, 表は英文で作成する。写真, 図, 表は Photo, 1, Fig. 1, Table 1 などのようにそれぞれの番号をつけ, 簡単な英文のタイトルと説明を付記する。
- b. 本文中には写真, 図, 表の挿入すべき位置を明示する。
- c. 顕微鏡写真には倍率を付する。顕微鏡写真(細胞像, 組織像)の倍率は撮影時の対物レンズ倍率を用いるが, 写真へのスケールの挿入が好ましい。顕微鏡写真については撮影時の倍率を表示するか, または写真にスケールを入れる。

5) 特集論文の様式

一つのテーマのもとに数編の論文(原著ないし総説)から構成される。特集企画者は, 特集全体の表題(和文および英文)および特集の趣旨(前書きに相当)を1,200字以内にまとめる。原稿の体裁は原著・総説に準じる。

6) 読者の声

以上の学術論文に該当しないもので, 本誌掲載論文に関する意見, 本学会の運営や活動に関する意見, 臨床細胞学に関する意見を掲載する。ただし, 他に発表されていないものに限る。投稿は以下の所定の書式・手順による。

- (1) 表題は和文50字以内とする。表題に相当する英文も添える。

改行して本文を記述する。

末尾に著者名(資格も付記), 所属施設名, 同住所の和文および英文を各々別行に記す。著者は1名を原則とする。文献は文末に含めることができるが, 表・写真・図を用いることはできない。これらの全てを1,000字以内(A4判2頁以内)にまとめる。

- (2) 掲載の可否は編集委員会にて決定する。なお, 投稿内容に関連して当事者ないし第三者の意見の併載が必要であると本委員会が認めた場合には, 本委員会より該当者に執筆を依頼し, 併列して編集することがある。

7) 英文投稿の場合

A4縦にダブルスペースで10頁以内とする。

和文抄録を付し, 図・表その他は和文の場合に準ずる。

5. 別 刷

別刷を希望するときは, 校正時に部数を明記して申し込む。

6. 論文の審査

投稿論文は編集委員会での審査により採否を決定し, その結果を筆頭著者に通知する。審査にあたっては査読制を

とる。原稿の組体裁, 割付は編集委員会に一任する。

7. 校 正

著者校正は原則として初校において行う。出版社から送付された校正は, 必ず3日以内に返送する。校正担当者が筆頭著者以外の時は, 校正の責任者と送り先を投稿時に明記する。校正では間違いを訂正する程度とし, 原稿にない加筆や訂正は行えない。

8. 掲 載 料

出来上がり4頁までを無料とし, 超過頁の掲載料は著者負担とする。白黒写真製版代およびカラー写真印刷代は無料とするが, その他の図版費(図の製版代), 英文校正料, 別刷代は著者負担とする。また, 邦文論文の英文校正料と別刷代については半額免除とし, 英文論文の場合は図版費を含めて掲載料を免除する。

9. 依頼原稿

依頼原稿は, 総説または原著の形式とし, 査読を必要とせず, 著者校正を行う。

依頼原稿の著者は, 日本臨床細胞学会会員に限らない。

図・表・写真に関しては, 和文での作成を許容する。また掲載料に関しては全額免除とする。

10. 本規定の改定

投稿規定は改定することがある。

(平成4年6月一部改定)	(平成23年3月一部改定)
(平成6年6月一部改定)	(平成23年8月一部改定)
(平成9年6月一部改定)	(平成24年4月一部改定)
(平成11年6月一部改定)	(平成26年5月一部改定)
(平成21年5月一部改定)	(平成26年11月一部改定)
(平成21年6月一部改定)	(平成26年12月一部改定)
(平成21年11月一部改定)	(平成27年3月一部改定)
(平成22年4月一部改定)	(平成29年1月一部改定)
(平成22年9月一部改定)	(平成29年11月一部改定)

添付1 Acta Cytologica への投稿について

投稿規定は www.karger.com/acy に明記されていますのでこれに従って下さい。従来は国内での査読を行っていましたが, 直接投稿していただくことになりました。

添付2 以下の2項目は毎年の1号に掲載する。

- ・ヘルシンキ宣言
 - ・人を対象とする医学系研究に関する倫理指針
- 平成26年12月22日

NOTICE TO CONTRIBUTORS

1. Authorial responsibility :

All authors of this journal including coauthors must be members of the Japanese Society of Clinical Cytology.

