

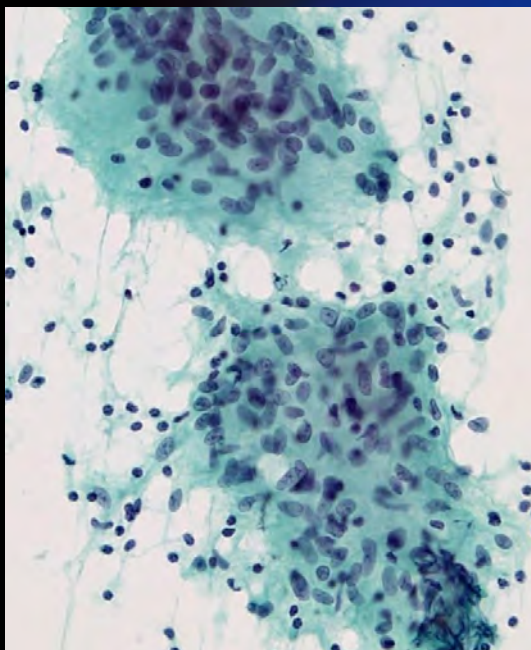
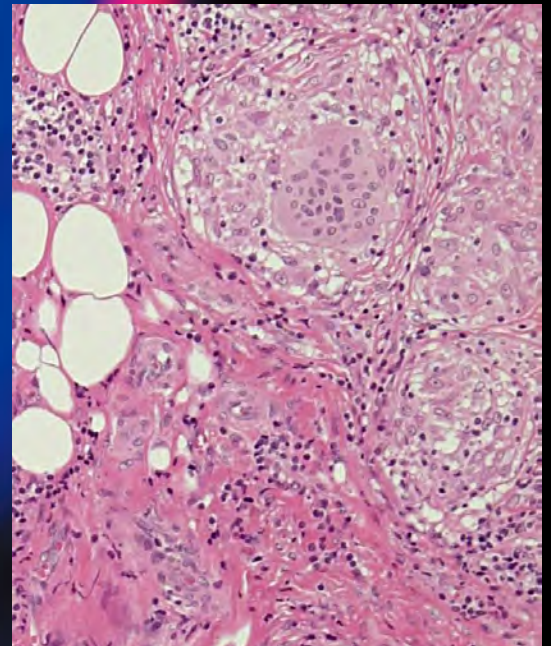
ONLINE ISSN 1882-7233  
PRINT ISSN 0387-1193

日臨細胞誌  
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第60卷 第1号 令和3年1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.60 No.

Jan. 2021

1



目 次

巻頭言.....岡本 愛光

〈原 著〉

甲状腺穿刺吸引細胞診における液状化検体細胞診 ThinPrep®の有用性について

.....大阪警察病院病理科 青木 弘・他 ( 1 )

口腔細胞診における深層型扁平上皮細胞の細胞学的検討

.....日本大学松戸歯学部病理学講座 末光 正昌・他 ( 8 )

アルギン酸ナトリウム FFPE セルブロック法における核酸品質と蛋白発現

——ホルマリン固定プロセスの違い——

.....久留米大学病院病理診断科・病理部 村田 和也・他 ( 15 )

〈症 例〉

画像上乳癌が疑われた乳房結核の 1 例

.....東京都保健医療公社荏原病院検査科 貝田 芽衣・他 ( 22 )

内膜細胞診で胞状奇胎を推定しえた 1 例

.....公立能登総合病院臨床検査部 河嶋 友美・他 ( 28 )

口蓋に発生した腺様嚢胞癌の口腔内擦過液状化検体細胞診の 1 例

.....久留米大学病院病理診断科・病理部 牧野 諒央・他 ( 33 )

投稿規定.....( 38 )

ヘルシンキ宣言.....( 45 )

人を対象とする医学系研究に関する倫理指針.....( 49 )

編集委員会.....( 72 )

—————\*—————

〈表紙写真〉

画像上乳癌が疑われた乳房結核

(左：パパニコロウ染色，右：H-E 染色) (貝田芽衣・他，左：Photo. 4b, 23 頁，右：Photo. 7, 25 頁)

## CONTENTS

Editorial.....Aikou Okamoto

### *Original Articles*

Benefits of ThinPrep® for thyroid fine needle aspiration cytology

Hiroshi Aoki, et al. (Dept. of Path., Osaka Police Hosp., Osaka) .....( 1 )

Cytological investigation of deep-layer squamous cells in oral cytology

Masaaki Suemitsu, et al. (Dept. of Path., Nihon Univ. School of Dentistry at Matsudo., Chiba) .....( 8 )

Nucleic acid quality and protein expression in sodium alginate FFPE cell blocks prepared under different formalin fixing conditions

Kazuya Murata, et al. (Dept. of Diag. Path., Kurume Univ. Hosp., Fukuoka) .....( 15 )

### *Clinical Articles*

A case of breast tuberculosis suspected cancer by imaging findings

Mei Kaita, et al. (Dept. of Clin. Lab., Tokyo Metropolitan Health and Hosp. Corporation Ebara Hosp., Tokyo) .....( 22 )

A case of hydatidiform mole suggested by endometrial cytology

Tomomi Kawashima, et al. (Dept. of Clin. Lab., Noto General Hosp., Ishikawa) .....( 28 )

Liquid-based cytology of oral brushings in a case of adenoid cystic carcinoma arising from the palate

—A case report—

Ryo Makino, et al. (Dept. of Diag. Path., Kurume Univ. Hosp., Fukuoka) .....( 33 )

Notice to contributors.....( 38 )

### *Cover Photo*

Breast tuberculosis suspected cancer by imaging findings

(Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Mei Kaita, et al., Left : Photo. 4b, p23, Right : Photo. 7, p25)



## 巻頭言

Aikou Okamoto

# 岡本愛光

東京慈恵会医科大学産婦人科学講座

### ▶ New Normal, New System, New Job, New Life



この度、日本臨床細胞学会雑誌、第60巻第1号を発刊した。これを執筆している2020年12月現在、新型コロナウイルス感染症の終息の見通しは立っておらず、日本の感染者数は日を追うごとに増加している状況である。先日、イギリスや中国を始めとする世界数カ国ではワクチン接種が開始された。日本国内での接種開始時期は未定であるが、どのワクチンの臨床試験も異例のスピードで実施されたということで、専門家を始め世間ではワクチンの副反応に関して慎重な姿勢をとる人も少なくはない。

新型コロナウイルス感染症により、この1年間で「新しい生活様式」が提言され、「3密」を避けるための様々な取り組みがなされるようになった。その一例として会議は今やすっかりリモート開催が定着した。導入当初は電話でも対面でもない新しい距離感でのやりとりに戸惑うこともあったが、現在では多くの人々が感染拡大前とほぼ変わらない会議風景を取り戻すことができた。さらに物理的な距離という制約が取り払われた結果、移動時間や出張費用のコストが大幅に抑えられ、今まで以上に便利になったと言えるかもしれない。しかしながら、リモートでの開催が困難なものもある。資格認定試験など、人の密集を避けるためにより広い会場に変更したり、会場内の感染対策に必要な物や設備、人を手配したりすることで、逆に大きな手間と費用がかかるようになった。試験をリモート開催するアイデアも出ているが、全ての試験をリモート開催することは現実的には難しく、そのための初期投資も莫大なものとなるため、引き続き慎重に検討を重ねるべき課題である。

このように新型コロナウイルスによって我々の生活は一変した。一方、細胞診の世界でも変化が起こる可能性がある。国立研究開発法人国立がん研究センターによる「有効性評価に基づく子宮頸がん検診ガイドライン」の新たな提言があった。検診対象年齢（20から69歳）と検診間隔（2年）、検体採取法（検体は医師採取のみとし、自己採取は認めない）が明示された。また、HPV検査の浸潤がん罹患率減少効果の科学的根拠を認め、従来より推奨している細胞診に加え、HPV（ヒトパピローマウイルス）検査単独法もグレードAとして推奨された（ただし、細胞診・HPV検査併用法は不利益としての偽陽性割合が多いことからグレードC）。しかしながら子宮頸がん検診のアルゴリズムおよび運用については時間をかけて十分に議論を重ねる必要がある。さらに検体採取やDNA管理に厳重な精度



## 巻頭言

が求められるのは必至でとても重要なことである。日本臨床細胞学会では、『ゲノム診療時代における細胞診のあり方検討ワーキンググループ』が活動しており、細胞診検体を用いたゲノム診断の基礎となる研究が進められている。LBC法で採取された細胞診検体がゲノム医療に応用される日もそう遠くはない。ゲノムバイオスタティションの養成も重要となっていくであろう。実際にシフトするのはまだまだ先のことと思われるが、今から新しい時代に突入していくことをしっかりと考えていかないといけない。今はまさに新型コロナウイルスによる New Normal だけでなく、New System, New Job, New Life が始まる前触れなのかもしれない。

原 著

# 甲状腺穿刺吸引細胞診における液状化検体細胞診 ThinPrep® の有用性について

青木 弘<sup>1)</sup> 安岡 弘直<sup>1)</sup> 金田 敦代<sup>1)</sup> 郡司有理子<sup>2)</sup>  
 福田 沙織<sup>2)</sup> 島田 香<sup>1)</sup> 築山あゆみ<sup>2)</sup> 辻 洋美<sup>1)</sup>  
 辻本 正彦<sup>2)</sup>

大阪警察病院病理科<sup>1)</sup>, 第二大阪警察病院病理科<sup>2)</sup>

**目的:** 甲状腺穿刺吸引細胞診における ThinPrep® の有用性と細胞像の特徴を検討した。

**方法:** 従来法のみで診断した 358 結節と ThinPrep® のみで診断した 308 結節を対象とし, 細胞診断結果の比較, 組織診断結果との対比および ThinPrep® の細胞像の特徴を検討した。

**成績:** 検体不適正率は従来法 18.7%, ThinPrep® 9.7% で, 検体不適正率は統計学的に有意に減少した。従来法の感度は 92.5%, 特異度は 100% で, ThinPrep® の感度は 86.7%, 特異度は 100% であった。ThinPrep® の細胞像は背景がクリーンで, 細胞集塊とコロイドには断片化がみられた。クロマチンは明瞭で, 乳頭癌では核溝や核内細胞質封入体が容易に観察できた。散在性細胞は集団を形成する傾向にあり, また細胞集塊周囲に細胞が塗抹されにくい傾向があった。

**結論:** ThinPrep® を使用した甲状腺穿刺吸引細胞診の診断精度は従来法と遜色がなく, 検体不適正率が減少し, 標準化された標本作製が可能で, 検鏡者の負担が軽減するなどさまざまな利点があり, 有用であると考えられた。細胞像は全体的に従来法の見方を大きく変更せずに診断可能であった。

**Key words :** Thyroid, Fine needle aspiration cytology, Liquid-based cytology, Morphology, Unsatisfactory rate

## I. はじめに

米国を中心に婦人科領域で発達してきた液状化検体細胞診 (liquid-based cytology, 以下 LBC) は, 本邦でも徐々に

普及してきており, その用途は非婦人科領域にも広がってきている<sup>1)</sup>。当院では 2012 年より子宮腔部・頸部検体に LBC を導入しており, 細胞像が従来法に近く, 子宮頸がん検診スクリーニングにおいて病変検出が従来法より有効性が高いとして, また HPV 検査についても当時唯一, 米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) の承認を得ていたことから ThinPrep® (Hologic 社) を採用している<sup>2,3)</sup>。甲状腺穿刺吸引細胞診について, 2012 年の LBC 導入当初は従来法と ThinPrep® の併用を行い, 翌年からは ThinPrep® のみで診断を行っている。欧米では甲状腺穿刺吸引細胞診における LBC に関する種々の報告がみられるが, 本邦では SurePath™ (BD 社) や LBC PREP™ (武藤化学社) によるものが多く, ThinPrep® による報告は少ない<sup>4~8)</sup>。一方で ThinPrep® の細胞像は「ベセスダ・システム細胞診報告様式 The Bethesda System for Reporting Thy-

Benefits of ThinPrep® for thyroid fine needle aspiration cytology  
 Hiroshi AOKI<sup>1)</sup>, C. T., Hironao YASUOKA<sup>1)</sup>, M. D., Atsuyo KANEDA<sup>1)</sup>,  
 C. T., Yuriko GUNJI<sup>2)</sup>, C. T., I. A. C., Saori FUKUDA<sup>2)</sup>, C. T., Kaori SHI-  
 MADA<sup>1)</sup>, C. T., Ayumi TSUKIYAMA<sup>2)</sup>, C. T., I. A. C., Hiromi TSUJI<sup>1)</sup>, M.  
 D., Masahiko TSUJIMOTO<sup>2)</sup>, M. D., F. I. A. C.

<sup>1)</sup>Department of Pathology, Osaka Police Hospital

<sup>2)</sup>Department of Pathology, Daini Osaka Police Hospital

論文刷請求先 〒 543-0035 大阪市天王寺区北山町 10 の 31 大阪警察病院病理科 安岡弘直  
 令和元年 12 月 17 日受付  
 令和 2 年 1 月 6 日受理

**Table 1** Cytological diagnosis using conventional smears and ThinPrep® (no. of preparations (%)).

Conventional		ThinPrep®		p value
Inadequate	67 (18.7)	Unsatisfactory	30 (9.7)	p=0.0001
Benign	212 (59.2)	Cyst Fluid Benign	21 (6.8) 200 (64.9)	NS
Indeterminate	18 (5.0)	Undetermined Significance Follicular Neoplasm	26 (8.4) 2 (0.6)	NS
Malignancy suspected	7 (2.0)	Suspicious for malignancy	4 (1.3)	NS
Malignant	54 (15.1)	Malignant	25 (8.1)	p=0.0037
Total	358	Total	308	

The proportion of inadequate smears was significantly correlated with the proportion of unsatisfactory smears ( $p=0.0001$ ).

NS : not significant

roid Cytopathology」第2版に多数掲載されており<sup>9)</sup>、欧米諸国でのThinPrep®の普及がうかがえる。今後、本邦でThinPrep®がさらに普及することが予想されるが、本邦の甲状腺癌取扱い規約に基づくThinPrep®の報告はいまだない。今回われわれは甲状腺穿刺吸引細胞診におけるThinPrep®の有用性と細胞像の特徴を検討したので報告する。

## II. 対象および方法

2011年1~12月に従来法のみで診断した甲状腺穿刺吸引細胞診358結節と、2017年1~12月にThinPrep®のみで診断した308結節を対象とし、細胞診断結果の比較を行った。そのうち外科的切除術が行われ組織診断の確定した従来法86結節とThinPrep®62結節について組織診断結果との対比を行い、ThinPrep®の細胞像の特徴を検討した。

従来法標本は、22G注射針を付けた20ml注射筒を千葉大学第一外科式吸引ピストルにセットし、超音波ガイド下に結節から穿刺吸引した材料をスライドガラスに吹き付け、すり合わせ法で塗抹し、95%アルコールで固定後にパニコロウ染色を行った。穿刺は原則、同一部位より2回施行された。細胞診断は甲状腺癌取扱い規約第6版<sup>10)</sup>に準じて2名の細胞検査士によるダブルチェックを実施し、異型細胞が認められる、あるいは疑われる場合は細胞診専門医による検鏡を行った。なお、甲状腺癌取扱い規約第6版では出現細胞数について明確な基準がなく、「正常あるいは良性」について、採取されている濾胞上皮細胞がわずかであっても適性標本として判定していたため、適正・不適正の判定につき甲状腺癌取扱い規約第7版<sup>11)</sup>に準じて再評価・再分類を行った。

ThinPrep®標本は、従来法と同様に穿刺吸引した材料を、粘液溶解・溶血作用のあるThinPrep®専用前処理液 Cyto-

Lyt液(Hologic社)に洗い出し15~20分静置後、1200gで5分間遠心して得た沈渣をThinPrep®専用細胞保存液PreservCyt液(Hologic社)に移して15分以上固定し、専用塗抹機器ThinPrep®5000プロセッサ(Hologic社)にて塗抹標本作製後パニコロウ染色を行った。細胞診断は甲状腺癌取扱い規約第7版に準じて2名の細胞検査士によるダブルチェックを実施し、異型細胞が認められる、あるいは疑われる場合は細胞診専門医による検鏡を行った。

なお両検討期間に、細胞診業務従事者の異動が若干あるものの、細胞診業務の中心メンバーに変更はなく、検討期間内での診断者格差、経験年数によるバイアスはほぼないと考えられる。統計学的有意差の検定には $\chi^2$ 検定(有意水準=5%,  $p<0.05$ で有意差ありとする)を用いた。

## III. 結果

### 1) 従来法とThinPrep®の診断結果の比較について

従来法とThinPrep®の細胞診断結果をTable 1に示す。従来法の「検体不適正」は67結節で、検体不適正率は18.7%(67/358)であり、ThinPrep®の「検体不適正」は30結節で、検体不適正率は9.7%(30/308)であった。従来法とThinPrep®での検体不適正率について $\chi^2$ 検定を用いて検定した結果、有意差が認められた( $p=0.0001$ )。従来法の「悪性」は54結節15.1%(54/358)であり、ThinPrep®の「悪性」は25結節8.1%(25/308)であった。

### 2) 細胞診と組織診の比較について

従来法およびThinPrep®の細胞診断と組織診断との比較をそれぞれTable 2, Table 3に示す。従来法で組織診断が得られた86結節中、細胞診で「悪性の疑い」あるいは「悪性」と診断され組織診で悪性であったものが49結節、「正常あるいは良性」と診断され悪性であったものが4結節で



**Table 2** Results of conventional smears and the corresponding surgical findings (no. of preparations (%)).

Category	Number	Histology results				
		Benign histology			Malignant histology	
		AG	FA	Other	PTC	ML
Benign	26	20 (77)	1 (3.8)	1 (3.8)	4 (15.4)	
Indeterminate	11	4 (36.4)	1 (9.1)		6 (54.5)	
Malignancy suspected	6				5 (83.3)	1 (16.7)
Malignant	43				43 (100)	
Total	86	24	2	1	58	1

AG : Adenomatous goiter, FA : Follicular adenoma, PTC : Papillary thyroid carcinoma, ML : Malignant lymphoma

**Table 3** Results of ThinPrep® smears and corresponding surgical findings (no. of preparations (%)).

Category	Number	Histology results								
		Benign histology				Malignant histology				Other
		AG	FA	CT	Other	PTC	FC	ML	Other	
Cyst Fluid	2	2 (100)								
Benign	20	12 (60)		2 (10)	2 (10)	3 (15)	1 (5)			
Undetermined Significance	12	2 (16.7)	1 (8.3)		1 (8.3)	4 (33.3)	2 (16.7)			2 (16.7)
Follicular Neoplasm	2	1 (50)					1 (50)			
Suspicious for malignancy	3					3 (100)				
Malignant	23					19 (82.6)		2 (8.7)	2 (8.7)	
Total	62	17	1	2	3	29	4	2	2	2

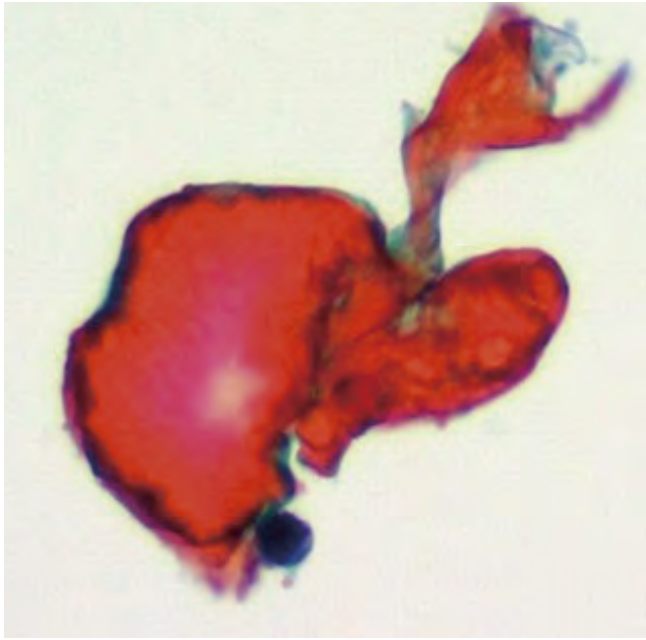
AG : Adenomatous goiter, FA : Follicular adenoma, CT : Chronic thyroiditis, PTC : Papillary thyroid carcinoma, FC : Follicular carcinoma, ML : Malignant lymphoma

あり、感度は92.5% (49/53)であった。また、「正常あるいは良性」と診断され良性であったものが22結節、「悪性の疑い」あるいは「悪性」と診断された結節で良性であったものはなく、「鑑別困難」を除いた特異度は100% (22/22)であった。ThinPrep®で組織診断が得られた62結節中、細胞診で「悪性の疑い」あるいは「悪性」と診断され組織診で悪性であったものが26結節、「良性」と診断され悪性であったものが4結節であり、感度は86.7% (26/30)であった。また、「嚢胞液」あるいは「良性」と診断され良性であったものが18結節、「悪性の疑い」あるいは「悪性」と診断された結節で良性であったものはなく、「意義不明」と「濾胞性腫瘍」を除いた特異度は100% (18/18)であった。従来法とThinPrep®での感度について $\chi^2$ 検定を用いて検定したが、有意差は認められなかった ( $p=0.3908$ )。

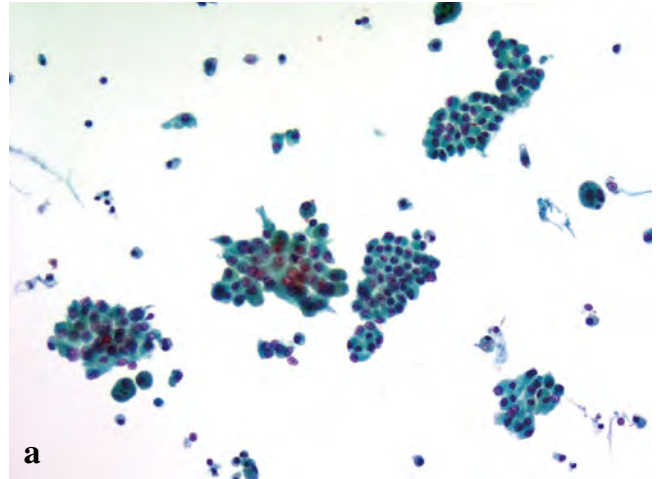
### 3) ThinPrep®の細胞像について

背景はクリーンで、液状コロイドは確認できない傾向にあり、乳頭癌におけるローピーコロイドは判断しがたく、奇怪な形状のコロイドがみられることがあった (Photo. 1)。細胞集塊やコロイドは断片化し、大型のものが少な

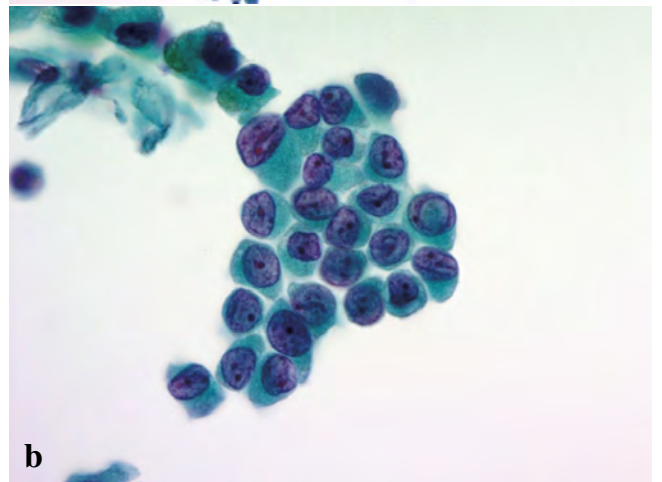
かった (Photo. 2)。壊死は減少する傾向が認められた (Photo. 3)。リンパ球などの散在性細胞は集団を形成する傾向にあったが、橋本病では成熟リンパ球と好酸性細胞集塊が明瞭に観察された (Photo. 4)。悪性リンパ腫における異型細胞も集団形成する傾向にあり、背景には lymphoglandular body が認められた (Photo. 5)。細胞集塊は平面的で、軽度の核濃縮がみられる場合があったが、クロマチンは明瞭で核観察が行いやすい印象を受け、乳頭癌ではクロマチンが微細で核は淡明となり、核形不整がみられた (Photo. 6)。また、核溝や核内細胞質封入体が明瞭にみられ、核小体が目立つ傾向にあった (Photo. 7)。細胞集塊辺縁に細胞が塗抹されにくい場合があり、塗抹辺縁部は細胞が変性する傾向にあった。血液成分やコロイドなどの背景所見および細胞集塊の大きさ、散在性細胞の出現形態、核所見などにいくつかの相違はあるが、ThinPrep®標本の診断は、全体的に従来法から細胞像の読み方を大きく変更することなく実施可能であった。



**Photo. 1** Papillary thyroid carcinoma. A dense and atypical pattern of colloid is seen (ThinPrep®, Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).

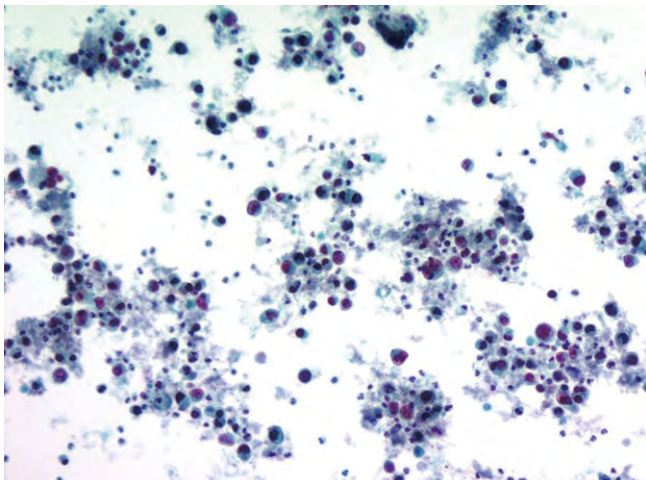


**a**



**b**

**Photo. 2** Papillary thyroid carcinoma. A fragmented pattern of cell clusters with a clean background is seen (ThinPrep®, Papanicolaou staining, a,  $\times 10$ , b,  $\times 40$ ).

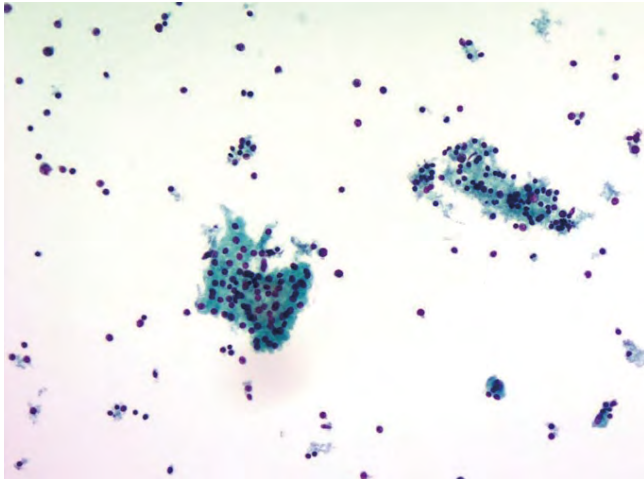


**Photo. 3** Undifferentiated (anaplastic) thyroid carcinoma. Variable pleomorphic tumor cells with widespread tumor necrosis are seen (ThinPrep®, Papanicolaou staining,  $\times 10$ ).

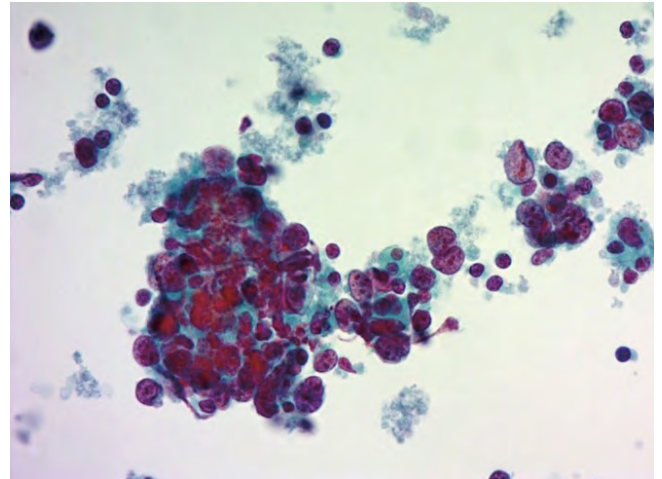
#### IV. 考 察

LBCの最も大きな利点の一つは検体不適正率の減少である<sup>1,11)</sup>。ThinPrep®では、採取器具内の細胞をほとんどすべて回収することができ、検体採取後即座に専用溶液に洗い出されるため乾燥がなく、溶血作用のあるCytoLyt液の使用により赤血球が除去される。本検討でも従来法に比べ

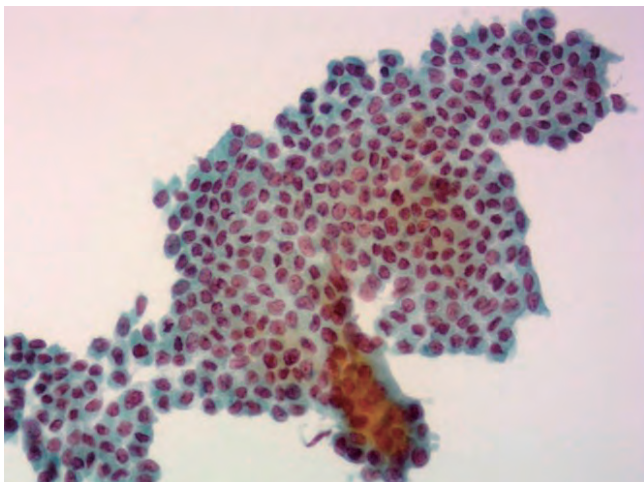
ThinPrep®における検体不適正率が半減し、甲状腺癌取り扱い規約 第7版の付帯事項にある、「検体不適正が占める割合は、細胞診検査総数の10%以下が望ましい」を達成した。その他のLBC法と同様にThinPrep®でも、検体不適正率が減少することが確認され、再検査の減少、患者への負担軽減が期待される。またThinPrep®における「悪性」が従来法と比較して減少していたが、2011年に比べ2017年では他機関からの紹介標本が18結節から119結節に増加し、そのうち「悪性」が11結節から53結節に増加しており、これは当初当院を初診として来院していた患者が、年々他の医院や診療所を受診した後に当院へ紹介されるようになり、また、紹介症例に占める悪性の割合が高いことから、相対的に院内実施の甲状腺穿刺吸引細胞診件数および「悪性」が減少したものと考えられた。ThinPrep®で「良性」と診断し、組織診断で「悪性」となった4例はすべて乳頭癌であった。そのうち2例は、核内細胞質封入体を疑う所見がわずかにあり、乳頭癌を否定できないと判断し



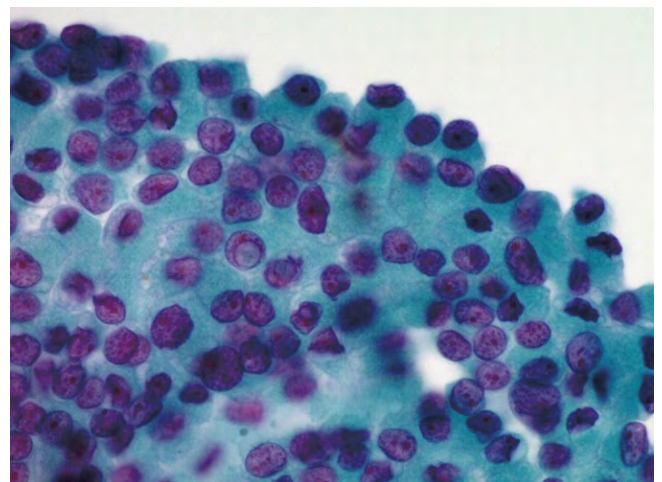
**Photo. 4** Hashimoto thyroiditis. Lymphocytes are dispersed as isolated cells and sheets of oncocytes with a low nuclear-to-cytoplasmic ratio are seen (ThinPrep®, Papanicolaou staining,  $\times 10$ ).



**Photo. 5** Diffuse large B-cell lymphoma of the thyroid. Tumor cell aggregates composed of cells of markedly irregular shapes and scant cytoplasm with a high nuclear-to-cytoplasmic ratio are seen. The nuclei contain granular chromatin and prominent nucleoli (ThinPrep®, Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).



**Photo. 6** Papillary thyroid carcinoma. The slightly large monolayer sheet is composed of cells with pale chromatin and prominent nucleoli (ThinPrep®, Papanicolaou staining,  $\times 20$ ).



**Photo. 7** Papillary thyroid carcinoma. The monolayer sheet is composed of cells with intranuclear cytoplasmic pseudoinclusions (ThinPrep®, Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).

「意義不明」と判定すべきだったと考えられる1例と、小濾胞構造が散見され、濾胞性腫瘍の可能性が考えられると判断し「意義不明」と判定すべきだったと考えられる1例であり、これら2例は目的とする細胞の量が少数であったため、「良性」と過小評価していたと考えられた。残りの2例は、病変が小さく異型細胞が採取されていなかったと推定される1例、著明な石灰化のため異型細胞が採取されていなかったと推定される1例であった。

LBCの細胞像はその標本作製法の種類により、特徴や相違点が少なからず存在する。SurePath™では、背景の赤血球やコロイドが減少し、立体的な塗抹と孤立散在性細胞の

減少、細胞収縮と核・細胞質の濃染などが報告されている<sup>4)</sup>。ThinPrep®においても背景所見の変化がみられ、溶血作用により赤血球は減少し、液状コロイドは確認が困難であった。そのため従来法では、採取コロイドが多い場合は良性の可能性が高く、少ない場合は悪性の可能性が高いとされているが<sup>12)</sup>、ThinPrep®では異なった見方をする必要が考えられる<sup>13)</sup>。一方、自然沈降で塗抹されるため立体的細胞集塊となるSurePath™とは異なり、攪拌した細胞をフィルターに吸着しスライドガラスに圧着転写させるThinPrep®では細胞集塊が平面的となる傾向が認められ

た。細胞集塊とコロイドには断片化が起こり、大型集塊は減少し、これは塗抹時の検体攪拌によるものと推察された。乳頭癌におけるローピーコロイドは判断しがたく、代わりに厚みのあるコロイドや奇怪な形状のコロイドがみられた。従来法でスクリーニング・観察する際に参考となる大型細胞集塊やコロイドの情報が得られないものの、ThinPrep®の特徴に留意し細胞診断を行うことにより、感度や特異度など組織診断との対比結果からも細胞診断に大きな影響はないと考えられた。ThinPrep®は従来法に比べ核内細胞質封入体が観察しにくいとの報告があるが<sup>13)</sup>、細胞集塊は重積が目立たず平面的で、三次元構造が少なく、従来法に比べ細胞観察が行いやすい。また、スリガラス法核を反映するようにクロマチンが微細顆粒状で核は淡明となり、核や核溝・核内細胞質封入体の観察が行いやすいと考えられる。軽度の核濃縮がみられる場合があるが、細胞観察に影響を与えるほどではないと考えられた。背景のリンパ球は集団形成が目立つ傾向にあり、また細胞集塊辺縁には細胞が塗抹されないことがあるため、橋本病の細胞像が従来法とやや異なることには注意が必要である。この点についてはSurePath™においても、上皮細胞集塊とリンパ球が乖離すると報告されている<sup>5)</sup>。しかしながら、背景の成熟リンパ球と核の大小不同および核小体の腫大を呈するN/C比の低い好酸性細胞がシート状に出現する細胞像から、橋本病の診断は十分可能であると考えられる。悪性リンパ腫（びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫）においても、腫瘍細胞の集団形成が目立つ傾向にあり、核形不整が著明なN/C比の高い異型細胞が密に集まる細胞像は、時に小細胞癌との鑑別を要するものの、悪性リンパ腫ではクロマチンが顆粒状で核小体が非常に目立つため鑑別は十分可能であると考えられる。リンパ球をはじめとする散在性細胞の集団形成傾向は、標本塗抹過程において材料の攪拌後フィルターに吸引される際に、フィブリンや粘液などの粘着性物質に細胞が付着するために生ずると推定される。細胞集塊辺縁に細胞が塗抹されにくい点については、フィルターに吸着された細胞をスライドガラスに圧着転写する際、細胞集塊とスライドガラス、フィルターの間空間ができ、小さな細胞や集塊がスライドガラスに接触しないためと推察され、この現象はフィルター転写により物理的に発生しうると考えられる。

ThinPrep®には自動塗抹装置が必要で初期費用がかかるが、全自動行程による標本作製の完全標準化という大きな利点がある。これにより、塗抹標本を複数枚作製することができ、免疫染色などにも応用が容易である。本研究の対象症例ではないが、免疫染色を追加し診断に有用な情報を得た症例を、甲状腺検体に限らずわれわれは少なからず経

験している。また、対象症例について、1結節あたりの標本作製枚数と検鏡面積を比較すると、従来法で平均4.3枚作製していた標本が、ThinPrep®では特許技術であるRandomized/Controlled Membrane Transfer™ Technologyにより<sup>2)</sup>平均1.3枚で、1/3以下となる。検鏡面積については、従来法においてスライドガラスの70%に検体が塗抹されていたと仮定すると、1枚あたり約10 cm<sup>2</sup>で1結節につき43 cm<sup>2</sup>となり、ThinPrep®の塗抹範囲は直径2 cmの円形であり、1枚あたり約3 cm<sup>2</sup>で1結節につき4 cm<sup>2</sup>となるため、ThinPrep®の検鏡面積は従来法の1/10以下になると推定される。これにより検鏡時間が短縮され、細胞検査士の大幅な負担軽減となると考えられる。

ThinPrep®による甲状腺穿刺吸引細胞診は、細胞診断上従来法と遜色がなく、採取細胞の回収率が向上し、細胞乾燥がなく背景がクリーンな標本となるため、検体不適正率が減少する。また、検鏡面積の減少と検鏡時間の短縮により、細胞検査士と細胞診専門医の負担が軽減する。全自動による完全標準化された標本作製に加え、細胞の長期保存が可能で、追加標本作製による免疫染色の実施とセルブロックの作製や遺伝子検査も実施可能であるといったさまざまな利点がある。細胞集塊は平面的でクロマチンが明瞭なため、核の観察が行いやすい。

今後、甲状腺穿刺吸引細胞診におけるLBCの普及が予想されるが、各種LBCにおける細胞像にはいくつかの特徴・相違点があるため、これらを十分理解したうえで細胞診断を行うことが重要であると考えられる。

筆者らに、開示すべき利益相反状態はない。

なお、この内容は第60回日本臨床細胞学会総会春期大会（東京）で発表した。

## Abstract

**Objective :** We compared the diagnostic accuracy and cytomorphic features of thyroid lesions in fine needle aspiration biopsy between the ThinPrep® and conventional smear methods (TP and CS, respectively).

