

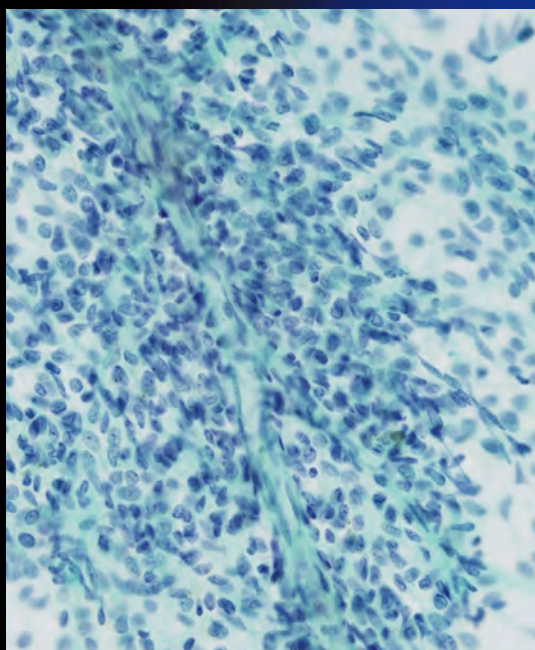
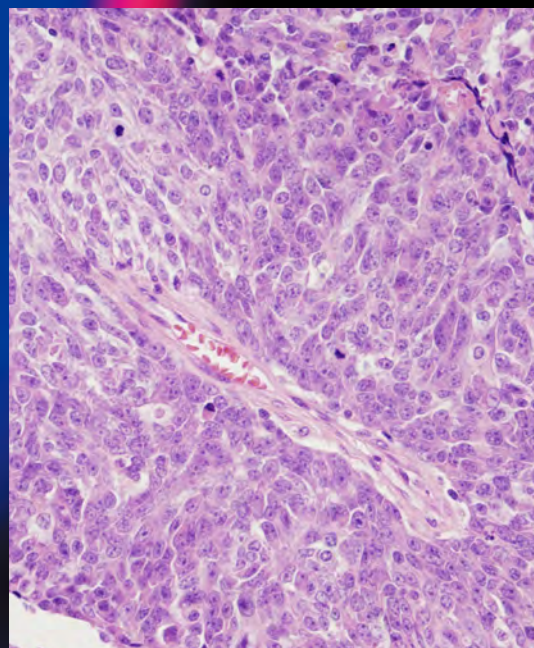
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日 臨 細 胞 誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第57巻 第2号 平成30年3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.57 No. 2
Mar. 2018

目 次

編集委員巻頭言	矢納 研二
---------	-------

〈総 説〉

悪性中皮腫の細胞像——中皮腫細胞診評価ワーキンググループの報告をふまえて——地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪はびきの医療センター病理診断科 河原 邦光	(101)
--	-------

〈原 著〉

ホルマリン固定乳癌細胞セルブロックを用いたホルモン受容体および HER2 検査における固定時間の検討四国がんセンター臨床検査科 岡本 奈美・他	(109)
子宮頸がん集団検診における ASC-H 判定の広がりとは問題点——前期、後期 3 年間の変化から——(公財) 福島県保健衛生協会 森村 豊・他	(114)

〈症 例〉

回盲部子宮内膜症の 1 例正和ラボラトリー 船津 靖亮・他	(120)
超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA）で得られた大動脈周囲に発生した傍神経節腫の細胞像淀川キリスト教病院病理課 三好真由美・他	(125)
左肩に発生した筋上皮癌 myoepithelial carcinoma の 1 例がん研究会がん研究所病理部 石井 脩平・他	(129)
サーベックスブラシコンビ®を用いた外陰細胞診が診断に有用であった外陰 Paget 病の 2 例市立長浜病院産婦人科 北澤 純・他	(136)

投稿規定	(142)
編集委員会	(149)

＊

〈表紙写真〉

左肩に発生した筋上皮癌
（左：パパニコロウ染色，右：H-E 染色）（石井脩平・他，左：Photo. 2b, 131 頁，右：Photo. 3c, 132 頁）

CONTENTS

Editorial.....	Kenji Yanoh
----------------	-------------

Review Article

Cytodiagnosis of malignant mesothelioma in pleural effusion cytology—Practical criteria created by a working group on mesothelioma cytology examination of the Japan Lung Cancer Society— Kunimitsu Kawahara (Dept. of Path., Osaka Habikino Med. Center, Osaka)	(101)
--	-------

Original Articles

Validation study of fixation time for hormone receptor and HER2 analyses on formalin-fixed breast cancer cell blocks Nami Okamoto et al. (Dept. of Clin. Lab., Shikoku Cancer Center, Ehime)	(109)
Problem of spread of ASC-H diagnosis —Transition between an earlier and later and 3-year periods following introduction of The Bethesda System— Yutaka Morimura et al. (Fukushima Preservation Service Assoc. of Health, Fukushima)	(114)

Clinical Articles

A case of ileocecal endometriosis Yasuaki Funatsu et al. (Seiwa Lab. CO., LTD., Saitama)	(120)
Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology/histology findings of paraganglioma around the abdominal aorta—A case report— Mayumi Miyoshi et al. (Dept. of Path., Yodogawa Christian Hosp., Osaka)	(125)
A case of myoepithelial carcinoma of the left shoulder Shuhei Ishii et al. (Dept. of Path., The Cancer Inst., Tokyo)	(129)
Usefulness of vulvar cytology using Cervex-Brush Combi® in the diagnosis of vulvar Paget's disease —Two case reports— Jun Kitazawa et al. (Dept. of Obst. and Gynecol., Nagahama City Hosp., Shiga)	(136)

Notice to contributors.....	(142)
-----------------------------	-------

Cover Photo

Myoepithelial carcinoma of the left shoulder (Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Shuhei Ishii, et al., Left : Photo. 2b, p131, Right : Photo. 3c, p132)	
--	--



編 集 委 員 卷 頭 言

Kenji Yanoh

矢 納 研 二

JA 三重厚生連鈴鹿中央総合病院産婦人科

▶ “段々上手になる” ということ



日本臨床細胞学会雑誌第 57 巻第 2 号では、1 編の総説と 2 編の原著論文、4 編の症例報告が収録されています。これらの総説、原著論文は、いずれも日常の細胞診断業務に直結するテーマであり、新しい知見が示されています。また、症例報告で報告されている疾患は、すべて通常では経験しがたいものであり、論文によって経験を共有されることが重要であると思われます。

ところで、私はもともと細胞診断学が好きです。理由を尋ねられるたびに、さまざまな答え方をしていますが、その理由の一つに、細胞診判定のスキルが一朝一夕に身につかないことが挙げられます。細胞診を学ぶ途中では、もうなんでも判るような気がしたかと思うと、腺細胞なのか、扁平上皮細胞なのかさえわからなくなり、永遠にこのようなことが続くような絶望に陥ることの繰り返しでした。そのような過程を繰り返して、なんとか細胞診専門医試験には合格できました。その後は、せっかく得た資格で何ができるのか、挑戦してみたくなりました。細胞診にはまだまだたくさんの可能性が残されていると思ったからです。そのような思いで、今までに子宮体癌における腹腔内癌細胞の意義、卵巣腫瘍と細胞診（論文としては未発表）、そして、細胞診の勉強で最も不得意であった子宮内膜細胞診の諸問題に取り組んでまいりました。子宮体がんでは、腹腔細胞診陽性の意義が世界的に二分されて議論されていました。私は、これだけの研究者たちがこれだけ大規模な検証を行って、なお意見が分かれるということに興味を感じました。そして、何か見過ごされている因子があると考え、最終的には、腹水中に浮遊するがん細胞集塊の形態によって予後が異なるという見解にいたりしました。残念ながら今では、この見解に興味を示していただけことはまれですが、これについては当時癌研病院婦人科部長であった荷見先生から「再現性（誰が観ても腹水中のがん細胞集塊形態を区分することができる、ということ）の低いことは、仮に事実であっても受け入れられにくい」と指導されました。この「再現性が高くなければ世の中には受け入れてもらえない」という概念が、その後の記述式内膜細胞診報告様式などの活動で活かされました。卵巣腫瘍と細胞診については、きたるべき腹腔鏡手術の到来を予感して、手術開始の初期段階で、卵巣腫瘍の良悪性の診断を腹水細胞診、腫瘍内用液細胞診で行う可能性を検討したものでした。学会での発表後、論文にさせていただくべきでしたが、私の才能の低さゆえに公表しないまま、



埋もれていきました。子宮内膜細胞診については、自身で抱えていたさまざまな問題を、多くの方々との出会いの中で、解決していく糸口を見出しつつあるような気がしています。これらの臨床研究を通して、常に誰よりも早く、さまざまな問題の答えを自分自身が知ることができ、そのたびに細胞診に携わっている幸せを感じることができました。

私は、この「一朝一夕に身につかない」ことが好きなようです。小学生から続いている飛行機の模型作りは、自画自賛ですが段々と上達し、今ではプロ並みです。今年、私の人生の中で代表作となるはずの 1/32 F-14A TOMCAT（映画『トップガン』でトム・クルーズが乗っていた戦闘機）が完成する予定です。スイミングは、今までは距離優先で泳いでいました。2年前には、1年間で平泳ぎ（Breaststroke）単独で 500 km を泳ぎ切りました。これは、以前テレビで吉永小百合さんが過去に 400 km を 1 年で泳いだと語っておられたことに対抗心を燃やした結果でした。昨年暮れに自身のフォームを水上、水中カメラで撮影していただき、猛反省をした後、さまざまな改良と泳ぎこみを行い、その結果、多くの仲間からその上達を褒めていただき、すっかり気をよくしています。約 2 年前からプロに教えていただいているトランペット演奏は、今、大きな壁に当たってはいますが、ここを越えれば、素晴らしい未来が待っているはずです（と思わなければ、やっていられないほど、今は大スランプです）。これらはいずれも、同じような条件で始められた人に、簡単には追いつけられないという自負があります。さすがに細胞診ではそれだけの自信はございませんが、日々の鍛錬の中で変化していく自分を感じることは、私にとってはとても楽しい気分です。また、スランプに陥っても必ず乗り越えられるという自信も（単に誤解かもしれませんが）つきました。

ところで、子宮頸がん検診に HPV 検査を導入することが多くの国々で報告されています。そのようななかで 2016 年に横浜で開催された国際細胞学会では、私たちは子宮内膜細胞診という、国外ではあまり注目されていない領域のシンポジウムを担当させていただく機会に恵まれました。そのシンポジウム後に、オーストラリアから参加いただいた方から、これからの子宮内膜細胞診について自国から情報を集めてくるように言われた、として、さまざまな質問をいただきました。背景には、今後、オーストラリアで HPV 単独検診が始まり、それに伴い子宮頸部細胞診標本を判定する機会が減少すると予想されるため、活路を子宮内膜に求めている、という事情があることを教えていただきました。たしかに HPV 検査単独で子宮頸がん検診を行うとすれば、取り扱われる子宮頸部細胞診標本数は減少するかもしれません。しかし、子宮頸部細胞診の重要性は低下することはないはずであり、求められるスキルも変わらないはずです。われわれスキルをもっている専門家集団は、自身の保身に細胞診を利用することを考えるよりは、いまだに開拓されていない細胞診断学の活路を、もっと貪欲に求めるべきではないでしょうか。冒頭に申し上げましたように、細胞診断学には、まだまだできることがたくさん残されているはずです。その活路と発展を見出す手段として、本学会誌の果たす役割はきわめて大きいです。その学会誌の巻頭言として、プライベートなことも書き連ねました勝手を、お許しください。

総 説

悪性中皮腫の細胞像

——中皮腫細胞診評価ワーキンググループの報告をふまえて——

河原 邦光

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪はびきの医療センター病理診断科

日本肺癌学会中皮腫細胞診評価ワーキンググループは、上皮型中皮腫、反応性中皮細胞の胸水剥離細胞診標本を用いて、背景、出現様式と集塊形態、細胞相互の関係、核、細胞質等を検討し、中皮腫の細胞診断の細胞形態のクライテリアを確立し、それを形態計測にて検証し、統計学的に有意なものを明らかにした。さらに免疫細胞化学、*p16*FISHの検討を加え、中皮腫診断基準を作成した。細胞形態では、背景の粘液様物質、Ⅱ型 collagenous stroma, hump 様細胞質突起を有する鋳型細胞、細胞質の重厚感、細胞質辺縁の不明瞭化、オレンジ G 好性細胞、多核細胞の出現率の増加が有意な所見であった。免疫細胞化学では、癌腫との鑑別には中皮マーカーの calretinin, D2-40, WT1, 癌腫マーカーの CEA, MOC31, Ber-EP4, TTF-1, napsin A からそれぞれ 2 抗体の実施が必須であり、反応性中皮細胞との鑑別には EMA, desmin, Glut-1, CD146 が有用であった。また、反応性中皮細胞との鑑別には、FISH 法による *p16* のホモ接合性欠失および免疫組織・細胞化学的な BAP1 の欠失の有無の検討の組み合わせが有用であった。

Key words : Pleural mesothelioma, Cytology, Immunocytochemistry, *p16*FISH, BAP1

I. 緒 言

2005 年のいわゆる“クボタ騒動”を契機にして、本邦においても悪性中皮腫患者が急増していることが明らかになった。これに対して、日本肺癌学会では、2009 年から 2014 年まで、学会内の肺癌取り扱い規約委員会の細胞診判定基準改訂委員会に中皮腫細胞診評価ワーキンググループ（以下 WG）を、亀井敏昭を委員長として設立し、この WG に筆者を含め多くの本学会会員が委員として参加し活動を

行ってきた。この WG では、本邦の上皮型中皮腫（以下中皮腫）症例 200 例以上、反応性中皮細胞症例（以下反応性中皮症例）50 例以上の胸水剥離細胞診（以下胸水細胞診）標本に対して、背景、出現様式と細胞集塊の形態、細胞相互の関係、核、細胞質等について詳細な検討を行い、胸水細胞診において中皮腫と診断するための形態学的なクライテリアを確立し、さらにそれらを形態計測により検証し統計学的に有意なものを明らかにした。これに加えて、免疫組織・細胞化学、特殊染色、電子顕微鏡所見、細胞診断への新しいアプローチについても記載し、中皮腫診断基準を作成した。WG の作成した中皮腫診断基準は、本稿執筆時の 2017 年 11 月現在では、電子媒体や刊行物での内容の閲覧は可能ではなかったが、2017 年 12 月 1 日に、特定非営利活動法人 日本肺癌学会のホームページ上に、日本肺癌学会細胞診判定基準改訂委員会が編集した悪性胸膜中皮腫細胞診断の手引き 第 1.0 版¹⁾が公開され、そのなかに上述の WG の中皮腫診断基準の内容が組み込まれ、閲覧が可能となった。

上述の WG での中皮腫診断基準の完成と前後して、

Cytodiagnosis of malignant mesothelioma in pleural effusion cytology—Practical criteria created by a working group on mesothelioma cytology examination of the Japan Lung Cancer Society—

Kunimitsu KAWAHARA, M. D., Ph. D.

Department of Pathology, Osaka Habikino Medical Center

論文別刷請求先 〒 583-8588 大阪府羽曳野市はびきの 3 の 7 の 1
地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪はびきの医療センター病理診断科 河原邦光

平成 29 年 12 月 10 日受付

平成 29 年 12 月 11 日受理

International Mesothelioma Interest Group (IMIG) は、2015 年に中皮腫の細胞診断に関する新しいガイドライン（以下新 IMIG ガイドライン）²⁾を公表した。この新 IMIG ガイドラインでは、従来のガイドライン^{3,4)}において、中皮腫の確定診断は生検による病理組織学的診断のみがなしうと述べていた点を改め、細胞診にて、形態学的あるいは補助手段によって中皮腫であることが確定できれば、必ずしも生検による組織学的確認を要しないことが初めて明言された。

本稿では、第55回日本臨床細胞学会秋期大会にて著者が行った教育講演（悪性中皮腫の細胞像～中皮腫細胞診評価ワーキンググループの報告をふまえて～）の内容に準じて、WG の中皮腫診断基準の内容から著者がその一部を抜粋して概説し、WG 委員のその後の研究成果を紹介するとともに、文献の考察を加えて報告する。なお、中皮腫はあらゆる部位の漿膜で発生するが、本稿では胸膜の上皮型中皮腫について記載する点をご了承いただきたい。

II. 中皮腫の体腔液細胞診所見と形態計測による検証

体腔液中に出現する悪性中皮腫細胞の大部分は、悪性中皮腫の約 60% を占める上皮型中皮腫と約 20% を占める二相型の上皮様成分から剥離脱落したものと考えられる⁵⁾。なお、悪性中皮腫の約 20% を占める肉腫型中皮腫では、体腔液貯留の頻度が少なく、悪性中皮腫細胞自体もみられないことが多く、体腔液中に剥離することがあっても細胞異型が高度なため、その細胞診断は困難なことが多い⁵⁾。

1. 背景

胸水中の中皮腫の背景は、出血性もしくは漿液性のことが多く、リンパ球や組織球などの炎症細胞の出現が目立つ¹⁾。壊死性背景の症例は少ない¹⁾。背景は、リンパ球背景、組織球背景の症例がほぼ等しく、それぞれ 45% で、好中球背景は約 10% 程度である¹⁾。

約 10% の中皮腫症例においては、貯留した体腔液はヒアルロン酸に富み粘液性である。時に、その粘稠さのため、遠心操作が困難なことがあり、すり合わせ式の塗抹標本の作成が必要となる¹⁾。これら胸水細胞診症例の Papanicolaou 染色標本においては、粘液性背景は、顆粒状あるいはフィルム状を呈するびまん性の好酸性蛋白様物質として認められる¹⁾。

2. 出現様式と細胞集塊の形態

中皮腫細胞の出現数は多く、出現様式としては、孤立散在性に出現するとともに、球状（マリモ状）ならびに乳頭状の大型細胞集塊として出現し、細胞集塊の辺縁には瘤状の突出（knobby contour）を呈することが多い¹⁾。細胞集塊の形態は、球状細胞集塊（Photo. 1a）が約 70%、乳頭状細胞

集塊（Photo. 1b）が約 30% である¹⁾。これら細胞集塊の構成細胞数については、孤立性細胞が 34%、2～4 個の中皮腫細胞からなる細胞集塊が 24%、5～10 個が 18%、11～100 個が 20%、100 個以上が 4% であることが明らかになっている¹⁾。

また、ライトグリーン好性の無構造物質である collagenous stroma（以下 CS）を中心に有する細胞集塊（Photo. 1c）が出現するのが中皮腫の特徴であり、特に CS II 型を有する細胞集塊の出現率は、畠 WG 委員の報告では中皮腫症例の 56% であった⁶⁾が、WG の検討では 47% であった¹⁾。

3. 細胞相互の関係（相互封入所見、細胞相接像、hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞）

中皮腫細胞では、相互封入所見と細胞相接像がしばしば認められる⁷⁾。さらに、相互封入所見に伴って、細胞質が瘤状に突出する hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞（Photo. 1d）が認められる⁷⁾。WG の検討における、中皮腫症例と反応性中皮症例の比較では、細胞相接像、相互封入所見は、反応性中皮症例のほうが出現率が高いことが明らかになっている⁷⁾。しかし、hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞の出現率は、中皮腫症例では 67.0% であるのに対し、反応性中皮症例では 3.0% 以下であり、中皮腫症例に出現率が高く、統計学的にも有意差が存在した¹⁾。なお、hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞については、濱川 WG 委員らが詳細に報告しており⁸⁾、そちらをご参照いただきたい。

4. 核所見（大きさ、核形不整、位置、核クロマチン、核小体の腫大と個数、多核細胞）

中皮腫細胞の核は、反応性中皮細胞の核より大きい、中皮腫細胞自体が反応性中皮細胞よりかなり大きく、その結果、N/C 比は反応性中皮細胞と比べ、むしろ小さい場合が多い^{5,7)}。

中皮腫細胞の大きさは、リンパ球との比較では、リンパ球の 6 倍以上の中皮腫細胞が 61.8% であり、反応性中皮細胞では 6 倍以上のものは 12.5% であり、両細胞の大きさには統計学的にも有意差が存在した^{1,7)}。

核は、類円形で、核形不整に乏しく、大きさは比較的均一で、細胞中心性に位置する^{1,7)}。核クロマチンは軽度増量し、典型例では微細顆粒状である^{1,7)}。核小体は、明瞭で 1～2 個認められる^{1,7)}。