2. Categories of articles published :

- 1) The categories of articles published in this journal are *review articles, original articles, investigation reports, case reports, special articles, brief notes, and reader's voices.*
- 2) The submitted articles should contribute to the advancement of clinical cytology and must be submitted exclusively to this journal.
- 3) Authors must observe the Declaration of Helsinki (recommendations for physicians conducting biomedical studies in humans) and the Ethics Guidelines for Clinical Research (Ministry of Health, Labour and Welfare, July 30, 2003, Revised on December 28, 2004 and July 31, 2008), including privacy protection.
 - * These guidelines appear in the first issue of the journal.
- 4) Copyright for articles published in this journal will be transferred to the Japanese Society of Clinical Cytology, and the authors must agree that the articles will be published electronically by the Society. The authors are permitted to post the title, affiliations, authors' names and the abstract of their article on a personal website or an institutional repository, after publication.
- 5) All authors will be required to complete a conflict of interest disclosure form as part of the initial manuscript submission process. The corresponding author is responsible for obtaining completed forms from all authors of the manuscript. The form can be downloaded from (<http://www.jbcc.or.jp/member.html>) The statement has to be listed at the end of the text.

3. Submission style :

- 1) As a general rule, manuscripts should be submitted electronically.
- 2) For initial submission, please access the site below. (<https://www.editorialmanager.com/jbcc/>)

4. Instructions for manuscripts :

1) Text and writing style

- (1) Manuscript is to be written in Japanese or English.
- (2) Hiragana, daily use kanji and contemporary Japanese syllabic writing should be used, except for proper nouns and generally used technical terms. English manuscripts should be prepared essentially in the same manner as Japanese manuscripts.
- (3) Weights and measures are expressed in CGS units (cm, mm, μm , cm^2 , ml, l, g, mg, etc.).
- (4) Names of non-Japanese individuals, drugs, instruments / machines, or diseases that have no proper Japanese terms, academic expressions and scientific terms are to be written in the original language. Upper case letters should be used only for proper nouns and the first letter of German nouns.
- (5) Medical terms should be in accordance with the "Saibou-shinn yougo kaisetsu-syu (Handbook of cytological terminology)" edited by the Japanese Society of Clinical Cytology. Abbreviations of medical terms may be used, but the terms should be spelled out in full at their first occurrence in the text and the use of abbreviations is to be mentioned.

2) Manuscript preparation

Manuscripts are to be prepared using a word processor on vertical A4-size paper, with 25 characters per line and 20 lines per page. The top, bottom and side margins should be approximately 30 mm, and paragraphs left-justified. Twelve point or larger font size is preferable.

3) Electronic files

The following electronic file formats are recommended. Word, WordPerfect, RTF, TXT, LaTeX2e (English only), AMSTeX, TIFF, GIF, JPEG, EPS, Postscript, PICT, PDF, Excel, PowerPoint.

A minimum resolution of 300 dpi size is required for photographs for publication.

4) Style of *review articles, original articles, investigation reports, case reports and brief notes.*

- (1) Manuscript format

The parts of the manuscript are to be presented in the following order : Title page, abstract, key words, text, conflict of interest disclosure, English abstract, references, photographs, figures and tables. The pages of the manuscript should be numbered consecutively. The number of revisions (initial submission, first revision, etc.), the category of paper (*original article, case report, brief note, etc.*), Japanese title (not exceeding 50 characters), name (s) of author (s), authors' affiliations, address for reprint requests, and agreement of copyright transfer and early publication must be clearly written on the title page (the first page).

The abstract and key words are to be written on the second page. There should be a separation between the abstract and the start of the text.

(2) Authors

Authors will be limited to persons directly involved in the research. The number of authors is to be as follows, and other persons involved should be mentioned in the *Acknowledgments* section at the end of the paper.

