

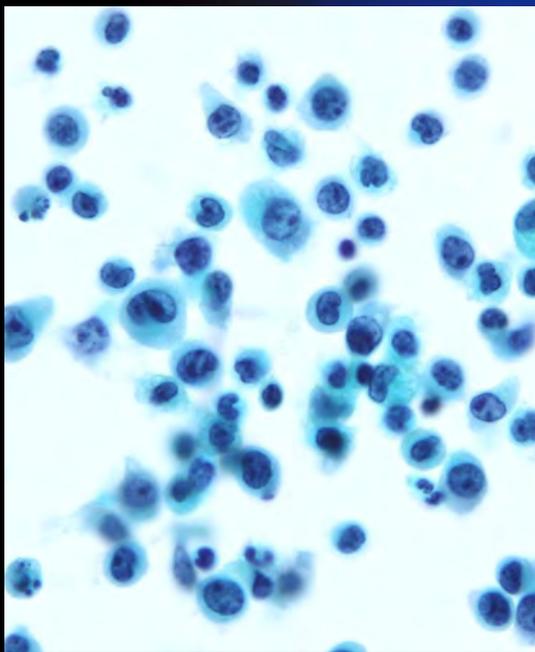
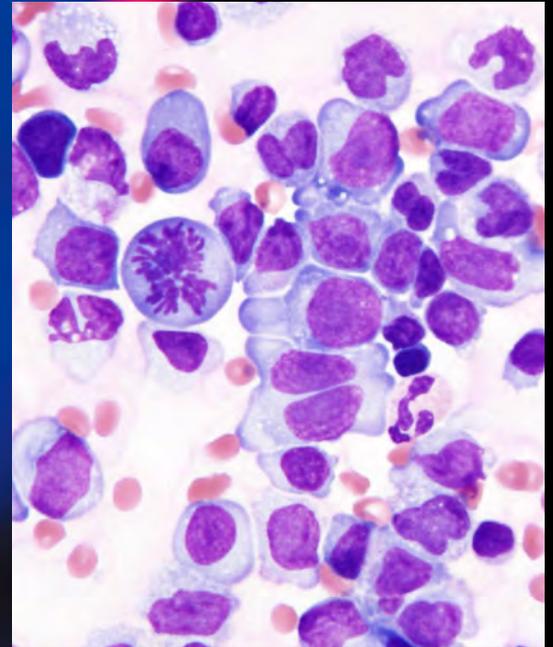
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日臨細胞誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第55卷 第4号 平成28年7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.55 No.

July 2016

4

目次

編集委員巻頭言.....寺井 義人

〈原 著〉

- 悪性リンパ腫のギムザ染色における細胞質内空胞の検討
.....横浜南共済病院病理診断科 今井 宏樹・他 (215)
- リンパ節穿刺吸引細胞診における迅速細胞診検査の有用性
.....群馬県立がんセンター病理検査課 土田 秀・他 (224)
- BCL2/BCL6 二重免疫染色による濾胞性リンパ腫 (Grade 1-2) の診断
.....東邦大学医療センター佐倉病院病理部 山崎 利城・他 (231)

〈症 例〉

- Diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant の1例
.....埼玉医科大学総合医療センター病理部 大澤久美子・他 (239)
- 古典的ホジキンリンパ腫結節硬化型 syncytial variant の1例
.....独立行政法人労働者健康安全機構関西労災病院中央検査部 吉野 龍一・他 (245)
- 左膝関節滑膜に発生したメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の1例
.....新潟県立新発田病院病理検査 佐藤 由美・他 (250)
- 耳下腺内リンパ節に発見された、皮膚病変を伴わないメルケル細胞癌の1例
.....横浜市立大学附属市民総合医療センター病理診断科・病理部 甘利 保子・他 (256)
- 胆嚢癌根治的切除後に発見された前立腺癌の肺の孤在性転移の1例
.....京都桂病院検査科 二宮 慶太・他 (263)
- 気管支肺胞洗浄液細胞診にて診断した肺胞蛋白症4例の細胞学的特徴
.....弘前大学医学部附属病院病理部 小島 啓子・他 (268)
- Papillary glioneuronal tumor の1例
——術中細胞診は診断に有用である——
.....福岡大学医学部病理学・福岡大学病院病理部／病理診断科 小林 広昌・他 (274)

〈短 報〉

- 子宮頸部細胞診におけるコイロサイトーシス亜分類の試み
.....大森赤十字病院検査部 坂本 穆彦・他 (280)

投稿規定.....(282)

編集委員会.....(289)

＊

〈表紙写真〉

大型異型リンパ球様細胞

(左：パパニコロウ染色，右：ギムザ染色) (佐藤由美・他，左：Photo. 2a, 251頁，右：Photo. 3b, 252頁)

CONTENTS

Editorial.....Yoshito Terai

Original Articles

- The cytoplasmic vacuoles in Giemsa stain of malignant lymphoma
Hiroki Imai, et al. (Dept. of Path., Yokohama Minami Kyousai Hosp., Kanagawa)(215)
- Usefulness of combining rapid on-site cytologic evaluation with fine-needle aspiration cytology of the neck lymph nodes
Shigeru Tsuchida, et al. (Dept. of Clin. Lab., Gunma Pref. Cancer Center, Gunma)(224)
- BCL2 and BCL6 double-immunostaining for the diagnosis of Grade 1-2 follicular lymphoma
Toshiki Yamazaki, et al. (Dept. of Path., Toho Univ. Sakura Med. Center, Chiba)(231)

Clinical Articles

- A case report of diffuse large B cell lymphoma, spindle cell variant
Kumiko Osawa, et al. (Dept. of Path., Saitama Med. Center, Saitama Med. Univ., Saitama)(239)
- A case of the syncytial variant of classical Hodgkin lymphoma-nodular sclerosis subtype
Ryuichi Yoshino, et al. (Dept. of Clin. Lab. Services, Kansai Rosai Hosp., Hyogo)(245)
- Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders occurring on and localized to the synovial membrane of the left knee joint—A case report—
Yumi Sato, et al. (Dept. of Path., Niigata Pref. Shibata Hosp., Niigata)(250)
- A case of Merkel cell carcinoma of the lymph node in the parotid gland without a skin lesion
Yasuko Amari, et al. (Dept. of Diag. Path., Yokohama City Univ. Med. Center, Kanagawa)(256)
- A case of occult prostate cancer identified by a solitary pulmonary metastasis as the first presentation
Keita Ninomiya, et al. (Dept. of Clin. Lab., Kyoto Katsura Hosp., Kyoto)(263)
- Cytological features of four cases of pulmonary alveolar proteinosis diagnosed by bronchoalveolar lavage fluid cytology
Keiko Kojima, et al. (Dept. of Anatomic Path., Hirosaki Univ. Hosp., Aomori)(268)
- A case of papillary glioneuronal tumor—Intraoperative cytological features are useful for diagnosis—
Hiromasa Kobayashi, et al. (Dept. of Path., Fukuoka Univ. School of Med. and Hosp., Fukuoka)(274)

Brief Note

- A trial for subclassification of koilocytosis on cervical cytology
Atsuhiko Sakamoto, et al. (Dept. of Path. and Lab. Med., Omori Red Cross Hosp., Tokyo)(280)

Notice to contributors.....(282)

Cover Photo

- Large atypical lymphoid cells
(Left : Pap. stain, Right : Giemsa stain) (Yumi Sato, et al., Left : Photo. 2a, p251, Right : Photo. 3b, p252)



編 集 委 員 卷 頭 言

Yoshito Terai

寺 井 義 人

大阪医科大学産婦人科

▶ 夏の星空と細胞診



今年も前半を折り返しましたが、皆さんにとって今年はどうな年でしょうか？ 今年前半の大きな出来事といえば、5年前の悪夢を思い出させるような熊本震災が4月に発生しました。大自然がもたらす天災は、われわれ人類の力ではどうしようもない無力さを改めて感じさせられました。改めまして震災の被害に遭われました方々にお見舞い申し上げます。

最近の話題の1つに5月31日に火星の大接近がありました。皆さんみられたでしょうか？ 地球は太陽の周りを365日で一周、火星は687日かけてゆっくりと一周していることから、2年2ヵ月ごとに地球に近くなるらしいのですが、今年はかなり接近したため夜空に明るくみることができました。見逃した方々は2018年7月31日にさらに接近して大きくみえるそうですので期待して下さい。さて、星空ですが、ふと満天の星空を眺めていますと、どこかに異星人がいて、同じように生活しているのかなと思ったり、ブラックホールや暗黒星雲がどこかに存在するのかなと想像が膨らみ楽しくなってきます。皆様いかがでしょうか？ 私が住んでいる滋賀県は、田舎なので、まだまだ満天の星空を眺めることができます。夜に大学から帰ってきて、田舎の澄んだ空気の下で星空を眺めると、少しばかり疲れを癒してくれます。ところで、細胞診の診断で顕微鏡をのぞいて子宮頸部細胞診診断をしていますと、きれいな背景の中にライトグリーンやピンク色の表層細胞、中層細胞、好中球、リンパ球をはじめさまざまな細胞がまるで宇宙で輝く星のようにみえてくるときがあります。その中には、細菌や真菌、トリコモナス、化生細胞や修復細胞などさまざまな星たちが見えてきます。もちろん、異型細胞や悪性腫瘍細胞を認めた場合には、この宇宙の中に暗黒星雲のような背景と異星人のごとく悪性細胞集団が現れます。われわれの診断しているプレパラートにも小宇宙が存在するかのよう感じます。日々スクリーニングや診断でお疲れの皆様には少し気分転換として、小宇宙から何かをみつける探検の気分になれば、少しは仕事がかどるかもしれません。

さて本誌55巻4号は、3編の原著論文、7編の症例報告と1編の短報の執筆をいただいております。原著論文においては、今井宏樹らの「悪性リンパ腫のギムザ染色における細胞質内空胞の検討」では、パーキットリンパ腫以外の悪性リンパ腫における細胞質内空胞が脂肪空胞か否かを脂肪滴膜と反応する抗Adipophilin抗体を用いて検討を行い、多くの悪



性リンパ腫において脂肪空胞が存在し、Adiphophilin 陽性率が高い場合には悪性リンパ腫を示唆することが可能であると結論づけています。土田 秀らの「リンパ節穿刺吸引細胞診における迅速細胞診検査の有用性」では、リンパ節腫脹症例における穿刺吸引細胞診施行時に迅速細胞診検査を行い、迅速に良悪性の判定を行うことで、リンパ節生検、摘出までの時間が短縮することが可能となり、迅速な治療に結びついたと報告されています。日々の臨床の中で捺印細胞診標本と組織診断を見比べることにより、迅速細胞診診断精度の向上に繋がることにも言及されています。山崎利城らの「BCL2/BCL6 二重免疫染色による濾胞性リンパ腫 (Grade 1-2) の診断」では、頻度が比較的高い濾胞性リンパ腫の細胞診診断に BCL2 および BCL6 の 2 重免疫染色を用いることで鑑別診断が可能であることを検討しています。さらに診断におけるピットホールを 3 点示し、より精度の高い診断ツールとしての可能性を示すたいへん有益な内容になっています。これらの原著論文はいずれも日々の臨床における診断精度向上に有益な内容であると思われます。症例報告としては、二宮慶太らの「胆嚢癌根治的切除後に発見された前立腺癌の肺の孤立性転移の 1 例」、大澤久美子らの「Diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant の 1 例」、佐藤由美らの「左膝関節滑膜に発生したメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の 1 例」、甘利保子らの「耳下腺内リンパ節に発見された、皮膚病変を伴わないメンケル細胞癌の 1 例」、吉野龍一らの「古典的ホジキンリンパ腫結節硬化型 syncytial variant の 1 例」、小林広昌らの「Papillary glioneuronal tumor の 1 例——術中細胞診は診断に有用である——」、小島啓子らの「気管支肺胞洗浄液細胞診にて診断した肺胞蛋白症 4 例の細胞学的特徴」、そして短報で坂本穆彦らの「子宮頸部細胞診におけるコイロサイトーシス亜分類の試み」を掲載しております。いずれの症例報告においても、日々の臨床において目にすることが少ない有益な症例提示であり、臨床学的、細胞学的にも詳細に考察されており、われわれの実臨床における有益な知見となりえる内容となっており、たいへん勉強になると思います。

最後に、刻々と変化する毎日、多忙な業務の中では、なかなか余裕を持つことは難しいことではあります。細胞診断は、顕微鏡をずっと眺める集中力のいる仕事でもあります。そのような中で、少しばかり時間をみつけて空を見上げれば、満天の星空が心をいやしてくれるのではないのでしょうか？ もうすぐ七夕、8 月中旬にはペルセウス座流星群が、11 月 14 日には 68 年ぶりの近さでスーパームーンをみることもできるかもしれません。会員の皆様の心の癒しになれば幸いです。

原 著

悪性リンパ腫のギムザ染色における細胞質内空胞の検討

今井 宏樹¹⁾ 仲村 武¹⁾ 岸本 浩次²⁾ 野崎 真仁¹⁾
 牧野 純¹⁾ 小山 剛司¹⁾ 渡邊 睦子¹⁾ 大池 信之²⁾
 梅本沙代子¹⁾ 河野 尚美¹⁾

横浜南共済病院病理診断科¹⁾, 昭和大学藤が丘病院臨床病理診断科²⁾

目的：バーキットリンパ腫（BL）の脂肪空胞は知られているが，他の悪性リンパ腫においても細胞質内空胞を認めることがある．悪性リンパ腫の空胞出現率と SudanⅢ染色，adipophilin 免疫組織化学から脂肪の有無や組織型との関連を検討した．

方法：良悪性 101 例の組織捺印標本のギムザ染色，adipophilin の免疫組織化学を行った．一部の症例は SudanⅢ染色を行った．

成績：空胞出現率は良性で 10% 以下，20% 以上は悪性リンパ腫であった．SudanⅢ染色は BL，びまん性大細胞 B 細胞リンパ腫（DLBCL），未分化大細胞リンパ腫（ALCL）で陽性細胞を認めた．Adipophilin 陽性率は良性で 20% 以下，高い症例は悪性リンパ腫であった．

結論：染色から空胞は，脂肪空胞が存在する．空胞を 20% 以上認める症例は悪性リンパ腫を示唆する．Adipophilin 陽性率が高い場合，悪性リンパ腫を示唆する．BL，DLBCL，ALCL，成人 T 細胞性白血病/リンパ腫（ATLL）において，空胞を多くもつ傾向が示された．細胞診断は細胞形態の特徴に加え，空胞の有無が組織型推定に有用である．

Key words : Malignant lymphoma, Giemsa stain, Cytoplasmic vacuoles, Adipophilin, Lipid vacuoles

I. 緒 言

バーキットリンパ腫（Burkitt lymphoma : BL）は，ギムザ染色において細胞質内に脂肪を由来とする空胞をみるこ

とが知られている¹⁻⁴⁾．しかし，他の悪性リンパ腫においても，細胞質内に空胞を認められることがしばしば経験されるが脂肪滴であるか否かの詳細な報告は少ない．近年，Ambrosio, M. R. らは BL において脂肪滴の膜蛋白マーカーであり脂肪貪食組織球や脂肪含有肝細胞の脂肪顆粒が anti-adipophilin 抗体（adipophilin）⁴⁻⁸⁾ で高率に陽性を示したと述べている⁴⁾．そこで本研究では，良性リンパ節病変，および各種悪性リンパ腫の組織捺印ギムザ染色における細胞質内空胞と SudanⅢ染色，同一組織標本における adipophilin の免疫組織化学染色を施行し細胞質内空胞の由来について検討を行った．また，ギムザ染色におけるリンパ球の細胞質内空胞が良悪性の鑑別や組織型推定などとの関連についても検討を行った．

The cytoplasmic vacuoles in Giemsa stain of malignant lymphoma
 Hiroki IMAI¹⁾, C. T., I. A. C., Takeshi NAKAMURA¹⁾, C. T., I. A. C.,
 Koji KISHIMOTO²⁾, C. T., I. A. C., Masahito NOZAKI¹⁾, C. T., J. S. C.,
 Jun MAKINO¹⁾, C. T., I. A. C., Tsuyoshi KOYAMA¹⁾, C. T., I. A. C., Mut-
 suko WATANABE¹⁾, C. T., I. A. C., Nobuyuki OIKE²⁾, M. D., Sayoko
 UMEMOTO¹⁾, M. D., Naomi KAWANO¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, Yokohama Minami Kyousai Hospital

²⁾Department of Pathology, Showa University Fujigaoka Hospital

論文刷請求先 〒 236-0037 横浜市金沢区六浦東 1 の 21 の 1 横
 浜南共済病院病理診断科 今井宏樹

平成 27 年 9 月 3 日受付

平成 28 年 4 月 1 日受理

Table 1 Summary of the results of examination for cytoplasmic vacuoles and adipophilin immunohistochemistry

Histological diagnosis	Case
Burkitt lymphoma (BL)	2
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)	34
Follicular lymphoma (FL)	20
B-cell malignant lymphoma other than DLBCL and FL	6
Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK (+)	2
Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK (-)	1
Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL)	3
T-cell malignant lymphoma other than ALCL and ATLL	5
Hodgkin lymphoma, nodular sclerosis	5
Benign lesion of the lymph node	23
Total	101

II. 対象と方法

1. 対象症例

横浜南共済病院における2008年1月～2013年10月のリンパ節およびリンパ球増殖性病変の99例と昭和大学藤が丘病院におけるBL 2例の組織捺印標本101例。BL 2例、びまん性大細胞B細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL) 34例 (節外性5例)、濾胞性リンパ腫 (follicular lymphoma: FL) 20例 (節外性2例)、DLBCLとFL以外のB細胞性リンパ腫6例、ALK陽性未分化大細胞リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma: ALCL) 2例 (節外性1例)、ALK陰性ALCL 1例、成人T細胞性白血病/リンパ腫 (adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) 3例、ALCLとATLL以外のT細胞性リンパ腫5例、ホジキンリンパ腫 (Hodgkin lymphoma: Hodgkin) 5例 (節外性1例)の悪性リンパ腫78例 (節外性8例)と良性病変として濾胞過形成9例、リンパ節炎8例、リンパ腺症4例、肉芽腫2例の23例 (Table 1)。

2. ギムザ染色における細胞質内空胞の組織型別出現率の検討

対象101例のギムザ染色において個々のリンパ球が腫瘍性か非腫瘍性が断定することが困難な症例も存在することから、組織捺印標本の非腫瘍性細胞を含めたリンパ球系細胞を、対物レンズ40倍の視野中に出現する100個あるいは算定可能な細胞数より空胞含有細胞の出現率を算出した。

3. 細胞質内空胞由来の検討

対象は検討可能であった組織捺印未染色標本の27例についてSudan III (和光純薬, 大阪) 染色 (Table 2) により脂肪の有無、細胞質内空胞の出現率とadipophilinの免疫組織化学 (Table 3) の結果について検討を行った。Adipophilin

Table 2 Sudan III staining

1	Imprint an organ and dry smear with cold air.
2	Fix the smear by exposure to formalin steam for 10 minutes.
3	Wash smear in H ₂ O.
4	Immerse smear 1% KOH for 1 minute.
5	Wash smear in H ₂ O.
6	Immerse smear in 50% ethanol.
7	Stain smear with 2% Sudan III at 37°C for 60 minutes.
8	Immerse smear in 50% ethanol.
9	Wash smear in H ₂ O.
10	Stain smear with Mayer's hematoxylin for 1 minute.
11	Wash smear in H ₂ O.
12	Mount coverslip using Crystal mount.

Sudan III : Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

の免疫組織化学染色はホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いシンプルステイン MAX-PO 法 (NICHIREI BIOSCIENCES INC., Tokyo Japan) による検出、一次抗体はadipophilin (AP125: PROGEN Biotechnik GmbH., Heidelberg Germany) を用いた。症例は細胞質内空胞の著明な (Photo. 1a, b) 10例、空胞が目立たない15例の悪性リンパ腫、および良性病変の2例で、内訳はBL 1例、ALK陽性ALCL 2例、DLBCL 13例、FL 3例、末梢型T細胞性リンパ腫1例、ATLL 1例、血管免疫芽球性リンパ腫1例、Hodgkin 3例、リンパ節炎2例の27例 (Table 4) を用いた。

4. Adipophilinの免疫組織化学の検討、およびギムザ染色における細胞質内空胞との関連

対象症例101例のadipophilinの免疫組織化学において、細胞質内に顆粒状に染色される細胞を対物レンズ40倍の1視野中100個を2～3視野より平均値の陽性率の算出と陽性顆粒の大きさによる判定について検討 (Table 5) した。また、ギムザ染色における細胞質内空胞との関連について検討した。

5. 臨床分類と細胞質内空胞、adipophilinの関連

非ホジキンリンパ腫の臨床分類³⁾である低悪性度リンパ腫のindolent lymphomaと高悪性度リンパ腫のmoderately aggressive lymphoma, aggressive lymphoma, highly aggressive lymphomaにおいて検討可能であった63例を、細胞質内空胞の出現率とadipophilin判定 (Table 6) における関連について検討した。

III. 結 果

ギムザ染色における細胞質内空胞の組織型別出現率では良性病変の23例すべてが2%以下で、悪性リンパ腫78例は0～77%であった。BLは44%と76%と空胞含有細胞を多く認めた (Photo. 1a)。DLBCLは0～74%で8例が24%

Table 3 Adipophilin immunohistochemistry

1	Deparaffinize section.
2	Wash section in H ₂ O.
3	Bring slide to a boil in antigen inactivation solution (pH9) 98°C for 40 minutes.
4	Cool slide on benchtop for 20 minutes.
5	Wash section in H ₂ O.
6	Wash section phosphate buffer.
7	Incubate section in 3% hydrogen peroxide for 5 minutes.
8	Remove blocking solution and wash section with phosphate buffer.
9	Add anti-adipophilin antibody. Incubate for 30 minutes at room temperature.
10	Remove antibody solution and wash section with phosphate buffer.
11	Add HISTFINE Simple Stain MAX-PO (MULTI). Incubate for 30 minutes at room temperature.
12	Remove secondary antibody solution and wash section with phosphate buffer.
13	Add simple Stain DAB solution. Incubate for 3 minutes.
14	Wash section in H ₂ O.
15	Counterstain section with Mayer's hematoxylin for 1 minute.
16	Wash section in H ₂ O.
17	Dehydrate the section
18	Mount coversip.

Antigen inactivation solution (pH9) : NICHIREI BIOSCIENCES INC., Tokyo Japan

Anti-adipophilin : AP 125 ; Progen Biotechnik GmbH., Heidelberg Germany

HISTFINE Simple Stain MAX-PO (MULTI) : NICHIREI BIOSCIENCES INC., Tokyo Japan

Simple Stain DAB solution : NICHIREI BIOSCIENCES INC., Tokyo Japan

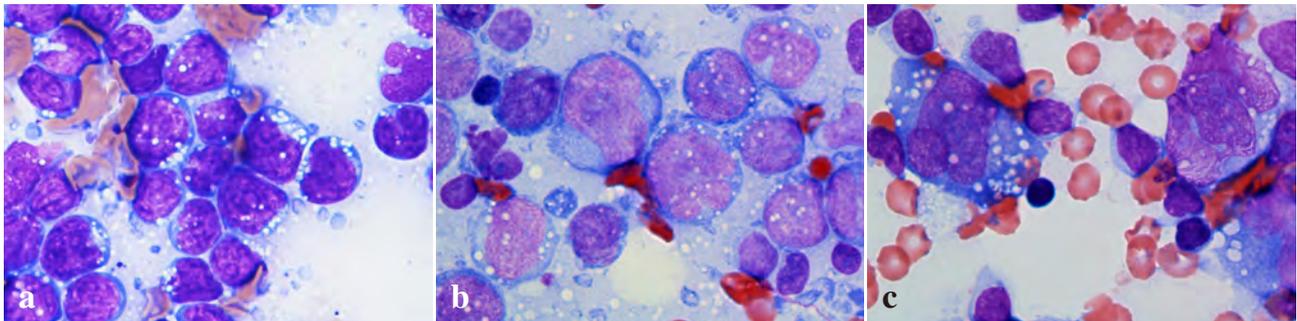


Photo. 1 a : Burkitt lymphoma. Medium-sized atypical lymphocytes showing the Louis circular nuclei. The cytoplasm with lipid vacuoles shows strong basophilicity (Giemsa staining, $\times 100$).
 b : Diffuse large B-cell lymphoma. The large atypical lymphoid cells show cleaved nuclei. The vacuoles are conspicuous in the basophilic cytoplasm (Giemsa staining, $\times 100$).
 c : Anaplastic large cell lymphoma, ALK (+). The large atypical lymphoid cells show lobulated nuclei. The vacuoles are conspicuous in the basophilic cytoplasm (Giemsa staining, $\times 100$).

以上 (Photo. 1b), 他の 26 例は 7% 以下であった。FL は 0~33% で 1 例が 33%, 他の 19 例は 3% 以下であった。DLBCL と FL 以外の B 細胞性リンパ腫の 6 例全例が 4% 以下であった。ALK 陽性 ALCL の 2 例は, 50% と 77% と空胞含有細胞を多く認めた (Photo. 1c)。ALK 陰性 ALCL の 1 例は 1%。ATL/L は 50% が 1 例, 2 例は 2% 以下。ALCL と ATLL 以外の T 細胞性リンパ腫 5 例全例が 3% 以下であった。Hodgkin の 1 例は出現細胞数が少ないが 23% で, 4 例は 5% 以下 (Fig. 1) であった。以上より, 空胞含有細胞の出現率は 20% 以上の空胞が多い症例と 10% 以下の少ない

症例に分けることができた。悪性リンパ腫では 78 例中の空胞含有細胞出現率 20% 以上は 15 例 (19%) であり組織型別でみると, BL 2/2 例 (100%), DLBCL 8/34 例 (23%), FL 1/20 例 (5%), ALK 陽性 ALCL 2/2 例 (100%), ATLL 1/3 例 (33%), Hodgkin 1/5 例 (20%), それ以外の組織型は 0/37 例 (0%) であった (Fig. 1)。

細胞質内空胞由来の検討では, 細胞質内空胞が著明な 10 例の 9 例 (BL 1 例, DLBCL 6 例, ALK 陽性 ALCL 2 例) に Sudan III 染色の陽性物質を認めた (Photo. 2a, b, c)。細胞質内空胞の少ない症例の 1 例 (DLBCL) で Sudan III 染色の

Table 4 Cytoplasmic vacuoles and lipid staining

Case	Histological diagnosis	Organ	Cytoplasmic vacuoles (Giemsa stain)	Sudan III Stain	Adipophilin (IHC)
1	Burkitt lymphoma	Lymph node	Frequent	+	+
2	Anaplastic large cell lymphoma, ALK+	Lymph node	Frequent	+	+
3	Anaplastic large cell lymphoma, ALK+	Spleen	Frequent	+	+
4	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Frequent	+	+
5	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Frequent	+	+
6	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Frequent	+	+
7	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Frequent	+	+
8	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Frequent	+	+
9	Diffuse large B-cell lymphoma	Brain	Frequent	+	+
10	Diffuse large B-cell lymphoma	Breast	Frequent	-	-
11	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	+	+
12	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	+
13	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	+
14	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	+
15	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
16	Diffuse large B-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
17	Follicular lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
18	Follicular lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
19	Follicular lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
20	Peripheral T-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
21	Adult T-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	±
22	Angioimmunoblastic T-cell lymphoma	Lymph node	Infrequent	-	-
23	Hodgkin lymphoma, nodular sclerosis	Lymph node	Infrequent	-	-
24	Hodgkin lymphoma, nodular sclerosis	Lymph node	Infrequent	-	-
25	Hodgkin lymphoma, nodular sclerosis	Lymph node	Infrequent	-	-
26	Lymphadenitis	Lymph node	Infrequent	-	-
27	Lymphadenitis	Lymph node	Infrequent	-	-

Cytoplasmic vacuoles : Imprint smear of the organ. Adipophilin (IHC) : Immunohistochemistry of the organ. Sudan III Staining : Imprint smear of the organ. Adipophilin (IHC) : Appearance rate of positive granules (>1 μm in size) ; - : <10% ; ± : 10-39% ; + : ≥40%

Table 5 Result of adipophilin immunohistochemistry

Histological diagnosis	Case	-	±	+
Burkitt lymphoma (BL)	2	0	1	1
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)	34	15	6	13
Follicular lymphoma (FL)	20	17	2	1
B-cell malignant lymphoma other than DLBCL and FL	6	6	0	0
Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK (+)	2	0	0	2
Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK (-)	1	1	0	0
Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL)	3	0	1	2
T-cell malignant lymphoma other than ALCL and ATLL	5	2	3	0
Hodgkin lymphoma, nodular sclerosis	5	3	2	0
Benign lesion of the lymph node	23	23	0	0
Total	101	67	15	19

Appearance rate of positive granules (>1 μm in size) ; - : <10% ; ± : 10-39% ; + : ≥40%

陽性物質を少数認めた。他の症例は陰性であった。Adipophilin の免疫組織化学について陽性細胞は細胞質内に小～大型の顆粒状に陽性を示した。Sudan III 染色の陽性物質を

認めた症例は、adipophilin の陽性顆粒は中～大型を示す (Photo. 3a, b, c) が、Sudan III 染色の陰性症例は adipophilin の陽性顆粒が 1 μm 以下と小型であった (Photo. 3d, e)。

Table 6 Related clinical classification of cytoplasmic vacuoles and Adipophilin

Clinical classification	Histological diagnosis	case	Cytoplasmic vacuoles (Giemsa stain)		Adipophilin (IHC)		
			Frequent	Infrequent	-	±	+
Indolent lymphoma	Follicular lymphoma (grade 1-2)	13	0	13	12	1	0
Moderately aggressive lymphoma	Follicular lymphoma (grade 3)	4	1	3	2	1	1
	Angioimmunoblastic T-cell lymphoma	2	0	2	1	1	0
Aggressive lymphoma	Diffuse large B-cell lymphoma	34	8	26	17	6	11
	Peripheral T-cell lymphoma	2	0	2	1	1	0
	Anaplastic large cell lymphoma, ALK+	2	2	0	0	0	2
	Anaplastic large cell lymphoma, ALK-	1	0	1	1	0	0
Highly aggressive lymphoma	Burkitt lymphoma	2	2	0	0	1	1
	Adult T-cell leukemia/lymphoma	3	1	2	1	1	1

Cytoplasmic vacuoles : Imprint smear of the organ.

Adipophilin (IHC) : Immunohistochemistry of the organ. Appearance rate of positive granules (>1 μm in size) ; - : <10% ; ± : 10-39% ; + : ≥40%

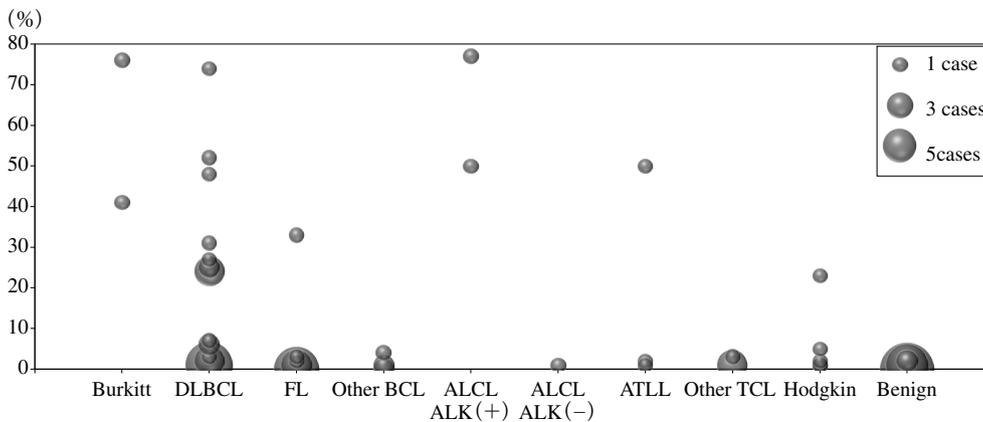


Fig. 1 Percentages of cytoplasmic vacuoles in malignant lymphoma and benign lesion

Burkitt : Burkitt lymphoma, DLBCL : diffuse large B-cell lymphoma, FL : follicular lymphoma, Other BCL : B-cell malignant lymphoma except DLBCL and FL, ALCL : anaplastic large cell lymphoma, ATLL : adult T-cell leukemia/lymphoma, Other TCL : T-cell malignant lymphoma except ALCL and ATLL, Hodgkin : Hodgkin lymphoma, Benign : benign lesion of the lymph node

このことから暫定的に adipophilin の判定は、1 μm 以上の陽性顆粒が 10% 未満を (-), 1 μm 以上の陽性顆粒が 10~39% を (±), 1 μm 以上の陽性顆粒が 40% 以上を (+) とした。27 例中 (+) が 13 例, (±) は 1 例であった。細胞質内空胞が多く Sudan III 染色陽性の悪性リンパ腫 9 例は、すべて adipophilin (+) であった。細胞質内空胞が多く Sudan III 染色陰性の悪性リンパ腫 1 例は、adipophilin (-) であった。細胞質内空胞が少ない悪性リンパ腫 1 例は、Sudan III 染色陽性で adipophilin (+) であった。細胞質内空胞が少ない悪性リンパ腫で Sudan III 染色陰性の adipophilin (+) が 3 例, adipophilin (±) 1 例であった。他の悪性リンパ腫 10 例とリンパ節炎 2 例は、adipophilin (-) であった (Table 5)。BL の 1 例と DLBCL の 6 例, ALK 陽性 ALCL 2 例は、Sudan III 染色陽性と adipophilin (+) が同

様の染色態度 (Photo. 2a, d) を示した。

Adipophilin の免疫組織化学は、陽性細胞出現率では良性リンパ節病変の 23 例が 16% 以下であった。78 例の悪性リンパ腫で陽性細胞出現率が 20% 以下は 38 例あったが、出現率の 40% 以上の 22 例は悪性リンパ腫であった。染色で 1 μm 以上の陽性顆粒出現率の判定は、(-) 67 例, (±) 15 例, (+) 19 例であった (Table 5)。悪性リンパ腫 78 例では (±) 15 例, (+) 19 例, BL の 2 例は (±) 1 例, (+) 1 例 (Photo. 3a)。DLBCL の 34 例は (±) 6 例, (+) 13 例 (Photo. 3b)。FL の 20 例は (±) 2 例, (+) 1 例。DLBCL と FL 以外の B 細胞性リンパ腫の 6 例はすべて (-), ALK 陽性 ALCL の 2 例はすべて (+) (Photo. 3c), ALK 陰性 ALCL の 1 例は (-)。ATLL の 3 例は (±) 1 例, (+) 2 例。ALCL と ATLL 以外の T 細胞性リンパ腫 5 例は、

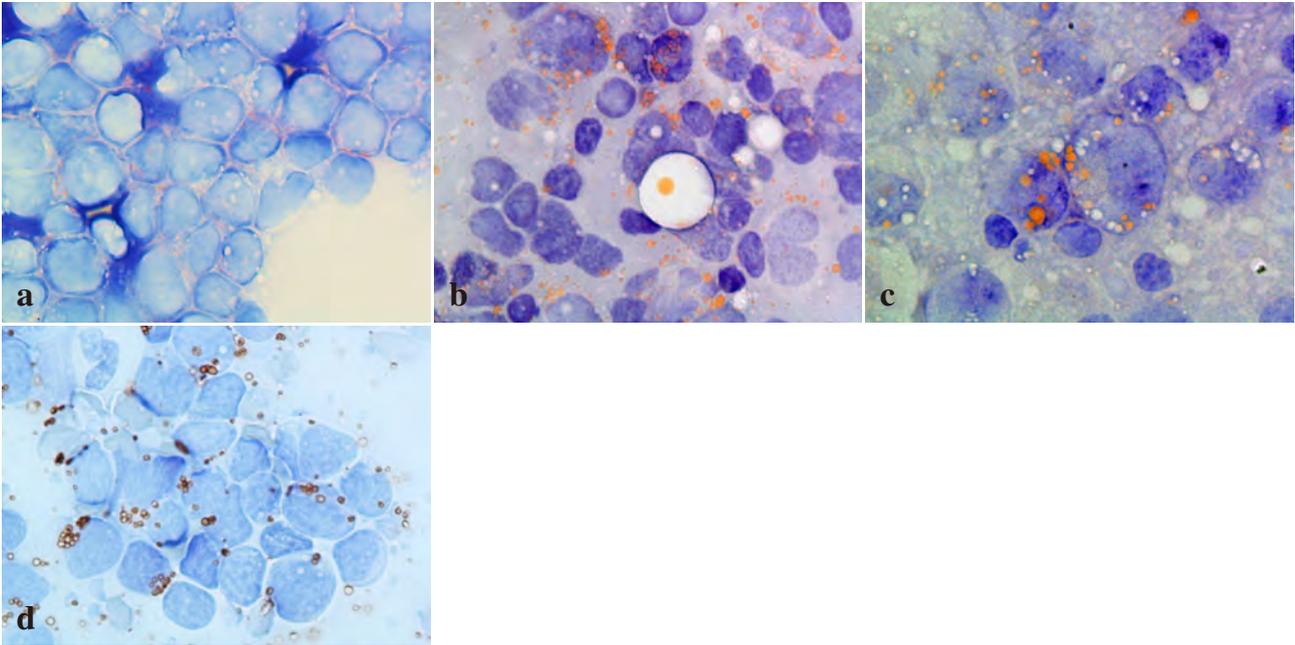


Photo. 2 Lipid vacuoles stained with Sudan III

a : Burkitt lymphoma. Small fat granules showing positive Sudan III staining ($\times 100$).

b : Diffuse large B-cell lymphoma. Small-to medium-sized fat granules showing positive Sudan III staining ($\times 100$).

c : Anaplastic large cell lymphoma, ALK (+). Medium-to large-sized fat granules showing positive Sudan III staining ($\times 100$).

d : Burkitt lymphoma. Immunocytochemical staining demonstrated a positive result of immunohistochemistry for adipophilin as well as positive Sudan III staining ($\times 100$).

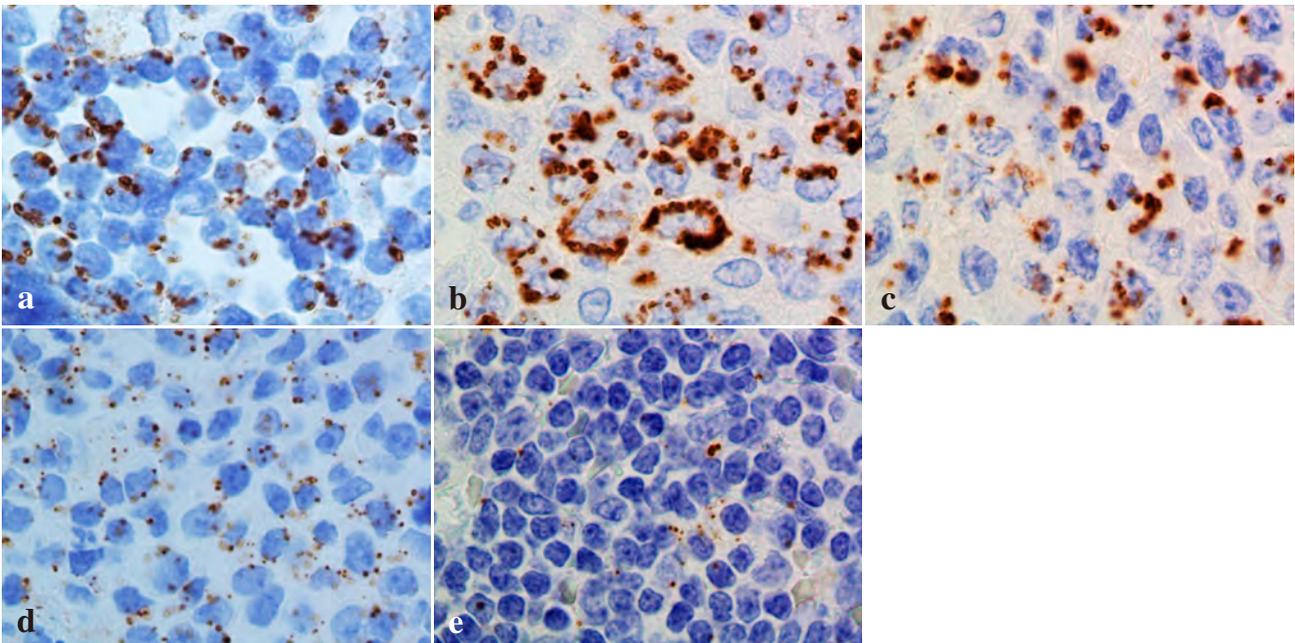


Photo. 3 Immunohistochemical staining for adipophilin

a : Burkitt lymphoma. ($\times 100$), b : Diffuse large B-cell lymphoma ($\times 100$).

c : Anaplastic large cell lymphoma, ALK (+) ($\times 100$), d : Follicular lymphoma ($\times 100$).

e : Lymphadenitis ($\times 100$).

A large number of tumor cells showing positively stained granules, and the positive granules are medium to large in size (a, b, c). A large number of tumor cells showing positively stained granules, and the positive granules are small in size (d). A few small cells showing positively stained granules and the positive granules are small in size (e).