**Study Design :** In this study, we compared the results and cytomorphic features in 358 CS preparations and 308 TP preparations. We also compared the results obtained with TP and the corresponding surgical findings with those obtained using CS.

**Results :** The insufficient material rates for CS and TP were 18.7% and 9.7%, respectively, being significantly lower for TP as compared to CS. The diagnostic sensitivity of CS was 92.5%, and that of TP was 86.7%. The specificity was 100% for both CS and TP. In comparison to CS, a clean background, fragmentation of cell clusters and colloids, and obvious chromatin features were observed in TP. Nuclear grooves and

pseudoinclusions could be easily visualized in the TPs of papillary thyroid carcinoma.

**Conclusion** : The TP method showed a similar diagnostic accuracy to CS, but with the advantage of reduced sample insufficiency rates. It is important to be aware of the cytological differences observed between CS and TP ; however, overall, TP seems to be at least as useful as CS.

## 文 献

- 1) 鈴木彩葉, 廣川満良, 宮内 昭. 甲状腺における液状化検体細胞診. 日内分泌・甲状腺外会誌 2014 ; 31 : 120-124.
- 2) 佐々木寛, 監修. 液状化検体細胞診断マニュアル. 東京 : 篠原出版新社 ; 2016. 12-15.
- 3) 久布白兼行. 液状検体細胞診. 日産婦誌 2010 ; 62 (9) : 194-199.
- 4) 鈴木彩葉, 廣川満良, 高木 希, 延岡由梨, 山尾直輝, 隈 晴二・ほか. 甲状腺における液状化検体細胞診—その有用性と形態的特徴—. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 (6) : 495-501.
- 5) 前田智治, 古谷敬三, 平田真紀子, 林 理恵, 高石裕子, 兵頭直樹・ほか. 甲状腺穿刺吸引細胞診における従来法と液状処理細胞診 (LBC) の比較について. 日臨細胞会誌 2010 ; 49 (2) : 108-111.
- 6) 坂東伸幸, 後藤 孝, 赤羽俊章, 大貫なつみ, 山口朋美, 佐和弘基・ほか. 甲状腺結節に対する穿刺吸引細胞診において液状化处理細胞診 (Liquid-based cytology ; LBC) を施行した症例の検討. 日内分泌・甲状腺外会誌 2013 ; 30 (2) : 142-147.
- 7) 山口朋美, 大貫なつみ, 赤羽俊章, 坂東伸幸, 田中伸哉. 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). 日臨細胞会誌 2017 ; 56 (3) : 130-136.
- 8) 香川昭博, 則松良明, 寺本典弘, 前田智治. 7 種の臨床材料を使用した液状化検体細胞診 3 方法における細胞所見の比較. 医学検査 2017 ; 66 (1) : 60-67.
- 9) Cibas, E. S., Ali, S. Z. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology : Definitions, Criteria, and Explanatory Notes, 2nd ed. Springer : New York ; 2018.
- 10) 甲状腺外科研究会, 編. 甲状腺癌取扱い規約 第 6 版. 東京 : 金原出版 ; 2005.
- 11) 甲状腺外科研究会, 編. 甲状腺癌取扱い規約 第 7 版. 東京 : 金原出版 ; 2015.
- 12) 廣川満良, 鈴木彩葉, 樋口観世子. 穿刺吸引細胞診の見方と診断そして最新の知見—細胞像と組織像を対比して—甲状腺. 病理と臨 2015 ; 33 (11) : 1187-1192.
- 13) Afify, A. M., Liu, J., Al-Khafaji, B. M. Cytologic artifacts and pitfalls of thyroid fine-needle aspiration using ThinPrep : a comparative retrospective review. Cancer 2001 ; 93 (3) : 179-186.

## 口腔細胞診における深層型扁平上皮細胞の細胞学的検討

末光 正昌<sup>1)</sup> 松本 敬<sup>2)</sup> 瀬戸 宏之<sup>3)</sup> 中山 光子<sup>1)</sup>  
 森川 美雪<sup>1)</sup> 横山 愛<sup>4)</sup> 山本 泰<sup>5)</sup> 宇都宮忠彦<sup>1)</sup>  
 浮ヶ谷匡恭<sup>2)</sup> 久山 佳代<sup>1)</sup>

日本大学松戸歯学部病理学講座<sup>1)</sup>, 日本大学松戸歯学部付属病院病理診断科<sup>2)</sup>,  
 日本大学大学院松戸歯学研究科口腔病理学専攻<sup>3)</sup>, 日本大学松戸歯学部生理学講座<sup>4)</sup>, 同 口腔外科学講座<sup>5)</sup>

目的：細胞診判定別に出現した深層型扁平上皮細胞の特徴を明らかにし、スクリーニングでの主観的判定を数値化する目的で、深層型扁平上皮細胞を細胞形態計測学的に解析し、細胞診判定別に比較検討した。

方法：2016年1月～2016年12月に本学付属病院にて細胞診を行った症例のうち舌縁部から検体が採取された384例を対象とし、画像解析の手法を用いて核面積、細胞面積、核・細胞質比、核形不整の程度、核の濃染性を明らかにした。

成績：細胞診判定別の深層型扁平上皮細胞出現症例数[比率(実数)]は、NILM：27例[8.6%(27/314)]、SIL：1例[2.0%(1/50)]、SCC：8例[40.0%(8/20)]であった。核面積の平均値(標準偏差)は、NILM：66.0 $\mu\text{m}^2$ (34.8)、SCC：82.6 $\mu\text{m}^2$ (43.7)となり、SCCが有意に( $p=0.042$ )高値を示した。形態解析の結果、核形不整の程度はNILM：1.25(0.08)、SCC：1.29(0.09)となり、SCCが有意に( $p=0.028$ )高値を示した。

結論：SCCに出現した深層型扁平上皮細胞の核面積と核形不整の程度はNILMより有意に大きく、これらは細胞診判定の一助となる細胞所見であることが示唆された。

**Key words** : Deep-layer squamous cell, Image analysis, Oral exfoliative cytology, Morphology

Cytological investigation of deep-layer squamous cells in oral cytology

Masaaki SUEMITSU<sup>1)</sup>, D. D. S., Takashi MATSUMOTO<sup>2)</sup>, C. T., Hiroyuki SETO<sup>3)</sup>, D. D. S., Mitsuko NAKAYAMA<sup>1)</sup>, D. D. S., Miyuki MORIKAWA<sup>1)</sup>, C. T., Megumi YOKOYAMA<sup>4)</sup>, D. D. S., Hiroshi YAMAMOTO<sup>5)</sup>, D. D. S., Tadahiko UTSUNOMIYA<sup>1)</sup>, D. D. S., Masayuki UKIGAYA<sup>2)</sup>, C. T., Kayo KUYAMA<sup>1)</sup>, D. D. S.

<sup>1)</sup>Department of Pathology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

<sup>2)</sup>Department of Diagnostic Pathology, Nihon University Hospital at Matsudo

<sup>3)</sup>Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo, Oral Pathology

<sup>4)</sup>Department of Physiology, <sup>5)</sup>Department of Oral Surgery, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

論文刷請求先 〒271-8587 千葉県松戸市栄町西2の870の1 日本大学松戸歯学部病理学講座 末光正昌

令和2年5月11日受理

令和2年5月20日受理

### I. はじめに

口腔領域においても癌のスクリーニングを目的とした擦過法による細胞診が普及しつつある。2015年細胞診ガイドラインにおいてはじめて明示された口腔粘膜疾患細胞診の判定区分では、深層型扁平上皮異型細胞の存在が口腔扁平上皮癌の判定に重要な所見と位置づけられている<sup>1)</sup>。しかしながら肉眼的に白板症を呈する口腔扁平上皮癌は角化を随伴した表層分化を特徴としており、細胞診では深層型扁平上皮細胞の採取や検出は困難である。また、深層型扁平上皮細胞は潰瘍性病変から容易に採取されるが、その深層型扁平上皮細胞が真の腫瘍性変化なのかあるいは反応性のものなのかの判定が難しいこともある。これは深層型扁平上皮細胞の細胞所見の蓄積が乏しいことによると考えられ、細胞診ガイドラインにおいても明確な判断基準は示さ

れていない。

深層型扁平上皮異型細胞の判定については、周囲の細胞との相対比較や過去の経験に基づき主観的に行われており、検鏡者間あるいは施設間で明確に統一されていない。

したがって、スクリーニング時に重視されている細胞所見についてもはっきりしていない。そのため、境界病変などにおいては、意見が分かれることもあり、判断基準の明確化が望まれる。

そこで本研究では、細胞診判定別に出現した深層型扁平上皮細胞の特徴を明らかにし、スクリーニングでの主観的判定を数値化する目的で、深層型扁平上皮細胞を細胞形態計測学的に解析し、細胞診判定別に比較検討した。

## II. 対象および方法

### 1) 対象

本研究は、日本大学松戸歯学部付属病院病理診断科において、2016年1月から2016年12月の1年間に実施された2072件の擦過法による細胞診（直接塗抹法）のうち、舌縁部から検体が採取された384例（全体の18.5%、舌症例の46.4%）を研究対象とした。なお、対象は、検査法、期間、部位の3点に基づき選定を行っているため、組織学的裏づけは考慮されていない。口腔粘膜の擦過には、子宮頸管細胞診断用ブラシ Cytobrush Plus (Medscand Inc., Florida, USA) を使用した。固定には95%エタノールを使用し、約24時間浸漬固定した。染色は通常法に従い Papanicolaou 染色を施行した。核の染色には、ギル・ヘマトキシリン5(武藤化学株式会社, 東京, 日本) を使用し、染色時間は3分、色出しは水道水にて5分行った。対象は、細胞診実施時の4段階評価では、NILM (negative for intraepithelial lesion or malignancy) : 314例, LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion or low grade dysplasia) : 48例, HSIL (high-grade intraepithelial lesion or high-grade dysplasia) : 2例, SCC (squamous cell carcinoma) : 20例で、平均年齢が63.7歳、年齢分布は6~98歳、男性152名、女性232名であった。本研究では、LSILおよびHSILをまとめてSIL (squamous intraepithelial lesion or dysplasia) と区分し、NILM例における深層型扁平上皮細胞群、SIL例における深層型扁平上皮細胞群、SCC例における深層型扁平上皮細胞群の3群間で比較解析した。

### 2) 深層型扁平上皮細胞の抽出および処理条件

対象の384例すべてのPapanicolaou染色スライドガラス標本は1名の細胞診専門歯科医が正立明視野顕微鏡BX51 (OLYMPUS, 東京, 日本) にて対物レンズ10倍以上で観察を行い、周囲の細胞と比較し次の条件に該当する細胞を

写真撮影した。

条件①：標本の中で核・細胞質比 (N/C比) が極めて高い細胞

条件②：細胞質がライトグリーンに濃染する細胞

除外条件：固定不良や乾燥により変性をきたした細胞

細胞は、核縁に焦点が合った状態で対物レンズ40倍にて撮影された。撮影は、前記顕微鏡に顕微鏡用デジタルカメラDP72 (OLYMPUS, 東京, 日本) を使用した。撮影した画像の保存条件は、解像度が横4080 pixel, 縦3072 pixel, 撮影範囲は横440  $\mu\text{m}$ , 縦331  $\mu\text{m}$ , 24bitRGB, TIFF形式とした。細胞像は、対物レンズ40倍にて心出しをした後、光量・コンデンサ高さおよび絞り・視野絞り・各種フィルター・光路切り替えレバー・シャッタースピード・ISO感度・RGBバランスをすべて同一条件に設定して撮影した。

撮影した細胞像は、口腔細胞診経験年数3~35年の4名 (細胞診専門歯科医2名, 細胞検査士2名) により検体採取部位 (舌縁部) 以外の情報をブラインドし個別に確認した。撮影者を含め5名全員が深層型扁平上皮細胞の範疇に入ると判断した細胞を抽出した。なお、本研究では標本上に混在する深層型扁平上皮細胞と深層型扁平上皮異型細胞との区別は行わず、併せて深層型扁平上皮細胞として取り扱った。

### 3) 画像解析

細胞像の解析は、ImageJ version 1.51i (National Institutes of Health, Maryland, USA) を用いた。細胞と核それぞれに画像解析の対象とする領域 (関心領域) を設定し、形態と色の解析を行った。形態解析では、核面積、細胞面積、N/C比、核形不整の程度を算出した。核形不整の程度を表す指標には、フラクタル解析 (box counting法) により算出されたフラクタル次元を用いた。核の色解析では、核の濃染性を算出した。核の濃染性は、24bitRGB画像をHSBカラースペースに変換し、8bitグレースケール (256階調) 画像における核の明度を算出し、関心領域における明度の平均値とした。

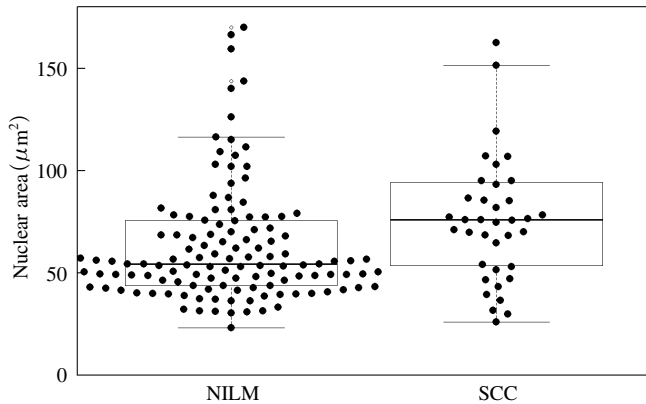
なお、細胞集塊が重積し個々の細胞形態や色調が明瞭ではない細胞は画像解析から除外した。

次に示す統計学的解析により各群間に有意差を認めたものは、四分位数に基づく箱ひげ図 (最大値と最小値を含む) とすべての値の分布を示す蜂群図を重ねたグラフを作成した (Fig. 1, 2)。

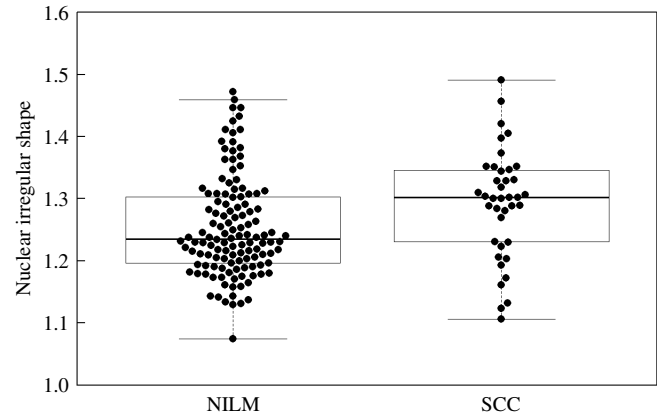
### 4) 統計学的解析

結果は、細胞診判定別 (NILM, SIL, SCC) に分け統計学的有意差検定を行った。統計ソフトウェアは、R version 3.3.0 (the R Development Core Team) を用いた。

深層型扁平上皮細胞の出現率は、Pearson's Chi-squared



**Fig. 1** Nuclear area distribution in NILM and SCC. Box plot and beeswarm plot of the nuclear area of deep-layer squamous cells. The range of distribution of the nuclear area was higher in SCC than in NILM.



**Fig. 2** Distribution of nuclear irregularity in NILM and SCC. Box plot and beeswarm plot of nuclear irregularity in the deep-layer squamous cells. Although nuclear irregularity was widely distributed in both NILM and SCC, it was more pronounced in SCC than in NILM.

test (有意水準 0.05) にて有意差を検討した後, Ryan's method (有意水準 0.05) を用いて有意差検定を行った。

深層型扁平上皮細胞が出現した症例のうち解析対象細胞が含まれている症例における深層型扁平上皮細胞の 1 例あたりの出現個数は, 対象症例が 1 例であった SIL を除外し NILM-SCC 間で F test (有意水準 0.05) を行った後, Student's t-test (有意水準 0.05) を用いて有意差検定を行った。

核面積, 細胞面積, N/C 比, 核形不整の程度, 核の濃染性は Bartlett's test による分散の均一性 (有意水準 0.05) を確認した後, Tukey's honestly significant difference test (有意水準 0.05) にて有意差検定を行った。

本研究は本学倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号: EC18-15-14-033-2 号)。

### III. 結 果

#### 1. 深層型扁平上皮細胞の出現頻度

全 384 例のうち, 深層型扁平上皮細胞が出現した症例数 (頻度) は 36 例 (9.4%) で, その特徴は平均年齢 (標準偏差) 64.1 歳 (14.7), 年齢範囲 20~85 歳, 男 10 名, 女 26 名であった。細胞診判定別の深層型扁平上皮細胞出現症例数は, NILM: 27 例 (8.6%), SIL: 1 例 (2.0%), SCC: 8 例 (40.0%) であった。

#### 2. 深層型扁平上皮細胞の画像解析

細胞が重積し個々の細胞形態や色調が明瞭ではなく画像解析から除外された細胞を除き, 画像解析対象とした深層型扁平上皮細胞は, 計 168 個 (30 例), その内訳は NILM 126 個 (22 例), SIL 3 個 (1 例), SCC 39 個 (7 例) であった (Table 1)。深層型扁平上皮細胞が出現した症例のうち, 解析対象細胞が含まれた 1 例あたりの出現個数の平均は,

NILM 5.7 個, SIL 3.0 個, SCC 5.6 個となった。なお, SIL は解析対象となる細胞数に乏しいため, 統計学的比較検討からは除外した。

全体および細胞診判定別の深層型扁平上皮細胞の核面積, 細胞面積, N/C 比, 核形不整の程度, 核の濃染性それぞれの平均値 (標準偏差) [95% 信頼区間] を Table 1 に示す。また, NILM および SCC における代表的細胞像を Photo. 1 に, シェーマを Fig. 3 に示す。

面積解析の結果, 核面積の平均値 (標準偏差) [95% 信頼区間] は NILM:  $66.0 \mu\text{m}^2$  (34.8) [59.9, 72.0], SCC:  $82.6 \mu\text{m}^2$  (43.7) [68.8, 96.3] となり, SCC が高値を示した。細胞面積は, NILM:  $148.6 \mu\text{m}^2$  (79.0) [134.8, 162.4], SCC:  $176.0 \mu\text{m}^2$  (73.0) [153.1, 198.9] と, SCC が高値を示した。N/C 比は, NILM: 0.47 (0.13) [0.44, 0.49], SCC: 0.48 (0.14) [0.44, 0.53] と, ほぼ同値を呈した。

形態解析での核形不整の程度は, NILM: 1.25 (0.08) [1.24, 1.27], SCC: 1.29 (0.09) [1.26, 1.32] となり, SCC が高値を示した。

核の色解析における核の濃染性は, NILM: 89.1 (26.3) [84.5, 93.7], SCC: 79.4 (21.1) [72.8, 86.0] となり, SCC が低値を示した。

#### 3. 統計学的有意差検定

深層型扁平上皮細胞の出現率は Pearson's Chi-squared test にて,  $p < 0.001$  となり有意差を認めたため, Ryan's method を適用した。その結果, NILM-SIL 間 ( $p < 0.001$ ) と SIL-SCC 間 ( $p < 0.001$ ) において深層型扁平上皮細胞の出現頻度に有意差が認められた。

深層型扁平上皮細胞が出現した症例のうち解析対象細胞が含まれている症例における深層型扁平上皮細胞の 1 例あ



**Table 1** Results of cytological analysis of deep-layer squamous cells

Parameters	Cytological diagnosis			Total	
	NILM* <sup>1</sup>	SIL* <sup>2</sup>	SCC* <sup>3</sup>		
Number of cases	22	1	7	30	
Number of cells	126	3	39	168	
Nuclear area ( $\mu\text{m}^2$ )	M (SD)	66.0 (34.8)	65.2 (9.7)	82.6 (43.7)	69.8 (37.5)
	95% CI	[59.9, 72.0]	[54.2, 76.2]	[68.8, 96.3]	[64.1, 75.5]
Cellular area ( $\mu\text{m}^2$ )	M (SD)	148.6 (79.0)	112.0 (35.3)	176.0 (73.0)	154.3 (78.1)
	95% CI	[134.8, 162.4]	[72.1, 152.0]	[153.1, 198.9]	[142.5, 166.1]
N/C ratio	M (SD)	0.47 (0.13)	0.62 (0.14)	0.48 (0.14)	0.47 (0.13)
	95% CI	[0.44, 0.49]	[0.47, 0.77]	[0.44, 0.53]	[0.45, 0.49]
Nuclear irregularity index* <sup>4</sup>	M (SD)	1.25 (0.08)	1.33 (0.03)	1.29 (0.09)	1.26 (0.08)
	95% CI	[1.24, 1.27]	[1.30, 1.37]	[1.26, 1.32]	[1.25, 1.28]
Hyperchromasia index* <sup>5</sup>	M (SD)	89.1 (26.3)	90.7 (17.6)	79.4 (21.1)	86.9 (25.4)
	95% CI	[84.5, 93.7]	[70.8, 110.6]	[72.8, 86.0]	[83.0, 90.7]

The data are expressed as follows. Mean (M) (standard deviation (SD)) and 95% confidence interval (95% CI).

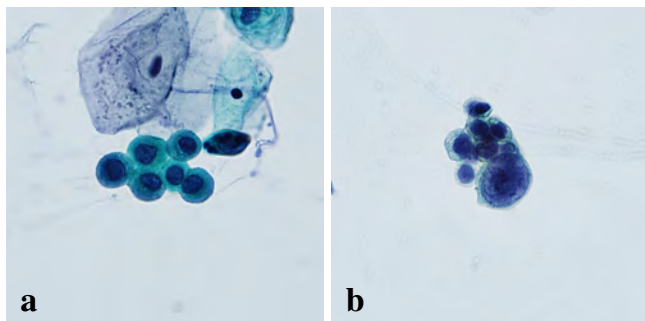
\*1 : NILM denotes "negative for intraepithelial lesion or malignancy."

\*2 : SIL denotes "squamous intraepithelial lesion or dysplasia."

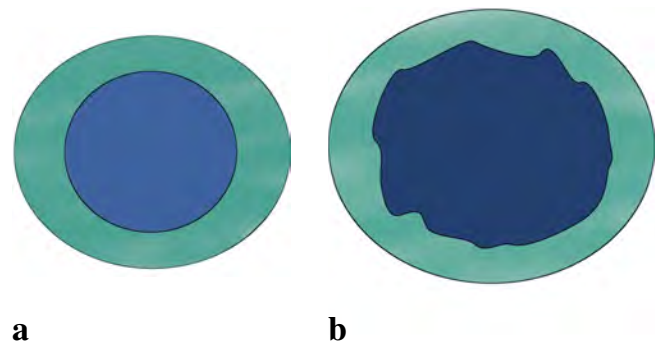
\*3 : SCC denotes "squamous cell carcinoma."

\*4 : Nuclear irregularity index based on the fractal dimensions.

\*5 : Hyperchromasia index based on the image brightness value.



**Photo. 1** Cytological features of deep-layer squamous cells (conventional smear, Pap. staining,  $\times 40$ ).  
 a : Deep-layer squamous cells in NILM. The nuclei have smooth edges.  
 b : Deep-layer squamous cells in SCC. The nuclei are enlarged and have rough edges.



**Fig. 3** Schema of deep-layer squamous cells in oral exfoliative cytology.  
 a : Regular shape and small nuclei in NILM.  
 b : Irregular shape and enlarged nuclei in SCC.

たりの出現個数は, F test にて NILM-SCC 間が  $p=0.060$  となり等分散性を確認したため, Student's t-test を適用した. その結果, NILM-SCC 間 ( $p=0.972$ ) に有意差は認められなかった.

Bartlett's test にて核面積 ( $p=0.055$ ), 細胞面積 ( $p=0.561$ ), N/C 比 ( $p=0.571$ ), 核形不整の程度 ( $p=0.349$ ), 核の濃染性 ( $p=0.309$ ) と, いずれも  $p>0.05$  となり等分散性を確認したため, すべての検討に Tukey's honestly significant difference test を適用した. その結果, 核面積において SCC-NILM 間 ( $p=0.042$ ), 核形不整の程度では SCC-

NILM 間 ( $p=0.028$ ) に有意差が認められた.

4. 核面積および核形不整の程度の細胞診判別分布  
 統計学的検討にて有意差を認めた核面積および核形不整の程度を細胞診判別 (NILM, SCC) にプロットした蜂群図および四分位数を示した箱ひげ図を重ねたものを Fig. 1, 2 に示す. 核面積のデータ分布は, NILM が低値, SCC はそれより高値に分布が偏っており, NILM では高値を示す外れ値が目立っていた (Fig. 1). 核形不整の程度の分布は, NILM と SCC いずれも広範に分布しており, NILM が低値, SCC は高値に偏っていた (Fig. 2).

#### IV. 考 察

口腔粘膜上皮細胞は、細胞診ガイドラインにおいてオレンジG好性角化型表層細胞、ライトグリーン好性非角化型表層細胞、深層細胞の3種に大別され、口腔における癌の判定は深層型扁平上皮異型細胞の存在が重視されている<sup>1)</sup>。本研究では、細胞診判定別に深層型扁平上皮細胞の特徴を比較検討した。比較検討に際し、深層型扁平上皮細胞と深層型扁平上皮異型細胞との明確な鑑別基準が存在しないことと、症例選定において組織学的裏づけが伴っていないことに鑑み、本研究では深層型扁平上皮細胞と深層型扁平上皮異型細胞との区別は行わず、それらすべてを深層型扁平上皮細胞として取り扱った。

深層型扁平上皮細胞は、対象症例の9.4% (36/384例) に認められた。うち、SILは1例 (出現細胞数3個) のみであったため、今回は主としてNILMとSCC間の検討と考察を行うこととした。深層型扁平上皮細胞の出現率に関しては、Wandeurらが健常者と口腔灼熱症候群患者らを対象に、舌縁部の擦過細胞診にてランダムサンプリングを行った場合の細胞種別分布について、有核表層型細胞 (nucleated superficial cell) や中間細胞が大半を占め、傍基底細胞は0%と報告していることから、深層型扁平上皮細胞の出現率の低さがうかがわれる<sup>2)</sup>。一方、びらんや潰瘍を伴う病変のうち、上皮性腫瘍性病変がみられるものでは、E-cadherinの減弱により細胞同士の接着性が低下し深層型扁平上皮細胞が比較的採取されやすい状態となり、SCCの深層型扁平上皮細胞の出現頻度が高値を示したものと考えられた<sup>3)</sup>。次にSILは細胞診ガイドラインにおいて、mild dysplasiaからsevere dysplasia (carcinoma *in situ*) に相当するものとされる<sup>1)</sup>。口腔の上皮性異形成においては、過角化や深層での角化異常を随伴する<sup>4)</sup>。このような角化異常がSILの深層型扁平上皮細胞の出現率が低値を示したことに関係しているものと考えられる。

細胞学的特徴に関する考察を加える。面積に関する細胞異型の要因として、核腫大とN/C比に着目した。既知の報告では、口腔細胞診における扁平上皮細胞は核面積  $68.5 \pm 31.3 \mu\text{m}^2$ 、細胞面積  $1848.6 \pm 567.5 \mu\text{m}^2$ 、細胞質・核面積比 16~50 (N/C比換算で0.0625~0.02) であり、深層にいくにしたがって細胞形態は小さく円形となり、核の大きさはほぼ同大、C/N比は減少 (N/C比は増大) するとされている<sup>5)</sup>。したがって、深層型扁平上皮細胞を対象とした本研究結果は既知の報告の証左となったと考える。また、細胞診判定別の比較では、核面積およびN/C比はNILMよりSCCで大きい傾向を示し、核面積は両者の間に有意差を認

めた (Fig. 1)。核腫大は肺扁平上皮癌の細胞診において、境界病変、上皮内癌、早期浸潤癌、進行性浸潤癌と病変の進行に伴い生じることが報告されている<sup>6)</sup>。また乳腺においても、良性病変と比較して悪性腫瘍の方が核は腫大するとされる<sup>7)</sup>。本研究においてもこれらの報告に近似する結果となったことから、口腔粘膜擦過細胞診における核腫大は細胞診判定において勘案すべき一所見であると考えられる。しかし、蜂群図にてNILMでは高値を示す外れ値が目立っており、反応性の核腫大については注意が必要である。そして、N/C比がNILM-SCC間に有意差を認めなかった理由として、深層型扁平上皮細胞はSCCにおいて核が腫大したことと併せて細胞自体が腫大化しており、この点も影響したものと推察される。表層型扁平上皮細胞に関してVermaらは、組織学的診断に基づき健常とSCCとで口腔擦過細胞診の細胞をランダムサンプリングし比較したところ、SCCは核面積が高値、細胞面積が低値、N/C比は高値を示し、それらすべてにおいて健常群との間に有意差を認めたと報告している<sup>8)</sup>。口腔では、1953年にSlaughterらが提唱したfield cancerizationの概念が支持されており、われわれが日常遭遇する口腔癌においても周囲に異形成病変を伴っている症例は少なくない<sup>9)</sup>。ゆえに、SCCの擦過細胞診では周囲の異形成病変の細胞も採取されている可能性があり、その結果、表層型扁平上皮細胞のランダムサンプリングでも (健常細胞と異型細胞を区別しなくとも) 差異が生じたものと考えられる。しかし、深層型扁平上皮細胞のN/C比には有意差を認めなかったことから、細胞異型の有無による差異についても今後明らかにする必要がある。

核形不整の程度の解析には、病理学領域の組織あるいは細胞形態学的解析研究で使用例が散見されるフラクタル解析を用いた<sup>10~12)</sup>。フラクタル解析では、形態の複雑さを定量評価可能であり、より複雑な形態を示すものは高値を示すとされる<sup>12,13)</sup>。本研究では、SCCはNILMと比較して核形不整の程度が統計学的に有意に高値であったことから、核形態はより複雑であることが示された (Fig. 2)。Deyらは、乳腺腫瘍において核形態のフラクタル次元は良性のものと比較して、悪性のものがより高値を示すと報告している<sup>11)</sup>。本研究結果も他臓器における既知の報告と近似する結果となった。口腔粘膜擦過細胞診においても核形不整の程度は細胞診判定の一助になる重要な因子であることが示唆された。

細胞診判定に際し形態のみならず色調も著者らが診断を行うにおいて考慮する因子であるため、核の濃染性について細胞像における明度を用いて比較検討した。既知の報告では、穿刺吸引細胞診の報告ではあるが、乳房における良性病変と比較して悪性腫瘍の細胞は、核の明度が低値を示

すとされる<sup>7)</sup>。口腔粘膜擦過細胞診を解析した本研究結果においても、NILM と比較して SCC の明度は低値を示した。しかし両者に有意差は認められなかった。SCC では、核クロマチンが増量することが知られている<sup>1)</sup>。SCC では核面積が高値を示したことから、核体積も増加している可能性があり、核クロマチンと核体積双方の増加によって、結果として単位体積あたりのクロマチン量はさほど変化しなかったものと考えられる。加えて、細胞診では、組織診のような断面でなく、Z 軸方向に積算された像を観察している。また、SCC では細胞骨格に異常が生じている<sup>14)</sup>。ゆえに観察された細胞の核が Z 軸方向へ歪みを生じていたとすると、観察時の核の明度が有意に低値を示さなかったことはクロマチン増量を勘案しても矛盾しないと考えられる。

本結果では、核面積と核形不整の程度に有意差を認めた。しかし、Fig. 1, 2 に示す各データ分布に鑑みると、個別の細胞のみで正確な細胞診判定を行うことは困難である。しかし実際の細胞診判定に際しては、スクリーニングという細胞診本来の目的を見失うことなく、一つひとつの細胞所見を慎重に取り扱う必要があるものと考えられる。

制限事項として、本研究は細胞診判定のみに基づき症例のグループ分けをしており、組織学的診断を考慮していない。SCC に該当する 8 例の内訳は、本院にて生検を行い扁平上皮癌と診断されたもの 4 例、他院へ紹介後の最終診断が扁平上皮癌であったもの 1 例、他院へ紹介後不明なもの 3 例であった。また、健常な深層型扁平上皮細胞と深層型扁平上皮異型細胞との区別も行っていない。したがって、今後の検討課題として、組織学的裏づけに基づいた症例選定を行ったうえで、深層型扁平上皮細胞と深層型扁平上皮異型細胞との鑑別点について明らかにする必要があると考える。

## V. 結 論

舌縁部に擦過細胞診を施行した症例を細胞診判定に基づき NILM と SCC とに分けて比較検討した。深層型扁平上皮細胞がみられた症例は、NILM (8.6%) と比較して SCC (40.0%) では高値を示した。細胞像を検討すると、NILM と比較して SCC は核面積が大きく、核形不整の程度が高い(複雑な核形態を示す)ことが明らかとなった。口腔粘膜擦過細胞診の深層型扁平上皮細胞の細胞診判定において、核面積と核形不整の程度がスクリーニング時の細胞診判定の一助になる細胞所見である可能性が示された。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

本稿の要旨は第 58 回日本臨床細胞学会総会春期大会(2017 年 5 月、

大阪) および第 59 回日本臨床細胞学会総会春期大会(2018 年 6 月、札幌) で報告した。

謝辞: 本研究は科研費 JSPS18K07000 の助成を受けたものである。

## Abstract

**Objective** : The aim of this study was to clarify the cytological characteristics of deep-layer squamous cells by cytological classification the cytologic diagnosis and to quantify of subjective diagnosis in screening. We performed analysis of the cytological images and consider the cytological characteristics by cytological classification the cytologic diagnosis.

**Study Design** : The subjects of this study were oral cytology specimens obtained from the lateral tongue of 384 subjects at Nihon University Hospital at Matsudo, between January and December 2016. The cytological images were analyzed using an image analysis software to quantitatively measure the cell area, nuclear area, N/C ratio, nuclear irregularity and hyperchromasia.

**Results** : Deep-layer squamous cells were seen in 27 cases [8.6% (27/314)] of negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM), 1 case [2.0% (1/50)] of squamous intraepithelial lesion or dysplasia, 8 cases [40.0% (8/20)] of squamous cell carcinoma (SCC). The average nuclear area was  $66.0 \mu\text{m}^2$  (34.8) in cases of NILM and  $82.6 \mu\text{m}^2$  (43.7) in cases of SCC. The average nuclear irregularity index was 1.25 (0.08) in cases of NILM and 1.29 (0.09) in cases of SCC. A significant difference was found in the nuclear area ( $p=0.042$ ) and nuclear irregularity index between NILM and SCC ( $p=0.028$ ).

**Conclusion** : The nuclear area and nuclear irregularity index of the deep-layer squamous cells were higher in cases of SCC as compared to cases of NILM. These findings are suggested as being potentially helpful in oral cytological diagnosis.