Original articles : no more than 10

Investigation reports : no more than 8

Case reports : no more than 8

Brief notes : no more than 5

Review articles : just one author, as a general rule

(3) Abstract

The text of the abstract should not exceed 500 characters, except for *brief notes*, and the headings should be comprised of the following.

Original articles and *Investigation reports* : Objective, Study Design, Results, Conclusion

Case reports : Background, Case (s), Conclusion

Review articles and *special articles* : headings are to be selected according to content.

(4) Key words

No more than 5 key words indicative of the content of the paper are to be supplied. As a general rule, the first term usually indicates the subject, the second term, the method, the third term and beyond, the content.

[Titles followed by examples of appropriate key words in parentheses]

Examples of Key words :

– Gallbladder aspiration cytology — Cytological and histological findings in four cases of gallbladder cancer — (Gallbladder, Aspiration, Cancer, Morphology)

– A review of hepatocellular carcinoma (Hepatocellular carcinoma, Morphology, Review)

– A rare case of ovarian clear cell adenocarcinoma cells detected in sputum (Clear cell adenocarcinoma, Cytology, Sputum, Metastasis, Case report)

(5) Text and page limitations

a. *Original articles, review articles, and investigation reports* :

The manuscript should not exceed 10,000 characters (20 pages of A4 size), including text and references.

Figures and tables (exclusive of photographs) should not exceed 10 pages. There are no restrictions on the number of photographs, but the minimum necessary should be submitted.

b. *Case reports* :

The manuscript should not exceed 6,000 characters (12 pages of A4 size), including text and references.

Figures and tables (exclusive of photographs) should not exceed 5 pages. There are no restrictions on the number of photographs, but the minimum necessary should be submitted.

c. *Brief notes* :

A brief note should not exceed two printed pages.

No more than two photographs (or combinations of no more than two photographs) and one figure or table can be included.

If two pictures and one figure or table are included, text (I. Introduction ...) and references should be approximately 1,500 characters (3 pages of A4 size).

(6) English abstract

An English translation of the title, authors' names in Roman letters, authors' affiliations in English, and English abstract should be given on a page separate from the text. The authors' degrees/qualifications are to be written after their names using the following abbreviations.

For physicians : MD ; MD, MIAC ; MD, FIAC.

For dentists : DDS, with other degrees or qualifications abbreviated the same as for physicians.

For clinical laboratory technologists : MT ; CT ; JSC ; CT, IAC ; CT, CMIAC ; CT, CFIAC.

The text of the abstract should not exceed 200 words (exclusive of the title, authors' names and affiliations), and the following headings are to be used.

Original articles and *Investigation reports* : Objective, Study Design, Results, Conclusion

Case reports : Background, Case (s), Conclusion

Review articles : headings should be selected according to their content.

Brief notes : abstracts for brief notes should consist of no more than 100 words and no headings are to be used.

(7) References

- a. Only major references are to be listed.

Original articles, special articles, and investigation reports : no more than 30 titles

Case reports : no more than 15 titles

Brief notes : no more than 5 titles

Review articles : no limit

- b. References are to be listed in the order in which they appear in the text, and indicated by superscript numbers in the text.

- c. The references should be listed in the Vancouver style, and the journal abbreviations in Japanese and English references according to the Japan Medical Abstracts Society and Index Medicus, respectively. Examples are shown below.

For journals :

Name (s) of the author (s) (full names for Japanese names ; for European names, surnames of the first 6 authors spelled out, with initials for the rest of the name, and other authors' names abbreviated "*et al*"). Title (full title should be given). Name of the journal (space) Year of publication ; Volume : Page numbers.

For books :

Name (s) of the author (s). Title. Place of publication : Name of the publisher ; Year of

publication (If a citation is just one part of an independent book, the title should be followed by the name of the editor, the title of the book, and the year of publication). Page numbers.

If figures and tables from another author's work are used in the article, permission for publication, including electronic publication, must be obtained from the original author (or organization), and the documents certifying this permission must be attached.