多核細胞（Photo. 1e）については、中皮腫では 2 核細胞を含む多核細胞の出現率が高く、亀井 WG 委員長らの施設の検討⁹⁾では、単核細胞が 75.2%、2 核細胞以上の多核細胞が 24.8% であった。また、腺癌では、単核細胞が約 85%、2 核細胞以上の多核細胞が約 15% であり、反応性中皮細胞では、単核細胞が約 90%、2 核細胞以上の多核細胞が約

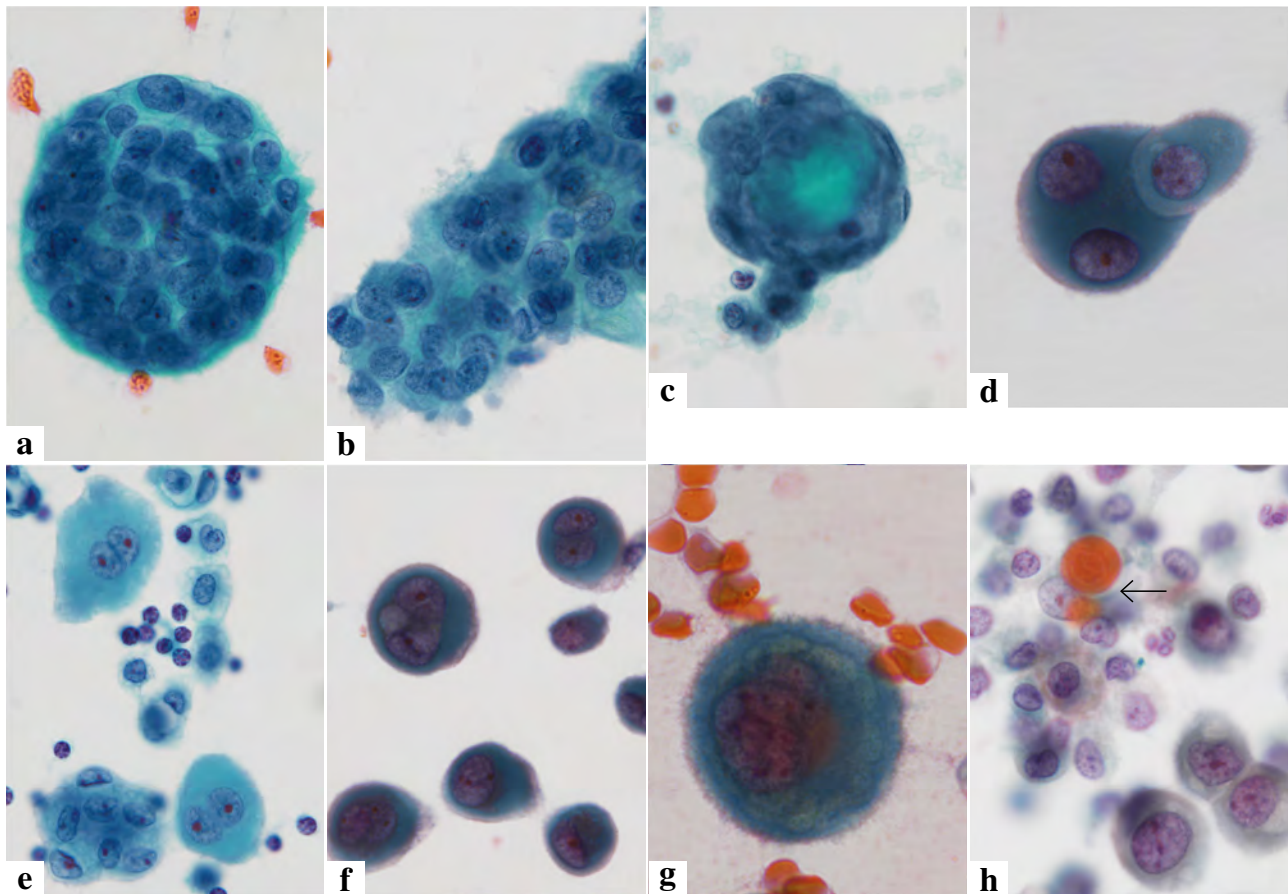


Photo. 1 Significant cytomorphological findings for the diagnosis of MM in pleural effusion (Pap. staining, $\times 100$). a : Spheroid cell cluster. b : Papillary cell cluster. c : Collagenous stroma, type II. d : Hump-like cytoplasmic process. e : High frequency of multinucleated cell. f : Deeply stained thick cytoplasm. g : Ambiguous cell surface. h : Orange G-positive cell (arrow).

10%であった⁹⁾。WGでの検討結果も、2核細胞以上の多核細胞の比率は、中皮腫細胞では27.0%、腺癌細胞では15.5%、反応性中皮細胞では9.8%であり¹⁾、亀井らの検討とはほぼ同様の結果を示している¹⁾。中皮腫では、このように多核傾向を示す中皮腫細胞の割合が高く、時に10核以上の多核細胞の出現も認められる⁷⁾。一方、反応性中皮細胞では、4ないし5核までの多核細胞を認めることはあるが、10核以上のものはほとんど認められない⁷⁾。

5. 細胞質所見（細胞質の重厚感、細胞質辺縁の不明瞭化、オレンジG好性細胞）

中皮腫細胞の細胞質は、比較的豊富でライトグリーン好性を示し、一般に核周囲は明るく、その周囲では重厚感を増し(Photo. 1f)、同心円状の層板構造を認める^{1,7)}。Giemsa染色では好塩基性が強調される⁷⁾。細胞質の辺縁(Photo. 1g)は不明瞭であり、その所見は、全周性に微絨毛が発達していることや微絨毛周囲にヒアルロン酸が付着していることを反映している^{1,7)}。

また、中皮腫症例では、しばしば、中皮腫細胞や反応性

中皮細胞に混じてオレンジG好性細胞(Photo. 1h)がみられる。亀井WG委員長らの報告¹⁰⁾では、オレンジG好性細胞は、変性した中皮腫細胞に由来するpseudokeratosisが多いとされている。

6. 中皮腫に統計学的に有意な所見

WGは、中皮腫の診断に統計学的に有意な所見について、1)背景の粘液様物質(ヒアルロン酸)、2)CSII型を有する細胞集塊、3)hump様細胞質突起を有する鑄型細胞、4)細胞質の重厚感、5)細胞質辺縁の不明瞭化、6)オレンジG好性細胞、7)多核細胞の出現率の増加(出現細胞の約25%)であることを明らかにしている⁷⁾。

III. 中皮腫の免疫組織・細胞化学（以下免疫染色）

肺腺癌およびその他の腺癌による胸膜癌腫症は、中皮腫に類似した所見を呈するため、中皮腫の診断に際しては免疫染色を実施し、病変が中皮由来の腫瘍であり、他の臓器由来の癌ではないことを確認する必要がある¹¹⁾。これら腺

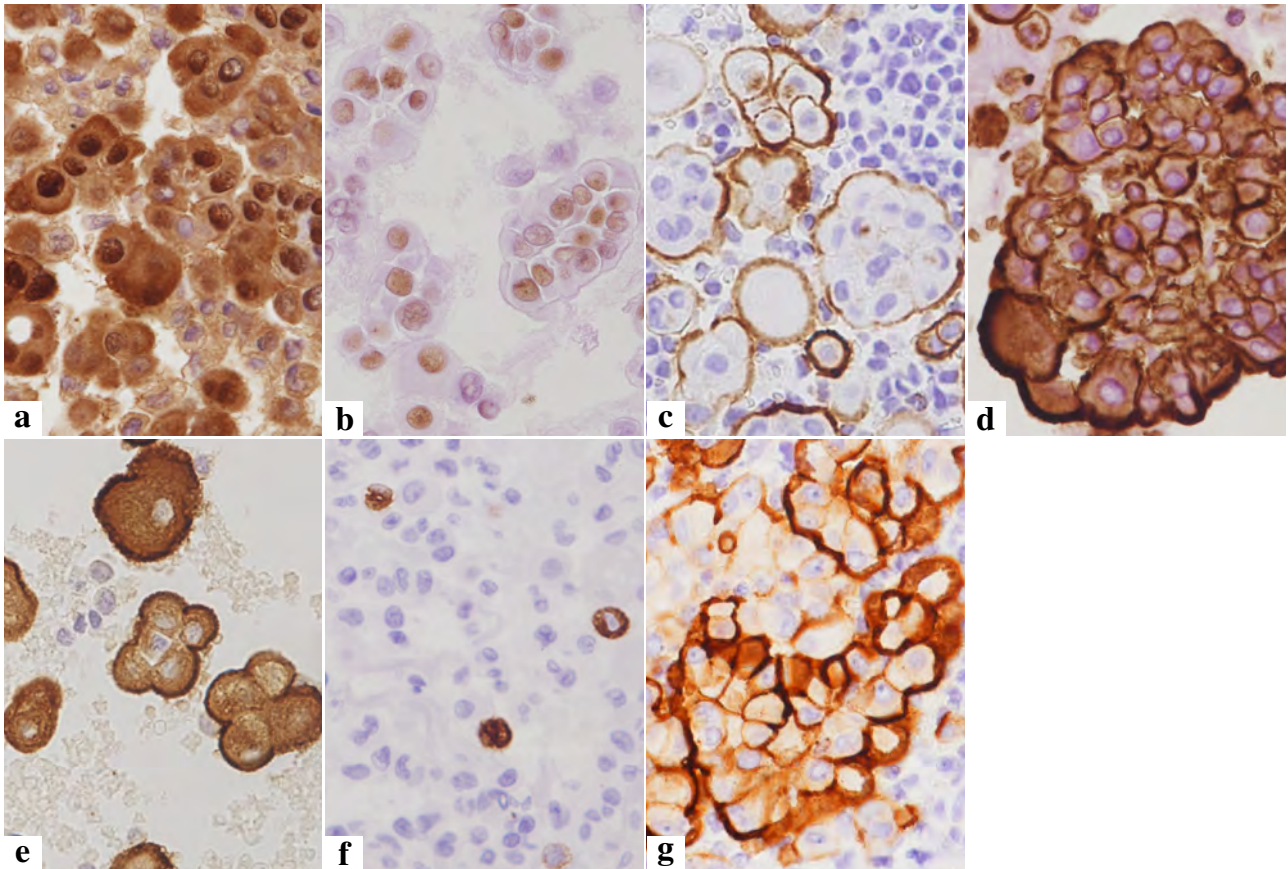


Photo. 2 Useful immunohistochemical markers for the diagnosis of MM in cell blocks. a : Nuclear and cytoplasmic positivity of calretinin in MM ($\times 40$). b : Nuclear positivity of WT1 in MM ($\times 40$). c : Membranous positivity of D2-40 in MM ($\times 40$). d : Membranous positivity of Glut-1 in MM ($\times 40$). e : Membranous positivity of EMA in MM ($\times 40$). f : Cytoplasmic positivity of desmin present in reactive mesothelial cells alone ($\times 40$). g : Membranous positivity of CD146 in MM ($\times 40$).

癌による胸膜癌腫と中皮腫の鑑別診断に際しては、中皮腫の診断を、単独で確定できるマーカーは現時点では存在しないため、免疫染色において2種の中皮のマーカーと2種の癌のマーカーを検討することが推奨されており¹¹⁾、前者が陽性、後者が陰性であることを確認することが勧められる¹⁾。また、反応性中皮細胞と中皮腫の鑑別についても、現時点では、確実に両者の鑑別が可能なマーカーはなく、細胞像と免疫染色の結果のみでは鑑別が難しい症例もまれならず認められる⁷⁾。中皮腫の診断には、腺癌、反応性中皮細胞のいずれを鑑別する場合にも、常に免疫染色を実施することが推奨され、Papanicolaou 染色・Giemsa 染色・PAS 反応などの通常の染色を行った胸水細胞診標本のみで中皮腫の診断を行うことは推奨されない¹¹⁾。

また、Fetsch らは、体腔液を用いて、cytospin, smear, Thinprep, セルブロックの各方法で免疫染色を行い、その結果を比較し、セルブロックが免疫染色において染色性が優れ、中皮腫と腺癌との鑑別に最も有用であることを報告しており¹²⁾、胸水検体が提出された場合にはセルブロック

を作成しておくことが推奨される。

1. 中皮腫と腺癌との鑑別

中皮のマーカーとしては、calretinin, WT1, D2-40 が、癌腫のマーカーとしては、CEA (carcinoembryonic antigen), MOC31, Ber-EP4 が有用である¹¹⁾。中皮腫と肺腺癌の鑑別には、肺腺癌のマーカーである TTF-1, napsin A が有用である¹¹⁾。また、現在は、癌腫のマーカーとして claudin4 が有用であることが報告された¹⁾。過去に中皮のマーカーとして利用されていた thrombomodulin と HBME-1 は、特異度の低さから現在ではほとんど用いられていない⁷⁾。

Calretinin (Photo. 2a) は、病理組織標本では核内および細胞質に陽性となるが、細胞診標本では細胞質に陽性を示し、核の染色性は乏しいことが多い¹⁾。細胞診検体では、Saad らは、中皮腫症例における陽性率は 85% としているが¹³⁾、WG における陽性率はほぼ 100% である¹⁾。現時点では中皮腫に対する最も有用なマーカーであるが、肺腺癌症例でも約 13% に陽性を示す⁷⁾ ことに留意が必要である。

WT1 (Photo. 2b) は中皮腫細胞の核に陽性所見を示す。細胞診症例では、陽性率は 95% と報告されており¹³⁾、特に中皮腫と肺腺癌との鑑別には有用である。しかしながら、WT1 は、卵巣漿液性腺癌、腹膜原発腺癌に高率 (80% 以上) に陽性所見を示すことは認識しておく必要がある^{1,7)}。

D2-40 (Photo. 2c) は、中皮腫細胞の細胞膜に陽性像を示す。細胞診症例では、陽性率は 85% と報告されている¹³⁾。

癌腫のマーカーについては、Saad らは、TTF-1 の中皮腫症例における陽性率は 0% で、肺腺癌では 80% と報告しており、中皮腫と肺腺癌との鑑別にきわめて有用な癌腫マーカーである¹³⁾。CEA についても、種々の腺癌症例に陽性を示し、陽性率はおおむね 55~90% であるが⁷⁾、中皮腫は陰性であり、鑑別にきわめて有用である¹⁾。

Ber-EP4 は、細胞診症例での腺癌症例の陽性率は 60~70% であり、中皮腫症例での陽性率は 20% 以下とされている¹⁾。MOC31 は、細胞診症例では、腺癌では 80~100% の高い陽性率を示し、中皮腫症例での陽性率は 10% 以下である¹⁾。このように、Ber-EP4 と MOC31 は癌腫のマーカーではあるものの、中皮腫症例では、10~20% 程度の症例が部分的に陽性を示す¹⁾ことを認識しておくことは重要である。

claudin4 は、WG の活動中に中皮腫の診断に有用であることが明らかにされた^{14,15)}。Lonardi らは、体腔液細胞診標本 (Papanicolaou 染色標本の脱色標本) を用いて、癌腫は 99.1% の症例が陽性であったが、反応性中皮細胞、中皮腫は全例が陰性であったことを報告しており¹⁴⁾、さらに、Jo らは、体腔液セルブロックで検討した結果、腺癌症例の 99% が陽性であったが、中皮腫はいずれも陰性であったことを報告しており¹⁵⁾、腺癌と中皮腫の鑑別にはきわめて有用なマーカーである。

2. 中皮腫と反応性中皮細胞との鑑別

Kuperman らによると、体腔液のセルブロックを用いた免疫染色では、EMA と Glut-1 を併用することで、中皮腫と反応性中皮細胞が鑑別できることを報告している¹⁶⁾。また、Hasteh らは、体腔液のセルブロックで免疫染色を行い、EMA が陽性で desmin が陰性の症例は、中皮腫症例の 98%、反応性中皮症例の 2% にみられ、逆に EMA が陰性で desmin が陽性の症例は反応性中皮症例の 86% にみられたが、中皮腫症例にはみられなかったことを報告している¹⁷⁾。WG の検討においても、胸水細胞診にて中皮腫症例と反応性中皮症例を鑑別する場合に、中皮腫は、Glut-1 (Photo. 2d) は感度 92%、特異度 80% であり、EMA (Photo. 2e) は感度 80%、特異度 80% であった¹⁾。desmin (Photo. 2f) は、反応性中皮細胞の感度は 80%、特異度 90% であった。これらの結果は、Glut-1、EMA、desmin の 3 マーカーの特異度は、それぞれが単独では中皮腫と反応性中皮細胞

の鑑別には十分ではなく、これらを組み合わせた総合的な判断が必要であることを示している。

CD146 (Photo. 2g) については、辻村 WG 委員らは、体腔液細胞診標本において、2 種の抗 CD146 抗体 (OJ79 と EPR3208) を用いて検討し、反応性中皮症例はいずれの抗体も 94%、90% に陽性であり、中皮腫症例は 2 抗体とも全例が陰性であったことを報告した¹⁸⁾。WG での検討においても、反応性中皮症例との鑑別において感度 90%、特異度 95% であり、中皮腫と反応性中皮細胞の鑑別にきわめて有用と考えている。

IV. 中皮腫と反応性中皮細胞の鑑別への新しいアプローチ

—p16FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) と BAP1 (BRCA-associated protein 1) 蛋白の免疫染色—

1. p16FISH (Photo. 3a, b)

p16 遺伝子 (CDKN2A, p16^{INK4a}) は、染色体 9p21 に存在する INK4 ファミリーの一つで、Cdk4 と結合し、そのキナーゼ活性を阻害する癌抑制遺伝子である。近年、中皮腫では、p16FISH における p16 遺伝子のホモ接合性欠失 (以下ホモ欠失) が報告されて以来、さまざまな程度のホモ欠失が報告されている。しかしながら、反応性中皮症例におけるホモ欠失はすべての報告において認められないことから、p16 遺伝子の FISH におけるホモ欠失は、体腔液細胞診における中皮腫細胞と反応性中皮細胞との鑑別において現在最も信頼すべきツールとされている。

鍋島 WG 委員らの p16FISH の検討では、中皮腫症例において、ホモ欠失は 93 例中 80 例 (86%) に、ヘテロ欠失は 15 例 (16.1%) に認められたが、反応性中皮症例ではいずれの欠失も認められなかったことを報告している¹⁹⁾。また、彼らは、中皮腫症例の胸水細胞診検体を検討し、hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞、相互封入所見、3 核以上の多核細胞、球状・乳頭状集塊に有意にホモ欠失が認められることを明らかにしており、この結果は、WG の検討結果である中皮腫に統計学的に有意な所見と一致した²⁰⁾。

また、判定に際しては、カットオフ値の設定が施設ごとに必要であるが、鍋島らは、反応性中皮症例の値に基づいて平均値 + 3 SD でカットオフ値を設定しており、ホモ欠失では 10%、ヘテロ欠失は 47% に設定している¹⁹⁾。また、廣島 WG 委員らは、+4 SD で設定し、それぞれ 15%、41.5% に設定して判定を行っている²¹⁾。

2. BAP1 蛋白の免疫染色

BAP1 遺伝子は染色体 3p21.1 領域に局在する癌抑制遺伝子であり、BAP1 蛋白 (以下 BAP1) は核に存在する。BAP1

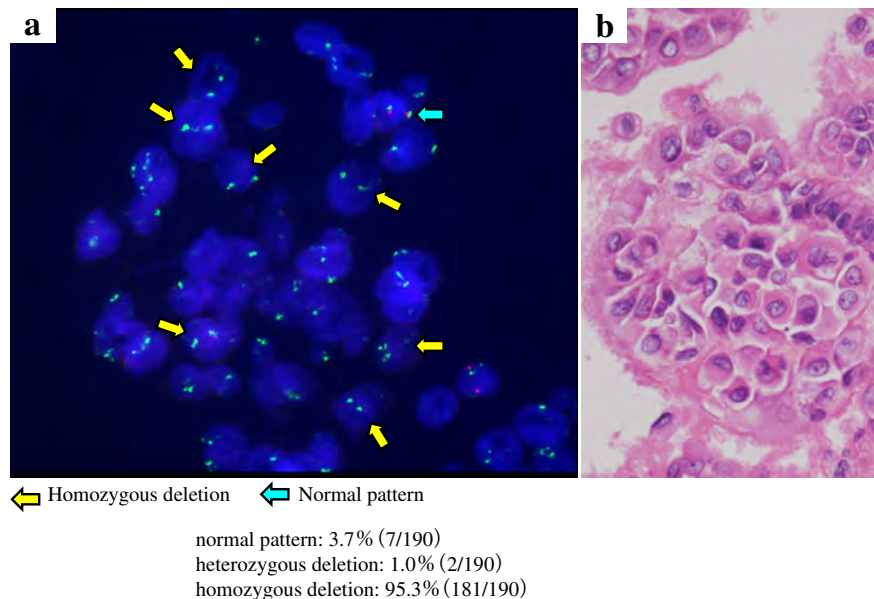


Photo. 3 Examples of p16 homozygous deletion-positive MM case. a : *p16* FISH demonstrating homozygous deletions (loss of two red signals per cells, yellow arrows) in cell block of pleural effusion (×40). b : Histology of cell block predominantly showing solid clusters of MM (Hematoxylin & eosin staining, ×40).