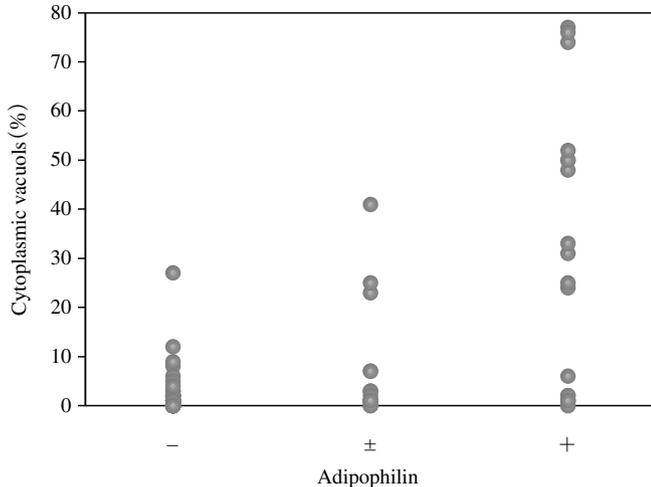


Fig. 2 Correlation between the detection rate of cytoplasmic vacuoles and positivity rate of immunohistochemistry for adipophilin
 Cytoplasmic vacuoles (%) : Percentages of cytoplasmic vacuoles in Giemsa-stained sections : Adipophilin (IHC) : Immunohistochemistry of the organ : - (negative) : Less than 10% of the cells showing positively stained granules $\geq 1 \mu\text{m}$ in size : ± (borderline) : 10-39% of cells showing positively stained granules $\geq 1 \mu\text{m}$ in size : + (positive) : More than 40% of the cells showing positively stained granules $\geq 1 \mu\text{m}$ in size

(-) が2例, (±) が3例, Hodgkin の5例は (±) が2例, 良性病変の23例はすべて (-) (Table 5) であった。

ギムザ染色における空胞含有細胞出現率が20%以上の15例では, 1例以外は adipophilin (±) 3例と (+) 11例であった。また, 空胞含有細胞出現率が20%未満で adipophilin (±) 12例と (+) 6例であった。66例は空胞含有細胞出現率が20%未満で adipophilin (-) であった (Fig. 2)。

臨床分類と細胞質内空胞と adipophilin の検討では, 低悪性度リンパ腫である indolent lymphoma の FL (grade 1-2) 13例はすべて細胞質内空胞が少なく, adipophilin (-) が12例, (±) が1例であった。FL (grade 3) 4例は高悪性度リンパ腫の moderately aggressive lymphoma であり, 1例は細胞質内空胞が多く adipophilin (+), 3例は細胞質内空胞が少なく adipophilin (±) 1例, (-) 2例であった。細胞質内空胞の多い14例と adipophilin (+) の15例はすべて高悪性度リンパ腫の moderately aggressive lymphoma, aggressive lymphoma, highly aggressive lymphoma であった。

IV. 考 察

悪性リンパ腫のギムザ染色における細胞質内空胞はBLに限らずBL以外の悪性リンパ腫でもしばしば経験される。今回の検討からはBL以外の悪性リンパ腫でも細胞質内に空胞を有する空胞含有細胞出現率の高率な悪性リンパ腫を確認できた。中でもDLBCLの一部, ALCLやATLLでは高率に空胞含有細胞を有し, 細胞形態からみると大型リンパ球大の腫瘍細胞で構成される悪性リンパ腫に多い傾向がみられた。空胞の由来についてはBLで脂肪滴が証明されるものの, 他の悪性リンパ腫の空胞の由来についての報告は少ない。またBLにみられる脂肪滴を証明するには凍結切片を用いた染色が必須でありホルマリン固定パラフィン切片やPap.染色では不可となる。そこで, ホルマリン固定パラフィン切片での脂肪滴膜の抗体としてADRP(adipocyte differentiation-related protein : adipophilin)に着目し検討を行った。脂肪滴膜蛋白はPATファミリーとして, PLIN1がPerilipin, PLIN2がAdipophilin, PLIN3がTIP47, PLIN4がS3-12, PLIN5がMLDPとされる⁹⁻¹¹⁾。Perilipinは脂肪細胞とステロイド産生性細胞のみに存在し adipophilinは全身に存在すること, 脂肪滴が肥大化するにつれてadipophilinが脂肪滴表面から消失し代わりにPerilipinがコートする¹⁰⁾。このことから細胞質内空胞と脂肪滴蛋白抗体の検討を目的として抗adipophilin抗体の免疫組織化学を行った。結果, 細胞質内空胞の多い症例では1例を除きadipophilin (±)あるいは(+), またSudanⅢ染色の検討からも9例に細胞質内の脂肪滴を認めた。今回の検討において, SudanⅢ染色で陽性を示したBLとBL以外の悪性リンパ腫9例は, SudanⅢ染色とadipophilinついてはほぼ同様の染色態度を示した。横山らは, ギムザ染色において多数の不染小空胞を認めたB細胞性リンパ腫で電顕的に脂肪滴であったことを述べている¹²⁾。一方, 細胞質内空胞が多くadipophilin (-)だった1例は, SudanⅢ染色においても陰性であり, 細胞内小器官の変性に由来する空胞の可能性が考えられた。van Pelt-Verkuilら, Hiroseらや村尾らは, ミトコンドリアや小胞体の膨化, 変性による細胞質内空胞の存在を述べている¹³⁻¹⁵⁾。このように空胞の由来が脂肪滴とは限らないもののBL以外の悪性リンパ腫においてもSudanⅢ染色とadipophilinがBLとほぼ同様に陽性を示したことから, 細胞質内空胞は脂肪滴に由来する症例が存在することが考えられた。

Adipophilinの免疫組織化学染色の陽性率についてはAmbrosioらがBLの96%の陽性を示し, BL以外のB細胞性リンパ腫は9%の陽性であったと述べている⁴⁾。今回の

検討において判定 (+) は BL では 1/2 例 (50%), 悪性リンパ腫全体では 19/78 例 (24%), B 細胞性リンパ腫のみでは 15/62 (24%) と Ambrosio らの報告より高い結果を示した。抗 adipophilin 抗体は脂肪滴膜と反応するが, 脂肪そのものを認識してはいない。金光らは拡大内視鏡における胃の腸上皮化生などの粘膜表層の白色不透明物質が adipophilin 陽性の脂肪滴であると述べている¹⁶⁾が, Miyanari ら, Counihan らや Mensa らは, C 型肝炎ウイルスのコア蛋白との反応¹⁷⁻¹⁹⁾を, Muthusamy らや Ostler らは, 細胞質内脂質との非特異反応について述べている^{7,8)}。ギムザ染色における細胞質内空胞を多く認める症例の adipophilin 陽性顆粒は 2 μm 以上と大型であり, 陽性顆粒が 1 μm 以下と小型で比較的多く出現する症例 (Photo. 2d) や良性リンパ節病変などでは陽性顆粒が少ない傾向を示した。すなわち adipophilin の陽性顆粒が小さい場合は, 非特異反応の可能性が示唆された。一方, adipophilin 陽性細胞出現率からは良性リンパ節病変で 20% 以下であり, 40% 以上は悪性リンパ腫のみであった。Adipophilin 陽性顆粒の大きさを 1 μm 以上の出現率で評価すると, 良性病変ではすべて (-) であり, (±) と (+) の大きい顆粒を認める症例にのみ Sudan III 染色で陽性物質を認めた。しかし, 判定が (±) と (+) で大きい顆粒を認める症例であっても Sudan III 染色が陰性, ギムザ染色は空胞の少ない例は脂肪空胞との関連があるとはいえない。Adipophilin の染色性とギムザ染色の細胞質内空胞との関連が明らかではない症例を認めるが, adipophilin の陽性細胞出現率が多い症例や陽性顆粒が大きい症例は悪性リンパ腫を示唆すると思われる。また, ギムザ染色の細胞質内空胞はすべてが脂肪空胞ではないが, 良性リンパ節病変では 10% 以下, 20% 以上は悪性リンパ腫のみであったことから空胞含有細胞率が 20% 以上出現する症例は悪性リンパ腫を示唆する所見と思われた。

低悪性度リンパ腫の indolent lymphoma は, FL (grade 1-2) のみであったが, 細胞質内空胞は少なく adipophilin の判定 (-) が多い傾向を示した。FL (grade 3) の高悪性度リンパ腫の moderately aggressive lymphoma は, 1/4 例に細胞質内空胞を多く認め, adipophilin の判定は 2/4 例が (+) (±) であった。細胞質内空胞を多く認めた症例と adipophilin の判定 (+) の症例は, すべて高悪性度リンパ腫であった。このことから, 細胞質内空胞あるいは adipophilin の大きな陽性顆粒が多い症例は, 高悪性度リンパ腫が示唆される。

悪性リンパ腫の各種組織型における細胞質内空胞含有率では, 症例数は少ないものの細胞質内空胞 20% 以上の出現は ALK 陽性 ALCL で 100% と高率であった。ALCL の細胞質内空胞については牟田らが ALK 陽性症例で空胞を認め

ること²⁰⁾, 塩岡らが ALK 陰性症例で小空胞を認めることを述べており²¹⁾, 空胞の出現が多いことが示唆される。また ATLL についても細胞質内空胞が高率にみられ, 吉川らは大型~巨細胞優位で細胞質は塩基性に富み空胞形成が著明であったことを述べている²²⁾。すなわち細胞診断において大型で多形性に富む核形不整を有する腫瘍細胞の出現様相に加え, 細胞質内空胞を有する所見は ALCL や ATLL の可能性を示唆するものと思われた。また, 中型リンパ球大で類円形核の腫瘍細胞が単調な像を示し, 強好塩基性の胞体に空胞をもつ異常細胞は BL の可能性が考えられ²³⁾, さらに大型リンパ球大の異常細胞で核にくびれや切れ込みをもつ核形不整の目立つ淡染性~好塩基性の胞体²¹⁾に空胞をもつ異常細胞は DLBCL の可能性が考えられる。ギムザ染色における細胞質内空胞の出現が多い組織型は, BL, DLBCL, ALCL, ATLL と比較的核異型の強い大型細胞の腫瘍であるが, 細胞形態の特徴と細胞質内空胞の有無から良悪性ならびに組織型を推定し, 加えて adipophilin 抗体を用いた免疫組織化学染色や免疫細胞化学染色による検索も有用であると思われた。

V. 結 語

BL 以外の悪性リンパ腫においてもギムザ染色における細胞質内空胞の一部は, 脂肪に由来することが確認できた。Adipophilin の免疫組織化学において, 陽性細胞が多く顆粒の大きい症例は悪性リンパ腫を示唆された。ギムザ染色における細胞質内空胞は, 20% 以上の出現で悪性リンパ腫を示唆された。細胞質内空胞の出現が多い組織型は, BL, DLBCL, ALCL, ATLL と考えられた。悪性リンパ腫の組織型推定において, 細胞形態の特徴と細胞質内空胞の出現率が有用であることが示唆された。

筆者らは, 開示すべき利益相反状態はありません。

本文の主旨は第 55 回日本臨床細胞学会総会 (2014 年 6 月, 横浜) にて発表し, 症例数を増やし検討したものである。

謝辞 稿を終えるにあたり, 御教示いただきました福岡大学筑紫病院 病理部 南部雅美技師長に深謝いたします。

Abstract

Objective : In Burkitt lymphoma (BL), fat vacuoles can be seen in the cytoplasm in Giemsa-stained sections cytoplasmic vacuoles are also seen in other malignant lymphomas. We examined the correlation between the rate of detection of cytoplasmic vacuoles in sections stained with Giemsa and the positivity rate on adipophilin immunohistochemistry.

Study Design : We performed Giemsa staining and adipophilin immu-

nostaining of sections obtained from 101 patients, with both benign and malignant lesions. In addition, Sudan III staining was performed in a few cases.

Results : Cytoplasmic fat vacuoles were seen in less than 10% of the benign lesions, whereas they were observed in more than 20% of the malignant lesions. Immunohistochemistry for adipophilin was positive in less than 20% of benign lesions, whereas a high percentage of malignant lymphomas showed positive adipophilin reactivity. On Sudan III staining, positive staining were seen in the case of BL, diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and anaplastic large cell lymphoma (ALCL).

Conclusion : According to the staining results, it may be considered that the cytoplasmic vacuoles are fat vacuoles. In our series, a higher incidence than 20% of lymphocytic cytoplasmic vacuoles on Giemsa staining was observed only in cases of malignant lymphoma : therefore, cytoplasmic vacuoles occurring at a higher frequency of 20% should suggest the possibility of malignant lymphoma. A large number of cells in BL, DLBCL, ALCL and adult T-cell leukemia/lymphoma were found to contain cytoplasmic vacuoles.

文 献

- 1) Wright, D. H. Cytology and histochemistry the Burkitt lymphoma. *Br J Cancer* 1963 ; 17 : 50-55.
- 2) Stastny, J. F., Almeida, M. M., Wakely, P. E. Jr., Kornstein, M. J., Richmond, W. J. Fine-needle aspiration and imprint cytology of small non-cleaved cell (Berkitt's) lymphoma. *Diagn Cytopathol* 1995 ; 12 : 201-207.
- 3) 日本血液学会/日本リンパ網内系学会, 編. 造血器主要取扱い規約 第1版. 東京 : 金原出版 ; 2010.
- 4) Ambrosio, M. R., Piccaluga, P. P., Ponzoni, M., Rocca, B. J., Malagnino, V., Onorati, M., et al. The alteration of lipid metabolism in Burkitt lymphoma identifies a novel marker : Adipophilin. *PLoS One* 2012 ; 7 : 1-7.
- 5) Heid, H. W., Moll, R., Schwetlick, I., Rackwitz, H. R., Keenan, T. W. Adipophilin is a specific marker of lipid accumulation in diverse cell types and diseases. *Cell Tissue Res* 1998 ; 294 : 309-321.
- 6) McManaman, J. L., Zabaronick, W., Schaack, J., Orlicky, D. J. Lipid droplet targeting domains of adipophilin. *J Lipid Res* 2003 ; 44 : 668-673.
- 7) Muthusamy, K., Halbert, G., Roberts, F. Immunohistochemical staining for adipophilin, perilipin and TIP47. *J Clin Pathol* 2006 ; 59 : 1166-1170.
- 8) Ostler, D. A., Prieto, V. G., Reed, J. A., Deavers, M. T., Lazar, A. J., Ivan, D. Adipophilin expression in sebaceous tumors and other cutaneous lesions with clear cell histology : an immunohistochemical study of 117 cases. *Mod Pathol* 2010 ; 23 : 567-573.
- 9) 佐藤隆一郎. 脂肪細胞肥大と脂肪滴形成 : ペリリピンの機能. *Lipid* 2007 ; 18 : 375-378.
- 10) 山口智広, 大隅 隆. 脂肪分解における Perilipin の展開. *Lipid* 2008 ; 19 : 35-41.
- 11) 山口智広. 脂肪滴での中性脂肪の蓄積と分解を制御する PTA ファミリー. *昭和大薬誌* 2010 ; 1 : 39-51.
- 12) 横山いさみ, 山下和也, 横澤正志, 三富弘之, 本告 匡, 木田芳樹・ほか. Multilobate B 細胞性リンパ腫 1 例. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 (4) : 358-362.
- 13) van Pelt-Verkuil, E., Dirkx, C. Transplantation experiments with the fat body of Calliphora : a morphometric study of induced ultrastructural changes. *Cell Tissue Res* 1979 ; 203 : 267-281.
- 14) Hirose, Y., Shimizu, S., Yoshioka, R., Tachibana, J., Sugai, S., Takuguchi, T., et al. Light and electron microscopic study of vacuolated cells in immunoblastic lymphadenopathy-like T-cell lymphoma. *Jpn J Cancer Res* 1990 ; 81 : 376-382.
- 15) 村尾 烈, 戸田完治. 胃平滑筋腫細胞質内空胞形成に関する電顕的検索. *細胞核病理誌* 1984 ; 21 : 15-19.
- 16) 金光高雄, 八尾建史, 長濱 孝, 松井敏幸, 岩下明德. 早期胃癌の拡大内視鏡像と病理所見の対比. *病理と臨* 2013 ; 31 : 1183-1192.
- 17) Miyanari, Y., Atsuzawa, K., Usuda, N., Watashi, K., Hishiki, T., Zayas, M., et al. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol* 2007 ; 9 : 1089-1097.
- 18) Counihan, N. A., Rawlinson, S. M., Lindenbach, B. D. Trafficking of hepatitis C virus core protein during virus particle assembly. *PLoS Pathog* 2011 ; 7 : e1002302.
- 19) Mensa, L., Perez-del-Pulgar, S., Crespo, G., Koutsoudakis, G., Fernandez-Carrillo, C., Coto-Llerena, M., et al. Imaging of hepatitis C virus infection in liver grafts after liver transplantation. *J Hepatol* 2013 ; 59 : 271-278.
- 20) 牟田正一, 佐藤和宗, 竹下和美, 前田美保子, 岡村精一. 中枢神経浸潤を呈した成人発症の小細胞型未分化大細胞リンパ腫, ALK 陽性. *日検血誌* 2011 ; 12 : 454-459.
- 21) 塩岡忠夫, 山本幸子, 山西利恵, 長谷川和子, 岡崎幸枝, 白石誠・ほか. CD-30, EMA 陽性の悪性リンパ腫の 2 例. *日臨細胞香川会報* 1999 ; 11 : 60-66.
- 22) 吉川慎一, 信岡 亮. 末梢血好中球増加と骨髄中異常細胞の出現をみた 1 症例. *日検血誌* 2014 ; 15 : 217-222.
- 23) 三谷俊幸, 畠山重春, 岸本浩次, 松井武寿. リンパ節細胞診—悪性リンパ腫を中心に—. 東京 : 医歯薬出版 ; 2005.

リンパ節穿刺吸引細胞診における迅速細胞診検査の有用性

土田 秀¹⁾ 布瀬川卓也¹⁾ 神山 晴美¹⁾ 山崎 真美²⁾
 高田 温子⁴⁾ 中里 宜正⁴⁾ 飯島 美砂²⁾ 鹿沼 達哉³⁾
 小島 勝⁴⁾

群馬県立がんセンター病理検査課¹⁾, 同 病理部²⁾, 同 婦人科³⁾, 獨協医科大学病理学 (形態)⁴⁾

目的: リンパ節の穿刺吸引細胞診に迅速細胞診検査を併用することで, 確定診断を目的とした組織採取を迅速に施行することが可能か検討を行った。

方法: 頸部リンパ節の穿刺吸引細胞診が行われた後にリンパ節摘出術が施行された 27 例を対象とし, 迅速細胞診検査の導入前後で穿刺吸引細胞診施行からリンパ節摘出までの日数, 細胞診と組織診の結果の比較を行った。

成績: 穿刺吸引細胞診施行からリンパ節摘出までの日数の比較は, 導入後の群で優位に短期間であった。また, 細胞診と組織診の結果の比較では, 導入前の正診率が 90% で導入後の正診率が 88.2% であった。

結論: リンパ節の穿刺吸引細胞診に迅速細胞診検査を併用することで, 必要に応じ迅速な組織採取が施行され, 迅速な治療に繋がると思われた。

Key words : Aspiration cytology, Rapid on-site cytologic evaluation, Malignant lymphoma, Lymph node biopsy, Cytology

I. はじめに

頸部などの表在リンパ節に腫脹がみられた場合, 通常はまず穿刺吸引細胞診が行われる。穿刺吸引細胞診では予後, 治療法を考えるうえで良性病変, 癌の転移, 悪性リン

パ腫などの鑑別が求められる¹⁻³⁾。現在の悪性リンパ腫の診断では, 形態的診断に加え免疫学的表現型を検索するために, 免疫組織化学とフローサイトメトリー (flow cytometry : FCM) の併用が一般化している^{3,4)}。また, 悪性リンパ腫ではさまざまな染色体異常が見出され⁵⁾, FCM と同時に染色体検査が行われることも多い。FCM や染色体検査は新鮮組織が用いられることから, 迅速な診断には迅速な組織採取が必要であり, ホルマリン固定前にリンパ節を分割し, これらの検査のための組織を確保する必要がある。ベッドサイドでの迅速細胞診検査 (rapid on-site cytologic evaluation : ROSE) は採取された生検組織の評価を目的に多くの施設で行われているが, リンパ節の穿刺吸引細胞診における ROSE の有用性についての検討は行われていないと思われる。

今回, リンパ節の穿刺吸引細胞診に ROSE を併用し, 細胞所見を臨床医へ伝えることで迅速な治療方針の決定に繋がるか検討を行った。

Usefulness of combining rapid on-site cytologic evaluation with fine-needle aspiration cytology of the neck lymph nodes

Shigeru TSUCHIDA¹⁾, C. T., J. S. C., Takuya FUSEGAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Harumi KAMIYAMA¹⁾, C. T., J. S. C., Mami YAMAZAKI²⁾, D. D. S., Atsuko TAKADA⁴⁾, M. D., Yoshimasa NAKAZATO⁴⁾, M. D., Misa IJIMA²⁾, M. D., Tatsuya KANUMA³⁾, M. D., Masaru KOJIMA⁴⁾, M. D.

¹⁾Department of Clinical Laboratory, ²⁾Department of Pathology, ³⁾Department of Gynecology, Gunma Prefectural Cancer Center

⁴⁾Department of Anatomic and Pathology, Dokkyo University School of Medicine

論文別刷請求先 〒 373-8550 群馬県太田市高林西町 617 の 1 群馬県立がんセンター病理検査課 土田 秀

平成 28 年 1 月 20 日受付

平成 28 年 4 月 13 日受理

Table 1 Clinical characteristics of the 27 patients

	Before introduction of ROSE (2011-2012)	After introduction of ROSE (2013-2014)
Age (yr ; mean ± SD)	58 ± 18	69 ± 13
Sex	Male 4 Female 6	Male 9 Female 8
Clinical diagnosis	Neck lymph node swelling 2 Suspected malignant lymphoma 5 Suspected metastasis of lymph node 3	Neck lymph node swelling 3 Suspected malignant lymphoma 11 Suspected metastasis of lymph node 3

Table 2 Ultrafast Papanicolaou stain on air-dried smears

1	Imprint and drying	
2	Normal saline	15 seconds
3	100% Ethanol	3 slow dips
4	65% Alcohol 4% formalin	10 slow dips
5	Hot water	5 slow dips
6	Gill's hematoxylin V	5 slow dips
7	Hot water	10 slow dips
8	100% Ethanol	5 slow dips
9	Equal mixture of OG6 and EA50	10 slow dips
10	100% Ethanol	5 slow dips
11	100% Ethanol	5 slow dips
12	Xylene	5 slow dips
13	Mount and coverslip	

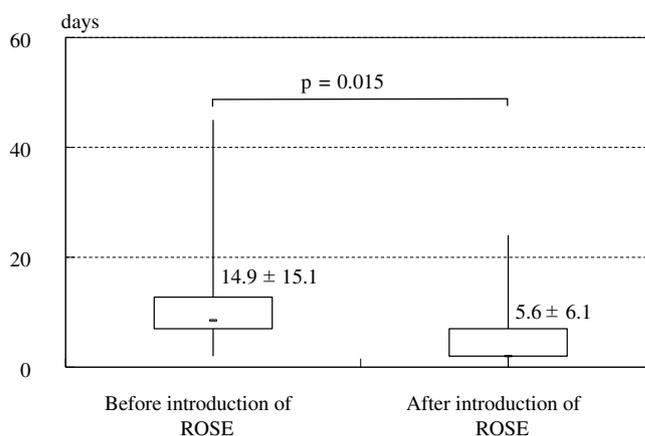


Fig. 1 Comparison of the mean number of days to lymph node dissection after fine-needle aspiration biopsy

II. 対象と方法

2011年1月～2014年12月の間に頸部リンパ節の穿刺吸引細胞診が行われた273例のうち、リンパ節摘出術により病理組織診断が確定した27例を対象とした (Table 1)。対象はROSE導入前後で穿刺吸引細胞診施行からリンパ節摘出までの日数、穿刺吸引細胞診と組織診の結果の比較を行った。また、不一致例について組織標本を対照として穿刺吸引細胞診と捺印細胞診で細胞所見の比較を行った。ROSEは外来などの穿刺施行場所に細胞検査士が出向き、合わせ法で2枚の標本作製した。2枚の標本のうち1枚に乾燥迅速パパニコロウ (Ultrafast Papanicolaou stain on air-dried smears : UFP) 染色 (Table 2) を施して鏡検を行い、出現している細胞の所見を臨床医へ口頭で伝えて迅速検査の報告とした。迅速検査後の標本は検査室に戻った後にカバーガラスをはずし、他の1枚と同時にPap.染色を施し報告書を作成した。統計学的検定は穿刺吸引細胞診施行からリンパ節摘出までの日数の比較にはWilcoxonの順位和検定を、正診率の比較にはFisherの正確確率検定を用い、5%以下の危険率をもって有意差ありと判定した。

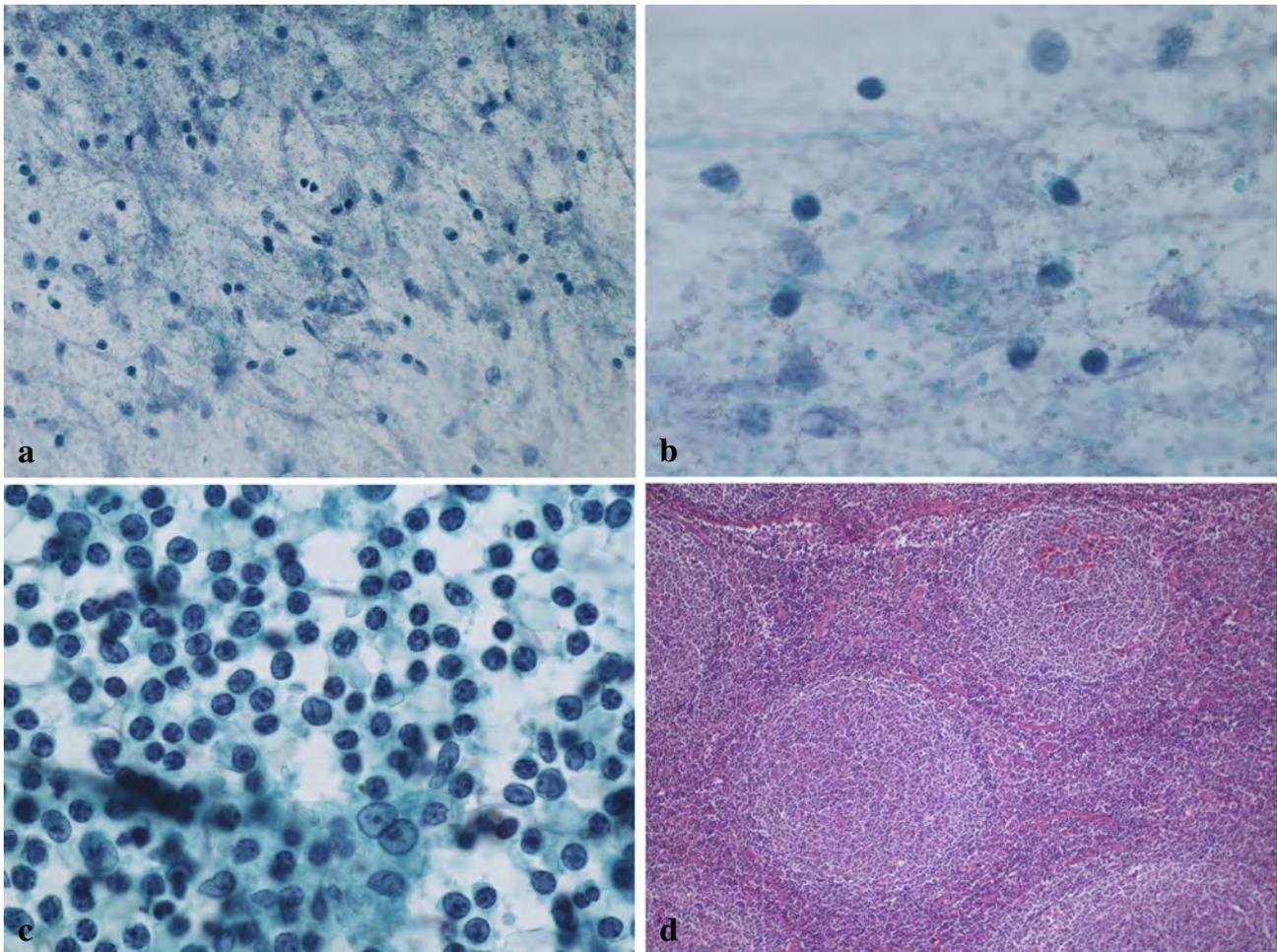
III. 結 果

穿刺吸引細胞診施行からリンパ節摘出までの日数はROSE導入前 (導入前) が2～41日で平均は14.9 ± 15.1日、ROSE導入後 (導入後) が0～24日で平均が5.6 ± 6.1日、導入前後で比較すると導入後が有意に短期間であった (Fig. 1)。導入前の組織診の結果は反応性リンパ濾胞過形成が2例、類上皮肉芽腫が2例、悪性リンパ腫が6例で、導入後はサルコイドーシスが1例、伝染性単核球症が1例、猫ひっかき病が1例、悪性リンパ腫が11例、癌の転移が3例であった。穿刺吸引細胞診と組織診の結果の比較では、導入前の陰性的中率が80%、陽性的中率が100%、正診率が90%、導入後の陰性的中率が100%、陽性的中率が87.5%、正診率が88.2%で、導入前後で正診率に有意差は認められなかった (Table 3)。また、導入後のROSEの細胞所見と最終報告の結果はすべて一致していた。

導入前の穿刺吸引細胞診と組織診の診断不一致例1例の穿刺吸引細胞診標本は全体的に細胞数が少なく、成熟リンパ球を主体に中型リンパ球や少数の好中球が混在していたため陰性と判定した (Photo. 1a, b)。リンパ節摘出時の捺

Table 3 Comparison of the diagnosis before and after the introduction of ROSE

		Histology		
		Negative	Malignant	
Aspiration cytology	Before introduction of ROSE	Negative	4	1
		More than doubtful reaction	0	5
	After introduction of ROSE	Negative	1	0
		More than doubtful reaction	2	14

**Photo. 1** Cytological and histological findings in consistent cases before the introduction of ROSE

- a : Only a few cells were present in the fine-needle aspiration cytology specimen, and lymphocytes of various sizes were admixed (Pap. staining, $\times 40$).
- b : Most of the lymphocytes were small lymphocytes (Pap. staining, $\times 100$).
- c : In the germinal center region of the touch smear cytology preparation, monotonic appearance of tumor cells containing nuclei constricted in the middle, similar to the germinal center cells, was noted (Pap. staining, $\times 100$).
- d : In the histological preparation, swelling and outgrowth of non-uniform follicles with an unclear margin were observed (HE staining, $\times 10$).

印標本では、lymphoglandular bodyと思われるライトグリーンに好染性の無構造物質を背景に大小のリンパ球が多数出現していた。胚中心領域では中型リンパ球大で胚中心細胞に類似した核のくびれた腫瘍細胞が単調に出現し、tingible body macrophage (TBM) や核分裂像は認められ

ず、悪性リンパ腫を推測した (Photo. 1c)。組織標本では辺縁が不明瞭で不揃いな濾胞が腫大、増生していた。胚中心には腫大した卵円形の核と狭い細胞質を有する腫瘍細胞が増生していた (Photo. 1d)。腫瘍細胞は免疫組織化学的検索で CD20 と BCL-2 が陽性、CD3 と CD5 は陰性で grade

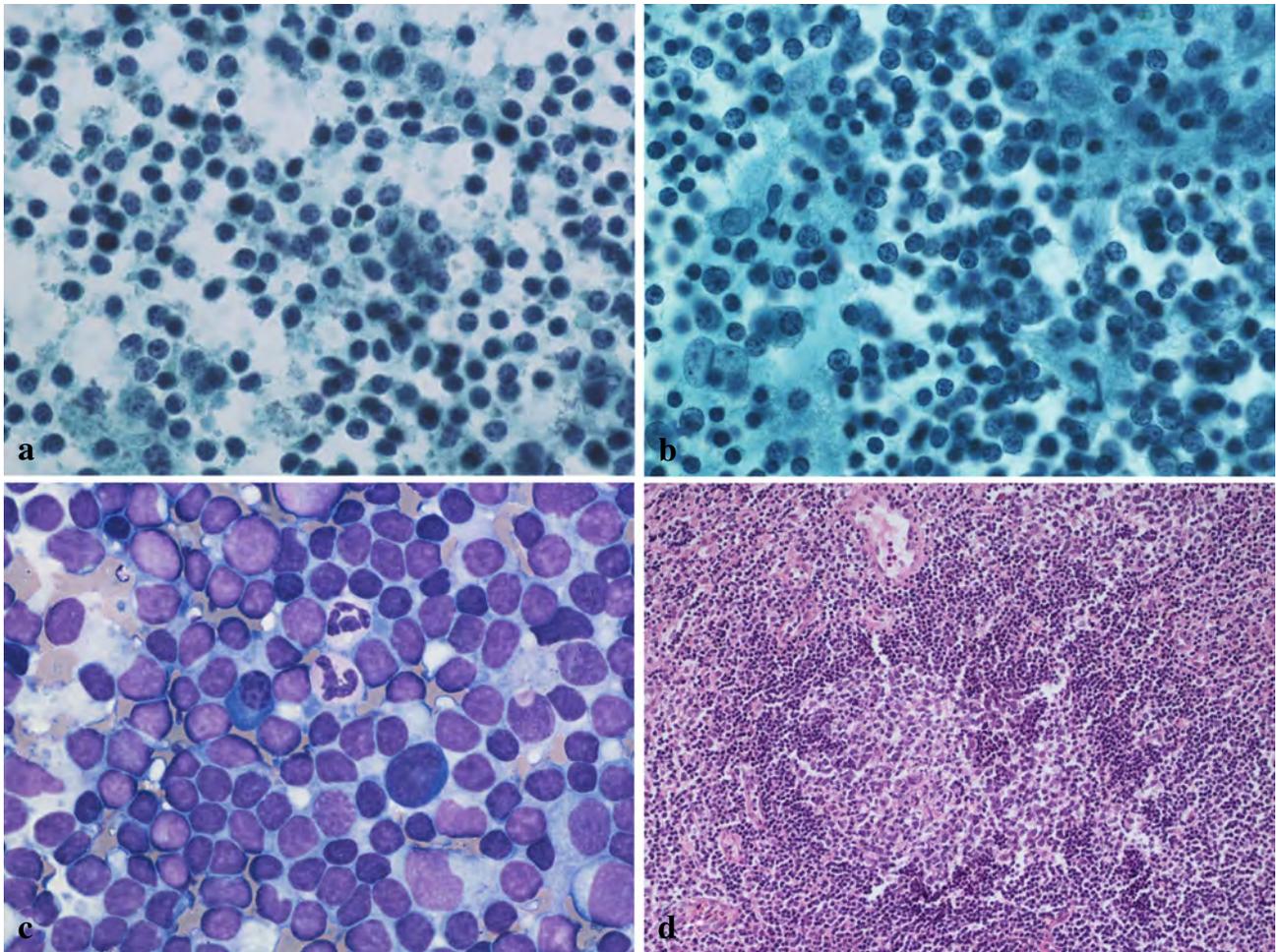


Photo. 2 Cytological and histological findings of the first inconsistent case after the introduction of ROSE

a : Lymphocytes of various sizes were admixed in the fine-needle aspiration cytology specimen (Pap. staining, $\times 100$).

b : In the touch smear cytology preparation, medium-sized and large lymphocytes, mainly mature lymphocytes, were present, and follicular dendritic cells were scattered (Pap. staining, $\times 100$).

c : In the touch-smear cytology preparation stained with Wright-Giemsa stain, diverse types of cells, including plasma cells, were present (Wright-Giemsa staining, $\times 100$).

d : The existing germinal center was destroyed but remained in the histological preparation, and the paracortical region was retained with expansion of the marginal zone (HE staining, $\times 20$).

1-2 の濾胞性リンパ腫と診断された。

導入後の不一致例の1例目は穿刺吸引細胞診標本には大小のリンパ球が混在して出現し、濾胞樹状細胞やTBMは認められなかった。背景には lymphoglandular body と思われる無構造物質が認められ、良悪性の判定が困難であったことから疑陽性と判定した(Photo. 2a)。捺印標本では成熟リンパ球を主体に中型や大型リンパ球、類上皮細胞や濾胞樹状細胞が散見された(Photo. 2b)。また、ライトギムザ(WG)染色標本では核周明庭のみられる好塩基性の細胞質と車軸状の核クロマチンの偏在性核を有する形質細胞も混在して認められ、良悪性の判定が困難であったことから疑陽性と判定した(Photo. 2c)。組織標本では既存の胚中心は崩れながらも残存し、辺縁帯の拡張を伴い傍皮質領域は保

たれていた。また、線維化が高度で血管の拡張が目立っていた。胚中心の細胞は BCL-2 が陰性でやや大型の細胞は CD30 が陽性、一部のやや大型の細胞は *in situ* hybridization 法による EBV-encoded small RNA が陽性で、伝染性単核球症と診断された(Photo. 2d)。

導入後の不一致例2例目の穿刺吸引細胞診標本は壊死を背景に大小のリンパ球が出現し、核小体のみられる中型リンパ球が比較的多数混在していた。類上皮細胞や多核巨細胞は認められなかった。また、濾胞樹状細胞が出現していたがTBMや核分裂像は認められなかったため、悪性リンパ腫の可能性も考えられ疑陽性と判定した(Photo. 3a, b)。捺印標本は細胞成分の乏しい標本であった。少量の壊死物質を伴い出現していた細胞は核小体のみられる中型リンパ

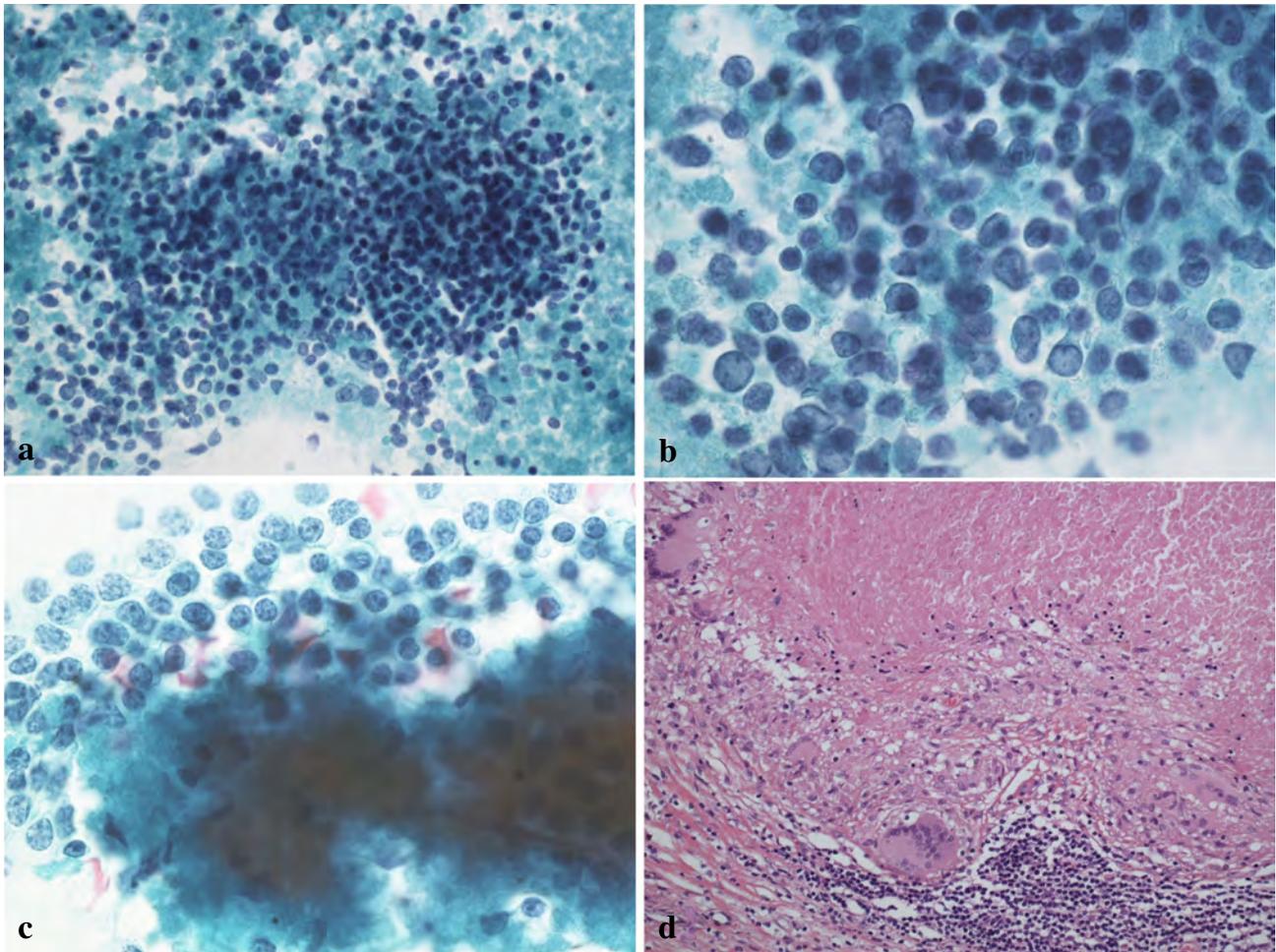


Photo. 3 Cytological and histological findings of the second inconsistent case after the introduction of ROSE

- a : Lymphocytes of various sizes were present in a necrotic background in the fine-needle aspiration cytology specimen (Pap. staining, $\times 40$).
- b : Many medium-sized nucleated lymphocytes containing prominent nucleoli were found (Pap. staining, $\times 100$).
- c : Only a few cells were present in the touch smear cytology preparation, and medium-sized nucleated lymphocytes with prominent nucleoli were found in the presence of a small amount of necrotic substance (Pap. staining, $\times 100$).
- d : In the histological preparation, Langhans-type multinucleated giant cells were present together with epithelioid cells around the necrotic region (HE staining, $\times 20$).