## 文 献

- 1) 日本臨床細胞学会, 編. 細胞診ガイドライン 5 消化器 2015 年版. 東京: 金原出版; 2015.
- 2) Wandeur, T., de Moura, S. A., de Medeiros, A. M., Machado, M. A., Alanis, L. R., Grégio, A. M., et al. Exfoliative cytology of the oral mucosa in burning mouth syndrome: a cytomorphological and cytomorphometric analysis. *Gerodontology* 2011; 28: 44-48.
- 3) Aoki, T., Kuyama, K., Sun, Y. A histopathological and immunohistochemical study of cell-cell interactions: with special reference to advance of dysplastic grading. *Int J Oral-Med Sci* 2012; 10: 344-352.
- 4) Speight, P. M. Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. *Head Neck Pathol* 2007; 1: 61-66.
- 5) 渡辺義男. 口腔領域における細胞診. *日臨細胞会誌* 1968; 7: 168-171.
- 6) 斎藤泰紀, 今井 督, 薄田勝男, 菅間敬治, 佐川元保, 永元

- 則義・ほか. 気管支原発早期扁平上皮癌の細胞診断学的検討. 日臨細胞会誌 1985 ; 24 : 686-698.
- 7) Kashyap, A., Jain, M., Shukla, S., Andley, M. Study of nuclear morphometry on cytology specimens of benign and malignant breast lesions : A study of 122 cases. J Cytol 2017 ; 34 : 10-15.
- 8) Verma, R., Singh, A., Badni, M., Chandra, A., Gupta, S., Verma, R. Evaluation of exfoliative cytology in the diagnosis of oral pre-malignant and malignant lesions : A cytomorphometric analysis. Dent Res J (Isfahan) 2015 ; 12 : 83-88.
- 9) Slaughter, D. P., Southwick, H. W., Smejkal, W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium : clinical implications of multicentric origin. Cancer 1953 ; 6 : 963-968.
- 10) Cross, S. S. Fractals in pathology. J Pathol 1997 ; 182 : 1-8.
- 11) Dey, P., Mohanty, S. K. Fractal dimensions of breast lesions on cytology smears. Diagn Cytopathol 2003 ; 29 : 85-86.
- 12) 佐藤明人. 大腸上皮性腫瘍腺口形態 (pit pattern) のフラクタル解析 : pit pattern の定量評価と病理組織診断との対比. 新潟医学会雑誌 2005 ; 119 : 464-473.
- 13) 高安秀樹. フラクタル. 東京 : 朝倉書店 ; 1986.
- 14) Saunders, W. S., Shuster, M., Huang, X., Gharaibeh, B., Enyenihi, A. H., Petersen, I., et al. Chromosomal instability and cytoskeletal defects in oral cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2000 ; 97 : 303-308.
-

原 著

# アルギン酸ナトリウム FFPE セルブロック法における 核酸品質と蛋白発現

——ホルマリン固定プロセスの違い——

村田 和也 河原 明彦 安倍 秀幸 高瀬頼妃呼  
吉田 友子 福満 千容 篠田由佳子 牧野 諒央  
内藤 嘉紀 秋葉 純

久留米大学病院病理診断科・病理部

**目的：**アルギン酸ナトリウムを用いたホルマリン固定パラフィン包埋セルブロック法が、核酸品質と蛋白発現に及ぼす影響についてホルマリン固定条件の違いを通して検討した。

**方法：**10%中性緩衝ホルマリンおよび10%ホルマリン（非緩衝）を用いて培養細胞を異なる時間で固定後、アルギン酸ナトリウムを用いて formalin fixed paraffin embedded (FFPE) セルブロックを作製した。これらのすべてから DNA integrity number (DIN) 値を測定した。免疫細胞化学に関しては、染色性や発現率について評価した。

**成績：**ホルマリン固定された培養細胞は、時間依存的に DNA 品質が低下を示し、10%中性緩衝ホルマリンで3時間および6時間固定された培養細胞は、24時間以上固定された培養細胞に比べ、DNAは高品質であった。サイトケラチン抗体において、10%中性緩衝および非緩衝ホルマリンで3時間および6時間固定された培養細胞は良好な染色性を認め、24時間以上固定された培養細胞の Ki-67 核発現割合は低発現を認めた。

**結論：**アルギン酸ナトリウム FFPE セルブロックにおいて10%中性緩衝ホルマリンで3~6時間固定された細胞検体は、比較的高品質な DNA と安定した蛋白発現を得ることができる。

**Key words :** PC9 cell line, Cell block, Sodium alginate, DNA quality, 10% neutral buffered formalin

## I. はじめに

近年のドライバー遺伝子を標的とする分子標的治療薬やコンパニオン診断薬の進歩はめざましく、非小細胞肺癌患者の個別化治療は高い効果を示している<sup>1)</sup>。がんの組織を用いて、多数の遺伝子を同時に解析できる次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer, 以下、NGS) を用いた遺伝子パネル検査が保険診療下での実施が開始された。遺伝子パネル検査には通常ホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin fixed paraffin embedded, 以下、FFPE) 組織検体を用いられるが、FFPE 組織検体がない場合、細胞診検体、すなわち FFPE セルブロック検体の利用に期待が寄せられ

Nucleic acid quality and protein expression in sodium alginate FFPE cell blocks prepared under different formalin fixing conditions

Kazuya MURATA, C. T., I. A. C., Akihiko KAWAHARA, C. T., C. F. I. A. C., Hideyuki ABE, C. T., C. M. I. A. C., Yorihiro TAKASE, C. T., I. A. C., Tomoko YOSHIDA, C. T., I. A. C., Chihiro FUKUMITSU, C. T., I. A. C., Yukako SHINODA, C. T., J. S. C., Ryo MAKINO, C. T., J. S. C., Yoshiaki NAITO, M. D., Jun AKIBA, M. D.

Department of Diagnostic Pathology, Kurume University Hospital  
論文刷請求先 〒 830-0011 福岡県久留米市旭町 67 久留米大学  
病院病理診断科・病理部 村田和也

令和2年5月14日受付

令和2年6月8日受理

ている。

FFPE セルブロックの作製法には、遠心分離細胞収集法である遠心管法やコロジオンバッグ法、細胞凝固・固化法であるアルギン酸ナトリウム法やグルコマンナン法など、このほかにもさまざまな作製法・簡便法が知られており<sup>2-5)</sup>、ティッシュペーパーを使用したセルブロック作製法の報告もある<sup>6)</sup>。このように FFPE セルブロック法の作製法やその改良法、あるいは特殊染色や免疫染色に関する検討が主体であり、核酸品質に関する報告は少ない。FFPE 組織の作製において、プレアナリシス段階が分子病理学的診断に影響を与えることが知られている<sup>7)</sup>。プレアナリシス段階の工程は固定前プロセス・固定プロセス・固定後プロセスに分かれており、このプロセスが不適切な場合は検体品質に極めて大きな影響を与えることが知られている<sup>7)</sup>。ホルマリン固定液の組成は、酸性や非緩衝ではなく、中性緩衝ホルマリン溶液を固定に使用することが望ましいと記載されている<sup>7)</sup>。細胞診に関して、免疫染色を用いた FFPE セルブロック診断は膵癌や胆管癌の診断に効果的であるという報告はあるものの<sup>8,9)</sup>、FFPE セルブロック作製のホルマリン固定に関する検討は少なく、固定プロセスが核酸品質に与える影響は十分に理解されていない。

今回われわれは、アルギン酸ナトリウムを用いた FFPE セルブロック法が、核酸品質と蛋白発現に与える影響についてホルマリン固定条件の違いを通して比較検討したので報告する。

## II. 対象および方法

10%中性緩衝ホルマリン（富士フィルム和光純薬株式会社）およびホルムアルデヒド液（富士フィルム和光純薬株式会社）を 10%濃度に希釈したホルマリン（非緩衝）液を用いて肺癌培養細胞（PC9）を 3 時間、6 時間、24 時間、48 時間および 120 時間それぞれ室温固定後、アルギン酸ナトリウム（富士フィルム和光純薬株式会社、粘度 80~120cp, Lot: LAJ6243）を用いて FFPE セルブロックを作製した。なお、1 回の実験に使用する培養細胞量に限りがあるので、数回に分けて固定実験を行ったため、未固定細胞を対照に用いた（Fig. 1）。アルギン酸ナトリウムによる FFPE セルブロック作製は、下記のような工程で行った。

- ①固定液入りのプラスチックスピッツ（日本製薬、アクリル樹脂製）に肺癌培養細胞を入れ、種々の時間で固定を行う。
- ②固定後、3000 rpm（1670 G）3 分間遠心し、上澄み固定液を除去する。
- ③固定液を除去後、沈渣を蒸留水で洗浄・攪拌する。再遠

心後、蒸留水を除去する（1 回）。

- ④蒸留水を除去後、プラスチックスピッツに 1%アルギン酸ナトリウム液を数滴入れ、沈渣をよく混和する。
- ⑤混和後、プラスチックスピッツを 3000 rpm（1670 G）5 分間遠心する。
- ⑥遠心後、プラスチックスピッツに 1M 塩化カルシウム液を 1~2 ml 入れ、沈渣を浮遊させる。
- ⑦塩化カルシウム液を除去後、プラスチックスピッツに蒸留水を入れ、固化した沈渣を洗浄する。
- ⑧固化した沈渣は、通常の脱水包埋工程を得て、パラフィン包埋ブロックを作製する。

### 1) 核酸抽出法と評価法

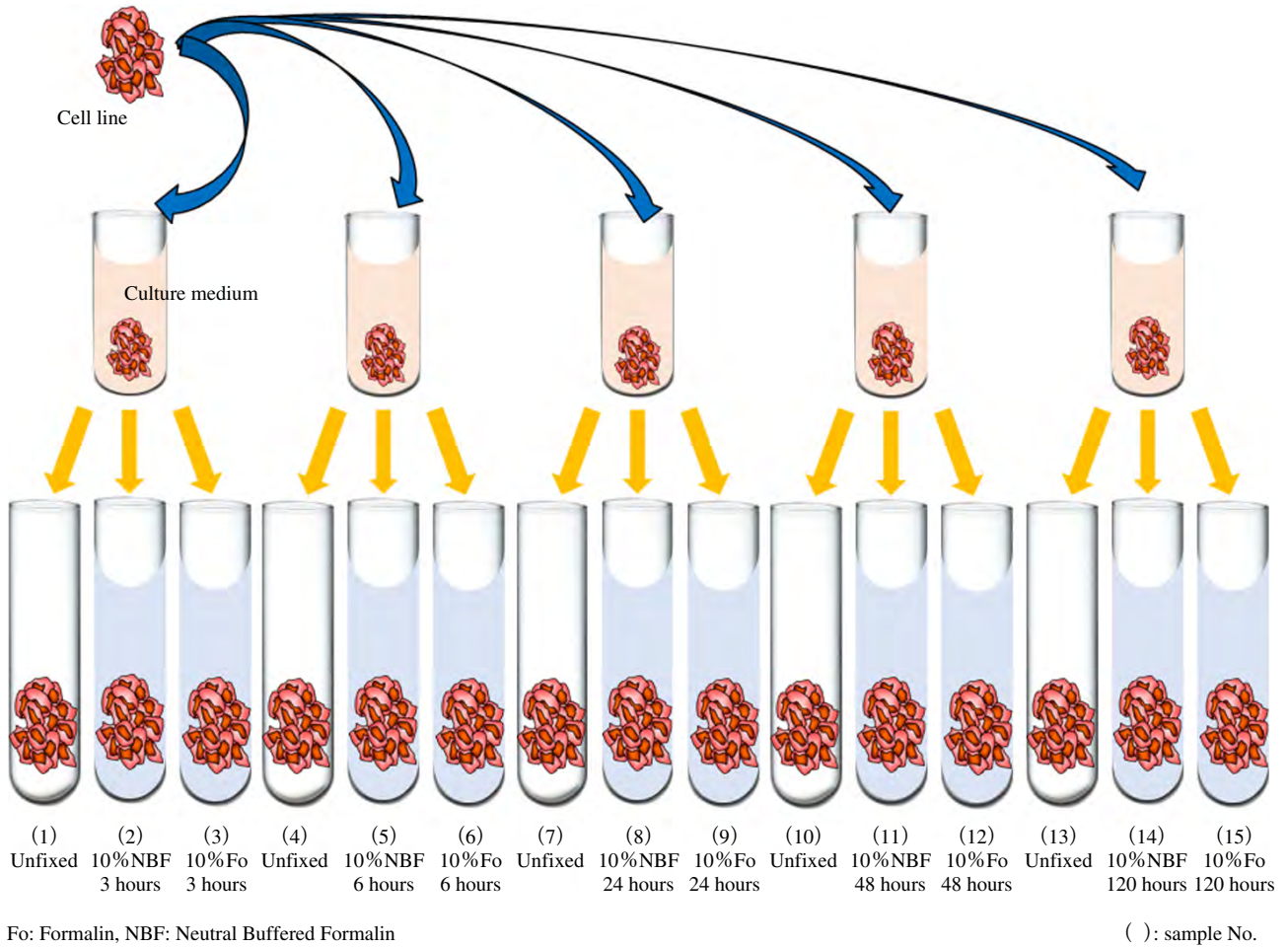
FFPE セルブロックから薄切切片標本（8  $\mu\text{m}$  × 20 枚）を作製し、コバス® DNA プレパレーションキット（FFPE）（ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社）を用いて DNA を抽出した。抽出方法に関しては、使用するキットのプロトコルに従い実施し、スピнкаラムへの DNA 精製には、自動核酸抽出装置 QIAcube（株式会社キアゲン）を使用した。DNA の品質解析は、全自動電気泳動システム TapeStation®（アジレント・テクノロジー株式会社）を用いて DNA integrity number（DIN）値を測定した。DIN 値はゲノム DNA の分解度に応じて 1~10（低品質~高品質）にスコア化された値である。また、数回に分けて固定実験を行っているため、未固定細胞の DIN 値を高品質コントロールとして、各固定後細胞の DIN 値を相対的に定量化し比較評価した。なお、本検討において DNA 抽出方法を統一化するために、未固定細胞も FFPE セルブロックと同様な方法で DNA 抽出を行った。

### 2) 免疫細胞化学と評価法

FFPE セルブロックから薄切切片標本（4  $\mu\text{m}$ ）を作製し、サイトケラチン AE1/AE3 抗体（Agilent/Dako 社）および Ki-67 抗体（Agilent/Dako 社）を用いた免疫細胞化学を施行した。なお、前処理に関してサイトケラチン AE1/AE3 抗体は蛋白分解処理法（ペプシン, Thermo Fisher Scientific 社）を、Ki-67 抗体は熱処理法を用いた。免疫細胞化学の評価において、サイトケラチン AE1/AE3 は細胞質の染色性を、Ki-67 抗体は明らかな核発現細胞の割合（Ki-67 labeling index）を算出し比較した。

## III. 結果

Fig. 2 にゲノム DNA 抽出後の電気泳動像と DIN 値を示す。アルギン酸ナトリウムを用いた FFPE セルブロック法は、ホルマリン固定液や固定条件が異なる細胞から DNA を抽出でき、DIN 値の測定も可能であった。対照とした未



**Fig. 1** PC9 cell lines in culture medium were divided equally into 3 disposable tubes (10% neutral buffered formalin, 10% formalin, and no formalin as the control) and stored at room temperature for 3, 6, 24, 48, or 120 hours. Tubes containing PC9 cell lines without formalin were frozen immediately at -80°C without fixation (unfixed).

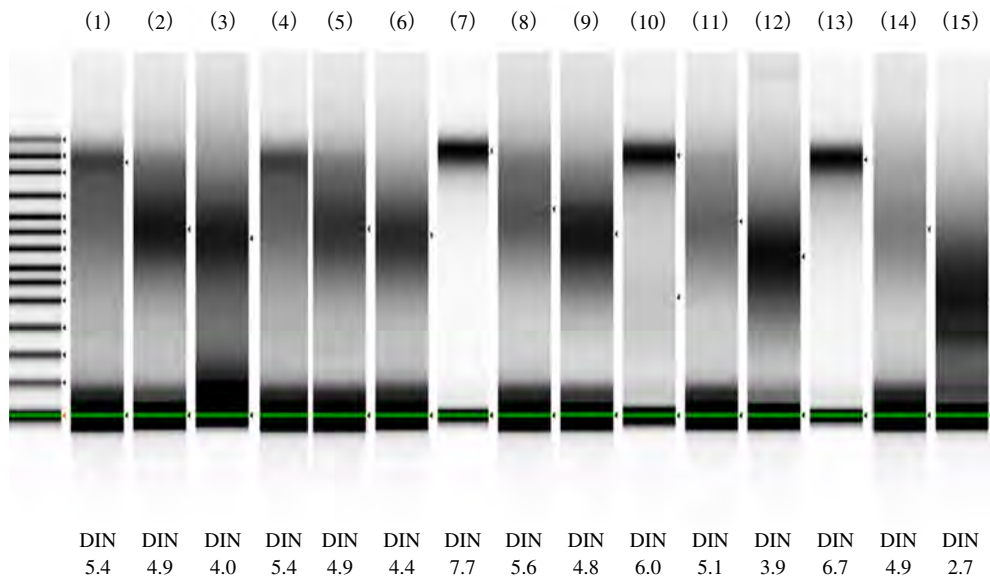
固定細胞の DIN 値 (サンプル 1, 4, 7, 10, 13) は, FFPE セルブロック検体に比すべて高値を示しており, 未固定細胞の核酸品質は, 固定された細胞に比べ高品質であった. Fig. 3 に 10% 中性緩衝ホルマリンおよび 10% ホルマリンにおける DNA 品質の評価値を示す. アルギン酸ナトリウムを用いた FFPE セルブロック法は 10% 中性緩衝ホルマリンおよび 10% ホルマリンで固定された培養細胞とともに, 時間依存的に DNA 品質が低下する傾向を示した. また, 10% 中性緩衝ホルマリンで 3 時間および 6 時間固定された培養細胞の DNA は, 24 時間以上固定された培養細胞の DNA に比べ, 高品質であった.

アルギン酸ナトリウムを用いた FFPE セルブロック法において, サイトケラチン AE1/AE3 抗体および Ki-67 抗体の免疫細胞化学は可能であった. サイトケラチン AE1/AE3 抗体において, 10% 中性緩衝ホルマリンで 3 時間および 6 時間固定された培養細胞は, 10% ホルマリン (非緩衝) で固定された培養細胞と同様に, 良好な染色性を認めたが,

10% 中性緩衝ホルマリンで 24 時間以上固定された培養細胞は, 徐々に発現低下を示した (Photo. 1). Ki-67 核発現割合に関して, 3 時間および 6 時間固定された培養細胞はホルマリン液の種類にかかわらず, 80% 以上の高発現を示していたが, 24 時間以上固定された培養細胞の Ki-67 核発現割合は, 60% 以下の低発現を示した (Table 1).

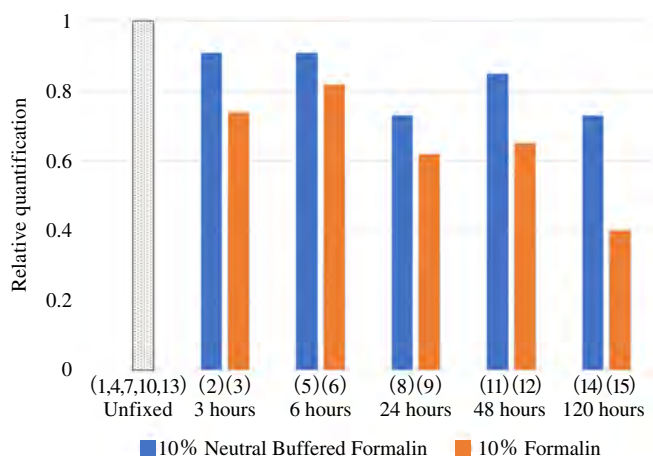
#### IV. 考 察

コンパニオン診断薬の評価において, 解析に用いる検体の固定条件などが重要であることが明らかとなっている<sup>10)</sup>. FFPE 組織検体を用いた分子病理診断では, プレアナリシス段階 (特に固定プロセス) に気を配ることにより核酸の品質を安定させ, これらの精度管理の向上がコンパニオン診断をより確実なものにすると理解されている. したがって, FFPE 組織検体は 10% 中性緩衝ホルマリンで 6~48 時間程度の固定法が推奨されている<sup>7)</sup>. われわれは



( ): sample No.

**Fig. 2** Analysis of the DNA integrity in the FFPE cell blocks (2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, and 15) and in the unfixed specimens (1, 4, 7, 10, and 13) of PC9 cell lines on the Agilent TapeStation® system with genetic DNA genomic DNA Analysis ScreenTape assay.



( ): sample No.

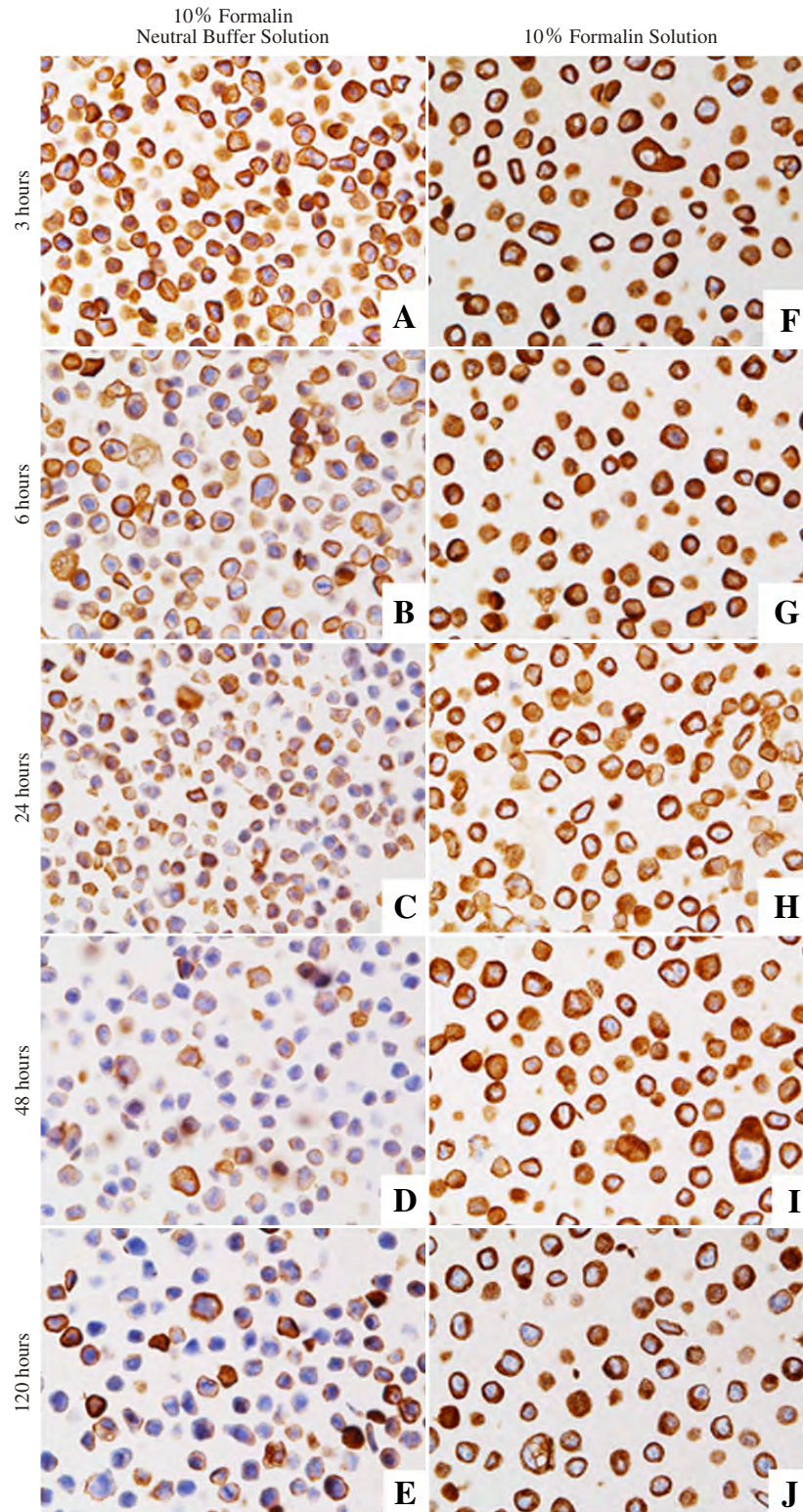
**Fig. 3** DNA quality in the FFPE cell blocks prepared using two types of formalin solutions (10% neutral buffered formalin and 10% formalin) and fixed for various lengths of time. DNA extracted from frozen PC9 cell lines (unfixed) was used as the high-quality control. The quality of the FFPE cell block DNA gradually deteriorated in a time-dependent manner in both formalin solutions.

以前 15% 中性緩衝ホルマリンで固定した培養細胞を用いた分子病理学的解析を行ったが、ホルマリン固定条件の違いにおける核酸品質を比較した検討は行っていない<sup>11)</sup>。したがって、アルギン酸ナトリウムを用いた FFPE セルブ

ロック法がこの推奨に準じて行えるか否かについて不明であったため、今回のような検討を施行した。その結果、細胞検体を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定した場合、その固定時間は 3~6 時間程度が高品質の DNA と安定した蛋白発現を得ることができた。すなわち、細胞検体のホルマリン固定は、小組織検体のように 6 時間程度で十分であることが推察された。サイトケラチン AE1/AE3 抗体の免疫染色に関して、10% 中性緩衝ホルマリンで 24 時間以上固定された培養細胞は、10% ホルマリン (非緩衝) に比べ細胞質発現の低下を示した。この要因は明らかにできておらず、今後、熱処理や蛋白分解処理のような前処理の方法、試薬、反応時間や抗体種類を含めた詳細な検討が必要である。

本検討において、さまざまな作製法が存在するセルブロック作製法の中から、細胞凝固・固化法であるアルギン酸ナトリウムを用いた作製法を選択した<sup>4)</sup>。その理由として、培養細胞は臨床細胞検体と異なり、血球や血漿成分などが含まれていないため、遠心管法では沈渣が固化しにくい傾向にあった。そのため、脆弱な沈渣を用いた場合、ほかの臨床検体にコンタミネーションを起こす危険性があったため、今回はわれわれの経験上、強固な沈渣を作製できるアルギン酸ナトリウムを用いる方法を選択した。一方、アルギン酸ナトリウム法が最も優れたセルブロック作製法とは限らず、化学薬品を使用しない方法でも同様な検討結果が得られるか否かについての検証は今後も必要である。





**Photo. 1** Representative images of a FFPE cell block of PC9 cell lines and results of cytokeratin AE1/AE3 immunostaining. The PC9 cell lines fixed in two types of formalin solutions (10% neutral buffered formalin and 10% formalin) for 3 and 6 hours showed good staining for cytokeratin (A, B, F and G). The PC9 cell line fixed in 10% formalin solution for 24, 48 and 120 hours showed good staining for cytokeratin (H to J). However, the expression of cytokeratin AE1/AE3 decreased gradually in a time-dependent manner in the cell lines fixed in 10% neutral buffered formalin solution (C to E). (A-J,  $\times 40$ ).

**Table 1** Ki-67 labeling index in the specimens prepared using 10% neutral buffered formalin solution versus those prepared using 10% formalin solution as the fixative

	Fixation times (hours)				
	3	6	24	48	120
Ki-67 labeling index in 10% neutral buffered formalin solution	82%	81%	52%	44%	49%
Ki-67 labeling index in 10% formalin solution	82%	84%	34%	55%	40%

このほか、液状化検体細胞診からセルブロックを作製する場合もあるので、セルブロック作製方法の選択や固定法の両方に留意すべきである。また、本検討においてDNA抽出方法を統一化するために、未固定細胞もFFPEセルブロックと同様な方法でDNA抽出を行ったが、核酸抽出キットの特性によりDNAの回収量が異なることが報告されている<sup>12)</sup>。そのため、セルブロックにおける最適な核酸抽出法の検討も必要である。

FFPE組織検体を用いたNGS研究が進む中、10%中性緩衝ホルマリンの固定効果が明らかになってきた。Amemiyaらの報告において<sup>13)</sup>、10%中性緩衝ホルマリンで固定された生検・切除組織を用いたNGS解析の成功率は、97.6～98.6%と高水準を示し、最大7日間固定された検体においても高い成功率を示していた。これに対し、20%ホルマリンを用いたNGS解析の成功率は、27.3～40.0%であり、固定日数にかかわらず低い成功率であった。また、DNA品質に関して、10%中性緩衝ホルマリンで6時間固定された組織のDNA品質は、凍結組織に比べ最も相対定量値(relative quantification values)の数値が近く高品質であり、次いで、12時間、1日、3日、7日および10日の順にDNA品質の低下がみられている。したがって、DNA断片化は固定液の種類のみならず、時間依存的に生じていくため、FFPEセルブロック作製における標準化にはこのようなさらなる検討が必要になるだろう。

## V. 結 語

FFPEセルブロック法は、FFPE組織と同等あるいはそれ以上の優れた核酸品質を有していると思われるが、FFPEセルブロック法に適した固定条件や作製法の標準化など精度管理に課題がある。今回は培養細胞を用いた検討であったため、臨床検体の核酸品質に着目した検討が今後ますます必要である。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

## Abstract

**Objective** : We investigated the nucleic acid quality and stability of protein expression in sodium alginate formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) cell blocks (CB) produced under different formalin fixing conditions.

**Study Design** : Cell lines were fixed in two types of formalin solutions for various lengths of time, and FFPE CBs were prepared using sodium alginate. The DNA integrity number was investigated to assess the DNA quality. The FFPE CBs were then evaluated with regard to stainability.

**Results** : The DNA quality deteriorated in the samples fixed in both formalin solutions, in a time-dependent manner. The DNA in the cell lines fixed in 10% neutral buffered formalin (NBF) for 3 and 6 hours was of higher quality than that in the cell lines fixed in the same solution for 24 hours or more. In regard to immunostaining for cytokeratin, cell lines fixed in both types of formalin solutions for 3 and 6 hours showed good staining. Furthermore, the Ki-67 labeling index of the cell lines fixed in formalin solution for 24 hours or more was lower than that observed after the cell lines had been fixed for 3 and 6 hours.

**Conclusion** : Our data show that comparatively higher quality DNA and stable protein expression can be obtained from cytological samples fixed in 10% NBF for 3 to 6 hours in the sodium alginate FFPE CB method.

## 文 献

- 1) Kris, M. G., Johnson, B. E., Berry, L. D., Kwiatkowski, D. J., Iafrate, A. J., Wistuba, I. I., et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA* 2014 ; 311 : 1998-2006.
- 2) 信広亮輔, 柴田 淳, 小林 剛, 脇本真帆, 佐々木なおみ. 消化器および体腔液細胞診における簡易セルブロック作製法併用の有用性. *医学検査* 2015 ; 64 : 196-201.
- 3) 坂東美奈子, 広川満良. コロジオンバッグを用いたセルブロック作製法. *臨床検査* 1994 ; 38 : 1335-1338.
- 4) 佐野順司, 吉本尚子, 溝口良順, 齊藤みち子. アルギン酸ナトリウムを用いたセルブロック法の有用性についての検討. *日臨細胞会誌* 2005 ; 44 : 291-297.
- 5) 細胞検査士会, 編. 細胞診標本作製マニュアル体腔液3血性検体の処理法 (第1版). 東京:細胞検査士会; 2008.
- 6) 坂牧久仁子, 川井健司, 河村淳平, 島方崇明, 林友理恵, 篠

- 友希・ほか. ティッシュペーパーを使用した迅速・簡便な集細胞法 (セルブロック法) とその応用に関する基礎的研究. 日臨細胞会誌 2020 ; 59 : 83-91.
- 7) 日本病理学会, 編. ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程 (初版). 東京 : 日本病理学会 ; 2018.
- 8) Noda, Y., Fujita, N., Kobayashi, G., Itoh, K., Horaguchi, J., Takasawa, O., et al. Diagnostic efficacy of the cell block method in comparison with smear cytology of tissue samples obtained by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *J Gastroenterol* 2010 ; 45 : 868-875.
- 9) Noda, Y., Fujita, N., Kobayashi, G., Itoh, K., Horaguchi, J., Hashimoto, S., et al. Prospective randomized controlled study comparing cell block method and conventional smear method for bile cytology. *Dig Endosc* 2013 ; 25 : 444-452.
- 10) Miller, R., Thorne-Nuzzo, T., Loftin, I., McElhinny, A., Towne, P., Clements, J. Impact of Pre-analytical conditions on the antigenicity of lung markers : ALK and MET. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2020 ; 28 : 331-338.
- 11) Kawahara, A., Taira, T., Abe, H., Watari, K., Murakami, Y., Fukumitsu, C., et al. Fixation effect of SurePath preservative fluids using epidermal growth factor receptor mutation-specific antibodies for immunocytochemistry. *Cancer Cytopathol* 2014 ; 122 : 145-152.
- 12) Akahane, T., Yamaguchi, T., Kato, Y., Yokoyama, S., Hamada, T., Nishida, Y., et al. Comprehensive validation of liquid-based cytology specimens for next-generation sequencing in cancer genome analysis. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0217724.
- 13) Amemiya, K., Hirotsu, Y., Oyama, T., Omata, M. Relationship between formalin reagent and success rate of targeted sequencing analysis using formalin fixed paraffin embedded tissues. *Clin Chim Acta* 2019 ; 488 : 129-134.
-

## 症 例

## 画像上乳癌が疑われた乳房結核の 1 例

貝田 芽衣 妹尾 美加 佐藤 利瑞 成田 真一  
小池 昇 荒井 克己 高橋 学 日野 真人

東京都保健医療公社荏原病院検査科

背景：乳房は、結核菌感染において抵抗性臓器とされており、乳房に結核をみることは極めてまれである。今回、乳房結核の 1 例を経験したので、本邦報告例に若干の文献的考察を加えて報告する。

症例：70 歳代、女性。主訴は右乳房腫瘍の自覚。触診で触れた腫瘍部の皮膚には淡い発赤がみられた。MRI では BI-RADS® Category 5 であり、乳癌が疑われた。穿刺吸引細胞診標本には、多数のリンパ球と顆粒状物を背景に類上皮細胞や多核組織球が認められ、肉芽腫性乳腺炎を考えたが、核腫大・核形不整を示す異型細胞がみられ、良悪判定困難とした。腫瘍切除材料の組織標本では、大小の結節形成、類上皮細胞の集簇、ラングハンス型巨細胞、部分的に乾酪壊死を伴った肉芽腫形成などがみられることから結核と診断された。

結論：乳房結核の 1 例を経験しその細胞像を報告した。本例では細胞診標本で異型細胞を認めたために診断に苦慮した。乳房結核は画像上乳癌を疑う所見を示すことがあり、穿刺吸引細胞診の対象となりうる。診断の際は結核の存在を念頭に置く必要があると思われた。

**Key words** : Breast tuberculosis, Fine needle aspiration cytology, Breast cancer, Case report

## I. はじめに

## II. 症 例

本邦では、乳腺結核の報告は極めてまれである<sup>1)</sup>。今回われわれは、画像上悪性が疑われ細胞診では肉芽腫様所見に異型細胞が加わったため確定診断にいたらなかったが、組織診断で乳房結核とされた症例を経験したので報告する。

患者：70 歳代、女性。  
主 訴：自己発見の右乳房腫瘍。  
家族歴：特記事項なし。  
渡航歴：なし。  
既往歴：甲状腺機能低下症、糖尿病、薬剤性腎障害、抗利尿ホルモン不適合分泌症候群。  
結核の既往なし。

現病歴：右乳房腫瘍を自覚し、当院受診。触診では、右乳房 B 領域に 11×11 mm の腫瘍性病変があり、皮膚には淡い発赤がみられた。乳腺超音波検査では両側に複数の腫瘍影がみられたが、そのうちの右乳房 B 領域の腫瘍は乳管内乳頭腫様であり (Photo. 1)、マンモグラフィで Category III (Photo. 2)、MRI では BI-RADS® Category 5 (Photo. 3 の①)、乳腺穿刺吸引細胞診では良悪判定困難であった。以上より悪性を否定できないため、診断目的でこの右 B 領域の腫瘍一つが切除された。

A case of breast tuberculosis suspected cancer by imaging findings

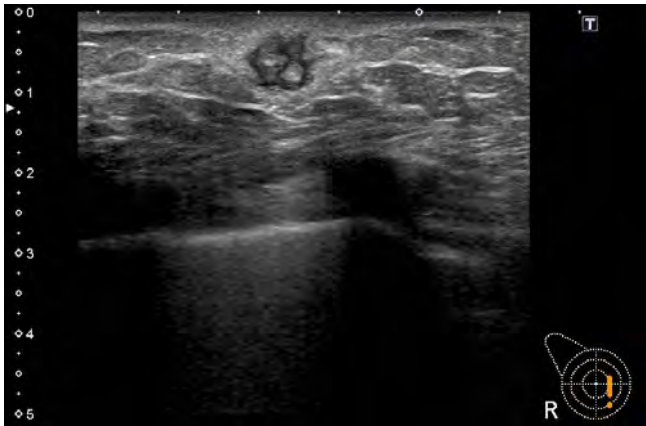
Mei KAITA, C. T., I. A. C., Mika SENOO, C. T., I. A. C., Toshimitsu SATO, C. T., I. A. C., Shinichi NARITA, C. T., J. S. C., Noboru KOIKE, C. T., I. A. C., Katsumi ARAI, C. T., I. A. C., Manabu TAKAHASHI, M. D., Masato HINO, M. D.