の免疫染色では、BAP1は、悪性中皮腫、特に上皮型中皮腫と二相型中皮腫ではしばしば欠失する。このような免疫染色におけるBAP1の欠失は、BAP1遺伝子のホモ欠失と相関することが明らかにされている²²⁾。Cigognettiらは、BAP1の免疫染色において、反応性中皮症例では欠失を認めないが、中皮腫では66%の症例に欠失することを明らかにしており、中皮腫症例と反応性中皮症例の鑑別においては特異度は100%と報告している²²⁾。WGの検討ではBAP1の免疫染色の検討は行われなかったが、BAP1の免疫染色は、現在、中皮腫症例と反応性中皮症例の鑑別に欠かせないマーカーである。

3. *p16*FISHとBAP1の免疫染色の組み合わせ

Hwangらは、15例の中皮腫症例と3例の反応性中皮症例を対象にして、全例において胸膜生検と胸水セルブロック(CB)を用いて*p16*FISHとBAP1の免疫染色を実施した²³⁾。その結果、中皮腫15例では、*p16*FISHのホモ欠失は、15例中12例(80%)の生検で陽性、11例中8例(73%)のCBで陽性であり、BAP1の欠失は、15例中10例(67%)の生検で陽性であり、15例中10例(67%)のCBで陽性であった。一方、反応性中皮症例では、*p16*FISHのホモ欠失とBAP1の免疫組織化学におけるBAP1の欠失は、いずれも、全生検で陰性、全CBで陰性であった。これらの結果から、中皮腫症例を反応性中皮症例と鑑別する際には、*p16*FISHとBAP1の免疫染色の2法は、いずれも、単独では特異度には優れるが感度がやや劣ることがわかる。しか

し、これら2法を組み合わせると、中皮腫の生検・CBの全例において、BAP1の免疫染色における欠失あるいは*p16*FISHにおけるホモ欠失の一方ないし両者が必ず認められた。すなわち、2法を組み合わせた場合には、中皮腫症例を反応性中皮症例から鑑別する際に、感度・特異度ともに100%であったことが報告され、2法の組み合わせの有用性が示された。しかしながら、最近のKinoshitaらの報告²⁴⁾では、これら2法の併用は、感度は84%、特異度は100%であることが明らかにされている²⁴⁾。

V. ま と め

いわゆる“クボタ騒動”から12年が経過し、その間に、われわれ胸水細胞診に携わる者は、増加しつつある中皮腫症例の診断を確実にすることが求められるようになってきた。WGでは、2009～2014年の時点の中皮腫診断基準を作成したが、その後もこの領域の診断の進歩はめざましいものがある。実際、本稿で述べた内容をベースにして、著者は、2017年に大阪で開催された本学会の第58回総会にて、中皮腫の早期発見をテーマにしたシンポジウムを企画したが、その際の発表と討論のなかで、WGで積み重ねられたevidenceによって、いよいよ中皮腫の早期診断の実現が現実のものとなりつつある段階になったことを実感した次第である。今後も、同様のWGを組織し、さらなる検討を行っていくことが望ましいと著者は考えている。本稿が、

体腔液細胞診に携わる本学会会員の診断の一助となれば幸いである。

著者は開示すべき利益相反状態はありません。

本稿は、特定非営利活動法人 日本肺癌学会ホームページに掲載された悪性胸膜中皮腫細胞診断の手引き第 1.0 版 (<https://www.haigan.gr.jp/modules/bulletin/index.php?page=article&storyid=140>)¹⁾に、日本肺癌学会の許可を得て加筆したものです。

本稿を終えるに当たり、第 1・2 期中皮腫細胞診評価ワーキンググループ委員・サブグループ委員(第 1 期から第 2 期にかけて順不同)の亀井敏昭先生、秋田弘俊先生、大林千穂先生、岡 輝明先生、河合俊明先生、児玉哲郎先生、武島幸男先生、辻村 亨先生、鍋島一樹先生、畠 榮先生、平野 隆先生、廣島健三先生、青江啓介先生、前田昭太郎先生、松野吉宏先生、青木 潤先生、佐藤正和先生、渋谷秀美先生、鳥居良貴先生、羽原利幸先生、濱川真治先生、藤田 勝先生、丸川活司先生、三浦弘守先生に深謝いたします。

また、本稿作成に際してご指導いただいたワーキンググループ委員長の亀井敏昭先生、*p16*FISH についてご指導をいただき Photo. 3 を提供いただいた鍋島一樹先生ならびに松本慎二先生、本稿執筆の契機となった教育講演に際し御支援をいただいた辻村 亨先生、廣島健三先生に厚く御礼を申し上げます。

Abstract

Many pathologists as well as cytotechnologists experience difficulty when making a cytological diagnosis of malignant mesothelioma (MM). To address this, a working group on MM cytology examination of the Japan Lung Cancer Society was started and practical cytological diagnostic criteria for MM were created. In the criteria, significant cytomorphological findings for the accurate diagnosis of MM using pleural effusion are as follows : 1) characteristic background composed of hyaluron material ; 2) presence of type II collagenous stroma ; 3) occasional presence of cell-in-cell engulfment with a cytoplasmic projection called a "hump" ; 4) deeply stained thick cytoplasm ; 5) ambiguous cell surface ; 6) frequent Orange G-positive cells ; 7) high frequency of multinucleated cells. As for immunocytochemistry, two mesothelial markers (among calretinin, WT1, and D2-40), and two carcinoma markers (among CEA, MOC-31, Ber-EP4, TTF-1 and napsin A) are recommended for differentiating MM from reactive mesothelial cells (RM). EMA (membranous pattern), desmin, Glucose transporter 1 and CD146 are recommended for differentiating MM from RM. Moreover, the homozygous deletion of p16 (CDKN2A) detected by FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) and the loss of BRCA-associated protein 1 (BAP1) by immunocytochemistry are very useful for differentiating MM from RM. These criteria provide a practical reference for pathologists as well as cytotechnologists.

文 献

- 1) 特定非営利活動法人 日本肺癌学会ホームページ. 悪性胸膜中皮腫細胞診断の手引き 第 1.0 版.
<https://www.haigan.gr.jp/modules/bulletin/index.php?page=article&storyid=140>
- 2) Hjerpe, A., Ascoli, V., Bedrossian, C. W., Boon, M. E., Creaney, J., Davidson, B., et al. International Mesothelioma Interest Group : International Academy of Cytology : Papanicolaou Society of Cytopathology. Guidelines for the cytopathologic diagnosis of epithelioid and mixed-type malignant mesothelioma. Complementary statement from the International Mesothelioma Interest Group, also endorsed by the International Academy of Cytology and the Papanicolaou Society of Cytopathology. *Acta Cytol* 2015 ; 59 : 2-16.
- 3) Husain, A. N., Colby, T. V., Ordóñez, N. G., Krausz, T., Borczuk, A., Cagle, P. T., et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma : a consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med* 2009 ; 133 : 1317-1331.
- 4) Husain, A. N., Colby, T., Ordóñez, N., Krausz, T., Attanoos, R., Beasley, M. B., et al. International Mesothelioma Interest Group. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma : 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med* 2013 ; 137 : 647-667.
- 5) 亀井敏昭, 渋谷秀美, 羽原利幸, 園部 宏, 畠 榮, 鍋島一樹・ほか. II. 胸膜病変における体腔液細胞診の有用性. 腫瘍病理鑑別診断アトラス刊行委員会監修: 縦隔腫瘍・胸膜腫瘍. 文光堂: 東京; 2014. 268-276.
- 6) 畠 榮, 鐵原拓雄, 三宅康之, 広川満良. 体腔液細胞診における Collagenous stroma を有する細胞集塊の細胞学的特徴ならびに診断的意義について. *日臨細胞会誌* 1996 ; 35 : 217-223.
- 7) 亀井敏昭. 中皮腫診断での体腔液細胞診の特徴と考え方. 井内康輝編: 石綿関連疾患の病理とそのリスクコミュニケーション. 篠原出版新社: 東京; 2015. 103-112.
- 8) 濱川真治, 森 一磨, 柏崎好美, 田辺美絵, 近藤洋一, 坂牧久仁子・ほか. 悪性中皮腫症例の体腔液に出現した hump 様細胞質突起を有する鑄型細胞の検討. *日臨細胞会誌* 2003 ; 42 : 10-16.
- 9) 佐久間暢夫, 亀井敏昭, 渋谷秀美, 岡村 宏. 核数に注目した反応性中皮, 肺腺癌および悪性中皮腫の特徴. *日臨細胞会誌* 2002 ; 41 : 145-149.
- 10) 佐久間暢夫, 岡村 宏, 渋谷秀美, 今井佳美, 亀井敏昭. 体腔液検体中に認められるオレンジ G 好性細胞の検討. *日臨細胞会誌* 2008 ; 47 : 351-354.
- 11) 特定非営利活動法人 日本肺癌学会ホームページ. 悪性胸膜中皮腫病理診断の手引き 第 1.0 版.
<https://www.haigan.gr.jp/uploads/photos/647.pdf>

- 12) Fetsch, P. A., Abati, A. Immunocytochemistry in effusion cytology : a contemporary review. *Cancer* 2001 ; 93 : 293-308.
- 13) Saad, R. S., Lindner, J. L., Lin, X., Liu, Y. L., Silverman, J. F. The diagnostic utility of D2-40 for malignant mesothelioma versus pulmonary carcinoma with pleural involvement. *Diagn Cytopathol* 2006 ; 34 : 801-806.
- 14) Lonardi, S., Manera, C., Marucci, R., Santoro, A., Lorenzi, L., Facchetti, F. Usefulness of Claudin 4 in the cytological diagnosis of serosal effusions. *Diagn Cytopathol* 2011 ; 39 : 313-317.
- 15) Jo, V. Y., Cibas, E. S., Pinkus, G. S. Claudin-4 immunohistochemistry is highly effective in distinguishing adenocarcinoma from malignant mesothelioma in effusion cytology. *Cancer Cytopathol* 2014 ; 122 : 299-306.
- 16) Kuperman, M., Florence, R. R., Pantanowitz, L., Visintainer, P. F., Cibas, E. S., Otis, C. N. Distinguishing benign from malignant mesothelial cells in effusions by Glut-1, EMA, and Desmin expression : an evidence-based approach. *Diagn Cytopathol* 2013 ; 41 : 131-140.
- 17) Hasteh, F., Lin, G. Y., Weidner, N., Michael, C. W. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. *Cancer Cytopathol* 2010 ; 118 : 90-96.
- 18) Sato, A., Torii, I., Okamura, Y., Yamamoto, T., Nishigami, T., Kataoka, T. R., et al. Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. *Mod Pathol* 2010 ; 23 : 1458-1466.
- 19) Hamasaki, M., Matsumoto, S., Abe, S., Hamatake, D., Kamei, T., Hiroshima, K., et al. Low homozygous/high heterozygous deletion status by p16 FISH correlates with a better prognostic group than high homozygous deletion status in malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2016 ; 99 : 155-161.
- 20) Nabeshima, K., Matsumoto, S., Hamasaki, M., Hida, T., Kamei, T., Hiroshima, K., et al. Use of p16 FISH for differential diagnosis of mesothelioma in smear preparations. *Diagn Cytopathol* 2016 ; 44 : 774-780.
- 21) Hiroshima, K., Wu, D., Hasegawa, M., Koh, E., Sekine, Y., Ozaki, D., et al. Cytologic differential diagnosis of malignant mesothelioma and reactive mesothelial cells with FISH analysis of p16. *Diagn Cytopathol* 2016 ; 44 : 591-598.
- 22) Cigognetti, M., Lonardi, S., Fisogni, S., Balzarini, P., Pellegrini, V., Tironi, A., et al. BAP1 (BRCA1- associated protein 1) is a highly specific marker for differentiating mesothelioma from reactive mesothelial proliferations. *Mod Pathol* 2015 ; 28 : 1043-1057.
- 23) Hwang, H. C., Sheffield, B. S., Rodriguez, S., Thompson, K., Tse, C. H., Gown, A. M., et al. Utility of BAP1 immunohistochemistry and p16 (CDKN2A) FISH in the diagnosis of malignant mesothelioma in effusion cytology specimens. *Am J Surg Pathol* 2016 ; 40 : 120-126.
- 24) Kinoshita, Y., Hida, T., Hamasaki, M., Matsumoto, S., Sato, A., Tsujimura, T., et al. A combination of MTAP and BAP1 immunohistochemistry in pleural effusion cytology for the diagnosis of mesothelioma. *Cancer* 2017 Oct 20. doi : 10.1002/cncy.21928.

原 著

ホルマリン固定乳癌細胞セルブロックを用いたホルモン受容体
および HER2 検査における固定時間の検討岡本 奈美 西村理恵子 佐藤 正和 山本 珠美
田中 慎一 小嶋 健太

四国がんセンター臨床検査科

目的：セルブロック検体を用いた乳癌受容体検査は、生検困難な検体で有用であり、今後広く日常的に行われると考えられる。組織検体についてはガイドラインによる推奨固定時間があるが、セルブロックに関する検討は行われていない。そこで、セルブロック検体の最適ホルマリン固定時間を検討した。

方法：乳癌切除検体を対象とした。腫瘍部を穿刺吸引して細胞を採取し、10%緩衝ホルマリンで2~120時間固定を行った。固定後の細胞をセルブロック化し組織検体と同様の方法でER(10件)、PgR(10件)、HER2蛋白(21件)の免疫染色、HER2 DISH法(15件)を行った。ホルモン受容体は癌細胞100個中の陽性細胞数を用いて判定し、HER2蛋白とHER2 DISHはASCO/CAPのガイドラインに従い組織と同じ基準で判定した。

成績：ER、PgRおよびHER2 DISHは、2~120時間の固定で染色性に影響は認められなかった。HER2蛋白は、6時間未満で3件、48時間を超える1件で染色性の低下を認めた。

結論：セルブロックを用いた乳癌受容体検査におけるホルマリン固定時間は6時間以上48時間以内が望ましい。

Key words : Breast cancer, Cell-block, Fixation time, Hormone receptor, HER2

I. はじめに

乳癌受容体検査には、ホルモン受容体である estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PgR) と上皮細胞増殖因子の受容体である human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2) がある。ER と PgR の発現状況は immunohistochemistry (IHC) 法、HER2 の発現状況は IHC

法と *in situ* hybridization (ISH) 法で評価され、乳癌薬物療法の適応決定に用いられている。

従来、乳癌受容体検査は原発巣組織で行われていたが、原発巣と転移巣の受容体発現に差のある症例が相当数あり、治療効果は転移巣の受容体発現と関連していることが近年報告されたため^{1,2)}、転移巣受容体検査が行われるようになってきた。しかし、乳癌再発症例では、体腔液などの液状検体あるいは生検の難しい部位の穿刺吸引細胞検体など、細胞診検体しか得られない場合があり、細胞診検体を用いた受容体検査の必要性が高まっている。

細胞診検体を用いた受容体検査方法としては、液状化検体細胞診 (Liquid based cytology : LBC) やセルブロックがある。著者らはセルブロックを用いると組織と同様の取り扱いができることから実用的であると報告してきた^{3,4)}。

組織検体を用いた乳癌受容体検査では、推奨される検体取り扱い方法があり、ER と PgR は 2010 年¹⁾、HER2 は 2013 年²⁾ の American Society of Clinical Oncology (ASCO)/Col-

Validation study of fixation time for hormone receptor and HER2 analyses on formalin-fixed breast cancer cell blocks

Nami OKAMOTO, C. T., J. S. C., Rieko NISHIMURA, M. D., F. I. A. C., Masakazu SATOU, C. T., J. S. C., Tamami YAMAMOTO, C. T., J. S. C., Shinichi TANAKA, C. T., I. A. C., Kenta KOJIMA, C. T., J. S. C.

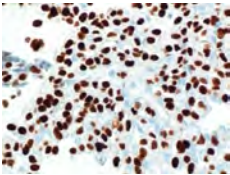
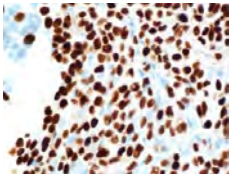
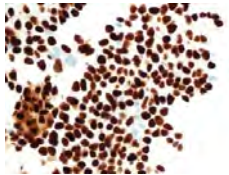
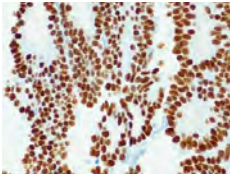
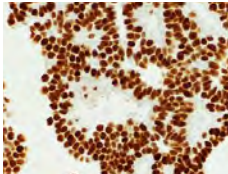
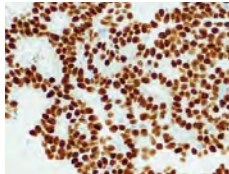
Department of Clinical Laboratory, Shikoku Cancer Center

論文別刷請求先 〒791-0280 愛媛県松山市南梅本町甲160 四国がんセンター臨床検査科 岡本奈美

平成28年10月23日受付

平成29年11月6日受理

Table 1 Hormone receptor immunostaining in formalin-fixed breast cancer cell blocks

	2 hours	6 hours	24 hours	120 hours
ER				
Positive rate	80%	88%	98%	98%
PgR				
Positive rate	95%	95%	98%	98%

The results of staining for estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR) remained stable in all cases in the fixation time range of between 2 and 120 hours (Immunohistochemical staining, $\times 20$).

lege of American Pathologists (CAP) のガイドラインにおいて、固定液は 10% 中性緩衝ホルマリン（ホルマリン）を用い、固定時間は 6～72 時間とすることが推奨されている。

一方、セルブロックを用いた乳癌受容体検査については、ホルマリンで 6～24 時間固定したという報告⁵⁻⁹⁾はあるが、固定時間の詳細な検討は行われていない。

そこで、今回著者らは、乳癌セルブロック検体を用いて受容体検査を行う際の最適ホルマリン固定時間を検討した。

II. 対象と方法

2015 年 1 月から 2017 年 7 月に腫瘍切除術が行われた乳癌切除検体を対象とした。

まず、乳癌切除検体腫瘍部を穿刺吸引し細胞を採取した。次に、採取した乳癌細胞を 10% 緩衝ホルマリンにて固定し、パラフィン包埋セルブロック標本を作製した。セルブロック作製にはアルギン酸ナトリウム法を用いた¹⁰⁾。ホルマリン固定時間は、2～120 時間とした。具体的には、2 時間、4 時間、そして 6 時間以降は 6 時間おきに 120 時間まで固定を行った。

それぞれのセルブロックプレパラートで、ER・PgR・HER2 蛋白に対する免疫染色と HER2 DISH 法を行った。染色には、自動免疫染色装置（ペンタナベンチマーク ULTRA, ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）を用いた。ER と PgR の免疫染色結果は、癌細胞 100 個中の陽性細胞数（陽性率）を用いて判定し、HER2 蛋白および HER2 DISH の結果判定には、ASCO/CAP ガイドラインの組織標本判定基準を用いた²⁾。

40 件の乳癌切除検体腫瘍部に対して穿刺吸引を行い、セルブロックを作製した。ER と PgR の対象には、腫瘍部組織標本で陽性を示し、かつ穿刺吸引検体から作製したセルブロック標本上に検討可能な腫瘍細胞が確認された、各 10 件を用いた。HER2 蛋白の対象には、腫瘍部組織標本でスコア 1+ と判定された 10 件、2+ と判定された 6 件、3+ と判定された 5 件の計 21 件を用いた。HER2 DISH の対象には、腫瘍部組織標本で HER2 遺伝子増幅ありと判定された 5 件（HER2 蛋白のスコアは 5 件すべて 3+）、増幅なし 10 件（HER2 蛋白のスコア 1+ : 4 件、2+ : 6 件）の計 15 件を用いた。