球であったため、悪性リンパ腫の可能性も考え疑陽性と判定した(Photo. 3c)。組織標本ではリンパ節構造はほぼ破壊され、壊死周囲にランゲハンス型、異物型の多核巨細胞が類上皮細胞とともに認められた。このような肉芽腫が小型の巣状で多発、散在していたため猫ひっかき病と診断された(Photo. 3d)。

IV. 考 察

頸部リンパ節で行われる穿刺吸引細胞診の果たす役割として、良悪性の推定を的確に行い生検が必要か否かを判断することにある²⁾。悪性リンパ腫の診断では形態的診断に加え免疫学的表現型を検索するために、免疫組織化学と

FCMのそれぞれの長所や利点を生かした併用が一般化している⁴⁾。また、悪性リンパ腫では染色体の増幅、欠失、転座といったさまざまな染色体異常が見出され⁵⁾、FCMと同時に染色体検査が行われることも多い。これらの検査は新鮮組織を用いて行われるため、組織をホルマリン固定する前に分割する必要がある。ROSEは細胞検査士が組織採取場所へ出向き、採取場所で標本を作製して細胞を評価する検査で、気管支鏡検査による組織の採取や超音波内視鏡下の膵臓の穿刺吸引時などで採取された組織の質的評価を目的として多くの施設で行われている⁶⁻⁸⁾。今回、頸部リンパ節の穿刺吸引細胞診にROSEを併用することで、悪性リンパ腫などの確定診断を目的とした迅速な組織採取に繋がるか検討を行った。穿刺吸引細胞診施行からリンパ節摘

出までの期間は、導入前の最短日数が2日後で1例のみであったのに対し、導入後では2例が同日に、7例が2日後に施行されていた。平均日数でも導入前に比較し導入後では約9日間短く、有意に短期間であった。導入前では翌週の外来で行われていた結果説明や追加検査の提示が、導入後には臨床所見とともにROSEによる細胞所見から悪性リンパ腫が疑われる病変が推測された際には、当日に組織採取などの追加検査が患者へ提示され、治療方針が迅速に決定したものの思われた。

細胞診の診断精度を高めるためには穿刺吸引標本と捺印標本の細胞所見の比較や、組織像に対応する細胞の認識などが有用で、特に組織診との不一致例の検証は重要と考え、穿刺吸引細胞診の迅速検査と採取リンパ節の組織診との不一致例について、リンパ節摘出時に作製した捺印標本とともに細胞所見について比較を行った。導入前の不一致例の組織診断は濾胞性リンパ腫のgrade 1-2であった。反応性濾胞とgrade 1-2の濾胞性リンパ腫の細胞診による鑑別は、濾胞樹状細胞の存在部位から胚中心を推測して胚中心構成細胞の割合、核分裂像およびTBMの出現数により行われる⁹⁾。本例の捺印細胞診標本では濾胞樹状細胞、胚中心芽球と胚中心細胞により胚中心の存在が推測され、同部に核分裂像とTBMが認められなかったことから悪性リンパ腫の判定が可能であったが、穿刺吸引細胞診標本では全体的に細胞数が少なく、成熟リンパ球を主体に中型リンパ球や大型類リンパ球が混在して見られる反応性の出現パターンで、濾胞樹状細胞も認められず胚中心の存在も推測困難であったことから陰性と判定した。捺印標本をふまえた再鏡検でも悪性リンパ腫を疑う所見がみられなかったことから、今回の穿刺吸引細胞診標本から悪性リンパ腫を推測することは困難であったと考えた。このように穿刺吸引細胞診では胚中心部分を含んで細胞が採取されないこともあり、また、細胞量の少ない症例の判定には注意が必要と思われた。

導入後の不一致例の1例目の組織診断は伝染性単核球症であった。本例の穿刺吸引細胞診は大小のリンパ球が混在し多彩な細胞所見で反応性の病変を推測したが、核小体のみられる中型リンパ球がやや目立ち、背景にlymphoglandular bodyと思われる無構造物が認められたことから悪性リンパ腫を完全に否定することができなかった。lymphoglandular bodyは反応性胚中心の塗抹でもみられるが、悪性リンパ腫の背景にみられることの多い壊死様の物質でギムザ染色が観察しやすく、Pap.染色では赤血球との鑑別が困難なこともある¹⁰⁾。伝染性単核球症の細胞像にlymphoglandular bodyの出現は特徴的な所見としての報告はなく、症例の蓄積が必要と思われるが本疾患においてlym-

phoglandular bodyに類似する無構造物が出現する可能性が示唆された。捺印標本では濾胞樹状細胞がみられる胚中心領域に核分裂像やTBMが認められなかったが、大小のリンパ球、形質細胞、好中球や好酸球など多彩な細胞が出現していたことから良悪性の鑑別が困難であった。伝染性単核球症の組織像は非常に多彩であり、ホジキンリンパ腫、濾胞辺縁帯リンパ腫、T細胞/組織球豊富型を含む大細胞型B細胞性リンパ腫、末梢性T細胞性リンパ腫との鑑別を時に要する¹¹⁾。細胞像も組織像を反映し多彩であり、本疾患のように細胞診では悪性リンパ腫と鑑別が不可能な症例が存在することを知っておくことも重要である。本例は多彩な細胞が出現していたが、中型リンパ球がやや目立ち形質細胞が混在するなど、B細胞性リンパ腫に類似した所見がみられ、細胞診による確定診断が困難な症例と考えた。

導入後の不一致例2例目の組織診断は猫ひっかき病であった。穿刺吸引細胞診標本では壊死を背景に大小のリンパ球が出現し核小体のみられる中型リンパ球が比較的多数混在していた。濾胞樹状細胞が認められ胚中心と思われる領域にTBMや核分裂像は認められなかった。また、類上皮細胞や多核巨細胞も認められなかった。捺印標本は細胞成分に乏しく壊死とともに核小体のみられる中型リンパ球が集簇で出現していた。背景の壊死は壊死性リンパ節炎や結核性リンパ節炎などの良性疾患、悪性リンパ腫、上皮性や非上皮性腫瘍の転移などで認められる¹⁰⁾。壊死性リンパ節炎では核片を貪食した三日月状の核を有する組織球、結核性リンパ節炎では類上皮細胞の集簇や多核巨細胞、腫瘍の転移では腫瘍細胞の出現など、壊死とともに出現する細胞の観察が重要となる。本例は組織所見と臨床経過を考慮すると猫ひっかき病の後期膿瘍と考えられた。後期膿瘍の細胞診標本では類上皮細胞の厚い層を反映して類上皮細胞が大きな集塊で出現し、同集塊には好中球やリンパ球がからみつくように観察される¹²⁾。組織標本では類上皮細胞が層状に確認されたが、細胞診標本では穿刺吸引、捺印ともに類上皮細胞は認められず、好中球も確認できなかった。このように病変特異的な細胞が出現しない場合には診断困難であり、臨床経過などを考慮することも必要と思われた。

これまでに穿刺吸引細胞診による悪性リンパ腫の正診率は60~72%^{13,14)}と報告されているが、今回の検討で導入前の陰性的中率は80%、陽性的中率が100%で正診率が90%、導入後の陰性的中率が100%、陽性的中率が87.5%で正診率が88.2%、導入後の3例の癌転移症例を除外した正診率は85.7%と導入前後とも良好な結果で、導入前後の正診率に有意差は認められなかった。当院ではFCMや染色体検査を外注検査へ提出する際に、ほぼ全例の捺印細胞診標本を作製し鏡検している。捺印標本の鏡検時には穿刺

吸引細胞診検査の有無や結果を確認し、必要に応じて両標本の細胞所見の比較を行っている。このような細胞所見の比較の蓄積により細胞所見が整理され、良好な正診率が保たれているものと考えた。細胞診標本に対する迅速染色にはDiff-Quik染色、シヨール染色やUFP染色などがあるが、当院では核クロマチンの性状など詳細な観察が可能で、角化細胞の判定が容易なUFP染色を用いている。ROSEで報告した細胞所見と最終的な細胞診の結果はすべて一致していたことから、ROSEに用いる迅速細胞診染色にはUFP染色が適していると思われた。また、今回の検討から穿刺吸引細胞診標本にROSEを併用しても、80%以上の正診率で診断が可能と考えられた。しかしながら今回の不一致例のように細胞数が少なく、病変特異的な細胞所見が得られないことがあること、細胞診では良悪性の鑑別が困難な疾患があることなどを考慮し検査を行うことも重要と考えた。また、摘出リンパ節から多くの症例の捺印標本を作製し、その細胞所見を穿刺吸引細胞診にフィードバックすることで診断精度の向上に繋がるものと思われた。

V. 結 語

今回の検討から頸部リンパ節の穿刺吸引細胞診にROSEを併用することで、必要に応じ迅速にリンパ節の摘出が行われ、迅速な治療に繋がるものと思われた。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

謝辞 稿を終えるにあたり、ご指導いただいた当院頭頸科 鈴木政美先生に深謝いたします。

Abstract

Objective : Rapid tissue sampling to make a definitive diagnosis by combining rapid on-site cytologic evaluation (ROSE) with fine-needle aspiration cytology of lymph nodes was investigated.

Study Design : The subjects were 27 patients who underwent lymph node dissection after fine-needle aspiration cytology of the cervical lymph node. The number of days to lymph node dissection after fine-needle aspiration cytology was investigated and the cyto- and histological diagnoses were compared between before and after the introduction of ROSE.

Results : The number of days to lymph node dissection after fine-needle aspiration cytology was significantly shorter after the introduction of ROSE. On comparison between the cyto- and histological diag-

noses, the accurate diagnosis rates were 90 and 88.2% before and after the introduction of ROSE, respectively.

Conclusion : The combination of fine-needle aspiration cytology of a lymph node with ROSE facilitated rapid tissue sampling as needed, which may facilitate prompt treatment.

文 献

- 1) 岸本浩次, 北村隆司. リンパ節病変の鑑別アトラス. 太田秀一, 監修. 頭頸部・口腔細胞診アトラス. 東京: 医療科学社; 2009. 228-249.
- 2) 佐藤康晴, 蒲 貞行. リンパ節の細胞診. 西 国広. 基礎から学ぶ細胞診のすすめ方 第3版. 東京: 近代出版; 2012. 202-222.
- 3) 佐々木寛, 土屋眞一, 編. 細胞診ガイドライン4 呼吸器・胸腺・体腔液・リンパ節 2015年版. 東京: 金原出版; 2015.
- 4) 一迫 玲. フローサイトメトリー. 森 茂郎. リンパ腫アトラス 改訂・改題 第4版. 東京: 文光堂; 24-29.
- 5) 東 守洋, 田丸淳一. 分子生物学. 森 茂郎. リンパ腫アトラス 改訂・改題 第4版. 東京: 文光堂; 30-37.
- 6) 中山富雄, 竹中明美, 内田純二, 今村文生, 東山聖彦, 児玉憲. 肺癌の臨床細胞診断の現状. 肺癌 2007; 47: 941-943.
- 7) 土田 秀. 肺腫瘍に対する迅速細胞診検査. 検と技 2013; 41: 483-487.
- 8) 古畑彩子, 白波瀬浩幸, 白井孝夫, 平田勝啓, 吉澤明彦, 羽賀博典・ほか. 肺腫瘍に対する超音波内視鏡下穿刺吸引細胞診におけるベッドサイド迅速細胞診の有用性. 臨病理 2012; 60: 429-434.
- 9) 鈴木麻友香, 佐藤康晴. 反応性リンパ過形成 vs 濾胞性リンパ腫. 元井 信, 畠 榮, 村上 渉, 小林孝子, 亀井敏昭. 細胞診断マニュアル. 東京: 篠原出版新社; 2014. 198-199.
- 10) 扇田智彦, 大澤久美子, 田丸淳一. 実践的な細胞診の見方 7 その他 ③リンパ節. 清水道生. 実用細胞診トレーニング. 東京: 秀潤社; 2008. 138-147.
- 11) 土田 秀, 小島 勝. 反応性リンパ節炎 vs リンパ腫. 元井 信, 畠 榮, 村上 渉, 小林孝子, 亀井敏昭. 細胞診断マニュアル. 東京: 篠原出版新社; 2014. 196-197.
- 12) 土田 秀, 小島 勝. 猫ひっかき病 vs 結核性リンパ節炎. 元井 信, 畠 榮, 村上 渉, 小林孝子, 亀井敏昭. 細胞診断マニュアル. 東京: 篠原出版新社; 2014. 194-195.
- 13) 足守直樹, 釣田美奈子, 山元理恵子, 武林 悟, 峯田周幸. 悪性リンパ腫における穿刺吸引細胞診の検討. 耳鼻臨床 2007; 100: 569-574.
- 14) Steel, B. L., Schwartz, M. R., Ramzy, I. Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of lymphadenopathy in 1,103 patients. Role, limitations and analysis of diagnostic pitfalls. Acta Cytol 1995; 39: 76-81.

原 著

BCL2/BCL6 二重免疫染色による
濾胞性リンパ腫 (Grade 1-2) の診断

山崎 利城¹⁾ 徳山 宣^{1,2)} 佐藤 麻依¹⁾ 平川 靖那¹⁾ 寺井 謙介¹⁾
 平山美佐子¹⁾ 山口みはる¹⁾ 北村 真¹⁾ 笹井 大督^{1,2)} 蛭田 啓之^{1,2)}
 東邦大学医療センター佐倉病院病院病理部¹⁾, 同 病理診断科²⁾

目的：細胞診標本において濾胞性リンパ腫 (follicular lymphoma Grade 1-2, FL G1-2) の腫瘍細胞は、非腫瘍性病変との鑑別に苦慮する場合がある。そこで今回われわれは、BCL2 と BCL6 との二重免疫染色を考案し有用性を検討した。

方法：2000～2016 年の 16 年間に当院で手術され、確定診断された悪性リンパ腫 35 例、非腫瘍性病変 15 例、計 50 例の細胞診標本を対象とし、二重免疫染色を行った。

成績：二重に染まっている細胞を陽性と判断した結果、FL G1-2 は 8 例すべて、B 細胞性リンパ腫全体では 29 例中 22 例が陽性を示した。これに対し非腫瘍性病変は 15 例すべて陰性であった。T 細胞性リンパ腫、古典的ホジキンリンパ腫は陰性を示した。

結論：BCL2 および BCL6 を組み合わせた免疫染色は、FL G1-2 の診断において強力な補助診断ツールであることが示された。

Key words : Follicular lymphoma, BCL2, BCL6, Cytology, Clonality

I. はじめに

濾胞性リンパ腫 (follicular lymphoma, FL) は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) に次いで頻度の高い組織型である。FL のなかでも Grade (G) の高いものや DLBCL は、明らかな大型リン

パ球大の腫瘍細胞が単調に出現するため細胞診断は比較的容易である^{1,2)}。しかし FL G1-2 の診断は Papanicolaou 染色において、中型リンパ球大の腫瘍細胞と非腫瘍性小型リンパ球が同程度の大きさに観察され見落とされやすく、非腫瘍性病変との鑑別が問題となる¹⁻³⁾。

形態以外の、最も簡便な鑑別法は BCL2 の免疫染色である³⁾。BCL2 は FL と反応性濾胞過形成 (reactive follicular hyperplasia, RFH) との鑑別診断に主に使用され、胚中心細胞で BCL2 陽性像が得られれば腫瘍性と判断できる。陰性であれば非腫瘍性と判断されるが、FL でも陰性を示すことがあり注意を要する。組織標本においては胚中心様構造から胚中心細胞を容易に同定できるため、BCL2 の単染色で十分判断可能であるが、細胞診材料では、胚中心以外のリンパ球が BCL2 を発現しているため³⁾判断は難しい。

そこで今回われわれは、細胞診標本において胚中心細胞での BCL2 蛋白発現の有無を明確にすることで、FL G1-2 と非腫瘍性病変との鑑別がより容易ではないかと考えた。胚中心細胞マーカーとして CD10 (細胞膜) の代わりに BCL6

BCL2 and BCL6 double-immunostaining for the diagnosis of Grade 1-2 follicular lymphoma

Toshiki YAMAZAKI¹⁾, C. T., I. A. C., Wataru TOKUYAMA^{1,2)}, M. D., Mai SATO¹⁾, C. T., Yasuna HIRAKAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Kensuke TERAI¹⁾, M. T., Misako HIRAYAMA¹⁾, C. T., I. A. C., Miharu YAMAGUCHI¹⁾, C. T., I. A. C., Makoto KITAMURA¹⁾, C. T., I. A. C., Daisuke SASAI^{1,2)}, M. D., Nobuyuki HIRUTA^{1,2)}, M. D.

¹⁾Department of Pathology, ²⁾Department of Surgical Pathology, Toho University Sakura Medical Center

論文別刷請求先 〒285-8741 千葉県佐倉市下志津 564 の 1 東邦大学医療センター佐倉病院病院病理部 山崎利城

平成 28 年 2 月 22 日受付

平成 28 年 4 月 27 日受理

(核)を用いて、BCL2(細胞質)との二重免疫染色の有用性を検討した。また、さらなる診断精度向上を目的として、分子生物学的手法を用いた解析も加えたので報告する。

II. 対象および方法

1. 二重免疫染色

対象は、2000～2016年の16年間に当院で手術され、病理組織学的に確定診断された悪性リンパ腫35例(B細胞性29例、T細胞性3例、古典的ホジキンリンパ腫3例)、非腫瘍性病変15例、計50例の穿刺吸引細胞標本、捺印標本を対象とした(Table 1)。

方法は、Papanicolaou染色標本のカバーガラスをはがし親水化、抗原賦活処理としてimmunosaver(日新EM株式会社)の中で98℃、10分間加熱した。内因性ペルオキシダーゼ除去のためPeroxidase-Blocking Reagent(Dako)で5分間処理した。1次抗体は、BCL2(Dako, mouse, clone124, ready-to-use)とBCL6(SpringBioscienceCorp, rabbit, clone155, ×100)を1:2の割合でカクテル化し30分反応させ、2次抗体MACH2(BIOCARE MEDICAL, MACH2 Double Stain2, Mouse-HRP+Rabbit-AP)も30分反応させた。

発色はまずVulcan Fast Red(BIOCARE MEDICAL)で15分行い、洗浄後Vina Green(BIOCARE MEDICAL)で15分行った。対比染色は省略し、脱水透徹後、非水溶性封入剤で封入した。

BCL6陽性細胞に対してのBCL2の染色性を評価し、二重陽性細胞が $\geq 10\%$ を陽性と判定した。

2. 分子生物学的解析

B細胞性リンパ腫29例(Table 1)の穿刺吸引針洗浄液、新鮮なリンパ節組織、ホルマリン固定パラフィン包埋(formalin-fixed and paraffin-embedded, FFPE)のいずれかを材料とした。DNA抽出後、BIOMED-2/EuroClonality multiplex PCR protocol⁴⁻⁶⁾に従いクロナリティー(IgH VH-JH, IgK)およびBCL2転座解析を実施した。PCR増幅後、heteroduplex解析⁴⁾によりIgH VH-JH, IgKのクロナリティーを評価した。BCL2転座はキャピラリー電気泳動装置QIAxcel(QIAGEN)にて解析した。またBCL6強発現例に対してFFPE材料を用いたFISH法によるBCL6転座解析(Vysis LSI BCL6 Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe; Abott molecular)も実施した。

III. 結 果

1. 二重免疫染色

核がBCL6で赤色に、細胞質がBCL2で緑色に染め分けが可能であった(Photo. 1a, b, d, f)。FL G1-2の8例すべて陽性を示した(Photo. 1a, d, Table 1)。これに対し非腫瘍性病変症例の胚中心細胞はBCL6で赤色のみの染色性であり、15例すべて陰性であった(Photo. 1b, f, Table 1)。二重陽性像をもって悪性と判定が可能であったが、胚中心由来のリンパ腫において、2例がBCL2陰性を示した。また胚中心を由来としないB細胞性リンパ腫(mantle cell lymphoma, MCL; extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)やT細胞性リンパ腫(angioimmunoblastic T-cell lymphoma, AITL; extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type; ENKTL, peripheral T-cell lymphoma, PTCL)、古典的ホジキンリンパ腫(classical Hodgkin's lymphoma, CHL)は陰性を示した(Table 1)。

悪性例で二重陽性像を呈するFL症例に関して、同一標本内でBCL6の染色強度に差がみられた。FFPE材料での二重免疫染色では、胚中心芽球様、胚中心細胞様、濾胞間の順で腫瘍細胞に染色強度の減弱傾向がみられ、これに対応するものと考えられた(Photo. 2)。

2. 分子生物学的解析

B細胞性リンパ腫29例(Table 1)を用いクロナリティー解析を行ったところ、27例においてモノクロナリティーを認めた(Photo. 3, Table 1)。BCL2転座を確認できた症例は9例であった(Table 1)。

BCL6強陽性を示す症例が3例あったため、BCL6遺伝子との関連をFISH法にて調べた。Case 15に増幅、case 21に転座を認めたが、case 9にはいずれもみられず、明らかな関連は認められなかった。

IV. 考 察

今回われわれは、しばしば鑑別に苦慮する¹⁻³⁾、FL G1-2と非腫瘍性病変とをBCL2/BCL6二重免疫染色で診断が可能かの検討をした。また分子生物学的手法を用いて、さらなる診断精度向上が図れるかの検討も加えた。

本二重免疫染色は、一枚の標本で胚中心細胞をBCL6で同定し、それら細胞にBCL2の発現の有無を確認できる二重免疫染色であり、日常業務で実施しやすいよう、カクテル化するなど簡素化したものである。BCL2とBCL6を組み合わせる概念自体は存在しており⁷⁾、組織検体での報告をわずかに認めるが^{8,9)}、実際に細胞診検体を用いて、FL

Table 1 Summary of the immunocytochemical studies and molecular analyses

Case number	Site	Histological diagnosis	Cytological diagnosis	Immunocytochemistry		Molecular analysis		
				BCL6*	Double positivity**	Material	Clonality analysis	BCL2-IgH rearrangement
1	Lymph node	FL G1	ML	+	+	FFPE	mono	+
2	Lymph node	FL G1	RFH	+	+	FFPE	mono	+
3	Lymph node	FL G1	RFH	+	+	FFPE	mono	-
4	Lymph node	FL G1	S	+	+	FFPE	mono	+
5	Lymph node	FL G1	RFH	+	+	FNA	mono	+
6	Spleen	FL G1		+	+	FFPE	mono	-
7	Lymph node	FL G1-2	S	+	+	FFPE	mono	-
8	Lymph node	FL G1-2		+	+	Fresh	mono	+
9	Lymph node	FL G3A	S	++	-	FFPE	mono	-
10	Lymph node	FL G3A	S	+	+	FNA	mono	-
11	Lymph node	FL G3A	S	+	+	FNA	mono	+
12	Lymph node	FL G3A	ML	+	+	FFPE	mono	-
13	Parotid gland	FL G3A	ML	+	+	FNA	mono	+
14	Lymph node	FL G3B		+	+	Fresh	mono	-
15	Lymph node	DLBCL (GCB)		++	+	Fresh	mono	-
16	Lymph node	DLBCL (GCB)		+	+	Fresh	mono	+
17	Lymph node	DLBCL (GCB)	S	+	+	FNA	mono	+
18	Lymph node	DLBCL (non-GCB)		+W	+	Fresh	poly	-
19	Lymph node	DLBCL (non-GCB)		+	+	FFPE	mono	-
20	Lung	DLBCL (GCB)		+	+	FFPE	mono	-
21	Cecum	DLBCL (GCB)		++	-	Fresh	mono	-
22	Ovary	DLBCL (GCB)		+	+	FFPE	mono	-
23	Tonsil	DLBCL (non-GCB)		+	+	FFPE	poly	-
24	Ovary	DLBCL (non-GCB)		+	+	FFPE	mono	-
25	Lymph node	MCL		-	-	FFPE	mono	-
26	Conjunctiva	MALT		-	-	FFPE	mono	-
27	Salivary gland	MALT	S	-	-	FNA	mono	-
28	Submandibular gland	MALT	S	-	-	FFPE	mono	-
29	Lymph node	MTX-LPD	S	-	-	Fresh	mono	-
30	Lymph node	CHL		-	-			
31	Lymph node	CHL		-	-			
32	Thymus	CHL		-	-			
33	Lymph node	AITL		-	-			
34	Nasal	ENKTL	S	-	-			
35	Skin	PTCL	ML	-	-			
36	Lymph node	RFH	RFH	+	-			
37	Lymph node	RFH		+	-			
38	Lymph node	RFH		+	-			
39	Lymph node	RFH	RFH	+	-			
40	Lymph node	RFH		+	-			
41	Lymph node	RFH		-	-			
42	Lymph node	RFH		+	-			
43	Lymph node	RFH		-	-			
44	Lymph node	Sarcoidosis		-	-			
45	Lymph node	Sarcoidosis		+	-			
46	Lymph node	Lymphadenitis	RFH	+	-			
47	Lymph node	Castleman's disease		+	-			
48	Tonsil	RFH		+	-			
49	Thymus	RFH		+	-			
50	Thymus	Thymic tissue		-	-			

AITL, angioimmunoblastic T-cell lymphoma ; CHL, classical Hodgkin's lymphoma ; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma ; ENKTL, extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type ; FL, follicular lymphoma ; G, Grade ; GCB, germinal center B-cell-like ; MALT, extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue ; MCL, mantle cell lymphoma ; ML, malignant lymphoma ; MTX-LPD, MTX-associated lymphoproliferative disorders ; PTCL, peripheral T-cell lymphoma ; RFH, reactive follicular hyperplasia ; S, suspicious for malignant lymphoma.

FFPE, formalin-fixed and paraffin-embedded ; FNA, fine needle aspiration ; mono, monoclonal ; poly, polyclonal.

* ++, strongly positive ; +, positive ; +W, weakly positive ; -, negative.

** +, ≥10% ; -, <10%.

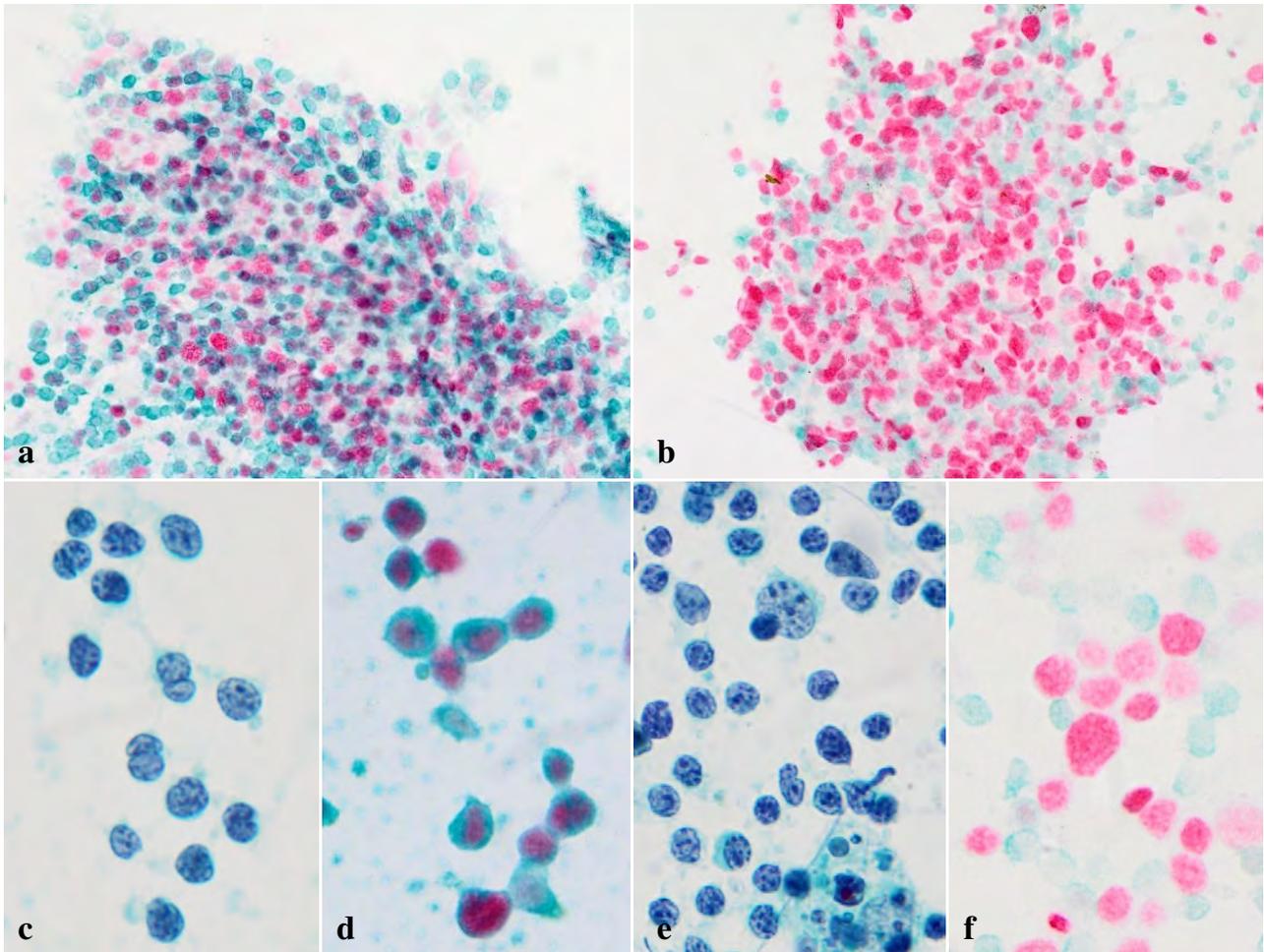


Photo. 1 Representative images of double immunocytochemistry for BCL2 and BCL6. The nucleus is stained red (BCL6), and the cytoplasm is stained green (BCL2). The malignant cells show double-positive staining, whereas only the nucleus shows positive staining in the non-neoplastic lesions.

a : FNA specimen, FL G1 (Case 1). BCL2/BCL6 staining, 40× magnification.

b : Imprint specimen, RFH (Case 37). BCL2/BCL6 staining, 40× magnification.

c, d : FNA specimen, FL G1-2 (Case 8). Pap. staining, 100× magnification (c) and BCL2/BCL6 staining, 100× magnification (d).

e, f : Imprint specimen, RFH (Case 37). Pap. staining, 100× magnification (e) and BCL2/BCL6 staining, 100× magnification (f).

G1-2 と非腫瘍性病変の鑑別に利用した報告はみられない。

本検討において、FL G1-2 は 8 例すべてが陽性を示した (Photo. 1a, d)。これに対し非腫瘍性病変においては 15 例すべてが陰性であり (Photo. 1b, f)、これらのことから BCL2/BCL6 二重免疫染色は FL G1-2 と非腫瘍性病変との鑑別に有用で、組織標本同様に BCL2 の評価が可能であることが示された。

ただし以下 3 点のピットホールを知ったうえでの判断が必要である。① FL と DLBCL のなかで、FL G1-2 の 20%、G3 の 50%、DLBCL の 50~70% で BCL2 の発現がみられないとされている^{10~12)}。今回の検討でも 2 例が陰性を示した (Table 1)。② 濾胞内ヘルパー T 細胞は BCL2/BCL6 二重陽性像を示す (Photo. 4)^{13,14)}。濾胞内ヘルパー T 細胞は形態

での同定は難しいが、小型、濃染核を有し¹⁵⁾異型はみられないのが通常である。またヘルパー T 細胞が濾胞内ヘルパー T 細胞に分化した段階で BCL6 遺伝子の発現は低下するとされており¹⁴⁾、BCL6 の染色性も淡い傾向であった。細胞異型が乏しく淡い二重染色陽性像は濾胞内ヘルパー T 細胞の可能性も考慮する必要がある。③ BCL6 の染色性は、細胞の種類により差がみられる。今回の検討において胚中心芽球様、胚中心細胞様、濾胞間の順で腫瘍細胞の染色性が弱い傾向にあった (Photo. 2)。

穿刺吸引細胞診標本はサンプリングによっては明瞭な二重陽性像が得られにくいことがあり、細胞形態での異型の確認も必要であると考えられた。また、このような場合に BCL2 の染色性が参考になる。BCL2 免疫染色は腫瘍性で強

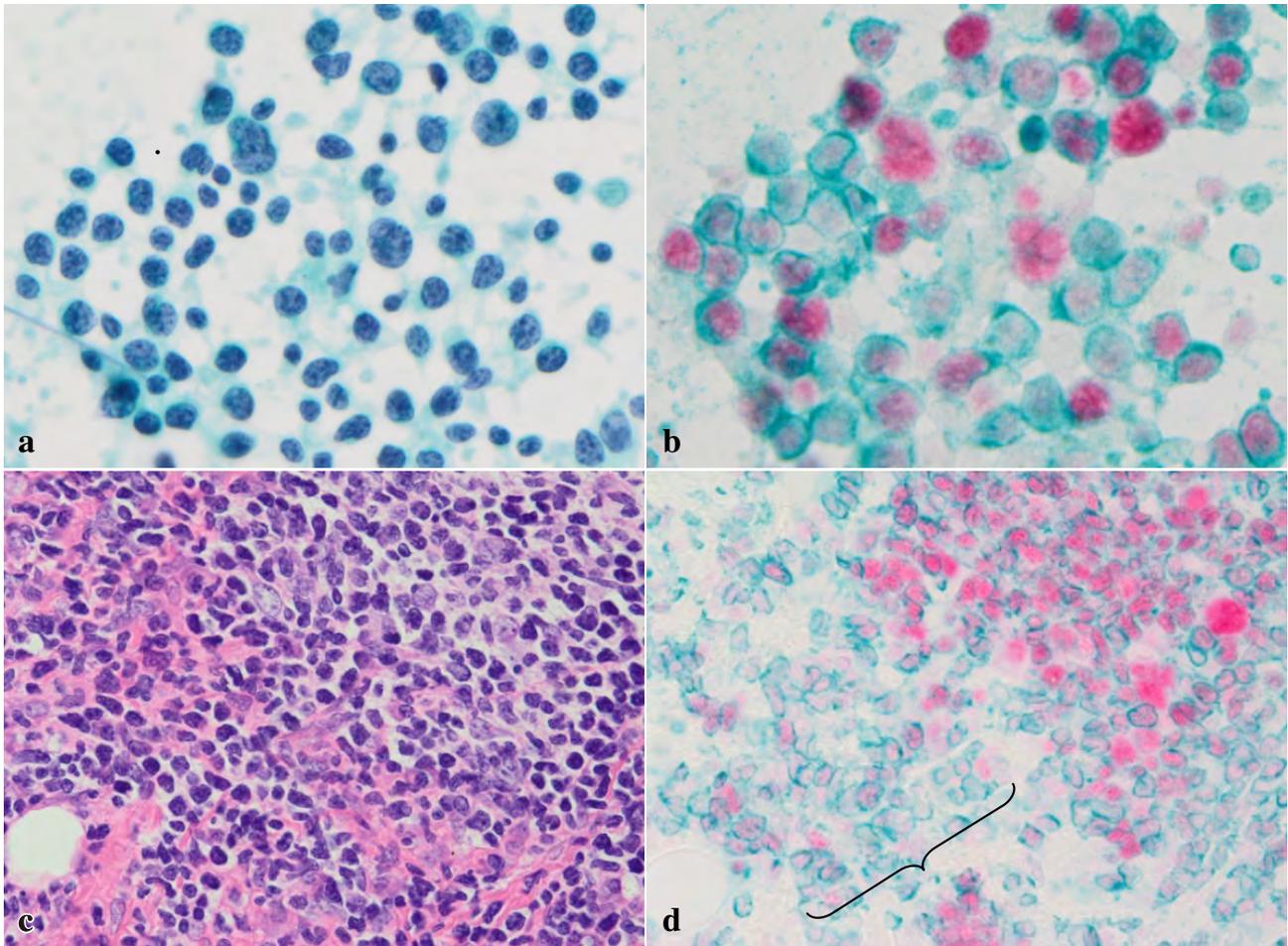


Photo. 2 Variability of the staining intensity for BCL6. Tumor cells in the interfollicular area tended to show weak expression of BCL6. Differences in the staining intensity can be seen among the germinal center blast-like, germinal center cell-like, and interfollicular tumor cells. FL G1-2 (Case 8). a, b : FNA specimen, 100× magnification. Pap. staining (a) and BCL2/BCL6 staining (b). c, d : Biopsy specimen of the same case from FFPE, 40× magnification. H & E staining (c) and BCL2/BCL6 staining (d). The brace indicates interfollicular tumor cells.

く、正常の場合は弱い染色性を示す傾向にあり¹⁶⁾、腫瘍性の場合には細胞質が強く染色され、正常細胞と比べると核の不整がより強調されることも良悪を判断するうえで有意義な所見である。

本二重免疫染色は、胚中心由来のリンパ腫の多くは検出可能だが、すべてのリンパ腫を検出できるわけではない。二重陽性像が得られないリンパ腫としては、BCL2やBCL6の発現がみられないものと、cut offの10%に満たないものがある。BCL2の発現がみられないリンパ腫として、上述のBCL2が陰性となるFLおよびDLBCLや、パーキットリンパ腫などがある。BCL6の発現がみられないリンパ腫としては、DLBCLの20~60%^{17~23)}、胚中心由来以外のB細胞性リンパ腫(MCL, MALTなど)やT細胞性リンパ腫, CHLである。AITLは、サンプリングにも左右されるが、腫瘍細胞が少なく陰性となる場合がある。

DLBCLに関しては、免疫染色によるいくつかの亜分類が試みられているが、われわれはHansらの分類に準じ、germinal center B-cell-like (GCB)とnon-GCBに分類した¹⁷⁾。これまでの報告では、GCBが40%、非GCBに相当するタイプが60%程度とされている^{17~23)}。GCBでは多くがBCL6陽性を示すが、0~30%で陰性を示すことがある^{17~20,23)}。一方、非GCBのタイプでは、30~70%が陰性を示すと報告されている^{17~20,23)}。今回の検討では、GCB, non-GCBいずれもBCL6陽性を示した。GCBは過去の報告と合致するが、non-GCBに関しては4例と症例数が少ないことによる偏りの可能性が高く、実診断においては二重陽性像が得られないDLBCL症例は多くなると考えられる。

リンパ節に対する穿刺吸引細胞診の役割は、細胞形態で異型細胞を拾い上げ組織診断に繋げることである。しかし形態での検出が困難な症例に対しては出現様式、さらに臨

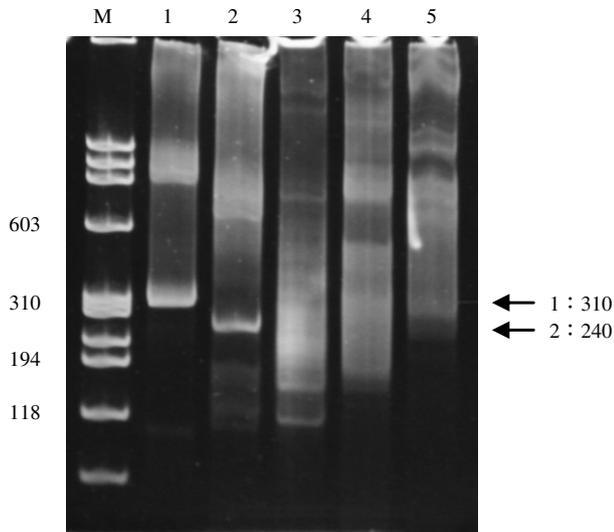


Photo. 3 PCR analysis of IGH and IGK gene rearrangements in Case 5 (FL G1) revealed homoduplexes of 310 (lane 1, IGH FR1-J) and 240 (lane 2, IGH FR2-J) bp. M : Molecular weight marker (ϕ X174-HaeIII digest), 1 : IGH FR1-J, 2 : IGH FR2-J, 3 : IGH FR3-J, 4 : IGK V-J, 5 : IGK V/intron-Kde.

床情報を加味したうえで、細胞診材料の許すかぎり追加の検索をして診断精度向上を図る努力が必要であると考えられる。今回は FL G1-2 の診断目的に BCL2/BCL6 二重免疫染色を考案し検討を行ったが、胚中心由来以外の小型～中型細胞よりなる低異型度 B 細胞性リンパ腫に対してたとえば、chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma では CD5 や CD23, MCL では cyclinD1 や CD5 など、また B-cell lymphoblastic lymphoma/leukaemia では TdT や CD10 の免疫染色も有効と思われる。

分子生物学的解析は悪性リンパ腫診断において補助診断として利用されている。PCR 法等を用いた悪性リンパ腫のクロナリティー解析など細胞診材料においても有効であることが報告されている^{24,25)}。実際に BIOMED-2/EuroClonality multiplex PCR protocol⁴⁻⁶⁾ に従いクロナリティー解析を行ったところ、29 例中 27 例にモノクロナリティーを認めた。免疫染色で二重陽性像が得られなかった症例においてもモノクロナリティーを確認できている。胚中心由来では FL G3A と DLBCL (GCB) の 2 例 (case 9, 21) と、胚中心由来以外では MCL や MALT などの 5 例 (case 25～29) がこれにあたる。逆にモノクロナリティーを示さなかった DLBCL (non-GCB) の 2 例 (case 18, 23) に関しては、二重陽性像が得られており、細胞診材料が十分確保できれば、二重免疫染色と併用することで診断精度向上が図れることが示された。

BIOMED-2/EuroClonality multiplex PCR protocol による

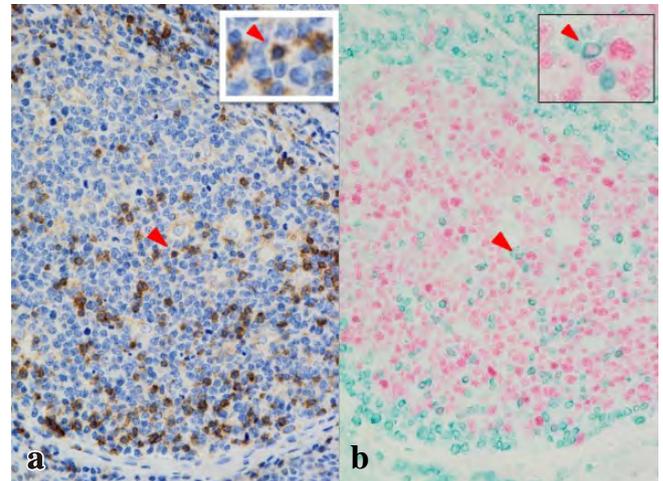


Photo. 4 Intrafollicular helper T cells showing BCL2/BCL6 double-positive staining (arrowhead). a : CD4 staining (DAKO, clone 4B12), 40× magnification ; inset, 100× magnification. b : BCL2/BCL6 staining, 40× magnification ; inset, 100× magnification.

検討では、TCR のクロナリティー解析により T 細胞性リンパ腫の検出が可能と報告されている^{5,6)}。本二重免疫染色で検出できない T 細胞性リンパ腫に対しても、今回は検討していないが、実診断において、TCR のクロナリティー解析を併用することで、診断精度向上が期待できると思われる。

なお、BCL2 転座解析に関して、Diaz-Alderete ら¹⁶⁾ は BCL2 強陽性においては BCL2 転座との関連性を認めるが、BCL6 強陽性に関して BCL6 転座との関連性がないと述べており、われわれの検討においても、明らかな転座との関連性は認められなかった。

V. 結 語

本検討の結果、細胞診標本において BCL2 と BCL6 を組み合わせた免疫染色を行うことで、胚中心細胞での BCL2 蛋白発現の有無が明確となった。ピットホールを理解し形態診断と併せることにより、本二重免疫染色で G1-2 の FL であっても診断は十分可能であり、非腫瘍性病変との鑑別において強力な補助診断ツールとなることが示された。さらにクロナリティー解析を併用することで診断精度の向上が図れると考えられた。

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 56 回日本臨床細胞学会総会 (2015 年 6 月, 島根) にて報告した。

Abstract

Objective : Tumor cells of Grade 1-2 follicular lymphoma (FL G1-2) can be difficult to distinguish from non-neoplastic cells in cytology specimens. Therefore, we developed double immunostaining for BCL2 and BCL6 as a tool to differentiate FL G1-2 cells.

Study Design : Cytology specimens from 50 cases, including 35 cases of malignant lymphoma and 15 cases of non-neoplastic lesions, were used for this study. All samples were collected from patients who had undergone surgery and received a final pathological diagnosis at our hospital during the 16-year period from 2000 to 2016. Double immunostaining was performed on the resected specimens.

Results : All eight cases of FL G1-2 and 22 out of the 29 cases of malignant B-cell lymphoma were doubly stained for both BCL2 and BCL6, and were designated as positive. In contrast, all 15 cases with non-neoplastic lesions were negative. Malignant T-cell lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma were negative.

Conclusion : Double immunostaining for BCL2 and BCL6 could be a powerful auxiliary tool for the diagnosis of FL G1-2.