(8) Figures, tables and photographs

- a. Figure and table titles are to be written in English. Photographs, figures and tables are to be numbered thus : Photo. 1, Fig. 1, Table 1, etc. Provide simple titles and explanations in English.

- b. Clearly state where the photographs, figures and tables should be positioned in the text.

- c. Magnifications are to be stated for micrographs. The magnification of the objective lens at the time the photograph was taken will be used as the magnification for photomicrographs (photographs of cells or tissues). Authors are recommended to use scale bars in the photograph. For electron micrographs, the magnification at which the photograph was taken should be stated or scales included in the photograph.

5) Style of *special articles*

Special articles are composed of several papers (*original articles* or *reviews*) on a single topic. The planners of *special articles* need to prepare the title of the whole special issue (in Japanese and English) and a synopsis (equivalent to an introduction) of no more than 1,200 characters. The style of *special articles* should be the same as for *original articles* and *review articles*.

6) *Reader's voices*

Submissions which do not fit the above-described categories for scientific papers, including opinions on papers already published in the journal, the operation and activities of the Japanese Society and Clinical Cytology, are also published, but only if they have not been presented elsewhere. Submissions should be in accordance with the following prescribed form and procedure.

- (1) The title is not to exceed 50 characters, and a corre-

sponding English title should be provided.

The text should be started on a new line.

At the end of the text, the name (s) of author (s) (with the authors' qualifications), institutional affiliations and addresses should be written in Japanese and English on separate lines. As a general rule, there should be just one author. References can be added at the end, but no tables, pictures and figures. All of the above should be no more than 1,000 characters (no more than 2 pages of A4 size).

- (2) The editorial board will decide whether a submission will be published. If the Committee finds it necessary to also publish the opinion of a person referred to in the manuscript or a third party in regard to the content of the paper submitted, the Committee will request that the person concerned write it, and the two will be published together.

7) English manuscripts

English manuscripts are to be written double-spaced on A4 paper, and should not exceed 10 pages.

A Japanese abstract should be provided, and figures, tables, etc. are to be prepared in the same manner as the Japanese manuscript.

5. Reprints :

When reprints are desired, the author should state the number of copies to be ordered when returning the first galley proof.

6. Review of the manuscript :

Whether a manuscript submitted for publication will be accepted is determined by a review conducted by the editorial board, and the first author will be notified of the results. The referee system is used to conduct these reviews. The editorial board will be responsible for the layout and format used in printing the manuscript.

7. Proofreading :

The publisher will send the first galley proof to the first author, who should check and return it within three days. When the person responsible for proofreading is someone other than the first author, the person's name and address must be clearly stated when the manuscript is submitted.

Only errors can be corrected on proofs. Nothing that is not already in the manuscript can be added or corrected.

8. Publishing fee :

Authors will be charged for space in excess of 4 printed pages. There will be no charge for the cost of printing black-and-white and color photographs. However, authors will be charged for plate making for figures other than photographs, English proofreading and reprints. In addition, half the charges for English proofreading and reprints of Japanese articles will be waived, and the publishing fees, including plate making charges, for English articles will be waived.

9. Revision of these rules :

The rules for submitting manuscripts may change.

(Partial revision June 1992)

(Partial revision June 1994)

(Partial revision June 1997)

(Partial revision June 1999)

(Partial revision June 2009)

(Partial revision November 2009)

(Partial revision April 2010)

(Partial revision September 2010)

(Partial revision March 2011)

(Partial revision April 2012)

(Partial revision May 2014)

(Partial revision November 2014)

(Partial revision December 2014)

(Partial revision March 2015)

(Partial revision January 2017)

Appendix 1. Submission of manuscripts to *Acta Cytologica*

Please go the new *Acta Cytologica* website (www.karger.com/acy) and read guidelines for manuscript submission. Submission of manuscripts to the Japanese Editorial Office for preparatory review has been abolished.

Appendix 2. The following 2 items will appear in the first issue of every year.