III. 結 果

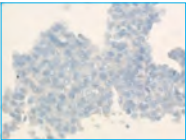
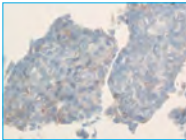
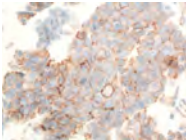
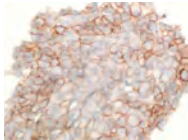
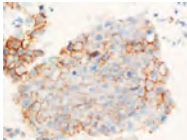
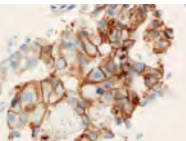
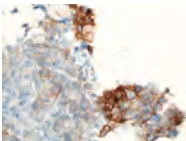
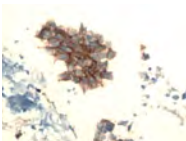
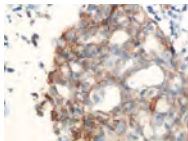
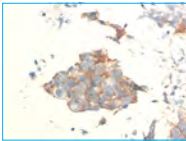
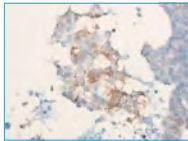
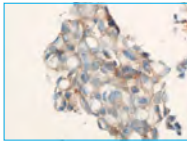
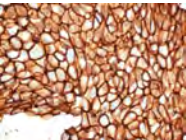
固定時間ごとの代表的なホルモン受容体免疫染色 (Table 1)、HER2 蛋白免疫染色 (Table 2)、および HER2 DISH 染色 (Table 3) の結果を表にまとめた。

ER 陽性検体 10 件、PgR 陽性検体 10 件では、2～120 時間の固定で染色性に影響は認められなかった。

HER2 蛋白スコア 1+ の検体では、10 件中 2 件で染色性の減弱を認めた。1 件は 4 時間以上の固定ではスコア 1+ と判定されたが、2 時間の固定では染色性が減弱しスコア 0 と判定された。もう 1 件は 6 時間以上の固定ではスコア 1+ と判定されたが、2 時間と 4 時間の固定では染色性が減弱しスコア 0 と判定された。

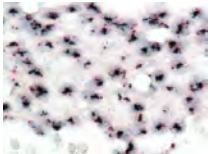
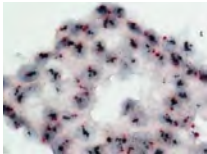
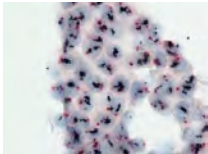
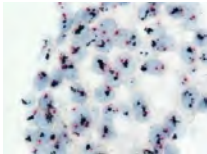
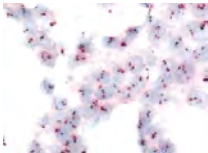
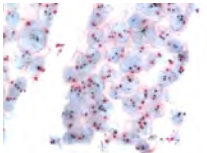
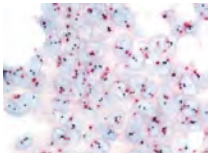
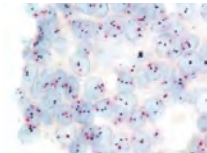
HER2 蛋白スコア 2+ の検体では、6 件中 3 件で染色性の減弱を認めた。うち 2 件では、4 時間以上の固定ではスコア 2+ と判定されたが、2 時間の固定で染色性は減弱しスコア 1+ と判定された。

Table 2 HER2 immunostaining in formalin-fixed breast cancer cell blocks

	Score decreased score (0)				
HER2 (1+)					
	2 hours	4 hours	6 hours	24 hours	120 hours
HER2 (2+)					
	18 hours	24 hours	36 hours	48 hours	
			Score decreased score (1+)		
					
			54 hours	60 hours	120 hours
HER2 (3+)					
	2 hours	6 hours	24 hours	120 hours	

Two of ten HER2 score (1+) cases, the score decreased score (0) when the fixation time is not longer than four hours. For one of six HER2 score (2+) cases, the scores decreased score (1+) when the fixation time is not shorter than 54 hours. The HER2 immunostaining results of all five HER2 score (3+) cases were stable between 2 and 120 hours (Immunohistochemical staining, ×20).

Table 3 HER2 dual *in situ* hybridization (DISH) in formalin-fixed breast cancer cell blocks

	2 hours	6 hours	24 hours	120 hours
HER2 genes Amplified				
Signal count ratio	8.27	6.55	8.9	7.59
Number of HER2 signals	298	288	267	281
HER2 genes Unamplified				
Signal count ratio	1.02	1.03	1.0	1.11
Number of HER2 signals	43	38	37	38

The HER2 (black)/CEP17 (red) signal count ratio and the number of HER2 signals in both amplified and unamplified cases were stable between 2 and 120 hours (Immunohistochemical staining, ×40).
CEP17 : chromosome enumeration probe 17.

ア1+と判定された。残りの1件は、2～48時間までの固定では2+と判定されたが、54時間以上になると染色性が低下し、スコア1+と判定された。

HER2 蛋白スコア3+の検体では、5件すべてにおいて2～120時間の固定でスコアの変動は認められなかった。

HER2 DISH については、HER2 遺伝子増幅あり5件と増幅なし10件のすべての検体で、2～120時間の固定で染色性に影響は認められなかった。

IV. 考 察

乳癌受容体検査において、セルブロック検体を用いると対照となる組織検体と同等の結果が得られるとの報告が多くある^{6-9,11)}。さらに、ホルマリン固定セルブロック検体はHER2 蛋白免疫染色やHER2 DISH 染色でも組織検体と同様の結果が得られると報告されている^{12,13)}。しかし、固定時間に関する詳細な検討は行われていない。組織検体において、HER2 蛋白は過固定により染色性が低下するという報告が複数あり¹⁴⁾、ASCO/CAPのガイドラインにおいても推奨固定時間が定められている²⁾。一般的に組織検体のホルマリン浸透速度は1mm/時間といわれており、組織片の大きさと固定液の濃度の兼ね合いにより固定に要する時間は異なる^{15,16)}。

ASCO/CAPのガイドラインでは手術検体と生検検体を分けた取り扱い方法の記載はないが²⁾、当院では、手術検体の場合、深部への固定液の浸透が悪く固定不良となるため、免疫染色用にあらかじめ腫瘍の一部を別にとって固定を行っている。

一方、細胞診検体を用いたセルブロック検体では、組織検体よりも細胞個々への浸透が速いため、組織検体と同様の固定時間では過固定になりかねない。したがって、たとえホルマリン固定パラフィン包埋検体であっても細胞診検体を対象とした固定時間の検討が必要と考えた。

今回検討した2～120時間の固定時間では、ER・PgR 免疫染色およびHER2 DISH 染色においては、有意な染色性の低下は認められなかった。しかし、HER2 蛋白免疫染色では、スコア3+の検体では2～120時間で染色性の低下はみられなかったが、スコア1+の検体では、10件中1件で4時間未満のとき、またもう1件で6時間未満のとき染色性が低下した。また、スコア2+の検体は6件中2件で4時間未満のとき、1件で54時間以上のとき染色性が低下した。

以上の結果から、受容体検査を行う場合のASCO/CAPガイドラインの組織検体推奨固定時間は6～72時間であるが²⁾、セルブロック検体の場合は、HER2 蛋白免疫染色の

染色性を考慮して、6～48時間が望ましいと考えられた。

セルブロックの固定時間を6～48時間に定めるにあたって、日常運用の問題点として次にあげる2点がある。第一に、金曜日に採取された検体を週明けの月曜日まで固定すると48時間を超えてしまうことである。第二に、当院で行っているアルギン酸ナトリウム法によりゲル化して作製したセルブロックは、10%中性緩衝ホルマリンに浸漬すると溶解してしまうことである。したがって、金曜日に自動包埋装置を緩衝ホルマリンで遅延する場合、アルギン酸ナトリウム法で作製したセルブロック検体は装置にかけることができないことになる。この2点をどのように解決するかが日常業務では問題となる。

固定時間を守るために、当院では以下に記載するように対応している。金曜日に提出された検体は、直ちに固定を開始し、翌日の土曜日まで固定を行っている。土曜日に病理担当技師が出勤してセルブロックの作製を行い、自動包埋装置がホルマリン槽からアルコール槽に切り換わってから作製したセルブロックを自動包埋装置に追加し、週明けの月曜日にパラフィン包埋ブロックが完成するようにしている。

最後に、セルブロック標本作製の過程においても、また、正確な受容体判定においても、十分な細胞量採取が必要であることを、臨床側に理解していただくことが重要である。細胞量が非常に少ない場合、セルブロックの作製が困難なことがあり、受容体判定が難しいこともあるからである。

V. 結 語

セルブロックを用いた乳癌受容体検査のホルマリン固定時間を検討した。ASCO/CAPのガイドラインでは、組織検体の固定時間を6～72時間としているが²⁾、今回の検討では、6時間未満および48時間を超える場合、HER2 蛋白免疫染色の染色性が低下した検体があった。したがって、セルブロック検体の固定時間は6～48時間が望ましいと考えられた。

著者らは、開示すべき利益相反はありません。

本論文の主旨は第54回日本臨床細胞学会秋期大会にて報告した。

この論文は、独立行政法人国立病院機構運営費交付金（臨床研究事業研究費）H26-NHO（がん一般）-02「細胞診検体を用いた乳癌薬物療法適応決定のための基礎研究」の援助を受けた。

Abstract

Objective : We conducted a study to validate the optimum fixation

time for receptor analysis in breast cancer cell blocks.

Study Design : Cell samples from excised breast cancers were fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin. The fixation time varied between two hours and 120 hours. The following tests were performed : immunostainings for estrogen receptor (ER) (10 samples), progesterone receptor (PgR) (10 samples) and HER2 protein (21 samples), and the HER2 dual *in situ* hybridization (DISH) assay (15 samples). The results of the analysis for hormone receptors were judged by counting the number of positively stained cells per 100 cancer cells. For the HER2 test, we used the criteria described in the ASCO/CAP guideline for preparing the tissue sections.

Results : The results of the analyses for ER and PgR, as well as the results of HER2 DISH, remained stable in the fixation time range of two hours to 120 hours. However, weak results of HER2 protein staining were obtained in three samples that were fixed for less than six hours and one sample that was fixed for more than 48 hours.

Conclusion : The recommended fixation time for receptor analysis on formalin-fixed breast cancer cell blocks is between six hours and 48 hours.

文 献

- Hammond, M. E. H., Hayes, D. F., Dowsett, M., Allred, D. C., Hagerty, K. L., Badve, S., et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 2784-2795.
- Wolff, A. C., Hammond, M. E., Hicks, D. G., Dowsett, M., Mcshane, L. M., Allred, D. C., et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer : American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013 ; 31 : 3997-4013.
- 西村理恵子, 山本珠美, 青儀健二郎, 高島大典, 高嶋成輝, 高橋三奈・ほか. セルブロックを用いた乳癌 HER2 判定の可能性. *乳癌の臨* 2011 ; 26 : 597-601.
- 西村理恵子, 寺本典弘, 山本珠美, 森田佐智子. 穿刺吸引検体におけるセルブロックの有用性. *日臨細胞会誌* 2012 ; 51 : 235-240.
- Angela, S. P. B., Viero, R. M., Soares, C. T. Fine needle aspirate cell blocks are reliable for detection of hormone receptors and HER-2 by immunohistochemistry in breast carcinoma. *Cytopathology* 2013 ; 24 : 26-32.
- Shabaik, A., Lin, G., Peterson, M., Hasteh, F., Tipps, A., Datnow, B., et al. Reliability of Her2/neu, estrogen receptor, and progesterone receptor testing by immunohistochemistry on cell block of FNA and serous effusions from patients with primary and metastatic breast carcinoma. *Diagn Cytopathol* 2011 ; 39 : 328-332.
- Williams, S. L., Birdsong, G. G., Cohen, C., Siddiqui, M. T. Immunohistochemical detection of estrogen and progesterone receptor and HER2 expression in breast carcinomas : comparison of cell block and tissue block preparations. *Int J Clin Exp Pathol* 2009 ; 2 : 476-480.
- Hanley, K. Z., Birdsong, G. G., Cohen, C., Siddiqui, M. T. Immunohistochemical detection of estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 expression in breast carcinomas : comparison on cell block, needle-core, and tissue block preparations. *Cancer* 2009 ; 117 : 279-288.
- Kinsella, M. D., Birdsong, G. G., Siddiqui, M. T., Cohen, C., Hanley, K. Z. Immunohistochemical detection of estrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 in formalin-fixed breast carcinoma cell block preparations : correlation of results to corresponding tissue block (needle core and excision) samples. *Diagn Cytopathol* 2013 ; 41 : 192-198.
- 佐野順司, 吉本尚子, 溝口良順, 齋藤みち子. アルギン酸ナトリウムを用いたセルブロック法の有用性についての検討. *日臨細胞会誌* 2005 ; 44 : 291-297.
- 西村理恵子, 山本珠美, 香川昭博, 森田佐智子, 寺本典弘, 高畑浩之. セルブロックを用いた乳癌ホルモン受容体判定. *日臨細胞会誌* 2012 ; 51 : 323-328.
- Nishimura, R., Okamoto, N., Satou, M., Kojima, K., Tanaka, S., Yamashita, N. Bright-field HER2 dual in situ hybridization (DISH) assay on breast cancer cell blocks : a comparative study with histological sections. *Breast Cancer* 2016 ; 23 : 917-921.
- Nishimura, R., Okamoto, N., Satou, M., Kojima, K., Tanaka, S. HER 2 immunohistochemistry for breast cancer cell blocks can be used in the same way as that used for histological specimens. *Diagn Cytopathol* 2016 ; 44 : 274-279.
- Yamashita-Kashima, Y., Shu, S., Yoroze, K., Hashizume, K., Moriya, Y., Fujimoto-Ouchi, K. Importance of formalin fixing conditions for HER2 testing in gastric cancer : immunohistochemical staining and fluorescence in situ hybridization. *Gastric Cancer* 2014 ; 17 : 638-647.
- Oyama, T., Ishikawa, Y., Hayashi, M., Arihiro, K., Horiguchi, J. The effects of fixation, processing and evaluation criteria on immunohistochemical detection of hormone receptors in breast cancer. *Breast Cancer* 2007 ; 14 : 182-188.
- Lee, A. H., Key, H. P., Bell, J. A., Kumah, P., Hodi, Z., Ellis, I. O. The effect of delay in fixation on HER2 expression in invasive carcinoma of the breast assessed with immunohistochemistry and in situ hybridisation. *J Clin Pathol* 2014 ; 67 : 573-575.

原 著

子宮頸がん集団検診における ASC-H 判定の広がりと問題点 ——前期, 後期 3 年間の変化から——

森村 豊^{1,2)} 佐藤 奈美¹⁾ 荒木由佳理¹⁾ 栗田和香子¹⁾
佐藤美賀子¹⁾ 神尾 淳子¹⁾ 野村 真司³⁾ 添田 周³⁾
渡辺 尚文³⁾ 藤森 敬也³⁾

(公財) 福島県保健衛生協会¹⁾, 羽生総合病院婦人科²⁾, 福島県立医科大学医学部産科婦人科学講座³⁾

目的: TBS 導入直後とその後で ASC-H 判定状況の経時的変化を調べ, ASC-H 判定数が増加し, ASC-H の概念がいかに普及したかを明らかにした。

方法: 子宮頸がん集団検診へのベセスダ方式導入後の前期 2009~11 年と後期 2012~14 年で, ASC-H 判定の頻度を比較した。ASC-H 症例のその後の組織診での CIN の検出率を比較した。

成績: 検診受診者に対する ASC-H の頻度は, 前期 0.02%, 後期 0.08% と増加し, 細胞診異常に占める割合も 2.9% から 8.5% に増加した。ASC-H 判定例の $\geq$ CIN2 の検出率は, 前期 77.3%, 後期 60.1% で低下傾向がみられ, $\geq$ CIN3 は前期 60.0%, 後期 35.0% と有意に低下した。

結論: ベセスダ導入当初 3 年間は, ASC-H 判定数は少なかったが, その後の 3 年で ASC-H の概念が普及し判定数は増加した。一方, 偽陽性例が増加し, $\geq$ CIN3 への陽性反応的中率は低下した。ASC-H の乱用を避け, 適正な運用が望まれる。

Key words : Atypical squamous cells cannot exclude high grade squamous lesion (ASC-H), Transition of first and second 3-year, Frequency of ASC-H, Positive predictive value for CIN

I. はじめに

ベセスダ方式 (The Bethesda System, TBS) は, 子宮頸部細胞診の報告様式として提唱された¹⁾。2001 年改訂で「高度扁平上皮内病変を否定できない異型扁平上皮細胞, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade intraepithelial lesion, ASC-H」という概念が登場した²⁾。わが国でも 2010 年よりベセスダ準拠報告様式が採用され, ASC-H という用語が使われるようになった。ASC-H は high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) と断定できる所見には欠ける異型扁平上皮細胞症例である cervical intraepithelial neoplasm (CIN) 2 以上の病変が 48~52% 検出され^{3,4)}, すみやかにコルポスコプ検査を行うことが推奨されている⁵⁾。

当施設でも TBS 導入当初は, 細胞検査士や専門医にも

Problem of spread of ASC-H diagnosis ——Transition between an earlier and later and 3-year periods following introduction of The Bethesda System——

Yutaka MORIMURA^{1,2)}, M. D., Nami SATOH¹⁾, C. T., I. A. C., Yukari ARAKI¹⁾, C. T., I. A. C., Wakako KURITA¹⁾, C. T., I. A. C., Mikako SATOH¹⁾, C. T., I. A. C., Junko KAMIO¹⁾, C. T., I. A. C., Shinji NOMURA³⁾, M. D., Shu SOEDA³⁾, M. D., Takafumi WATANABE³⁾, M. D., Keiya FUJIMORI³⁾, M. D.

¹⁾Fukushima Preservation Service Association of Health

²⁾Department of Gynecology, Hanyu General Hospital

³⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Fukushima Medical University School of Medicine

論文別刷請求先 〒 348-8505 埼玉県羽生市上岩瀬 551 羽生総合病院婦人科 森村 豊

平成 29 年 2 月 24 日受付

平成 29 年 10 月 18 日受理

ASC-H の概念が十分に浸透せず, ASC-H 判定例は少数であった. TBS 導入から数年が経過し, ASC-H の概念が普及して判定頻度が増加したのか, また ASC-H の CIN2 以上の病変 ($\geq$ CIN2) に対する検出率ほどの程度かなどの疑問が生じた. 今回, TBS 導入当初の 3 年と, その後の 3 年で ASC-H 判定の頻度や, $\geq$ CIN2, $\geq$ CIN3 に対する陽性反応的中率を比較することで, ASC-H の概念がいかに浸透したか明らかにした.

II. 対象と方法

福島県保健衛生協会では, 福島県内全市町村の委託を受け, 県内の子宮頸がん集団検診の検体を収集, 判定している. 要精検例については, atypical squamous cells undetermined significance (ASC-US) で human papillomavirus (HPV) 検査陽性例や ASC-H, squamous intraepithelial lesion (SIL), malignant 例では原則としてコルポスコプ下生検を行っている. 組織検体は当協会病理課に送付のうえで病理医が判定し, 細胞診専門医, 婦人科腫瘍専門医が, 治療や経過観察の指針の決定を行い, 精検受診者の経過や転帰を追跡している. なお, 子宮頸がん集団検診の検体は, 従来法による直接塗抹で 95%メタノール固定し, パパニコロウ染色を行っている. 検鏡は 12 名の細胞検査士と 5 名の細胞診専門医で婦人科腫瘍専門医が従事し, 判定している.

福島県では 2009 年より子宮頸がん集団検診に TBS による報告様式を採用した. 初回精検時にコルポスコプ下組織診で, CIN3 以上の病変が検出されれば要治療, それ未満の病変であれば 3~6 ヶ月ごとに細胞診, 適宜組織診を行い, 経過観察している. 細胞診で negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM) が 2 回連続した場合は経過観察を終了している.

当施設で TBS を導入した 2009 年から, 検診結果とその後の追跡結果が判明している 2014 年までを, 2009~2011 年度の前期 3 年間とその後の 2012~2014 年度の後期 3 年間に分けて, ASC-H の判定状況を調査した. 全受診者中の ASC-H の頻度, 細胞診異常例に占める ASC-H の割合, ASC-H 例の年齢構成を比較した.