文 献

- 1) Kishimoto, K., Kitamura, T., Fujita, K., Tate, G., Mitsuya, T. Cytological differential diagnosis of follicular lymphoma grades 1 and 2 from reactive follicular hyperplasia : cytologic features of fine-needle aspiration smears with Papanicolaou stain and fluorescence in situ hybridization analysis to detect t (14 ; 18) (q32 : q21) chromosomal translocation. *Diagn Cytopathol* 2006 ; 34 : 11-17.
- 2) 太田秀一, 光谷俊幸, 塩沢英輔, 岸本浩次. リンパ節病変の病理組織像と細胞診. 太田秀一, 山本浩嗣, 福成信博, 亀山香織, 北村隆司, 編. 頭頸部・口腔細胞診アトラス. 東京 : 医療科学社 ; 2009. 192-195.
- 3) 竹内賢吾. 濾胞性リンパ腫. 菊池昌弘, 森 茂朗, 編. 最新・悪性リンパ腫アトラス. 東京 : 文光堂 ; 2004. 141-153.
- 4) van Dongen, J. J., Langerak, A. W., Bruggemann, M., Evans, P. A., Hummel, M., Lavender, F. L., et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations : report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 2003 ; 17 : 2257-2317.
- 5) Langerak, A. W., Groenen, P. J., Bruggemann, M., Beldjord, K., Bellan, C., Bonello, L., et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia* 2012 ; 26 : 2159-2171.
- 6) van Krieken, J. H., Langerak, A. W., Macintyre, E. A., Kneba, M., Hodges, E., Sanz, R. G., et al. Improved reliability of lymphoma diagnostics via PCR-based clonality testing. Report of the

- BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia* 2007 ; 21 : 201-206.
- 7) Wiecezorek, T. J., Wakely, P. E. Jr. Lymph Nodes. Cibas, E. S., Ducatman, B. S., eds. In : *Cytology : Diagnostic Principles and Clinical Correlates* (4th ed.). Philadelphia : Saunders ; 2014. 333-394.
 - 8) Hyjek, E., Chadburn, A., Liu, Y. F., Cesarman, E., Knowles, D. M. BCL-6 protein is expressed in precursor T-cell lymphoblastic lymphoma and in prenatal and postnatal thymus. *Blood* 2001 ; 97 (1) : 270-276.
 - 9) Saito, M., Novak, U., Piovan, E., Basso, K., Sumazin, P., Schneider, C., et al. BCL6 suppression of BCL2 via Miz1 and its disruption in diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 (27) : 11294-11299.
 - 10) Harris, N. L., Swerdlow, S. H., Jaffe, E. S., Ott, G., Nathwani, B. N., de Jong, D., et al. Follicular lymphoma. Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al., eds. In : *WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon : IARC ; 2008. 220-226.
 - 11) 高田尚良, 吉野 正. 濾胞性リンパ腫. *病理と臨* 2015 ; 33 : 468-475.
 - 12) Lai, R., Arber, D. A., Chang, K. L., Wilson, C. S., Weiss, L. M. Frequency of bcl-2 expression in non-Hodgkin's lymphoma : a study of 778 cases with comparison of marginal zone lymphoma and monocytoid B-cell hyperplasia. *Mod Pathol* 1998 ; 11 (9) : 864-869.
 - 13) 近藤英作, 万波智彦, 吉野 正, 赤木忠厚. 胚中心細胞におけるアポトーシス関連遺伝子の発現 : Bcl-2 ファミリー蛋白を中心として. *日リンパ網内系会誌* 1999 ; 39 (3) : 153-161.
 - 14) Kitano, M., Moriyama, S., Ando, Y., Hikida, M., Mori, Y., Kurosaki, T., et al. Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity. *Immunity* 2011 ; 34 (6) : 961-972.
 - 15) van der Valk, P., Meijer, C. J. The Lymph Nodes. Mills, S. E., ed. In : *Histology for Pathologists*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins ; 2012. 820-828.
 - 16) Diaz-Alderete, A., Doval, A., Camacho, F., Verde, L., Sabin, P., Arranz-Saez, R., et al. Frequency of BCL2 and BCL6 translocations in follicular lymphoma : relation with histological and clinical features. *Leuk Lymphoma* 2008 ; 49 (1) : 95-101.
 - 17) Hans, C. P., Weisenburger, D. D., Greiner, T. C., Gascoyne, R. D., Delabie, J., Ott, G., et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004 ; 103 : 275-282.
 - 18) Habara, T., Sato, Y., Takata, K., Iwaki, N., Okumura, H., Sonobe, H., et al. Germinal center B-cell-like versus non-germinal center B-cell-like as important prognostic factor for localized nodal DLBCL. *J Clin Exp Hematopathol* 2012 ; 52 : 91-99.
 - 19) Peh, S. C., Gan, G. G., Lee, L. K., Eow, G. I. Clinical relevance of CD10, BCL-6 and multiple myeloma-1 expression in diffuse large B-cell lymphomas in Malaysia. *Pathol Int* 2008 ; 58 : 572-579.

- 20) Colomo, L., Lopez-Guillermo, A., Perales, M., Rives, S., Martinez, A., Bosch, F., et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003 ; 101 : 78-84.
 - 21) Oh, Y. H., Park, C. K. Prognostic evaluation of nodal diffuse large B cell lymphoma by immunohistochemical profiles with emphasis on CD138 expression as a poor prognostic factor. *J Korean Med Sci* 2006 ; 21 : 397-405.
 - 22) De Paepe, P., Achten, R., Verhoef, G., Wlodarska, I., Stul, M., Vanhentenrijk, V., et al. Large cleaved and immunoblastic lymphoma may represent two distinct clinicopathologic entities within the group of diffuse large B-cell lymphomas. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 7060-7068.
 - 23) Chang, C. C., McClintock, S., Cleveland, R. P., Trzpuć, T., Vesole, D. H., Logan, B., et al. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2004 ; 28 : 464-470.
 - 24) 塩沢 剛, 森下由紀雄, 角田 肇, 藤原広美, 深沢政勝, 鈴木 悦・ほか. 子宮頸部原発悪性リンパ腫の1例:細胞診断材料を用いた免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成の検討. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 (3) : 257-261.
 - 25) Grosso, L. E., Collins, B. T. DNA polymerase chain reaction using fine needle aspiration biopsy smears to evaluate non-Hodgkin's lymphoma. *Acta Cytol* 1999 ; 43 : 837-841.
-

症 例

Diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant の 1 例

大澤久美子¹⁾ 青木 智章¹⁾ 渡部 玲子²⁾ 得平 道英²⁾
 阿部 佳子¹⁾ 新井 栄一¹⁾ 木崎 昌弘²⁾ 田丸 淳一¹⁾

埼玉医科大学総合医療センター病理部¹⁾, 同 血液内科²⁾

背景：びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma ; DLBCL) のまれな細胞形態である紡錘形細胞亜型 (spindle cell variant ; Sp) を経験したので報告する。

症例：50 歳代，女性。腹痛を主訴に近医受診し，画像検査において悪性リンパ腫が疑われ当院を紹介された。表在リンパ節は触知せず，CT では腹部正中より左側を優位に 1~4 cm 大の腸間膜リンパ節腫大が多数認められ，確定診断のため開腹リンパ節生検が施行された。穿刺吸引細胞診では，典型的な形態ではないものの悪性リンパ腫を思わせる細胞像であったが，病理組織学的には紡錘形細胞からなり，悪性リンパ腫以外の悪性間葉系腫瘍が疑われ，免疫形質発現の検索にて，CD20 (+)，CD10 (-)，BCL6 (-)，MUM-1 (+) であり，non-GCB type で，かつ病変がリンパ節に局限し，反応性の筋線維芽細胞や，T リンパ球，組織球浸潤が比較的乏しく Sp としてはきわめてまれな性質をもつ症例と診断された。

結論：Sp-DLBCL は非常にまれな悪性リンパ腫のため，病理組織像だけでは診断が難しい疾患であり，細胞像を参考に免疫染色にて腫瘍細胞の起源を証明することが診断には重要と思われた。

Key words : Difuse large B cell lymphoma, Spindle cell variant, Cytology, Malignant lymphoma, Case report

I. はじめに

びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma ; DLBCL) は悪性リンパ腫のなかで最も頻度の高い亜型であり，本邦では 3~4 割を占めている¹⁾。しかし，本亜型はある一定の染色体異常や遺伝子異常によって規定されている疾患亜型ではなく，heterogeneous な疾患群であり，細胞形態学的にも多彩である^{1,2)}。今回われわれは，

その多彩な細胞形態のなかでも非常にまれな紡錘形細胞亜型 (spindle cell variant ; Sp) を経験した。細胞像では，典型的な形態ではないものの悪性リンパ腫を思わせる像であったが，組織像では紡錘形細胞の増生が認められ，間葉系腫瘍を考えさせる像であったため，悪性リンパ腫の診断は困難であった。免疫形質発現の検索により腫瘍細胞起源を明確にすることによって診断がなされた症例であり，その細胞像に着目し，文献的考察を加えて報告する。

II. 症 例

症 例：生来健康な 50 歳代，女性。

主 訴：腹痛。

既往歴・家族歴：特記すべき事項はなし。

現病歴：1 ヶ月前より腹痛を自覚し，近医を受診。腹部エコーにて腓尾部腫瘍および腹部リンパ節腫大，血液検査では可溶性 IL-2 receptor (sIL2-R) の高値 [2950 U/ml (正常値：145~519 U/ml)] 以外には際立った異常は認められなかった，悪性リンパ腫疑いのもと当院を紹介された。表

A case report of diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant
 Kumiko OSAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Tomoaki AOKI¹⁾, C. T., I. A. C.,
 Reiko WATANABE²⁾, M. D., Michihide TOKUHIRA²⁾, M. D., Keiko
 ABE¹⁾, M. D., M. I. A. C., Eiichi ARAI¹⁾, M. D., Masahiro KIZAKI²⁾, M.
 D., Jun-ichi TAMARU¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, ²⁾Department of Hematology, Saitama
 Medical Center, Saitama Medical University

論文別刷請求先 〒 350-8550 埼玉県川越市鴨田 1981 埼玉医科大学
 総合医療センター病理部 大澤久美子

平成 26 年 5 月 20 日受付

平成 28 年 3 月 31 日受理

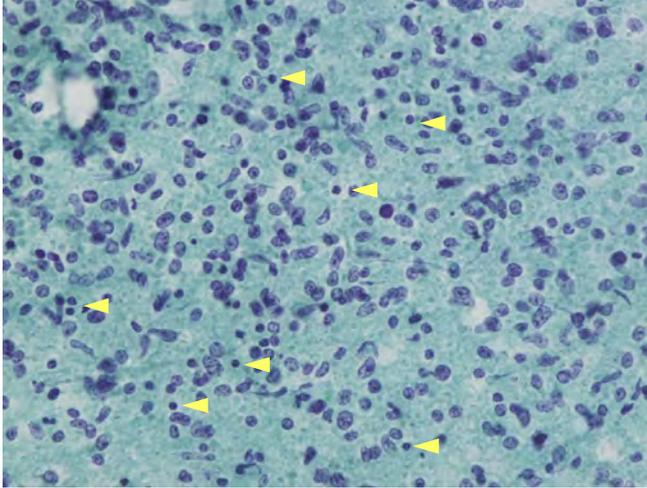


Photo. 1 Fine-needle aspiration smear of mesenteric lymph node showing a dispersed population of atypical cells in the lymphoglandular body and lymphocytes (arrow head) background (Pap. staining, $\times 40$).

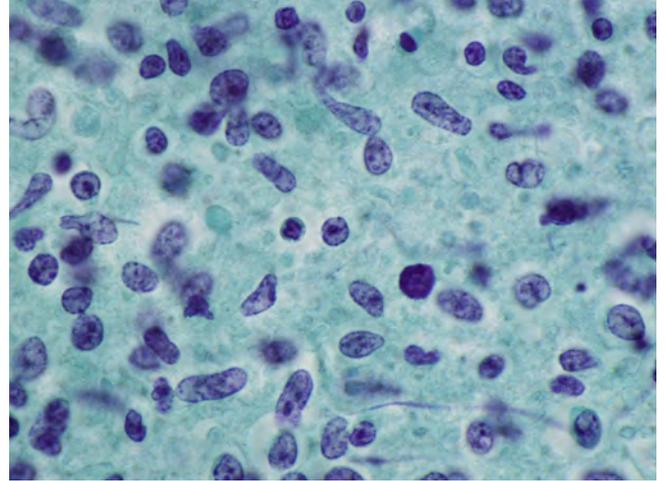


Photo. 2 High power view showing dissociated atypical cells with scant cytoplasm, rounded or oval ovoid vesicular nuclei, with a single one to some small irregular shaped nucleoli and irregularly thick and thin nuclear membranes (Pap. staining, $\times 100$).

在リンパ節は触知せず，CTでは腹部正中より左側を優位に1~4 cm大の腸間膜リンパ節腫大が多数認められたが，それ以外に節外病変などは認められなかった．確定診断のため開腹リンパ節生検が施行された．

III. 細胞所見

生検時の穿刺吸引細胞診検体では，lymphoglandular bodyを背景に異型を伴う細胞が多数採取された (Photo. 1)．強拡大では小型リンパ球やわずかな組織球とともに，小リンパ球の2~3倍程度の大きさの核を有する異型細胞が孤在性に出現し，これら異型細胞のほとんどが細胞質を認識できず裸核状であり，核は類円形~長楕円形を呈し，比較的薄い核膜，不整形の数個の核小体と細顆粒状の核クロマチンを認めた (Photo. 2)．

May-Grünwald Giemsa (Giemsa) 染色では，Papanicolaou (Pap.) 染色よりも核形不整がより強調され，核は長楕円形で，数個の核小体と疎網な核クロマチンの増量を認めた (Photo. 3A)．また，細胞質を有する異型細胞も少数認められ，それらは紡錘形の形態を有していた (Photo. 3B)．

IV. 組織所見

開腹腸間膜リンパ節生検の組織像は，腫瘍の増殖によってリンパ節の基本構造は破壊され，背景には軽度の線維増生を伴い，vaguely nodular patternを示していた (Photo. 4A)．壊死は認められなかった．腫瘍細胞は細胞質に乏しく裸核状で類円形~長楕円形核を有していた．腫瘍細胞形

態や増殖パターンから，樹状細胞肉腫 (Follicular dendritic cell sarcoma; FDS) などの悪性間葉系腫瘍と類似しており，悪性リンパ腫と推定することは困難な像であった (Photo. 4B)．

免疫組織化学的検索では *aSMA* (-)，*Desmin* (-)，*CD68* (-)，*CK AE1/AE3* (-)，*CD21* (-)，*CD23* (-)，*CD20* (+; Photo. 4C)，*BCL2* (+)，*CD10* (-)，*BCL6* (-)，*MUM-1* (+) であり，組織像を踏まえて Diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant; Sp-DLBCL と診断された．*EBER-in situ hybridization* (-) であった．なお，背景には *CD3* (+) 小リンパ球，*CD68* (+) マクロファージは認められたが，*aSMA* (+) 筋線維芽細胞やそのほかの炎症細胞は目立たなかった (Photo. 5)．

Fluorescence in situ hybridization (FISH) にて，*IgH* と *BCL2* の fusion signal は認められなかった (data not shown)．

V. 考 察

本邦では DLBCL は悪性リンパ腫のなかでは3~4割を占める頻度の高い疾患亜型であるが，その起源，病態，予後などは均一ではなく heterogeneous な疾患群であり，その細胞形態も多彩である^{1,2)}．腫瘍細胞起源の同定には，形態学的類似性に頼るところが大きいことは周知のことであるが，それに加えて酵素組織化学・免疫組織化学的検索も広く利用され，現在，後者はその診断において欠くことのできない手法となっている．さらに，B細胞性腫瘍においては，腫瘍細胞の再構成免疫グロブリン遺伝子に起こる体細

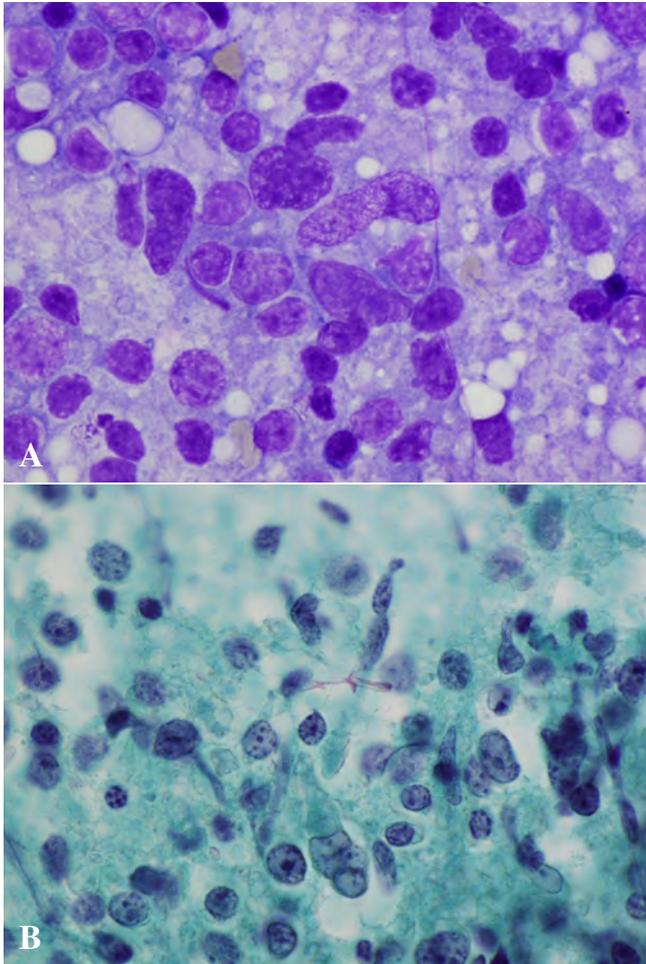


Photo. 3 A : Fine-needle aspiration smear of the mesenteric lymph node stained with May-Grünwald Giemsa showing more irregular shaped nuclei, compared with the Pap. staining (×100).
 B : Atypical spindle shaped cells having a small amount of cytoplasm (Pap. staining, ×100).

胞突然変異の解析によって腫瘍細胞起源の同定を行うことが可能である³⁾. このようなさまざまな手法を用いた検討から, DLBCLがheterogeneousな疾患群であることは明らかにされている. 一方, 近年の網羅的遺伝子発現解析において, DLBCLは二つに分けられ, 予後の相違が明らかにされた⁴⁾. これに基づき, 現行のWHO分類においてはmolecular subgroupとして, 胚中心B細胞型 (germinal center B-cell type ; GCB-type) と活性化B細胞型 (activated B-cell type ; ABC-type) に分けることが提唱されている. 一方, cytological variant として centroblastic, immunoblastic, anaplastic variant が common variant として提唱され, さらに rare variant の存在が WHO 分類に明記されており, その一つが Sp である. この Sp-DLBCL は上顎に生じた肉腫様パターンおよび多分葉核を有するB細胞リンパ腫

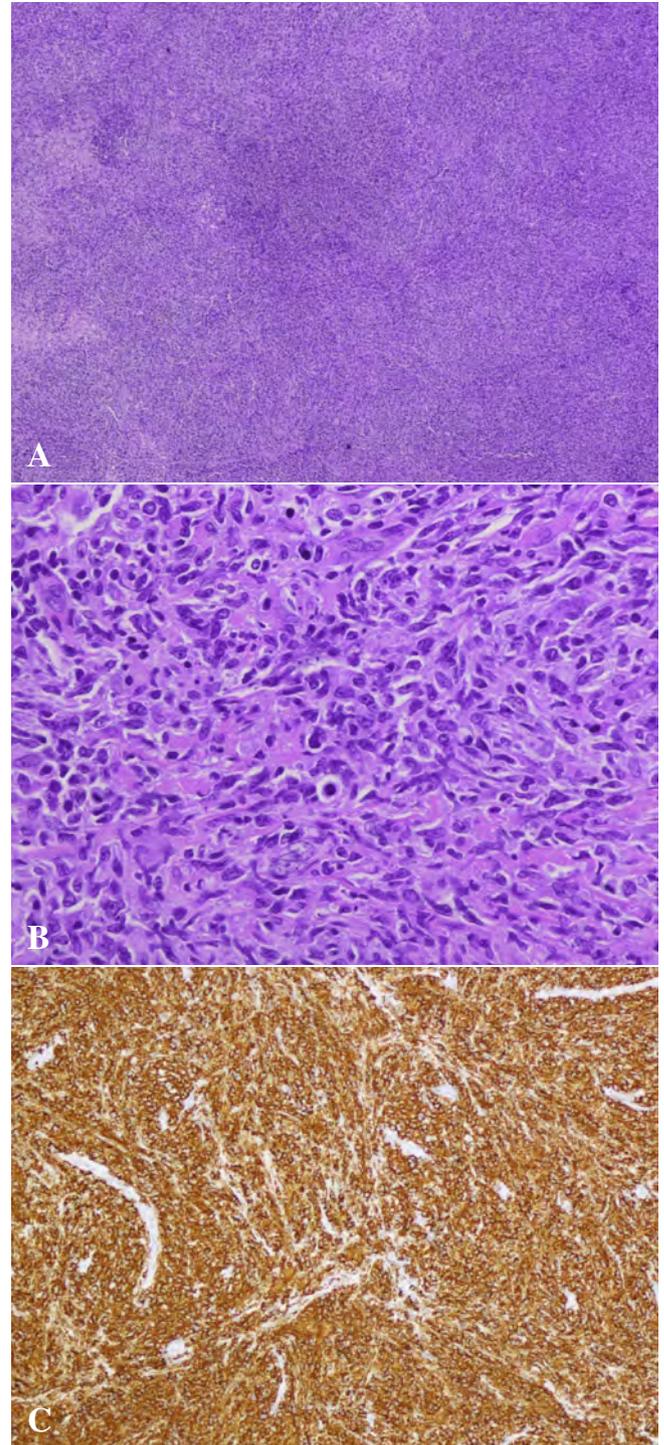


Photo. 4 A : Histopathology of the biopsied mesenteric lymph node showing a vaguely nodular pattern (H & E staining, ×4).
 B : The lesion is composed of pleomorphic spindle cells admixed with mature lymphocytes (H & E staining, ×40).
 C : The neoplastic cells demonstrate strong membranous positivity for of CD20 (×10)

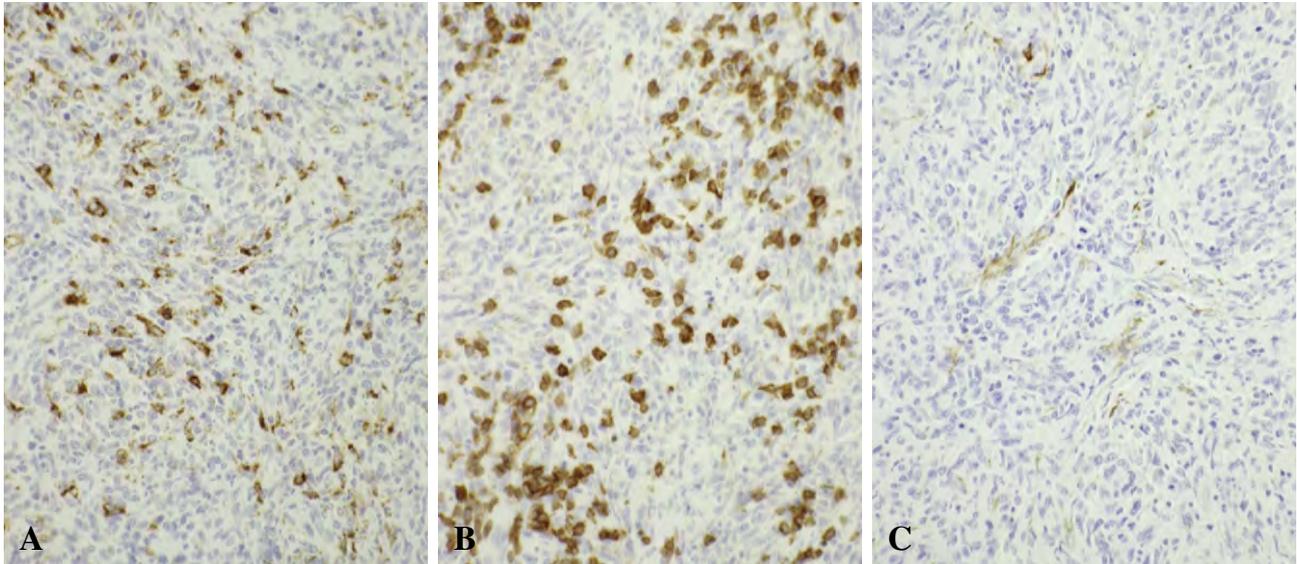


Photo. 5 The immunohistochemical analyses revealed ($\times 20$), A : CD68-positive macrophages : B : CD3-positive T-cells admixed with spindle-shaped neoplastic cells : and C : scattered α SMA-positive cells constituting capillary vessels.

として Kluijn らによって初めて報告された⁵⁾。その後、現在までに 30 例を超える症例が報告されており⁵⁻¹⁰⁾、Table 1 に示すとおり、その多くは節外発生で、皮膚が最も多く、上顎、軟部組織、腔、鼻粘膜、子宮頸部、肝臓などの発生が認められている。一方、節性発生の症例報告は少ないが、本邦からの 10 例をまとめた報告では全例にリンパ節病変が認められ、節外病変を認めた 4 例を除く 6 例は病変がリンパ節に限られており、そのうちの 2 例では本例同様に腸間膜リンパ節病変が認められている⁸⁾。これまでの報告では若年者の発生もみられるが多くは高齢者であり、性差ではわずかに男性に多いようである¹⁰⁾。

本例は細胞学的には悪性リンパ腫を疑ったが、組織学的には悪性間葉系腫瘍を示唆する像を呈し、最終診断は免疫形質発現の検索に委ねるところが大きかった。その免疫形質発現の検索からは CD10 (-)、BCL6 (-)、MUM-1 (+) で non-GCB type であった。しかし、vaguely nodular な増殖パターンおよび BCL2 発現からは濾胞性リンパ腫との関連も疑われたため、FISH 法での検討を加えたが、免疫グロブリン重鎖遺伝子と BCL2 遺伝子の融合シグナルは認められなかった。Table 1 に示したように、これまで報告された 21 例の免疫形質解析では non-GCB type は今回の症例以外には 1 例のみであった。Carbone らの報告した 5 例全例、免疫形質発現からは GCB type で、PCR 法にて t (14; 18) を反映する IgH と BCL2 の融合遺伝子は認められなかったが、BCL6 遺伝子の mutation が証明されている⁶⁾。一方、Kimura らの報告では免疫形質発現からは 10 例中 9 例は GCB type であり、FISH 法にて IgH/BCL2 や c-MYC の

break は認められなかったが、BCL6 の break point の存在が検索した 9 例中 3 例に認められており GCB 由来を示唆している⁸⁾。

本例の組織学的な所見からは、悪性リンパ腫より、FDS などの悪性間葉系腫瘍が考えられたが、CD20 の発現によって本診断が導かれた。

細胞診検体における細胞所見は、紡錘形細胞および長楕円形の核形態を除けば、核クロマチンパターン、核小体の出現パターン、核膜像などの核所見はリンパ球由来が推定される像といえるかもしれない。一般的な Spindle cell variant (GCB type) では Epithelial-Mesenchymal Transition にも関係している TGF β 1 や FGF2 などの発現の亢進が腫瘍細胞の形態や、豊富な T 細胞や組織球、筋線維芽細胞などの反応性細胞成分出現ならびにリンパ節外への浸潤などにかかわっている可能性が指摘されている^{7,8,11,12)}。一般的な症例と異なり non GCB type で反応性の細胞成分が乏しく、リンパ節外への浸潤傾向がない本例にも同様の Cytokine の変化がみられるか否かは不明である。

本例は通常組織学的検索では確定診断が困難であったが、細胞学的に悪性リンパ腫が疑われ、臨床的にも悪性リンパ腫が疑われていたことから、免疫形質発現の検索にて腫瘍細胞の起源を明らかにすることによって診断を得ることができた。多くの疾患の最終診断は病理診断に委ねられているが、その他の補助的手技や臨床情報をふまえて総合的に判断してゆくことの重要性を再認識させられた症例であった。

Table 1 Reported cases of diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant

Authors (published year)	Site diagnosed (case no.)	Immunohistochemical analyses for cell origin (positive case no./case no. studied)	GCB type vs. non-GCB type (case No.)	Others (positive case no./case no. studied)
Kluin PM, et al. (1984)	maxilla bone (3)	NA	NA	NA
Fung CH, et al. (1993)	soft tissue (1)	NA	NA	NA
Cerroni L, et al. (2000)	skin (5)	BCL2 (1/3)	NA	NA
Nozawa Y, et al. (2001)	skin (1)	NA	NA	NA
Goodlad JR (2001)	skin (1)	BCL2-, CD10+, BCL6+	GCB (1)	NA
Wang J, et al. (2001)	soft tissue (2), skin (1), and nasal mucosa (1)	NA	NA	NA
Kahlifa M, et al. (2003)	uterine cervix (1)	BCL2+, BCL6+, CD10 weak+	GCB (1)	NA
Hayashi H, et al. (2006)	liver (1)	BCL2-, CD10-	NA	NA
Carbone A, et al. (2006)	vagina (2) and lymph node (3)	CD10 (0/5), BCL6 (5/5), MUM-1 (0/5)	GCB (5)	PCR; t (14; 18) (0/5) PCR; BCL6 mutation (5/5)
Ries S, et al. (2007)	skin (1)	BCL2 weak+, BCL6-	NA	NA
Yun SJ, et al. (2009)	skin (1)	BCL2-, CD10-, BCL6+, MUM-1-	GCB (1)	NA
Wang L, et al. (2010)	skin (1)	BCL2-, CD10 weak+, BCL6+, MUM-1-	GCB (1)	NA
Kimura Y, et al. (2012)	lymph node (10)	BCL6 (10/10+), CD10 (8/10+), MUM-1 (5/10+)	GCB (9), non-GCB (1)	FISH; IGH/BCL2 (0/9), FISH; BCL6 break (3/9) FISH; MYC break (0/9)
Jghaimi F, et al. (2013)	skin (1)	BCL2-, CD10-, BCL6+, MUM-1-	GCB (1)	NA
Rozati S, et al. (2013)	skin (1)	BCL2-, CD10-, BCL6+, MUM-1-	GCB (1)	FISH; non of t (14; 18) FISH; non of t (3; 14)
This case	lymph node (1)	BCL2+, CD10-, BCL6-, MUM-1+	non-GCB (1)	FISH; non of t (14; 18)

NA, not available; GCB, germinal center B cell; PCR, polymerase chain reaction; FISH, fluorescent *in situ* hybridization

筆者らは、本研究に対する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52回日本臨床細胞学会秋期大会で報告した。

文 献

Abstract

Background: In the present study, we report a rare case of diffuse large B-cell lymphoma, spindle cell variant (Sp-DLBCL).

Case: The patient was a 50's woman. She consulted our hospital because of the abdominal mass detected by CT at a nearby hospital. Malignant lymphoma was suspected based on the finding of multiple mesenteric lymph node swelling (1 to 4 cm in diameter) detected by CT and an increase of serum soluble IL-2-receptor. The lymph node was biopsied to make a diagnosis. In the cytological examination, malignant lymphoma was suspected, but histologic examination showed numerous atypical spindle shaped cells, being reminiscent of malignant mesenchymal neoplasm. Immunophenotypic analysis revealed CD20 and MUM-1 positivity, and CD10 and BCL6 negativity on the neoplastic cells. Our final diagnosis was made as Sp-DLBCL, non-GCB type. In the background, variable numbers of T-cells and macrophages were admixed.

Conclusion: Sp-DLBCL is a very rare variant of malignant lymphoma and difficult to make a diagnosis histologically. In this case, cytological examination was useful tool, and it was very important for the pathological diagnosis to demonstrate the tumor cell origin immunophenotypically.

- 1) Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al. World health organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2008.
- 2) 押味和夫, 監修, 木崎昌弘, 田丸淳一, 編. WHO分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学. 東京: 中外医学社; 2009.
- 3) Tamaru, J., Hummel, M., Marafioti, T., Kalvelage, B., Leocini, L., Minacci, C., et al. Burkitt's lymphomas express VH genes with a moderate number of antigen-selected somatic mutations. *Am J Pathol* 1995; 147: 1398-1407.
- 4) Alizadeh, A. A., Eisen, M. B., Davis, R. E., Ma, C., Lossos, I. S., Rosenwald, A., et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503-511.
- 5) Kluin, P. M., Slootweg, P. J., Schuurman, H. J., Go, D. M., Rademakers, L. H., van der Putte, S. C., et al. Primary B-cell malignant lymphoma of the maxilla with a sarcomatous pattern and multilobated nuclei. *Cancer* 1984; 54: 1598-1605.
- 6) Carbone, A., Gloghini, A., Libra, M., Gasparotto, D., Navolanic, P. M., Spina, M., et al. A spindle cell variant of diffuse large B-cell lymphoma possesses genotypic and phenotypic markers

- characteristic of a germinal center B-cell origin. *Mod Pathol* 2006 ; 19 : 299-306.
- 7) Wang, L., Lv, Y., Wang, X., Wei, K., Zhang, Y. Giant primary cutaneous spindle cell B-cell lymphoma of follicle center cell origin. *Am J Dermatopathol* 2010 ; 32 : 628-632.
 - 8) Kimura, Y., Arakawa, F., Kiyasu, J., Miyoshi, H., Yoshida, M., Ichikawa, A., et al. A spindle cell variant of diffuse large B-cell lymphoma is characterized by T-cell/myofibrohistio-rich stromal alterations : analysis of 10 cases and a review of the literature. *Eur J Haematol* 2012 ; 89 : 302-310.
 - 9) Jghaimi, F., Hocar, O., Akhdari, N., Amal, S., Belaabidia, B. Primary cutaneous spindle-cell B-cell lymphoma of follicle center cell origin. *Am J Dermatopathol* 2013 ; 35 : 871-873.
 - 10) Rozati, S., Kerl, K., Kempf, W., Tinguely, M., Zimmermann, D. R., Dummer, R., et al. Spindle-cell variant of primary cutaneous follicle center lymphoma spreading to the hepatobiliary tree, mimicking Klatskin tumor. *J Cutan Pathol* 2013 ; 40 : 56-60.
 - 11) Thiery, J. P., Sleeman, J. P. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006 ; 7 : 131-142.
 - 12) Warnke, R. A., Weiss, L. M, Chan, J. K. C., Cleary, M. L., Dorfman, R. E. Tumors of Lymph Node and Spleen. Atlas of Tumor Pathology. Third Series, Fascicle 14. Washington DC : Armed Forces Institute of Pathology ; 1994. 176-177.
-

症 例

古典的ホジキンリンパ腫結節硬化型 syncytial variant の 1 例

吉野 龍一¹⁾ 奥 和子¹⁾ 杉生 憲二¹⁾ 山根三千秋¹⁾
 原 沙由美¹⁾ 後藤 孝吉²⁾ 永野 輝明²⁾ 中塚 伸一²⁾

独立行政法人労働者健康安全機構関西労災病院中央検査部¹⁾, 同 病理診断科²⁾

背景: Syncytial variant (SV) は古典的ホジキンリンパ腫 (CHL) 結節硬化型のまれな亜型である。大型細胞がシート状に出現し、上皮性腫瘍との鑑別が問題となる場合がある。

症例: 90 歳代, 女性。主訴は右腋窩リンパ節腫大。乳癌のリンパ節転移を疑うも、画像的に原発巣は認めなかった。潜在性乳癌を疑ってリンパ節穿刺細胞診を施行したが、判定困難であった。確定診断のため腋窩リンパ節郭清が施行された。郭清リンパ節の捺印標本では小型リンパ球, 好中球, 好酸球を背景に明瞭な核小体を有した大型核の細胞を孤立散在性もしくは結合性を有した集塊として認め、上皮性腫瘍が疑われた。組織学的には線維性硬化を伴って、結節状, シート状の大型細胞集団を認め、lacunar 細胞を多数認めた。免疫染色は cytokeratin (-), LCA (-), CD30 (+), CD15 (+) を示した。以上より、最終診断は CHL 結節硬化型 SV とした。

結論: SV は通常型の CHL と異なり、大型異型細胞が多数、集塊状, シート状に出現することがある。上皮性腫瘍の転移との鑑別がしばしば問題となるため、本疾患の存在を念頭において、慎重に推定診断を行う必要がある。

Key words : Lymph node, Imprint cytology, Classical Hodgkin lymphoma, Syncytial variant, Metastatic carcinoma

I. はじめに

Syncytial variant (SV) は古典的ホジキンリンパ腫 (classical Hodgkin lymphoma, CHL) 結節硬化型のまれな亜型である。異型の目立つ大型細胞がシート状に出現し、細胞

診、組織診で上皮性腫瘍との鑑別が問題となる場合がある¹⁻⁴⁾。今回、潜在性乳癌からの転移が疑われた腫大腋窩リンパ節に対して穿刺、生検を行い、診断に難渋したものの、その後の郭清リンパ節にて組織学的に診断がついた CHL 結節硬化型 SV の 1 例を経験したので、その穿刺・捺印細胞像と合わせて報告する。

II. 症 例

症 例: 90 歳代, 女性。

主 訴: 右腋窩リンパ節腫大。

既往歴・家族歴: 特記すべき事項なし。

現病歴: 上記主訴で近医を受診し、乳癌のリンパ節転移が疑われ、当院紹介となった。リンパ節腫大は複数、ゴム様硬度であり、癒合傾向は認められなかった。エコー、CT、MRI にて右腋窩に 2 cm 大までの腫大リンパ節を複数認めたが、両側乳腺に明らかな腫瘍性病変は認められな

A case of the syncytial variant of classical Hodgkin lymphoma-nodular sclerosis subtype

Ryuichi YOSHINO¹⁾, C. T., I. A. C., Kazuko OKU¹⁾, C. T., I. A. C., Kenji SUGIO¹⁾, C. T., I. A. C., Michiaki YAMANE¹⁾, C. T., I. A. C., Sayumi HARA¹⁾, C. T., Takayoshi GOTO²⁾, M. D., Teruaki NAGANO²⁾, M. D., Shin-ichi NAKATSUKA²⁾, M. D.

¹⁾Department of Clinical Laboratory Services, ²⁾Department of Pathology, Kansai Rosai Hospital

論文印刷請求先 〒660-8511 兵庫県尼崎市稲葉荘3の1の69 独立行政法人労働者健康安全機構関西労災病院病理診断科 中塚伸一
 平成 27 年 10 月 29 日受付
 平成 28 年 4 月 12 日受理

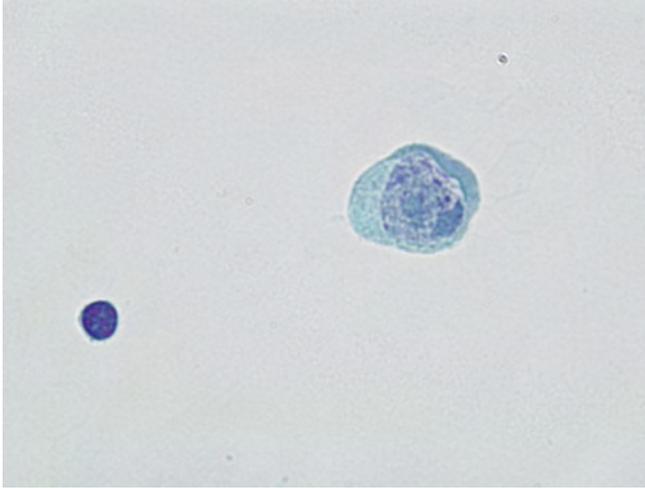


Photo. 1 Findings of fine needle aspiration cytology of the right axillary lymph node (Pap. staining, $\times 100$). Isolated large atypical cells with irregular nuclear contours and prominent nucleoli. The findings are suggestive of metastatic breast cancer.

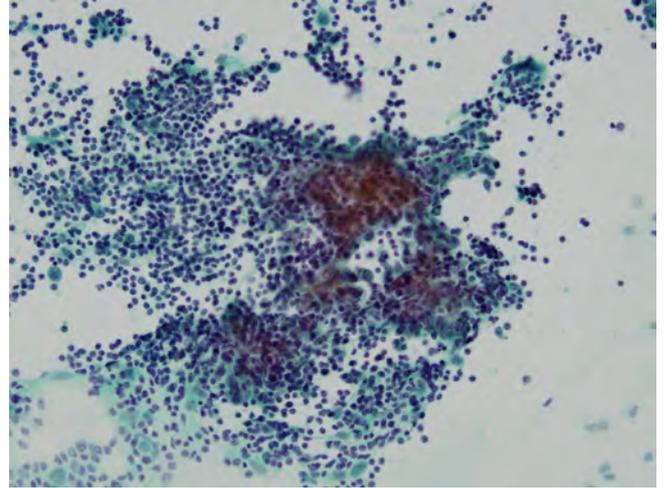


Photo. 2 Findings of imprint cytology of the dissected right axillary lymph node (Pap. staining, $\times 100$). Large atypical cells occurring in cohesive clusters in a lymphocytic background.

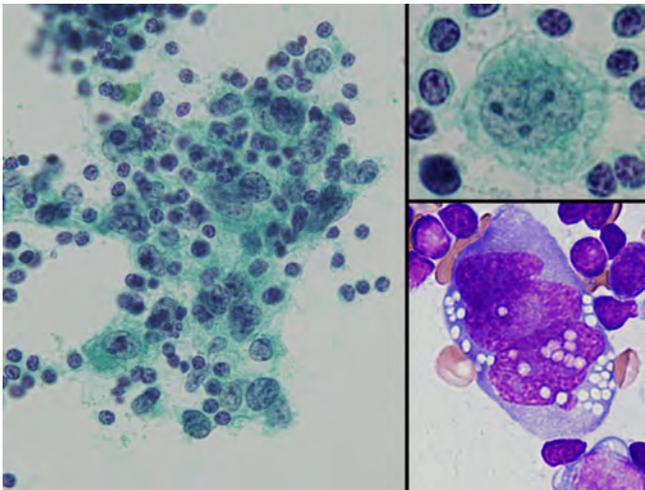


Photo. 3 Findings of imprint cytology of the dissected right axillary lymph node (left : Pap. staining, $\times 40$, upper right : Pap. staining, $\times 100$, lower right : Giemsa staining, $\times 100$). Large cells with abundant clear cytoplasm and a large single lobated nucleus containing a swollen nucleolus. The tumor cells occurring in cohesive clusters, mimicking epithelial tumor. No diagnostic HRS cells are seen.

かった。また、縦隔病変も認められなかった。炎症反応のない持続するリンパ節腫大であり、年齢、性別、部位を考慮し、潜在性乳癌からの転移を疑って、リンパ節穿刺細胞診を施行したが良悪判定困難であった。針生検では悪性所見は認められなかった。確定診断のため、腋窩リンパ節郭清術が施行され、捺印細胞診と組織診を行い、CHL 結節硬化型 SV の診断にいたった。術後、化学療法は施行せず、

再発なく経過観察中である（観察期間約 10 ヶ月）。

入院時検査所見：血算上の異常は軽度の貧血を認めるのみ (Hb 10.5 g/dl)。LDH, CEA, CA15-3 は基準値内。sIL-2R は未検。

画像所見：エコー、CT、MRI で右腋窩に 2 cm 大までの腫大リンパ節を複数認め、MRI 拡散強調画像では高信号を認めた。PET では FDG の異常集積 (SUVmax = 2.82-10.9) を認めた。両側乳腺には腫瘍性病変を認めず、FDG の異常集積は認めなかった。

III. 細胞学的所見

1. 穿刺吸引

核小体の明瞭な不整形の核を伴う大型の異型細胞を孤立散在性にごく少数認め、上皮性悪性腫瘍（乳癌）の転移を疑ったが、採取細胞量が非常に乏しく、かつ標本の乾燥が著しかったため、良悪判定困難とした (Photo. 1)。Giemsa 染色標本は作製されなかった。

2. 郭清リンパ節捺印

Papanicolaou 染色標本で、背景に成熟した小型のリンパ球（出現細胞の 83%）と少数の好中球（同 6%）、好酸球（同 3%）、組織球（同 2%）を認め、細胞破砕物を少量認めた。明瞭な核小体と粗大なクロマチンを有した大型核の異型細胞（同 6%）を孤立散在性もしくは集塊状に認めた (Photo. 2, 3)。細胞質は豊富で淡明であった。単核ながら分葉状の大型核を伴う異型細胞も少数認めた。Giemsa 染色標本でも複数の明瞭な核小体を持ち、分葉状の不整形な核を伴う異型細胞を認めた。細胞質は好塩基性で、一部の

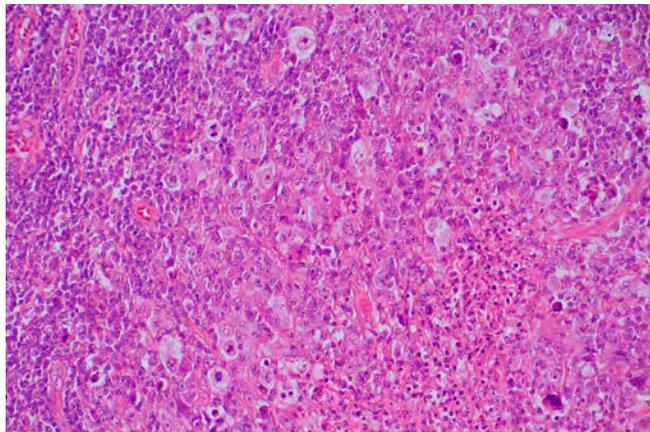


Photo. 4 Histological findings of the dissected lymph node (HE staining, $\times 20$).
HRS cells and their variant cells adhering to each other arranged in a sheet-like manner. A necrotic focus with neutrophil infiltration is seen at the center of the tumor cell nest.