- Declaration of Helsinki
- Ethical Guidelines for Medical and Health Research Involving Human Subjects
March, 2015

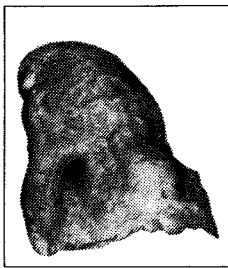
日本臨床細胞学会編集委員会 (平成 29 年～30 年)

委員長：竹島信宏
 担当理事：井上 健 河原 栄 小西 登
 委員：岡田真也 岡本三四郎 河内茂人 九島巳樹 清水 健 芹澤昭彦
 寺井義人 富永英一郎 古田則行 星 利良 的田真紀 三上芳喜
 室谷哲弥 矢納研二
 幹事：松浦基樹
 査読委員：秋葉 純 池田純一郎 板持広明 一迫 玲 伊藤以知郎 伊東英樹
 伊藤 仁 今村好章 伊豫田明 岩成 治 岡部英俊 小野瀬亮
 加来恒壽 片岡史夫 加藤良平 亀山香織 河合俊明 河原明彦
 喜多恒和 北村隆司 清川貴子 金城 満 九島巳樹 工藤浩史
 黒住昌史 小松京子 近藤英司 齋藤俊章 笹川寿之 笹島ゆう子
 佐藤之俊 柴 光年 清水恵子 清水道生 白石泰三 杉山裕子
 鈴木雅子 鈴木正人 関根浄治 高澤 豊 高橋健太郎 楯 真一
 田中浩彦 田中尚武 田中良太 谷山清己 田畑 務 田丸淳一
 辻村 亨 土屋真一 土岐尚之 内藤善哉 中泉明彦 中村直哉
 中山富雄 長尾俊孝 則松良明 羽賀博典 畠山重春 服部 学
 濱田哲夫 林 透 広岡保明 廣川満良 廣島健三 藤井多久磨
 藤原 潔 細根 勝 前田一郎 増田しのぶ 松元 隆 丸田淳子
 三浦弘之 三橋 暁 光谷俊幸 南口早智子 元井紀子 森下由紀雄
 森園英智 森谷卓也 安田政実 山口 倫 横尾英明 横山良仁
 吉見直己 米山剛一 若狭研一 若狭朋子 鷲谷清忠 渡辺 純

(50 音順)

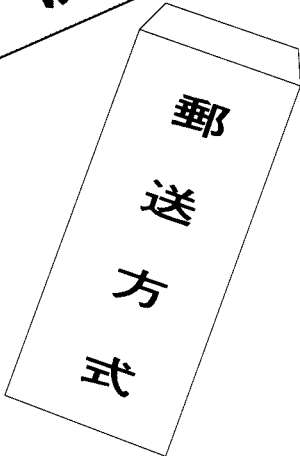


左側：長期間喫煙者の肺



右側：非喫煙者の肺

肺がん予防・早期発見のために たんのけんさ 喀痰細胞診のすすめ



【特長】

- 1 簡便な「ポスト投函」による郵送で、高い受診回収率が期待できます。
- 2 携帯便利な「ボックス型」で、「何時」でも「何処」でも「採痰」が可能です。
- 3 採痰後、「迅速かつ効率的」な「直接塗抹法」で高い処理能力を有し、検診に適しています。
- 4 保存液は、「細胞の形態保存」「染色性」に十分な配慮がされています。
- 5 検鏡下で、「生痰と同様な所見」が得られ、検索が容易です。
- 6 蓄痰法で、特に肺門部癌の「陽性率80%」以上の検出率です。

本品は、東京医科大学早田 義博名誉教授、加藤 治文名誉教授のご指導で作製しました。50%エタノール、2%カーボックス、0.5%チモール、生食水を保存液とした「郵送方式を特長」とし、肺がんの早期発見を目的とした喀痰細胞診専用容器です。

※容器発注及び受検方法などの詳細は、
下記へお問い合わせ下さい。

製造発売元



メディカルケアセンター

〒340-0017 埼玉県草加市吉町5丁目11番8号 ☎048-927-3628

推薦 東京医科大学外科学教室