さらに, ASC-H 例の精検における組織診の結果を調査し, ASC-H 判定の CIN に対する陽性反応的中率を前後期で比較した.

前後期の比較には χ^2 検定を用い, 危険率 0.05 をもって有意差ありと判断した.

なお, 本研究は, 個人情報情報の漏洩のないように留意し, 福島県保健衛生協会の倫理委員会の承認を得て行った.

III. 結 果

前期 3 年の子宮頸がん集団検診受診者数は, 延べ 236121 人で要精検者は 1661 人, 要精検率は 0.70%であった. その内訳は, ASC-US が 309 例 (18.6%), ASC-H が 48 例 (2.9%), LSIL が 750 例 (45.2%), HSIL が 431 例 (25.9%), squamous cell carcinoma (SCC) が 32 例 (1.9%), AGC が 62 例 (3.7%), AIS が 1 例 (0.1%), adenocarcinoma が 26 例 (1.6%), Other が 2 例 (0.1%) であった. 一方, 後期 3 年では, 受診者数は, 延べ 221143 人で要精検者は 2035 人, 要精検率は 0.92%であった. その内訳は, ASC-US が 341 例 (16.8%), ASC-H が 172 例 (8.5%), LSIL が 888 例 (43.6%), HSIL が 482 例 (23.7%), SCC が 30 例 (1.5%), AGC が 93 例 (4.6%), AIS が 6 例 (0.3%), adenocarcinoma が 21 例 (1.0%), Other が 2 例 (0.01%) であった.

Table 1 に前後期 3 年の ASC-H の例数, 頻度と細胞診異常判定の数, ASC-H の年齢構成を示す. 前期 3 年の ASC-H 判定数は 48 例, 全受診者中 0.02%であったが, 後期 3 年では ASC-H 判定数は 172 例, 全受診者中 0.07%と有意に増加していた ($p < 0.0001$).

細胞診異常例に占める ASC-H の割合は, 前期 3 年が 2.9%に比して, 後期 3 年では 8.5%と有意に増加していた ($p < 0.0001$). ASC-US や LSIL, HSIL, SCC 等の他の細胞診異常判定の割合は前期と後期で有意の増減はみられなかった ($p = 0.1126 \sim 0.8387$).

ASC-H 例の年齢構成は, 前期 3 年では 20~29 歳が 9 例 (18.8%), 30~39 歳が 25 例 (52.1%), 40~49 歳が 8 例 (16.7%), 50~59 歳が 3 例 (6.3%), 60 歳以上が 3 例 (6.3%) であった. 後期 3 年では, 20~29 歳が 24 例 (14.0%), 30~39 歳が 82 例 (47.7%), 40~49 歳が 37 例 (21.5%), 50~59 歳が 15 例 (8.7%), 60 歳以上が 14 例 (8.1%) であった. 前後期とも 20~39 歳が 70.8%と 61.6%多くを占めたが, 前後期 3 年で年齢構成に関する差はみられなかった ($p = 0.4106 \sim 0.6647$).

ASC-H と判定された症例では, 未熟化生との鑑別が困難な例 (Photo. 1), 萎縮との鑑別が困難な例 (Photo. 2), SIL 由来と考えられる細胞がみられるが, 出現数が少なく断定できなかった例 (Photo. 3) などがみられた.

コルポスコプ下生検が行われた ASC-H 症例についてその結果を Table 2 上段に示した. 前期 3 年の ASC-H 48 例では, 反応性病変が 7 例 (15.6%), CIN1 が 5 例 (11.1%), CIN2 が 6 例 (13.3%), CIN3 が 23 例 (51.1%), 浸潤癌が 4 例 (8.9%) に検出された. $\geq$ CIN2 は 33 例で, 陽性反応的中率は 73.3%であった. $\geq$ CIN3 は 27 例で陽性反応的中

Table 1 Comparisons of ASC-H between in the earlier and later 3-year periods

	Earlier 2009~2011	Later 2012~2014	p-value
No. of screened participants	236121	221143	—
No. (%) of patients with abnormal cytology	1,661 (0.70%)	2,035 (0.92%)	—
No. of ASC-H	48	172	—
Proportion of screened participants with ASC-H	0.02%	0.08%	<0.0001
No. (%) and cytologic diagnosis	No. (%)	No. (%)	
ASC-US	309 (18.6%)	341 (16.8%)	0.1443
ASC-H	48 (2.9%)	172 (8.5%)	<0.0001
LSIL	750 (45.2%)	888 (43.6%)	0.3557
HSIL	431 (25.9%)	482 (23.7%)	0.1126
SCC	32 (1.9%)	30 (1.5%)	0.2865
AGC	62 (3.7%)	93 (4.6%)	0.2065
AIS, Adeno.	27 (1.6%)	27 (1.3%)	0.4515
Other	2 (0.01%)	2 (0.01%)	0.8387
Age (in yr) of patients with ASC-H	No. (%)	No. (%)	
20~29	9 (18.8%)	24 (14.0%)	0.4106
30~39	25 (52.1%)	82 (47.7%)	0.5889
40~49	8 (16.7%)	37 (21.5%)	0.4619
50~59	3 (6.3%)	15 (8.7%)	0.5808
60~	3 (6.3%)	14 (8.1%)	0.6647

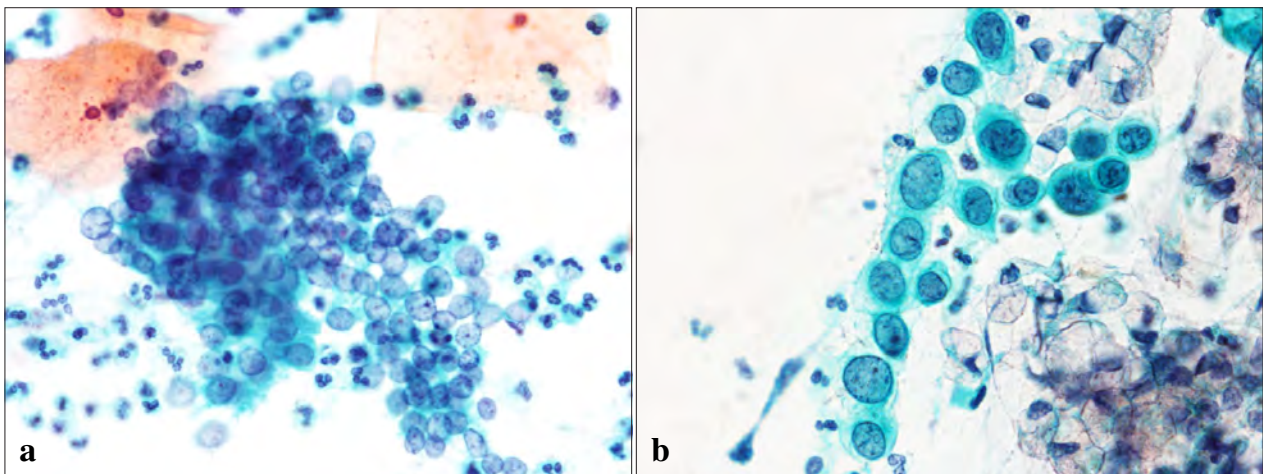


Photo. 1 A sheet-like or solitary arrangement of round cells with high N/C ratios and dense cytoplasm. The nuclei are hyperchromatic, with finely granular chromatin. Atypical cells were confusable with immature squamous metaplastic cells (Conventional method, Pap. staining, a, $\times 20$ & b, $\times 40$).

率は60.0%であった。後期3年間の172例で組織診が行われた163例では、反応性病変が37例(22.7%), CIN1が28例(17.1%), CIN2が41例(25.2%), CIN3が50例(30.7%), 浸潤癌が7例(4.3%)に検出された。≥CIN2は98例で陽性反応的中率は60.1%であった。≥CIN3は57例で陽性反応的中率35.0%であった。前後3年間を比較すると、≥CIN2では後期3年で、有意差はなかったが陽性反応的中率が低下する傾向がみられ($p=0.2789$), ≥CIN3陽性反応的

中率は後期3年が前期3年に比して有意に低下していた($p=0.0024$)。

また、検診受診者全体からASC-H判定を機に発見された病変の割合をTable 2下段に示す。前期3年でCIN1が0.002%, CIN2が0.003%, CIN3が0.009%, 浸潤癌が0.002%であった。≥CIN2は0.014%, ≥CIN3は0.011%であった。後期3年では、CIN1が0.012%, CIN2が0.019%, CIN3が0.023%, 浸潤癌が0.003%であった。≥CIN2は0.044%,

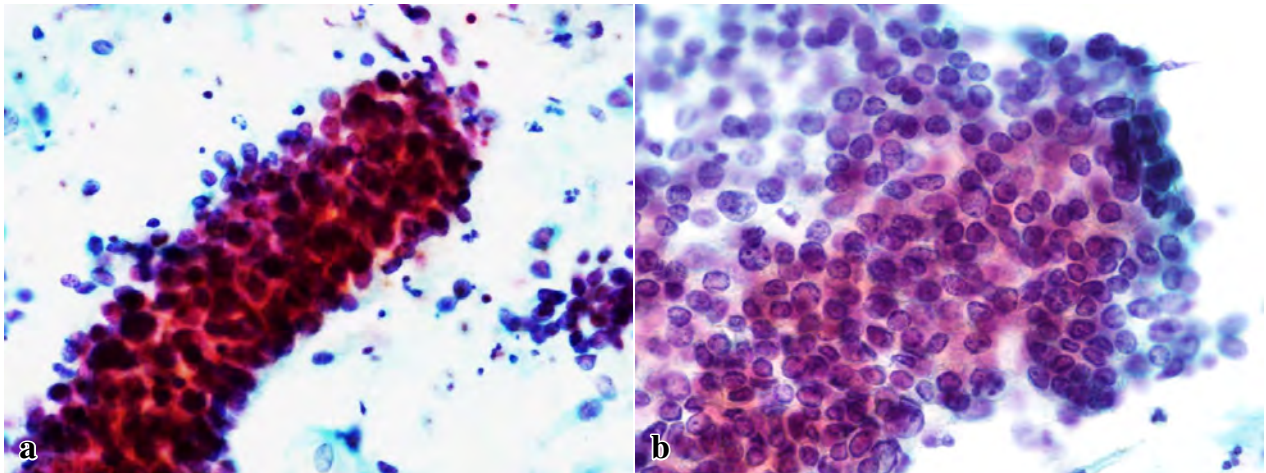


Photo. 2 Syncytial-like aggregation of small cells showing dense cellularity and hyperchromatism. Atypical cells were confusable with senile atrophic cells (Conventional method, Pap. staining, a, $\times 10$ & b, $\times 20$).

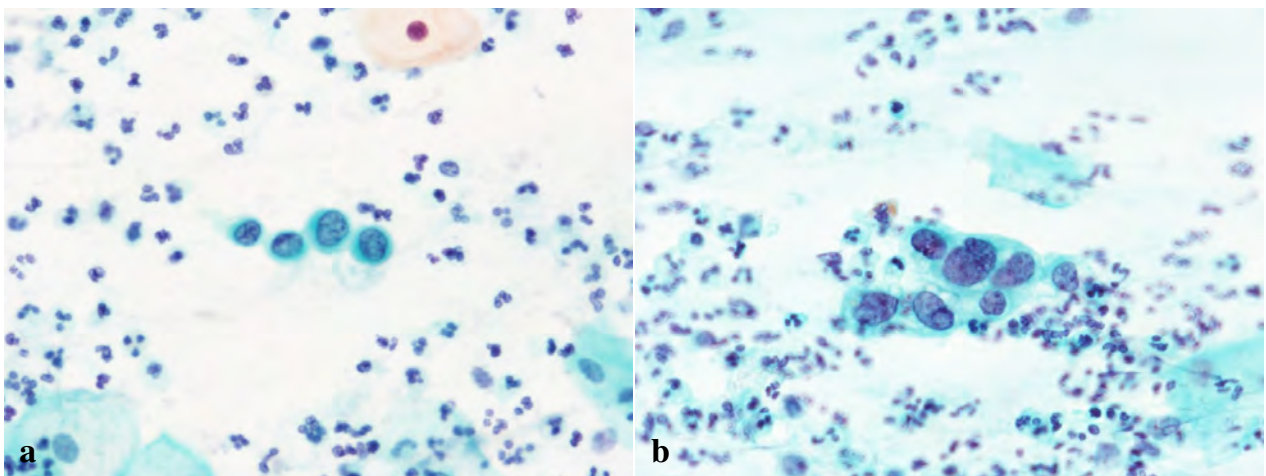


Photo. 3 Small number of single cells revealing high N/C ratios and coarsely granular chromatin, suggestive of HSIL (Conventional method, Pap. staining, a, $\times 20$ & b, $\times 40$).

$\geq$ CIN3 は 0.026% であった。検診受診者全体における ASC-H からの $\geq$ CIN2 の発見率は前期 3 年よりも後期 3 年が有意に増加していた ($p < 0.0001$)。 $\geq$ CIN3 の発見率も前期 3 年より後期 3 年が有意に増加していた ($p = 0.0003$)。

IV. 考 察

2001 年の TBS の改定で ASC-H の用語が採択された。主に小型円形細胞が、単独や小集塊状、時には結合状集塊として出現する。その核は N/C 比が高く、円形でやや不整、濃染しクロマチンがわずかに粗大化している。このような細胞は、未熟な化生細胞と HSIL 由来の深層系異型扁平上皮との鑑別に困難を伴う⁶⁾。以前は atypical metaplastic cells, atypical immature metaplastic cells, low grade squamous intraepithelial lesion-high (LSIL-H) などの用語が用

いられ混乱していたが、2001 年の TBS 改定で HSIL を除外できない異型扁平上皮として ASC-H という用語に統一された²⁾。ASC-H から $\geq$ CIN2 が 48~52% に検出されるという報告もある^{3,4)}。

当施設でも 2009 年から TBS を導入したが、当初は ASC-H の概念が十分に浸透しておらず、ASC-H と判定する例が少なく、3 年間で全検診者の 0.02% にとどまった。 $\geq$ CIN2 に対する陽性反応的中率も十分に把握されていなかった。TBS 導入後 6 年が経過し、いかに ASC-H の概念が浸透し判定数が増加したか、陽性反応的中率は向上したかななどの疑問が生じた。そこで、導入当初の 3 年間とその後の 3 年間の判定状況を比較し、最近の ASC-H 運用が適切か検討した。

ASC-H の頻度については、0.13~0.2% の報告が多い^{3,7)}。Louro ら⁴⁾の 0.8% など高い頻度の報告もあり、施設間の診

Table 2 Histologic examination results in patients with ASC-H diagnosis

	Earlier 2009~2011	Later 2012~2014	p-value
Histologic examination results (Frequency in cases with abnormal cytology)			
Reactive	7 (15.6%)	37 (22.7%)	0.2989
CIN1	5 (11.1%)	28 (17.2%)	0.3241
CIN2	6 (13.3%)	41 (25.2%)	0.0933
CIN3	23 (51.1%)	50 (30.7%)	0.0110
Malignant	4 (8.9%)	7 (4.2%)	0.2228
≥CIN2	33 (77.3%)	98 (60.1%)	0.2789
≥CIN3	27 (60.0%)	57 (35.0%)	0.0024
Histologic results (Frequency in the screened participants)			
Reactive	7 (0.002%)	37 (0.017%)	—
CIN1	5 (0.002%)	28 (0.012%)	<0.0001
CIN2	6 (0.003%)	41 (0.019%)	<0.0001
CIN3	23 (0.009%)	50 (0.023%)	0.0006
Malignant	4 (0.002%)	7 (0.003%)	0.3107
≥CIN2	33 (0.014%)	98 (0.044%)	<0.0001
≥CIN3	27 (0.011%)	57 (0.026%)	0.0003

断基準の格差が存在する可能性がある。当施設では、TBS導入当初3年間では0.02%、その後の3年間では0.08%で、後期3年が前期3年に比して有意に増加した($p<0.0001$)。前期3年では、TBS導入当初でASC-Hという概念が十分に普及しておらず、HSILと判定するほどの異型に乏しく、判定に難渋する例が、炎症や萎縮性変化としてNILMと判定され、ASC-Hと判定されることが少なかったと考えられる。TBS導入から3年を経てASC-Hの概念が普及し、境界領域の症例をASC-Hと判定することが多くなり、後期3年でのASC-H例が増加したと考えられる。

細胞診異常例に占めるASC-Hの割合も2.9%から8.5%へ有意に増加していた($p<0.0001$)。細胞診異常に占めるASC-USやSILの割合が、後期でも前期に比して増加していないのに対して、ASC-Hのみが増加していたことは、前述のように前期ではNILMと判定されていた境界領域の症例が後期ではASC-Hと判定され、ASC-H例が増加したと考えられる。

ASC-Hの精検での $\geq$ CIN2の検出率は、22~35%とする報告や^{7~9)}や46~57%^{3,10,11)}とやや高い報告もある。わが国では、 $\geq$ CIN2が、検診が主体の施設でも40~73%^{12~14)}等の報告がある。当施設では、 $\geq$ CIN2は前期3年で77.3%、後期3年は60.1%で、高い陽性反応的中率の施設と同様の陽性反応的中率を示した。また、 $\geq$ CIN3は前期3年で60.0%、後期3年で35.0%であった。問題は、前期3年に

比して後期3年の陽性反応的中率が低下していることである。この理由は、炎症や萎縮に伴う異型で本来はNILMと判定されるべき症例もASC-Hと診断されたことによると考えられる。このような精検は不必要であった過剰診断のASC-H判定が後期3年に増加したことで陽性反応的中率が低下したと考えられる。従来の報告ではワンポイントでのASC-HのCINに対する陽性反応的中率の報告が主で、本研究のように経時的な変化を把握することで問題点が明らかとなった。今後は、十分に細胞所見を把握することで、未熟化生や萎縮例を異型扁平上皮と鑑別し、NILMとすることで過剰診断を防ぎ、ASC-H判定例を適切な割合にする必要がある。

TBS導入から6年が経過し、導入当初の3年では少なかったASC-H判定が、その後3年では増加した。このことで検診受診者全体からの $\geq$ CIN2病変の発見数は増加し、感度は上昇したと考えられる。しかし、 $\geq$ CIN2に対する陽性反応的中率が低下し、精検が不要であった症例の精検実施例が増加している。その要因として、後期3年ではそれ以前は炎症や萎縮としてNILMに判定された境界域の症例がASC-Hと判定されるようになったためと考えられる。異型細胞のASC-Hとしての解釈、判定の困難さを表している。今後は、過剰、過少診断を減少させ、適切なASC-H判定の適用を心掛けることが肝要である。さらに各施設でのASC-H判定の精度を検証し、多くの施設でのデータを集積

することで, ASC-H 判定が適切に運用されることが望まれる。

筆者らは, 開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

Objective : To clarify of current status of “A typical squamous cells, cannot exclude high-grade intraepithelial lesion” (ASC-H), we assessed the temporal changes of status in patients with the cytological findings of ASC-H.

Study Design : We compared the frequency, age distribution, cytologic features and subsequent histological results in patients with ASC-H between the earlier 3-year period of 2009-11 and the later 3-year period of 2012-14.

Results : In the earlier 3-year period, 48 out of 236121 participants of mass screening for uterine cervical cancer (0.02%) were categorized as having ASC-H, while in the later 3-year period, 172 out of 221143 participants (0.08%) were categorized as having ASC-H : the percentage being significantly higher in the later 3-year period. Among the cases with ASC-H, cervical biopsy revealed CIN2 or higher grade ($\geq$ CIN2) lesions in 33 cases (77.3%) in the earlier 3-year period and in 98 cases (60.1%) in the later 3-year period ; furthermore, CIN3 or higher grade ($\geq$ CIN3) lesions were found in 27 cases (60.0%) in the earlier 3-year period and in 57 cases (35.0%) in the later 3-year period. The positive predictive value of ASC-H for $\geq$ CIN2 lesions tended to be slightly lower in later 3-year period than that in the earlier 3-year period. The positive predictive value of ASC-H for $\geq$ CIN3 lesions was significantly lower in the later 3-year period than that in the earlier 3-year period.

Conclusion : The incidence of ASC-H in the later 3-year period was higher than that in the earlier 3-year period, presumably as a familiarity of the concept of ASC-H. Increase in the diagnosis rate of ASC-H could be the reason for the decrease of its positive predictive value for HSIL during the later 3-year period. Efforts are needed for appropriate application for ASC-H.