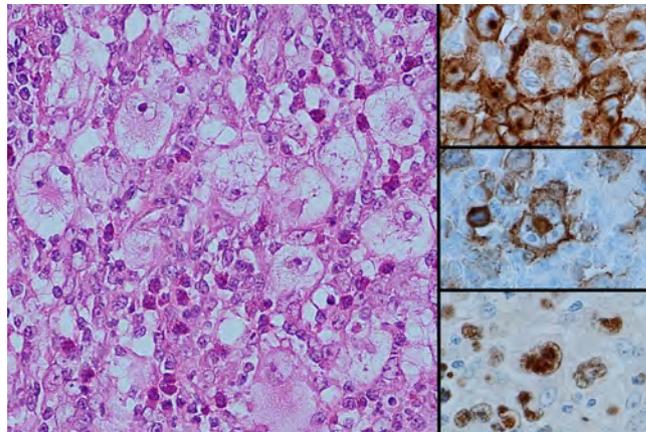


Photo. 5 Histological findings of the dissected lymph node (left: HE staining, $\times 40$, upper right: CD30, $\times 40$, middle right: CD15, $\times 40$, lower right: EBER ISH, $\times 40$). Many lacunar cells with retracted clear cytoplasm are seen. HRS cells and their variant cells are positive for CD30, CD15, and EBER.

細胞には複数の円形の小空胞を認めた。いずれの染色標本とも、異型細胞に結合性を認めることから、上皮性腫瘍を疑ったが、組織型の確定にはいたらなかった。レトロスペクティブにみて、標本上、診断的価値のある Hodgkin/Reed-Sternberg (HRS) 細胞は認めなかった。

IV. 肉眼的所見

郭清した腋窩リンパ節の断面は膨隆し、肉眼的に明瞭な結節状構造を認めた。

V. 病理組織学的所見

郭清した腋窩リンパ節は被膜を中心に線維性硬化が目立ち、リンパ組織の一部は線維性の隔壁により、結節状に区画されていた。肉眼的に認めた結節状構造に一致して、核小体の明瞭な大型核を有する異型細胞 (HRS 細胞 variant) が結節状、シート状に増殖する像を認め、細胞集団の中心部に好中球浸潤を伴った壊死巣を目立って認めた (Photo. 4)。腫瘍細胞の中には2核以上の大型細胞もあり、やや小さな核小体と分葉状、水胞状の核を有し、周囲に空隙を伴ったいわゆる lacunar 細胞も多数認めた (Photo. 5)。少ないながら、診断的価値のある HRS 細胞も認めた。以上の所見より、CHL 結節硬化型 SV と診断した。

VI. 免疫組織化学および EBV-encoded small RNA-1/2 *in situ* hybridization (EBER ISH)

腋窩リンパ節組織標本に対して行った免疫組織化学に

て、腫瘍細胞は CD20 (+, focal, weak), CD79a (+, focal, weak), CD3 (-), CD5 (-), CD45RO (-), CD30 (+), CD15 (+), CD68 (-), Pax-5 (+, weak), Oct-2 (+), BOB.1 (-), cytokeratin (AE1/AE3) (-), LCA (-), mammaglobin (-), GCDFP-15 (-) を示した。また、EBER ISH は陽性であった (Photo. 5)。

VII. フローサイトメトリー

免疫グロブリン軽鎖の発現に偏りはみられなかった。その他、有意な所見は認められなかった。

VIII. 遺伝子再構成, 染色体分析

Southern blot 法にて免疫グロブリン重鎖遺伝子, T 細胞受容体遺伝子ともにモノクローナルな遺伝子再構成は認められなかった。G バンド法による染色体分析では解析しえた3個の細胞のうち2個に染色体の異常を認めた (47, XX, +mar および 62 $\langle 2n \rangle$, XX, -4, -8, +13, +20, +21, +15mar)。

IX. 考 察

CHL は非腫瘍性炎症細胞の背景と HRS 細胞の出現を病理学的特徴とする悪性リンパ腫である。HRS 細胞とは好酸性の腫大した核小体を伴う2核あるいは多核、分葉状核と豊富な細胞質を有する大型細胞 (Reed-Sternberg 細胞) と単核の大型細胞 (Hodgkin 細胞) を総称したものである。

本邦では CHL は全悪性リンパ腫の 10% 以下を占め、発症年齢は若年者と高齢者の二峰性分布を示す^{3,5)}。組織学的に HL は結節性リンパ球優位型 HL と CHL に大別され、CHL はリンパ球豊富型、結節硬化型、混合細胞型、リンパ球減少型の亜型に分類される^{3,5)}。SV は CHL 結節硬化型の亜型であり、HRS 細胞あるいはその variant cell が結合性をもって充実性に増殖する特徴的な組織像を示す¹⁻⁴⁾。まれな組織亜型のため報告数が少なく、厳密な発生頻度についての記載はない。通常の結節硬化型と同様、縦隔の発生頻度が最も高く、次いで頸部、腋窩リンパ節が多いとされている。比較的多数の症例を集めた Strickler ら、Ben-Yehuda-Salz らの報告の 26 例でみると、年齢が 14~71 歳 (中間値 30 歳) で 35 歳までの若年者は 19 例、55 歳以上の高齢者は 4 例と若年層が多い^{1,2)}。性比は男性 14 例、女性 12 例とほぼ同数である。

組織学的には、一部に通常の結節硬化型の組織像を残しながら、膠原線維束により分画された結節状のリンパ組織内に多数の大型細胞が結合性をもってシート状に増殖し、しばしば腫瘍細胞の増殖巣の中心部に好中球の浸潤を伴った広範な壊死を伴う。大型細胞は、HRS 細胞あるいはその variant cell からなり、variant cell の一つである lacunar 細胞が目立つ点は通常の結節硬化型と同様である。

SV について細胞学的な記載がされた報告は少ないが、既報を整理すると、通常の結節硬化型と同様に小型リンパ球、好酸球、形質細胞を背景に lacunar 細胞に対応する大型細胞が認められる⁶⁻¹²⁾。同細胞は通常単核で水泡状を呈し、分葉状ないしは核縁の折り込みを呈する。核小体は腫大するが、典型的な HRS 細胞と比較すると小さいことが多い。細胞質は淡明ないしは顆粒状であり、辺縁は不鮮明である。2 核の細胞も認められることがあるが、SV では典型的な HRS 細胞の出現はきわめて少ないとされている。既報では 8 例中 7 例で、少ないながら典型的な HRS 細胞が認められている⁷⁻¹²⁾。SV の最大の細胞学的特徴として、これらの大型細胞が結合性の高い集塊状、シート状の構造をなして出現する点が重要であり、三次元的な重積や合体様構造、類臓器様構造の記載のある報告もある⁸⁻¹¹⁾。また、壊死を示唆するフィブリン様の debris を背景に認めることがある。

本例でも、捺印標本上、非腫瘍性の背景に lacunar 細胞に相当する核小体の目立つ大型単核細胞がシート状あるいは立体的な集塊で認められ、SV としては典型的な細胞所見であったといえる。壊死物質と考えられる破砕物も少数認められ、組織所見とも対応する。しかし、レトロスペクティブに詳細に検討しても、典型的な HRS 細胞は認められず、この点が本例の細胞学的診断を難しくした要因の一つ

と考えられる。

臨床的に CHL は頸部、縦隔の単発あるいは多発腫瘍としてみつかることが多く、若年者では胚細胞腫瘍、非ホジキンリンパ腫など、高齢者では転移性腫瘍、胸腺腫瘍、非ホジキンリンパ腫などが鑑別診断として挙がる。SV の組織学的・細胞学的鑑別診断としては、前述のように結合性の高い大型異型細胞集塊が出現するため、癌の転移が最も問題となる。時に細胞質内空胞や背景のムチン様物質を認めることも、癌の転移と紛らわしい点となる^{9,11)}。既報でも 8 例中 4 例では細胞診断で転移性癌が推定診断あるいは鑑別診断に挙がっている。その他、胸腺癌や悪性胚細胞腫瘍、悪性黒色腫およびそれらの転移も鑑別対象となる。悪性リンパ腫の中では、結合性の高い腫瘍細胞が出現するような、未分化大細胞型リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 anaplastic variant、ALK 陽性大細胞型 B 細胞性リンパ腫が鑑別疾患として挙がる。リンパ腫以外の鑑別疾患については cytokeratin, LCA, S-100, HMB-45 などの免疫染色で容易に鑑別が可能である。非ホジキンリンパ腫との鑑別で最も重要な点は、CHL 結節硬化型の組織学的特徴を HE でよく確認することである。補助的手段として免疫組織化学を用い、CD20, CD79a などの B 細胞マーカーが陰性~弱陽性、CD3, CD45RO などの T 細胞マーカーが陰性、CD15 が陽性を示す場合、CHL をこれらの疾患から鑑別する参考所見となる。ただし、CD15 については CHL での陽性率が 76~85% と必ずしも高くはないため、その有用性は限定的である^{13,14)}。CHL 結節硬化型の EBV (Epstein-Barr virus) 陽性率は 10~40% とあまり高くはないが、本例では EBER ISH により EBV の関与を示すことができた。

SV は細胞診での鑑別診断が非常に難しい疾患である。特に、高齢者、担癌者、癌既往者などの場合、癌の転移を疑って穿刺されてくることが多く、慎重な鑑別診断が求められる。詳細に細胞所見をとり、典型的な HRS 細胞をみつけることが、検鏡のうえで重要であるが、原発巣の有無などの臨床情報をよく考慮すること、本疾患についての知識を有し、鑑別疾患の中に本疾患を候補として挙げることも鑑別のうえで重要である。転移性癌と CHL では治療方針が異なるため、細胞診断に少しでも疑問が生じれば、積極的に確定診断のための生検施行を臨床にはたらきかけていくことも重要である。

X. 結 語

SV は大型異型細胞が結合性をもって集塊状、シート状に出現する CHL のまれな亜型である。上皮性腫瘍の転移との鑑別がしばしば問題となるため、本疾患の存在を念頭

において、臨床所見をよく吟味して、慎重に推定診断を行う必要がある。

COI開示 全著者について開示すべき利益相反状態はありません。本論文の要旨は、第56回日本臨床細胞学会総会（春期大会，松江）にて示説発表した。

謝辞 本症例の臨床情報についてご教示いただきました関西労災病院外科の柄川千代美先生，沖代格次先生，血液内科の橋本光司先生に深謝申し上げます。

Abstract

Background : The syncytial variant is a rare variant of classical Hodgkin lymphoma (CHL)-nodular sclerosis subtype. Histologically, this variant shows diffuse or nodular proliferation of large neoplastic cells, therefore, careful attention should be paid to differentiate it from metastatic carcinoma.

Case : The case was that of a female in her 90's who presented with right axillary lymph node swelling. Although metastatic breast cancer was suspected, imaging studies did not show any mass lesion in either breast. Fine needle aspiration cytology and needle biopsy of the axillary lymph node did not reveal any definite evidence of neoplastic disease. Imprint cytology of the dissected lymph node showed solitary or clustered large atypical cells with prominent nucleoli, mimicking epithelial tumor. The final histologic diagnosis was the syncytial variant of CHL-nodular sclerosis subtype. Immunohistochemistry showed the following results : cytokeratin (-), LCA (-), CD30 (+), and CD15 (+). Epstein-Barr virus mRNA was detected in the tumor cells.

Conclusion : Cytopathologically, the syncytial variant of CHL-nodular sclerosis subtype shows an abundance of large neoplastic cells often occurring in cohesive clusters like epithelial tumor cells. It should be borne in mind in lymph node cytology that this disease might mimic metastatic carcinoma.

文 献

- 1) Strickler, J. G., Michie, S. A., Warnke, R. A., Dorfman, R. F. The "syncytial variant" of nodular sclerosing Hodgkin's disease. *Am J Surg Pathol* 1986 ; 10 : 470-477.
- 2) Ben-Yehuda-Salz, D., Ben-Yehuda, A., Polliack, A., Ron, N., Okon, E. Syncytial variant of nodular sclerosing Hodgkin's disease. A new clinicopathologic entity. *Cancer* 1990 ; 65 : 1167-1172.
- 3) Ioachim, H. L., Medeiros, L. J. Hodgkin lymphoma : classical.

- In : Ioachim, H. L., Medeiros, L. J. *Ioachim's lymph node pathology 4th edition*. Philadelphia : Wolters Kluwer ; 2009. 306-324.
- 4) 田代幸恵, 佐藤栄一, 白浜 浩, 北島信一, 大納伸人, 原口浩一・ほか. 前縦隔に巨大腫瘤を形成した結節硬化型ホジキンリンパ腫の syncytial variant の1例. *診断病理* 2007 ; 24 : 125-129.
 - 5) Stein, H., Delsol, G., Pileri, S. A., Weiss, L. M., Poppema, S., Jaffe, E. S. Classical Hodgkin lymphoma, introduction. In : Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al (eds). *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon : IARC : 2008. 326-329.
 - 6) Krasne, D. L., Naritoku, W. Y., Cosgrove, M. M. Diagnosis of syncytial (lacunar cell-predominant) nodular sclerosing Hodgkin's disease by fine needle aspiration. A case report. *Acta Cytol* 1993 ; 37 : 418-422.
 - 7) Luboshitzky, R., Dharan, M., Nachtigal, D., Rosen, G., Honigman, J. Syncytial variant of nodular sclerosing Hodgkin's disease presenting as a thyroid nodule. A case report. *Acta Cytol* 1995 ; 39 : 543-546.
 - 8) Stanley, M. W., Powers, C. N. Syncytial variant of nodular sclerosing Hodgkin's disease : fine-needle aspiration findings in two cases. *Diagn Cytopathol* 1997 ; 17 : 477-479.
 - 9) Stephen, M. R., Mallon, E. A. An unusual presentation of fine needle aspiration (FNA) cytology from the syncytial variant of nodular sclerosing Hodgkin's disease. *Cytopathology* 1998 ; 9 : 271-276.
 - 10) 保坂直樹, 小川 勝, 松本敏男, 大垣日登美, 池原 進. Anaplastic large cell lymphoma と結節硬化型 Hodgkin 病の2例リンパ節腫瘍細胞像の比較. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 : 144-148.
 - 11) Park, I. S., Kim, L., Han, J. Y., Kim, J. M., Chu, Y. C., Choi, S. J. Syncytial variant of nodular sclerosis Hodgkin's lymphoma assessed by fine needle aspiration cytology. *Cytopathology* 2008 ; 19 : 394-397.
 - 12) Kamal, M. M., Khude, S. R., Yadav, S. B., Raut, W. K., Pangarkar, M. A. Syncytial variant of nodular sclerosing Hodgkin's disease : A diagnostic pitfall in fine-needle aspiration cytology. *J Cytol* 2014 ; 31 : 91-92.
 - 13) Stein, H., Uchanska-Ziegler, B., Gerdes, J., Ziegler, A., Wernet, P. Hodgkin and Sternberg-Reed cells contain antigens specific to late cells of granulopoiesis. *Int J Cancer* 1982 ; 15 (29) : 283-290.
 - 14) von Wasielewski, R., Mengel, M., Fischer, R., Hansmann, M. L., Hübner, K., Franklin, J., et al. Classical Hodgkin's disease. Clinical impact of the immunophenotype. *Am J Pathol* 1997 ; 151 : 1123-1130.

症 例

左膝関節滑膜に発生したメトトレキサート関連 リンパ増殖性疾患の1例

佐藤 由美¹⁾ 落合 広美¹⁾ 小林由美子¹⁾ 泉田佳緒里¹⁾
栗原アツ子²⁾ 若木 邦彦¹⁾

新潟県立新発田病院病理検査¹⁾, 新潟県立がんセンター新潟病院病理部²⁾

背景: 近年, メトトレキサート (MTX) は, 関節リウマチ (RA) の治療薬として広く用いられ, 使用頻度は増加している. しかし, 副作用としてのリンパ腫の発生も多く報告されるようになった. 今回私たちは, 左膝関節滑膜に発生した MTX 関連リンパ増殖性疾患 (MTX-LPD) のまれな 1 例を経験したので報告する.

症例: 62 歳, 女性. 9 年前に RA 発症, 8 年前より MTX 投与開始. 8 ヶ月前より左膝関節の腫脹と疼痛を認めた. 関節液細胞診にて MTX-LPD が疑われ, 滑膜切除術が行われた.

結論: 発生部位として非常にまれな滑膜に局限した MTX-LPD の 1 例を経験した. 細胞診検体よりセルブロックを作製し, 確定診断に近づくことができた症例であった. 加えて, 新潟県立リウマチセンターで発生した MTX-LPD 10 例を検討し, 若干の考察を加えて報告する.

Key words : MTX-LPD, Aspiration cytology, Synovial membrane, Case report

I. はじめに

Methotrexate (MTX) は, 関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) の治療薬として低用量でも有用性が高く, 使用頻度は年々増加している. しかし, 副作用としてのリンパ腫の発生が多く報告されるようになった^{1,2)}. 2001 年に WHO 分類において免疫不全関連リンパ増殖性疾患 (immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders

: ID-LPD) の中に取り上げられ, MTX 投与により発生した場合, MTX 関連リンパ増殖性疾患 (MTX-associated lymphoproliferative disorders : MTX-LPD) という独立した疾患として位置づけられている. 今回私たちは, RA 治療のため MTX を経口投与中に左膝関節滑膜に発生した MTX-LPD の 1 例を経験したので報告する.

加えて, 新潟県立リウマチセンターで確認された本例を含む MTX-LPD 10 例について若干の検討を加えたので合わせて報告する.

II. 症 例

患 者: 62 歳, 女性.

現病歴: 9 年前に RA 発症, 8 年前より MTX 投与が開始された (8~11 mg/w, 総投与量約 3500 mg). 8 ヶ月前より左膝関節の腫脹と疼痛を認め, 当院救急外来受診. 新潟県立リウマチセンター通院中であつたため, リウマチセンターにて関節腔穿刺が施行された. 黄色・混濁 (±) の関節液約 60 ml が吸引され, 細胞像検査にて異型細胞を認めた. 後日, 細胞診検体が提出され, 大型リンパ芽球様異型

Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders occurring on and localized to the synovial membrane of the left knee joint—A case report—

Yumi SATO¹⁾, C. T., I. A. C., Hiromi OCHIAI¹⁾, C. T., J. S. C., Yumiko KOBAYASHI¹⁾, C. T., I. A. C., Kaori IZUMIDA¹⁾, C. T., I. A. C., Atsuko KURIHARA²⁾, C. T., J. S. C., Kunihiko WAKAKI¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, Niigata Prefectural Shibata Hospital

²⁾Department of Pathology, Niigata Cancer Center Hospital

論文別刷請求先 〒957-8588 新潟県新発田市本町1の2の8 新潟県立新発田病院病理検査 佐藤由美

平成 27 年 2 月 16 日受付

平成 28 年 3 月 31 日受理

Table 1 Peripheral blood findings

RBC	418 × 10 ⁴ /μl
Hb	12.9 g/μl
WBC	6500/μl
Neut	85.0%
Lymph	8.3%
Mono	6.3%
Eosino	0.2%
Baso	0.2%
Plt	18.1 × 10 ⁴ /μl
Cre	0.55 mg/dl
AST	21 IU/l
ALT	25 IU/l
LDH	210 IU/l
CRP	4.7 mg/dl
RF	11 IU/ml
MMP-3	81.2 ng/ml
S-IL2R	2410 U/ml
EBV-VC-IgG	× 640
EBV-VC-IgA	< × 10
EBV-VC-IgM	< × 10
EBV-EA-IgG	× 10
EBV-EA-IgA	< × 10
EBV-EBNA	× 160
EBV-DNA (PCR)	Positive

細胞が多く出現しており，セルブロックでの免疫染色の結果や臨床所見なども含め MTX-LPD を疑い，良悪鑑別困難と判定した．全身 CT 検索では左膝関節滑膜以外に病変は認めなかったが，局所症状の緩和のため，滑膜切除術が施行された．

血液検査データ：可溶性 IL-2 レセプターが 2410 U/ml と高値を示し，Epstein-Barr virus (EBV) IgG 抗体価の上昇を認め，血清による EBV-DNA の polymerase chain reaction (PCR) 検査でも陽性所見を示した (Table 1)．

画像所見：X 線写真では軟部組織の腫脹を認めるが，関節の破壊性病変は認められなかった．MRI では膝関節液の貯留と前後縦靭帯を取り囲むように顆間部，後顆部に腫瘤性病変を認めた (Photo. 1)．

III. 細胞診所見

小型～中型リンパ球に加え，大型のリンパ芽球様の異型細胞が多数出現していた．核形不整が強く，くびれのある細胞もみられ，核縁肥厚やクロマチン増量を認め，核小体を 1～数個認めた (Photo. 2)．ギムザ染色では，豊富な細胞質で N/C 比が大きい好塩基性の大型リンパ芽球様異型細胞を認めた (Photo. 3)．異型細胞には大小不同性があり，モノトーンな印象ではなく反応性的変化も考えられ



Photo. 1 Magnetic resonance imaging (MRI) findings (sagittal view) : Abnormal shadow (arrow) in the region of the left knee synovium.

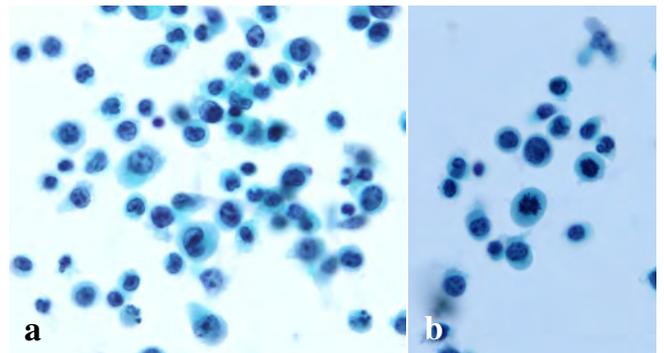


Photo. 2 Cytological findings of the synovial fluid : a : Large atypical immunoblastic cells with irregular nuclear figures, thickened nuclear membranes, several nucleoli, and a variety of cell shapes. b : Mitotic figures (Pap. staining, × 100).

たが，核分裂像が目立ち，増殖性の強い病変が疑われたため，疑陽性，良悪鑑別困難，MTX-LPD 疑いと判定した．セルブロックを作製し免疫染色を行った結果，大型異型細胞は CD20, CD30, CD79a, bcl-2 に陽性所見を認めた (Photo. 4)．

IV. 組織学的所見

滑膜の粗大な絨毛状増生，lining cells の軽度増生，フィブリン沈着，間質には高度の細胞浸潤，小壊死巣，軽度の血管増生を認めた．細胞浸潤は淡い結節状あるいはびまん性で，小型リンパ球，好中球，組織球が混在する大型リンパ芽球様異型細胞の増生を伴っていた．その一部には小指

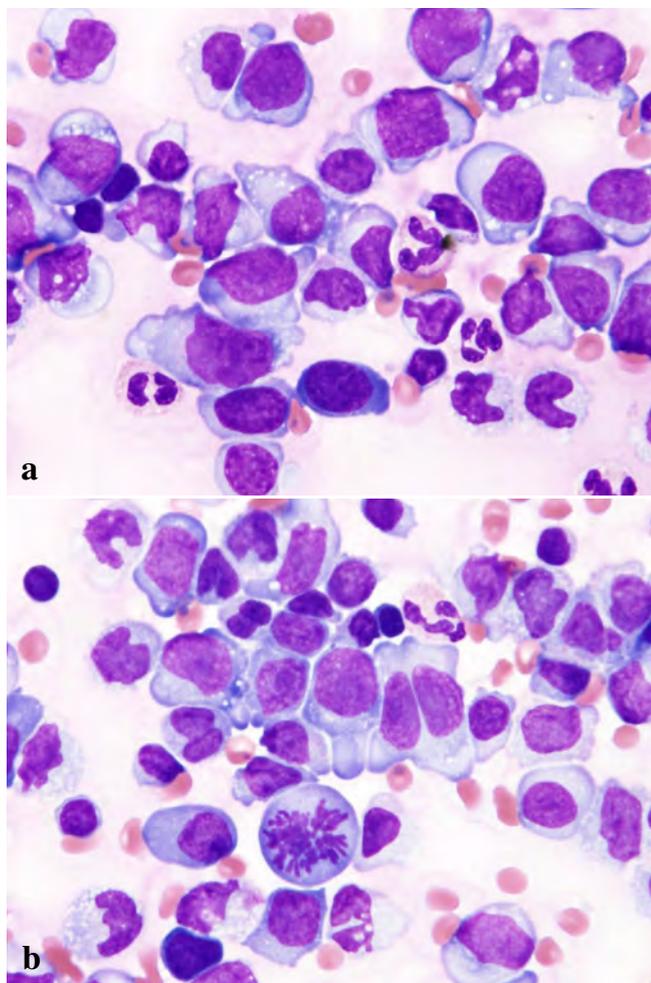


Photo. 3 Cytological findings of the synovial fluid : a : Large atypical lymphoid cells with abundant cytoplasm (Giemsa staining, $\times 100$). b : Mitotic figures (Giemsa staining, $\times 100$).

頭大のモノトーンに増生している部分がみられ、その部分では多数の核分裂像や異常核分裂像を伴い、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma : DLBCL) に類似の細胞増生を認めた (Photo. 5)。免疫染色では大型リンパ芽球様異型細胞は CD20, CD30, CD79 α , bcl-2 に陽性であった (Photo. 6)。MIB-1 は 75% 陽性で、Latent membrane protein-1 (LMP-1) や EBV encoded small RNA (EBER) の *in situ* hybridization (ISH) が陽性であり、MTX-LPD に EBV の関与が示唆された (Photo. 7)。なお、小型細胞は CD3, CD5, CD7, CD8 に陽性で、CD4, CD10, CD56, cyclin D1 は陰性であった。

V. 考 察

MTX-LPD は、RA などの治療のために MTX を投与され

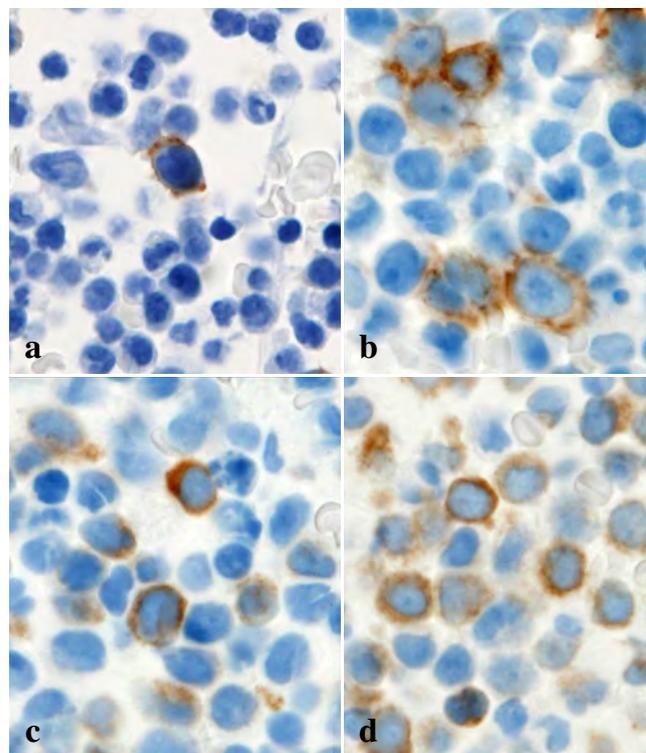


Photo. 4 Immunocytochemical staining of a cell block : Positive for (a) CD20, (b) CD30, (c) CD79 α , (d) bcl-2 ($\times 100$).

た患者に発生するリンパ球増殖性病変で、悪性リンパ腫を発生することもある。WHO 分類では、ID-LPD のなかの“他の医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患”に分類され、近年増加傾向にある。病因として、MTX 投与による免疫不全状態を基盤に EBV 感染や EBV の再活性化に伴うリンパ球増殖性疾患や悪性リンパ腫の発生との関連が注目されており、本疾患の約半数に EBV の関与が認められている¹⁻⁵⁾。本例でも組織標本による EBER の ISH や抗体価、PCR すべてで陽性所見が認められた。

MTX-LPD に伴う悪性リンパ腫の発生部位は、節性 46~78%、節外性 22~48% との報告^{1,3,4)}がみられ、節外性では、消化管、皮膚、肺、軟部組織、唾液腺、肝臓などに認められる⁴⁾。しかし、関節内に限局して発生した症例の報告は私たちの調べたかぎりでは 3 例ほどしかなく⁶⁻⁸⁾関節液で診断された症例は 1 例のみで⁹⁾、本例は非常にまれな症例であると考えられる。組織型では DLBCL (29~89%) と Hodgkin lymphoma (HL) (6~30%) の割合が多くなっている。治療としては一般的な化学療法が行われるが、MTX 投与中止のみで寛解を得られた症例が 4 割程度認められ、特に EBV 関連の症例では寛解が得られやすいとの報告もある¹⁾。本例も 2 年経過した現在まで術後 MTX 投与中止のみで局所病変の増悪はみられず、他にも病変を認めていないことから MTX-LPD の寛解状態として経過観察中である。

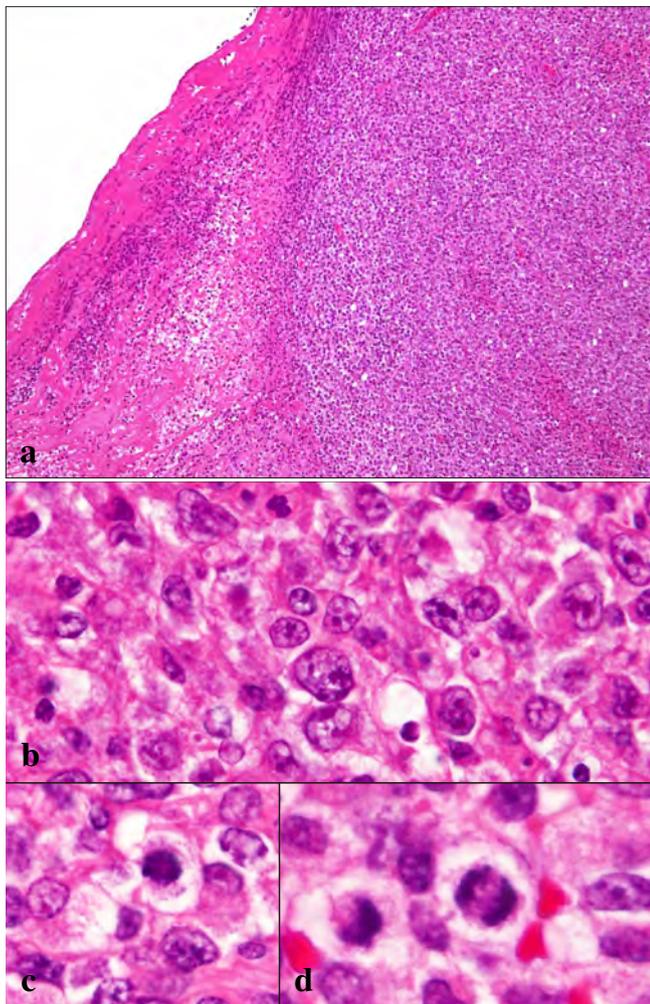


Photo. 5 Histological findings of the knee joint synovium :
 a : Massive lymphoid cell infiltration with necrosis (HE staining, ×20).
 b, c, d : Large atypical lymphoblastoid cells with mitotic figures (HE staining, ×100).

そこで、今回の症例を含めて、新潟県立リウマチセンターで発生した悪性リンパ腫を含めたMTX-LPD 10例を検討した (Table 2)。RA罹患歴は4~31年 (平均15年)、MTX投与期間は1年6ヵ月~14年7ヵ月 (平均約7.8年)、総投与量は790~7700 mg (平均4081 mg)、発生部位はリンパ節が4例、節外性が6例であった。組織型はDLBCL 5例、HL 2例、粘膜関連リンパ組織型節外性濾胞辺縁帯リンパ腫 (extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type : MALT) 1例で、EBV感染は検索した5例中3例で陽性所見を認めた。治療法は化学療法7例、MTX投与中止のみ2例で、予後は寛解6例、治療中2例、死亡2例であった。これらのデータは、諸家の報告と比較してもほぼ同様の結果であった。

今回私たちは、発生部位として非常にまれな滑膜に局限

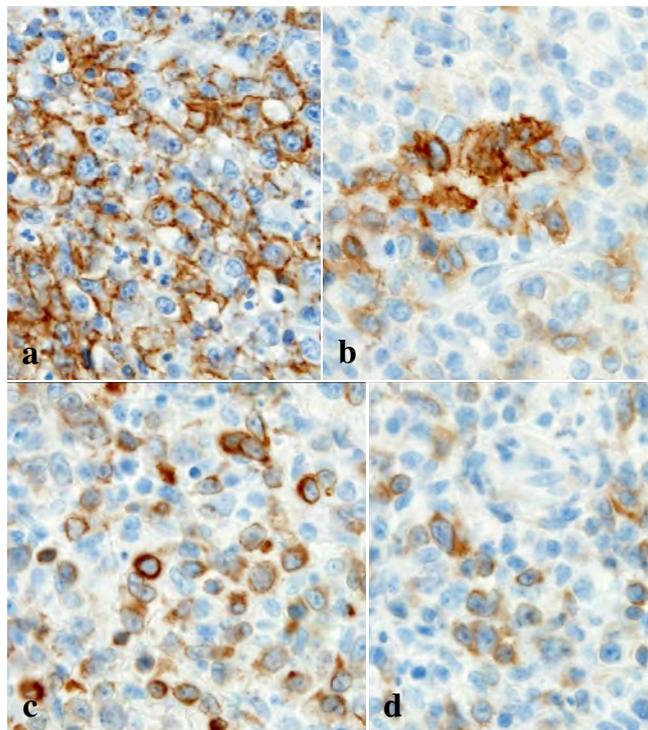


Photo. 6 Immunohistochemistry findings : Positive staining for a : CD20, b : CD30, c : CD79a, d : bcl-2 (×40).

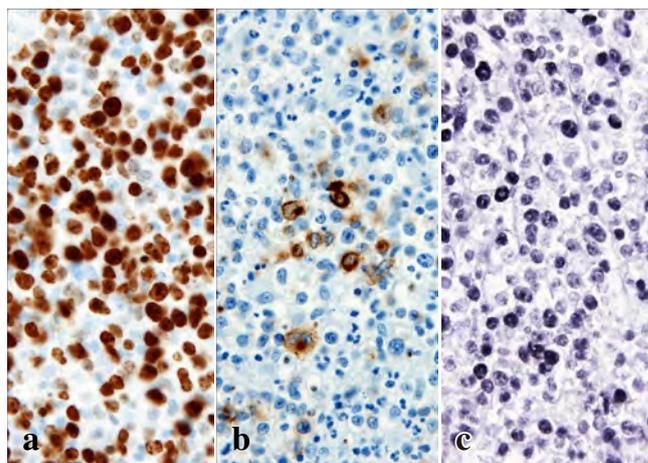


Photo. 7 Immunohistochemistry findings : Positive staining for a : MIB-1 (75%), b : LMP-1, and c : EBV-1 (ISH) (×40).

して発生したMTX-LPDを経験した。細胞診においてセルブロックを用いて免疫染色を行うことで、確定診断により近づくことができた症例であった。

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54回日本臨床細胞学会春期大会 (2013年5月) で報告した。

Table 2 MTX-LPD cases filed in the Department of Rheumatology, Niigata Rheumatic Center

No.	Sex	Age	Years of RA duration	Months of MTX medication (Dose) (total dose)	Primary site	Histology	EBER	Therapy	Outcome
1	M	81	31	144 (10 mg/w) (5760 mg)	Lip and maxilla	HL	3+	Chemo	CR
2	M	52	25	121 (11 mg/w) (5320 mg)	LN	DLBCL	-	Chemo	CR
3	F	58	4	18 (11 mg/w) (790 mg)	LN	MTX-LPD susp.	ND	Withdrawal of MTX	CR
4	F	57	9	97 (11 mg/w) (4230 mg)	LN	DLBCL	-	Chemo	D
5	F	64	9	96 (11 mg/w) (4220 mg)	Stomach	MALT	ND	Chemo	under therapy
6	M	64	18	175 (11 mg/w) (7700 mg)	Mesopharynx	DLBCL	ND	Chemo	CR
7	F	74	22	124 (11 mg/w) (5460 mg)	Stomach	DLBCL	ND	Chemo	under therapy
8	M	82	8	48 (11 mg/w) (2110 mg)	Paranasal sinus	DLBCL	ND	ND	D
9	M	65	unknown	40 (11 mg/w) (1760 mg)	LN	HL	+	Chemo	CR
10 Present case	F	62	9	93 (11 mg/w) (3460 mg)	Left knee synovium	MTX-LPD	3+	Withdrawal of MTX	CR

RA : rheumatoid arthritis ; MTX : methotrexate ; HD : hodgkin lymphoma ; DLBCL : diffuse large B cell lymphoma ; MTX-LPD : MTX-associated lymphoproliferative disorders ; MALT : extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type ; LN : lymph node ; Chemo : chemotherapy ; ND : not done ; CR : complete response ; D : death

本論文を執筆するにあたり、新潟県立リウマチセンターの阿部麻美先生にご協力頂いたことを深謝いたします。

Abstract

Background : Methotrexate is a frequently used medication for rheumatoid arthritis, and several types of lymphomas have been reported as adverse effects of this treatment. We report a rare case of MTX-related lymphoproliferative disorders occurring on the synovial membrane.

Case : The patient was a 62-year-old woman who had been diagnosed as having rheumatoid arthritis 9 years earlier and received treatment with MTX for the previous 8 years. She presented to us with an 8-month history of progressively worsening swelling and sharp pain of the left knee joint. Cytological examination of a synovial fluid specimen from the left knee joint led to the suspicion of methotrexate-associated lymphoproliferative disorders, and the excised synovial membrane was histologically examined.

Conclusion : Cases of MTX-LPD limited to the synovial membrane are very rare, and in the present case, cytological diagnosis was made by immunostaining of cell block samples. Data of 9 cases of MTX-LPD other than the present case filed in the Niigata Prefectural Rheumatism Center were also reviewed.

文 献

- 1) Hoshida, Y., Xu, J. X., Fujita, S., Nakamichi, I., Ikeda, J., Tomita, Y., et al. Lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis : Clinicopathological analysis of 76 cases in relation to methotrexate medication. J Rheumatol 2007 ; 34 : 2 : 322-331.
- 2) 石田芳也, 朝日淳仁, 和田哲治, 金井直樹, 小林祐希, 森合重誉・ほか. メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の3例. 日耳鼻会報 2008 ; 111 : 594-598.
- 3) Miyazaki, T., Fujimaki, K., Shirasugi, Y., Yoshida, F., Ohsaka, M., Miyazaki, K., et al. Remission of lymphoma after withdrawal of methotrexate in rheumatoid arthritis : Relationship with type of latent Epstein-Barr virus infection. Am J Hematol 2007 ; 82 : 1106-1109.
- 4) 中峯寛和, 笠井孝彦, 榎本泰典, 武田麻衣子, 田村智美, 野々村昭孝・ほか. 近い将来, 私たちが遭遇する機会が増すとされる疾患 : ①メトトレキサート (MTX) 関連リンパ増殖性疾患. 病理と臨 2007 ; 25 (3) : 251-257.
- 5) 早川正勝, 守田孝司. メトトレキサート治療中に悪性リンパ腫を併発した慢性関節リウマチの1例. リウマチ 1995 ; 35 (4) : 678-682.

- 6) Tiwari, I., Thomas, D. R., Pathy, M. S., Clement, D. A. Non-Hodgkin's lymphoma presenting in synovial membrane. *Br J Clin Pract* 1982 : 36 : 327-328.
 - 7) Birlik, M., Akar, S., Onen, F., Ozcan, M. A., Bacakoglu, A., Ozkal, S. et al. Articular, B-cell, non-Hodgkin's lymphoma mimicking rheumatoid arthritis : synovial involvement in small hand joint. *Rheumatol Int* 2004 : 24 : 169-172.
 - 8) Kennedy, J. W., Wong, L. K., Kaliafarian, B., Turner, L., Hayes, C. W. An unusual presentation of methotrexate-induced B-cell lymphoma of the metacarpophalangeal joint : a case report and literature review. *J Hand Surg* 2006 : 31 : 1193-1196.
 - 9) Emkey, R. D., Ragsdale, B. D., Ropes, M. W., Miller, W. A case of lymphoproliferative disease presenting as juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Med* 1973 : 54 : 825-828.
-

症 例

耳下腺内リンパ節に発見された、皮膚病変を伴わない メルケル細胞癌の1例

甘利 保子 大谷 方子 高瀬 章子 菊地 美保
富岡 理恵 腰高 典子 田辺美樹子 稲山 嘉明

横浜市立大学附属市民総合医療センター病理診断科・病理部

背景：メルケル細胞癌（Merkel cell carcinoma, 以下 MCC）はメルケル細胞由来のまれな神経内分泌腫瘍と考えられている。好発部位は頭頸部、日光暴露の皮膚もしくは皮下結合組織であるがリンパ節転移で発見されることも多い。われわれは、皮膚病変がなく、診断に苦慮した耳下腺内リンパ節の MCC の症例を経験したので報告する。

症例：70歳代、女性。約15ヵ月前に右頸部腫瘤を自覚した。悪性リンパ腫を疑われたため、右耳下腺リンパ節の穿刺吸引細胞診および生検が施行された。細胞診では小型の異型細胞が孤立散在性に出現しており、悪性リンパ腫を疑ったが、免疫組織化学染色をふまえた組織所見から MCC と診断した。皮膚の原発巣は認められず、現在まで再発は認めていない。

結論：MCC の細胞像は、N/C 比の高い小型類円形の細胞が孤立散在性および、一部上皮様集塊にて出現する。さらに核クロマチンが微細顆粒状～すりガラス状という独特の細胞所見は悪性リンパ腫や他の神経内分泌腫瘍との鑑別に有用である。

Key words : Merkel cell carcinoma, Aspiration cytology, Lymph node, Case report

I. はじめに

メルケル細胞癌（Merkel cell carcinoma, 以下 MCC）は表皮基底層に存在するメルケル細胞に由来する神経内分泌腫瘍と考えられており、高悪性度である。好発部位は日光

暴露の皮膚および皮下結合組織で、リンパ節転移で発見されることもある¹⁻⁵⁾。今回われわれは耳下腺内リンパ節に発見されたものの、皮膚病変のない MCC を経験した。皮膚病変のない MCC はきわめてまれで³⁾、臨床的に MCC が鑑別に上がりにくく、穿刺吸引細胞診のみによるリンパ節の MCC は確定診断がきわめて困難である。今回、本症を経験したので、その独特な細胞像を頸部リンパ節の吸引細胞診で遭遇する比較的小型の腫瘍と比較検討した。

II. 症 例

症 例：70歳代、女性。

家族歴：特記事項なし。

既往歴：高血圧、慢性腎炎、緑内障。

現病歴：以前より脂漏性角化症、表皮嚢胞などの皮膚病変が多発していた。約15ヵ月前に右頸部腫瘤を自覚し、近医で悪性リンパ腫を疑われ、当院を受診した。右耳下部、

A case of Merkel cell carcinoma of the lymph node in the parotid gland without a skin lesion

Yasuko AMARI, C. T., J. S. C., Masako OTANI, M. D., Akiko TAKASE, C. T., I. A. C., Miho KIKUCHI, C. T., I. A. C., Rie TOMIOKA, C. T., I. A. C., Noriko KOSHIDAKA, C. T., I. A. C., Mikiko TANABE, M. D., Yoshiaki INAYAMA, M. D., F. I. A. C.