Department of Clinical Laboratory, Tokyo Metropolitan Health and Hospitals Corporation Ebara Hospital

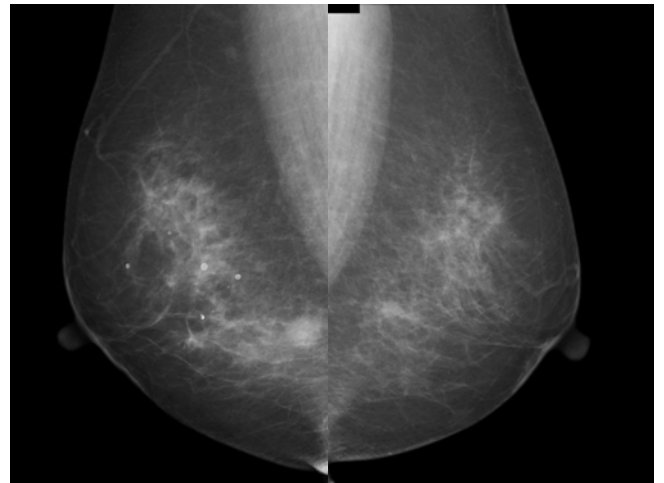
論文印刷請求先 〒145-0065 東京都大田区東雪谷 4 の 5 の 10 東京都保健医療公社荏原病院検査科 貝田芽衣

令和 2 年 1 月 23 日受付

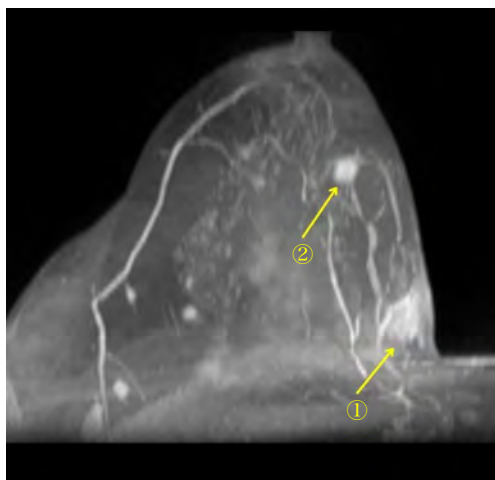
令和 2 年 3 月 23 日受理



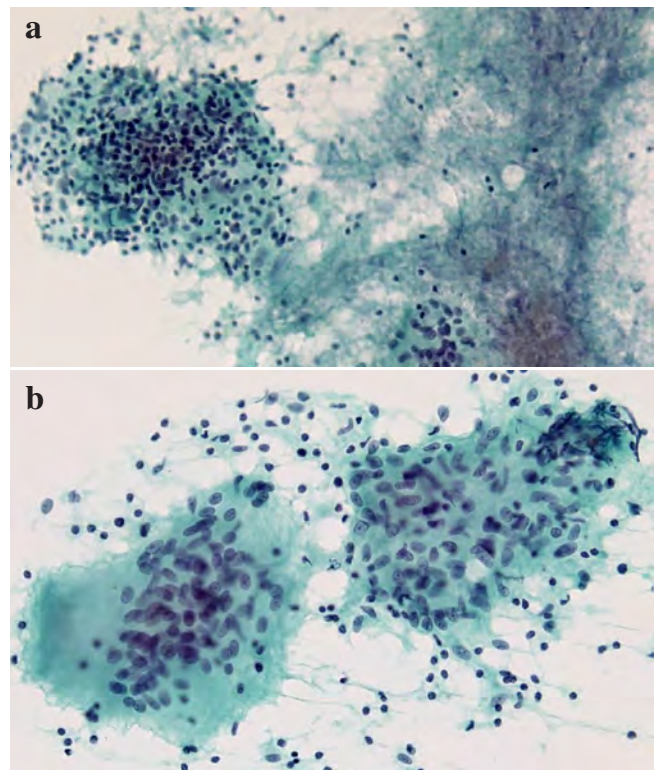
**Photo. 1** Ultrasonographic image showing a cyst-like lesion, measuring 11×11 mm in size, located in the B area of the right breast.



**Photo. 2** Mammogram showing a mass lesion with an obscure border, measuring 14×11 mm in size, in the right breast.



**Photo. 3** Magnetic resonance image showing two tumors in the B area of the right breast. Tumor ① was removed by lumpectomy, and measured 7 mm in diameter, with an irregular shape, spicula (-), rim enhancement (+), TIC fast/washout, judged as BI-RADS® category 5. ②: Another tumor.



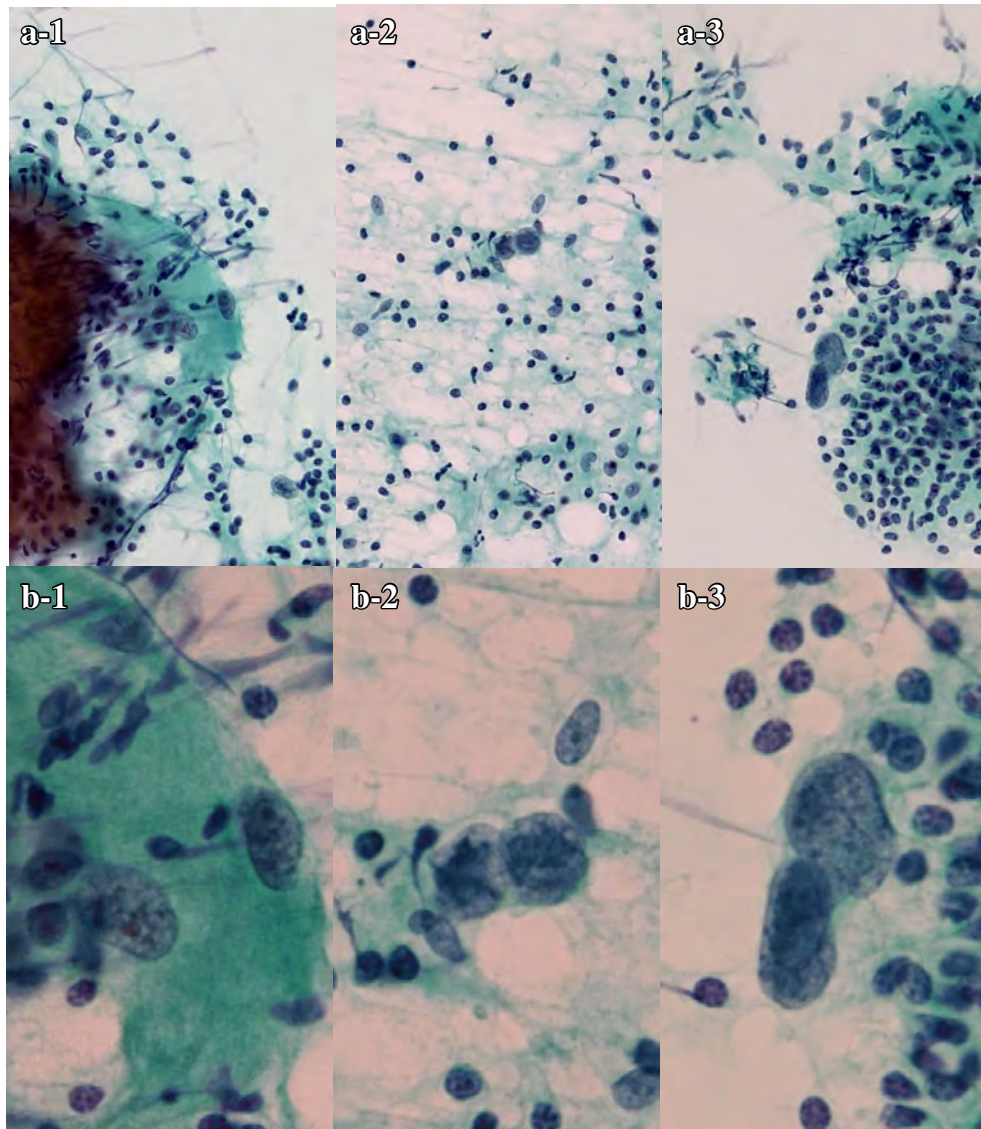
**Photo. 4** Cytologic findings. Necrotic areas are seen with lymphocytes in the background (a) (Papanicolaou staining, ×10). Epithelioid cells and multinucleated giant cells are seen (b) (Papanicolaou staining, ×20).

### III. 細胞学的所見

右乳房穿刺材料は合わせガラス法で標本作製を行った。壊死物質や多数のリンパ球を背景に、類上皮細胞や多核組織球、線維芽細胞がみられた (Photo. 4)。乳管上皮細胞は認めなかった。また、一部に核形不整を示す大型の紡錘形あるいは裸核状の異型細胞を認めた (Photo. 5)。

### IV. 組織学的所見

摘出された乳房腫瘍は、大きさ 10×10 mm の境界明瞭な充実性腫瘍で白色を呈していた (Photo. 6)。組織学的には、



**Photo. 5** Cytologic findings. Atypical spindle cells and enlarged naked nuclei are seen (a-1, a-2, a-3 : Papanicolaou staining,  $\times 10$  ; b-1, b-2, b-3 : Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).

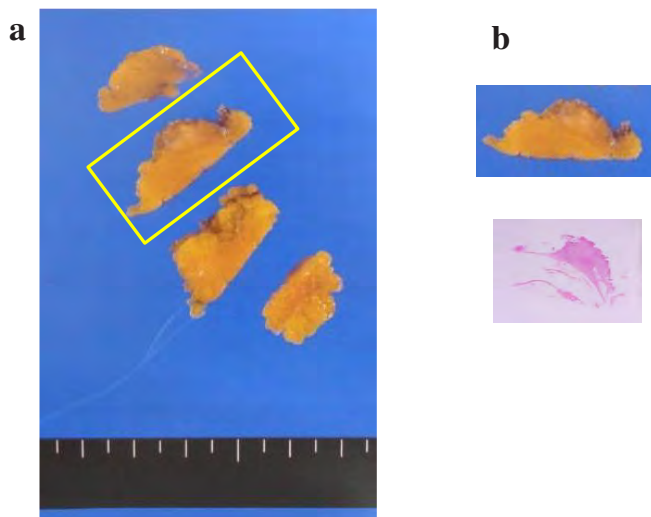
大小のある多数の結節の形成，類上皮細胞の集簇，多数のラングハンス型巨細胞，部分的に中央に乾酪壊死を伴った肉芽腫形成を認めた (Photo. 7)．以上の所見より結核と診断された。

#### V. 術後の検査所見および経過

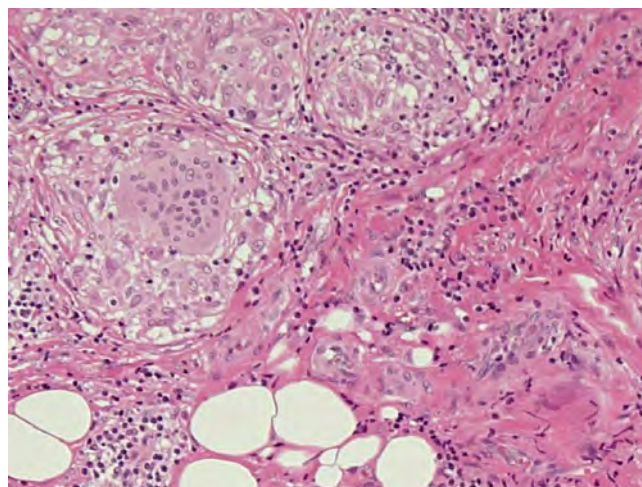
結核菌に関する検査結果は，ツベルクリン反応陰性，喀痰培養陰性，喀痰・組織切片のPCRでDNA増幅試験陰性であったが，T-SPOTは陽性であった．また，肺には異常所見なく，腫大したリンパ節もみられなかった．以上より肺病変を伴わない乳房結核と診断され，抗結核薬リファンピシン，イソニアジド，ピラジナミド，エタンブトール

による6ヵ月間の治療が施行された．その後の経過観察では患者が精神的に不安定で乳房の画像検査を望まなかったため，残存する乳房腫瘤径の変化は不明であるが，胸部単純画像上所見はみられず，排菌も認められなかった．

細胞診標本にみられた異型細胞の由来については形状から組織球系と思われたため，組織標本と細胞診標本（転写法）CD68の免疫染色と，上皮性腫瘍の否定のため組織標本のケラチン/サイトケラチンAE1, AE3の免疫染色を行った．その結果，CD68染色では組織標本で細胞診標本にみられたものと同様の核腫大，核形不整を示す異型細胞は，陽性細胞と陰性細胞のどちらにもみられた (Photo. 8)．細胞診標本においても異型細胞は陽性細胞と陰性細胞がみられたが，裸核化した細胞も含まれており，陽性細胞は少



**Photo. 6** Macroscopic appearance of the right breast lesion. White tumor measuring 10×10 mm in size (a). (b) H. E. staining, digital camera photography.



**Photo. 7** Histological findings. Epithelioid cells, granulomas and Langhans giant cells are seen (H. E. staining, ×10).

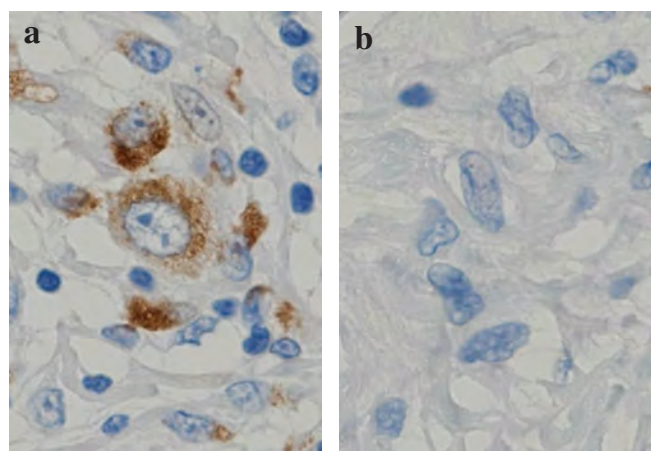
から84歳, 60歳以上の発症例が29%と<sup>3)</sup>, 必ずしも性的活動期に関連しないとされており, 本例も70歳代であった。

乳腺結核は, 乳房外側上部に片側性, 孤立性の弾性硬な腫瘍として好発し, 乳房腫瘍の患者において乳癌が鑑別疾患に挙げられる<sup>4)</sup>. 中山らが検索した23例の画像検査では, 超音波では不整形の低エコー腫瘍, マンモグラフィでは高濃度の腫瘍性病変と乳癌を疑わせる所見を示す症例が多かった<sup>4)</sup>. CT, MRIなどの造影検査の所見に関してはまだ報告が少ないが, 中山らの報告した症例ではMRIで造影を受けない腫瘍性病変として抽出された<sup>4)</sup>. 本例ではMRIにてBI-RADS® Category 5とされ, 画像上悪性との鑑別が問題となった。

乳腺結核は, ①乳腺以外に結核性病変がみられない原発性と, ②他の臓器に結核性病変がみられ, そこから波及したと考えられる続発性へと分類されている<sup>5)</sup>. 感染経路の多くは直接感染とされているが, 実際のところ解剖してみる以外に方法はなく, 丸山らが検索した21例でも原発巣が明瞭でいわゆる続発性と断定できるものは2例で, 残りはすべて不明に属するものであった<sup>6)</sup>. 本例では乳腺以外に病変はないため原発性と考えられるが, 感染経路については不明であった。また, 腫瘍は皮膚に近い部位にあったが, 外傷の既往はなかった。

溝口らの検索では1919年から2010年の46例のうち両側片側不明1例を除く45例が片側にのみ発生していることから, 乳腺結核の多くは片側性に発生すると考えられる<sup>1)</sup>. また, 中山らの検索では孤立性がほとんどで, 23例中複数個の腫瘍がみられた症例は1例のみであった<sup>4)</sup>. しかし, 本例では画像上腫瘍影は両側性に2個ずつ, 計4個みられた。

乳腺結核から結核菌が確認される割合は少なく, Kakkar



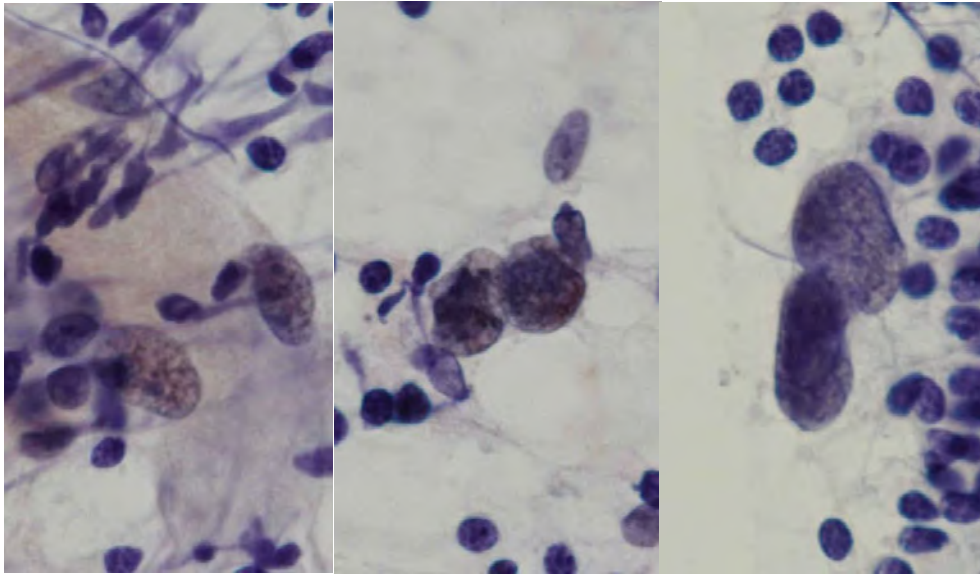
**Photo. 8** Histological findings. Some atypical cells are positive for CD68 staining (a), while others are negative (b) (Immunohistochemical staining, ×40).

なかった (Photo. 9)。また, 組織標本でケラチン/サイトケラチン AE1, AE3 染色は陰性であった。

## VI. 考 察

乳腺結核は, インド, アフリカなどの発展途上国では乳房疾患の3~4%と比較的多くみられるが, 先進国では0.06%未満と非常にまれである<sup>1)</sup>. 当院にて過去12年間に実施した乳腺の病理組織診断は955例あるが, 結核は1例(0.001%)であった。

発症年齢はKakkarらの報告によると発展途上国では21~40歳の性的活動期・授乳期の女性に多いとされているが<sup>2)</sup>, 大垣らによれば本邦報告例28例の年齢分布は18歳



**Photo. 9** Cytologic findings. Atypical cells are partially positive for CD68 staining (Immunocytochemical staining,  $\times 40$ ).

らの検索ではチールネルゼン染色が行われた乳腺結核 44 例のうち抗酸菌陽性は 38.6% のみであった<sup>2)</sup>。ほかに 24.6% という報告もみられる<sup>7)</sup>。本例の組織標本と喀痰培養のチールネルゼン染色, PCR はともに陰性であったが, T-SPOT 検査は陽性であった。溝口らの集計によると, 本邦の 1919 年から 2010 年に報告された乳腺結核 46 例の中で, 詳細不明 2 例を除く 44 例のうち 11 例 (25%) に乳腺結核と癌腫の共存例がみられたことから<sup>1)</sup>, 結核菌同定検査はあくまで補助的な診断目的で実施するべきと考える。

溝口らによると多くの症例で組織学的に明らかな肉芽腫性病変を認めており<sup>1)</sup>, 本例においても組織像で肉芽腫性病変がみられた。一方, 乳腺結核の細胞診上の報告は少なく, われわれの検索した限り本邦では乳腺結核の細胞像としての報告はみつからなかった。海外では Kakkar らや Jairajpuri らが多くの症例でわれわれと同様, 類上皮細胞, 多核組織球, 壊死物質などがみられるとしている<sup>2,8)</sup>。また, Sinha らの報告では肉芽腫性の所見がなく, 壊死や膿様の所見のみがみられたとしている<sup>9)</sup>。

本例では背景に顆粒状物が出現していたが, 癌にみられるような大小の細胞変性物ではないため, 当初は壊死物質とは考えなかった。また, 患者に結核の既往がないこともあり, 結核を疑うことができなかった。しかし, 結核にみられる乾酪壊死が細胞診上, 顆粒状物であることを理解していれば正診に近づけた可能性がある。鑑別診断にあがる原因不明の肉芽腫性乳腺炎では通常乾酪壊死がないとされている。本例では細胞標本上異型細胞が認められ, 悪性由来もまた否定することができなかった。乳腺結核で異型細

胞を認めたという報告は検索したかぎりみられないが, 成書によっては脂肪壊死などの際, 肉芽腫様変化に由来する細胞の中で核濃染性や腫大などの異型を示す組織球がみられることがあるとしている<sup>10)</sup>。

われわれも細胞診標本中にみられた異型細胞を組織球由来と考え, 免疫染色を実施した。裸核化した細胞などもあり, 明瞭な結果とはならなかったが, 組織標本 (Photo. 8), 細胞診標本 (Photo. 9) とともに CD68 に陽性に染まる細胞がみられ, 少なくとも異型細胞の一部は組織球由来が推定された。本例の経験から乳房結核では背景の壊死物質, 多核組織球, 類上皮細胞だけでなく, 異型細胞が出現する可能性を念頭に置く必要があると考えられた。前述の通り乳腺結核には癌腫との共存例がみられることから, 異型細胞が出現した場合は乳癌の可能性を十分考慮する必要があると考える。なお, 切除された腫瘍は皮膚に近く, 組織標本上病変が「乳腺内」であると確認できなかったため乳房結核と表現した。しかし, 同様の病変は複数あり MRI 画像上 Photo. 3 の②は明らかに乳腺組織内にある。したがって乳腺結核の 1 例と捉えても問題はないと考える。

## VII. ま と め

細胞像にて異型細胞を伴う乳房結核を経験した。

本例のように乳房結核は画像上, 乳癌に類似した所見を示すことがあり, 穿刺吸引細胞診の対象となる。細胞診断をするにあたり, 乳房に結核の発生する可能性があることを念頭に置く必要があると思われた。



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 60 回日本臨床細胞学会総会春期大会 (2019 年 6 月 8 日, 新宿) にて発表した。

### Abstract

**Background** : Tuberculosis (TB) of the breast is very rare, as the breast tissue is known to be relatively resistant to tubercular infection. Herein, we report a case of breast TB that was initially suspected as a case of breast carcinoma based on the imaging findings.

**Case** : A women aged in her 70 s presented with a lump in her right breast. Ultrasonography showed several nodular lesions in both breasts. The largest lesion was an intracystic papilloma-like lesion, measuring 11×11 mm in size, located in the B area of the right breast. It was judged as being mammography category 3 and magnetic resonance imaging category 5, suggestive of carcinoma. Fine-needle aspiration cytology (FNAC) showed granulomatous cells (epithelioid cells, multinucleated giant cells, fine granular necrosis), although, because of the presence also of some atypical spindle cells, we could not make a definitive diagnosis. Excisional biopsy was performed, and histological examination confirmed the features of TB. Retrospective immunohistochemical analysis and immunocytochemical analysis for CD68 suggested the possibility of the spindle cells being of histiocytic origin.

**Conclusion** : TB of the breast is a rare benign disease, but the imaging findings can mimic those of breast carcinoma. Therefore, FNAC would be indicated for obtaining the diagnosis in these patients. Pathologists examining breast FNAC specimens should bear in mind the possibility, even though rare, of breast TB.

### 文 献

- 1) 溝口資夫, 喜島祐子, 平田宗嗣, 柳 正和, 吉中平次, 夏越祥次. 診断に難渋した乳腺結核の 1 例. 日本臨床外科学会雑誌 2011 ; 72 : 851-856.
- 2) Kakkar, S., Kapila, K., Singh, M. K., Verma, K. Tuberculosis of the breast. A cytomorphologic study. Acta Cytol 2000 ; 44 : 292-296.
- 3) 大垣和久, 堀 泰祐. 乳腺結核. 日本臨牀 1998 ; 56 (12) : 3126-3128.
- 4) 中山祐次郎, 有賀智之, 堀口慎一郎, 船田信顕, 黒井克昌. 乳腺結核の 1 例. 日臨外会誌 2011 ; 72 (2) : 298-303.
- 5) McKeown, K. C., Wilkinson, K. W. Tuberculous disease of the breast. Br J Surg 1952 ; 39 (157) : 420-429.
- 6) 丸山祥司, 川崎恒雄, 林 政澤, 出江洋介, 長瀬慈村, 野坂俊壽・ほか. 乳腺結核の 1 例. 細胞核病理誌 1982 ; 19 : 108-109.
- 7) Ikard, R. W., Perkins, D. Mammary tuberculosis. A rare modern disease. South Med J 1977 ; 70 : 208-212.
- 8) Jairajpuri, Z. S., Jetley, S., Rana, S., Khetrapal, S., Khan, S., Hassan, M. J. Diagnostic challenges of tubercular lesions of breast. J Lab Physicians 2018 ; 10 (2) : 179-184.
- 9) Sinha, R. T. K., Dey, A., Agarwal, S. Tuberculous mastitis diagnosed on cytology-case report of a rare entity. J Cytol 2017 ; 34 : 162-164.
- 10) 土屋眞一, 監修. 北村隆司, 編. 新版乳腺細胞診カラーアトラス. 東京 : 医療科学社 ; 2007. 194-195.

## 症 例

## 内膜細胞診で胞状奇胎を推定しえた1例

河嶋 友美<sup>1)</sup> 武田 遼<sup>1)</sup> 橋本 哲夫<sup>1)</sup> 佐藤 勝明<sup>2)</sup>  
 上田 善道<sup>3)</sup> 田中 卓二<sup>4)</sup>

公立能登総合病院臨床検査部<sup>1)</sup>, 同 病理診断科<sup>2)</sup>, 金沢医科大学病理学Ⅱ<sup>3)</sup>, 岐阜市民病院病理診断科部<sup>4)</sup>

背景：胞状奇胎の診断を目的として、細胞診は通常行われず、今回、閉経期前後の患者に腫瘍性病変の診断目的で行われた内膜細胞診で、胞状奇胎を推定しえた1例を経験したので報告する。

症例：53歳、女性、5妊3産。約2ヵ月前に最終月経があり、不正出血を主訴に来院した。血清hCG値は $1.21 \times 10^6$  mIU/mlと高値で、画像では拡張した子宮内に腫瘍性病変を認めた。内膜細胞診では、出血性背景に、絨毛および合体性と中間型の栄養膜細胞を認めた。合体性栄養膜細胞は、類円形や有尾型などの不規則な形で出現し、細胞質は厚く、数十個までの核を認め、異型は乏しかった。中間型栄養膜細胞は、孤在性からシート状集塊で出現し、核は腫大し大小不同があり、核縁は不整、クロマチンの軽度増量と明瞭な核小体をもち軽度の異型を認めたが、核分裂像はなかった。絨毛癌は否定的で、胞状奇胎を疑った。全摘子宮では、20 mm 大まで水腫状に腫大した絨毛が確認され、絨毛周囲には栄養膜細胞が全周性に軽度増殖していた。免疫染色では細胞性栄養膜細胞がp57<sup>Kip2</sup>陰性であり、全胞状奇胎と診断された。

結論：内膜細胞診で胞状奇胎を推定することができ、絨毛癌との鑑別において有用であった。

**Key words** : Complete hydatidiform mole, Cytology, Trophoblasts, Endometrium, Case report

## I. はじめに

胞状奇胎の診断は、臨床的に血清hCG値や超音波画像が有用である。最近では妊娠12週未満の早期娩出例も多く、血清hCG値が正常妊娠と同程度にとどまり、肉眼で絨毛の腫大が2 mm 未満で、病理組織学的検索により診断される例が増えている<sup>1)</sup>。胞状奇胎を含む絨毛性疾患に対する細

胞診の有用性に関してはさまざまな報告があるが、実際に診断目的に細胞診が行われることはほとんどない。今回、腫瘍性病変が疑われた閉経期前後の女性に行われた内膜細胞診において、軽度異型のある栄養膜細胞が認められたため胞状奇胎を推定しえた1例を経験したので報告する。

## II. 症 例

患 者：53歳、女性、5妊3産。

主 訴：不正出血。

既往歴：特になし。

現病歴：約2ヵ月前に最終月経があり、不正出血のため当院を受診した。内膜細胞診では、絨毛性疾患、胞状奇胎疑いと報告した。細胞診後3週の血清hCG値は、 $1.21 \times 10^6$  mIU/mlと高値であった。経膈超音波検査では、子宮内に全体で10 cm 大の多房性囊胞状腫瘤を認めた (Photo. 1a)。骨盤CTでは、著明に拡張した子宮内に11×9 cm 大の絨毛様構造を有する腫瘤影が充満し血腫を伴っており、絨毛癌が完全には否定できなかった (Photo. 1b)。肺

A case of hydatidiform mole suggested by endometrial cytology

Tomomi KAWASHIMA<sup>1)</sup>, C. T., I. A. C., Ryo TAKEDA<sup>1)</sup>, C. T., J. S. C., Tetsuo HASHIMOTO<sup>1)</sup>, C. T., I. A. C., Katsuaki SATO<sup>2)</sup>, M. D., Yoshimichi UEDA<sup>3)</sup>, M. D., Takuji TANAKA<sup>4)</sup>, M. D., F. I. A. C.

<sup>1)</sup>Department of Clinical Laboratory, <sup>2)</sup>Department of Diagnostic Pathology, Noto General Hospital

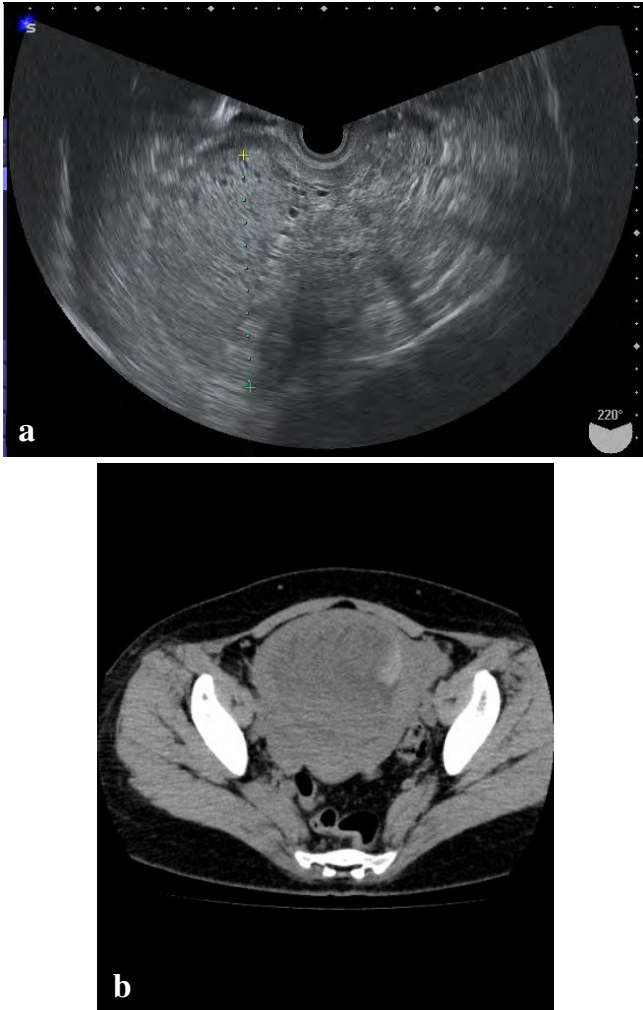
<sup>3)</sup>Department of Pathology II, Kanazawa Medical University

<sup>4)</sup>Department of Diagnostic Pathology, Gifu Municipal Hospital

論文別刷請求先 〒926-8610 石川県七尾市藤橋町ア部6の4 公立能登総合病院臨床検査部 河嶋友美

令和2年5月14日受付

令和2年5月31日受理



**Photo. 1** a : Transvaginal ultrasonographic findings of the uterus : an ill-defined heterogeneous hyperechoic solid lesion measuring 10 cm in diameter.  
b : Computed tomographic findings of the uterus : the expansive uterine cavity consists of a soft tissue shadow with a villous configuration and a hematoma.

には陳旧性肉芽腫を疑う 5 mm 大までの大小不同性のない小結節が 5 個認められた。絨毛癌診断スコアは 1 (絨毛癌である可能性 60% 以下) と判定されたが、挙児希望がなく子宮全摘術が行われ、病理組織学的に全胞状奇胎と診断された。肺の小結節が転移の可能性を否定できないため、臨床的侵入奇胎として methotrexate を 12 コース、actinomycin D を 4 コースの化学療法が追加され、血清 hCG 値は漸減し、術後 7 ヶ月の時点で基準値以下となった。肺結節は軽度縮小したものもあったが、消失はしていない。

染色体検査では、核型は 46XX で、1 精子由来のホモ接合型の全胞状奇胎と考えられた。

### III. 細胞学的所見

内膜細胞診では、背景は出血性で、壊死物質は認めなかった。正常の内膜腺上皮はみられず、脱落膜細胞、間質に核崩壊像を含む絨毛構造 (Photo. 2a) に加えて、合体性栄養膜細胞 (syncytiotrophoblast : ST, Photo. 2b) と中間型栄養膜細胞 (intermediate trophoblast : IT, Photo. 2c) を多数散在性に認めた。脱落膜細胞は、シート状集塊で出現し、細胞質は薄く、核クロマチンは微細顆粒状であった。ST は、類円形や有尾型などの不規則な形で出現し、細胞質は厚く、数個から数十個の核を認めた。核の腫大や大小不同、クロマチンの増量はなく異型に乏しい細胞像であった。IT は、比較的大型で、孤在性から緩やかな結合性のあるシート状集塊として出現し、多核細胞もみられた。核は腫大し大小不同がみられ、核形不整、クロマチンの軽度増量と明瞭な核小体を認めた。細胞質はレース状であった。細胞性栄養膜細胞 (cytotrophoblast : CT) との鑑別目的で行った Papanicolaou 染色標本を脱色後に行った免疫細胞染色では、ヒト胎盤性ラクトゲン human placental lactogen (hPL) が細胞質に陽性を示す細胞が部分的に認められ (Photo. 2d)、IT と確認した。絨毛構造内の間質に接した小型核からなる細胞が CT と考えられたが、散在性に分布する細胞集塊内には同定されなかった。

背景に壊死はなく、多数の ST は異型に乏しく、高異型度の IT や核分裂像は観察されないことから、絨毛癌は否定的であり、細胞学的には胞状奇胎を疑った。

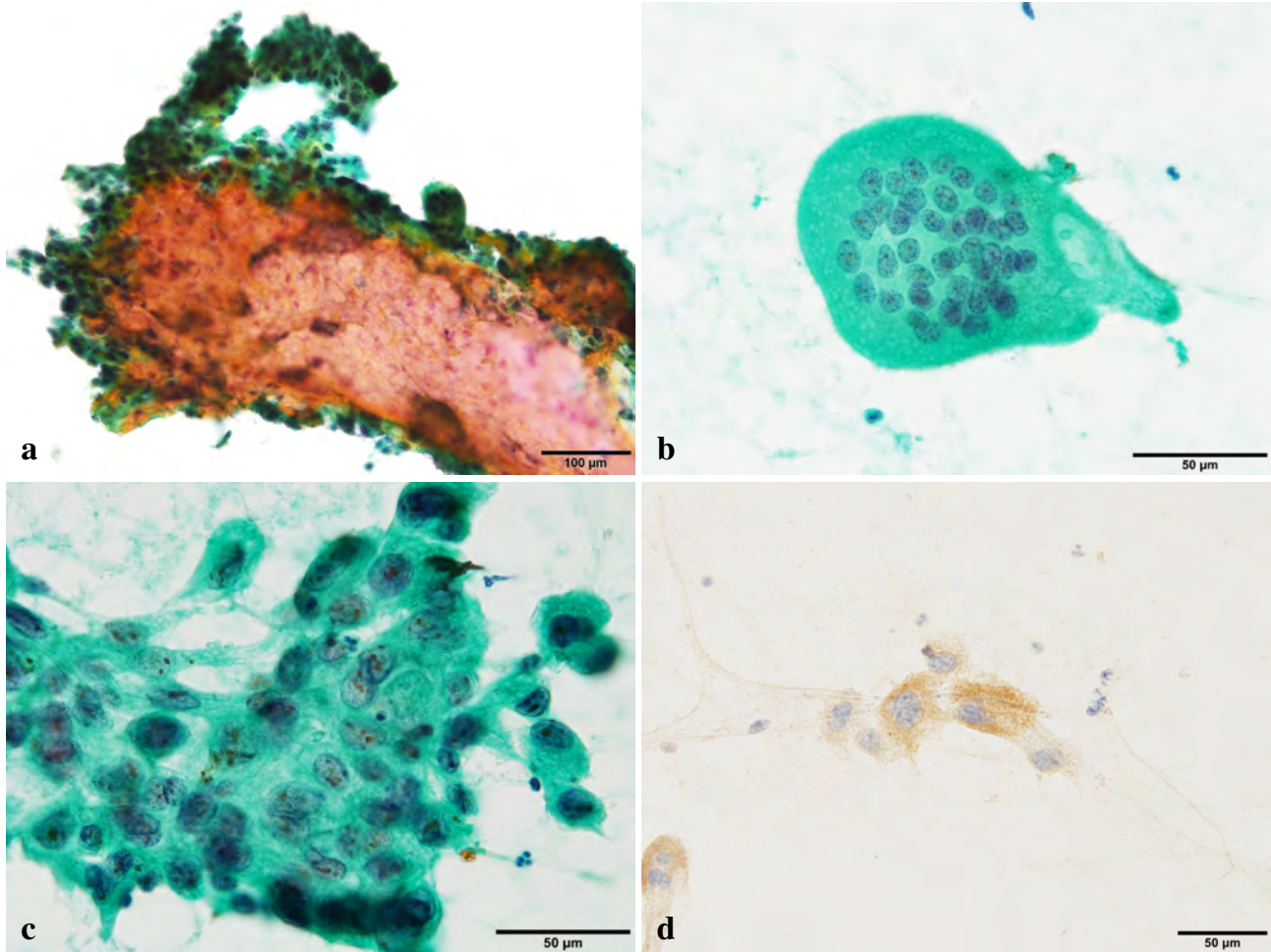
頸部細胞診は、陰性 (negative for intraepithelial lesion or malignancy : NILM) と診断し、栄養膜細胞は認めなかった。

### IV. 病理学的所見

肉眼的に、全摘された子宮内腔は拡張し (Photo. 3a)、内腔には最大 20 mm まで水腫状に腫大した絨毛を認めた (Photo. 3b)。

組織学的には、絨毛は、間質が水腫状で不整形に腫大した像が主体で、槽の形成も多く認め、周囲には全周性に栄養膜細胞の軽度増殖像がみられた (Photo. 3c)。子宮筋層内に IT が浸潤していたが絨毛構造は確認されず、全胞状奇胎と過大着床部と診断された。免疫染色では、絨毛の CT と間質細胞が p57<sup>KIP2</sup>陰性であり (Photo. 3d)、全胞状奇胎と診断された。

肺の小結節については病理学的には検討されていない。



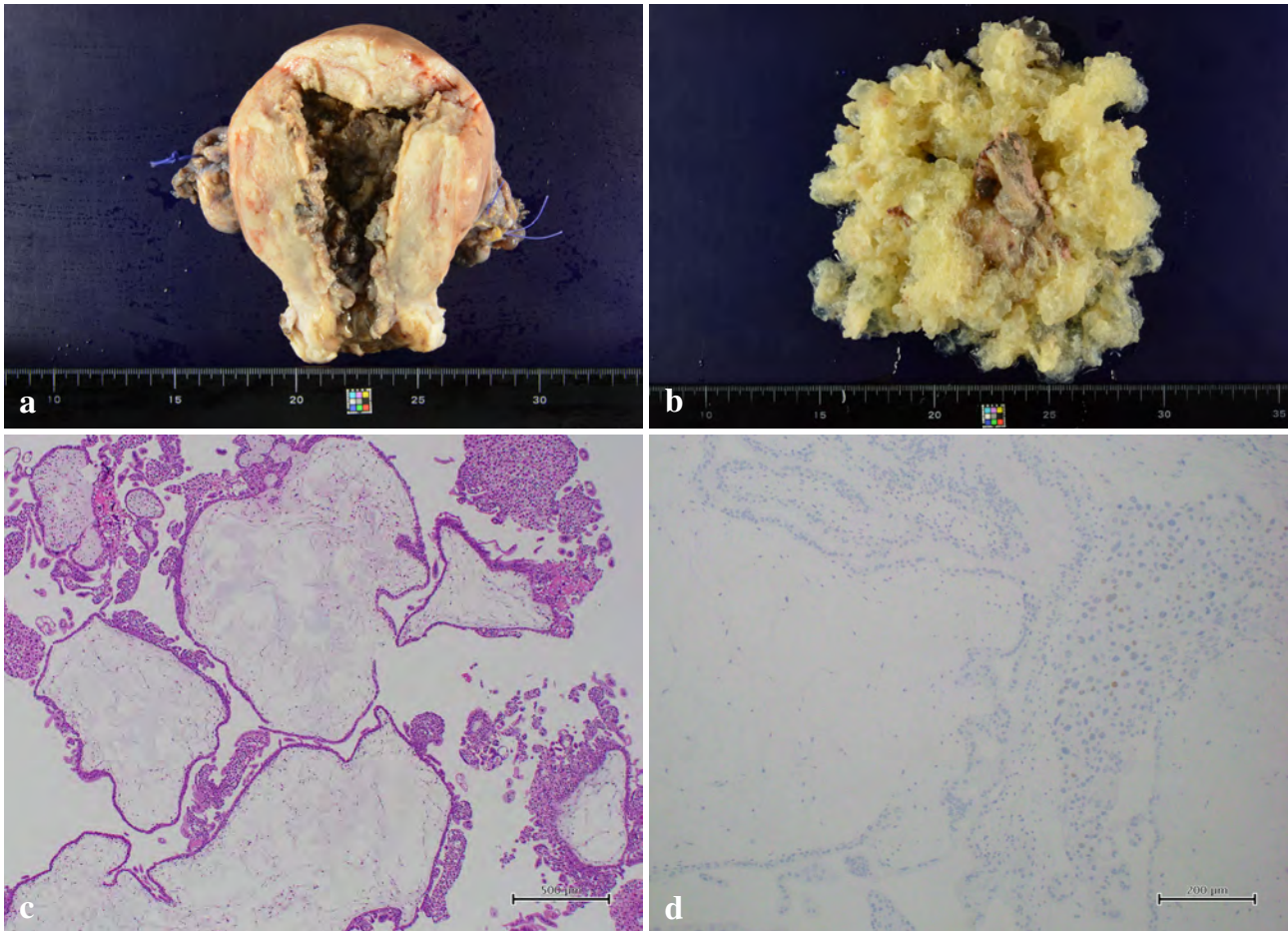
**Photo. 2** Endometrial cytological findings (Papanicolaou staining) : villi (a), syncytiotrophoblast (b), and a sheet of intermediate trophoblasts (c). Immunocytochemically, the intermediate trophoblasts were positive for human placental lactogen (d).