文 献

- 1) Kurman, R. J., Solomon, D. The Bethesda System for Cervical/Vaginal Cytologic Diagnosis. New York : Splinger-Verlag ; 1994.
- 2) Solomon, D., Davey, D. D., Kurman, R. J., Moriarty, A., O'Connor, D., Pretz, M., et al. The 2001 Bethesda system : terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA 2002 ; 287 : 2114-2119.
- 3) Selvaggi, S. M. Reporting of atypical squamous cells, cannot

exclude a high-grade squamous intraepithelial lesions (ASC-H) on cervical samples. Is it significant? Diagn Cytopathol 2003 ; 29 : 38-41.

- 4) Louro, A. P., Roberson, J., Eltoum, A., Chhieeng, D. C. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions. A follow-up study of conventional and liquid-based preparations in a high-risk population. Am J Clin Pathol 2003 ; 120 : 392-397.
- 5) Wright, T. C. Jr., Cox, J. T., Massad, L. S., Twigg, L. B., Wilkinson, E. J. Consensus guideline for the management of women with cervical cytological abnormalities. JAMM 2002 ; 287 : 2120-2129.
- 6) Sherman, M. E., Abdul-Karim, F. W., Berek, J. S., Powers, C. N., Sidwy, M. K., Tabbara, S. O. Atypical squamous cells In The Bethesda System for reporting cervical cytology, 2nd ed. New York : Springer-Verlag ; 2004 : 67-87.
- 7) Liman, A. K., Giampoli, E. J., Bonfiglio, T. A. Should women with atypical squamous cells, cannot exclude high-grade intraepithelial lesion. Reactive reflex human papillomavirus-DNA testing? Cancer 2005 ; 105 : 457-460.
- 8) Srodon, M., Diworth, P. H., Rpnnet, B. M. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade intraepithelial lesions. Diagnostic performance. Human papillomavirus testing and follow up results. Cancer 2006 ; 108 : 32-38.
- 9) Simsir, A., Ioffe, O., Sun, P., Elgert, P., Cangiarella, J., Cragiorell, J., et al. Effect of Bethesda 2001 on reporting of atypical squamous cells (ASC) with special emphasis on atypical squamous cells-cannot rule out high grade (ASC-H). Diagn Cytopathol 2006 ; 34 : 62-66.
- 10) Wu, H. H., Allen, S. L., Kirlpartrick, J., Els Sheikh, T. M. Reflex high-risk human papillomavirus DNA test is useful in the triage of women with atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion. Diagn Cytopathol 2006 ; 34 : 707-710.
- 11) Zhang, S., Kelly, B., Hospodar, E., Thibodeaux, J., Thomas, J., Abero, F. The value of duplicate slides on atypical squamous cells, cannot exclude high-grade intraepithelial lesion. Diagn Cytopathol 2012 ; 40 : 14-18.
- 12) 加勢宏明, 井上清香, 鈴木久美子, 五十嵐俊彦. 子宮頸部細胞診ASC-H判定症例の検討. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 : 535-539.
- 13) 北村美寿穂, 泉田佳緒里, 小瀬木輪子, 石井恵理, 佐藤英章, 若木邦彦・ほか. 総合病院4施設におけるASC-H判定の現状と問題点. 日臨細胞会誌 2016 ; 55 : 195-200.
- 14) 船津靖亮, 鈴木君義, 佐藤英章, 清水道生, 五十嵐清子, 木村洋三・ほか. 登録衛生検査所3社におけるASC-H判定の現状と課題. 日臨細胞会誌 2016 ; 55 : 201-205.

症 例

回盲部子宮内膜症の1例

船津 靖亮¹⁾ 宮崎 稚菜¹⁾ 大久保昭治¹⁾ 鈴木 君義¹⁾丸山 正統²⁾ 佐藤 英章³⁾ 清水 道生⁴⁾正和ラボラトリー¹⁾, 丸山記念総合病院婦人科²⁾, 済生会川口総合病院病理診断科³⁾,
博慈会記念総合病院病理診断センター⁴⁾

背景：今回われわれは，術中迅速細胞診断で診断しえた回盲部子宮内膜症を経験したので報告する。

症例：32歳，女性，未婚未産。心窩部痛を主訴とし近医を受診，腸閉塞が疑われ当院紹介となった。

子宮内膜症で右側卵巣切除歴があり，月経に伴い腸閉塞症状が悪化していたために，腸管子宮内膜症による癒着性腸閉塞が疑われ回盲部切除術が施行された。

術中，回盲部に粘膜下腫瘍を認めたため，迅速細胞診断として穿刺吸引細胞診を施行した。穿刺吸引細胞診中では，孤立散在性の間質と凝集状の間質を背景に内膜腺類似細胞の集塊を認めた。一部では化生性の変化がみられたが，構造異型や細胞異型は認められなかった。組織所見では，粘膜下，筋層内，漿膜下組織内に内膜腺上皮と間質からなる島状組織が認められ，回盲部子宮内膜症と考えられた。免疫組織化学所見は，内膜腺部分でER（+），PgR（+），CK7（+），CK20（-），内膜間質部分ではCD10（+）であり，回盲部子宮内膜症と診断された。

結論：回盲部子宮内膜症の1例を経験した。子宮内膜症はさまざまな臓器で発生するため，病歴などを考慮し，詳細なスクリーニングを行うことが重要である。

Key words : Ileocecal endometriosis, Intestinal obstruction, Aspiration cytology

I. はじめに

子宮内膜症は子宮内膜あるいは子宮内膜類似組織が子宮内膜以外の部位に認められる病態であり，これが腸管に及んだものを腸管子宮内膜症という。腸管子宮内膜症は全子

宮内膜症患者の12~37%で認められると報告され¹⁾，一般的に重篤化すると腸閉塞や下血などをきたすことが知られている。好発部位はS状結腸から直腸であり回盲部は3.8%以下と比較的まれとされている²⁾。また，画像診断上，悪性腫瘍や炎症性疾患と鑑別を要する。

今回われわれは，術中迅速細胞診断で診断しえた回盲部子宮内膜症を経験したので報告する。

II. 症 例

32歳，女性，未婚未産。心窩部痛を主訴とし近医受診，腸閉塞が疑われ当院紹介となった。既往歴は，子宮内膜症のため右側卵巣切除術を施行していた。

CT画像診断では，小腸の拡張が目立ち，腸閉塞として矛盾しない所見であった。造影後では，骨盤内に4.5×3.5 cm大の境界不明瞭な腫瘍の内部に，不均一で淡い増強所見がみられた。また，腸管周囲では浸潤様に発育する所見

A case of ileocecal endometriosis

Yasuaki FUNATSU¹⁾, C. T., I. A. C., Wakana MIYAZAKI¹⁾, C. T., I. A. C., Shoji OKUBO¹⁾, C. T., I. A. C., Kimiyoshi SUZUKI¹⁾, C. T., I. A. C., Masanori MARUYAMA²⁾, M. D., Hideaki SATOH³⁾, M. D., M. I. A. C., Michio SHIMIZU⁴⁾, M. D., F. I. A. C.

¹⁾Seiwa Laboratory CO., LTD.

²⁾Department of Gynecology, Maruyama Memorial General Hospital

³⁾Department of Pathology, Saiseikai Kawaguchi General Hospital

⁴⁾Diagnostic Pathology Center, Hakujuikai Memorial Hospital

論文印刷請求先 〒339-0057 さいたま市岩槻区本町2の10の24
株式会社正和ラボラトリー 船津靖亮

平成29年3月23日受付

平成29年11月8日受理

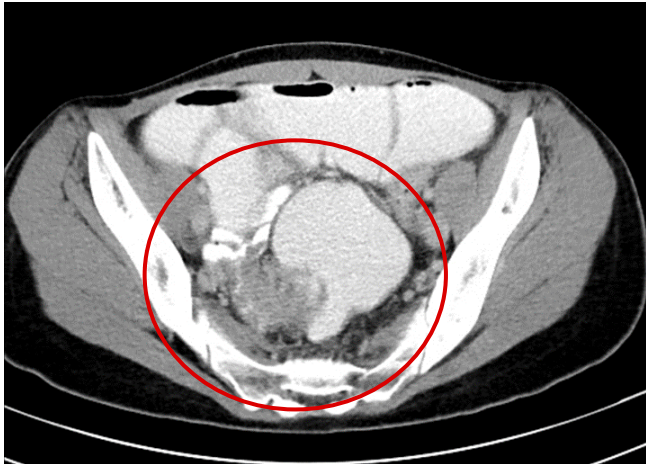


Photo. 1 Contrast-enhanced CT reveals a pale enhancing tumor.

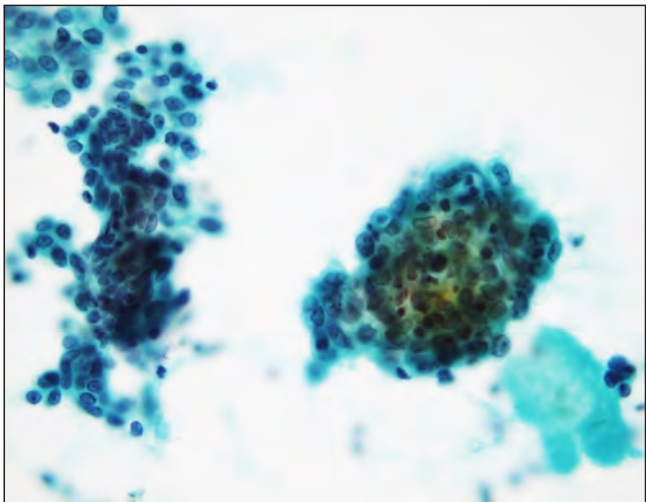
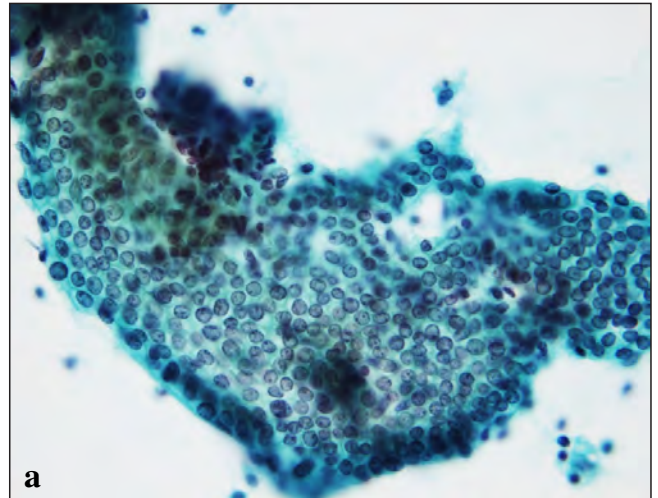
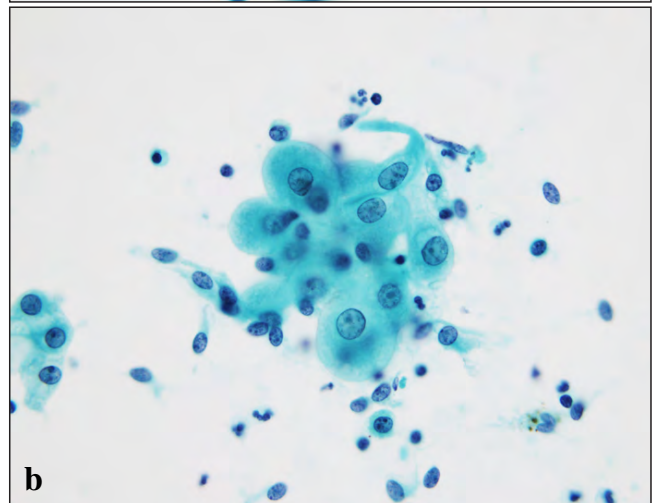


Photo. 2 Stromal cell clusters are seen in the background (Pap. staining, $\times 40$).



a



b

Photo. 3 a : Non-neoplastic endometrial cells arranged in sheets (Pap. staining, $\times 40$). b : Metaplastic endometrial cells are observed (Pap. staining, $\times 40$).

も認められたため、内膜症や内膜症から続発した悪性腫瘍の可能性も否定できなかった (Photo. 1)。

子宮内膜症で右側卵巣切除歴があり、月経に伴い腸閉塞様症状が出現し悪化していたこれらの所見から、腸管子宮内膜症による癒着性腸閉塞が疑われ回盲部切除術が施行された。

術中摘出材料では、回盲部に出血を伴う約 5 cm 大の粘膜下腫瘍がみられた。迅速細胞診断での悪性腫瘍の否定、内膜症の推定のために穿刺吸引細胞診が施行された。

III. 細胞所見

孤立散在性に出現する間質細胞と凝集状の間質細胞を背景に (Photo. 2) 子宮内膜類似細胞を集塊状に認めた (Photo. 3a)。一部では、化生性の変化を有した細胞 (Photo. 3b) が

みられたが上皮細胞はシート状が主体で、構造異型や細胞異型はみられなかった。以上より子宮内膜症が示唆された。

IV. 肉眼および組織所見

肉眼的に回盲部では、 $4.5 \times 4.5 \times 2.5$ cm 大の粘膜下腫瘍を認め、粘膜表面には点状出血がみられた (Photo. 4)。これらの腫瘍部分では、粘膜下、筋層内、漿膜下組織内に内膜腺上皮と間質からなる島状組織が認められ、回盲部子宮内膜症が考えられた (Photo. 5)。免疫組織化学所見は、内膜腺部分で ER (+), PgR (+), CK7 (+), CK20 (-), 内膜間質部分では CD10 (+) であり (Photo. 6)、回盲部子宮内膜症と診断された。

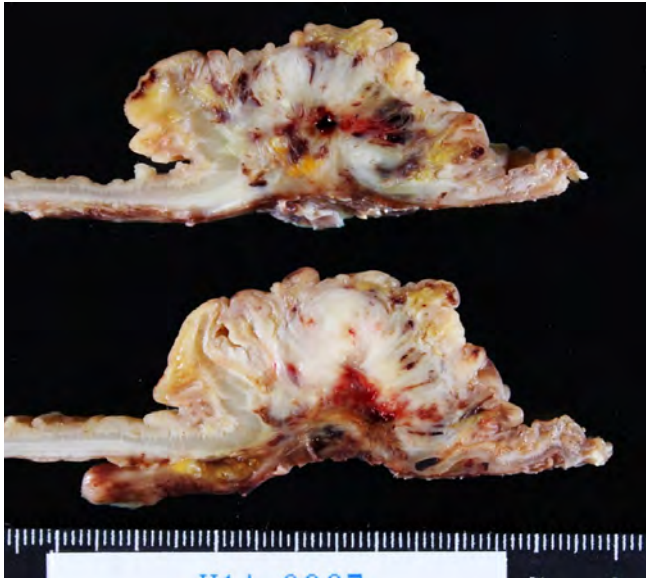


Photo. 4 Macroscopic findings. The cut-section of the submucosal tumor reveals petechial hemorrhages.

V. 考 察

子宮内膜症は子宮内膜組織や間質組織が異所性に増殖する非腫瘍性疾患で、発生部位は common site, less common site, rare site の3つに分類され、後2者の病変を稀少部位子宮内膜症とよぶ^{3,4)}。稀少部位子宮内膜症の一つである腸管子宮内膜症は、全子宮内膜症患者の12~37%で認められるといわれており¹⁾その好発部位はS状結腸・直腸で85%と最も多く、小腸が7%、盲腸は3.6%と比較的まれである²⁾。

発生機序としては、月経血が経卵管的に腹腔内に流入し体腔内に移植する卵管移植説、胎生期の体腔上皮が化生する体腔上皮化生説、リンパ管経路で移植する転移性移植説などさまざまな説が提唱されているが、いまだ結論には至っていない^{5,6)}。

腸管子宮内膜症の症状は、特異的なものは少なく、その発生部位によって腹痛、便秘、下痢、血便などの症状がみられる。また、回盲部子宮内膜症では、腹痛、嘔吐と腸閉塞症状が多いとされている。松隈らは症状発症時期の約47%が月経に一致していたと報告しており⁷⁾、月経との関係についての問診が重要である。

本例も腸閉塞症状を発症し、月経に随伴し増悪を繰り返していたことや、卵巣内膜症の治療歴があったことから回盲部子宮内膜症が疑われた。腸管子宮内膜症では、一般的に粘膜面に所見がみられず、内視鏡生検での検出率は10%未満と低く^{8,9)}、画像診断をあわせても21~37%と術前診

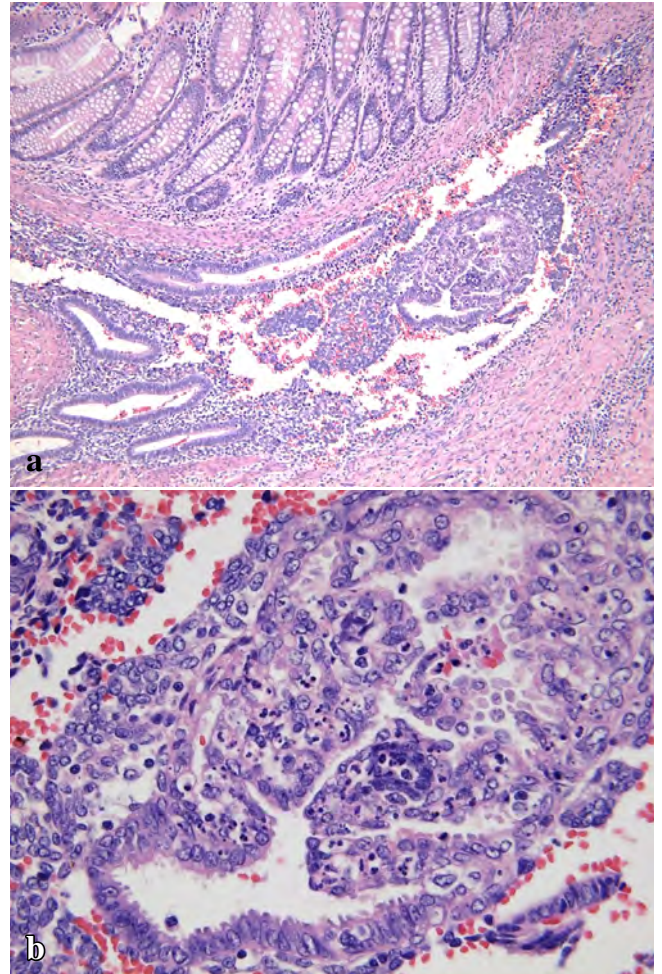


Photo. 5 Microscopic findings. Endometrial glands and stromal cells are observed in the submucosa (a: HE staining, $\times 10$). No atypia is noted in the endometrial glands (b: HE staining, $\times 40$).