Department of Diagnostic Pathology, Yokohama City University Medical Center

論文別刷請求先 〒232-0024 横浜市浦舟町4の57 横浜市立大学附属市民総合医療センター病理診断科・病理部 甘利保子

平成27年9月11日受付

平成28年4月19日受理

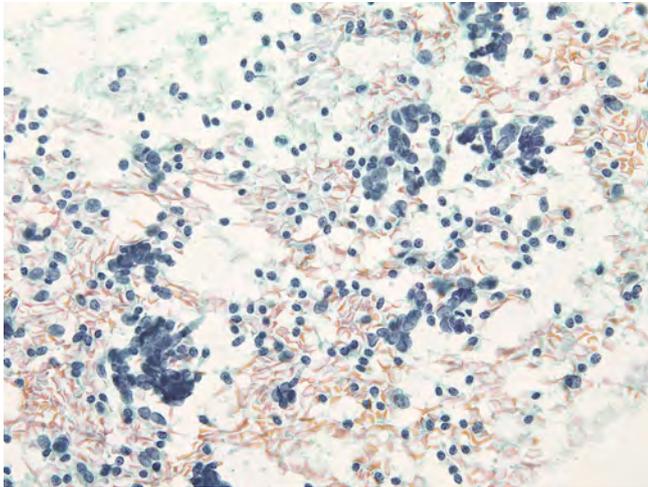


Photo. 1 Cytological features of the lymph node in the right parotid gland. Atypical cells form small clusters. They have inconspicuous cytoplasm and round-to-oval shaped nuclei larger than those of small lymphocytes (Pap. staining, $\times 40$).

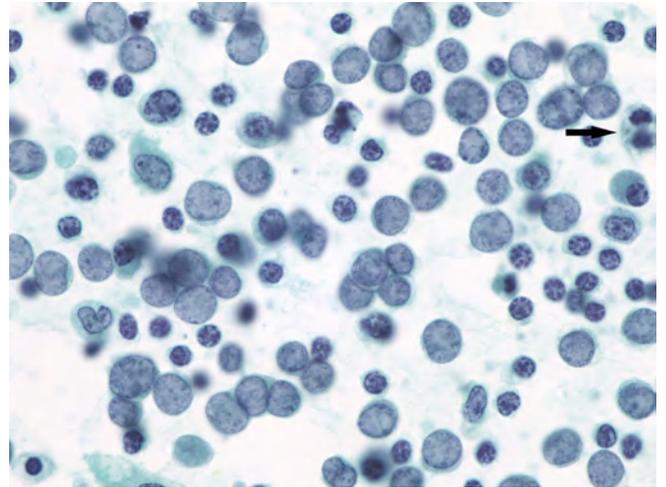


Photo. 2 Numerous isolated atypical cells are present. Some are slightly adherent to each other. The round-to-oval shaped nuclei contain fine granular or smudgy chromatin. Mitoses are also frequently visible (Pap. staining, $\times 100$).

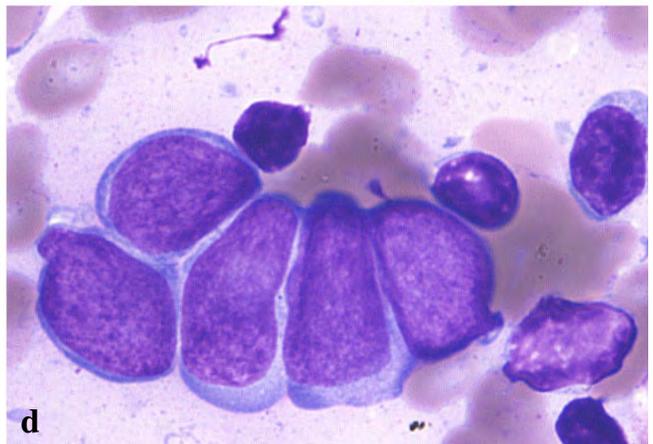
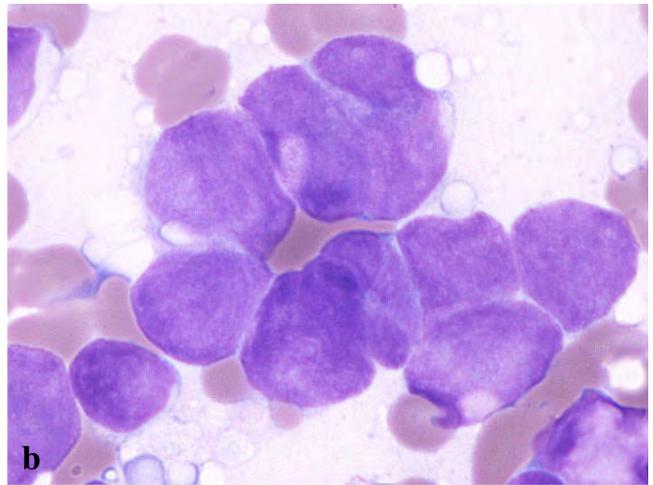
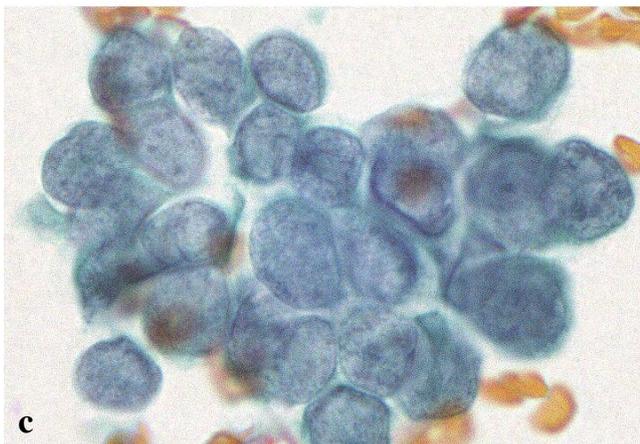
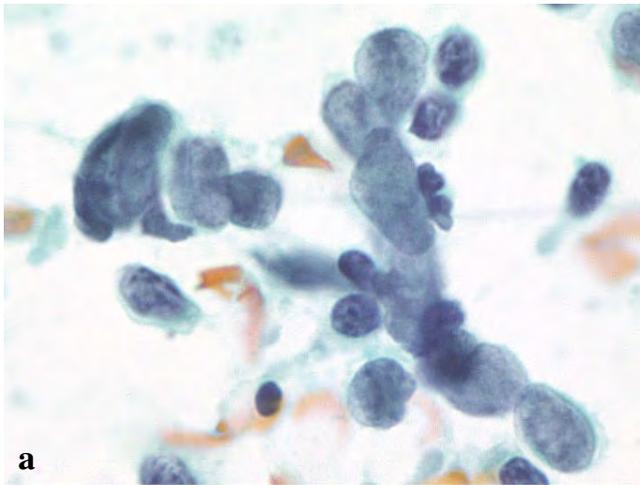


Photo. 3 Tumor cells exhibiting adhesion like epithelial cells and nuclear molding. The nuclei contain fine granular chromatin, corresponding to a ground-glass nucleus or smudgy chromatin. The edges of the nuclei are partly irregular, but not thickened. Nucleoli are obscure (a, c : Pap. staining, $\times 100$, b, d : Giemsa staining, $\times 100$).

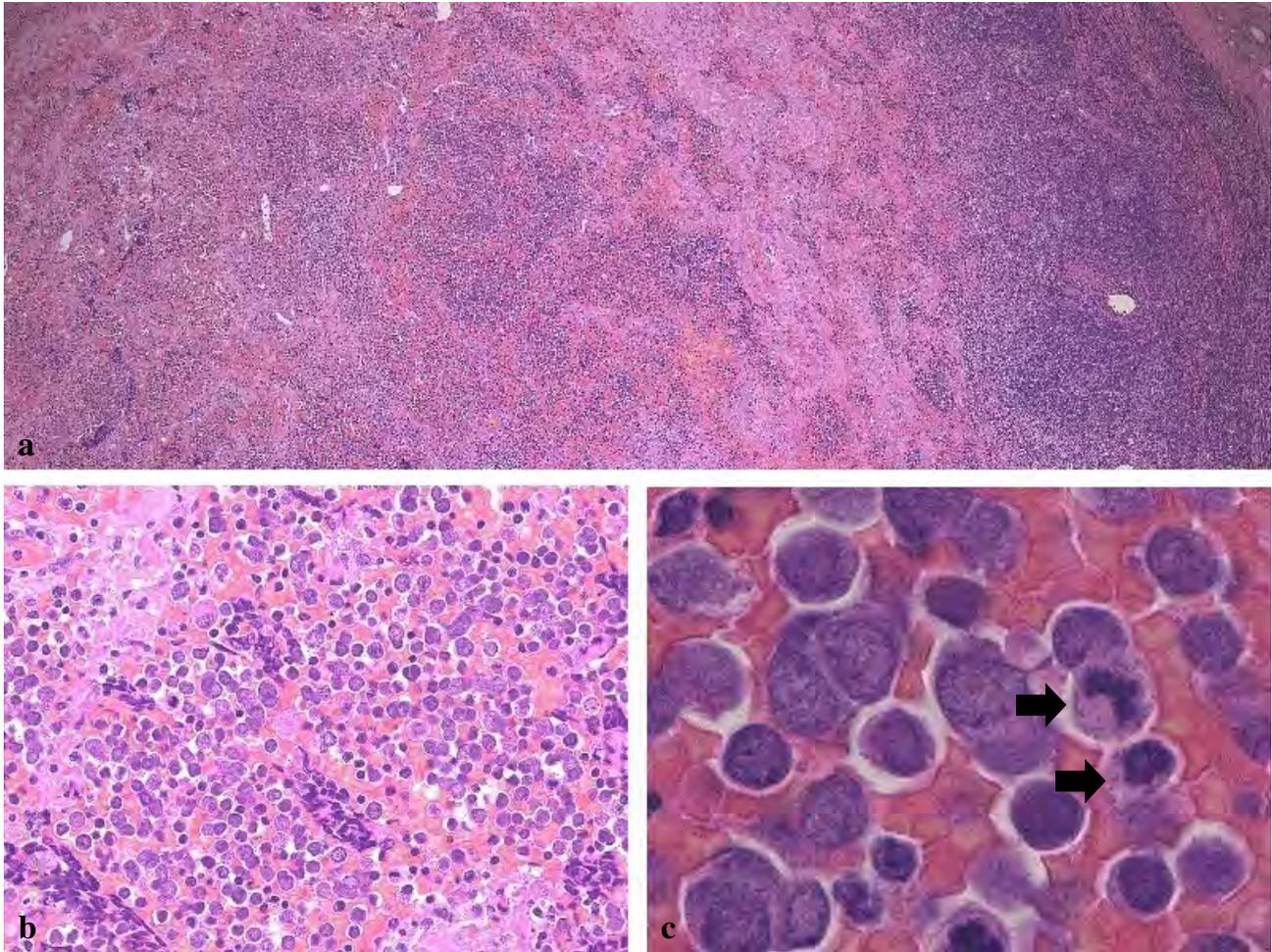


Photo. 4 a : Histologic features of the lymph node in the right parotid gland. The lymph node shows fibrosis, hyalinosis, and hemorrhage, and small, atypical blue cells can be seen (HE staining, a, $\times 4$). The tumor cells have smudgy chromatin and inconspicuous cytoplasm. Some are loosely adherent. Numerous mitoses (arrows) are visible (HE staining, b, $\times 20$, c, $\times 100$).

外耳道背下面に接する部位に軟部腫瘍陰影があり、PET-CTで同部の集積がみられたことから、右耳下腺内リンパ節の腫大と診断され、同部の穿刺吸引細胞診および生検が施行された。

III. 細胞所見

穿刺吸引細胞像では、比較的きれいな背景に、N/C比の高い小型類円形の異型細胞が主として孤立散在性に認められた (Photo. 1)。木目込み様配列、上皮様結合集塊、索状配列も少数ながら認められた (Photo. 2)。異型細胞の大きさは約 $8\sim 10\ \mu\text{m}$ で、淡い細胞質を有し、類円型～楕円形の核は微細顆粒状～すりガラス状であった。核縁は比較的平滑で、淡い核に比較すると部分的に濃く、細顆粒状のクロマチンが核縁に接していた。核小体は目立たなかった (Photo. 3)。また核分裂像が多く認められた (Photo. 2)。

耳下腺内のリンパ節から採取され、背景には小型リンパ球も散見されたことから、細胞診では孤立散在性の細胞像を重視し、悪性リンパ腫を疑った。

IV. 病理組織所見

耳下腺内リンパ節は約 $26\times 8\ \text{mm}$ の大きさであった。組織学的に辺縁には二次リンパ濾胞が残存していたものの、中心部には著しい硬化と出血を認め、N/C比の高い小型類円形の好塩基性異型細胞が集簇し、粗な結合がみられた (Photo. 4a, b)。異型細胞は細胞質が乏しく、核は微細顆粒状からすりガラス様のクロマチンを有し、核小体は不明瞭であった。核分裂像が多く認められた (Photo. 4c)。

免疫組織化学染色ではCK20がドット状に陽性で、細胞診に使用した標本でも同様の所見であった (Photo. 5a, b)。さらにクロモグラニンA、シナプトフィジン、CD56も陽

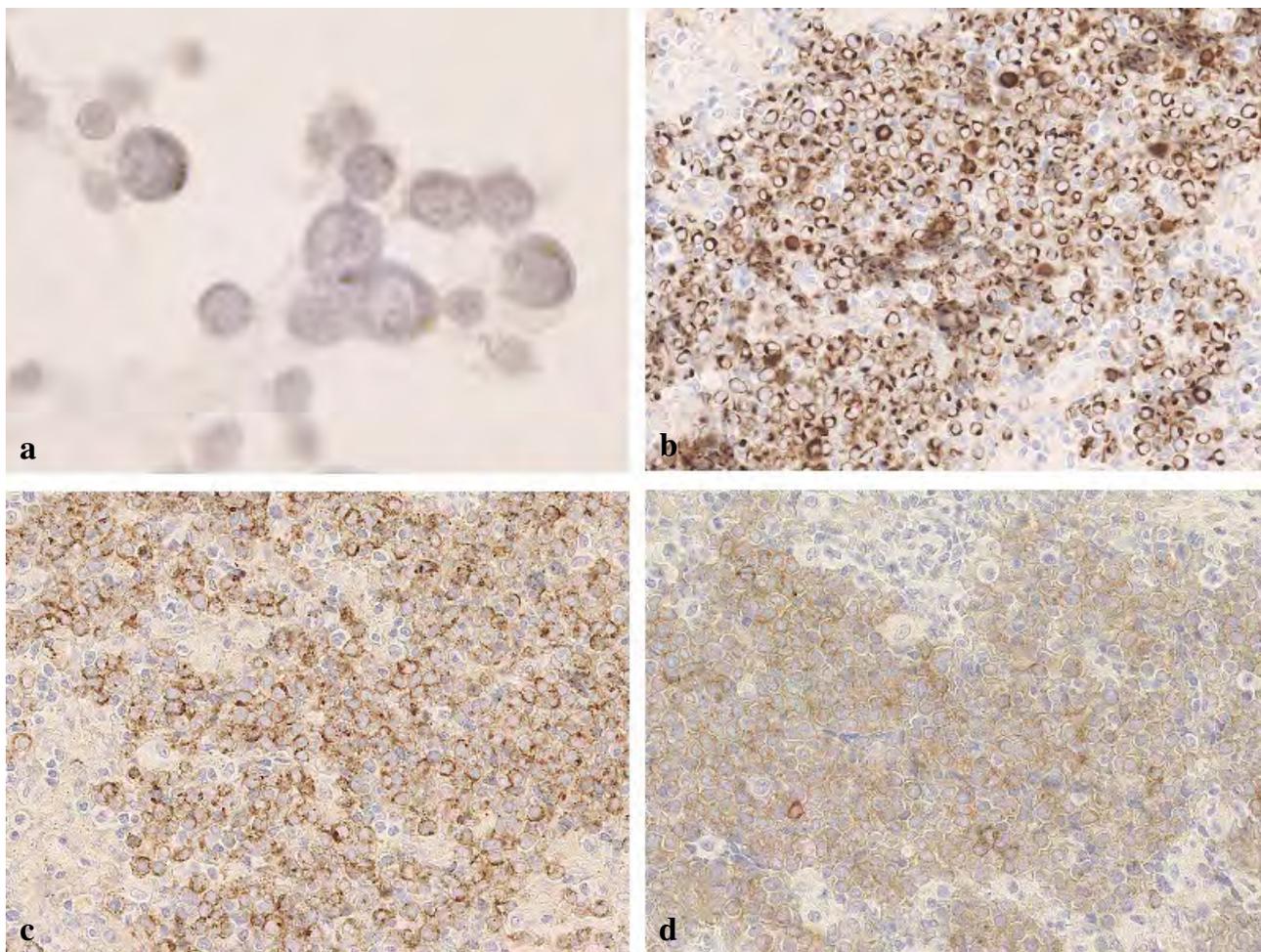


Photo. 5 Immunocytochemical and immunohistochemical findings. a : Cytological specimen showing dot-like CK20 positivity (a, $\times 100$). b, c, d : Histological specimen showing positivity for CK20 (b, $\times 20$), Chromogranin A (c, $\times 20$), and Synaptophysin (d, $\times 20$).

Table 1 Immunohistochemical findings

Antibodies for	
Cytokeartin AE1/AE3	+
Cytokeratin 20	+
CAM5.2	+
Chromogranin A	+
Synaptophysin	+
NCAM (CD56)	+
CD20	-
CD3	-
TdT	-
Thyroid transcription factor-1 (TTF-1)	-
Napsin-A	-

性 (Photo. 5c, d) で, CD3, CD5, CD20, TTF-1, ナプシン A は陰性であった。MIB-1 陽性率は 80% であった (Table 1)。パラフィンブロックから作製した電子顕微鏡所見で

は, 類円形の核を有する異型細胞の細胞質内に, 平均約 82 nm の神経内分泌顆粒を認めた (Photo. 6)。以上の所見より, リンパ節内の MCC と診断した。

V. 考 察

MCC は, 1972 年 Toker によって trabecular carcinoma of the skin として報告され, 皮膚のメルケル細胞由来と考えられている¹⁾。顔面や頭部, 頸部などの日光曝露部に好発するが, 四肢や腹部に発生することもある⁴⁾。神経内分泌への分化を示す高悪性度の腫瘍で, 発生率は増加傾向にあるといわれているものの, きわめてまれな腫瘍である^{2,6)}。高齢者, 慢性リンパ性白血病, 後天性免疫不全症候群, 臓器移植後の免疫抑制状態では, 一般人に比べて発生率が激増するといわれている⁷⁾。2008 年には Merkel 細胞ポリオマウイルス (MCPyV) が発見されたが, その関連性には



Photo. 6 Electron microscopic findings. Tumor cells with dense cored granules in the cytoplasm are visible (arrow). Inset : The granules are about 82 nm in size.

地域差がある^{8,9)}。欧州や北米の症例ではウイルスの同定率が最大 85% に対し、日本では 55% とやや低い傾向にある⁶⁾。他の皮膚悪性腫瘍と比較して局所再発率は 33~36% と高く、所属リンパ節転移は 41~55% で、肝臓や肺などの遠隔転移は 18~35% である⁷⁾。死亡率は約 33% で悪性黒色腫より高く予後不良であるが、一方で自然消退の症例も報告されている^{2,10,11)}。

MCC は細胞診では小型類円形異型細胞が孤立散在性から上皮様結合集塊で出現する^{2,4,5,11~13)}。発生頻度が低いことから、リンパ節の細胞診では、悪性リンパ腫や小細胞癌と診断されることも少なくない^{2,14)}。本例でも耳下腺内リンパ節に発見され皮膚病変がみられなかったことから、穿刺細胞診で MCC は鑑別に上がらず、悪性リンパ腫を第一に疑ったが、その繊細な核所見とわずかにみられた上皮様結合は典型的な悪性リンパ腫の所見とは異なると思われた。

Table 2 は当院で経験した頸部リンパ節の穿刺吸引細胞診で、腫瘍としては比較的小型の異型細胞が出現した症例の細胞像を比較してまとめたものである。悪性リンパ腫では、症例により腫瘍細胞の大きさに大小はあるが、孤立散在性の出現であり結合性を全く認めないことが MCC との鑑別のポイントとなる。また、本山らが、MCC の核は悪

性リンパ腫よりも繊細であると報告しているように、核所見にも違いがある¹⁵⁾。本例においても、悪性リンパ腫と確定しえなかった理由の一つである。同様に MCC と最も類似性があるのは、同じ神経内分泌腫瘍である転移性小細胞癌である。小細胞癌は孤立散在性あるいは木目込み様配列を示す出現形式などが MCC と類似している。両者の鑑別に有用なのは核所見で、小細胞癌は核クロマチンが濃縮状からごま塩状で粗い。Szak らは両者の鑑別に核所見は有用でないとしているが¹²⁾、われわれの検討では核所見に関しては、濃縮状で粗いクロマチン顆粒を示す小細胞癌より、軽度で粗いクロマチン顆粒の悪性リンパ腫のほうが、微細顆粒状またはすりガラス状のクロマチンを有する MCC との鑑別が難しいと思われた。免疫染色では MCC が CK20 陽性であるのに対し、小細胞癌をはじめとするその他の神経内分泌腫瘍は陰性である¹³⁾。パパニコロウ染色で両者が鑑別に上がれば、CK20 を用いることで、細胞診でも診断可能である。転移性の悪性黒色腫や精上皮腫は MCC より大型で、強い核異型や核の偏在性、多核の細胞などが目立つ。唾液腺における比較的小型の上皮性腫瘍（粘表皮癌、腺房細胞癌、腺様嚢胞癌）は、いずれも強い結合性を有し、基底膜様物質や粘液様間質などがみられる。耳下腺内リン

Table 2 Cytological characteristics for differential diagnosis

	Cell arrangement	Cell size (μ)	Nucleus	Chromatin	Nucleolus	Cytoplasm	Immunohistochemical findings
Diffuse Large B-cell lymphoma	scattered, clustering	11.4	cleaved, multilobulated	fine granular	1~multiple, large	abundant to scant	CD20, CD79a, Bcl-2 +
Follicular lymphoma	scattered, dispersed	7.6	round to irregular	fine granular	1, small	abundant to scant	CD20, Bcl-2 +
Hodgkin lymphoma	scattered	13.0-18.7	mirror nucleus, large lobulated	coarse or irregularly reticular	eosinophilic, very large lobulated	abundant pale to fragile	CD30 +
Small cell carcinoma	nuclear apposition, moulding	9.3	round to oval	salt and pepper like, uniformly coarse granular	0 or noticeable, small	scant, obscure	Chromogranin, Synaptophysin, NCAM (CD56), TTF-1 +
Malignant Melanoma	scattered	18.4	vesicular, uniformly hyperchromatin	coarse granular, uniform	1 to a few, large prominent	abundant	Melan-A, S-100, HMB45 +
Testicular Seminoma	loose clusters and individually scattered	13.8	round	fine to coarse granular	single, prominent	abundant to scant	P-ALP, CD117 +
Merkel cell carcinoma	clustering, scattered, moulding	8.3	uniformly round to oval	fine granular, smudgy	1 or noticeable	scant, obscure	CK20 (dot-like), Chromogranin A, Synaptophysin +, (TTF-1 -)

パ節では多彩な形態のリンパ球が出現する。Bechertらは、高齢で神経内分泌腫瘍を疑い、さらに肺癌をはじめとする実質臓器の原発巣がない症例は、穿刺細胞診においてもMCCを考えるべきであるとしている²⁾。

本例は発症から15ヵ月経つが、再発はみられていない。MCCは皮膚のメルケル細胞由来と考えられていることから、本例もリンパ節転移と推定されるが、本例のように皮膚の原発巣が不明な症例も報告されており、発生母地に関しては議論の余地がある。

VI. 結 語

MCCは非常にまれではあるが、皮膚病変が認められない場合にも、上皮様集塊とその独特な細胞学的特徴である微細顆粒状あるいはすりガラス様核クロマチンの所見から、細胞診でも推定可能と考える。

筆者らは開示すべき利益相反状態はありません。

本内容は2014年11月9日、第53回日本臨床細胞学会秋期大会にて発表した。

Abstract

Background : Merkel cell carcinoma (MCC) is considered to be a rare neuroendocrine tumor originating from the Merkel cell of the skin. It commonly arises in the head and neck region, especially in sun-exposed skin areas or subcutaneous tissue ; however, it can also be found as a metastatic tumor in the lymph nodes. We treated a patient with Merkel cell carcinoma of a lymph node in the parotid gland, who did not exhibit any skin lesions.

Case : A 70-year-old woman presented to us with a history of noticing a swelling in her right neck 15 months earlier. Fine-needle aspiration cytology revealed scattered small atypical cells, in addition to cell clusters exhibiting epithelial adhesion. The atypical cells had fine granular to smudgy chromatin and inconspicuous cytoplasm, similar to the features of a malignant lymphoma. The tumor was finally diagnosed as a Merkel cell carcinoma on the basis of the histological and immunohistochemical findings. No skin lesions were apparent yet.

Conclusion : The characteristic features of MCC, such as the structural pattern of the single cells or cell clusters and the fine granular to smudgy chromatin, are very important cytological features for the diagnosis of MCC in cases where no skin lesions are evident.

文 献

- 1) Toker, C. Trabecular carcinoma of the skin. *Arch Dermatol* 1972 ; 105 : 107-110.
- 2) Bechert, C. J., Schnadig, V., Nawgiri, R. The Merkel cell carcinoma challenge. A review from the fine needle aspiration service. *Cancer Cytology* 2013 ; 121 : 179-188.
- 3) 和田範子, 川崎誠康, 小川雅生, 今川敦夫, 出村公一, 亀山雅男・ほか. 腋窩リンパ節原発と考えられた Merkel 細胞癌の 1 例. *日臨外会誌* 2011 ; 72 : 2813-2816.
- 4) 広川満良, 山根哲実. 耳下腺リンパ節に転移した Merkel 細胞癌. *病理と臨* 2004 ; 22 : 968-969.
- 5) 木屋千恵子, 若木邦彦, 室坂千鶴子. 上眼瞼に発生したメルケル細胞癌の 1 例 細胞診におけるサイトケラチン 20 の有用性について. *日臨細胞会誌* 1999 ; 38 : 476-481.
- 6) 小野友道, 鈴木啓之. *Merkel 細胞・Merkel 細胞癌 この謎多き細胞たち*. 東京 : 金原出版 ; 2005.
- 7) *Merkel 細胞癌*. 日本皮膚悪性腫瘍学会, 編. *皮膚悪性腫瘍取扱い規約 第 2 版*. 東京 : 金原出版 ; 2010. 91-96.
- 8) Feng, H., Shuda, M., Chang, Y., Moore P. S. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 2008 ; 319 : 1096-1100.
- 9) 中村智之, 片野晴隆. メルケル細胞ポリオーマウイルスとメルケル細胞癌. *ウイルス* 2009 ; 59 : 37-42.
- 10) 藤原規広, 平林研二, 内村友佳. 生検後に自然消退したメルケル細胞癌の 1 例. *Skin Cancer* 2011 ; 26 : 215-218.
- 11) 是川あゆ美, 金子高英, 池永五月, 中島康爾, 仲野 創, 澤村大輔・ほか. 生検後に消退傾向がみられた Merkel 細胞癌. *臨床皮膚科* 2009 ; 63 : 409-413.
- 12) Szak, C. A., Bosson, E. H., Linder, J., Johnston, W. W. Cytomorphology of primary small-cell carcinoma of the skin in fine needle aspirates. *Acta Cytol* 1984 ; 28 : 290-296.
- 13) 西田秀昭, 橋本哲夫, 池田和隆, 田中卓二, 勝田省吾. 耳介後部に発生したメルケル細胞癌. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 : 601-605.
- 14) 花岡香織, 松本真平, 池田征幸, 熊澤鈴子, 中山宏文. 穿刺吸引細胞所見に CK20 の免疫染色を加え, 確定診断しえたメルケル細胞癌のリンパ節転移の 1 例. *日臨細胞会誌* 2011 ; 50 : 301-302.
- 15) 本山悌一, 石原憲子, 藤田健一, 飛田賢一. メルケル細胞癌の 3 例. *日臨細胞会誌* 1988 ; 27 : 593-601.

症 例

胆嚢癌根治的切除後に発見された前立腺癌の肺の孤在性転移の1例

二宮 慶太¹⁾ 安原裕美子²⁾ 小山奈津子¹⁾ 豊山 浩祥¹⁾京都桂病院検査科¹⁾, 同 病理診断科²⁾

背景：前立腺癌のリンパ節・骨転移を伴わない肺単発転移は非常にまれであり，さらに肺転移から発見される前立腺癌の報告はきわめてまれである．今回，肺腫瘍が前立腺癌発見の契機となった1例を経験したので報告する．

症例：75歳，男性．胆嚢癌根治的切除後の経過観察中に左肺下葉に小結節影を指摘され，転移疑いに対して肺部分切除術が施行された．捺印細胞所見では小型で均一な異型細胞からなるシート状集塊として出現し，明瞭な核小体を1個有する．組織学的には間質成分は伴わず明瞭な核小体を有する均質な異型細胞の篩状増殖からなり，原発性肺癌，胆嚢癌の転移としてはともに非典型的であり，他臓器からの転移の可能性を報告した．術後全身検索にて前立腺癌が疑われ，前立腺針生検の結果，腺癌が確認された．前立腺癌と肺腫瘍は非常に類似しており，前立腺癌の肺転移と判断された．その後の全身検索の結果からも今回切除された肺以外に転移巣は確認されていない．

結論：細胞診のみでは原発性肺癌と転移性肺癌との鑑別は困難な例が多く，本例はオカルト癌であったことに加え，臨床的に既往の胆嚢癌の転移が第一に考えられていたことが，より診断を難しくしていた症例であった．

Key words : Metastatic prostatic adenocarcinoma, Cytology, Lung, Case report

なった1例を経験したので報告する．

I. はじめに

一般的に前立腺癌の転移先は所属リンパ節と骨盤骨・椎骨であり，肺転移は末期には出現するものの，肺への転移はまれで臨床ほとんど問題とはならない¹⁾．肺転移例のほとんどが多臓器転移の一部であり，肺のみの転移は非常にまれである．今回，われわれは胆嚢癌（根治的）切除後の経過観察中に発見された肺腫瘍が前立腺癌の発見契機と

II. 症 例

症 例：75歳，男性．

既往歴：胆嚢癌（pT1bN0M0, stage I），拡大胆嚢摘出術（4年前）．

現病歴：胆嚢癌根治的切除後の経過観察中に発見された，左肺下葉に5mm大の結節を指摘，3ヵ月後には6mm大と軽度増大傾向を示し，胆嚢癌の転移疑いにてVATS(video associated thoracic surgery, ピデオ胸腔鏡下)にて左肺S8部分切除術が施行された．良悪の判定および胆嚢癌の転移と原発性肺癌の鑑別のため術中捺印細胞診が施行された．腫瘍マーカーはCEA 0.8 ng/ml, CA19-9 2.2 U/mlと基準値以下であった．

A case of occult prostate cancer identified by a solitary pulmonary metastasis as the first presentation

Keita NINOMIYA¹⁾, C. T., I. A. C., Yumiko YASUHARA²⁾, M. D., Natsuko KOYAMA¹⁾, C. T., Hiroyoshi TOYOYAMA¹⁾, C. T., I. A. C.

¹⁾Department of Clinical Laboratory, ²⁾Department of Diagnostic Pathology, Kyoto Katsura Hospital

論文別刷請求先 〒615-8256 京都市西京区山田平尾町17 京都桂病院病理診断科 安原裕美子

平成27年9月3日受付

平成28年4月6日受理

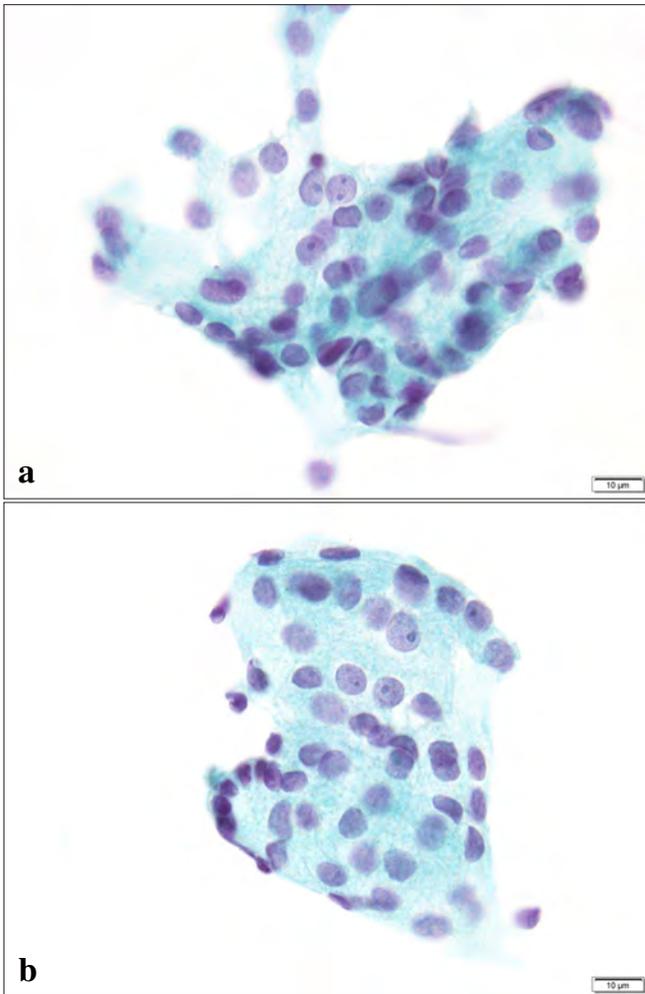


Photo. 1 Intraoperative imprint cytology. Clusters of homogeneous atypical cells are seen with clear nucleoli and glandular polarity (Pap. staining, $\times 100$).

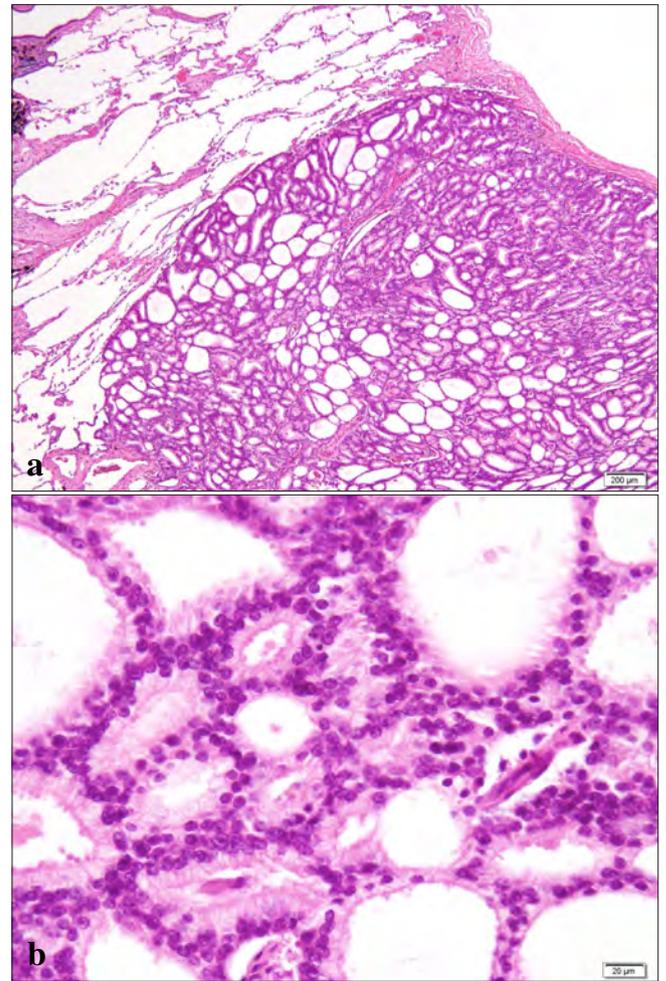


Photo. 2 Histology of the lung tumor. A homogeneous cribriform growth pattern of atypical cells can be observed with clear nucleoli and no stromal components (HE staining, a, $\times 4$, b, $\times 40$).

III. 細胞学的所見

術中捺印細胞診では、背景は少量の蛋白質を背景に単調な細胞からなるシート状集塊もしくは孤立散在性に出現する異型細胞が認められ、裸核様異型細胞も散在性に認められた。集塊は一部腺腔様配列を示し、軽度重積がみられた。細胞質は淡くライトグリーン好性で細胞境界は不明瞭であった。核は比較的小型で円～類円形で軽度核型不整がみられた。核クロマチンは微細で円形ないし類円形の明瞭な赤色の核小体を1つ有していた (Photo. 1)。

IV. 組織学的所見

肺胸膜直下に存在する6 mm大の境界明瞭な類円形白色調充実性腫瘍。組織学的には癒合篩状腺管形成を示す均質

な異型細胞の増殖からなり、間質成分はほとんど伴わない。腫瘍細胞は類円形核で明瞭な核小体を1つ有する (Photo. 2)。免疫染色ではCK7, CK20, TTF-1, NapsinAはすべて陰性を示した。

4年前の胆嚢癌は高分化型乳頭状管状腺癌で、高円柱状異型細胞の増殖からなり、一部で固有筋層への浸潤をきたす (Photo. 3)。免疫組織化学にてCK7, CK20ともに陽性を示した。

以上より、胆嚢癌からの転移は否定的と判断された。しかし、原発性肺癌とするには間質成分が乏しく均質な細胞から構成されていることから非典型的であり、第二の癌からの転移が疑われた。その旨報告し、全身精査を依頼した。

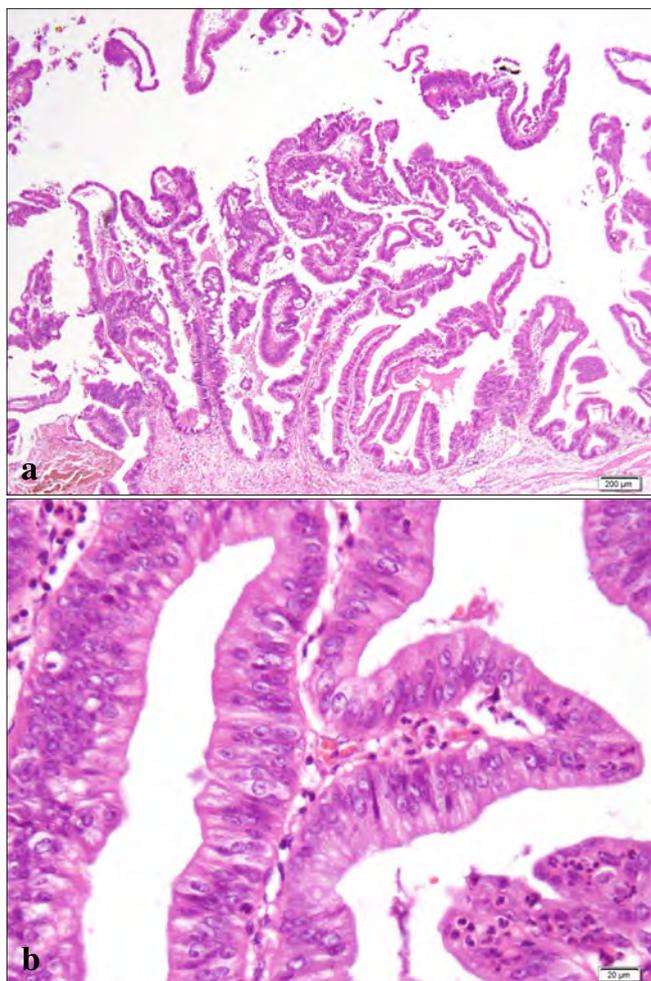


Photo. 3 Histology of the gall bladder cancer. A papillary growth pattern of atypical tall columnar cells is seen (HE staining, a, $\times 4$, b, $\times 40$).

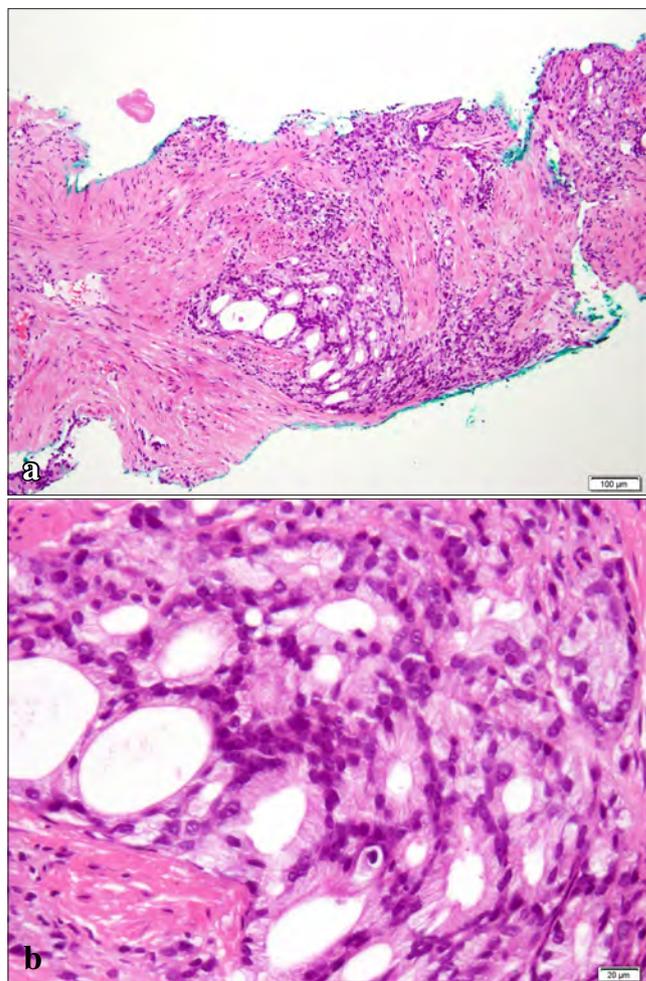


Photo. 4 Prostate needle biopsy. Gleason score $4+4=8$. The homogeneous cribriform growth pattern of atypical cells is noted with clear nucleoli and no stromal components, similar to lung tumor (HE staining, a, $\times 10$, b, $\times 40$).