## V. 考 察

絨毛性疾患の発生は20～30歳代の生殖年齢に多いが、40歳以上の高齢妊娠、流産、胞状奇胎の既往などがリスクファクターとされる<sup>2)</sup>。発生率については、絨毛性疾患地域登録成績によると、胞状奇胎は出生数1000に対し、1974～1978年では2.82であったものが2004～2008年では1.16まで漸減してきていた。2011年に発刊された絨毛性疾患取扱い規約（第3版）からは、胞状奇胎の診断は肉眼的所見ではなく組織学的所見に基づくこととなり、診断が困難な場合にはp57<sup>Kip2</sup>あるいはTSSC3抗体を用いた免疫組織化学あるいは遺伝子検査を行うことが望ましいとされ診断基準および診断法が大きく変更された。その後、これまで早期奇胎で嚢胞径が2mmに達せず単なる流産とされていた例も組織学的検索により胞状奇胎と診断されるようになったと推測され、発生率は漸増し2016年には1.78となっ

た。全胞状奇胎の診断率は、臨床的に経膈超音波検査に加えて血清hCGの異常高値が確認できればほぼ100%となると報告されている<sup>3)</sup>。しかし、妊娠早期の場合には、絨毛の腫大が軽度で、hCG値が $1.0 \times 10^5$  mIU/ml以下のことがあり、診断が難しいことがある<sup>4)</sup>。細胞診で絨毛性疾患を診断することは容易ではなく、臨床的にもその重要性は大きくないとされてきたが<sup>5)</sup>、診断が組織学的所見に基づくこととなりさらにその必要性は低下したといえる。

胞状奇胎で広範囲に増殖する栄養膜細胞に関しては、絨毛表面にあるCTとSTのほかに、絨毛外に存在するITが知られている。ITはKurmanら<sup>6)</sup>により命名され、現在広く用いられているが、絨毛外栄養膜細胞と呼ばれることも多い。これまで、胞状奇胎におけるITの細胞形態を詳しく観察した細胞学的報告や記述は乏しく、一般的な細胞診テキストでCTと記載されている細胞はどれもITである可能性が高い。本例で多数観察された孤立性やシート状集塊を形成する栄養膜細胞は、組織像との対比やhPL免疫染色の



**Photo. 3** Macroscopic findings of the uterus (a) and molar lesions removed from the uterine corpus (b). Histological findings (HE staining) of the molar lesions (c). Immunohistochemically, the cytotrophoblasts and stromal cells of the molar lesion were negative for p57<sup>Kip2</sup> (d).

陽性所見から IT と考えられた。

細胞診における栄養膜細胞の細胞形態については、ST は多核で厚い細胞質を有する特徴的な細胞像であり、容易に認識できる。IT は、細胞径、核径が大きく、核形の不整、核小体が見られることから、一見悪性を示唆するような細胞像を呈している。一方、組織標本上での CT の細胞形態は、細胞径、核径が IT に比べて小さく、細胞異型は乏しく、特徴に欠ける。さらに、細胞像では CT と IT の中間的な像を呈する細胞も観察されるため、CT と IT の厳密な鑑別は難しいと考える。

これまでの胞状奇胎と侵入奇胎の細胞診に関する報告では、それぞれ細胞学的に鑑別は可能とする報告<sup>7)</sup>と困難とする報告<sup>8,9)</sup>がある。侵入奇胎は、絨毛が子宮筋層あるいは筋層内血管へ侵入する像を病理組織学的に確認することで診断されるため、細胞診のみでは診断できない。笹川らも、組織像での検討ではあるが、異型 IT の出現は胞状奇胎の存在を示唆すると報告しているが、IT の異型度から胞状奇胎

と侵入奇胎を鑑別することは困難としている<sup>10)</sup>。

本例は、閉経期前後の患者で、臨床的に hCG 値の高値を認め、画像診断で絨毛癌が完全には否定できなかったが、細胞診で絨毛および異型に乏しい ST を多数認めたことから胞状奇胎を示唆できた。笹川らは、ST の核に関し、胞状奇胎では大小不同がそれほど目立たないのに対して、絨毛癌では核径が大きく大小不同が著しいことが重要な鑑別点としている<sup>10)</sup>。中間型栄養膜細胞性腫瘍である胎盤部トロホプラスト腫瘍や類上皮性トロホプラスト腫瘍との鑑別については、ST の存在を確認できれば可能である。

閉経期前後の無月経は、患者も医療者も閉経によるものと判断しがちであり、絨毛性疾患の診断が遅れることがある。本例で実施された子宮内膜細胞診は絨毛性疾患の診断の契機になったと考えられる。

## VI. ま と め

臨床的に腫瘍性病変が疑われた閉経期前後の女性の内膜細胞診において、胞状奇胎疑いと報告し、病理組織学的に全胞状奇胎と診断された1例を経験し、栄養膜細胞の貴重な細胞像を観察する機会を得た。子宮内膜細胞診が、絨毛癌との鑑別も含めて胞状奇胎の診断に有用であった。

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秋期大会（2018年11月、横浜）で報告した。

### Abstract

**Background** : Cytological differentiation between a hydatidiform mole and choriocarcinoma is challenging. Herein, we describe a case of histopathological diagnosis of a complete hydatidiform mole after hysterectomy.

**Case** : A 53-year-old woman (G5P3) presented to us with a history of irregular genital bleeding. Uterine cancer was suspected from the markedly elevated serum hCG levels and CT findings. Endometrial cytology revealed villi and mildly atypical intermediate trophoblasts, suggestive of hydatidiform mole. Histopathological diagnosis of the resected uterus confirmed it as complete hydatidiform mole with exaggerated placental site.

**Conclusion** : Endometrial cytology could be useful for the diagnosis of molar diseases and also for differentiating hydatidiform mole from choriocarcinoma.

## 文 献

1) 深澤一雄, 木内香織, 香坂信明, 坂本尚徳, 長谷川清志. 胞

- 状奇胎の管理方針. 日本臨牀 2018 ; 76 (Suppl. 2) : 750-756.
- 2) 南口早智子. 絨毛性疾患の病理. 日本臨牀 2018 ; 76 (Suppl. 2) : 743-749.
- 3) Coukos, G., Makrigiannakis, A., Chung, J., Randall, T. C., Rubin, S. C., Benjamin, I. Complete hydatidiform mole. A disease with a changing profile. J Reprod Med 1999 ; 44 : 698-704.
- 4) Hui, P., Baergen, R., Cheung, A. N. Y., Fukunaga, M., Gersell, D., Lage, J. M., et al. Molar pregnancies. Kurman, R. J., Carcangiu, M. L., Herrington, C. S., et al., eds. WHO Classification of tumours of female reproductive organs, 4th ed. Lyon : IARC Press ; 2014. 163-166.
- 5) 半藤 保, 大野正文, 黒瀬高明, 塩田敦子. 絨毛性疾患の新しい分類と細胞診. 産婦人科治療 1996 ; 11 : 559-563.
- 6) Kurman, R. J., Main, C. S., Chen, H. C. Intermediate trophoblast : a distinctive form of trophoblast with specific morphological, biological and functional features. Placenta 1984 ; 5 : 349-369.
- 7) 塩井忠昭, 木村博子, 瀬尾道次, 荘 進. 子宮腔内細胞診で検出された破奇の1例. 日臨細胞会誌 1975 ; 14 : 31-34.
- 8) 横田栄夫, 馬淵義也, 細道太郎, 木村雅紀, 今井秀彰, 吉田恵. 胞状奇胎分娩後の管理における子宮腔内細胞診の意義. 日臨細胞会誌 1990 ; 29 : 863-868.
- 9) 小幡憲郎, 半藤 保, 広神俊彦, 児玉省二, 竹内正七. 胞状奇胎と破壊胞状奇胎の絨毛細胞 (cytotrophoblastic cell) の細胞形態学的特徴とその差異. 日臨細胞会誌 1979 ; 18 : 461-469.
- 10) 笹川 基, 石井美和子, 山田 潔, 佐々木敏江, 半藤 保. 絨毛性疾患でみられる trophoblast の細胞形態学的観察—正常 trophoblast との対比において—. 日臨細胞会誌 1991 ; 30 : 639-645.

## 症 例

## 口蓋に発生した腺様嚢胞癌の口腔内擦過液状化検体細胞診の1例

牧野 諒央 河原 明彦 安倍 秀幸 高瀬頼妃呼  
 福満 千容 村田 和也 吉田 友子 篠田由佳子  
 内藤 嘉紀 秋葉 純

久留米大学病院病理診断科・病理部

背景：腺様嚢胞癌は、悪性小唾液腺腫瘍の代表的な腫瘍である。今回われわれは、基底細胞様腫瘍との鑑別を要した腺様嚢胞癌の口腔内擦過液状化検体細胞診（LBC）を経験したので報告する。

症例：60歳代、男性。右口蓋に違和感を認め、当院紹介となった。内視鏡検査において隆起性病変が認められ、潰瘍部から擦過LBCが施行された。LBC標本において、異型のない扁平上皮細胞を背景に、小型類円形を示す基底細胞様の腫瘍細胞が集塊でみられた。明らかな篩状集塊は認められなかったが、単調な細胞形態より腺様嚢胞癌が疑われた。腫瘍細胞はMYB蛋白の強発現を示したため、腺様嚢胞癌を推定した。生検組織では小型類円形の腫瘍細胞が充実性および胞巣状に増殖しており、充実性増殖を主体とする中に二層性を含む異型腺管が混在していた。MYB染色では腫瘍細胞に強発現がみられ、FISH解析では、MYB遺伝子のsplit signal（68%）が腫瘍細胞に検出された。これらの所見より腺様嚢胞癌と診断された。

結論：本例は基底細胞様腫瘍との鑑別を要したが、臨床情報、細胞所見およびMYB染色などの総合的な判断により腺様嚢胞癌の組織型推定は可能であった。

**Key words** : Adenoid cystic carcinoma, Liquid-based cytology, Palate, MYB, Case report

## I. 背 景

腺様嚢胞癌（adenoid cystic carcinoma）は、耳下腺や顎下腺などの大唾液腺のみでなく口腔内の小唾液腺にも発生する唾液腺悪性腫瘍であり、好発年齢は60歳前後である<sup>1-3)</sup>。本腫瘍は全唾液腺腫瘍の10%以下であり、小唾液

腺においても粘表皮癌と同様に発生頻度の高い唾液腺悪性腫瘍である<sup>2)</sup>。本腫瘍は組織学的に基底細胞様の腫瘍細胞が篩状、管状、充実性などさまざまな形態を示しながら浸潤増殖する腫瘍である<sup>1)</sup>。一方、細胞診において小型裸核状細胞が球状硝子体を取り囲むような篩状集塊は本腫瘍に特徴的であるが、これらの所見が認められない症例や基底細胞様腫瘍との鑑別が必要な症例に遭遇することもある<sup>4,5)</sup>。本腫瘍は分子病理学的に、MYB-NFIB染色体転座（t(6;9)(q22-23;p23-24)）やMYB蛋白の過剰発現を示すことが知られており、これらの分子病理学的手法を用いた報告もなされている<sup>6-10)</sup>。

液状化検体細胞診（liquid-based cytology, 以下LBC）は、婦人科細胞診のみならず、穿刺吸引細胞診など幅広く利用されており、口腔細胞診でも同様にサイトブラシなどの口腔内上皮採取器具を用いた口腔内擦過LBCが応用されている<sup>11)</sup>。口腔内に発生する小唾液腺腫瘍の診断において、穿刺吸引細胞診を用いた細胞採取が一般的であるが、浸潤性に増殖する唾液腺悪性腫瘍においては、しばしば口腔内

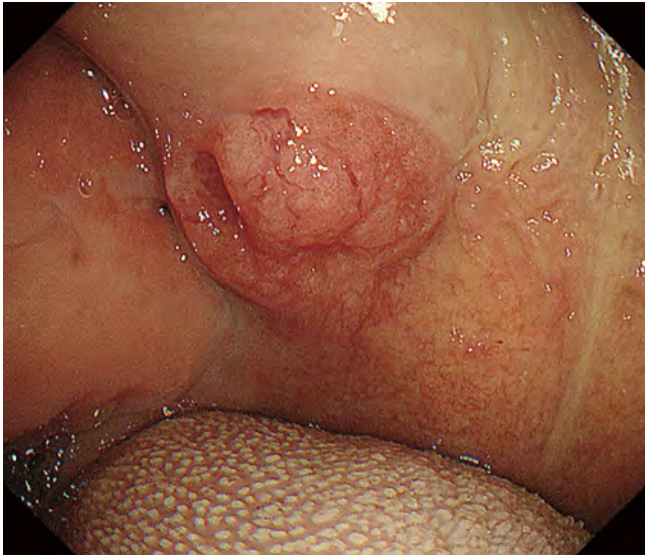
Liquid-based cytology of oral brushings in a case of adenoid cystic carcinoma arising from the palate—A case report—

Ryo MAKINO, C. T., J. S. C., Akihiko KAWAHARA, C. T., C. F. I. A. C., Hideyuki ABE, C. T., C. M. I. A. C., Yorihiro TAKASE, C. T., I. A. C., Chihiro FUKUMITSU, C. T., I. A. C., Kazuya MURATA, C. T., I. A. C., Tomoko YOSHIDA, C. T., I. A. C., Yukako SHINODA, C. T., J. S. C., Yoshiaki NAITO, M. D., Jun AKIBA, M. D.

Department of Diagnostic Pathology, Kurume University Hospital  
 論文別刷請求先 〒830-0011 福岡県久留米市旭町67 久留米大学  
 病院病理診断科・病理部 牧野諒央

令和2年6月2日受付

令和2年6月15日受理



**Photo. 1** An exophytic growth arising from the right hard palate.

ブラシ擦過が検体採取法となりうることがあるが、その報告例は少ない。

今回われわれは、口蓋に発生した腺様嚢胞癌の口腔内擦過 LBC の症例を経験し、基底細胞様腫瘍との鑑別のため MYB 蛋白抗体を用いた免疫細胞化学が診断の一助となった 1 例を報告する。

## II. 症 例

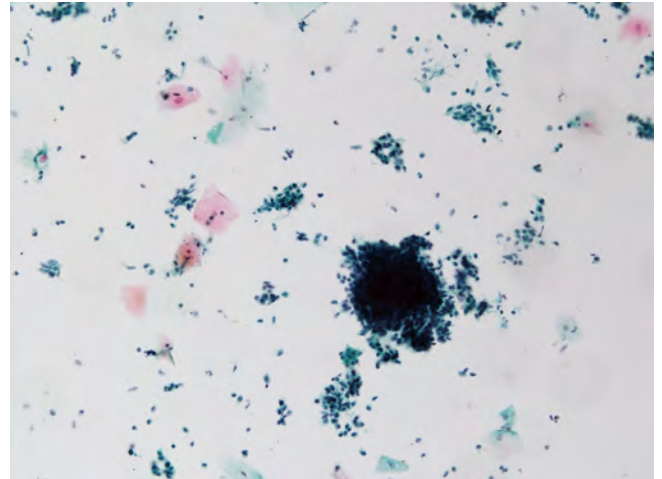
患 者：60 歳代，男性。

既往歴：前立腺癌（5 年前）。

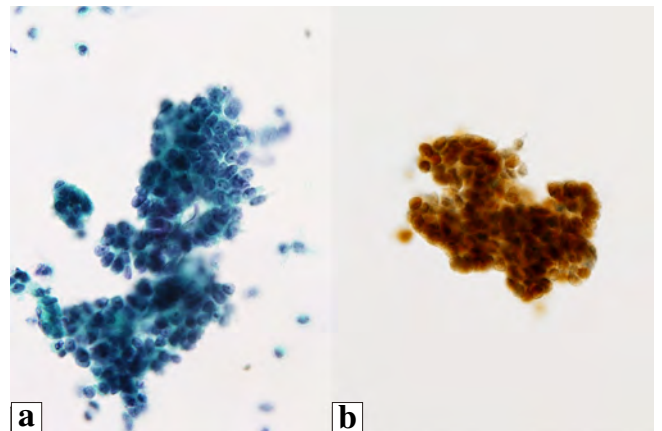
現病歴：患者は 2 ヶ月前から右口蓋に違和感を認め、かかりつけ歯科を受診した。その後、精査加療目的にて当院紹介となった。内視鏡検査にて右硬口蓋後方 1/3 の領域に、潰瘍を伴う隆起性病変が認められ、狭帯域光観察ではドット状の太い異常血管がみられた。質的診断を目的に潰瘍部から歯間ブラシを用いた擦過細胞診が施行された (Photo. 1)。CT 検査では、右口蓋に長径約 2 cm 大の腫瘤性病変が認められ、腫瘤に接する上顎骨や翼状突起部に骨破壊がみられた。悪性腫瘍の骨浸潤が疑われたため、組織生検が施行された。

### III. 口腔内擦過液状化検体細胞診の細胞所見

歯間ブラシを用いて病変部を擦過後、歯間ブラシに付着した細胞は、LBC 固定液サイトリッチ赤 (BD サイトリッチ™ レッド保存液) で固定し、SurePath 法のプロトコールに従い LBC 標本を作製した。炎症細胞と異型のない表層扁



**Photo. 2** Cluster of small round cells with basaloid features (Pap. staining, ×10).



**Photo. 3** The tumor shows small-to-moderate cohesive clusters composed of monotonous basaloid cells (a). Most tumor cells showing strong nuclear MYB immunostaining (b) (a : Pap. staining, ×40, b : MYB, ×40).

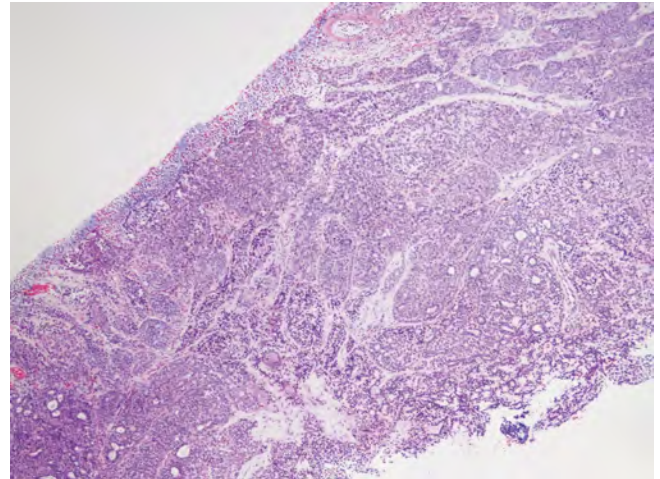
平上皮細胞を背景に、小型類円形を示す基底細胞様の腫瘍細胞が集塊でみられ、扁平上皮癌を疑うような角化異常細胞はみられなかった (Photo. 2)。篩状集塊を形成する腫瘍細胞は明らかではなかったが、核形不整や核の大小不同に乏しい小型基底細胞様細胞が、重積性を伴う単調な出現形態を示していたことより、小唾液腺由来の腺様嚢胞癌が鑑別疾患として挙げられた (Photo. 3a)。また、唾液腺由来の基底細胞腺癌や類基底型扁平上皮癌 (basaloid squamous cell carcinoma) のような基底細胞に類似した腫瘍細胞を有する悪性腫瘍との鑑別を目的に、MYB 抗体 (希釈倍率 1 : 200 : clone EP769Y, abcam, Cambridge, MA, USA) を用いた免疫細胞化学が施行された。免疫細胞化学に関して、LBC 残余検体から未染色標本を複製し、自動免疫染色装置 (VENTANA BenchMark ULTRA, ロシユ・ダイアグ



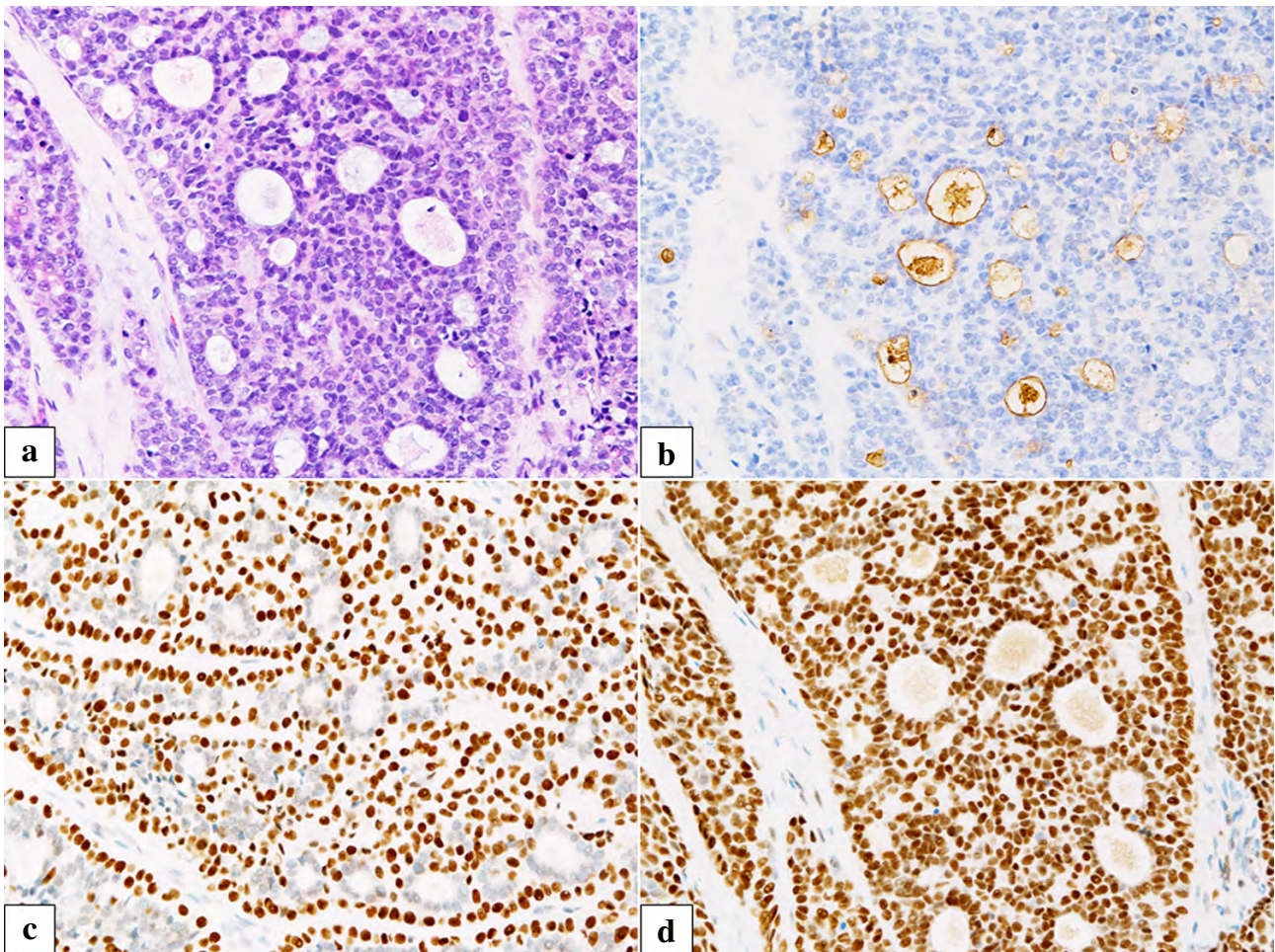
ノスティックス株式会社)にて36分賦活化後, 1次抗体を28分反応させ, 検出キット (VENTANA ultraView DABユニバーサルキット, ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)を用いて可視化させた。その結果, 腫瘍細胞の核にMYB蛋白の強発現が認められたため, 腺様嚢胞癌を推定した (Photo. 3b)。

#### IV. 組織所見

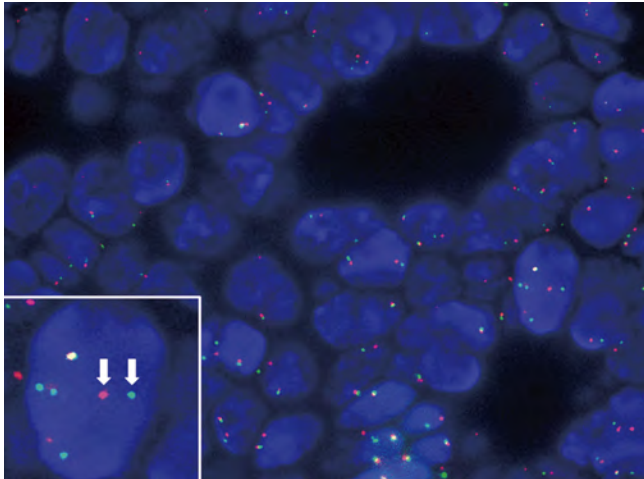
生検組織では, 異型に乏しい被覆重層扁平上皮下にN/C比の高い小型類円形の腫瘍細胞が充実性および胞巣状に増殖し, 被覆重層扁平上皮のない部分は潰瘍を形成していた (Photo. 4)。充実性増殖を主体とする中に, 二層性を示す異型腺管が混在していた (Photo. 5)。二層性腺管を示す内腔の導管系細胞はEMA陽性で, 外層の筋上皮・基底細胞系の細胞はp63陽性を示した。また, 異型腺管内の粘液は,



**Photo. 4** Representative images of the oral mucosa showing changes consistent with a malignant basaloid-like neoplasm. Nests and sheets of basaloid cells, with a predominance of solid nests (H. E. staining,  $\times 4$ ).



**Photo. 5** Double-layered ductal structures seen in the solid growth nests, which were predominant (a). Immunohistochemical staining showing positive staining of the epithelial cells for EMA (b), and positive staining of the neoplastic myoepithelial cells for p63 (c). Many tumor cells show strong and diffuse staining for MYB protein (d) (a : H. E. staining,  $\times 20$ , b : EMA,  $\times 20$ , c : p63,  $\times 20$ , d : MYB,  $\times 20$ ).



**Photo. 6** Fluorescence *in situ* hybridization detection of an *MYB* break apart probe. Gene splitting signals (arrows) are seen.

PAS 染色に弱陽性を示したが、基底膜様物質の所見は不明確であった。免疫組織化学において、充実性増殖を示す腫瘍細胞の多くは、p63およびMYBが腫瘍細胞の核に強発現を示し、腺様嚢胞癌と診断した。さらに、*MYB* プローブ (ZytoLight SPEC *MYB* Dual Color Break Apart Probe) を用いた fluorescence *in situ* hybridization (以下、FISH) 解析において、68%の腫瘍細胞に *MYB* split signal が確認され、腺様嚢胞癌と診断された (Photo. 6)。

## V. 考 察

腺様嚢胞癌は唾液腺腫瘍における代表的な悪性腫瘍であり<sup>2)</sup>、その細胞像も特徴的である<sup>4,5)</sup>。本例の細胞像は、口腔内擦過 LBC 標本 (SurePath 法) において腫瘍細胞が比較的単調な小集塊状で出現しており、口腔擦過細胞診で通常みられるような角化型扁平上皮癌の細胞所見と異なっていた。腫瘍細胞は、①核形不整や核大小不同に乏しい小型類円形であり、②明瞭な核小体を有する基底細胞様細胞が単調に出現し、③一部に管腔様構造がみられることや、④口腔扁平上皮癌でみられるような角化異常を示す異型細胞がみられなかった。これらの細胞所見を踏まえ、腺様嚢胞癌が小唾液腺にも発生しやすいということ、画像的に骨破壊像を示しているという臨床細胞学的所見より、まず第一に腺様嚢胞癌を鑑別疾患に挙げ診断を進めた。同時に唾液腺悪性腫瘍である基底細胞腺癌や類基底扁平上皮癌<sup>12)</sup>を鑑別するために、MYB 抗体を用いた免疫細胞化学を施行した。最終的には、腫瘍細胞の核に MYB 強発現を確認し、腺様嚢胞癌を推定できたため、本例は MYB 抗体を用いた免疫細胞化学が診断の一助になったといえる。

近年、MYB 抗体を用いた免疫組織・細胞化学が腺様嚢胞癌の診断に有用であることが報告されている<sup>6-8)</sup>。Moon らは細胞診セルブロックを用いた腺様嚢胞癌の MYB 染色において、82% (9/11) が陽性であったと記載しており、Pusztaszeri らも同様にその陽性率は 80% (16/20) と報告し、特に多形腺腫との鑑別に有用であると述べている<sup>7,8)</sup>。一方、Rooney らの報告によると、MYB 発現を示す唾液腺腫瘍は、腺様嚢胞癌以外にも基底細胞腺癌 (57%, 17/30) や基底細胞腺癌 (53%, 9/17) にみられ、MYB 発現は腺様嚢胞癌に特異的でないと述べている<sup>10)</sup>。また、*MYB-NFIB* 融合遺伝子は、MYB 過剰発現に関与するが、この融合遺伝子が認められない腺様嚢胞癌においても MYB 蛋白の過剰発現を認めたという報告もある<sup>7)</sup>。そのため、MYB 抗体を用いた免疫組織・細胞化学において、上述するような所見を踏まえ、核に強発現を示す多数の細胞をみた場合、腺様嚢胞癌を考慮し、現時点ではあくまでも補助的な視点で診断に応用すべきである。

腺様嚢胞癌の細胞像は、小型裸核状細胞が球状硝子体を取り囲むような篩状集塊をその特徴像とされているが、本例においてこのような篩状集塊は明らかでなかった。本例の HE 生検標本を確認しても、篩状構造が目立たず充実性増殖を示す部分が優位な症例であったため、結果的には腺様嚢胞癌の特徴的な所見は細胞像になかったと判断した。基本的に腫瘍内の組織構造を反映しやすい穿刺吸引細胞診に対し、腫瘍浸潤部を擦過するブラシ擦過細胞診では、先端浸潤部のがん細胞が採取されるため、採取法を踏まえた診断アプローチが必要と考える。腺様嚢胞癌の腫瘍浸潤部には管状あるいは小胞巣状の増殖をみることが多いため、口腔内擦過細胞診検体においては、本例のような細胞像を呈することが多いかもしれない。すなわち、篩状集塊が出現する可能性は低いと考えられ、この点に関しては今後症例を蓄積していく必要がある。基底細胞が主体となる口腔内腫瘍において、類基底型扁平上皮癌との鑑別が必要である。類基底型扁平上皮癌の細胞像は、比較的小型で裸核状を呈する腫瘍細胞が集塊または孤在性にみられ、核形不整および粗いクロマチンを有し、ディフクイック染色において、マゼンタ色を呈する細胞外物質がみられると記載されている<sup>13)</sup>。三宅らの報告によると充実型腺様嚢胞癌では明瞭な核小体を有するのに対し、類基底扁平上皮癌では核小体が目立たないことが鑑別点の一つであると述べている<sup>14)</sup>。本例も明瞭な核小体を有する細胞が認められ、類基底扁平上皮癌との鑑別点となると考えられた。類基底型扁平上皮癌の細胞像は、悪性判定は比較的容易であるが、細胞学的に充実型腺様嚢胞癌の所見に類似しており、扁平上皮癌への分化の証明が重要となる<sup>5,15)</sup>。類基底型扁平上皮

癌は、p63/p40が陽性を示すため腺様嚢胞癌との鑑別に使用できず、的確な抗体選択を踏まえた免疫細胞化学の施行とともに、総合的な判断が必要である。

## VI. 結 語

今回われわれは、基底細胞様腫瘍との鑑別を要した腺様嚢胞癌の口腔内擦過LBCの症例を経験した。正確な細胞診断には、臨床細胞学的所見とともに的確な抗体選択を踏まえた免疫細胞化学の施行が重要である。

筆者らに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61回日本臨床細胞学会総会春期大会(2020年神奈川)にて発表した。

謝辞 稿を終えるにあたり、口腔内の肉眼写真をご提供いただいた歯科口腔医療センター 松尾 勝久先生に深謝致します。

## Abstract

**Background** : Adenoid cystic carcinoma (AdCC) is the most commonly encountered malignant tumor of the minor salivary glands. Herein, we report a case of AdCC, in which differential diagnosis from a basaloid-like tumor was achieved by liquid-based cytology (LBC) of oral brushings.

**Case** : A male patient in his 60's was referred to our hospital by his family dentist. A tumor was identified by endoscopy in the upper right palate, and oral brushing LBC was performed, which showed clusters of small round cells with basaloid features. However, the presence of tumor clusters consisting of monotonous cells led to the suspicion of AdCC, and immunocytochemistry was performed. The tumor cell nuclei showed strongly positive staining for MYB protein, and we made the diagnosis of AdCC. Biopsy revealed nests and sheets of small round, basaloid cells, and identifiable atypical double-layered ductal structures in the solid nests which were predominant. The tumor cells showed strongly positive staining for MYB. FISH analysis revealed MYB split signals (68%) in the tumor cells. Based on these findings, the patient was diagnosed as having AdCC.

**Conclusion** : Although differential diagnosis from a basaloid-like tumor was required in this case, histological diagnosis of AdCC was possible by comprehensive analysis of the clinical information, cytological findings and results of MYB staining.