断は容易ではない場合が多い^{10,11)}。このことから子宮内膜症の診断には臨床情報が重要と考えられる。

子宮内膜症では、癌化の報告は、1%以下と少なく、卵巣子宮内膜症での頻度が高い¹²⁾が腸管子宮内膜症から発生する悪性腫瘍 endometriosis associated intestinal tumor (以下 EAIT) の報告もみられるため術式の選択には術中迅速細胞診断や迅速病理診断は重要といえる。

本例においても画像診断や術中肉眼所見で EAIT などの悪性腫瘍が否定できず迅速細胞診断が施行された。子宮内膜症と正しく診断することで過度の侵襲が避けられたことに迅速診断の意義があるといえる。

子宮内膜症はさまざまな臓器で発生し通常ではみられない部位に腺細胞が出現するために、転移性腫瘍や EAIT との鑑別に苦慮することも少なくない。しかし、細胞像は異型性のない内膜腺上皮細胞、間質細胞が主体であり核異

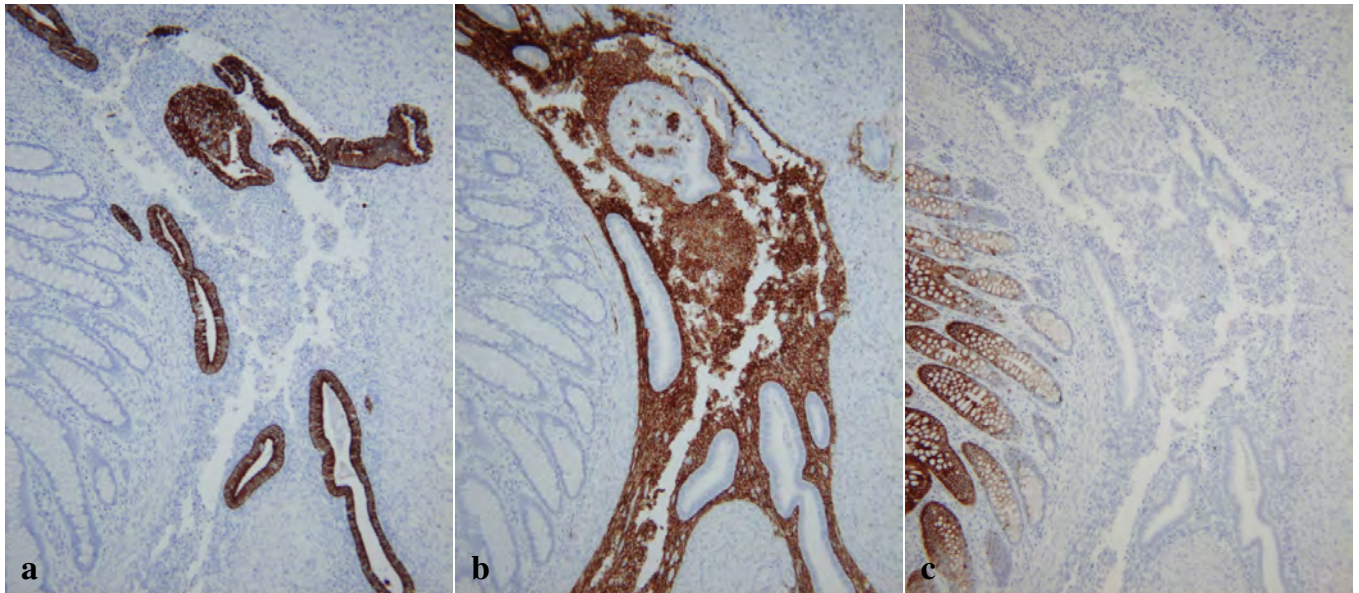


Photo. 6 Immunohistochemical findings. Endometrial glands are positive for CK7 (a) and negative for CK20 (c). Stromal cells are positive for CD10 (b) (a-c, $\times 10$).

型, 核クロマチン, 集塊構造を見極めることにより鑑別が可能である。また, 間質細胞を上皮細胞と見誤らないこと, 化生性の変化を過大評価しないことにも注意しなければならない。

さまざまな臓器で子宮内膜症を疑った場合は, 必ず臨床情報を確認し, 細胞異型, 構造異型を詳細に観察して診断することが重要である。また, 免疫組織化学を併用することで診断の一助となると考えられる。

筆者らは, 開示すべき利益相反はありません。

本論文の要旨は第 56 回日本臨床細胞学会総会 (春期大会 2015 年 6 月, 鳥根) にて発表した。

Abstract

Background : We report a case of ileocecal endometriosis diagnosed by intraoperative fine needle aspiration cytology (IFNAC).

Case : A 32-year-old nulligravid and nulliparous woman was referred to our hospital because of clinical suspicion of intestinal obstruction. She had a past history of right oophorectomy, and the symptoms suggestive of intestinal obstruction increased with menstruation. We performed ileocecal resection under suspicion of adhesive intestinal obstruction due to intestinal endometriosis. The resected segment of the intestine showed a submucosal tumor. IFNAC of this tumor revealed epithelial cell clusters. In addition, scattered isolated, as well as aggregated stromal cells were observed in the background. The endometrial glands showed metaplastic changes, but no evidence of

atypia. Microscopically, islands composed of endometrial glands and stroma were observed in the submucosa, muscle layer, and subserosa. No cytological and/or structural atypia was identified. Immunohistochemically, these endometrial glands were positive for ER, PgR and CK7, and negative for CK20. The stromal cells were positive for CD10. Therefore, we made the diagnosis of ileocecal endometriosis.

Conclusion : We encountered a case of ileocecal endometriosis. It is important to screen the cytology specimen in detail and carefully consider the clinical history for making a precise diagnosis of endometriosis, since endometriosis can occur in various organs, including the intestine.

文 献

- 1) Orbuch, I. K., Reich, H., Orbuch, M., Orbuch, L. Laparoscopic treatment of recurrent small bowel obstruction secondary to ideal endometriosis. J Minim Invasive Gynecol 2007 ; 14 : 113-115.
- 2) Macafee, C. H., Greer, H. L. Intestinal endometriosis : a report of 29 case and a survey of the literature. J Obstet Gynecol Br Comm 1960 ; 67 : 539-555.
- 3) Irving, J. A., Clement, P. B. Diseases of the peritoneum. In : Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, 6th ed. New York : Springer-Verlag ; 2011. 625-678.
- 4) 片淵秀隆. 子宮内膜症の不思議. 日エンドメトリ オージス会誌 2012 ; 33 : 131-138.
- 5) Sampson, J. A. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. Am J Obstet Gynecol 1927 ; 14 : 422-469.

- 6) 清水誠治, 富岡秀夫, 多田正大. 腸管子宮内膜症. 胃と腸 2005 ; 40 : 661-664.
 - 7) 松隈則人, 松尾義人, 鶴田 修, 池田英雄, 井上林太郎, 佐々木英・ほか. 腸管子宮内膜症の2例—本邦報告例78例の検討を含めて. *Gastroenterol Endosc* 1898 ; 31 : 1577-1584.
 - 8) 吉田昌弘, 塚本純久, 丹羽康正, 土田健史. 内視鏡の読み方, 腸管子宮内膜症. *臨床消化器内科* 1995 ; 10 : 435-438.
 - 9) 牛尾恭輔. 回盲部子宮内膜症の診断. 胃と腸 1998 ; 33 : 1397-1399.
 - 10) 佐藤哲也, 遠山啓亮, 野川辰彦, 橋爪 聡. 腸閉塞にて発症した回腸子宮内膜症の1例. *日臨外医会誌* 2000 ; 61 : 1877-1881.
 - 11) 桐井宏和, 天野和雄, 瀬古 章, 高木昌一, 酒井 勉. 両側気胸を併発した腸管子宮内膜症の1例—腸管子宮内膜症本邦報告例90例の検討を含めて. *日消誌* 1999 ; 96 : 38-44.
 - 12) Heaps, J. M., Nieberg, R. K., Berek, J. S. Malignant neoplasms arising in endometriosis. *Obstet Gynecol* 1990 ; 75 : 1023-1028.
-

症 例

超音波内視鏡下穿刺吸引法 (EUS-FNA) で得られた
大動脈周囲に発生した傍神経節腫の細胞像三好真由美¹⁾ 小竹 千代¹⁾ 小田井 学¹⁾ 田中 幸¹⁾播谷 規子¹⁾ 上田 佳世²⁾ 寺村 一裕²⁾淀川キリスト教病院病理課¹⁾, 同 病理診断科²⁾

背景：大動脈周囲に発生した傍神経節腫の超音波内視鏡下穿刺吸引法 (EUS-FNA) で得られた細胞像を検鏡する機会を得たので報告する。

症例：70 歳代，女性。下腹部痛を訴え，CT 検査で左大動脈周囲に約 30 mm の腫瘍陰影を指摘された。悪性リンパ腫を疑い EUS-FNA を施行した。細胞診では充実性の上皮様集塊や血管周囲に多数の細胞を認めた。それらの細胞の細胞質はライトグリーン好性で細胞境界は不明瞭，核は類円形や長楕円形で大小不同を認め，核縁は薄く，核クロマチンは微細顆粒状，核小体を 1 個認めた。モノトナスな細胞の増生がみられ，腫瘍細胞と考えたが，組織型は推定困難であった。組織診では充実胞巣状の細胞集塊を認め，間質は乏しく，スリット状の血管からなっていた。発生部位，組織像，免疫染色の結果から傍神経節腫と診断し，その後，腹腔鏡下摘出術を施行した。

結論：EUS-FNA は低侵襲の検査法として普及し，深部臓器の多様な検体採取が可能となった。今後も本腫瘍をはじめ，さまざまな細胞像を理解して診断することが重要であると考ええる。

Key words : Paraganglioma, EUS-FNA, Cytology

I. はじめに

傍神経節腫とは副腎髄質外に発生する褐色細胞腫をいい，全身の交感神経節（頭蓋内，後縦隔，後腹膜大動脈周囲，膀胱など）に発生する。今回われわれは大動脈周囲の

腫瘍に対し，超音波内視鏡下穿刺吸引法 (endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, 以下，EUS-FNA) を行い，傍神経節腫の細胞像を検鏡する機会を得たので，その細胞像を中心に報告する。

II. 症 例

患 者：70 歳代，女性。

主 訴：下腹部痛。

既往歴：子宮筋腫。

現病歴：下腹部痛が出現したため単純 CT を施行したところ左大動脈周囲に約 30 mm の腫瘍陰影を指摘された。悪性リンパ腫を疑い，EUS-FNA を施行し胃壁より腫瘍を 19 G 針で穿刺し，検体を採取した。組織診で傍神経節腫と診断し，病理診断後に施行された¹²³I-MIBG (metaiodobenzylguanidine) シンチグラフィーでは腫瘍への集積を確認した。その後，腹腔鏡下摘出術を施行した。術後 1 年半が経

Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology/histology findings of paraganglioma around the abdominal aorta—A case report—

Mayumi MIYOSHI¹⁾, C. T., J. S. C., Chiyo KOTAKE¹⁾, C. T., J. S. C., Manabu ODAI¹⁾, C. T., I. A. C., Sachi TANAKA¹⁾, C. T., I. A. C., Noriko HARITANI¹⁾, C. T., I. A. C., Kayo UEDA²⁾, M. D., Kazuhiro TERAMURA²⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, ²⁾Department of Diagnostic Pathology, Yodogawa Christian Hospital

論文刷請求先 〒 533-0024 大阪市東淀川区柴島 1 の 7 の 50 淀川キリスト教病院病理課 三好真由美

平成 29 年 4 月 10 日受付

平成 29 年 10 月 17 日受理

過し、現在までに再発・転移は認めていない。

III. EUS-FNA 細胞所見

充実性の上皮様集塊を認め、一部には血管の周囲にモノトナスに増生する多数の細胞を認めた (Photo. 1a, b). 集塊は上皮様であるが腺腔様配列や層状配列はみられなかった。それらの細胞の細胞質はライトグリーン好性で細胞境界は不明瞭、核は類円形や長楕円形で大小不同を認め、核縁の肥厚はみられず薄く平滑で、核クロマチンは微細顆粒状、核小体を1個認めた (Photo. 1c). 核分裂像はみられなかった。モノトナスな細胞の増生がみられ腫瘍細胞と考えたが、組織型が特定できる特徴的な所見はみられず推定困難であった。臨床診断で指摘されている悪性リンパ腫は結合性がみられることから否定的であると報告した。

IV. 組織所見

EUS-FNA 組織所見：充実胞巣状の細胞集塊を認め、間質は乏しくスリット状の血管からなっていた。細胞質は淡明～好酸性で核の異型や多形性は目立たなかった (Photo. 2a). 免疫染色では Chromogranin A, Synaptophysin に陽性を示し、CK-PAN, c-kit, CD34, HMB-45 には陰性を示した (Photo. 2b). 発生部位、組織像、免疫染色の結果から傍神経節腫と診断した。

摘出標本病理組織所見：左副腎から3 mm 離れて茶褐色調腫瘍 (47×27×12 mm) を認めた (Photo. 3a, b). 大型の淡明な細胞質を有する多角形腫瘍細胞が充実性または索状に増殖し、血管主体の乏しい間質を有していた。摘出腫瘍は被膜の破綻のため脂肪織への浸潤と被膜侵襲の正確な評価は困難であったが壊死や血管侵襲は認めず、核分裂像は1/10HPF 程度であった。免疫染色にて Chromogranin A, Synaptophysin に陽性を示し、Ki-67 標識率は2%であった。

V. 考 察

傍神経節腫とは副腎髄質外に発生する褐色細胞腫をいい、全身の交感神経節に発生する。本邦における2009年の調査では褐色細胞腫・傍神経節腫の罹患例は年間約3000例、そのうち約300例が悪性例で傍神経節腫のほうが悪性度は高いとされている¹⁾。

褐色細胞腫および傍神経節腫は交感神経系や副交感神経由来のカテコールアミン産生腫瘍である。臨床症状は高血圧、代謝亢進、高血糖、頭痛、発汗過多など多彩である。診断はカテコールアミンとメチル化代謝物であるメタネフ

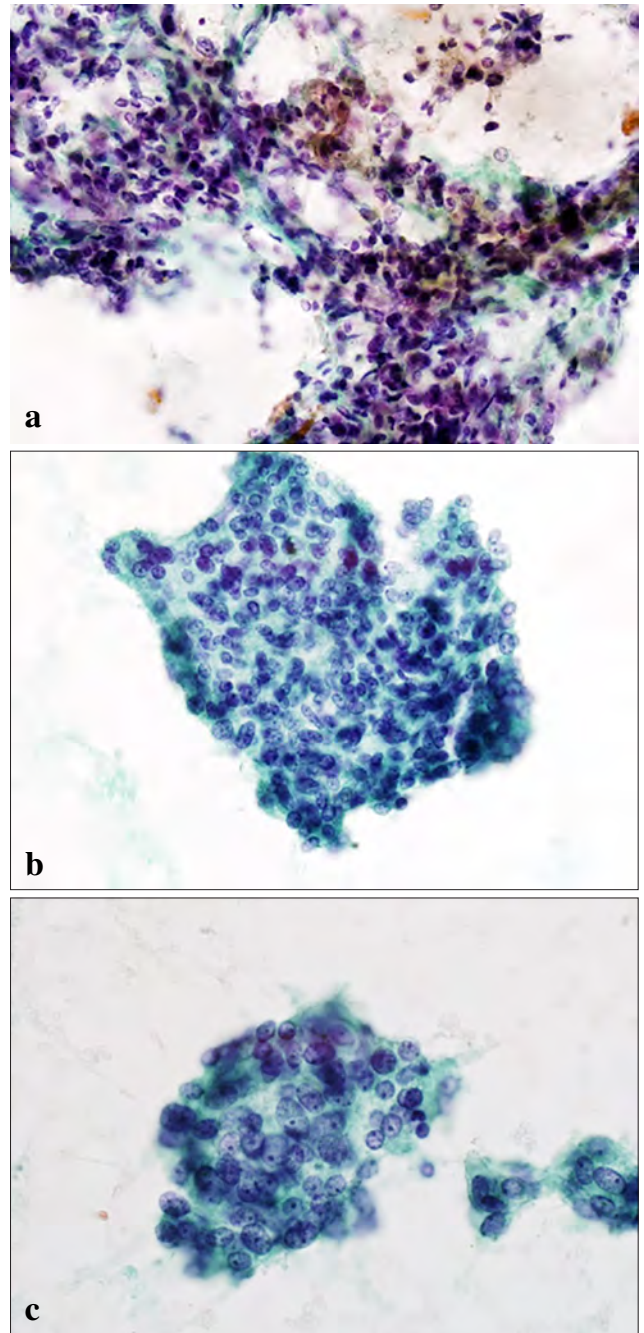


Photo. 1 EUS-FNA cytology findings. a : The tumor cells formed discohesive clusters around the vessels (Pap. staining, ×40). b : The epithelioid cells were found in three-dimensional clusters (Pap. staining, ×40). c : The cells had unclear cell borders, thin nuclear membranes, and single nucleoli (Pap. staining, ×63).

リンの血漿中および尿中濃度の上昇と画像診断による腫瘍の存在の証明によりくだされている²⁾。

EUS-FNA は基本的には消化管から観察可能なすべての病変が適応となるが、褐色細胞腫や傍神経節腫は穿刺による刺激により高血圧クリーゼを引き起こす可能性があり禁

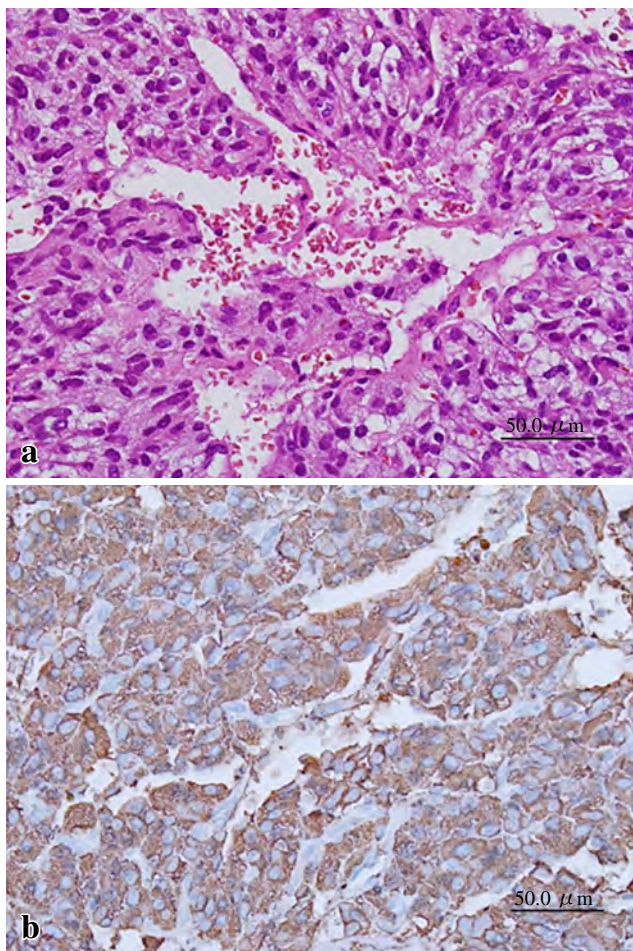


Photo. 2 Histological findings in the EUS-FNA specimens. a : The tumor cells proliferating around the vessels were rich in oxyphilic cytoplasm (HE staining, $\times 40$). b : The tumor cells were positive for chromogranin A (Immunohistochemical staining, $\times 40$).

忌であることから、これらの腫瘍が疑われる病変については施行前に内分泌検査を行い、穿刺適応を考慮しなくてはならないとされている³⁾。過去にはEUS-FNAを行い高血圧クリーゼを生じたという報告があり⁴⁾、一方では穿刺時に特に偶発症は認めなかったという報告もみられる⁵⁾。また、腫瘍摘出術を施行する場合には術中に血圧のコントロールが必要であることから術前診断が大切である²⁾。本例では単純CT検査で腫瘍陰影を認めEUS-FNAを検討した。施行前には副腎腫瘍の可能性も考え内分泌検査を行ったが、血中尿中カテコールアミンは正常、尿中メタネフリン・ノルメタネフリンは軽度高値であったため、食事の影響が考えられ、副腎腫瘍は否定的であると判断し、悪性リンパ腫などを疑いEUS-FNAを施行した。その後組織診で傍神経節腫と診断、 ^{123}I -MIBGシンチグラフィーを施行、腫瘍への集積を確認し確定診断後に手術を行った。EUS-FNAの穿刺

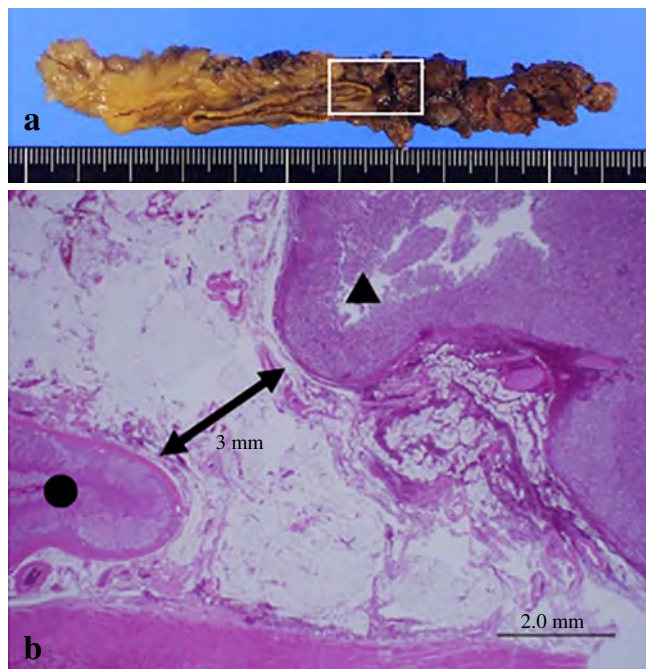


Photo. 3 Macro-and microscopic findings.
a : Cut surface of the tumor was dark brown.
b : ● indicates the adrenal gland. ▲ indicates tumor cells (HE staining, $\times 4$).