V. 肺腫瘍術後経過

細胞診、組織診ともに腺癌と診断されたが、原発部位の確定は保留とした。その後PET検査にて前立腺右葉に集積が確認され、血清PSA値は 13.68 ng/ml と高値を示したことより、前立腺癌が疑われ針生検が施行された。11本中1本に篩状の癒合腺管からなるGleason score $4+4=8$ の腺癌が確認された(Photo. 4)。

前立腺癌と肺腫瘍は組織像が非常に類似しており、免疫組織化学にて、肺腫瘍はPSA陽性を示した。以上より、肺腫瘍は前立腺癌の転移と診断した。

前立腺癌はcT3aN0M1(肺単発)であり、ビカルタミド内服とリュープロレリン酢酸塩によるCombined androgen blockadeのホルモン療法が開始され、5ヵ月後にはPSA値は 0.01 ng/ml まで低下した。さらに前立腺と精囊に対して

計 74 Gy の強度変調放射線治療が施行された。放射線治療に伴いホルモン治療は終了となっている。ホルモン療法開始後1年・放射線治療後4ヵ月現在、PSA 0.01 mg/ml と低値を保っており、今回切除された肺以外に転移巣は確認されていない。

VI. 考 察

一般的に前立腺癌の転移先は所属リンパ節と骨盤骨・椎骨であり、肺転移は末期には出現するものの、肺への転移はまれで临床上ほとんど問題とはならない¹⁾。肺転移例のほとんどが多臓器転移の一部であり、肺のみの転移は非常にまれである。古いデータでは肺転移の比率はそれなりに高く報告されているが、最近の臨床癌における肺転移の頻度は低く、Fabozziらの報告によると、肺転移が画像によ

Table 1 Reports of isolated solitary metastasis from prostate cancer

Authors	Sequence	Year	Age (years)	PSA (ng/mL)	Stage	Gleason score	PC treatment	Interval	Lung site/Size	Lung histology (IHC)
present case	lung meta→PC	2016	75	13.68	cT3a	4+4=8	ET, RT	—	LLL, 0.6 cm, resection	PSA+, TTF1-, CK7-, CK20-
Higuchi et al. ³⁾	lung meta→PC	2013	80	36.1	cT3b	4+5=9	RT, ET	—	LUL, NA, biopsy	PSA+, P504S+, TTF1-
Maebayashi et al. ⁴⁾	PC→lung meta	2015	50	61.77	cT4	4+5=9	ET, RT	1 y	LML, 3 cm, resection	PSA+
Pepe et al. ⁵⁾	PC→lung meta	2012	75	8.3	pT3	4+3=7	RP	9 y	LLL, 2 cm, resection	PSA+, TTF1-
Sakai et al. ⁶⁾	PC→lung meta	2010	74	NA	NA	NA	ET	7 y	LLL, 2.2 cm, resection	PSA+, P504S+, *1
Goto et al. ⁷⁾	PC→lung meta	2010	73	14.37	pT4	4+5=9	ET, RP	1 y	RUL, 2 cm, resection	AE1/AE3+, CK7-, CK20-, PSA-
Boyer et al. ⁸⁾	PC→lung meta	2009	65	3	pT2	3+3=6	RP	11 y	LUL, 2.8 cm, resection	
Khandani et al. ⁹⁾	PC→lung meta	2009	78	NA	NA	NA	RT	15 y	LLL, 5 cm, resection	GS4+4, *2
Pruthi et al. ¹⁰⁾	PC→lung meta	2007	72	4.1	pT2b	3+3=6	RP, RT	9 y	RLL, 2 cm, resection	GS4+3, PSA+
Hofland et al. ¹¹⁾	PC→lung meta	2000	49	1.4	pT3c	4+5=9	RP, RT, ET	4 y	LLL, NA, resection	PSA+
Smith et al. ¹²⁾	PC→lung meta	1999	70	NA	pT2	4+5=9	RP	2 y	RLL, 2 cm, resection	PSA+

PC : prostate cancer, IHC : immunohistochemistry, ET : endocrine therapy, RT : radiation therapy, RP : radical prostatectomy, LLL : left lower lobe, LUL : left upper lobe, LML : left middle lobe, RUL : right upper lobe, RLL : right lower lobe, NA : not available

*1 : multiple pleural metastasis, *2 : subcarinal lymph node metastasis

り確認されたのは1290人中47人(3.6%)で、最初の転移が肺であったものが26人(2.0%)であり、肺転移のパターンとしては、大半(27人, 57.4%)は網状ないしびまん性網状-結節状パターン等を示すリンパ管進展であり、単発結節転移は11人, 0.85%のみであった²⁾。過去20年間での前立腺癌の肺への孤立性転移は本例を含めて11例報告されており、うち肺転移から前立腺癌の存在が判明したのは本例を含め2例のみであった^{3~12)}(Table 1)。アジア人での前立腺癌罹患率は欧米人に比して低く¹⁾、昨今のPSAスクリーニングの普及により、実際はさらにまれな状態になるのではないかと推察される。

Copelandら¹³⁾による前立腺癌の肺転移16例の病理学的な検討によれば、11例は単発転移で大きさは0.1cm~2.5cm大、5例は多発肺転移で大きさは0.1cm~4cm大で胸膜直下に観察される。それらはすべて肺内結節で、気管支内腫瘍はなし。15例は前立腺癌の診断後に肺転移が診断され、1例のみが肺転移巣が先に診断された。前立腺癌の肺転移の組織像としては、腺房パターン、導管パターン、カルチノイド様パターンの3パターンがあり、うち腺房パターンが高頻度に確認された。前立腺癌肺転移の特徴的な所見として、小腺管パターン・篩状腺管パターン、リンパ管侵襲、間質反応の欠如、明瞭な核小体を有する均質な類円形核、管腔内粘液、明瞭な細胞境界を挙げている。本例も、篩状腺管パターン、間質反応の欠如、明瞭な核小体を有する均質な類円形核など、前立腺癌の転移としての特徴をよく示していた。しかし、原発肺腺癌の組織像の多彩性から、本例のように前立腺癌が発見されていないオカルト

癌を含む前立腺癌の臨床情報が欠如している場合や、少量検体では正診にいたらない可能性がある。また、Copelandらは、導管パターンは大腸癌の転移と、カルチノイド様パターンはカルチノイド腫瘍との鑑別が重要であると記している¹³⁾。前立腺癌の転移が疑われる際には上記の形態学的な特徴に加え、PSAとともにTTF-1等の肺腺癌マーカーとのパネルが有用である。

VII. 結 語

肺腫瘍から前立腺癌の存在が判明した症例を経験した。肺は転移性癌の多い臓器であるため、組織像が非典型的で違和感を感じる場合には臨床医に全身精査を勧めることが重要である。加えて、既往歴等の臨床情報は重要ではあるが、それに安住せず、積極的に細胞像、組織像から原発部位を特定できるようにしたい。

筆者らは開示すべき利益相反状態はありません

Abstract

Background : Exclusive lung metastasis from prostate cancer is a rare event. In addition, occult prostate cancer identified by lung metastasis as the first presentation is extremely rare. We report herein on a case of prostate cancer with a lung metastasis detected during a follow-up study on gall bladder carcinoma.

Case : A 75-year-old man had undergone an extended cholecystectomy for gall bladder carcinoma 4 years previously. Chest CT revealed

small nodular shadows in the left lung. This mass lesion was considered to be a single metastatic deposit from the previous gall bladder carcinoma. Partial resection of the lung by video assisted thoracic surgery was performed. Histological analysis revealed a homogeneous cribriform growth pattern of columnar cells with prominent nucleoli and no stromal components. These features were not consistent with primary lung cancer and metastasis from gall bladder cancer but metastasis from another organ. Detailed histological and immunohistochemical analysis and high serum PSA value were consistent with prostatic origin. A prostate needle biopsy revealed adenocarcinoma (Gleason score 4+4=8). Extensive clinical and radiological examinations revealed no metastasis in organs other than the lung.

Conclusion : We reported this case of occult prostate cancer identified by a solitary pulmonary metastasis as the first presentation to draw attention to a potential cause of diagnostic error.

文 献

- 1) Eble, J. N., Suter, G., Epstein, J. I., Sesterhen, I. A., eds. World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon : IARC press : 2012. 162-192.
- 2) Fabozzi, S. J., Schellhammer, P. F., el-Mahdi, A. M. Pulmonary metastases from prostate cancer. *Cancer* 1995 ; 75 : 2706-2709.
- 3) 樋口まどか, 中田寛章, 信濃秀希, 榎並宣裕, 藤岡保範, 篠原正裕・ほか. 血痰精査で孤立性の気管支粘膜上皮転移が判明した前立腺癌の1例. *日本胸部臨床* 2013 ; 72 : 911-916.
- 4) Maebayashi, T., Abe, K., Aizawa, T., Sakaguchi, M., Ishibashi, N., Fukushima, S., et al. Solitary pulmonary metastasis from prostate cancer with neuroendocrine differentiation : a case report and review of relevant cases from the literature. *World J Surg Oncol* 2015 ; 13 : 173.
- 5) Pepe, P., Fraggetta, F., Tornabene, F., Nicolosi, M., Aragona, F. Solitary lung metastasis after radical prostatectomy in presence of undetectable PSA. *Arch Ital Urol Androl* 2012 ; 84 : 208-210.
- 6) 境 雄大, 木村大輔, 畑中 亮, 山田芳嗣, 対馬敬夫, 福田幾夫・ほか. 前立腺癌肺転移の1例. *胸部外科* 2010 ; 63 : 340-343.
- 7) Goto, T., Maeshima, A., Oyamada, Y., Kato, R. Solitary pulmonary metastasis from prostate sarcomatoid cancer. *World J Surg Oncol* 2010 ; 8 : 101.
- 8) Boyer, B. P., Boyer, M. J. An elusive tumour in a man who has evidence of prostate cancer metastasis. *JAAPA* 2009 ; 22 : 22-25.
- 9) Khandani, A. H., Funkhouser, W. K., Feins, R., Socinski, M. A. Simultaneous FDG PET+ /Glut1 + lung and FDG PET-/Glut1-subcarinal lymph node metastases from prostate cancer. *Ann Nucl Med* 2009 ; 23 : 595-597.
- 10) Pruthi, R. S., Hubbard, J. S., Kouba, E., Wallen, E. Androgen-independent prostate cancer treated with resection of the solitary metastatic site. *Urol Int* 2007 ; 79 : 371-373.
- 11) Hofland, C. A., Bagg, M. D. An isolated pulmonary metastasis in prostate cancer. *Mil Med* 2000 ; 165 : 973-974.
- 12) Smith, C. P., Sharma, A., Ayala, G., Cagle, P., Kadmon, D. Solitary pulmonary metastasis from prostate cancer. *J Urol* 1999 ; 162 : 2102.
- 13) Copeland, J. N., Amin, M. B., Humphrey, P. A., Tamboli, P., Ro, J. Y., Gal, A. A. The morphologic spectrum of metastatic prostatic adenocarcinoma to the lung : special emphasis on histologic features overlapping with other pulmonary neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2002 ; 117 : 552-557.

症 例

気管支肺胞洗浄液細胞診にて診断した 肺胞蛋白症 4 例の細胞学的特徴

小島 啓子¹⁾ 刀稱亀代志¹⁾ 熊谷 直哉¹⁾ 星合 桂太¹⁾
黒瀬 顕^{1,2)}

弘前大学医学部附属病院病理部¹⁾, 弘前大学大学院医学研究科病理診断学講座²⁾

背景: 肺胞蛋白症 (PAP) は肺胞腔内, 終末気管支内にサーファクタント由来物質が異常貯留をきたす比較的まれな疾患である. 今回われわれは気管支肺胞洗浄液 (BALF) 細胞診で PAP と診断しえた 4 例の BALF の性状ならびに細胞学的所見を比較検討した.

症例: 20~60 歳代の 4 人が CT で PAP が疑われ, 確定診断目的に BALF 細胞診と経気管支肺生検が施行された. BALF の外観は症例間で差があり, 軽度~高度の白濁を呈していた. 細胞診ではいずれも微細な顆粒状物質, 不定形の無構造物質および泡沫マクロファージが認められ, それぞれの出現量は症例間で異なっていた. いずれも過ヨウ素酸シッフ反応陽性ならびに免疫細胞化学的に surfactant protein A 陽性であり PAP と細胞診断した. BALF 中の泡沫マクロファージは重症例では減少していた. また組織診でも肺胞腔内に好酸性物質の貯留と泡沫マクロファージを認め PAP と診断した.

結論: BALF の外観ならびに顆粒状物質, 無構造物質および泡沫マクロファージによる BALF 細胞診は PAP の診断に有用である. さらに泡沫マクロファージの出現量は重症度との関連で重要である.

Key words : Lung, Cytology, Bronchoalveolar lavage fluid, Pulmonary alveolar proteinosis

I. はじめに

肺胞蛋白症 (pulmonary alveolar proteinosis : PAP) は肺胞腔内および終末気管支内に表面活性物質であるサーファクタント由来物質が異常貯留をきたす比較的まれな疾患

で, 診断には気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid : BALF) の細胞診がきわめて有効であることが知られている¹⁻³⁾. 今回われわれは BALF 細胞診で PAP と細胞診断しえた 4 例の BALF の外観ならびに細胞学的所見を比較検討した.

II. 症 例

症例 1

患 者 : 40 歳代, 女性.

主 訴 : 夜間咳嗽, 胸部異常陰影.

既往歴 : 特記すべきことなし.

職業歴 : 事務職.

喫煙歴 : なし.

現病歴および経過 : 夜間咳嗽のため近医受診, 胸部異常陰影を指摘され当院を受診した. 胸部 computed tomography (CT) にて両側肺に汎小葉性すりガラス陰影を認め

Cytological features of four cases of pulmonary alveolar proteinosis diagnosed by bronchoalveolar lavage fluid cytology

Keiko KOJIMA¹⁾, C. T., I. A. C., Kiyoshi TONE¹⁾, C. T., I. A. C., Naoya KUMAGAI¹⁾, C. T., J. S. C., Keita HOSHIAI¹⁾, C. T., J. S. C., Akira KUROSE^{1,2)}, M. D.

¹⁾Department of Anatomic Pathology, Hirosaki University Hospital

²⁾Department of Anatomic Pathology, Hirosaki University Graduate School of Medicine

論文別刷請求先 〒 036-8563 青森県弘前市本町 53 弘前大学医学部附属病院病理部 小島啓子

平成 27 年 12 月 2 日受付

平成 28 年 5 月 9 日受理

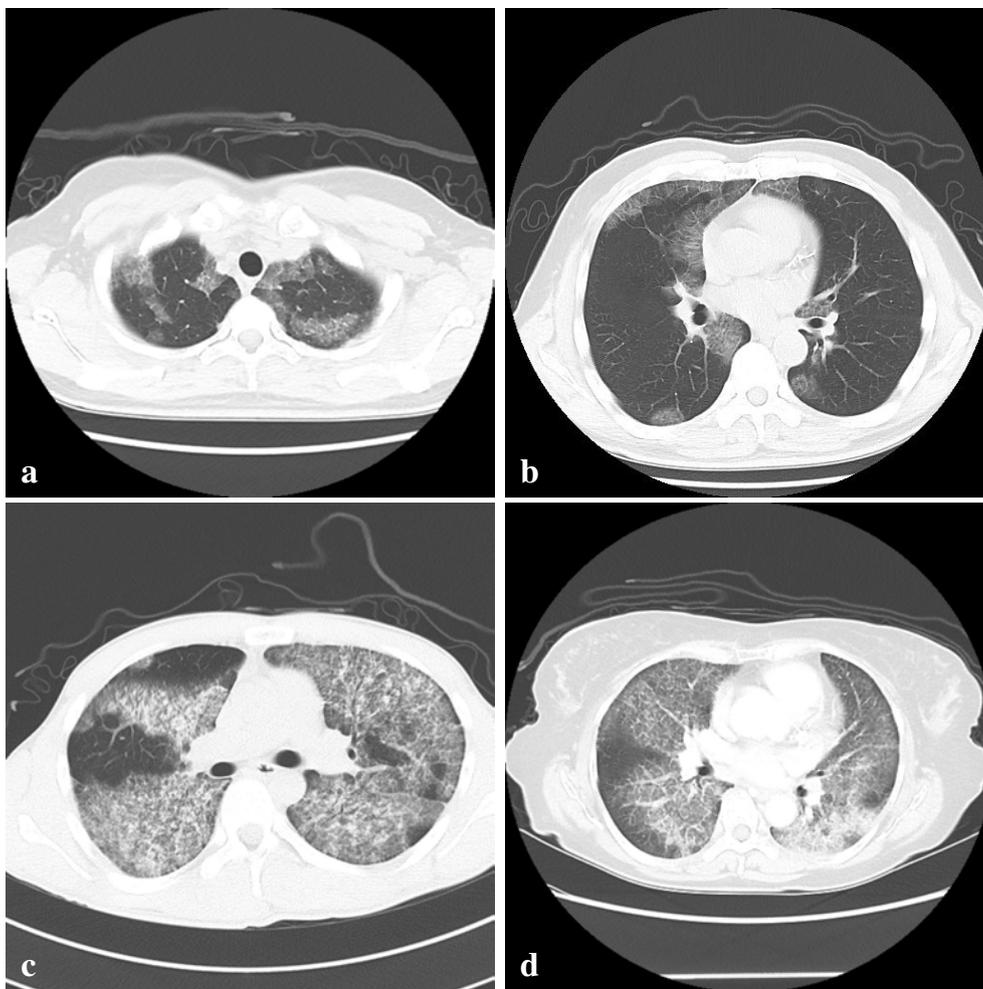


Photo. 1 Chest computed tomography (CT).

a : Case 1, b : Case 2, c : Case 3, d : Case 4.

Each CT image shows ground-glass opacities forming a crazy pavement pattern.

(Photo. 1a), PAP が疑われた。確定診断目的に BALF 細胞診と経気管支肺生検 (transbronchial lung biopsy : TBLB) が施行された。

血液検査所見 : Sialylated carbohydrate antigen KL-6 (KL-6) : 1000 U/ml (基準値 0-499 U/ml), CEA : 1.6 ng/ml (基準値 0-5 ng/ml), 抗 granulocyte/macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) 抗体 : 14.06 μ g/ml (カットオフ値 0.5 μ g/ml), surfactant protein A (SP-A) : 未実施, surfactant protein D (SP-D) : 78.2 ng/ml (基準値 0-109 ng/ml)。

パルスオキシメーター分析ならびに換算値と PAP 重症度分類 : SpO₂ 98%, 換算値 PaO₂ 104 mmHg, PAP 重症度 1.

症例 2

患者 : 50 歳代, 男性。

主訴 : 胸部異常陰影。

既往歴 : 特記すべきことなし。

職業歴 : 教師。

喫煙歴 : 20 本 \times 6 年, 喫煙指数 120。

現病歴および経過 : 検診にて胸部異常陰影を指摘され前医受診。精査目的に当院を受診し, 胸部 CT にて両側肺に汎小葉性すりガラス陰影を認め (Photo. 1b), PAP のほか, 器質化肺炎や異型肺炎が疑われた。確定診断目的に BALF 細胞診と TBLB が施行された。

血液検査所見 : KL-6 : 974 U/ml, CEA : 3.2 ng/ml, 抗 GM-CSF 抗体 : 未実施, SP-A : 40.3 ng/ml (基準値 0-43.7 ng/ml), SP-D : 135 ng/ml。

パルスオキシメーター分析ならびに換算値と PAP 重症度分類 : SpO₂ 97%, 換算値 PaO₂ 91 mmHg, PAP 重症度 1.

症例 3

患者 : 20 歳代, 男性。

主訴 : 咳嗽, 呼吸苦, 肺両側性びまん性陰影。

既往歴 : 交通事故による両肺ドレナージ。

Table 1 Disease severity scores, appearance and cytological findings of BALF

Case	DSS	BALF cloudiness	Granular materials	Globular amorphous material (pieces/HPF (mean))*	Foamy macrophages**	PAS reaction	SP-A (ICC)
1	1	Mild	Few	18.8 (Many)	47% (Many)	+	+
2	1	Mild	Few	2.2 (Few)	55% (Many)	+	+
3	4	Moderate	Many	8 (Few)	8% (Few)	+	+
4	4	Marked	Many	6 (Few)	20% (Few)	+	+

DSS, disease severity scores : BALF, bronchoalveolar lavage fluid : HPF, high- power field : PAS, periodic acid Schiff : SP-A, surfactant protein A : ICC, immunocytochemistry.

*Mean value from 10 HPFs on cytospin preparations. **Percentage of foamy macrophages on cytospin preparations.

職業歴：土木作業員。

喫煙歴：25本×11年，喫煙指数275。

現病歴および経過：検診にて胸部異常陰影を指摘されていたが約2年間放置していた。次第に咳嗽および呼吸苦が強くなり，前医受診。胸部CTにて両側肺にびまん性すりガラス状陰影を認め（Photo. 1c），PAPが疑われた。確定診断目的にBALF細胞診とTBLBが施行された。

血液検査所見：KL-6： ≥ 9000 U/ml，CEA：未実施，抗GM-CSF抗体： $84.77 \mu\text{g/ml}$ ，SP-A： 156 ng/ml ，SP-D： 384 ng/ml 。

動脈血ガス分析とPAP重症度分類：PaO₂ 55.9 mmHg，PAP重症度4。

症例4

患者：60歳代，女性。

主訴：慢性咳嗽，呼吸苦。

既往歴：特記すべきことなし。

職業歴：ホタテの殻を砕く仕事。

喫煙歴：なし。

現病歴および経過：1年半ほど続く慢性咳嗽および労作時の呼吸苦を主訴に前医を受診。胸部CT所見では両側肺にびまん性すりガラス状陰影を認め（Photo. 1d），PAPが疑われた。確定診断目的にBALF細胞診とTBLBが施行された。

血液検査所見：KL-6： ≥ 9000 U/ml，CEA： 38.4 ng/ml ，抗GM-CSF抗体： $6.91 \mu\text{g/ml}$ ，SP-A： 308 ng/ml ，SP-D： 681 ng/ml 。

動脈血ガス分析とPAP重症度分類：PaO₂ 54.4 mmHg，PAP重症度4。

III. 細胞所見

BALF外観：4例ともに白濁しておりその程度は症例間で異なっていた（Table 1）。症例1, 2は軽度の白濁（Photo. 2a, b），症例3は中等度の白濁を呈し（Photo. 2c），症例4では米のとぎ汁様の強い白濁がみられた（Photo. 2d）。

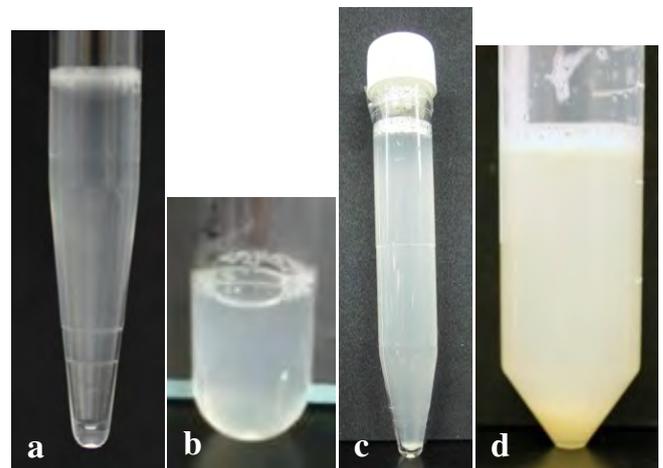


Photo. 2 Appearance of bronchoalveolar lavage fluid (BALF). a : Case 1, b : Case 2, c : Case 3, d : Case 4. a, b : mildly cloudy ; c : moderately cloudy ; d : significantly cloudy.

BALF細胞所見：4例のまとめをTable 1に示す。4例ともに，背景のライトグリーンに染まる微細な顆粒状物質（Photo. 3a），ライトグリーンとオレンジGに好染する大きささまざまな大きさの類円形の無構造物質（Photo. 3b）ならびに通常みられる肺胞マクロファージよりも胞体がより広く泡沫状を呈する泡沫マクロファージ（Photo. 3c）が認められた。微細な顆粒状物質は症例1, 2では少量，症例3, 4では多量であった。無構造物質は，約3mlのBALFをサイトスピン法（1400 rpm，1分）で作製した標本を用いて対物40倍でカウントし，10視野中の平均値を算出したところ，特に症例1で多くみられ，症例2, 3, 4では少量みられるのみであった（Table 1）。泡沫マクロファージは，約0.3~0.5mlのBALFをサイトスピン法（800 rpm，5分）で作製した標本を用いて細胞分画として比率を算出した。その結果，症例1, 2では多数，症例3, 4では少数であった（Table 1）。顆粒状物質と無構造物質はいずれの症例でも過ヨウ素酸シッフ（periodic acid Schiff : PAS）反応陽性（Photo. 4a），免疫細胞化学（immunocytochemistry : ICC）

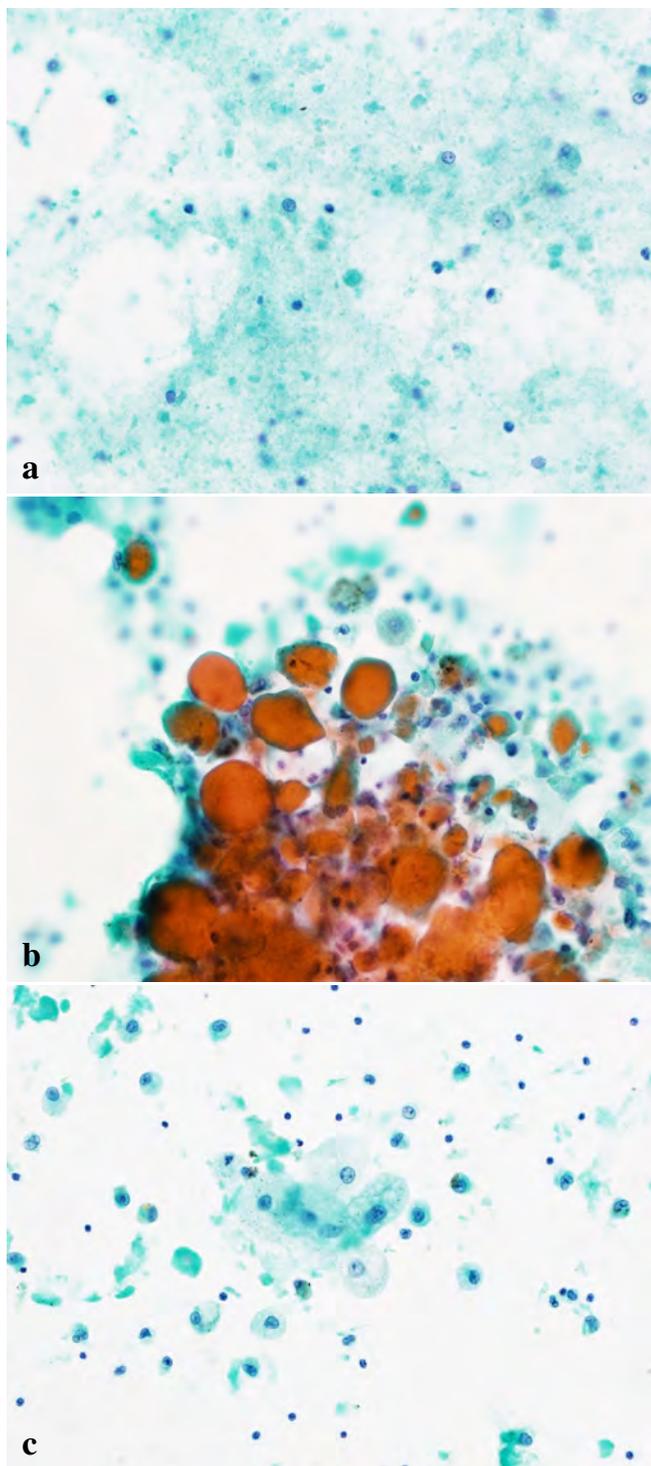


Photo. 3 Cytological findings of the BALF.
 a (Case 4) : Finely granular material seen in the background (Papanicolaou staining, ×40).
 b (Case 1) : Globular amorphous orange material with a green rim (Papanicolaou staining, ×40).
 c (Case 1) : Large foamy macrophages (Papanicolaou staining, ×40).

染色にて抗 surfactant protein A (SP-A) 抗体陽性 (Photo. 4b)であった。以上の所見よりいずれの症例も PAP と細胞診断した。

IV. 組織所見

4例ともに肺胞腔内に好酸性物質の貯留と好酸性顆粒を含む泡沫マクロファージを認めた (Photo. 5a)。肺胞腔内貯留物質は PAS 反応陽性 (Photo. 5b)、免疫組織化学 (immunohistochemistry : IHC) 染色にて抗 SP-A 抗体陽性を示した。症例 1 では肺胞腔内に cholesterol cleft が、症例 2 では肺胞壁に軽度のリンパ球浸潤がみられ、症例 3, 4 では肺胞壁が軽度肥厚していた。以上の所見よりいずれの症例も組織学的に PAP と診断した。

V. 考 察

PAP は表面活性物質であるサーファクタントが肺胞腔内に大量に貯留し発症する。1958 年に Rosen ら⁴⁾により初めて報告され、本邦では 1960 年に岡ら⁵⁾により第 1 例が報告された。日本の有病率は人口 100 万人に 6.2 人と報告されており⁶⁾、30~50 歳代の男性に多い比較的まれな疾患である。

PAP にはその発生機序により、先天性、二次性、自己免疫性 (特発性) の 3 つの病型がある⁷⁾。先天性 PAP はサーファクタント蛋白の遺伝子変異や GM-CSF 受容体欠損が原因で起こる。自己免疫性 PAP は従来、特発性 PAP と呼ばれていたもので、原因が自己抗体であることが解明され自己免疫性 PAP となった。二次性 PAP は骨髓異形成症候群などの血液疾患や呼吸器感染症などの基礎疾患を有するもの、高濃度粉塵吸引に起因するものなどがある。PAP の約 90% は自己免疫性 PAP で、約 10% は二次性 PAP である⁷⁾。

今回の 4 例のうち、症例 1, 3, 4 は抗 GM-CSF 抗体が高値を示し自己免疫性 PAP に分類された。症例 2 では抗 GM-CSF 抗体の測定はなされていないが、明らかな基礎疾患は認めず、粉塵吸引歴もないことから自己免疫性 PAP と推察された。

PAP の診断には BALF の外観と細胞所見が非常に重要である^{1~3,8)}。BALF の外観は白濁しているのが特徴で、今回のいずれの症例も白濁していたがその程度は症例間で異なっており、軽度から米のとぎ汁様の強い白濁までさまざまであった。BALF の細胞学的特徴は背景にライトグリーンに染まる微細な顆粒状物質、ライトグリーンとオレンジ G に好染する大小さまざまな類円形の無構造物質が出現

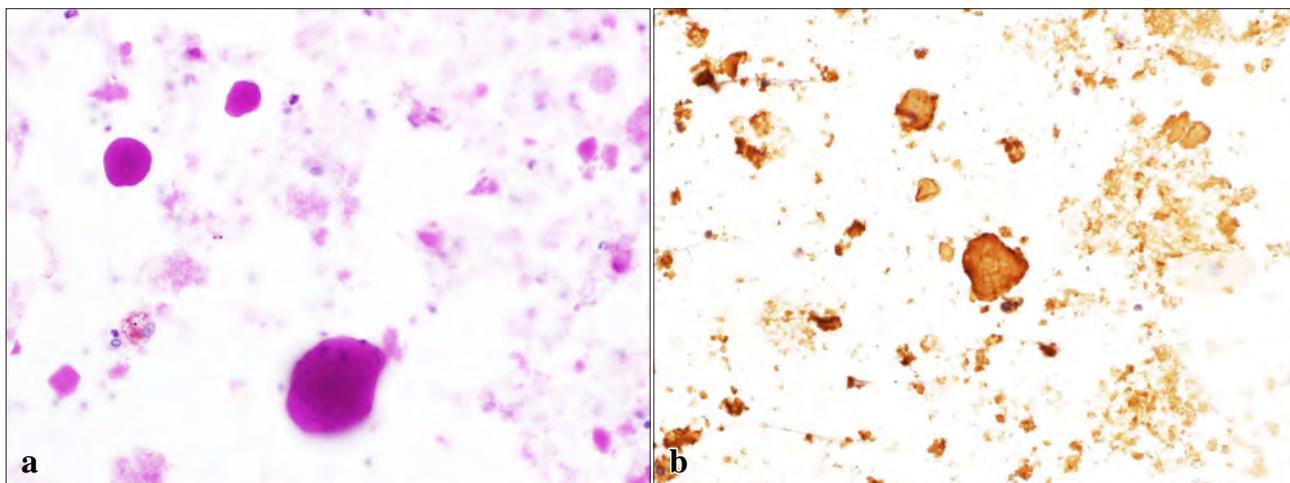


Photo. 4 Findings on PAS reaction and immunocytochemical staining of BALF.

a (Case 3) : Finely granular and globular amorphous material showing positive PAS reaction (PAS reaction, $\times 40$).

b (Case 3) : Finely granular and globular amorphous material showing positive staining for SP-A (Immunocytochemical staining, $\times 40$).

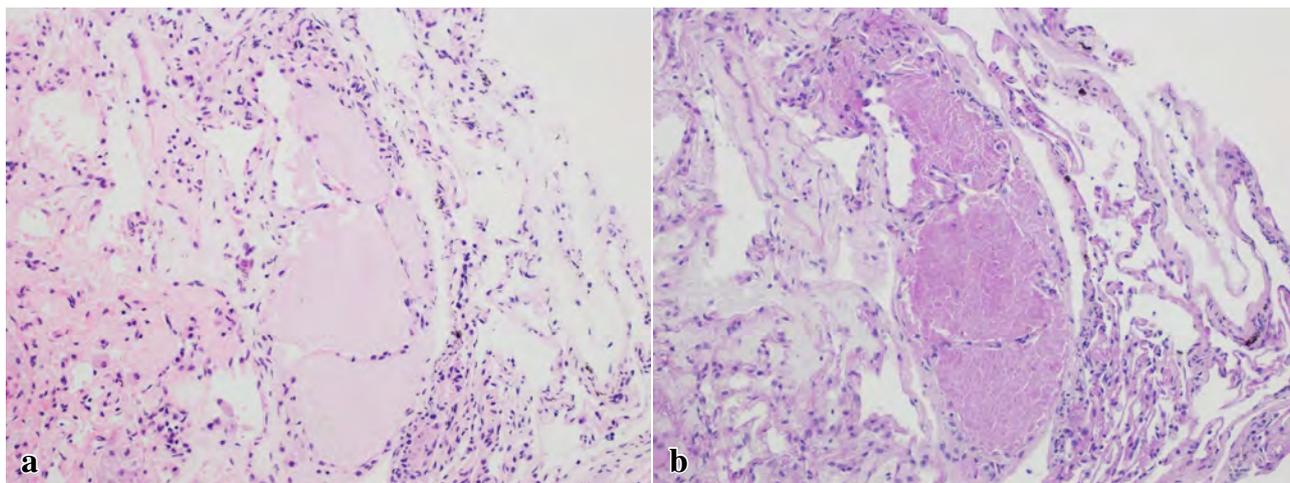


Photo. 5 Histological findings of transbronchial lung biopsy (TBLB).

a (Case 2) : Granular and amorphous eosinophilic material filling the alveolar spaces (H. E. staining, $\times 20$).

b (Case 2) : Granular and amorphous eosinophilic material showing positive PAS reaction (PAS reaction, $\times 20$).

し、これらは PAS 反応に陽性であることが知られている。さらに好酸性顆粒を含む泡沫マクロファージが出現するのが特徴で、今回のいずれの症例も報告されている所見と一致しており、PAP の細胞診断自体は 4 例とも比較的容易であった。しかしおのおの物質や泡沫マクロファージの出現量には症例間で差がみられた。顆粒状物質や無構造物質の出現量が少ない症例でも、詳細に観察し、おのおの物質を認識することで診断は可能であった。

今回われわれは ICC にていずれの症例でも顆粒状物質、無構造物質ともに抗 SP-A 抗体陽性を示すことを確認した。また非特異的吸着の有無を検定するための陰性コントロールでは陽性を示す物質はみられなかった。以上より顆粒状

物質、無構造物質は II 型肺胞上皮細胞の cell debris や肺サーファクタント由来の同一物質と推察され、BALF 細胞診での抗 SP-A 抗体を用いた ICC は診断の一助になると考える。

PAP の重症度は井上らが提唱した分類^{6,9-11)}が知られており、症状と動脈血酸素分圧によって 1~5 段階にスコア化している。その分類によれば、症例 1, 2 は重症度 1, 症例 3, 4 は重症度 4 に相当する。われわれが経験した 4 例では、BALF の外観は重症度が高くなるほど白濁が強くなる傾向がみられ、BALF の白濁の程度と重症度の関連性が示唆された。また BALF の細胞所見は、重症度 1 である症例 1, 2 で泡沫マクロファージが多数みられ、微細な顆粒状物

質は少数であった。一方, 重症度4である症例3, 4では泡沫マクロファージが少数で, 微細な顆粒状物質が多く, 無構造物質が少量であった。自己免疫性PAPでは進行すると細胞数, 特に肺泡マクロファージが減少するといわれており⁷⁾, 今回の症例でも重症度1の症例1, 2では泡沫マクロファージの出現量は47%, 55%と4例のなかでは多かったが, 重症度4の症例3, 4では泡沫マクロファージの出現量は8%, 20%と少なかった。自己免疫性PAPの肺泡マクロファージはサーファクタント処理機能の低下により細胞質内にサーファクタントが蓄積・肥大し, やがて破裂にいたるため⁷⁾, 進行すると肺泡マクロファージが減少すると推測される。このことはBALF中の泡沫マクロファージの出現量に着目することで細胞所見からも重症度がある程度推定できる可能性があることが示唆される。

以上PAPの診断にはBALF細胞診が非常に有用で, その外観や細胞所見の特徴を熟知しておく必要がある。またBALFの外観, 顆粒状物質, 無構造物質および泡沫マクロファージの出現量には症例間で差があることに留意する必要がある。特に泡沫マクロファージの出現量は重症度との関連で重要であることから, 単なる細胞所見の記載にとどまらず, 出現量も詳細に観察し報告することも重要であると考えられる。

著者らは, 開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は, 第55回日本臨床細胞学会総会(春期大会, 横浜)にて発表された。

Abstract

Background : Pulmonary alveolar proteinosis (PAP) is a relatively rare disease characterized by abnormal accumulation of a surfactant-derived substance in the alveolar spaces and respiratory bronchioles. Herein, we describe the cytological findings of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) obtained from 4 cases of PAP diagnosed by BALF cytology.

Cases : BALF cytology and transbronchial lung biopsy (TBLB) were performed to make a definitive diagnosis in 4 patients aged between 20 and 60 years old suspected as having PAP by computed tomography. The BALF appeared mildly to markedly cloudy : the degree of cloudiness varied among the four cases. Cytology showed granular material, globular amorphous material and foamy macrophages, in varying numbers, in all the cases. The BALF was periodic acid-Schiff positive, and also showed positive immunocytochemical staining for surfactant protein A. On the basis of these findings, we were able to make a definitive

diagnosis of PAP. The number of macrophages decreased as the PAP progressed. TBLB also demonstrated the alveolar lesions of PAP : accumulation of eosinophilic materials and foamy macrophages in the alveolar spaces.

Conclusion : The cytological findings in BALF of granular material, globular amorphous material and foamy macrophages is quite useful for the diagnosis of PAP. Moreover, we found that the number of macrophages was correlated with disease progression.

文 献

- 1) Bennet, M. W., David, J. P., Eric, J. S., Rodney, A. S. Diagnosing pulmonary alveolar proteinosis : A review and an update. *Chest* 1997 ; 111 : 460-466.
- 2) Mikami, T., Yamamoto, Y., Yokoyama, M., Okayasu, I. Pulmonary alveolar proteinosis : Diagnosis using routinely processed smears of bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Pathol* 1997 ; 50 : 981-984.
- 3) Burkhalter, A., Silverman, J. F., Hopkins, M. B., 3rd, Geisinger, K. R. Bronchoalveolar lavage cytology in pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Clin Pathol* 1996 ; 106 : 504-510.
- 4) Rosen, S. H., Castleman, B., Liebow, A. A. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 1958 ; 258 : 1123-1142.
- 5) 岡 捨己, 金上晴夫, 那須省三郎, 宮川慶吾, 瀬田孝一, 小池 達・ほか. 肺胞蛋白症の症例と考案. *日胸疾患会誌* 1960 ; 19 : 391-402.
- 6) Inoue, Y., Trapnell, B. C., Tazawa, R., Arai, T., Takada, T., Hizawa, N., et al. Characteristics of a large cohort of patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in Japan. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 ; 177 : 752-762.
- 7) 高田俊範, 中田 光. 肺胞蛋白症. *呼吸器内科* 2012 ; 22 : 90-96.
- 8) Trisha, M. S., Sarah, M. B. Pulmonary alveolar proteinosis. *Diagn Cytopathol* 2013 ; 41 : 620-622.
- 9) Inoue, Y., Nakata, K., Arai, T., Tazawa, R., Hamano, E., Nukiwa, T., et al. Epidemiological and clinical features of idiopathic pulmonary alveolar proteinosis in Japan. *Respirology* 2006 ; 11 (Suppl) : S55-S60.
- 10) 井上義一. 肺胞蛋白症. びまん性肺疾患研究会, 編. びまん性肺疾患の臨床 診断・管理・治療と症例 第4版. 京都 : 金芳堂 ; 2012. 305-311.
- 11) 井上義一, 中田 光, 監修. 平成22年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業肺胞蛋白症の難治化要因の解明, 診断, 治療, 管理の標準化と指針の確立研究班. 平成22年度研究報告書. 肺胞蛋白症の診断, 治療, 管理の指針(案). 2011.