## 文 献

- 1) El-Naggar, A. K., Chan, J., Takata, T., Grandis, J., Slootweg, P. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumors. Lyon : IARC Press : 2017.
- 2) Sentani, K., Ogawa, I., Ozasa, K., Sadakane, A., Utada, M., Tsuya,

- T., et al. Characteristics of 5015 Salivary Gland Neoplasms Registered in the Hiroshima Tumor Tissue Registry over a Period of 39 Years. J Clin Med 2019 ; 8 : 566-579.
- 3) Miyabe, S., Ishibashi, K., Saida, K., Fujiyoshi, Y., Fukano, H., Ueda, K., et al. Adenoid cystic carcinoma with sialolithiasis of the left submandibular gland : A case report and literature review. Int J Surg Pathol 2019 ; 27 : 305-310.
- 4) Kawahara, A., Harada, H., Kage, M., Yokoyama, T., Kojiro, M. Extracellular material in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands : a comparative cytological study with other salivary myoepithelial tumors. Diagn Cytopathol 2004 ; 31 : 14-18.
- 5) 原田博史, 河原明彦, 編. 唾液腺腫瘍の組織診・細胞診. 東京 : メジカルビュー社 ; 2018. 136-150.
- 6) West, R. B., Kong, C., Clarke, N., Gilks, T., Lipsick, J. S., Cao, H., et al. MYB expression and translocation in adenoid cystic carcinomas and other salivary gland tumors with clinicopathologic correlation. Am J Surg Pathol 2011 ; 35 : 92-99.
- 7) Puztaszeri, M. P., Sadow, P. M., Ushiku, A., Bordignon, P., McKee, T. A., Faquin, W. C. MYB immunostaining is a useful ancillary test for distinguishing adenoid cystic carcinoma from pleomorphic adenoma in fine-needle aspiration biopsy specimens. Cancer Cytopathol 2014 ; 122 : 257-265.
- 8) Moon, A., Cohen, C., Siddiqui, M. T. MYB expression : Potential role in separating adenoid cystic carcinoma (ACC) from pleomorphic adenoma (PA). Diagn Cytopathol 2016 ; 44 : 799-804.
- 9) Lee, J. H., Kang, H. J., Yoo, C. W., Park, W. S., Ryu, J. S., Jung, Y. S., et al. PLAG1, SOX10, and Myb expression in benign and malignant salivary gland neoplasms. J Pathol Transl Med 2019 ; 53 : 23-30.
- 10) Rooney, S. L., Robinson, R. A. Immunohistochemical expression of MYB in salivary gland basal cell adenocarcinoma and basal cell adenoma. J Oral Pathol Med 2017 ; 46 : 798-802.
- 11) 久山佳代, 二谷悦子, 浮ヶ谷匡恭, 松本 敬, 森川美雪, 末光正昌・ほか. 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. 日臨細胞会誌 2017 ; 5 : 210-217.
- 12) 池田久住, 白石剛士, 河井洋佑, 藤田修一, 朝比奈泉. 口底に発生した類基底細胞扁平上皮癌の1例. 口腔腫瘍 2016 ; 28 : 1-7.
- 13) Gilcrease, M. Z., Guzman-Paz, M. Fine-needle aspiration of basaloid squamous carcinoma : a case report with review of differential diagnostic considerations. Diagn Cytopathol 1998 ; 19 : 210-215.
- 14) 三宅康之, 広川満良, 則松良明, 高須賀博久. 唾液腺腺様嚢胞癌の組織像と細胞所見. 日臨細胞会誌 2001 ; 40 : 405-410.
- 15) Jurczyk, M., Peevey, J. F., Vande Haar, M. A., Lin, X. Pitfalls of fine-needle aspiration cytology of parotid membranous basal cell adenoma—A review of pitfalls in FNA cytology of salivary gland neoplasms with basaloid cell features. Diagn Cytopathol 2015 ; 43 : 432-437.

## 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。ただし、画像診断、治療などに直接関わった医師(2名以内)はこの限りではない。

## 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)ならびに人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(文部科学省、厚生労働省(平成26年12月22日、平成29年2月28日一部改正))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://jscc.or.jp/coi/> 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/jscc/>

## 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,  $\mu\text{m}$ ,  $\text{cm}^2$ , 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30mm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：12名以内

調査報告：10名以内  
 症例報告：10名以内  
 短報：6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。光顕写真（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。電顕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8月一部改定)
(平成6年6月一部改定)	(平成24年4月一部改定)
(平成9年6月一部改定)	(平成26年5月一部改定)
(平成11年6月一部改定)	(平成26年11月一部改定)
(平成21年5月一部改定)	(平成26年12月一部改定)
(平成21年6月一部改定)	(平成27年3月一部改定)
(平成21年11月一部改定)	(平成29年1月一部改定)
(平成22年4月一部改定)	(平成29年11月一部改定)
(平成22年9月一部改定)	(平成30年11月一部改定)
(平成23年3月一部改定)	(平成31年3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](http://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  
平成29年2月28日一部改正

## NOTICE TO CONTRIBUTORS

### 1. Authorial responsibility :

All authors of this journal including coauthors must be members of the Japanese Society of Clinical Cytology. However, except for whom (within 2 authors) involved in the diagnosis, treatment, and so on.

### 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 Ethical Guidelines for Medical and Health Research Involving Human Subjects (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Ministry of Health, Labour and Welfare, March, 2015), 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://jscc.or.jp/coi/>) 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/jjscc/>)

### 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,  $\mu\text{m}$ ,  $\text{cm}^2$ , 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 12

*Investigation reports* : no more than 10

*Case reports* : no more than 10

*Brief notes* : no more than 6

*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 corresponding 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)

(Partial revision November 2018)

(Partial revision May 2019)

#### Appendix 1. Submission of manuscripts to *Acta Cytologica*

Please go the new *Acta Cytologica* website ([www.karger.com/acy](http://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

## WORLD MEDICAL ASSOCIATION

## ヘルシンキ宣言

## 人間を対象とする医学研究の倫理的原則

- 1964年 6月 第18回 WMA 総会（ヘルシンキ，フィンランド）で採択
- 1975年 10月 第29回 WMA 総会（東京，日本）で修正
- 1983年 10月 第35回 WMA 総会（ベニス，イタリア）で修正
- 1989年 9月 第41回 WMA 総会（九龍，香港）で修正
- 1996年 10月 第48回 WMA 総会（サマーセットウェスト，南アフリカ）で修正
- 2000年 10月 第52回 WMA 総会（エジンバラ，スコットランド）で修正
- 2002年 10月 WMA ワシントン総会（米国）で修正（第29項目明確化のため注釈追加）
- 2004年 10月 WMA 東京総会（日本）で修正（第30項目明確化のため注釈追加）
- 2008年 10月 WMA ソウル総会（韓国）で修正
- 2013年 10月 WMA フォルタレザ総会（ブラジル）で修正

## 序 文

1. 世界医師会（WMA）は、特定できる人間由来の試料およびデータの研究を含む、人間を対象とする医学研究の倫理的原則の文書としてヘルシンキ宣言を改訂してきた。本宣言は全体として解釈されることを意図したものであり、各項目は他のすべての関連項目を考慮に入れて適用されるべきである。
2. WMA の使命の一環として、本宣言は主に医師に対して表明されたものである。WMA は人間を対象とする医学研究に関与する医師以外の人々に対してもこれらの諸原則の採用を推奨する。

## 一 般 原 則

3. WMA ジュネーブ宣言は、「私の患者の健康を私の第一の関心事とする」ことを医師に義務づけ、また医の国際倫理綱領は、「医師は、医療の提供に際して、患者の最善の利益のために行動すべきである」と宣言している。
4. 医学研究の対象とされる人々を含め、患者の健康、福

利、権利を向上させ守ることは医師の責務である。医師の知識と良心はこの責務達成のために捧げられる。

5. 医学の進歩は人間を対象とする諸試験を要する研究に根本的に基づくものである。
6. 人間を対象とする医学研究の第一の目的は、疾病の原因、発症および影響を理解し、予防、診断ならびに治療（手法、手順、処置）を改善することである。最善と証明された治療であっても、安全性、有効性、効率性、利用可能性および質に関する研究を通じて継続的に評価されなければならない。
7. 医学研究はすべての被験者に対する配慮を推進かつ保証し、その健康と権利を擁護するための倫理基準に従わなければならない。
8. 医学研究の主な目的は新しい知識を得ることであるが、この目標は個々の被験者の権利および利益に優先することがあってはならない。
9. 被験者の生命、健康、尊厳、全体性、自己決定権、プライバシーおよび個人情報の秘密を守ることは医学研究に関与する医師の責務である。被験者の保護責任は常に医師またはその他の医療専門職にあり、被験者が同意を与えた場合でも、決してその被験者に移ることはない。
10. 医師は、適用される国際的規範および基準はもとより人間を対象とする研究に関する自国の倫理、法律、規制上の規範ならびに基準を考慮しなければならない。国内的または国際的倫理、法律、規制上の要請がこの宣言に示されている被験者の保護を減じあるいは排除してはならない。
11. 医学研究は、環境に害を及ぼす可能性を最小限にするよう実施されなければならない。
12. 人間を対象とする医学研究は、適切な倫理的および科学的な教育と訓練を受けた有資格者によってのみ行われなければならない。患者あるいは健康なボランティアを対象とする研究は、能力と十分な資格を有する医師またはその他の医療専門職の監督を必要とする。
13. 医学研究から除外されたグループには研究参加への機会が適切に提供されるべきである。
14. 臨床研究を行う医師は、研究が予防、診断または治療

する価値があるとして正当化できる範囲内にあり、かつその研究への参加が被験者としての患者の健康に悪影響を及ぼさないことを確信する十分な理由がある場合に限り、その患者を研究に参加させるべきである。

15. 研究参加の結果として損害を受けた被験者に対する適切な補償と治療が保証されなければならない。

### リスク、負担、利益

16. 医療および医学研究においてはほとんどの治療にリスクと負担が伴う。

人間を対象とする医学研究は、その目的の重要性が被験者のリスクおよび負担を上まわる場合に限り行うことができる。

17. 人間を対象とするすべての医学研究は、研究の対象となる個人とグループに対する予想し得るリスクおよび負担と被験者およびその研究によって影響を受けるその他の個人またはグループに対する予見可能な利益とを比較して、慎重な評価を先行させなければならない。

リスクを最小化させるための措置が講じられなければならない。リスクは研究者によって継続的に監視、評価、文書化されるべきである。

18. リスクが適切に評価されかつそのリスクを十分に管理できるとの確信を持たない限り、医師は人間を対象とする研究に関与してはならない。

潜在的な利益よりもリスクが高いと判断される場合または明確な成果の確証が得られた場合、医師は研究を継続、変更あるいは直ちに中止すべきかを判断しなければならない。

### 社会的弱者グループおよび個人

19. あるグループおよび個人は特に社会的な弱者であり不適切な扱いを受けたり副次的な被害を受けやすい。

すべての社会的弱者グループおよび個人は個別の状況を考慮したうえで保護を受けるべきである。

20. 研究がそのグループの健康上の必要性または優先事項に應えるものであり、かつその研究が社会的弱者でないグループを対象として実施できない場合に限り、社会的弱者グループを対象とする医学研究は正当化される。さらに、そのグループは研究から得られた知識、実践または治療からの恩恵を受けるべきである。

### 科学的要件と研究計画書

21. 人間を対象とする医学研究は、科学的文献の十分な知識、その他関連する情報源および適切な研究室での実験ならびに必要な応じた動物実験に基づき、一般に認知された科学的諸原則に従わなければならない。研究に使用される動物の福祉は尊重されなければならない。

22. 人間を対象とする各研究の計画と実施内容は、研究計画書に明示され正当化されていなければならない。

研究計画書には関連する倫理的配慮について明記され、また本宣言の原則がどのように取り入れられてきたかを示すべきである。計画書は、資金提供、スポンサー、研究組織との関わり、起こり得る利益相反、被験者に対する報奨ならびに研究参加の結果として損害を受けた被験者の治療および／または補償の条項に関する情報を含むべきである。

臨床試験の場合、この計画書には研究終了後条項についての必要な取り決めも記載されなければならない。

### 研究倫理委員会

23. 研究計画書は、検討、意見、指導および承認を得るため研究開始前に関連する研究倫理委員会に提出されなければならない。この委員会は、その機能において透明性がなければならず、研究者、スポンサーおよびその他いかなる不適切な影響も受けず適切に運営されなければならない。委員会は、適用される国際的規範および基準はもとより、研究が実施される国または複数の国の法律と規制も考慮しなければならない。しかし、そのために本宣言が示す被験者に対する保護を減じあるいは排除することを許してはならない。

研究倫理委員会は、進行中の研究をモニターする権利を持たなければならない。研究者は、委員会に対してモニタリング情報とくに重篤な有害事象に関する情報を提供しなければならない。委員会の審議と承認を得ずに計画書を修正してはならない。研究終了後、研究者は研究知見と結論の要約を含む最終報告書を委員会に提出しなければならない。

### プライバシーと秘密保持

24. 被験者のプライバシーおよび個人情報の秘密保持を厳守するためあらゆる予防策を講じなければならない。

## インフォームド・コンセント

25. 医学研究の被験者としてインフォームド・コンセントを与える能力がある個人の参加は自発的でなければならない。家族または地域社会のリーダーに助言を求めることが適切な場合もあるが、インフォームド・コンセントを与える能力がある個人を本人の自主的な承諾なしに研究に参加させてはならない。
26. インフォームド・コンセントを与える能力がある人間を対象とする医学研究において、それぞれの被験者候補は、目的、方法、資金源、起こり得る利益相反、研究者の施設内での所属、研究から期待される利益と予測されるリスクならびに起こり得る不快感、研究終了後条項、その他研究に関するすべての面について十分に説明されなければならない。被験者候補は、いつでも不利益を受けることなしに研究参加を拒否する権利または参加の同意を撤回する権利があることを知らされなければならない。個々の被験者候補の具体的情報の必要性のみならずその情報の伝達方法についても特別な配慮をしなければならない。
- 被験者候補がその情報を理解したことを確認したうえで、医師またはその他ふさわしい有資格者は被験者候補の自主的なインフォームド・コンセントをできれば書面で求めなければならない。同意が書面で表明されない場合、その書面によらない同意は立会人のもとで正式に文書化されなければならない。
- 医学研究のすべての被験者は、研究の全体的成果について報告を受ける権利を与えられるべきである。
27. 研究参加へのインフォームド・コンセントを求める場合、医師は、被験者候補が医師に依存した関係にあるかまたは同意を強要されているおそれがあるかについて特別な注意を払わなければならない。そのような状況下では、インフォームド・コンセントはこうした関係とは完全に独立したふさわしい有資格者によって求められなければならない。
28. インフォームド・コンセントを与える能力がない被験者候補のために、医師は、法的代理人からインフォームド・コンセントを求めなければならない。これらの人々は、被験者候補に代表されるグループの健康増進を試みるための研究、インフォームド・コンセントを与える能力がある人々では代替して行うことができない研究、そして最小限のリスクと負担のみ伴う研究以外には、被験者候補の利益になる可能性のないような研究対象に含まれてはならない。

29. インフォームド・コンセントを与える能力がないと思われる被験者候補が研究参加についての決定に賛意を表することができる場合、医師は法的代理人からの同意に加えて本人の賛意を求めなければならない。被験者候補の不賛意は、尊重されるべきである。
30. 例えば、意識不明の患者のように、肉体的、精神的にインフォームド・コンセントを与える能力がない被験者を対象とした研究は、インフォームド・コンセントを与えることを妨げる肉体的・精神的状態がその研究対象グループに固有の症状となっている場合に限って行うことができる。このような状況では、医師は法的代理人からインフォームド・コンセントを求めなければならない。そのような代理人が得られず研究延期もできない場合、この研究はインフォームド・コンセントを与えられない状態にある被験者を対象とする特別な理由が研究計画書で述べられ、研究倫理委員会で承認されていることを条件として、インフォームド・コンセントなしに開始することができる。研究に引き続き留まる同意はできるかぎり早く被験者または法的代理人から取得しなければならない。
31. 医師は、治療のどの部分が研究に関連しているかを患者に十分に説明しなければならない。患者の研究への参加拒否または研究離脱の決定が患者・医師関係に決して悪影響を及ぼしてはならない。
32. バイオバンクまたは類似の貯蔵場所に保管されている試料やデータに関する研究など、個人の特定が可能な人間由来の試料またはデータを使用する医学研究のためには、医師は収集・保存および／または再利用に対するインフォームド・コンセントを求めなければならない。このような研究に関しては、同意を得ることが不可能か実行できない例外的な場合があり得る。このような状況では研究倫理委員会の審議と承認を得た後に限り研究が行われ得る。

## プラセボの使用

33. 新しい治療の利益、リスク、負担および有効性は、以下の場合を除き、最善と証明されている治療と比較考量されなければならない：
- 証明された治療が存在しない場合、プラセボの使用または無治療が認められる；あるいは、説得力があり科学的に健全な方法論的理由に基づき、最善と証明されたものより効果が劣る治療、プラセボの使用または無治療が、その治療の有効性あるいは安全性を決定するために必要な場合、

そして、最善と証明されたものより効果が劣る治療、プラセボの使用または無治療の患者が、最善と証明された治療を受けなかった結果として重篤または回復不能な損害の付加的リスクを被ることがないと予想される場合、この選択肢の乱用を避けるため徹底した配慮がなされなければならない。

#### 研究終了後条項

34. 臨床試験の前に、スポンサー、研究者および主催国政府は、試験の中で有益であると証明された治療を未だ必要とするあらゆる研究参加者のために試験終了後のアクセスに関する条項を策定すべきである。また、この情報はインフォームド・コンセントの手続きの間に研究参加者に開示されなければならない。

#### 研究登録と結果の刊行および普及

35. 人間を対象とするすべての研究は、最初の被験者を募集する前に一般的にアクセス可能なデータベースに登録されなければならない。
36. すべての研究者、著者、スポンサー、編集者および発行者は、研究結果の刊行と普及に倫理的責務を負ってい

る。研究者は、人間を対象とする研究の結果を一般的に公表する義務を有し報告書の完全性と正確性に説明責任を負う。すべての当事者は、倫理的報告に関する容認されたガイドラインを遵守すべきである。否定的結果および結論に達しない結果も肯定的結果と同様に、刊行または他の方法で公表されなければならない。資金源、組織との関わりおよび利益相反が、刊行物の中には明示されなければならない。この宣言の原則に反する研究報告は、刊行のために受理されるべきではない。

#### 臨床における未実証の治療

37. 個々の患者の処置において証明された治療が存在しないかまたはその他の既知の治療が有効でなかった場合、患者または法的代理人からのインフォームド・コンセントがあり、専門家の助言を求めたうえ、医師の判断において、その治療で生命を救う、健康を回復するまたは苦痛を緩和する望みがあるのであれば、証明されていない治療を実施することができる。この治療は、引き続き安全性と有効性を評価するために計画された研究の対象とされるべきである。すべての事例において新しい情報は記録され、適切な場合には公表されなければならない。

# 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針

文部科学省

厚生労働省

平成26年12月22日

(平成29年2月28日一部改正)

## 目次

前文	51
第1章 総則	51
第1 目的及び基本方針	51
第2 用語の定義	51
第3 適用範囲	54
1 適用される研究	54
2 日本国外において実施される研究	54
第2章 研究者等の責務等	54
第4 研究者等の基本的責務	54
1 研究対象者等への配慮	54
2 研究の倫理的妥当性及び科学的合理性の確保等	55
3 教育・研修	55
第5 研究責任者の責務	55
1 研究計画書の作成及び研究者等に対する遵守徹底	55
2 研究の進捗状況の管理・監督及び有害事象等の把握・報告	55
3 研究実施後の研究対象者への対応	56
第6 研究機関の長の責務	56
1 研究に対する総括的な監督	56
2 研究の実施のための体制・規程の整備等	56
3 研究の許可等	56
4 大臣への報告等	56
第3章 研究計画書	56
第7 研究計画書に関する手続	56
1 研究計画書の作成・変更	56
2 倫理審査委員会への付議	57
3 研究機関の長による許可	57
4 研究終了後の対応	57
第8 研究計画書の記載事項	57
第9 研究に関する登録・公表	58
1 研究の概要及び結果の登録	58
2 研究結果の公表	58
第4章 倫理審査委員会	59
第10 倫理審査委員会の設置等	59

1	倫理審査委員会の設置の要件	59
2	倫理審査委員会の設置者の責務	59
第11	倫理審査委員会の役割・責務等	59
1	役割・責務	59
2	構成及び会議の成立要件等	59
3	迅速審査	60
4	他の研究機関が実施する研究に関する審査	60
第5章	インフォームド・コンセント等	60
第12	インフォームド・コンセントを受ける手続等	60
1	インフォームド・コンセントを受ける手続等	60
2	研究計画書の変更	63
3	説明事項	63
4	研究対象者等に通知し、又は公開すべき事項	64
5	同意を受ける時点で特定されなかった研究への試料・情報の利用の手続	64
6	研究対象者に緊急かつ明白な生命の危機が生じている状況における研究の取扱い	64
7	インフォームド・コンセントの手続等の簡略化	64
8	同意の撤回等	64
9	海外にある者へ試料・情報を提供する場合の取扱い	65
第13	代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける場合の手続等	65
1	代諾の要件等	65
2	インフォームド・アセントを得る場合の手続等	66
第6章	個人情報等及び匿名加工情報	66
第14	個人情報等に係る基本的責務	66
1	個人情報等の保護	66
2	適正な取得等	66
第15	安全管理	66
1	適正な取扱い	66
2	安全管理のための体制整備、監督等	67
第16	保有する個人情報の開示等	67
1	保有する個人情報に関する事項の公表等	67
2	開示等の求めへの対応	67
第17	匿名加工情報の取扱い	68
第7章	重篤な有害事象への対応	69
第18	重篤な有害事象への対応	69
1	研究者等の対応	69
2	研究責任者の対応	69
3	研究機関の長の対応	69
第8章	研究の信頼性確保	70
第19	利益相反の管理	70
第20	研究に係る試料及び情報等の保管	70
第21	モニタリング及び監査	70
第9章	その他	70
第22	施行期日	70
第23	見直し	71
附則		71



## 前文

人を対象とする医学系研究は、医学・健康科学及び医療技術の進展を通じて、国民の健康の保持増進並びに患者の傷病からの回復及び生活の質の向上に大きく貢献し、人類の健康及び福祉の発展に資する重要な基盤である。また、学問の自由の下に、研究者が適正かつ円滑に研究を行うことのできる制度的枠組みの構築が求められる。その一方で、人を対象とする医学系研究は、研究対象者の身体及び精神又は社会に対して大きな影響を与える場合もあり、様々な倫理的、法的又は社会的問題を招く可能性がある。研究対象者の福利は、科学的及び社会的な成果よりも優先されなければならない。また、人間の尊厳及び人権が守られなければならない。

このため文部科学省及び厚生労働省においては、研究者が人間の尊厳及び人権を守るとともに、適正かつ円滑に研究を行うことができるよう、日本国憲法、我が国における個人情報保護に関する諸法令及び世界医師会によるヘルシンキ宣言等に示された倫理規範も踏まえ、平成14年に文部科学省及び厚生労働省で制定し平成19年に全部改正した疫学研究に関する倫理指針(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)及び平成15年に厚生労働省で制定し平成20年に全部改正した臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)をそれぞれ定めてきた。しかしながら、近年、これらの指針の適用対象となる研究の多様化により、その目的・方法について共通するものが多くなってきているため、これらの指針の適用範囲が分かりにくいとの指摘等から、今般、これらの指針を統合した倫理指針を定めることとした。

この指針は、人を対象とする医学系研究の実施に当たり、全ての関係者が遵守すべき事項について定めたものである。また、研究機関の長は研究実施前に研究責任者が作成した研究計画書の適否を倫理審査委員会の意見を聴いて判断し、研究者等は研究機関の長の許可を受けた研究計画書に基づき研究を適正に実施することを求められる。この指針においては、人を対象とする医学系研究には多様な形態があることに配慮して、基本的な原則を示すにとどめている。研究者等、研究機関の長及び倫理審査委員会をはじめとする全ての関係者は高い倫理観を保持し、人を対象とする医学系研究が社会の理解及び信頼を得て社会的に有益なものとなるよう、これらの原則を踏まえつつ、適切に対応することが求められる。

## 第1章 総則

### 第1 目的及び基本方針

この指針は、人を対象とする医学系研究に携わる全ての関係者が遵守すべき事項を定めることにより、人間の尊厳及び人権が守られ、研究の適正な推進が図られるようにすることを目的とする。全ての関係者は、次に掲げる事項を基本方針としてこの指針を遵守し、研究を進めなければならない。

- ①社会的及び学術的な意義を有する研究の実施
- ②研究分野の特性に応じた科学的合理性の確保
- ③研究対象者への負担並びに予測されるリスク及び利益の総合的評価
- ④独立かつ公正な立場に立った倫理審査委員会による審査
- ⑤事前の十分な説明及び研究対象者の自由意思による同意
- ⑥社会的に弱い立場にある者への特別な配慮
- ⑦個人情報等の保護
- ⑧研究の質及び透明性の確保

### 第2 用語の定義

この指針における用語の定義は、次のとおりとする。

#### (1) 人を対象とする医学系研究

人(試料・情報を含む.)を対象として、傷病の成因(健康に関する様々な事象の頻度及び分布並びにそれらに影響を与える要因を含む.)及び病態の理解並びに傷病の予防方法並びに医療における診断方法及び治療方法の改善又は有効性の検証を通じて、国民の健康の保持増進又は患者の傷病からの回復若しくは生活の質の向上に資する知識を得ることを目的として実施される活動をいう。この指針において単に「研究」という場合、人を対象とする医学系研究のことをいう。

#### (2) 侵襲

研究目的で行われる、<sup>せん</sup>穿刺、切開、薬物投与、放射線照射、心的外傷に触れる質問等によって、研究対象者の身体又は精神に傷害又は負担が生じることをいう。

侵襲のうち、研究対象者の身体及び精神に生じる傷害及び負担が小さいものを「軽微な侵襲」という。

#### (3) 介入

研究目的で、人の健康に関する様々な事象に影響を与える要因(健康の保持増進につながる行動及び医療における傷病の予防、診断又は治療のための投薬、検査等を含む.)の有無又は程度を制御する行為(通常の診療を超える医療行為であって、研究目的で実施するものを含む.)をいう。

- (4) 人体から取得された試料  
血液、体液、組織、細胞、排泄物及びこれらから抽出したDNA等、人の体の一部であって研究に用いられるもの（死者に係るものを含む。）をいう。
- (5) 研究に用いられる情報  
研究対象者の診断及び治療を通じて得られた傷病名、投薬内容、検査又は測定の結果等、人の健康に関する情報その他の情報であって研究に用いられるもの（死者に係るものを含む。）をいう。
- (6) 試料・情報  
人体から取得された試料及び研究に用いられる情報をいう。
- (7) 既存試料・情報  
試料・情報のうち、次に掲げるいずれかに該当するものをいう。  
①研究計画書が作成されるまでに既に存在する試料・情報  
②研究計画書の作成以降に取得された試料・情報であって、取得の時点においては当該研究計画書の研究に用いられることを目的としていなかったもの
- (8) 研究対象者  
次に掲げるいずれかに該当する者（死者を含む。）をいう。  
①研究を実施される者（研究を実施されることを求められた者を含む。）  
②研究に用いられることとなる既存試料・情報を取得された者
- (9) 研究機関  
研究を実施する法人、行政機関及び個人事業主をいい、試料・情報の保管、統計処理その他の研究に関する業務の一部についてのみ委託を受けて行う場合を除く。
- (10) 共同研究機関  
研究計画書に基づいて研究を共同して実施する研究機関をいい、当該研究のために研究対象者から新たに試料・情報を取得し、他の研究機関に提供を行う機関を含む。
- (11) 試料・情報の収集・分譲を行う機関  
研究機関のうち、試料・情報を研究対象者から取得し、又は他の機関から提供を受けて保管し、反復継続して他の研究機関に提供を行う業務を実施する機関をいう。
- (12) 研究者等  
研究責任者その他の研究の実施（試料・情報の収集・分譲を行う機関における業務の実施を含む。）に携わる関係者をいい、研究機関以外において既存試料・情報の提供のみを行う者及び委託を受けて研究に関する業務の一部に従事する者を除く。
- (13) 研究責任者  
研究の実施に携わるとともに、所属する研究機関において当該研究に係る業務を統括する者をいう。
- (14) 研究機関の長  
研究を実施する法人の代表者、行政機関の長又は個人事業主をいう。
- (15) 倫理審査委員会  
研究の実施又は継続の適否その他研究に関し必要な事項について、倫理的及び科学的な観点から調査審議するために設置された合議制の機関をいう。
- (16) インフォームド・コンセント  
研究対象者又はその代諾者等が、実施又は継続されようとする研究に関して、当該研究の目的及び意義並びに方法、研究対象者に生じる負担、予測される結果（リスク及び利益を含む。）等について十分な説明を受け、それらを理解した上で自由意思に基づいて研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者に対し与える、当該研究（試料・情報の取扱いを含む。）を実施又は継続されることに関する同意をいう。
- (17) 代諾者  
生存する研究対象者の意思及び利益を代弁できると考えられる者であって、当該研究対象者がインフォームド・コンセントを与える能力を欠くと客観的に判断される場合に、当該研究対象者の代わりに、研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者に対してインフォームド・コンセントを与えることができる者をいう。
- (18) 代諾者等  
代諾者に加えて、研究対象者が死者である場合にインフォームド・コンセントを与えることができる者を含めたものをいう。
- (19) インフォームド・アセント  
インフォームド・コンセントを与える能力を欠くと客観的に判断される研究対象者が、実施又は継続されようとする研究に関して、その理解力に応じた分かりやすい言葉で説明を受け、当該研究を実施又は継続されることを理解し、賛意を表することをいう。
- (20) 個人情報  
生存する個人に関する情報であって、次に掲げるいずれかに該当するものをいう。  
①当該情報に含まれる氏名、生年月日その他の記述等（文書、図画若しくは電磁的記録（電磁的方式（電子

的方式、磁気的方式その他の知覚によっては認識することができない方式をいう。(22)②において同じ。)で作られる記録をいう。)に記載され、若しくは記録され、又は音声、動作その他の方法を用いて表された一切の事項(個人識別符号を除く。)をいう。以下同じ。)により特定の個人を識別することができるもの(他の情報と照合することができ、それにより特定の個人を識別することができることとなるものを含む。)

#### ②個人識別符号が含まれるもの

##### (21) 個人情報等

個人情報に加えて、個人に関する情報であって、死者について特定の個人を識別することができる情報を含めたものをいう。

##### (22) 個人識別符号

次に掲げるいずれかに該当する文字、番号、記号その他の符号のうち、個人情報の保護に関する法律施行令(平成15年政令第507号)その他の法令に定めるものをいう。

①特定の個人の身体の一部の特徴を電子計算機の用に供するために変換した文字、番号、記号その他の符号であって、当該特定の個人を識別することができるもの

②個人に提供される役務の利用若しくは個人に販売される商品の購入に関し割り当てられ、又は個人に発行されるカードその他の書類に記載され、若しくは電磁的方式により記録された文字、番号、記号その他の符号であって、その利用者若しくは購入者又は発行を受ける者ごとに異なるものとなるように割り当てられ、又は記載され、若しくは記録されることにより、特定の利用者若しくは購入者又は発行を受ける者を識別することができるもの

##### (23) 要配慮個人情報

本人の人種、信条、社会的身分、病歴、犯罪の経歴、犯罪により害を被った事実その他本人に対する不当な差別、偏見その他の不利益が生じないようにその取扱いに特に配慮を要する記述等が含まれる個人情報をいう。

##### (24) 匿名化

特定の個人(死者を含む。以下同じ。)を識別することができることとなる記述等(個人識別符号を含む。)の全部又は一部を削除すること(当該記述等の全部又は一部を当該個人と関わりのない記述等に置き換えることを含む。)をいう。

##### (25) 対応表

匿名化された情報から、必要な場合に研究対象者を識別することができるよう、当該研究対象者と匿名化の際に置き換えられた記述等とを照合することができるようにする表その他これに類するものをいう。

##### (26) 匿名加工情報

次に掲げる個人情報(個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第57号。以下「個人情報保護法」という。)に規定する個人情報に限る。以下この(26)において同じ。)の区分に応じてそれぞれ次に定める措置を講じて特定の個人を識別することができないよう個人情報を加工して得られる個人に関する情報であって、当該個人情報を復元することができないようにしたもの(同法の規定の適用を受けるものに限る。)をいう。

①(20)①に該当する個人情報 当該個人情報に含まれる記述等の一部を削除すること(当該一部の記述等を復元することのできる規則性を有しない方法により他の記述等に置き換えることを含む。)

②(20)②に該当する個人情報 当該個人情報に含まれる個人識別符号の全部を削除すること(当該個人識別符号を復元することのできる規則性を有しない方法により他の記述等に置き換えることを含む。)

##### (27) 非識別加工情報

次に掲げる個人情報(行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第58号。以下「行政機関個人情報保護法」という。)又は独立行政法人等の保有する個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第59号。以下「独立行政法人等個人情報保護法」という。)の規定により非識別加工情報に係る加工の対象とされている個人情報に限る。以下この(27)において同じ。)の区分に応じてそれぞれ次に定める措置を講じて特定の個人を識別することができないよう個人情報を加工して得られる個人に関する情報であって、当該個人情報を復元することができないようにしたもの(行政機関個人情報保護法又は独立行政法人等個人情報保護法の規定の適用を受けるものに限る。)をいう。

①(20)①に該当する個人情報 当該個人情報に含まれる記述等の一部を削除すること(当該一部の記述等を復元することのできる規則性を有しない方法により他の記述等に置き換えることを含む。)

②(20)②に該当する個人情報 当該個人情報に含まれる個人識別符号の全部を削除すること(当該個人識別符号を復元することのできる規則性を有しない方

法により他の記述等に置き換えることを含む.)。

#### (28) 有害事象

実施された研究との因果関係の有無を問わず、研究対象者に生じた全ての好ましくない又は意図しない傷病若しくはその徴候（臨床検査値の異常を含む。）をいう。

#### (29) 重篤な有害事象

有害事象のうち、次に掲げるいずれかに該当するものをいう。

- ① 死に至るもの
- ② 生命を脅かすもの
- ③ 治療のための入院又は入院期間の延長が必要となるもの
- ④ 永続的又は顕著な障害・機能不全に陥るもの
- ⑤ 子孫に先天異常を来すもの

#### (30) 予測できない重篤な有害事象

重篤な有害事象のうち、研究計画書、インフォームド・コンセントの説明文書等において記載されていないもの又は記載されていてもその性質若しくは重症度が記載内容と一致しないものをいう。

#### (31) モニタリング

研究が適正に行われることを確保するため、研究がどの程度進捗しているか並びにこの指針及び研究計画書に従って行われているかについて、研究責任者が指定した者に行わせる調査をいう。

#### (32) 監査

研究結果の信頼性を確保するため、研究がこの指針及び研究計画書に従って行われたかについて、研究責任者が指定した者に行わせる調査をいう。

### 第3 適用範囲

#### 1 適用される研究

この指針は、我が国の研究機関により実施され、又は日本国内において実施される人を対象とする医学系研究を対象とする。ただし、他の指針の適用範囲に含まれる研究にあっては、当該指針に規定されていない事項についてはこの指針の規定により行うものとする。

また、次に掲げるいずれかに該当する研究は、この指針（既に作成されている匿名加工情報又は非識別加工情報（個人情報保護法に規定する大学その他の学術研究を目的とする機関若しくは団体又はそれらに属する者により学術研究の用に供する目的で用いられるものに限る。）のみを用いる研究にあっては、第17を除く。）の対象としない。

ア 法令の規定により実施される研究

イ 法令の定める基準の適用範囲に含まれる研究

ウ 試料・情報のうち、次に掲げるもののみを用いる研究

- ① 既に学術的な価値が定まり、研究用として広く利用され、かつ、一般に入手可能な試料・情報
- ② 既に匿名化されている情報（特定の個人を識別することができないものであって、対応表が作成されていないものに限る。）
- ③ 既に作成されている匿名加工情報又は非識別加工情報

#### 2 日本国外において実施される研究

(1) 我が国の研究機関が日本国外において研究を実施する場合（海外の研究機関と共同して研究を実施する場合を含む。）は、この指針に従うとともに、実施地の法令、指針等の基準を遵守しなければならない。ただし、この指針の規定と比較して実施地の法令、指針等の基準の規定が厳格な場合には、この指針の規定に代えて当該実施地の法令、指針等の基準の規定により研究を実施するものとする。

(2) この指針の規定が日本国外の実施地における法令、指針等の基準の規定より厳格であり、この指針の規定により研究を実施することが困難な場合であって、次に掲げる事項が研究計画書に記載され、当該研究の実施について倫理審査委員会の意見を聴いて我が国の研究機関の長が許可したときには、この指針の規定に代えて当該実施地の法令、指針等の基準の規定により研究を実施することができるものとする。

- ① インフォームド・コンセントについて適切な措置が講じられる旨
- ② 研究の実施に伴って取得される個人情報等の保護について適切な措置が講じられる旨

### 第2章 研究者等の責務等

#### 第4 研究者等の基本的責務

##### 1 研究対象者等への配慮

- (1) 研究者等は、研究対象者の生命、健康及び人権を尊重して、研究を実施しなければならない。
- (2) 研究者等は、研究を実施するに当たっては、原則としてあらかじめインフォームド・コンセントを受けなければならない。
- (3) 研究者等は、研究対象者又はその代諾者等（以下「研究対象者等」という。）及びその関係者からの相談、問合せ、苦情等（以下「相談等」という。）に適切かつ迅速に対応しなければならない。
- (4) 研究者等は、研究の実施に携わる上で知り得た情

報を正当な理由なく漏らしてはならない。研究の実施に携わらなくなった後も、同様とする。

- (5) 研究者等は、研究に関連する情報の漏えい等、研究対象者等の人権を尊重する観点又は研究の実施上の観点から重大な懸念が生じた場合には、速やかに研究機関の長及び研究責任者に報告しなければならない。