症 例

Papillary glioneuronal tumor の 1 例

——術中細胞診は診断に有用である——

小林 広昌^{1,2)} 松本 慎二¹⁾ 青木光希子¹⁾ 濱崎 慎¹⁾
井上 亨²⁾ 鍋島 一樹¹⁾福岡大学医学部病理学・福岡大学病院病理部/病理診断科¹⁾, 同 脳神経外科²⁾

背景：Papillary glioneuronal tumor (PGNT) は、星細胞の偽乳頭状構造と乳頭間の神経細胞のシート状増殖を特徴とする良性の神経グリア混合腫瘍であり、2007年 WHO 脳腫瘍分類で grade I に分類されている。これまでに PGNT における細胞診所見に言及した報告はない。

症例：32歳，女性。頭痛の精査で右側頭葉の腫瘍性病変を認め入院となった。右側頭開頭腫瘍摘出術を施行，術中細胞診では，血管周囲性配列を示し突起を有する星芒状細胞と，その周囲に分布する神経節および神経細胞の3種類の細胞を認め，glioneuronal tumor が疑われた。病理組織所見では，硝子化した血管を取り囲むように星細胞様細胞が偽乳頭状に増殖し，偽乳頭状構造間には明るい類円形核と明瞭な核小体を有する小型～中型の神経細胞様細胞のシート状増殖を認め，PGNT と診断した。振り返ると細胞診にも上記のごとく特徴的な所見が得られており，PGNT の術中診断も可能と考えられた。

結論：本例は，術中細胞診が PGNT の診断に大きく寄与した貴重な 1 例であった。まれな症例においても，その特徴を理解しておくことが重要である。

Key words : Papillary glioneuronal tumor, Intraoperative cytology, Case report

I. はじめに

Papillary glioneuronal tumor (乳頭状グリア神経細胞腫瘍；以下 PGNT) は，1998年に Komori らにより初めて報告され¹⁾，星細胞の偽乳頭状構造と乳頭間の神経細胞のシート状増殖を特徴とする良性の神経グリア混合腫瘍であ

り，2007年 WHO 脳腫瘍分類で grade I に分類されている²⁾。これまでに 77 例の報告を認めるのみで比較的可れな腫瘍である。今回われわれは，出血を合併した右側頭葉の PGNT で術前の放射線学的所見では診断できず，術中細胞診が診断に有用であった 1 例を経験したので文献的考察を含め報告する。

II. 症 例

症 例：32歳，女性。

既往歴・家族歴：特記事項なし。

生活歴：喫煙 20 本/日，飲酒なし。

現病歴：1週間前より頭痛を認め，改善ないために近医を受診した。頭部 MRI で右側頭葉の腫瘍性病変，腫瘍内出血を認め，当院に緊急入院となる。

入院時現症：意識清明，明らかな神経脱落所見なし。

神経放射線学的所見：頭部 MRI では右側頭葉に外側に多

A case of papillary glioneuronal tumor—Intraoperative cytological features are useful for diagnosis—

Hiromasa KOBAYASHI^{1,2)}, M. D., Shinji MATSUMOTO¹⁾, C. T., Mikiko AOKI¹⁾, M. D., Makoto HAMASAKI¹⁾, M. D., Tooru INOUE²⁾, M. D., Kazuki NABESHIMA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, ²⁾Department of Neurosurgery, Fukuoka University School of Medicine and Hospital

論文別刷請求先 〒 814-0180 福岡市城南区七隈 7 の 45 の 1 福岡大学医学部病理学・福岡大学病院病理部/病理診断科 鍋島一樹

平成 28 年 2 月 12 日受付

平成 28 年 5 月 1 日受理

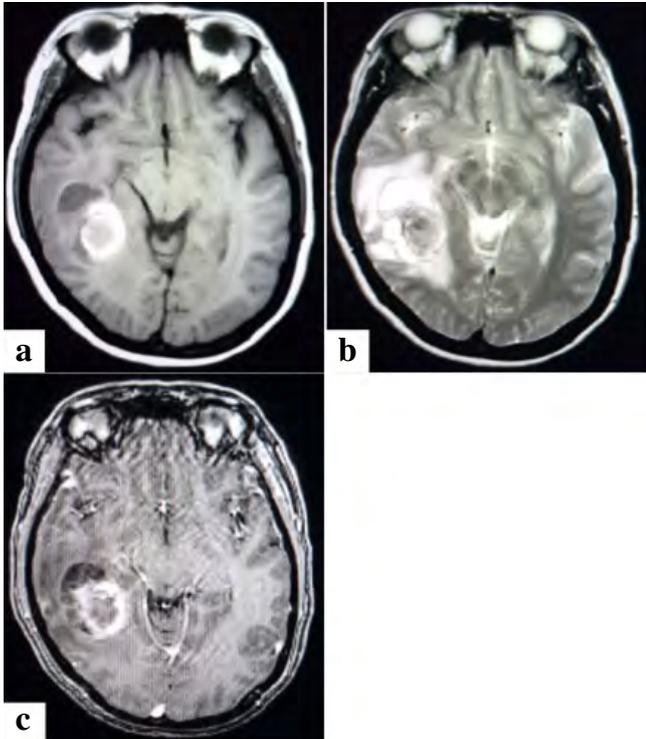


Photo. 1 Magnetic resonance (MR) images. a : T1-weighted image. b : T2-weighted image. c : T1-weighted Gd-enhanced image. The MR images show a solid lesion with multiple cysts and a hematoma in the right temporal lobe. The solid component shows heterogeneous enhancement with Gd.

房性嚢胞, 内部に急性～亜急性期血腫を伴う腫瘍性病変を認め, T1WIで軽度低信号, T2WIで不均一な高信号を呈し, Gd造影T1WIで腫瘍は不均一に増強された (Photo. 1).

入院後経過: 症例は左利きであったため, WADAテストで優位半球が左側であることを確認し, 右側頭開頭腫瘍摘出術を施行した. 腫瘍は全摘出され, 術後神経脱落所見の出現なく, 独歩で自宅退院となった. 後療法は行わず, 以後再発なく経過良好である.

III. 迅速病理所見

1. 術中細胞診

圧搾標本では, 細長い毛細血管網と微細顆粒状を示す背景に以下の3種類の細胞が認められた (Photo. 2). すなわち, ①毛細血管周囲に付着あるいはまとわりつくように存在し, 楕円形～類円形の核を有し, 部分的に細く繊細な細胞質突起が目立つ細胞 (Photo. 3a), ②ほぼ裸核状で, 小型～中型の正円形～楕円形の核を有し, 繊細な核クロマチン網および小型の核小体を有する細胞 (Photo. 3b; 矢印),

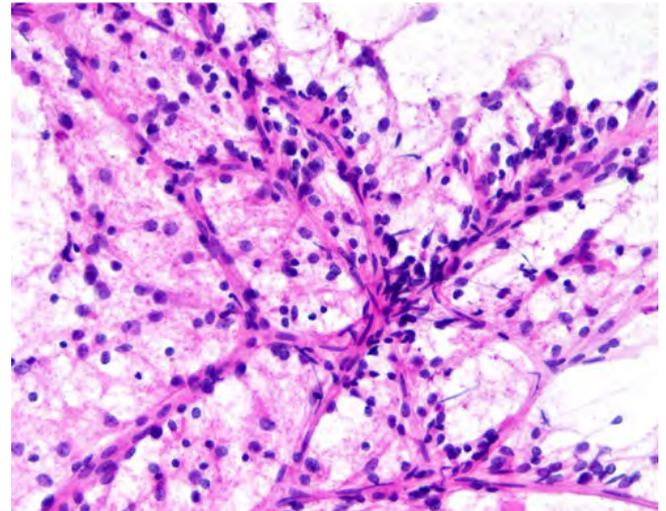


Photo. 2 Intraoperative squash cytology. Perivascularly arranged stellate cells with oval nuclei and eosinophilic cytoplasm are observed, with the intervening cells showing round to oval vesicular nuclei (HE staining, $\times 40$).

③多稜形で好酸性の豊富な細胞質を有し, 正円形の核で繊細な核クロマチンパターンを示し, 明瞭な核小体を有する細胞 (Photo. 3b; 矢頭) の3種類であった. 血管周囲に存在する細胞の核クロマチンパターンは, やや粗顆粒状で濃染し, 後二者とは明らかに異なっていた. 血管周囲の背景は, 微細顆粒状を呈し, 正常の大脳皮質に類似した所見で, 豊富な神経線維の存在が示唆された. 以上の細胞所見から上述の①は膠細胞系の細胞で, ②, ③の細胞は神経系の細胞と考えられ, 神経節細胞を含む神経細胞と星膠細胞の混合腫瘍が第一に疑われた. しかし, ③の大型細胞を星細胞系の細胞と考えれば, 局在は非典型的ではあるが上衣下巨細胞性星細胞腫 (subependymal giant cell astrocytoma; 以下 SEGA) などとの鑑別も必要であった.

2. 術中凍結病理組織像

通常サイズの星細胞と大型の神経節細胞様あるいは巨大な星細胞様細胞の増殖を認め, 後者の核は大きい核分裂像や壊死, 微小血管増殖は認めなかった.

IV. 病理組織像

硝子化した血管を取り囲むように卵円形核を有する星細胞様細胞が偽乳頭状に増殖し, 偽乳頭状構造間には明るい類円形核と明瞭な核小体を有する小型～中型の神経細胞様細胞がシート状に増殖を認めた (Photo. 4a). また一部では明るい類円形核と明瞭な核小体, 豊富な細胞質とニッスル顆粒を有する神経節様細胞の増殖を認め (Photo. 4b), さらに一部には出血と器質化した血腫を認めた. 免疫組織化

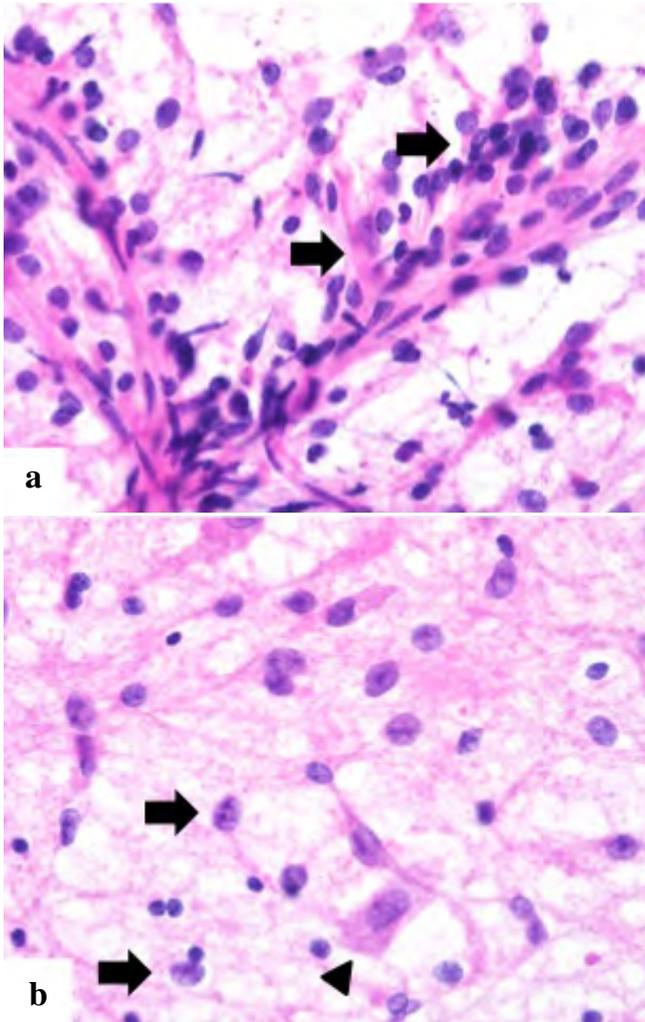


Photo. 3 Intraoperative squash cytology. a : The perivascularly arranged cells show eosinophilic, short fibrillary cytoplasm, indicative of their astrocytic origin (arrows). (HE staining, $\times 100$) b : In the intervascular spaces, there are neuronal cells showing lightly stained round to oval nuclei and small nucleoli (arrows) and larger ganglion-like cells with vesicular nuclei, macronucleoli and abundant cytoplasm (arrowhead) (HE staining, $\times 100$).

学的染色では、偽乳頭状構造をなす硝子化した血管を取り囲むように増殖している星細胞様細胞は GFAP (glial fibrillary acidic protein) 陽性で、偽乳頭状構造間に存在する神経細胞様細胞は synaptophysin および Neu-N 陽性であった (Photo. 5)。また一部の神経節細胞も synaptophysin 陽性および Neu-N 陽性であった。MIB-1 陽性率は 0.8% であった。以上の所見より PGNT と診断した。

V. 考 察

PGNT は、1998 年に Komori らにより初めて報告され¹⁾、

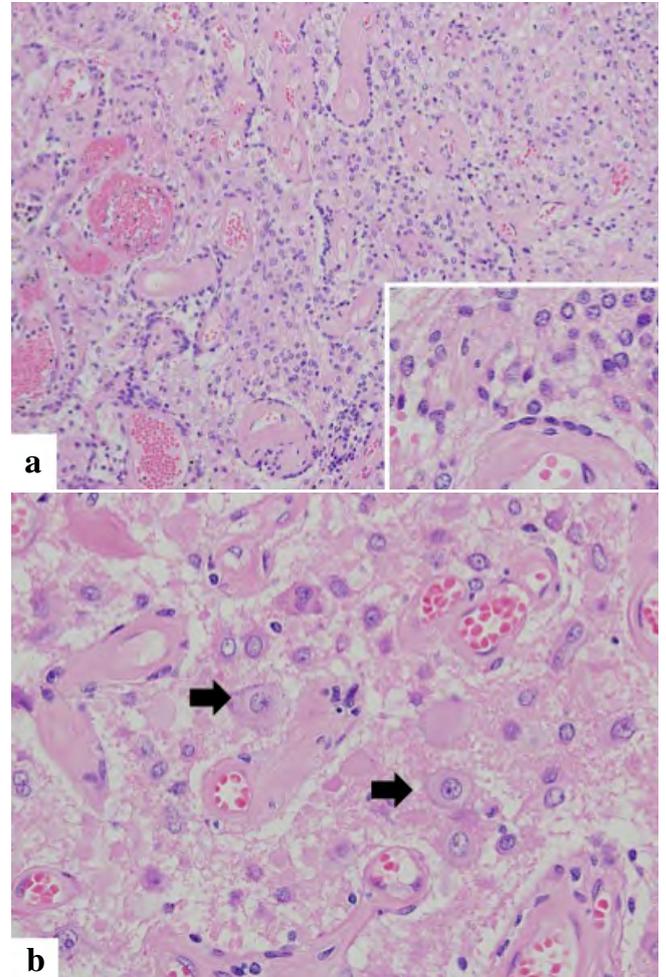


Photo. 4 Histological features on formalin-fixed paraffin-embedded sections. a : The tumor shows a complex pseudo-papillary architecture with intervening sheets of cells. The thickened hyalinized vascular walls of the pseudo-papillae are lined by a single layer of astrocytes with small round, clearly stained nuclei. The intervening cell sheets are composed of neuronal cells with round vesicular nuclei and occasional nucleoli (HE staining, $\times 20$, inset, $\times 100$). b : Within the intervening neuronal cell sheets, are ganglion-like cells with round nuclei and eosinophilic cytoplasm, containing Nissl granules (arrows) (HE staining, $\times 100$).

以後 77 例の報告を認めるのみで比較的まれな腫瘍である。PGNT は、星細胞の偽乳頭状構造と乳頭間の神経細胞のシート状増殖を特徴とする良性の神経グリア混合腫瘍であり、2007 年 WHO 脳腫瘍分類で grade I に分類されている²⁾。

近年の Li ら³⁾、Myung⁴⁾ らによる報告では、平均年齢 23.6 歳 (4~75 歳) で 78.3% が 30 歳以下に発生する。性差はないとの報告が多いが、女性に多いとの報告もある⁵⁾。初発症状は頭痛や痙攣が多く、診断より平均 8 ヶ月前から出現すると報告されており⁶⁾、比較的緩慢な発育をすることが

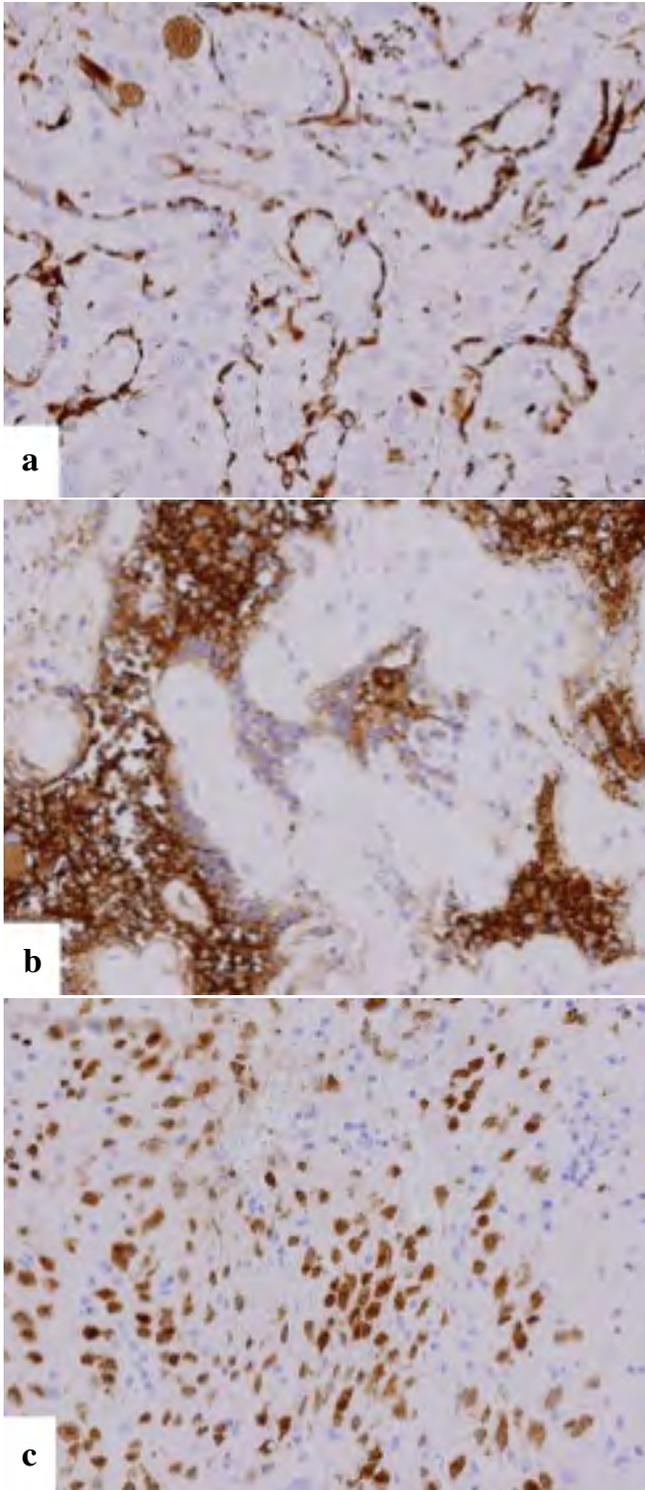


Photo. 5 Immunohistochemistry. a : The astrocytic cells lining the pseudopapillae show positive staining for GFAP ($\times 20$). b : The intervening interpapillary neuronal cells are positive for synaptophysin ($\times 20$) and Neu-N (c, $\times 20$).

考えられる。

PGNTの好発部位は、前頭葉(36.4%)、側頭葉(33%)であるが、頭頂葉(13%)、後頭葉(6%)、側脳室内(6%)、松果体、脳梁、第四脳室内にも発生することがある⁷⁾。発生母地は、脳室上衣下の幹細胞と考えられている¹⁾。

神経放射線学的特徴として、大脳皮質の単房性あるいは多房性の嚢胞を形成し、充実性結節部を伴う。また25%に石灰化を認め、充実性部分はT1等信号、DWI低信号を示し、94%に造影効果を認めるのが特徴的所見とされている⁷⁾。

PGNTに腫瘍内出血を合併することはきわめてまれであり、これまでに自験例も含めて7例の報告しかない⁸⁻¹¹⁾。出血の機序としては、腫瘍内の充実性部分の血管壁の菲薄化や偽乳頭状構造内の硝子化した血管壁の破綻により生じるとの報告がある。

本例では多房性の嚢胞を有し、充実性部分は造影効果を認めた点では、上記画像の特徴に合致したが、出血を伴ったため、血腫による信号変化をきたし、周囲の浮腫性変化を強く伴っていた。

細胞診断学的に、本腫瘍と鑑別すべき疾患としてSEGA、神経節腫など大型の星細胞を伴うもの、神経細胞と膠細胞の混合腫瘍さらには星細胞腫の皮質浸潤などが挙げられる。これらとの鑑別診断における本腫瘍の重要かつ特徴的な細胞所見は、毛細血管周囲に付着するように存在する星細胞とその周囲に集合性に出現する腫瘍性の神経系細胞である。SEGAも含めて、その他の星細胞系腫瘍では細く長い神経膠突起の織りなす線維性の背景(gliofibrillary background)が豊富であるが、本腫瘍ではその線維性突起が短く、毛細血管周囲に集簇するため、むしろ線維性の背景に乏しい所見であった。また、SEGAで認められる大型の腫瘍細胞の核所見は、より多形性に富み、その核クロマチンパターンも他の星細胞腫瘍と同様にやや濃染し、本腫瘍で認められた繊細なクロマチンパターンと明瞭な核小体を有する神経細胞系の核所見とは異なる。Neu-Nの陽性所見は、神経細胞系である重要な根拠となりうる。また細胞質所見も重要な観察ポイントである。SEGAではより好酸性が強くやや顆粒状で、細長い線維性の細胞質突起を伴うのが一般的である。星細胞腫の皮質浸潤では、残存した神経細胞が混在することで神経細胞・膠細胞混合腫瘍との鑑別が問題となることがある。非腫瘍性の神経細胞の場合、本腫瘍で認められた多核細胞や集合性の出現パターンを示すことはほとんどなく、その分布と細胞密度も重要な鑑別ポイントとなる。

PGNTの組織像は、クロマチンに富んだ紡錘形の星細胞が一層ないし重層性に血管を被覆する偽乳頭状構造が特徴

的であり、しばしば高度の硝子化を示す。偽乳頭構造間には本腫瘍のもう一つの特徴である小・中型の神経細胞がシート状に増殖する。また大型の神経節細胞は半数以上の症例に存在し、背景には微小石灰化や反応性の星細胞をみることがある。その他、腫瘍内や周辺に Rosenthal 線維や eosinophilic granular bodies が出現することもある。通常細胞異型、核分裂像、壊死は認めない。免疫染色では、血管を被覆する星細胞は GFAP 等グリア系マーカーに陽性であり、介在する神経細胞は synaptophysin, Neu-N 等神経系マーカーに陽性となり、一部の小型神経細胞は Olig2 陽性である。通常 MIB-1 陽性率は平均 1~2% と低値を示す。細胞遺伝学的には 1p/19q 共欠損は認められず、7p22 の重複を含む複数の染色体異常の報告もある⁴⁾。

治療においては外科的摘出が第一選択とされており、全摘出にて良好な経過をたどり、再発も少ない。しかし一部では MIB-1 陽性率が 10% を超える症例もあり、渡邊ら¹²⁾の報告によれば、そのような例はこれまでに 8 例ある。ほとんどの症例で摘出術後に放射線化学療法が施行されているが、3 例において再発を認めている。その他、テモゾロミド内服による化学療法と放射線療法を併用し、再発なく経過している報告もある¹³⁾。

これまでに本例のように PGNT における術中細胞診所見に言及した報告はない。細胞診は、多くの施設において脳腫瘍の病理学的診断に用いられているが、細胞形態の観察が中心となり、組織構築の推定が困難な場合や臨床情報が不十分な場合には、診断に困難をきたすこともある。一方、検体の処理が早く、簡便であるため迅速診断では有用である。特に検体が微量な症例や組織の挫滅が強く診断が困難な例には、細胞形態や核所見が判別しやすい捺印および圧挫細胞診を併用することの有用性が指摘されている¹⁴⁾。脳腫瘍の術中迅速診断では、凍結組織診断より圧挫細胞診が有用で、正診率は 95% との報告もある¹⁵⁾。本例は、術前画像診断では PGNT は鑑別に挙がっておらず、術中細胞診で初めて glioneuronal tumor が鑑別に挙がり、最終的に PGNT の診断に大きく寄与した貴重な 1 例である。本例のようなまれな脳腫瘍においても、その組織学的特徴を理解し、細胞像を把握しておくことは診断に有用である。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

Background : Papillary glioneuronal tumors (PGNTs) are characterized by a pseudopapillary architecture associated with areas of compact neuronal elements in different states of maturation. In the updated 2007

WHO classification of tumors of the central nervous system, PGNTs are identified as a distinct entity, typically corresponding to WHO grade I CNS tumors. Until date, there are no reports of the cytological characteristics of PGNTs.

Case : A 32-year-old woman was admitted to Fukuoka University Hospital with a right temporal lobe tumor. Total resection of the tumor was performed via a right temporo-parietal craniotomy. Intraoperative cytology showed perivascular astrocytes with round to oval nuclei and short cell processes, as well as larger ganglion-like cells and neuronal cells. On the basis of these cytological features, possible glioneuronal tumor was suspected. Postoperative histological examination of the resected specimen revealed a complex pseudopapillary architecture of the tumor. Thickened hyalinized vascular walls were lined by a single layer of small, regular astrocytes, accompanied by proliferating neuronal cells with round nuclei and clear cytoplasm arranged in sheets between the pseudopapillae, which led to the diagnosis of PGNT.

Conclusion : In retrospect, the intraoperative cytological findings were sufficient to make the diagnosis of PGNT. This was an important educational case, demonstrating that even rare glioneuronal tumors can be diagnosed during operation using appropriate cytological techniques.

文 献

- 1) Komori, T., Scheithauer, B. W., Anthony, D. C., Rosenblum, M. K., McLendon, R. E., Scott, R. M., et al. Papillary glioneuronal tumor : a new variant of mixed neuronal-glia neoplasm. *Am J Surg Pathol* 1998 ; 22 (10) : 1171-1183.
- 2) Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., Burger, P. C., Jouvet, A., et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007 ; 114 (2) : 97-109.
- 3) Li, D., Wang, J. M., Li, G. L., Hao, S. Y., Yang, Y., Wu, Z., et al. Clinical, radiological, and pathological features of 16 papillary glioneuronal tumors. *Acta Neurochir* 2014 ; 156 (4) : 627-639.
- 4) Myung, J. K., Byeon, S. J., Kim, B., Suh, J., Kim, S. K., Park, C. K., et al. Papillary glioneuronal tumors : a review of clinicopathologic and molecular genetic studies. *Am J Surg Pathol* 2011 ; 35 (12) : 1794-1805.
- 5) Javahery, R. J., Davidson, L., Fangusaro, J., Finlay, J. L., Gonzalez-Gomez, I., McComb, J. G. Aggressive variant of a papillary glioneuronal tumor. Report of 2 cases. *J Neurosurg Pediatr* 2009 ; 3 (1) : 46-52.
- 6) Atri, S., Sharma, M. C., Sarkar, C., Garg, A., Suri, A. Papillary glioneuronal tumour : a report of a rare case and review of literature. *Childs Nerv Syst* 2007 ; 23 (3) : 349-353.
- 7) Tan, W., Huang, W., Xiong, J., Pan, J., Geng, D., Jun, Z. Neuro-radiological features of papillary glioneuronal tumor : a study of 8 cases. *J Comput Assist Tomogr* 2014 ; 38 (5) : 634-638.
- 8) Benzagmout, M., Karachi, C., Mokhtari, K., Capelle, L. Hemorrhagic papillary glioneuronal tumor mimicking cavernoma : two

- case reports. *Clin Neurol Neurosurg* 2013 ; 115 (2) : 200-203.
- 9) Buccoliero, A. M., Giordano, F., Mussa, F., Taddei, A., Genitori, L., Taddei, G. L. Papillary glioneuronal tumor radiologically mimicking a cavernous hemangioma with hemorrhagic onset. *Neuropathology* 2006 ; 26 (3) : 206-211.
- 10) Barnes, N. P., Pollock, J. R., Harding, B., Hayward, R. D. Papillary glioneuronal tumour in a 4-year-old. *Pediatr Neurosurg* 2002 ; 36 (5) : 266-270.
- 11) Bouvier-Labit, C., Daniel, L., Dufour, H., Grisoli, F., Figarella-Branger, D. Papillary glioneuronal tumour : clinicopathological and biochemical study of one case with 7-year follow up. *Acta Neuropathol* 2000 ; 99 (3) : 321-326.
- 12) 渡邊陽祐, 山崎文之, 栗栖 薫. 側頭葉に発生した papillary glioneuronal tumor の 1 例. *Jpn J Neurosurg (Tokyo)* 2013 ; 22 (11) : 860-865.
- 13) Newton, H. B., Dalton, J., Ray-Chaudhury, A., Gahbauer, R., McGregor, J. Aggressive papillary glioneuronal tumor : case report and literature review. *Clin Neuropathol* 2008 ; 27 (5) : 317-324.
- 14) 鬼松幸子, 船本康申, 竿尾光祐. 術中細胞診時に圧挫細胞診が有用であった angiomatous meningioma の 1 例. *日臨細胞会誌* 2012 ; 51 (3) : 204-208.
- 15) 前田昭太郎, 細根 勝, 片山博徳. 脳腫瘍の脳細胞診-標本作成法 (捺印法・圧挫法・合わせ法). *検と技* 2010 ; 38 (6) : 429-432.
-

子宮頸部細胞診におけるコイロサイトーシス亜分類の試み

坂本 穆彦¹⁾ 九十九葉子¹⁾ 大内 和真¹⁾ 日下部民美¹⁾
田岡 英樹²⁾

大森赤十字病院検査部¹⁾, 同 産婦人科²⁾

I. はじめに

子宮頸部の細胞診・組織診でみられるコイロサイトーシス (koilocytosis) は, ヒト乳頭腫ウイルス human papillomavirus (HPV) 感染の有力な所見とされている¹⁻³⁾.

本研究では, 子宮頸部細胞診検体にみられるコイロサイト (koilocyte) を形態学的特徴から分類し, HPV 高危険群感染が推定しうるかにつき検討を行った。

II. 症例および方法

2012年1月~2015年4月の間に大森赤十字病院産婦人科を受診し, ハイブリッド・キャプチャー法による HPV 高危険群-DNA 検査 (以下, HPV 検査) 陽性であった症例のなかで, 細胞診が施行された79例のうちコイロサイトーシスのみられた39例を対象とした。同時に HPV 検査陰性で, かつコイロサイトーシスがみとめられた12例についても検討した。なお, 細胞診検体はすべて従来法により作製された標本を用いた。

コイロサイトは, 核周囲の明瞭なハローと核異型を伴う, HPV 感染に特徴的な細胞とされている⁴⁾。本研究ではコイロサイトを次の2型にわけた (Photo. 1, 2)。

I 型: 核周囲に広いハローをもつ細胞。

II 型: 核の形状不整が著しい細胞, あるいは N/C 比が比較的高い細胞。

なお, 双方の特徴がみられる場合は I + II 型とした。

III. 結 果

HPV 検査陽性79例中, コイロサイトは39例 (49.4%) にみとめられた。その39例の内訳は I 型25例, II 型5例, I + II 型9例であった。したがって, II 型の出現は II 型および I + II 型をあわせた14例 (35.9%) であった。

HPV 検査陰性12例では, I 型10例, II 型1例, I + II 型1例であった。したがって II 型の出現は II 型および I + II 型の計2例 (16.7%) であった。

IV. 考 察

本研究の結果から, II 型コイロサイトが HPV 高危険群に高率に出現する傾向が示された。しかし, HPV 検査陰性群は II 型が2例と少数であり, 検討症例の母数全体が少ないために推計学的評価は困難であった。今後の検討において HPV 高度危険群に II 型出現が有意に高率であることを示せば, コイロサイトの亜分類の臨床的意義を明らかにできるものと考えられる。

他方, I 型のコイロサイトに高危険群が含まれている可能性は否定できないが, これらが炎症によるものか, あるいは本検査では検出できない低危険群の HPV 感染によるものかの検討も必要と思われる。

筆者らには, 開示すべき利益相反状態はありません。

本研究の一部は大森赤十字病院研究助成による支援を受けた。本研究の要旨は第54回日本臨床細胞学会秋期大会にて発表した。

A trial for subclassification of koilocytosis on cervical cytology
Atsuhiko SAKAMOTO¹⁾, M. D., F. I. A. C., Yoko TSUKUMO¹⁾, C. T.,
I. A. C., Kazuma OUCHI¹⁾, C. T., I. A. C., Hitomi KUSAKABE¹⁾, C. T., I.
A. C., Hideki TAOKA²⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology and Laboratory Medicine, ²⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Omori Red Cross Hospital

論文別刷請求先 〒143-8527 東京都大田区中央4の30の1 大森赤十字病院検査部 坂本穆彦
平成27年7月21日受付
平成28年4月6日受理

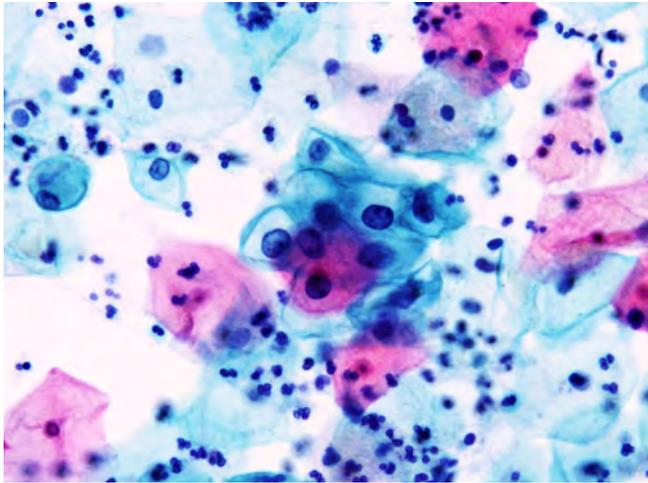


Photo. 1 Type I koilocytes
Common koilocytes with a clear perinuclear hallow and moderate nuclear atypia (Pap. staining, $\times 60$).

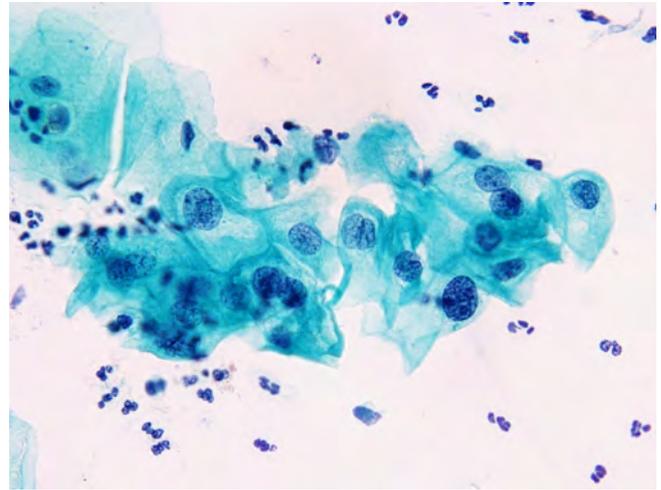


Photo. 2 Type II koilocyte
Note the bizarre nucleus and relatively high N/C ratio (Pap. staining, $\times 60$).

本研究の統計処理にご示唆をいただいた杏林大学医学部千葉知宏先生に深甚なる謝意を表します。

Abstract

A possible cytological classification of koilocytosis in cervical cytology was proposed by comparison to the results of high-risk group HPV-DNA test. We used cervical cytology slides with koilocytosis obtained from 39 HPV-positive and 12 HPV-negative patients. According to the cytological features, the koilocytes were divided into 2 types (type I and type II). Type I koilocytes showed a clear perinuclear hallow. Type II koilocytes showed bizarre nuclei and relatively high N/C ratios. Our results suggest that type II koilocytes appear frequently in high-risk HPV-positive cases.

文 献

- 1) The 2001 Bethesda System. Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA 2002, 287 : 2114-2118.
- 2) Kurman, R. J., Carcangiu, M. L., Herrington, C. S., Young, R. H. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Lyon : IARC : 2014. 172-181.
- 3) 日本産科婦人科学会, 日本病理学会, 日本医学放射線学会, 日本放射線腫瘍学会. 子宮頸癌取扱い規約 第3版. 東京 : 金原出版 ; 2012. 52-53.
- 4) 坂本穆彦. 子宮頸部細胞診ベセスダシステム運用の実際. 東京 : 医学書院 ; 2010. 75.

日本臨床細胞学会雑誌投稿規定

1. 投稿資格

原則として投稿者は共著者も含め日本臨床細胞学会会員に限る。

2. 掲載論文

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

※これらの指針は, 学会誌 1 号に記載。

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

3. 投稿形式

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

4. 執筆要項

1) 文章と文体

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

の限りではない。英文での投稿原稿の場合も和文の場合に準ずる。

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

2) 原稿の書き方

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

3) 電子ファイル

以下の電子ファイル形式を推奨する。

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

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

4) 総説・原著・調査報告・症例報告・短報論文の様式

(1) 構成

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

2 枚目には内容抄録, 索引用語を記載する。本文は内容抄録とは別に始める。

(2) 著者

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

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

(3) 内容抄録

短報を除いて500字以内にまとめ、以下のような小見出しをつける。

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

(4) 索引用語

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

key words 例：

胆嚢穿刺吸引細胞診—胆嚢癌4例の細胞像と組織像—

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

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

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

(5) 本文および枚数制限

a. 原著・総説・調査報告

本文、文献を含め10,000字以内 (A4判20頁) とする。

図・表 (写真を含まず) は、10枚以内とする。

写真の枚数に制限はないが、必要最少限の枚数とする。

b. 症例報告

本文、文献を含め6,000字以内 (A4判12頁以内) とする。

図・表 (写真を含まず) は、5枚以内とする。

写真の枚数に制限はないが、必要最少限の枚数とする。

c. 短報

出来上がり2頁以内とする。

写真は2枚以内 (組み合わせは各々2枚以内)、

図表は計1枚までとする。

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

を目安とする。

(6) 英文抄録

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

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

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

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

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

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

総説：論文の内容に応じて適宜設定

短報：小見出しをつけずに100語以内にまとめる

(7) 文献

a. 主要のものに限る。

原著・特集・調査報告：30編以内

症例報告：15編以内

短報：5編以内

総説：特に編数の制限を定めない

b. 引用順にならべ、本文中に肩付き番号を付す。

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

【雑誌の場合】

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

【単行本の場合】

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

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

する書類を添付する。

(8) 図・表・写真

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

5) 特集論文の様式

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

6) 読者の声

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

- (1) 表題は和文50字以内とする. 表題に相当する英文も添える.

改行して本文を記述する.

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

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

7) 英文投稿の場合

A4 縦にダブルスペースで10頁以内とする.

和文抄録を付し, 図・表その他は和文の場合に準ずる.

5. 別 刷

別刷を希望するときは, 校正時に部数を明記して申し込む.

6. 論文の審査

投稿論文は編集委員会での審査により採否を決定し, その結果を筆頭著者に通知する. 審査にあたっては査読制をとる. 原稿の組体裁, 割付は編集委員会に一任する.

7. 校 正

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

8. 掲 載 料

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

9. 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22年9月一部改定)
(平成6年6月一部改定)	(平成23年3月一部改定)
(平成9年6月一部改定)	(平成23年8月一部改定)
(平成11年6月一部改定)	(平成24年4月一部改定)
(平成21年5月一部改定)	(平成26年5月一部改定)
(平成21年6月一部改定)	(平成26年11月一部改定)
(平成21年11月一部改定)	(平成26年12月一部改定)
(平成22年4月一部改定)	(平成27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 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1号に掲載する.

- ・ヘルシンキ宣言
- ・臨床研究に関する倫理指針

平成15年7月30日

(平成16年12月28日全部改正)

(平成20年7月31日全部改正)

NOTICE TO CONTRIBUTORS

1. Authorial responsibility :

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

2. Categories of articles published :

1) The categories of articles published in this journal are *review articles*, *original articles*, *investigation reports*, *case reports*, *special articles*, *brief notes*, and *reader's voices*.

2) The submitted articles should contribute to the advancement of clinical cytology and must be submitted exclusively to this journal.

3) Authors must observe the Declaration of Helsinki (recommendations for physicians conducting biomedical studies in humans) and the Ethics Guidelines for Clinical Research (Ministry of Health, Labour and Welfare, July 30, 2003, Revised on December 28, 2004 and July 31, 2008), including privacy protection.

* These guidelines appear in the first issue of the journal.

4) Copyright for articles published in this journal will be transferred to the Japanese Society of Clinical Cytology, and the authors must agree that the articles will be published electronically by the Society. The authors are permitted to post the title, affiliations, authors' names and the abstract of their article on a personal website or an institutional repository, after publication.

5) All authors will be required to complete a conflict of interest disclosure form as part of the initial manuscript submission process. The corresponding author is responsible for obtaining completed forms from all authors of the manuscript. The form can be downloaded from (<http://www.jsccl.or.jp/member.html>) The statement has to be listed at the end of the text.

3. Submission style :

1) As a general rule, manuscripts should be submitted electronically.

2) For initial submission, please access the site below.
(<https://www.editorialmanager.com/jjcc/>)

4. Instructions for manuscripts :

1) Text and writing style

(1) Manuscript is to be written in Japanese or English.
(2) Hiragana, daily use kanji and contemporary Japanese syllabic writing should be used, except for proper nouns and generally used technical terms. English manuscripts should be prepared essentially in the same manner as Japanese manuscripts.

(3) Weights and measures are expressed in CGS units (cm, mm, μm , cm^2 , ml, l, g, mg, etc.).

(4) Names of non-Japanese individuals, drugs, instruments / machines, or diseases that have no proper Japanese terms, academic expressions and scientific terms are to be written in the original language. Upper case letters should be used only for proper nouns and the first letter of German nouns.

(5) Medical terms should be in accordance with the "Saibou-shinn yougo kaisetsu-syu (Handbook of cytological terminology)" edited by the Japanese Society of Clinical Cytology. Abbreviations of medical terms may be used, but the terms should be spelled out in full at their first occurrence in the text and the use of abbreviations is to be mentioned.

2) Manuscript preparation

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

3) Electronic files

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

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

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

(1) Manuscript format

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

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

(2) Authors

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

Original articles : no more than 10

Investigation reports : no more than 8

Case reports : no more than 8

Brief notes : no more than 5

Review articles : just one author, as a general rule

(3) Abstract

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

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

Case reports : Background, Case (s), Conclusion

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

(4) Key words

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

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

Examples of Key words :

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

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

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

(5) Text and page limitations

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

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

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

b. *Case reports* :

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

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

c. *Brief notes* :

A brief note should not exceed two printed pages.

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

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

(6) English abstract

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

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

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

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

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

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

Case reports : Background, Case (s), Conclusion

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

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

(7) References

- a. Only major references are to be listed.

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

Case reports : no more than 15 titles

Brief notes : no more than 5 titles

Review articles : no limit

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

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

For journals :

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

For books :

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

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

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

(8) Figures, tables and photographs

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

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

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

5) Style of *special articles*

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

6) *Reader's voices*

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

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

sponding English title should be provided.

The text should be started on a new line.

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

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

7) English manuscripts

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

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

5. Reprints :

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

6. Review of the manuscript :

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

7. Proofreading :

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

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

8. Publishing fee :

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

9. Revision of these rules :

The rules for submitting manuscripts may change.

(Partial revision June 1992)

(Partial revision June 1994)

(Partial revision June 1997)

(Partial revision June 1999)

(Partial revision June 2009)

(Partial revision November 2009)

(Partial revision April 2010)

(Partial revision September 2010)

(Partial revision March 2011)

(Partial revision April 2012)

(Partial revision May 2014)

(Partial revision November 2014)

(Partial revision December 2014)

(Partial revision March 2015)

Appendix 1. Submission of manuscripts to *Acta Cytologica*

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

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

- Declaration of Helsinki
- Ethics Guidelines for Clinical Research
July 30, 2003
(Revised on December 28, 2004)
(Revised on July 31, 2008)

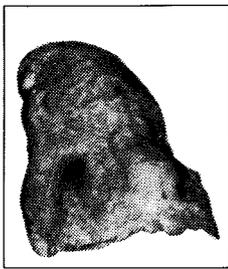
日本臨床細胞学会編集委員会 (平成27年~28年)

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

(50音順)

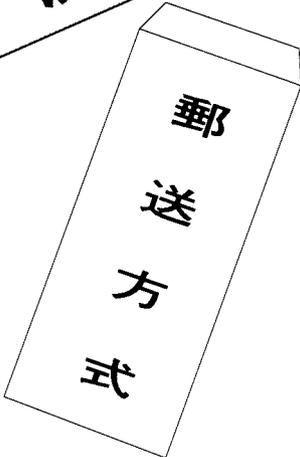
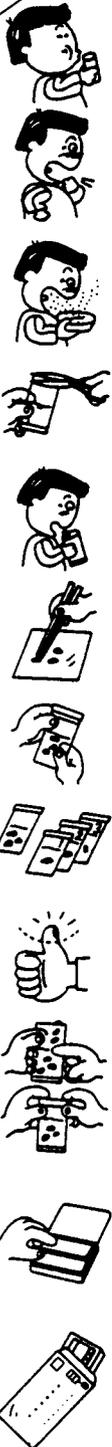


左側：長期間喫煙者の肺



右側：非喫煙者の肺

肺がん予防・早期発見のために たんのけんさ 喀痰細胞診のすすめ



【特長】

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

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

※容器発注及び受検方法などの詳細は、
下記へお問い合わせ下さい。

製造発売元



メディカルケアセンター

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

推薦 東京医科大学外科学教室