## 2 研究の倫理的妥当性及び科学的合理性の確保等

- (1) 研究者等は、法令、指針等を遵守し、倫理審査委員会の審査及び研究機関の長の許可を受けた研究計画書に従って、適正に研究を実施しなければならない。
- (2) 研究者等は、研究の倫理的妥当性若しくは科学的合理性を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報を得た場合((3)に該当する場合を除く.)には、速やかに研究責任者に報告しなければならない。
- (3) 研究者等は、研究の実施の適正性若しくは研究結果の信頼を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報を得た場合には、速やかに研究責任者又は研究機関の長に報告しなければならない。

## 3 教育・研修

研究者等は、研究の実施に先立ち、研究に関する倫理並びに当該研究の実施に必要な知識及び技術に関する教育・研修を受けなければならない。また、研究期間中も適宜継続して、教育・研修を受けなければならない。

## 第5 研究責任者の責務

### 1 研究計画書の作成及び研究者等に対する遵守徹底

- (1) 研究責任者は、研究の実施に先立ち、適切な研究計画書を作成しなければならない。研究計画書を変更するときも同様とする。
- (2) 研究責任者は、研究の倫理的妥当性及び科学的合理性が確保されるよう、研究計画書を作成しなければならない。また、研究計画書の作成に当たって、研究対象者への負担並びに予測されるリスク及び利益を総合的に評価するとともに、負担及びリスクを最小化する対策を講じなければならない。
- (3) 研究責任者は、侵襲（軽微な侵襲を除く.）を伴う研究であって通常の診療を超える医療行為を伴うものを実施しようとする場合には、当該研究に関連して研究対象者に生じた健康被害に対する補償を行うために、あらかじめ、保険への加入その他の必要な措置を適切に講じなければならない。
- (4) 研究責任者は、第9の規定により、研究の概要そ

他の研究に関する情報を適切に登録するとともに、研究の結果については、これを公表しなければならない。

- (5) 研究責任者は、研究計画書に従って研究が適正に実施され、その結果の信頼性が確保されるよう、当該研究の実施に携わる研究者をはじめとする関係者を指導・管理しなければならない。

## 2 研究の進捗状況の管理・監督及び有害事象等の把握・報告

- (1) 研究責任者は、研究の実施に係る必要な情報を収集するなど、研究の適正な実施及び研究結果の信頼性の確保に努めなければならない。
- (2) 研究責任者は、研究の倫理的妥当性若しくは科学的合理性を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報であって研究の継続に影響を与えると考えられるものを得た場合（(3)に該当する場合を除く.）には、遅滞なく、研究機関の長に対して報告し、必要に応じて、研究を停止し、若しくは中止し、又は研究計画書を変更しなければならない。
- (3) 研究責任者は、研究の実施の適正性若しくは研究結果の信頼を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報を得た場合には、速やかに研究機関の長に報告し、必要に応じて、研究を停止し、若しくは中止し、又は研究計画書を変更しなければならない。
- (4) 研究責任者は、研究の実施において、当該研究により期待される利益よりも予測されるリスクが高いと判断される場合又は当該研究により十分な成果が得られた若しくは十分な成果が得られないと判断される場合には、当該研究を中止しなければならない。
- (5) 研究責任者は、侵襲を伴う研究の実施において重篤な有害事象の発生を知った場合には、速やかに、必要な措置を講じなければならない。
- (6) 研究責任者は、研究計画書に定めるところにより、研究の進捗状況及び研究の実施に伴う有害事象の発生状況を研究機関の長に報告しなければならない。
- (7) 研究責任者は、研究を終了（中止の場合を含む。以下同じ.）したときは、研究機関の長に必要な事項について報告しなければならない。
- (8) 研究責任者は、他の研究機関と共同で研究を実施する場合には、共同研究機関の研究責任者に対し、当該研究に関連する必要な情報を共有しなければならない。

### 3 研究実施後の研究対象者への対応

研究責任者は、通常の診療を超える医療行為を伴う研究を実施した場合には、当該研究実施後においても、研究対象者が当該研究の結果により得られた最善の予防、診断及び治療を受けることができるよう努めなければならない。

## 第6 研究機関の長の責務

### 1 研究に対する総括的な監督

- (1) 研究機関の長は、実施を許可した研究について、適正に実施されるよう必要な監督を行うとともに、最終的な責任を負うものとする。
- (2) 研究機関の長は、研究の実施に携わる関係者に、研究対象者の生命、健康及び人権を尊重して研究を実施することを周知徹底しなければならない。
- (3) 研究機関の長は、その業務上知り得た情報を正当な理由なく漏らしてはならない。その業務に従事しなくなった後も、同様とする。
- (4) 研究機関の長は、研究に関する業務の一部を委託する場合には、委託を受けた者が遵守すべき事項について、文書による契約を締結するとともに、委託を受けた者に対する必要かつ適切な監督を行わなければならない。

### 2 研究の実施のための体制・規程の整備等

- (1) 研究機関の長は、研究を適正に実施するために必要な体制・規程を整備しなければならない。
- (2) 研究機関の長は、当該研究機関の実施する研究に関連して研究対象者に健康被害が生じた場合、これに対する補償その他の必要な措置が適切に講じられることを確保しなければならない。
- (3) 研究機関の長は、研究結果等、研究に関する情報が適切に公表されることを確保しなければならない。
- (4) 研究機関の長は、当該研究機関における研究がこの指針に適合していることについて、必要に応じ、自ら点検及び評価を行い、その結果に基づき適切な対応をとらなければならない。
- (5) 研究機関の長は、研究に関する倫理並びに研究の実施に必要な知識及び技術に関する教育・研修を当該研究機関の研究者等が受けることを確保するための措置を講じなければならない。また、自らもこれらの教育・研修を受けなければならない。
- (6) 研究機関の長は、当該研究機関において定められた規程により、この指針に定める権限又は事務を当該研究機関内の適当な者に委任することができる。

### 3 研究の許可等

- (1) 研究機関の長は、研究責任者から研究の実施又は

研究計画書の変更の許可を求められたときは、倫理審査委員会に意見を求め、その意見を尊重し、当該許可又は不許可その他研究に関し必要な措置について決定しなければならない。

- (2) 研究機関の長は、研究責任者をはじめとする研究者等から研究の継続に影響を与えられられる事実又は情報について報告を受けた場合には、必要に応じて倫理審査委員会に意見を求め、その意見を尊重するとともに、必要に応じて速やかに、研究の停止、原因の究明等、適切な対応をとらなければならない。
- (3) 研究機関の長は、倫理審査委員会が行う調査に協力しなければならない。
- (4) 研究機関の長は、研究の実施の適正性若しくは研究結果の信頼を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報について報告を受けた場合には、速やかに必要な措置を講じなければならない。
- (5) 研究機関の長は、研究責任者から研究の終了について報告を受けたときは、当該研究に関する審査を行った倫理審査委員会に必要な事項について報告しなければならない。

### 4 大臣への報告等

- (1) 研究機関の長は、当該研究機関が実施している又は過去に実施した研究について、この指針に適合していないことを知った場合には、速やかに倫理審査委員会の意見を聴き、必要な対応を行うとともに、不適合の程度が重大であるときは、その対応の状況・結果を厚生労働大臣（大学等にあつては厚生労働大臣及び文部科学大臣。以下単に「大臣」という。）に報告し、公表しなければならない。
- (2) 研究機関の長は、当該研究機関における研究がこの指針に適合していることについて、大臣又はその委託を受けた者（以下「大臣等」という。）が実施する調査に協力しなければならない。
- (3) 研究機関の長は、侵襲（軽微な侵襲を除く。）を伴う研究であつて介入を行うものの実施において、予測できない重篤な有害事象が発生した場合であつて当該研究との直接の因果関係が否定できないときは、3 (2) の対応の状況・結果を速やかに厚生労働大臣に報告し、公表しなければならない。

## 第3章 研究計画書

### 第7 研究計画書に関する手続

#### 1 研究計画書の作成・変更

- (1) 研究責任者は、研究を実施（研究計画書を変更し

て実施する場合を含む。以下同じ。)しようとするときは、あらかじめ研究計画書を作成し、研究機関の長の許可を受けなければならない。

- (2) 研究責任者は、他の研究機関と共同して研究を実施しようとする場合には、各共同研究機関の研究責任者の役割及び責任を明確にした上で研究計画書を作成しなければならない。
- (3) 研究責任者は、当該研究責任者の所属する研究機関における研究に関する業務の一部について委託しようとする場合には、当該委託業務の内容を定めた上で研究計画書を作成しなければならない。

## 2 倫理審査委員会への付議

- (1) 研究機関の長は、研究責任者から、当該研究機関における研究の実施の許可を求められたときは、当該研究の実施の適否について、倫理審査委員会の意見を聴かなければならない。ただし、研究機関の長は、公衆衛生上の危害の発生又は拡大を防止するため緊急に研究を実施する必要があると判断する場合には、倫理審査委員会の意見を聴く前に許可を決定することができる。この場合において、研究機関の長は、許可後遅滞なく倫理審査委員会の意見を聴くものとし、倫理審査委員会が研究の停止若しくは中止又は研究計画書の変更をすべきである旨の意見を述べたときは、当該意見を尊重し、研究責任者に対し、研究を停止させ、若しくは中止させ、又は研究計画書を変更させるなど適切な対応をとらなければならない。
- (2) 研究機関の長は、他の研究機関と共同して実施する研究について倫理審査委員会の意見を聴く場合には、共同研究機関における研究の実施の許可、他の倫理審査委員会における審査結果及び当該研究の進捗に関する状況等の審査に必要な情報についても倫理審査委員会へ提供しなければならない。
- (3) 研究機関の長は、他の研究機関と共同して実施する研究に係る研究計画書について、一つの倫理審査委員会による一括した審査を求めることができる。

## 3 研究機関の長による許可

研究機関の長は、倫理審査委員会の意見を尊重し、研究の実施の許可又は不許可その他研究について必要な措置を決定しなければならない。この場合において、研究機関の長は、倫理審査委員会が研究の実施について不相当である旨の意見を述べたときには、当該研究の実施を許可してはならない。

## 4 研究終了後の対応

- (1) 研究責任者は、研究を終了したときは、その旨及

び研究の結果概要を文書により遅滞なく研究機関の長に報告しなければならない。

- (2) 研究機関の長は、研究責任者から(1)の規定による報告を受けたときは、当該研究に関する審査を行った倫理審査委員会に、研究終了の旨及び研究の結果概要を文書により報告しなければならない。

## 第8 研究計画書の記載事項

- (1) 研究計画書((2)の場合を除く。)に記載すべき事項は、原則として以下のとおりとする。ただし、倫理審査委員会の意見を受けて研究機関の長が許可した事項については、この限りでない。

- ①研究の名称
- ②研究の実施体制(研究機関の名称及び研究者等の氏名を含む。)
- ③研究の目的及び意義
- ④研究の方法及び期間
- ⑤研究対象者の選定方針
- ⑥研究の科学的合理性の根拠
- ⑦第12の規定によるインフォームド・コンセントを受ける手続等(インフォームド・コンセントを受ける場合には、同規定による説明及び同意に関する事項を含む。)
- ⑧個人情報等の取扱い(匿名化する場合にはその方法、匿名加工情報又は非識別加工情報を作成する場合にはその旨を含む。)
- ⑨研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益、これらの総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する対策
- ⑩試料・情報(研究に用いられる情報に係る資料を含む。)の保管及び廃棄の方法
- ⑪研究機関の長への報告内容及び方法
- ⑫研究の資金源等、研究機関の研究に係る利益相反及び個人の収益等、研究者等の研究に係る利益相反に関する状況
- ⑬研究に関する情報公開の方法
- ⑭研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応
- ⑮代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける場合には、第13の規定による手続(第12及び第13の規定による代諾者等の選定方針並びに説明及び同意に関する事項を含む。)
- ⑯インフォームド・アセントを得る場合には、第13の規定による手続(説明に関する事項を含む。)
- ⑰第12の6の規定による研究を実施しようとする場合には、同規定に掲げる要件の全てを満たしていることについて判断する方法

- ⑬研究対象者等に経済的負担又は謝礼がある場合には、その旨及びその内容
  - ⑭侵襲（軽微な侵襲を除く.）を伴う研究の場合には、重篤な有害事象が発生した際の対応
  - ⑮侵襲を伴う研究の場合には、当該研究によって生じた健康被害に対する補償の有無及びその内容
  - ⑯通常の診療を超える医療行為を伴う研究の場合には、研究対象者への研究実施後における医療の提供に関する対応
  - ⑰研究の実施に伴い、研究対象者の健康、子孫に受け継がれ得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得られる可能性がある場合には、研究対象者に係る研究結果（偶発的所見を含む.）の取扱い
  - ⑱研究に関する業務の一部を委託する場合には、当該業務内容及び委託先の監督方法
  - ⑲研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供される可能性がある場合には、その旨と同意を受ける時点において想定される内容
  - ⑳第 21 の規定によるモニタリング及び監査を実施する場合には、その実施体制及び実施手順
- (2) 試料・情報を研究対象者から取得し、又は他の機関から提供を受けて保管し、反復継続して他の研究機関に提供を行う業務（以下「収集・分譲」という.）を実施する場合の研究計画書に記載すべき事項は、原則として以下のとおりとする。ただし、倫理審査委員会の意見を受けて研究機関の長が許可した事項については、この限りでない。
- ①試料・情報の収集・分譲の実施体制（試料・情報の収集・分譲を行う機関の名称及び研究者等の氏名を含む.）
  - ②試料・情報の収集・分譲の目的及び意義
  - ③試料・情報の収集・分譲の方法及び期間
  - ④収集・分譲を行う試料・情報の種類
  - ⑤第 12 の規定によるインフォームド・コンセントを受けるとする等（インフォームド・コンセントを受けるとする場合には、同規定による説明及び同意に関する事項を含む.）
  - ⑥個人情報等の取扱い（匿名化する場合にはその方法、匿名加工情報又は非識別加工情報を作成する場合にはその旨を含む.）
  - ⑦研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益、これらの総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する対策

- ⑧試料・情報の保管及び品質管理の方法
- ⑨収集・分譲終了後の試料・情報の取扱い
- ⑩試料・情報の収集・分譲の資金源等、試料・情報の収集・分譲を行う機関の収集・分譲に係る利益相反及び個人の収益等、研究者等の収集・分譲に係る利益相反に関する状況
- ⑪研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応
- ⑫研究対象者等に経済的負担又は謝礼がある場合には、その旨及びその内容
- ⑬研究の実施に伴い、研究対象者の健康、子孫に受け継がれ得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得られる可能性がある場合には、研究対象者に係る研究結果（偶発的所見を含む.）の取扱い
- ⑭研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために他の研究機関に提供される可能性がある場合には、その旨と同意を受ける時点において想定される内容

## 第 9 研究に関する登録・公表

### 1 研究の概要及び結果の登録

研究責任者は、介入を行う研究について、国立大学附属病院長会議、一般財団法人日本医薬情報センター又は公益社団法人日本医師会が設置している公開データベースに、当該研究の概要をその実施に先立って登録し、研究計画書の変更及び研究の進捗に応じて適宜更新しなければならない。また、研究を終了したときは、遅滞なく、当該研究の結果を登録しなければならない。ただし、研究対象者等及びその関係者の人権又は研究者等及びその関係者の権利利益の保護のため非公開とすることが必要な内容として、倫理審査委員会の意見を受けて研究機関の長が許可したものについては、この限りでない。

### 2 研究結果の公表

研究責任者は、研究を終了したときは、遅滞なく、研究対象者等及びその関係者の人権又は研究者等及びその関係者の権利利益の保護のために必要な措置を講じた上で、当該研究の結果を公表しなければならない。また、侵襲（軽微な侵襲を除く.）を伴う研究であって介入を行うものについて、結果の最終の公表を行ったときは、遅滞なく研究機関の長へ報告しなければならない。



## 第4章 倫理審査委員会

### 第10 倫理審査委員会の設置等

#### 1 倫理審査委員会の設置の要件

倫理審査委員会の設置者は、次に掲げる要件を満たしていなければならない。

- ①審査に関する事務を的確に行う能力があること。
- ②倫理審査委員会を継続的に運営する能力があること。
- ③倫理審査委員会を中立的かつ公正に運営する能力があること。

#### 2 倫理審査委員会の設置者の責務

- (1) 倫理審査委員会の設置者は、当該倫理審査委員会の組織及び運営に関する規程を定め、当該規程により、倫理審査委員会の委員及びその事務に従事する者に業務を行わせなければならない。
- (2) 倫理審査委員会の設置者は、当該倫理審査委員会が審査を行った研究に関する審査資料を当該研究の終了について報告される日までの期間（侵襲（軽微な侵襲を除く.）を伴う研究であって介入を行うものに関する審査資料にあつては、当該研究の終了について報告された日から5年を経過した日までの期間）、適切に保管しなければならない。
- (3) 倫理審査委員会の設置者は、当該倫理審査委員会の運営を開始するに当たって、倫理審査委員会の組織及び運営に関する規程並びに委員名簿を倫理審査委員会報告システムにおいて公表しなければならない。

また、倫理審査委員会の設置者は、年1回以上、当該倫理審査委員会の開催状況及び審査の概要について、倫理審査委員会報告システムにおいて公表しなければならない。ただし、審査の概要のうち、研究対象者等及びその関係者の人権又は研究者等及びその関係者の権利利益の保護のため非公開とすることが必要な内容として倫理審査委員会が判断したものについては、この限りでない。

- (4) 倫理審査委員会の設置者は、当該倫理審査委員会の委員及びその事務に従事する者が審査及び関連する業務に関する教育・研修を受けることを確保するため必要な措置を講じなければならない。
- (5) 倫理審査委員会の設置者は、当該倫理審査委員会の組織及び運営がこの指針に適合していることについて、大臣等が実施する調査に協力しなければならない。

## 第11 倫理審査委員会の役割・責務等

### 1 役割・責務

- (1) 倫理審査委員会は、研究機関の長から研究の実施の適否等について意見を求められたときは、この指針に基づき、倫理的観点及び科学的観点から、研究機関及び研究者等の利益相反に関する情報も含めて中立的かつ公正に審査を行い、文書により意見を述べなければならない。
- (2) 倫理審査委員会は、(1)の規定により審査を行った研究について、倫理的観点及び科学的観点から必要な調査を行い、研究機関の長に対して、研究計画書の変更、研究の中止その他当該研究に関し必要な意見を述べることができる。
- (3) 倫理審査委員会は、(1)の規定により審査を行った研究のうち、侵襲（軽微な侵襲を除く.）を伴う研究であつて介入を行うものについて、当該研究の実施の適正性及び研究結果の信頼性を確保するために必要な調査を行い、研究機関の長に対して、研究計画書の変更、研究の中止その他当該研究に関し必要な意見を述べることができる。
- (4) 倫理審査委員会の委員及びその事務に従事する者は、その業務上知り得た情報を正当な理由なく漏らしてはならない。その業務に従事しなくなった後も同様とする。
- (5) 倫理審査委員会の委員及びその事務に従事する者は、(1)の規定により審査を行った研究に関連する情報の漏えい等、研究対象者等の人権を尊重する観点並びに当該研究の実施上の観点及び審査の中立性若しくは公正性の観点から重大な懸念が生じた場合には、速やかに倫理審査委員会の設置者に報告しなければならない。
- (6) 倫理審査委員会の委員及びその事務に従事する者は、審査及び関連する業務に先立ち、倫理的観点及び科学的観点からの審査等に必要な知識を習得するための教育・研修を受けなければならない。また、その後も、適宜継続して教育・研修を受けなければならない。

### 2 構成及び会議の成立要件等

- (1) 倫理審査委員会の構成は、研究計画書の審査等の業務を適切に実施できるよう、次に掲げる要件の全てを満たさなければならない。①から③までに掲げる者については、それぞれ他を同時に兼ねることはできない。会議の成立についても同様の要件とする。
  - ①医学・医療の専門家等、自然科学の有識者が含まれていること。

- ②倫理学・法律学の専門家等，人文・社会科学の有識者が含まれていること。
- ③研究対象者の観点も含めて一般の立場から意見を述べるのできる者が含まれていること。
- ④倫理審査委員会の設置者の所属機関に所属しない者が複数含まれていること。
- ⑤男女両性で構成されていること。
- ⑥5名以上であること。

(2) 審査の対象となる研究の実施に携わる研究者等は，倫理審査委員会の審議及び意見の決定に同席してはならない。ただし，当該倫理審査委員会の求めに応じて，その会議に出席し，当該研究に関する説明を行うことはできる。

(3) 審査を依頼した研究機関の長は，倫理審査委員会の審議及び意見の決定に参加してはならない。ただし，倫理審査委員会における当該審査の内容を把握するために必要な場合には，当該倫理審査委員会の同意を得た上で，その会議に同席することができる。

(4) 倫理審査委員会は，審査の対象，内容等に応じて有識者に意見を求めることができる。

(5) 倫理審査委員会は，特別な配慮を必要とする者を研究対象者とする研究計画書の審査を行い，意見を述べる際は，必要に応じてこれらの者について識見を有する者に意見を求めなければならない。

(6) 倫理審査委員会の意見は，全会一致をもって決定するよう努めなければならない。

### 3 迅速審査

倫理審査委員会は，次に掲げるいずれかに該当する審査について，当該倫理審査委員会が指名する委員による審査（以下「迅速審査」という。）を行い，意見を述べるることができる。迅速審査の結果は倫理審査委員会の意見として取り扱うものとし，当該審査結果は全ての委員に報告されなければならない。

①他の研究機関と共同して実施される研究であって，既に当該研究の全体について共同研究機関において倫理審査委員会の審査を受け，その実施について適当である旨の意見を得ている場合の審査

②研究計画書の軽微な変更に関する審査

③侵襲を伴わない研究であって介入を行わないものに関する審査

④軽微な侵襲を伴う研究であって介入を行わないものに関する審査

### 4 他の研究機関が実施する研究に関する審査

(1) 研究機関の長が，自らの研究機関以外に設置された倫理審査委員会に審査を依頼する場合には，当該

倫理審査委員会は，研究の実施体制について十分把握した上で審査を行い，意見を述べなければならない。

(2) 倫理審査委員会は，他の研究機関が実施する研究について審査を行った後，継続して当該研究機関の長から当該研究に関する審査を依頼された場合には，審査を行い，意見を述べなければならない。

## 第5章 インフォームド・コンセント等

### 第12 インフォームド・コンセントを受ける手続等

#### 1 インフォームド・コンセントを受ける手続等

研究者等が研究を実施しようとするとき，又は既存試料・情報の提供を行う者が既存試料・情報を提供しようとするときは，研究機関の長の許可を受けた研究計画書に定めるところにより，それぞれ次の(1)から(4)までの手続に従って，原則としてあらかじめインフォームド・コンセントを受けなければならない。ただし，法令の規定により既存試料・情報を提供する場合又は既存試料・情報の提供を受ける場合については，この限りでない。

(1) 新たに試料・情報を取得して研究を実施しようとする場合のインフォームド・コンセント

研究者等は，それぞれ次のア又はイの手続に従って研究を実施しなければならない。この場合において，研究に用いられる試料・情報を共同研究機関へ提供する場合は，当該試料・情報の提供に関する記録を作成しなければならない。

研究責任者は，研究者等が作成した当該記録を当該試料・情報の提供をした日から3年を経過した日までの期間保管しなければならない。

また，他の研究機関から研究に用いられる試料・情報の提供を受ける場合は，研究者等は，当該試料・情報の提供を行う者によって適切な手続がとられていること等を確認するとともに，当該試料・情報の提供に関する記録を作成しなければならない。

研究責任者は，研究者等が作成した当該記録を当該研究の終了について報告された日から5年を経過した日までの期間保管しなければならない。

#### ア 侵襲を伴う研究

研究者等は，3の規定による説明事項を記載した文書により，インフォームド・コンセントを受けなければならない。

#### イ 侵襲を伴わない研究

##### (ア) 介入を行う研究

研究者等は，必ずしも文書によりインフォー

ムド・コンセントを受けることを要しないが、文書によりインフォームド・コンセントを受けない場合には、3の規定による説明事項について口頭によりインフォームド・コンセントを受け、説明の方法及び内容並びに受けた同意の内容に関する記録を作成しなければならない。

(イ) 介入を行わない研究

①人体から取得された試料を用いる研究

研究者等は、必ずしも文書によりインフォームド・コンセントを受けることを要しないが、文書によりインフォームド・コンセントを受けない場合には、3の規定による説明事項について口頭によりインフォームド・コンセントを受け、説明の方法及び内容並びに受けた同意の内容に関する記録を作成しなければならない。

②人体から取得された試料を用いない研究

(i) 要配慮個人情報取得して研究を実施しようとする場合

研究者等は、必ずしもインフォームド・コンセントを受けることを要しないが、インフォームド・コンセントを受けない場合には、原則として研究対象者等の適切な同意を受けなければならない。

ただし、適切な同意を受けることが困難な場合であって、学術研究の用に供するときその他の研究に用いられる情報を取得して研究を実施しようとすることに特段の理由があるときは、当該研究の実施について、4①から⑥までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開し、研究が実施又は継続されることについて、研究対象者等が拒否できる機会を保障することによって、取得した要配慮個人情報を利用することができる。

(ii) (i) 以外の場合

研究者等は、必ずしもインフォームド・コンセントを受けることを要しないが、インフォームド・コンセントを受けない場合には、当該研究の実施について、4①から⑥までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開し、研究が実施又は継続されることについて、研究対象者等が拒否できる機会を保障しなければならない(ただし、共同研究機関へ提供する場合は、学術研究の用に

供するときその他の研究に用いられる情報を取得して共同研究機関へ提供することに特段の理由があるときに限る.)。

(2) 自らの研究機関において保有している既存試料・情報を用いて研究を実施しようとする場合のインフォームド・コンセント

ア 人体から取得された試料を用いる研究

研究者等は、必ずしも文書によりインフォームド・コンセントを受けることを要しないが、文書によりインフォームド・コンセントを受けない場合には、3の規定による説明事項について口頭によりインフォームド・コンセントを受け、説明の方法及び内容並びに受けた同意の内容に関する記録を作成しなければならない。ただし、これらの手続を行うことが困難な場合であって次の(ア)から(ウ)までのいずれかに該当するときには、当該手続を行うことなく、自らの研究機関において保有している既存試料・情報を利用することができる。

(ア) 当該既存試料・情報が次に掲げるいずれかに該当していること。

①匿名化されているもの(特定の個人を識別することができないものに限る。)であること。

②匿名加工情報又は非識別加工情報であること。

(イ) 当該既存試料・情報が(ア)に該当しない場合であって、その取得時に当該研究における利用が明示されていない別の研究についての研究対象者等の同意のみが与えられているときには、次に掲げる要件を満たしていること。

①当該研究の実施について、4①から④までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開していること。

②その同意が当該研究の目的と相当の関連性があると合理的に認められること。

(ウ) 当該既存試料・情報が(ア)又は(イ)のいずれにも該当しない場合であって、社会的に重要性の高い研究に当該既存試料・情報が利用されるときにおいて、次に掲げる要件の全てを満たしていること。

①当該研究の実施について、4①から⑥までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開していること。

②研究が実施されることについて、原則として、研究対象者等が拒否できる機会を保障すること。

### イ 人体から取得された試料を用いない研究

研究者等は、必ずしもインフォームド・コンセントを受けることを要しないが、インフォームド・コンセントを受けない場合には、次の(ア)から(ウ)までのいずれかに該当していなければならない。

(ア) 当該研究に用いられる情報が次に掲げるいずれかに該当していること。

- ①匿名化されているもの(特定の個人を識別することができないものに限る.)であること。
- ②匿名加工情報又は非識別加工情報であること。

(イ) 当該研究に用いられる情報が(ア)に該当しない場合であって、その取得時に当該研究における利用が明示されていない別の研究についての研究対象者等の同意のみが与えられているときには、次に掲げる要件を満たしていること。

- ①当該研究の実施について、4①から④までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開していること。
- ②その同意が当該研究の目的と相当の関連性があると合理的に認められること。

(ウ) 当該研究に用いられる情報が(ア)又は(イ)のいずれにも該当しない場合であって、学術研究の用に供するときその他の当該情報を用いて研究を実施しようとすることに特段の理由があるときは、次に掲げる要件を満たしていること。

- ①当該研究の実施について、4①から⑥までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開していること。
- ②研究が実施又は継続されることについて、原則として、研究対象者等が拒否できる機会を保障すること。

(3) 他の研究機関に既存試料・情報を提供しようとする場合のインフォームド・コンセント

他の研究機関に対して既存試料・情報の提供を行う者は、必ずしも文書によりインフォームド・コンセントを受けることを要しないが、文書によりインフォームド・コンセントを受けない場合には、3の規定による説明事項(既存試料・情報を提供する旨を含む.)について口頭によりインフォームド・コンセントを受け、説明の方法及び内容並びに受けた同意の内容に関する記録を作成しなければならない。ただし、これらの手続を行うことが困難な場合で

あって次のアからウまでのいずれかに該当するときは、当該手続を行うことなく、既存試料・情報を提供することができる。

なお、既存試料・情報の提供に当たり、既存試料・情報の提供を行う者が所属する機関(以下「既存試料・情報の提供を行う機関」という.)の長は、適正に既存試料・情報を提供するために必要な体制及び規程を整備しなければならない。また、既存試料・情報の提供を行う者は、当該既存試料・情報の提供に関する記録を作成し、当該記録を当該試料・情報の提供をした日から3年を経過した日までの期間保管しなければならない。

ア 当該既存試料・情報が次に掲げるいずれかに該当していることについて、既存試料・情報の提供を行う機関の長が当該既存試料・情報の提供について把握できるようにしていること。

- (ア) 匿名化されているもの(特定の個人を識別することができないものに限る.)であること。
- (イ) 匿名加工情報又は非識別加工情報であること。

(ウ) 学術研究の用に供するときその他の当該既存試料・情報を提供することに特段の理由があり、かつ、4①から④までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開している場合であって、匿名化されているもの(どの研究対象者の試料・情報であるかが直ちに判別できないよう、加工又は管理されたものに限る.)であること。

イ 既存試料・情報がアに該当しない場合であって、学術研究の用に供するときその他の当該既存試料・情報を提供することに特段の理由があるときは、次に掲げる要件を満たしていることについて、倫理審査委員会の意見を聴いた上で、既存試料・情報の提供を行う機関の長の許可を得ていること。

(ア) 当該研究の実施及び当該既存試料・情報の他の研究機関への提供について、4①から⑥までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開していること。

(イ) 研究が実施されることについて、原則として、研究対象者等が拒否できる機会を保障すること。

ウ 社会的に重要性の高い研究に用いられる既存試料・情報が提供される場合であって、当該研究の方法及び内容、研究に用いられる試料・情報の内

容その他の理由によりア及びイによることができないときには、必要な範囲で他の適切な措置を講じることについて、倫理審査委員会の意見を聴いた上で、既存試料・情報の提供を行う機関の長の許可を得ていること。なお、この場合において、7(1)の①から④までの要件の全てに該当していなければならない。また、7(2)①から③までのものうち適切な措置を講じなければならない。

(4)(3)の手続に基づく既存試料・情報の提供を受けて研究を実施しようとする場合のインフォームド・コンセント

研究者等は、次に掲げる事項を確認するとともに、当該既存試料・情報の提供に関する記録を作成しなければならない。

研究責任者は、研究者等が作成した当該記録を当該研究の終了について報告された日から5年を経過した日までの期間保管しなければならない。

ア 当該試料・情報に関するインフォームド・コンセントの内容又は(3)の規定による当該試料・情報の提供に当たって講じた措置の内容

イ 当該既存試料・情報の提供を行った他の機関の名称、住所及びその長の氏名

ウ 当該既存試料・情報の提供を行った他の機関による当該試料・情報の取得の経緯

また、特定の個人を識別することができる既存試料・情報を用いる場合(研究者等がインフォームド・コンセントを受ける場合を除く.)には、当該研究の実施について、4①から⑥までの事項を公開し、かつ、研究が実施されることについて、原則として、研究対象者等が同意を撤回できる機会を保障しなければならない。

なお、(3)ア(ウ)に該当することにより(3)の規定による提供を受けた場合には、研究者等は、当該研究の実施について、4①から④までの事項を公開しなければならない。

## 2 研究計画書の変更

研究者等は、研究計画書を変更して研究を実施しようとする場合には、変更箇所について、原則として改めて1の規定によるインフォームド・コンセントの手続等を行わなければならない。ただし、倫理審査委員会の意見をを受けて研究機関の長が許可した変更箇所については、この限りでない。

## 3 説明事項

インフォームド・コンセントを受ける際に研究対象者等に対し説明すべき事項は、原則として以下のとお

りとする。ただし、倫理審査委員会の意見をを受けて研究機関の長が許可した事項については、この限りでない。

- ①研究の名称及び当該研究の実施について研究機関の長の許可を受けている旨
- ②研究機関の名称及び研究責任者の氏名(他の研究機関と共同して研究を実施する場合には、共同研究機関の名称及び共同研究機関の研究責任者の氏名を含む。)
- ③研究の目的及び意義
- ④研究の方法(研究対象者から取得された試料・情報の利用目的を含む。)及び期間
- ⑤研究対象者として選定された理由
- ⑥研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益
- ⑦研究が実施又は継続されることに同意した場合であっても随時これを撤回できる旨(研究対象者等からの撤回の内容に従った措置を講じることが困難となる場合があるときは、その旨及びその理由)
- ⑧研究が実施又は継続されることに同意しないこと又は同意を撤回することによって研究対象者等が不利益な取扱いを受けない旨
- ⑨研究に関する情報公開の方法
- ⑩研究対象者等の求めに応じて、他の研究対象者等の個人情報等の保護及び当該研究の独創性の確保に支障がない範囲内で研究計画書及び研究の方法に関する資料を入手又は閲覧できる旨並びにその入手又は閲覧の方法
- ⑪個人情報等の取扱い(匿名化する場合にはその方法、匿名加工情報又は非識別加工情報を作成する場合にはその旨を含む。)
- ⑫試料・情報の保管及び廃棄の方法
- ⑬研究の資金源等、研究機関の研究に係る利益相反及び個人の収益等、研究者等の研究に係る利益相反に関する状況
- ⑭研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応
- ⑮研究対象者等に経済的負担又は謝礼がある場合には、その旨及びその内容
- ⑯通常の診療を超える医療行為を伴う研究の場合には、他の治療方法等に関する事項
- ⑰通常の診療を超える医療行為を伴う研究の場合には、研究対象者への研究実施後における医療の提供に関する対応
- ⑱研究の実施に伴い、研究対象者の健康、子孫に受け継がれ得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得ら

れる可能性がある場合には、研究対象者に係る研究結果（偶発的所見を含む。）の取扱い

- ⑱ 侵襲を伴う研究の場合には、当該研究によって生じた健康被害に対する補償の有無及びその内容
- ⑳ 研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性がある場合には、その旨と同意を受ける時点において想定される内容
- ㉑ 侵襲（軽微な侵襲を除く。）を伴う研究であって介入を行うもの場合には、研究対象者の秘密が保全されることを前提として、モニタリングに従事する者及び監査に従事する者並びに倫理審査委員会が、必要な範囲内において当該研究対象者に関する試料・情報を閲覧する旨

#### 4 研究対象者等に通知し、又は公開すべき事項

1又は9の規定において、研究対象者等に通知し、又は公開すべき事項は以下のとおりとする。

- ① 試料・情報の利用目的及び利用方法（他の機関へ提供される場合はその方法を含む。）
- ② 利用し、又は提供する試料・情報の項目
- ③ 利用する者の範囲
- ④ 試料・情報の管理について責任を有する者の氏名又は名称
- ⑤ 研究対象者又はその代理人の求めに応じて、研究対象者が識別される試料・情報の利用又は他の研究機関への提供を停止すること。
- ⑥ ⑤の研究対象者又はその代理人の求めを受け付ける方法

#### 5 同意を受ける時点で特定されなかった研究への試料・情報の利用の手続

研究者等は、研究対象者等から同意を受ける時点で想定される試料・情報の利用目的等について可能な限り説明した場合であって、その後、利用目的等が新たに特定されたときは、研究計画書を作成又は変更した上で、新たに特定された利用目的等についての情報を研究対象者等に通知し、又は公開し、研究が実施されることについて、原則として、研究対象者等が同意を撤回できる機会を保障しなければならない。

#### 6 研究対象者に緊急かつ明白な生命の危機が生じている状況における研究の取扱い

研究者等は、あらかじめ研究計画書に定めるところにより、次に掲げる要件の全てに該当すると判断したときは、研究対象者等の同意を受けずに研究を実施することができる。ただし、当該研究を実施した場合に

は、速やかに、3の規定による説明事項を記載した文書によりインフォームド・コンセントの手続を行わなければならない。

- ① 研究対象者に緊急かつ明白な生命の危機が生じていること。
- ② 介入を行う研究の場合には、通常の診療では十分な効果が期待できず、研究の実施により研究対象者の生命の危機が回避できる可能性が十分にあると認められること。
- ③ 研究の実施に伴って研究対象者に生じる負担及びリスクが必要最小限のものであること。
- ④ 代諾者又は代諾者となるべき者と直ちに連絡を取ることができないこと。

#### 7 インフォームド・コンセントの手続等の簡略化

(1) 研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者は、次に掲げる要件の全てに該当する研究を実施しようとする場合には、研究機関の長の許可を受けた研究計画書に定めるところにより、1及び2の規定による手続の一部を簡略化することができる。

- ① 研究の実施に侵襲（軽微な侵襲を除く。）を伴わないこと。
- ② 1及び2の規定による手続を簡略化することが、研究対象者の不利益とならないこと。
- ③ 1及び2の規定による手続を簡略化しなければ、研究の実施が困難であり、又は研究の価値を著しく損ねること。
- ④ 社会的に重要性が高い研究と認められるものであること。

(2) 研究者等は、(1)の規定により1及び2の規定による手続が簡略化される場合には、次に掲げるものうち適切な措置を講じなければならない。

- ① 研究対象者等が含まれる集団に対し、試料・情報の収集及び利用の目的及び内容（方法を含む。）について広報すること。
- ② 研究対象者等に対し、速やかに、事後的説明（集団に対するものを含む。）を行うこと。
- ③ 長期間にわたって継続的に試料・情報が収集され、又は利用される場合には、社会に対し、その実情を当該試料・情報の収集又は利用の目的及び方法を含めて広報し、社会に周知されるよう努めること。

#### 8 同意の撤回等

研究者等は、研究対象者等から次に掲げるいずれかに該当する同意の撤回又は拒否があった場合には、遅滞なく、当該撤回又は拒否の内容に従った措置を講じ

るとともに、その旨を当該研究対象者等に説明しなければならない。ただし、当該措置を講じることが困難な場合であって、当該措置を講じないことについて倫理審査委員会の意見を聴いた上で研究機関の長が許可したときは、この限りでない。なお、その場合、当該撤回又は拒否の内容に従った措置を講じない旨及びその理由について、研究者等が研究対象者等に説明し、理解を得るよう努めなければならない。

- ①研究が実施又は継続されることに関して与えた同意の全部又は一部の撤回
- ②研究について通知され、又は公開された情報に基づき、当該研究が実施又は継続されることの全部又は一部に対する拒否（第13の1(1)イ(ア)②の拒否を含む。）
- ③6の規定によるインフォームド・コンセントの手続における、研究が実施又は継続されることの全部又は一部に対する拒否
- ④代諾者が同意を与えた研究について、研究対象者からのインフォームド・コンセントの手続における、当該研究が実施又は継続されることの全部又は一部に対する拒否

9 海外にある者へ試料・情報を提供する場合の取扱い  
海外にある者に対し、研究に用いられる試料・情報を提供する場合（当該試料・情報の取扱いの全部又は一部を海外にある者に委託する場合を含む。）は、当該者が個人情報の保護に関する法律施行規則（平成28年個人情報保護委員会規則第3号。以下「個人情報保護法施行規則」という。）に定められた国にある場合若しくは個人情報保護法施行規則に定める基準に適合する体制を整備している場合又は法令の規定により試料・情報を提供する場合を除き、当該者に対し研究に用いられる試料・情報を提供することについて、研究対象者等の適切な同意を受けなければならない。

また、法令の規定により試料・情報を提供する場合を除き、研究者等は、当該試料・情報の提供に関する記録を作成しなければならない。

研究責任者は、研究者等が作成した当該記録を当該試料・情報の提供をした日から3年を経過した日までの期間保管しなければならない。

ただし、適切な同意を受けることが困難な場合であって次の(1)から(3)までのいずれかに該当するときには、当該研究に用いられる試料・情報を海外にある者に提供することができる。

(1) 当該試料・情報が次に掲げるいずれかに該当していることについて、試料・情報の提供を行う機関の

長が当該試料・情報の提供について把握できるようにしていること。

- ①匿名化されているもの（特定の個人を識別することができないものに限る。）であること。
- ②匿名加工情報又は非識別加工情報であること。
- ③学術研究の用に供するときその他の当該試料・情報を提供することに特段の理由があり、かつ、4①から④までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開している場合であって、匿名化されているもの（どの研究対象者の試料・情報であるかが直ちに判別できないよう、加工又は管理されたものに限る。）であること。

(2) (1)に該当しない場合であって、学術研究の用に供するときその他の当該試料・情報を提供することに特段の理由があるときは、次に掲げる要件を満たしていることについて、倫理審査委員会の意見を聴いた上で、試料・情報の提供を行う機関の長の許可を得ていること。

- ①当該研究の実施及び当該試料・情報の海外にある者への提供について、4①から⑥までの事項を研究対象者等に通知し、又は公開していること。
  - ②研究が実施されることについて、原則として、研究対象者等が拒否できる機会を保障すること。
- (3) (1)又は(2)のいずれにも該当しない場合であって、社会的に重要性の高い研究と認められるものであるときにおいては、7(2)①から③までのもののうち適切な措置を講じることについて、倫理審査委員会の意見を聴いた上で、試料・情報の提供を行う機関の長の許可を得ていること。

### 第13 代諾者等からインフォームド・コンセントを受けする場合の手続等

#### 1 代諾の要件等

(1) 研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者が、第12の規定による手続において代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける場合には、次に掲げる要件がいずれも満たされていなければならない。

ア 研究計画書に次に掲げる事項が記載されていること。

- ①代諾者等の選定方針
- ②代諾者等への説明事項（イ(ア)又は(イ)に該当する者を研究対象者とする場合には、③に関する説明を含む。）
- ③イ(ア)又は(イ)に該当する者を研究対象者とする場合には、当該者を研究対象者とする必要がある理由

イ 研究対象者が次に掲げるいずれかに該当していること。

(ア) 未成年者であること。ただし、研究対象者が中学校等の課程を修了している又は16歳以上の未成年者であり、かつ、研究を実施されることに関する十分な判断能力を有すると判断される場合であって、次に掲げる事項が研究計画書に記載され、当該研究の実施について倫理審査委員会の意見を聴いた上で研究機関の長が許可したときは、代諾者ではなく当該研究対象者からインフォームド・コンセントを受けるとする。

①研究の実施に侵襲を伴わない旨

②研究の目的及び試料・情報の取扱いを含む研究の実施についての情報を公開し、当該研究が実施又は継続されることについて、研究対象者の親権者又は未成年後見人が拒否できる機会を保障する旨

(イ) 成年であって、インフォームド・コンセントを与える能力を欠くと客観的に判断される者であること。

(ウ) 死者であること。ただし、研究を実施されることが、その生前における明示的な意思に反している場合を除く。

(2) 研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者が、第12の規定による手続において代諾者等からインフォームド・コンセントを受けるときは、(1)ア①の選定方針に従って代諾者等を選定し、当該代諾者等に対して、第12の3の規定によるほか(1)ア②の説明事項を説明しなければならない。

(3) 研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者が、代諾者からインフォームド・コンセントを受けた場合であって、研究対象者が中学校等の課程を修了している又は16歳以上の未成年者であり、かつ、研究を実施されることに関する十分な判断能力を有すると判断されるときには、当該研究対象者からもインフォームド・コンセントを受けなければならない。

## 2 インフォームド・アセントを得る場合の手続等

(1) 研究者等又は既存試料・情報の提供を行う者が、代諾者からインフォームド・コンセントを受けた場合であって、研究対象者が研究を実施されることについて自らの意向を表すことができると判断されるときには、インフォームド・アセントを得よう努めなければならない。ただし、1(3)の規定により研究対象者からインフォームド・コンセントを受

けるときは、この限りでない。

(2) 研究責任者は、(1)の規定によるインフォームド・アセントの手続を行うことが予測される研究を実施しようとする場合には、あらかじめ研究対象者への説明事項及び説明方法を研究計画書に記載しなければならない。

(3) 研究者等及び既存試料・情報の提供を行う者は、(1)の規定によるインフォームド・アセントの手続において、研究対象者が、研究が実施又は継続されることの全部又は一部に対する拒否の意向を表した場合には、その意向を尊重するよう努めなければならない。ただし、当該研究を実施又は継続することにより研究対象者に直接の健康上の利益が期待され、かつ、代諾者がそれに同意するときは、この限りでない。

## 第6章 個人情報等及び匿名加工情報

### 第14 個人情報等に係る基本的責務

#### 1 個人情報等の保護

(1) 研究者等及び研究機関の長は、個人情報、匿名加工情報及び非識別加工情報の取扱いに関して、この指針の規定のほか、個人情報保護法、行政機関個人情報保護法、独立行政法人等個人情報保護法及び地方公共団体において制定される条例等を遵守しなければならない。

(2) 研究者等及び研究機関の長は、死者の尊厳及び遺族等の感情に鑑み、死者について特定の個人を識別することができる情報に関しても、生存する個人に関するものと同様に、2及び第15の規定により適切に取り扱い、必要かつ適切な措置を講じなければならない。また、第16の規定に準じて適切に対応し、必要な措置を講じるよう努めなければならない。

#### 2 適正な取得等

(1) 研究者等は、研究の実施に当たって、偽りその他の不正の手段により個人情報等を取得してはならない。

(2) 研究者等は、原則としてあらかじめ研究対象者等から同意を受けている範囲を超えて、研究の実施に伴って取得された個人情報等を取り扱ってはならない。

### 第15 安全管理

#### 1 適正な取扱い

(1) 研究者等は、研究の実施に伴って取得された個人情報等であって当該研究者等の所属する研究機関が保有しているもの(委託して保管する場合を含む。以下「保有する個人情報等」という。)について、漏



えい、滅失又はき損の防止その他の安全管理のため、適切に取り扱わなければならない。

- (2) 研究責任者は、研究の実施に際して、保有する個人情報等が適切に取り扱われるよう、研究機関の長と協力しつつ、当該情報を取り扱う他の研究者等に対して、必要な指導・管理を行わなければならない。

## 2 安全管理のための体制整備、監督等

- (1) 研究機関の長は、保有する個人情報等の漏えい、滅失又はき損の防止その他保有する個人情報等の安全管理のため、必要かつ適切な措置を講じなければならない。
- (2) 研究機関の長は、当該研究機関において研究の実施に携わる研究者等に保有する個人情報等を取り扱わせようとする場合には、その安全管理に必要な体制及び規程を整備するとともに、研究者等に対して、保有する個人情報等の安全管理が図られるよう必要かつ適切な監督を行わなければならない。

## 第16 保有する個人情報の開示等

### 1 保有する個人情報に関する事項の公表等

- (1) 研究機関の長は、研究対象者等に係る個人情報に関し、第12の規定により、研究対象者等に説明し、又は個人情報の取扱いを含む研究の実施についての情報を研究対象者等に通知し、若しくは公開している場合を除き、研究の実施に伴って取得された個人情報であって当該研究機関が保有しているもの（委託して保管する場合を含む。以下「保有する個人情報」という。）に関し、次に掲げる事項について、当該個人情報によって識別される特定の個人（以下「本人」という。）又はその代理人が容易に知り得る状態（本人又はその代理人（以下「本人等」という。）の求めに応じて遅滞なく回答する場合を含む。以下同じ。）に置かななければならない。

- ① 研究機関の名称及び研究機関の長の氏名
- ② 保有する個人情報の利用目的について、研究に用いられる情報にあっては研究に用いられる旨（他の研究機関へ提供される場合には、その旨を含む。）、研究に用いられる情報でないものにあつてはその用途
- ③ (2) 又は2(1)、(3)、(4)若しくは(6)の規定による求め（以下「開示等の求め」という。）に応じる手続（2(2)の規定により手数料の額を定めた場合には、その手数料の額を含む。）
- ④ 保有する個人情報の取扱いに関する相談等の窓口

- (2) 研究機関の長は、本人等から、保有する個人情報のうちその本人を識別することができるものについ

て、その利用目的の通知を求められた場合には、その求めをした本人等（以下「請求者」という。）に対し、遅滞なく、これを通知しなければならない。

- (3) (1) ②及び(2)の規定は、次に掲げるいずれかに該当する場合には適用しない。

- ① 利用目的を容易に知り得る状態に置くこと又は請求者に対して通知することにより、研究対象者等又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
  - ② 利用目的を容易に知り得る状態に置くこと又は請求者に対して通知することにより、当該研究機関の権利又は正当な利益を害するおそれがある場合
- (4) 研究機関の長は、(2)の規定による利用目的の通知について、(3)の規定により通知しない旨の決定をした場合には、請求者に対し、遅滞なく、その旨を通知しなければならない。また、請求者に対し、その理由を説明し、理解を得るよう努めなければならない。

### 2 開示等の求めへの対応

- (1) 研究機関の長は、本人等から、保有する個人情報のうちその本人を識別することができるものについて、開示（保有する個人情報にその本人が識別されるものが存在しない場合に、その旨を通知することを含む。以下同じ。）を求められた場合には、請求者に対し、遅滞なく、該当する個人情報を開示しなければならない。ただし、開示することにより次に掲げるいずれかに該当する場合には、その全部又は一部を開示しないことができる。また、法令の規定により、保有する個人情報の開示について定めがある場合には、当該法令の規定によるものとする。

- ① 研究対象者等又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
- ② 研究機関の研究業務の適正な実施に著しい支障を及ぼすおそれがある場合
- ③ 法令に違反することとなる場合

- (2) 研究機関の長は、1(2)の規定による利用目的の通知又は(1)の規定による開示を求められたときは、その措置の実施に関し、手数料を徴収することができる。ただし、その場合には、実費を勘案して合理的と認められる範囲内において、その手数料の額を定めなければならない。

- (3) 研究機関の長は、本人等から、保有する個人情報のうちその本人を識別することができるものについて、その内容が事実でないという理由によって、当該内容の訂正、追加又は削除（以下「訂正等」とい

- う。)を求められた場合には、当該内容の訂正等に関して法令の規定により特別の手続が定められている場合を除き、利用目的の達成に必要な範囲内において、遅滞なく必要な調査を行い、その結果に基づき、当該内容の訂正等を行わなければならない。
- (4) 研究機関の長は、本人等から、保有する個人情報のうちその本人を識別することができるものについて、第14の2(1)の規定に反して取得されたものであるという理由又は同(2)の規定に反して取り扱われているという理由によって、該当する個人情報の利用の停止又は消去(以下「利用停止等」という。)を求められた場合であって、その求めが適正と認められるときは、当該規定に反していることを是正するために必要な限度で、遅滞なく、当該個人情報の利用停止等を行わなければならない。ただし、当該個人情報の利用停止等を行うことが困難な場合であって、当該本人の権利利益を保護するため必要なこれに代わるべき措置をとるときは、この限りでない。
- (5) 研究機関の長は、(1)の規定により求められた措置の全部若しくは一部について当該措置をとらない旨の決定をした場合又は(3)若しくは(4)の規定により求められた措置の全部若しくは一部について当該措置をとった場合若しくは当該措置をとらない旨の決定をした場合には、請求者に対し、遅滞なく、その旨(訂正等を行った場合には、その内容を含む。)を通知しなければならない。また、(1)、(3)又は(4)の規定により、本人等から求められた措置の全部又は一部について、当該措置をとらない旨を通知する場合又は当該措置と異なる措置をとる旨を通知する場合には、請求者に対し、その理由を説明し、理解を得よう努めなければならない。
- (6) 研究機関の長は、本人等から、特定の個人を識別することができる試料・情報が第12の規定に反して他の研究機関(共同研究機関を含む。以下同じ。)に提供されているという理由によって、当該試料・情報の他の研究機関への提供の停止を求められた場合であって、その求めが適正と認められるときは、遅滞なく、当該試料・情報の他の研究機関への提供を停止しなければならない。ただし、当該試料・情報の他の研究機関への提供を停止することが困難な場合であって、当該本人の権利利益を保護するため必要なこれに代わるべき措置をとるときは、この限りでない。
- (7) 研究機関の長は、(6)の規定により提供の停止を

求められた特定の個人を識別することができる試料・情報の全部又は一部について、他の研究機関への提供を停止した場合又は他の研究機関への提供を停止しない旨の決定をした場合には、請求者に対し、遅滞なく、その旨を通知しなければならない。また、他の研究機関への提供を停止しない旨を通知する場合又は他の研究機関への提供の停止と異なる措置をとる旨を通知する場合には、請求者に対し、その理由を説明し、理解を得よう努めなければならない。

- (8) 研究機関の長は、開示等の求めに応じる手続として、次に掲げる事項を定めることができる。なお、その場合には本人等に過重な負担を課するものとならないよう、その負担の軽減に努めなければならない。また、本人等が当該手続によらずに開示等の求めを行ったときは、請求者に対し、開示等の求めに応じることが困難である旨を通知することができる。
- ①開示等の求めの申出先
  - ②開示等の求めに際して提出すべき書面(電子的方式、磁気的方式その他の知覚によっては認識することができない方式で作られる記録を含む。)の様式その他の開示等の求めの方式
  - ③開示等の求めをする者が本人等であることの確認の方法
  - ④(2)の規定により手数料を定めた場合には、その徴収方法
- (9) 研究機関の長は、本人等から開示等の求めがあった場合において、請求者に対し、その対象となる保有する個人情報を特定するに足りる事項の提示を求めることができる。なお、本人等が容易かつ的確に開示等の求めを行うことができるよう、当該個人情報の特定に資する情報の提供その他本人等の利便を考慮するとともに、本人等に過重な負担を課するものとならないよう配慮しなければならない。

#### 第17 匿名加工情報の取扱い

- (1) 研究者等(個人情報保護法の適用を受ける大学その他の学術研究を目的とする機関若しくは団体又はそれに属する者であって、その個人情報又は匿名加工情報を取り扱う目的の全部又は一部が学術研究の用に供する目的である者に限る。以下この第17において同じ。)は、匿名加工情報(匿名加工情報データベース等(匿名加工情報を含む情報の集合体であって、特定の匿名加工情報を電子計算機を用いて検索することができるように体系的に構成したものその他特定の匿名加工情報を容易に検索することができるように体系的に

- 構成したものをいう。)を構成するものに限る。以下同じ。)を作成するときは、特定の個人を識別すること及びその作成に用いる個人情報に復元することができないようにするために必要な基準に従い、当該個人情報を加工しなければならない。
- (2) 研究者等は、匿名加工情報を作成したときは、その作成に用いた個人情報から削除した記述等及び個人識別符号並びに(1)の規定により行った加工の方法に関する情報の漏えいを防止するために必要なものとして定められる基準に従い、これらの情報の安全管理のための措置を講じなければならない。
- (3) 研究者等は、匿名加工情報を作成したときは、当該匿名加工情報に含まれる個人に関する情報の項目を公表しなければならない。
- (4) 研究者等は、匿名加工情報を作成して当該匿名加工情報を他の研究機関に提供するときは、あらかじめ、他の研究機関に提供される匿名加工情報に含まれる個人に関する情報の項目及びその提供の方法について公表するとともに、当該他の研究機関に対して、当該提供に係る情報が匿名加工情報である旨を明示しなければならない。
- (5) 研究者等は、匿名加工情報を作成して自ら当該匿名加工情報を取り扱うに当たっては、当該匿名加工情報の作成に用いられた個人情報に係る本人を識別するために、当該匿名加工情報を他の情報と照合してはならない。
- (6) 研究者等は、匿名加工情報を作成したときは、当該匿名加工情報の安全管理のために必要かつ適切な措置、当該匿名加工情報の作成その他の取扱いに関する苦情の処理その他の当該匿名加工情報の適正な取扱いを確保するために必要な措置を自ら講じ、かつ、当該措置の内容を公表するよう努めなければならない。
- (7) 研究者等は、匿名加工情報(自ら個人情報を加工して作成したものを除く。以下この第17において同じ。)を他の研究機関に提供するときは、あらかじめ、他の研究機関に提供される匿名加工情報に含まれる個人に関する情報の項目及びその提供の方法について公表するとともに、当該他の研究機関に対して、当該提供に係る情報が匿名加工情報である旨を明示しなければならない。
- (8) 匿名加工情報の提供を受けた研究者等は、当該匿名加工情報を取り扱うに当たっては、当該匿名加工情報の作成に用いられた個人情報に係る本人を識別するために、当該個人情報から削除された記述等若しくは個人識別符号若しくは(1)の規定により行われた加工の

方法に関する情報を取得し、又は当該匿名加工情報を他の情報と照合してはならない。

- (9) 匿名加工情報の提供を受けた研究者等は、当該匿名加工情報の安全管理のために必要かつ適切な措置、匿名加工情報の取扱いに関する苦情の処理その他の匿名加工情報の適正な取扱いを確保するために必要な措置を自ら講じ、かつ、当該措置の内容を公表するよう努めなければならない。

## 第7章 重篤な有害事象への対応

### 第18 重篤な有害事象への対応

#### 1 研究者等の対応

研究者等は、侵襲を伴う研究の実施において重篤な有害事象の発生を知った場合には、3(1)の規定による手順書等に従い、研究対象者等への説明等、必要な措置を講じるとともに、速やかに研究責任者に報告しなければならない。

#### 2 研究責任者の対応

(1) 研究責任者は、侵襲を伴う研究の実施において重篤な有害事象の発生を知った場合には、速やかに、その旨を研究機関の長に報告するとともに、3(1)の規定による手順書等に従い、適切な対応を図らなければならない。また、速やかに当該研究の実施に携わる研究者等に対して、当該有害事象の発生に係る情報を共有しなければならない。

(2) 研究責任者は、他の研究機関と共同で実施する侵襲を伴う研究の実施において重篤な有害事象の発生を知った場合には、速やかに当該研究を実施する共同研究機関の研究責任者に対して、当該有害事象の発生に係る情報を共有しなければならない。

#### 3 研究機関の長の対応

(1) 研究機関の長は、侵襲を伴う研究を実施しようとする場合には、あらかじめ、重篤な有害事象が発生した際に研究者等が実施すべき事項に関する手順書を作成し、当該手順書に従って適正かつ円滑に対応が行われるよう必要な措置を講じなければならない。

(2) 研究機関の長は、2(1)の規定により研究責任者から重篤な有害事象の発生について報告がなされた場合には、手順書に従って速やかに必要な対応を行うとともに、当該有害事象について倫理審査委員会の意見を聴き、必要な措置を講じなければならない。

(3) 侵襲(軽微な侵襲を除く。)を伴う研究であって介入を行うものの実施において予測できない重篤な有害事象が発生し、当該研究との直接の因果関係が否定できない場合には、当該有害事象が発生した研究

機関の長は、速やかに、厚生労働大臣に報告するとともに、(2)の規定による対応の状況及び結果を公表しなければならない。

## 第8章 研究の信頼性確保

### 第19 利益相反の管理

- (1) 研究者等は、研究を実施するときは、個人の収益等、当該研究に係る利益相反に関する状況について、その状況を研究責任者に報告し、透明性を確保するよう適切に対応しなければならない。
- (2) 研究責任者は、医薬品又は医療機器の有効性又は安全性に関する研究等、商業活動に関連し得る研究を実施する場合には、当該研究に係る利益相反に関する状況を把握し、研究計画書に記載しなければならない。
- (3) 研究者等は、(2)の規定により研究計画書に記載された利益相反に関する状況を、第12に規定するインフォームド・コンセントを受ける手続において研究対象者等に説明しなければならない。

### 第20 研究に係る試料及び情報等の保管

- (1) 研究者等は、研究に用いられる情報及び当該情報に係る資料（研究に用いられる試料・情報の提供に関する記録を含む。以下「情報等」という。）を正確なものにしなければならない。
- (2) 研究責任者は、人体から取得された試料及び情報等を保管するときは、(3)の規定による手順書に基づき、研究計画書にその方法を記載するとともに、研究者等が情報等を正確なものにするよう指導・管理し、人体から取得された試料及び情報等の漏えい、混交、盗難、紛失等が起こらないよう必要な管理を行わなければならない。
- (3) 研究機関の長は、人体から取得された試料及び情報等の保管に関する手順書を作成し、当該手順書に従って、当該研究機関が実施する研究に係る人体から取得された試料及び情報等が適切に保管されるよう必要な監督を行わなければならない。
- (4) 研究責任者は、(3)の規定による手順書に従って、(2)の規定による管理の状況について研究機関の長へ報告しなければならない。
- (5) 研究機関の長は、当該研究機関の情報等について、可能な限り長期間保管されるよう努めなければならない。侵襲（軽微な侵襲を除く。）を伴う研究であって介入を行うものを実施する場合には、少なくとも、当該研究の終了について報告された日から5年を経過した日又は当該研究の結果の最終の公表について報告された日から3年を経過した日のいずれか遅い日までの期

間、適切に保管されるよう必要な監督を行わなければならない。また、匿名化された情報について、当該研究機関が対応表を保有する場合には、対応表の保管についても同様とする。また、試料・情報の提供に関する記録について、試料・情報を提供する場合は提供をした日から3年を経過した日までの期間、試料・情報の提供を受ける場合は当該研究の終了について報告された日から5年を経過した日までの期間、適切に保管されるよう必要な監督を行わなければならない。

- (6) 研究機関の長は、試料・情報等を廃棄する場合には、特定の個人を識別することができないようにするための適切な措置が講じられるよう必要な監督を行わなければならない。

### 第21 モニタリング及び監査

- (1) 研究責任者は、研究の信頼性の確保に努めなければならない。侵襲（軽微な侵襲を除く。）を伴う研究であって介入を行うものを実施する場合には、研究機関の長の許可を受けた研究計画書に定めるところにより、モニタリング及び必要に応じて監査を実施しなければならない。
- (2) 研究責任者は、研究機関の長の許可を受けた研究計画書に定めるところにより適切にモニタリング及び監査が行われるよう、モニタリングに従事する者及び監査に従事する者に対して必要な指導・管理を行わなければならない。
- (3) 研究責任者は、監査の対象となる研究の実施に携わる者及びそのモニタリングに従事する者に、監査を行わせてはならない。
- (4) モニタリングに従事する者は、当該モニタリングの結果を研究責任者に報告しなければならない。また、監査に従事する者は、当該監査の結果を研究責任者及び研究機関の長に報告しなければならない。
- (5) モニタリングに従事する者及び監査に従事する者は、その業務上知り得た情報を正当な理由なく漏らしてはならない。その業務に従事しなくなった後も同様とする。
- (6) 研究機関の長は、(1)の規定によるモニタリング及び監査の実施に協力するとともに、当該実施に必要な措置を講じなければならない。

## 第9章 その他

### 第22 施行期日

この指針は、平成27年4月1日から施行する。ただし、第20の規定は、平成27年10月1日から施行する。

## 第23 見直し

この指針は、必要に応じ、又は施行後5年を目途としてその全般に関して検討を加えた上で、見直しを行うものとする。

## 附則

(平成29年2月28日 文部科学省・厚生労働省告示第1号)

- 1 この告示は、個人情報の保護に関する法律及び行政手続における特定の個人を識別するための番号の利用等に関する法律の一部を改正する法律の施行の日(平成29年5月30日)から施行する。ただし、附則第4項の規定は、公布の日から施行する。
- 2 平成15年7月29日までに着手された臨床研究(臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)に規定する臨床研究をいう。以下同じ。)及び既に連結不可能匿名化されている情報のみを用いる研究(疫学研究に関する倫理指針(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)又は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(以下この項において「医学系指針」という。)において既に連結不可能匿名化(特定の個人を識別することができないように、当該個人と新たに付された符号又は番号との対応表を残さない方法による匿名化をいう。)されている情報のみを用いる研究をいう。以下同じ。)に対するこの告示による改正後の医学系指針(以下「新医学系指針」という。)の規定(第4の1(3)、第5の1(3)及び(4)並びに2(5)及び(6)並びに3、第6の1(4)並びに2(2)及び(3)、第7の1(2)及び(3)、第9、第13、第18の1及び2、第19、第20(2)から(6)まで(試料・情報の提供に関する記録の規定を除く。)並びに第21の規定に限る。)の適用については、なお従前の例によることができる。

また、新医学系指針の規定(第4の2(1)及び3、第5の1(1)、第6の2(1)及び(5)並びに3(1)、第7の1(1)、2(1)及び3、第10の1及び2(1)から(4)まで並びに第11の規定に限る。)の適用については、こ

の告示の施行の日(以下「施行日」という。)から起算して6月を経過する日までの間は、なお従前の例によることができる。

- 3 この告示の施行の際現に廃止前指針(平成26年文部科学省・厚生労働省告示第3号(人を対象とする医学系研究に関する倫理指針を定める件)による廃止前の疫学研究に関する倫理指針又は臨床研究に関する倫理指針をいう。)の規定により実施中の研究(人を対象とする医学系研究に関する倫理指針第2(1)に規定する人を対象とする医学系研究をいう。以下同じ。)に対する新医学系指針の規定(第4の1(3)、第5の1(3)及び(4)並びに2(5)及び(6)並びに3、第6の1(4)並びに2(2)及び(3)、第7の1(2)及び(3)、第9、第13、第18の1及び2、第19、第20(2)から(6)まで(試料・情報の提供に関する記録の規定を除く。)並びに第21の規定に限る。)の適用については、なお従前の例によることができる。

また、平成15年7月30日以後に着手された臨床研究及び疫学研究に関する倫理指針に基づく研究(既に連結不可能匿名化されている情報のみを用いる研究を除く。)に対する新医学系指針の規定(第4の3、第6の2(1)及び(5)、第10の1及び2(1)から(4)まで並びに第11の規定に限る。)の適用については、施行日から起算して6月を経過する日までの間は、なお従前の例によることができる。

- 4 新医学系指針第2(13)に規定する研究責任者その他の関係者は、施行日前においても、新医学系指針の規定による研究計画書の作成、変更その他の必要な準備行為をすることができる。
- 5 施行日前になされた本人の個人情報(新医学系指針第2(20)に規定する個人情報をいう。)の取扱いに関する同意がある場合において、その同意が新医学系指針第12の9の規定による個人情報の海外にある者への提供を認める旨の同意に相当するものであるときは、当該同意があったものとみなす。

## 日本臨床細胞学会編集委員会 (令和元年～3年)

委員長: 矢納 研二					
担当理事: 大平 達夫	竹島 信宏	三上 芳喜			
(副委員長): 黒川 哲司	柳井 広之				
委員: 伊藤以知郎	河原 明彦	九島 巳樹	近藤 英司	品川 明子	田中 良太
長尾 俊孝	二村 梓	野村 秀高	則松 良明	廣川 満良	古田 則行
前田 宜延	的田 眞紀	棟方 哲			
幹事: 安倍 秀幸	谷口 智子	西川 武			
査読委員: 青木 裕志	明石 京子	明瀬 光里	秋葉 純	浅見 志帆	阿部 仁
阿部 彰子	阿部 英二	安倍 秀幸	新井 正秀	荒木 邦夫	有田 茂実
有廣 光司	有安 早苗	五十嵐 誠治	伊倉 義弘	池上 雅博	池田 聡
池田 純一郎	池田 徳彦	池畑 浩一	池本 理恵	伊古田 勇人	石井 真美
石岡 伸一	石川 雄一	石田 和之	出馬 晋二	磯西 成治	井谷 嘉男
市村 友季	伊東 恭子	伊藤 崇彦	伊藤 雅文	稲垣 宏	稲山 嘉明
井野 元智恵	今井 裕	今井 律子	今野 元博	今村 好章	井村 穰二
入江 準二	岩崎 雅宏	岩瀬 春子	岩田 卓	岩屋 啓一	上田 和
宇佐 美知香	碓井 宏和	白田 実男	内田 克典	内山 智子	宇津木 久仁子
梅澤 敬	浦野 誠	卜部 理恵	卜部 省悟	江口 正信	蝦名 康彦
遠藤 浩之	小穴 良保	及川 洋恵	大石 徹郎	大井 恭代	大金 直樹
大亀 真一	大久保 文彦	大崎 博之	大崎 能伸	大城 久	太田 善夫
大谷 博	大塚 重則	大沼 利通	大野 喜作	大橋 隆治	大原 樹
大森 真紀子	岡 輝明	小賀 厚徳	岡田 真也	緒方 衝	岡 俊郎
岡部 義信	岡本 聡	岡本 三四郎	岡本 吉明	小倉 豪	小椋 聖子
刑部 光正	尾崎 敬	尾崎 聡	小田 義直	小野里 香織	小野 瀬亮
尾松 公平	小山 徹也	甲斐 敬太	利部 正裕	垣花 昌俊	覚野 綾子
笠井 孝彦	笠松 高弘	梶原 直央	梶原 博	加勢 宏明	片岡 竜貴
片岡 史夫	片山 博徳	香月 奈穂美	加戸 伸明	加藤 拓	加藤 一喜
加藤 智美	加藤 友康	門田 球一	金尾 祐之	金山 清二	金山 和樹
金子 千之	鹿股 直樹	神尾 多喜浩	鴨井 青龍	川崎 隆	川崎 朋範
川瀬 里衣子	川名 敬	河野 光一郎	河野 哲也	河原 邦光	河村 憲一
川村 直樹	神田 浩明	菊池 朗	木佐貫 篤	岸野 万伸	鬼島 宏
岸本 浩次	北澤 理子	北澤 莊平	木下 勇一	木村 文一	喜友名 正也
清川 貴子	草苧 宏有	草野 弘宣	久慈 志保	串田 吉生	工藤 明子
久布 白兼行	熊木 伸枝	久山 佳代	黒瀬 圭輔	黒田 敬史	黒田 直人
黒田 一	孝橋 賢一	小材 和浩	小島 淳美	小塚 祐司	小林 佑介
小林 裕明	小林 博久	小林 陽一	小宮 山慎一	小山 芳徳	近藤 哲夫
近内 勝幸	齋藤 生朗	嵯峨 泰	坂谷 貴司	坂本 優	佐川 元保
桜井 孝規	佐々木 陽介	佐々木 素子	笹野 公伸	佐治 晴哉	佐藤 誠也
佐藤 正和	佐藤 美紀子	佐藤 慎也	佐藤 康晴	佐藤 由紀子	郷久 晴朗
澤田 達男	塩澤 哲	澁木 康雄	澁田 秀美	澁谷 潔	澁谷 信介
島田 宗昭	島田 啓司	清水 和彦	清水 健	清水 道生	清水 禎彦
下釜 達朗	白石 泰三	菅井 有	須貝 美佳	杉田 好彦	杉山 裕子

酒々井夏子	鈴木雅子	鈴木 淳	鈴木 直	鈴木正人	鈴木美和
関田信之	芹澤昭彦	園田 顯三	駄阿 勉	多比良朋希	高倉 聡
高瀬頼妃呼	高田恭臣	高野忠夫	高野浩邦	高野政志	高橋 顕雅
高橋芳久	高橋恵美子	鷹橋浩幸	高松 潔	田口雅子	田口健一
竹井裕二	武田麻衣子	竹原和宏	田尻 琢磨	橘 啓盛	楯 真一
田中京子	田中綾一	田中一朗	田中尚武	田中浩彦	棚田 諭
谷川輝美	谷口智子	谷山清己	田沼順一	田原紳一郎	玉手雅人
田丸淳一	千酌 潤	塚田ひとみ	辻村 亨	津田 均	土田 秀
筒井英光	角田 肇	寺井義人	寺田倫子	寺畑信太郎	寺本典弘
寺本瑞絵	土居正知	田路英作	徳田雄治	渡具知 克	徳永英樹
戸澤晃子	栃木直文	富永英一郎	豊田進司	鳥居貴代	内藤子来
内藤嘉紀	永井雄一郎	中泉明彦	中尾佳史	長阪一憲	長坂徹郎
中里宜正	中澤久美子	長嶋 健	永瀬 智	中塚伸一	仲村 勝
中山富雄	中山宏文	中山 淳	南部雅美	新倉 仁	西川 鑑
西川 武	錦見恭子	西田直代	西野幸治	西村理恵子	西森 誠
西山憲一	布引 治	野澤真由	能登原憲司	野中道子	野村弘行
野本靖史	橋口真理子	長谷川清志	秦 美暢	畑中一仁	服部 学
馬場洋一郎	羽原利幸	濱川真治	林 茂徳	林 真也	林 俊哲
原由紀子	原田憲一	坂東健次	阪埜浩司	東田太郎	東 美智代
樋口佳代子	飛田 陽	秀島克巳	平沢 晃	平田哲士	平林健一
廣井禎之	廣島健三	廣田誠一	福島万奈	福島裕子	福屋美奈子
藤井丈士	藤田茂樹	伏見博彰	藤山淳三	藤原寛行	二神真行
古田玲子	古旗 淳	星 利良	星田義彦	細根 勝	堀江香代
堀由美子	彭 為霞	前田純一	前田ゆかり	増田健太	増田しのぶ
町田知久	松井成明	松浦基樹	松澤こず恵	松下 宏	松田育雄
松田勝也	松永 徹	松林 純	松本光司	松本慎二	松元 隆
松山篤二	丸 喜明	丸川活司	丸田淳子	三浦弘守	三浦弘之
水野美香	三橋 暁	湊 宏	南 優子	南口早智子	三村明弘
宮井由美	宮城 淳	三宅真司	三宅康之	宮崎龍彦	宮嶋葉子
宮本朋幸	村田晋一	村田哲也	望月紀英	元井 亨	物部泰昌
森定 徹	森下由紀雄	森 康浩	森村 豊	八重樫伸生	安岡弘直
安田政実	矢田直美	柳田 聡	矢野恵子	矢野博久	山上 亘
山口知彦	山口 浩	山口 倫	山崎奈緒子	山下 博	山田隆司
山田 隆	山田麻里沙	山田恭輔	山田鉄也	山田範幸	山元英崇
山本晃人	矢持淑子	横井豊治	横尾英明	横瀬智之	横山俊朗
吉岡治彦	吉田 勤	吉田浩一	吉野 潔	吉見直己	米田 操
米山剛一	梁 善光	和田直樹	渡部 洋	渡 邊 純	渡辺寿美子
渡 邊 みか					

(50音順)







令和三年一月二十二日発行

編集兼  
発行人

公益社団法人  
日本臨床細胞学会  
代表者 矢納 研二

〒100-1061 東京都千代田区神田駿河台二丁目一  
番一  
駿河台サンライズビル三階  
公益社団法人 日本臨床細胞学会  
発行所  
電話〇三(五七七)四六八〇 振替〇〇一〇一〇一三五五四五