針は 19, 22, 25 G の 3 種類が発売されており³⁾、今回一番太い 19 G 針を使用した。穿刺時も術中の腫瘍切除前後も明らかな血圧変動はみられず終了した。

これまでに報告されている傍神経節腫の細胞像はほとんどが手術時に摘出された腫瘍の捺印細胞像である。その報告では、腫瘍細胞の多くは散在性やシート状、充実性の上皮様集塊を認め、細胞は円形から多角形を呈し一部で紡錘形の細胞が混在する。細胞質は豊富でN/C比は小さくライトグリーン好性である。核は円形から楕円形で巨大核、多核、核内細胞質封入体などが認められ、核クロマチンは細顆粒状を示す。核小体については小型で1~3個認め、好酸性球状硝子球やメラニン顆粒がみられることもあると報告されている^{6~8)}。また転移例では腫瘍細胞は全般的に小型でN/C比は高く、腫瘍細胞の結合性は弱く、単個に出現する傾向がみられると報告されている⁶⁾。

本例のEUS-FNAを用いた新鮮な生検材料の細胞像では核内細胞質封入体や好酸性球状硝子球、メラニン顆粒は認められなかったが、細胞の出現形態や細胞質の性状、核形、クロマチンの特徴は同様であった。核小体は1個認め、核縁の肥厚はみられず薄く平滑であった。本例の特徴的な所見としては血管の周囲に多数の腫瘍細胞を認めたことが挙げられる。これは組織所見と一致し、血管豊富な本腫瘍を反映していると考えられる。捺印細胞像と比較して腫瘍を針で穿刺することにより血管と腫瘍が一緒に採取されたと

推測されるため、今後摘出腫瘍を穿刺した細胞像の検討が望まれる。また本例は転移例の細胞像には当てはまらず、壊死や核分裂像、著しい多形性もみられなかったことから良性の範疇ではないかと推測する。病理組織学的には悪性の経過をとる可能性を示す指標としてPASS (pheochromocytoma of the adrenal gland scaled score) があり、これは組織学的な12項目についてスコア化し、4点以上のものが悪性の経過をとる可能性が高いとするものである¹⁾。本例の組織像においては被膜の破綻のため脂肪組織への浸潤、被膜侵襲の正確な評価は困難であったが、その2項目以外の壊死や血管侵襲、異常核分裂像や著しい多形性などはみられず、スコアは0~3点であり4点以下であったので悪性のpotentialは低いと報告した。術後1年半が経過し、現在までに再発・転移は認めていない。

本例での鑑別診断としてカルチノイド、GIST (gastrointestinal stromal tumor)、PEComa (perivascular epithelioid cell tumor) などが挙げられる。カルチノイドは大型集塊の存在やクロマチンが微細顆粒状であることから否定できる。GISTについては紡錘形核を有する細胞が束状集塊で出現する紡錘細胞型であれば鑑別可能だが、類円形核を有する細胞のみで出現する類上皮型では細胞像のみでは鑑別は難しく、c-kitなどの免疫染色が有用であると考ええる。PEComaは由来不明の間葉系腫瘍の一つでさまざまな臓器に発生するといわれている。細胞像についての報告はまだ少ないが、腫瘍細胞は上皮様集塊として出現し、淡明ないし泡沫状の細胞質を有している。核は小型類円形で核クロマチンは細顆粒状、核小体を1個認め、核内空胞は特徴的な所見の一つと報告されており⁹⁾、本腫瘍と類似点が多く細胞像のみでは鑑別は難しいが、HMB-45は陽性を示し、傍神経節腫ではこれが陰性であることから免疫染色を施行することで鑑別が可能と考える。

当院においてEUS-FNA導入当初の対象病変は膵腫瘍性病変、消化管粘膜下病変が大半を占めていたが、近年縦隔腫瘍、肝腫瘍、腹腔内腫瘍など穿刺対象が拡大している。それに伴いわれわれ細胞検査士も多種多様な病変の細胞像の知識が必要である。今後も傍神経節腫をはじめ、さまざまな細胞像に遭遇すると考えられる。組織が十分採取できなかったときに細胞診の報告によって次の検査に進む手助けができ、またベッドサイド迅速細胞診によって穿刺を1回で終了してリスクを減らすなど細胞診の利点を増やしていきたいと考える。

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54回日本臨床細胞学会秋期大会(2015年11月)で報告した。

Abstract

Background : Paragangliomas are tumors that arise from extra-adrenal chromaffin cells, and occur in the systemic sympathetic ganglia. We report a case of paraganglioma around the abdominal aorta that was diagnosed by endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) cytology.

Case : A woman in her 70s presented to us with a history of lower abdominal pain. Abdominal computed tomography revealed a tumor measuring 30 mm in diameter to the left of the aorta, which was suspected to be a malignant lymphoma. EUS-FNA cytology revealed epithelioid cells in discohesive three-dimensional clusters. The cells had unclear cell borders, thin nuclear membranes, and single nucleoli. Histological examination of the EUS-FNA specimens showed tumor cells proliferating around the vessels and cells that were rich in oxyphilic cytoplasm. Immunohistochemistry revealed positive staining for chromogranin A and synaptophysin. Based on the findings, we made the diagnosis of paraganglioma.

Conclusion : EUS-FNA has been rapidly expanding as a useful examination technique that is minimally invasive and enables highly accurate histological diagnoses. This procedure allows collection of specimens from lesions that were otherwise inaccessible. We have reported a case of paraganglioma and the cytological/histological characteristics of this tumor, which should be helpful for differential diagnosis.

文 献

- 1) 日本泌尿器科学会・日本病理学会・日本医学放射線学会・日本内分泌学会・日本内分泌外科学会、編。副腎腫瘍取扱い規約 2015年3月 第3版。東京：金原出版；2015。
- 2) 福井次矢，黒川 清。ハリソン内科学 第3版。東京：メディカル・サイエンス・インターナショナル；2009。2348-2353。
- 3) 奥原のぞみ，舩岡 範，尾関順子，谷田部 恭，山雄健次。超音波内視鏡ガイド下穿刺吸引細胞診 (EUS-FNAC)。病理と臨 2015；33：1212-1221。
- 4) Akdamar, M. K., Eltoum, I., Eloubeidi, M. A. Retroperitoneal paraganglioma : EUS appearance and risk associated with EUS-guided FNA. Gastrointest Endosc 2004；60：1018-1021。
- 5) 谷坂優樹，良沢昭銘，岩野博俊，大宮久美子，原田舞子，小畑 力・ほか。リンパ節，転移巣病変におけるEUS-FNAの実際。消化器内視鏡 2016；28：1613-1618。
- 6) 畠 榮，大杉典子，鐵原拓雄，坂東美奈子，山口昌江，三宅康之・ほか。褐色細胞腫および傍神経節腫の塗抹細胞像。日臨細胞会誌 1995；34：634-639。
- 7) 淀縄 聡，平野 稔，小川 功，後藤行延，有川良二，高谷澄夫・ほか。副腎外褐色細胞腫の1例。日臨細胞会誌 2002；41：6-9。
- 8) 佐藤和歌子，相田芳夫，福島幸司，白井正弘，工藤 治，大沼繁子・ほか。膀胱に発生した傍神経節腫の1例。日臨細胞会誌 2003；42：306-309。
- 9) 星 利良，元井紀子，吉田則之，小松京子，柳谷典子，杉山裕子・ほか。肺摘出材料の捺印細胞診にて推定しえたPEComaの1例。日臨細胞会誌 2014；53：371-376。

症 例

左肩に発生した筋上皮癌 myoepithelial carcinoma の 1 例

石井 脩平¹⁾ 古田 則行²⁾ 小松 京子²⁾ 杉浦 善弥¹⁾
 元井 紀子¹⁾ 高澤 豊¹⁾ 杉山 裕子²⁾ 石川 雄一¹⁾

がん研究会がん研究所病理部¹⁾, がん研究会有明病院臨床病理センター細胞診断部²⁾

背景: 筋上皮癌 (myoepithelial carcinoma, 以下 MC) は一般にまれな腫瘍であるが, 軟部組織原発のものはさらにまれで診断が難しい. 今回, 左肩に発生した MC を経験したので報告する.

症例: 10 歳代後半, 男性. 約 10 年前より無痛性の左肩腫瘍を自覚, 半年前より急速に増大したため, 当院紹介受診. 針生検により悪性と診断されたが, 組織型の確定にいたらず, 切開生検後に広範切除術が施行された. 切開生検時の圧搾細胞診では, 小型類円形を呈する腫瘍細胞が主に孤立性に出現し, 血管性間質の周囲を取り巻くような集塊, ロゼット様配列や核分裂像も認め, ユーイング肉腫を疑った. 組織診では充実性, 胞巣状や一部に網目状構造を呈し, 粘液様や硝子様基質も認めた. 腫瘍細胞は上皮様細胞, 淡明細胞や紡錘形細胞が混在し, 多彩な形態を示していた. 形態像, 免疫組織化学, 遺伝子検索より MC と診断された.

結論: 筋上皮腫瘍は一般に多様な形態を呈し, 採取された箇所により形態が異なるため, 組織型推定に苦慮する場合がある. 細胞診で円形細胞を主体とした悪性細胞がみられた際には臨床所見も加味し, MC も鑑別に挙げることが望まれる.

Key words : Myoepithelial carcinoma, Cytology, Soft tissue, Case report

I. はじめに

筋上皮癌 (myoepithelial carcinoma, 以下 MC) は 1975 年に Stromeyer らによって初めて報告されたまれな腫瘍であり¹⁾, ほとんどが唾液腺に発生するが, 乳腺, 皮膚, 肺, 軟部組織などでも報告されている²⁾. 軟部組織発生筋上皮腫瘍は全軟部組織腫瘍の 1% 以下とされきわめてまれで

あるが²⁾, WHO 分類 第 4 版³⁾では tumours of uncertain differentiation の Myoepithelioma/myoepithelial carcinoma/mixed tumour に分類されている. 軟部組織における筋上皮腫瘍の組織学的報告は時折なされているが, 細胞診に関する報告はごく少数である. 今回, 左肩に発生した MC を経験したので, 細胞所見を含め報告する.

II. 症 例

患 者: 10 歳代後半, 日本人男性.

主 訴: 左肩腫瘍.

既往歴: 特記事項なし.

現病歴: 約 10 年前より無痛性の左肩腫瘍を自覚, 半年前より急速に増大したため, 当院紹介受診. 単純 X 線検査にて左肩外側皮下に境界明瞭な軟部陰影があり, 三角筋を圧排する所見がみられた (Photo. 1a). CT にて 4.8×4.5×2.7 cm 大の腫瘍を認めた. MRI では T1 低信号, T2 高信号であったが, 内部に出血や壊死を疑う T1 高信号な領域も認めた (Photo. 1b, c). 左肩腫瘍から針生検が行われたが,

A case of myoepithelial carcinoma of the left shoulder

Shuhei ISHII¹⁾, C. T., I. A. C., Noriaki FURUTA²⁾, C. T., C. F. I. A. C., Kyoko KOMATSU²⁾, C. T., C. F. I. A. C., Yoshiya SUGIURA¹⁾, M. D., Noriko MOTOI¹⁾, M. D., Yutaka TAKAZAWA¹⁾, M. D., Yuko SUGIYAMA²⁾, M. D., F. I. A. C., Yuichi ISHIKAWA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, The Cancer Institute

²⁾Department of Cytology, The Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research

論文印刷請求先 〒135-8550 東京都江東区有明 3 の 8 の 31 がん研究会がん研究所病理部 石井脩平

平成 29 年 7 月 26 日受付

平成 29 年 10 月 15 日受理



Photo. 1 Plain x-ray image showed a well-circumscribed mass in the left shoulder (arrow) (a). On horizontal-view magnetic resonance imaging, the tumor was visualized as a hypointensity with a focal hyperintensity (arrow) on T1-weighted images (b), and as a hyperintensity (arrow) on T2-weighted images (c).

悪性を考えるも組織型の確定にいたらず、切開生検後に広範切除術が施行された。

III. 細胞学的所見

針生検時の圧挫細胞診：壊死様物質を背景に NC 比の高い小型類円形～短紡錘形の異型細胞が集塊および孤立性にみられたが、細胞変性が加わっていたため疑陽性の判定にとどまった。

切開生検時の圧挫細胞診：小型類円形核を有する腫瘍細胞が主に孤立性に出現していたが、血管性間質の周囲を腫瘍細胞が取り巻くような集塊も認めた (Photo. 2a, b)。また、ロゼット様配列やごく一部には腫瘍細胞の小集塊もみられた (Photo. 2c, d)。腫瘍細胞は小型類円形を呈し、細胞質は非常に淡く、裸核様にもみえた。核クロマチンは細顆粒状均一で核内に充満するように分布し、核縁の肥厚はみられなかった (Photo. 2e)。また、腫大した核小体を有する腫瘍細胞や核分裂像も散見された。ユーイング肉腫 (Ewing sarcoma, 以下 ES) としても矛盾しない所見であったため、ES を疑った。

IV. 病理組織学的所見

針生検：壊死と出血が目立つ背景に紡錘形異型細胞が、上皮様に集簇して少数みられた。悪性を考え、滑膜肉腫を第一に疑ったが、*SS18* 遺伝子の break apart FISH は陰性であったため、「spindle cell sarcoma」の診断にとどまった。なお、*EWSR1* 遺伝子の break apart FISH は陽性であり、ES の可能性はあったが、形態的には ES とはいいがたい所見であった。

切開生検および広範切除術：肉眼的に、腫瘍は皮下の境界明瞭な $46 \times 35 \times 25$ mm 大の灰白色調腫瘤であり、一部に粘液様、壊死ないしは出血を伴っていた (Photo. 3a)。組織

学的に、充実性、胞巣状や一部に網目状構造を呈しており、硝子様基質を背景に結合性の緩い腫瘍細胞が増殖する所見や、腫瘍細胞が血管を取り囲むように増殖する所見もみられた (Photo. 3b～d)。また、粘液様基質、出血ないしは壊死の所見も散見された。腫瘍を構成する細胞は上皮様細胞を主体に、淡明細胞や紡錘形細胞が混在し、多彩な形態を示していた (Photo. 3e, f)。また、核分裂像が目立ち 25/10HPF であった。免疫組織化学では Cytokeratin (CK) AE1/AE3, CK CAM5.2 (Photo. 4a), α -SMA (Photo. 4b), S-100, p40, p63 (Photo. 4c), D2-40, CD56 が陽性, desmin は部分的に陽性, EMA, HHF35, CD34, HMB45 が陰性を示した。Ki-67 陽性率は約 40% であった (Photo. 4d)。desmin が部分的に陽性を示した点が非典型的ではあったが、形態像、免疫組織化学および針生検時の *EWSR1* 遺伝子の break apart FISH の結果より筋上皮腫瘍と考えられ、核異型が目立ち、核分裂像が多く、Ki-67 陽性率も高いことから MC と診断された。なお、自覚症状から約 10 年の経過で、半年前より急速な増殖を認めた症例ではあったが、悪性転化を疑う良性腫瘍の成分は認められなかった。Elastica van Gieson (EVG) 染色および D2-40 の免疫組織化学を用いて脈管侵襲の有無を検索したが認めず、切除断端は陰性であった。また、切開生検では粘液様基質や紡錘形異型細胞はみられなかった。

V. 考 察

軟部組織の筋上皮腫瘍はきわめてまれであり、四肢や肢帯の皮下組織に発生することが多い。男女比に偏りはなく、若年から中年成人に多くみられるが、幅広い年齢で発生する。また、主訴の多くは無痛性腫瘤の緩慢な増殖であり、小児に生じる場合は悪性のことが多いと報告されている⁴⁾。本例は左肩の皮下組織に発生した悪性腫瘍であり、報告されている臨床所見と類似していた^{3,4)}。

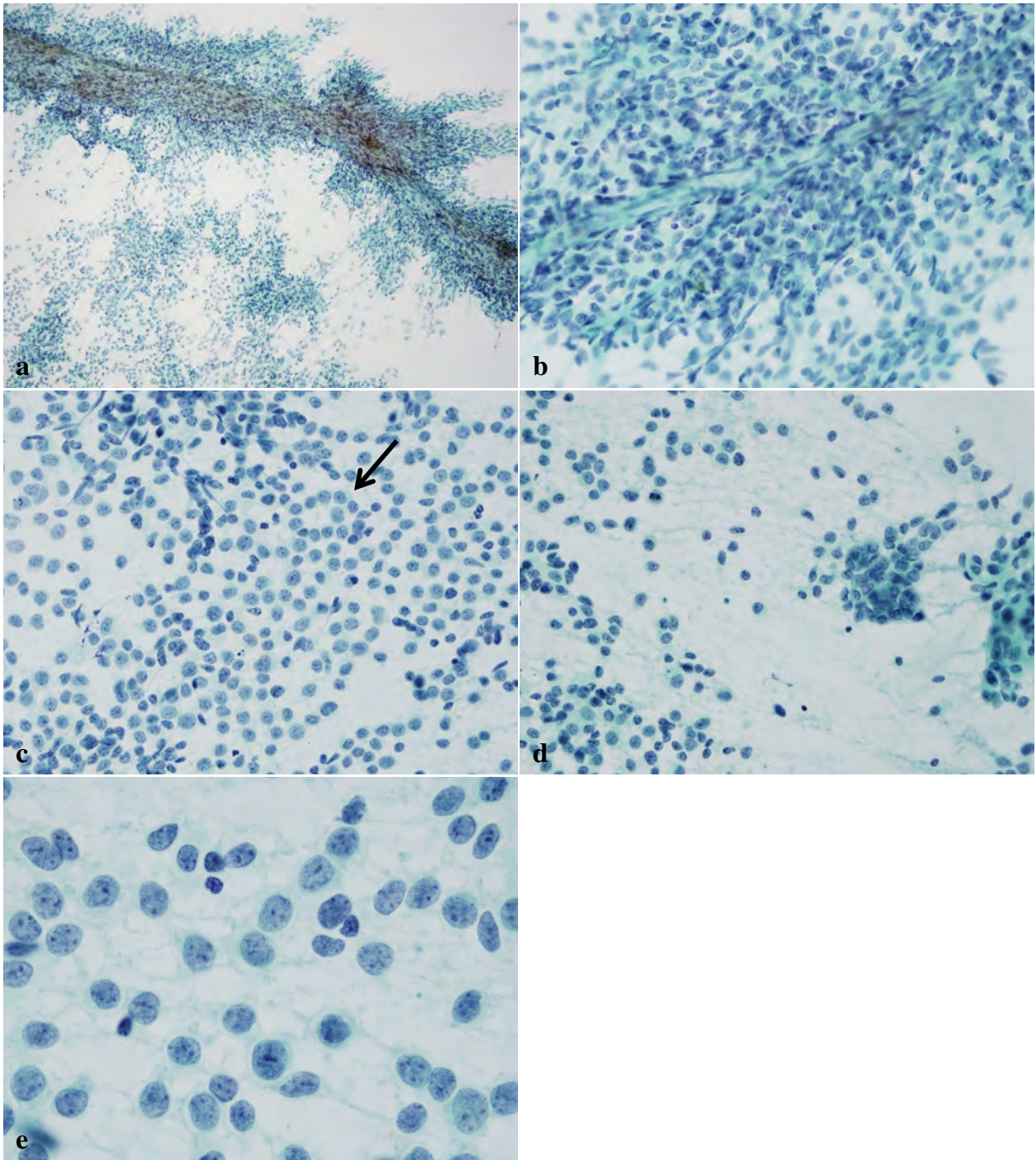


Photo. 2 Squash preparation cytology taken at open biopsy (Papanicolaou staining). The smear showed small round tumor cells, mainly scattered, with some focal cluster formation ($\times 10$) (a). High-power view showing perivascular clustering of tumor cells ($\times 40$) (b). Rosette-like structures (arrow) (c) and clustering of small round tumor cells (d) were observed ($\times 40$). The tumor cells were uniformly round to oval, with finely distributed chromatin and small or prominent nucleoli ($\times 100$) (e).

組織学的に軟部組織の筋上皮腫瘍は、唾液腺腫瘍と同様に上皮様細胞、紡錘形細胞、淡明細胞、形質細胞様細胞が混在してみられ、網目状、索状、充実性や胞巣状などの構造を呈し、粘液様ないしは硝子様基質を伴う。また、MC

では上述した形態的特徴に加え、核異型を認め、高率な核分裂像や壊死がみられることもある³⁾。しかしながら、WHO 分類第4版³⁾では軟部筋上皮腫瘍の悪性の振る舞いを予測する有用な基準は、中等度から高度の核異型のみとさ

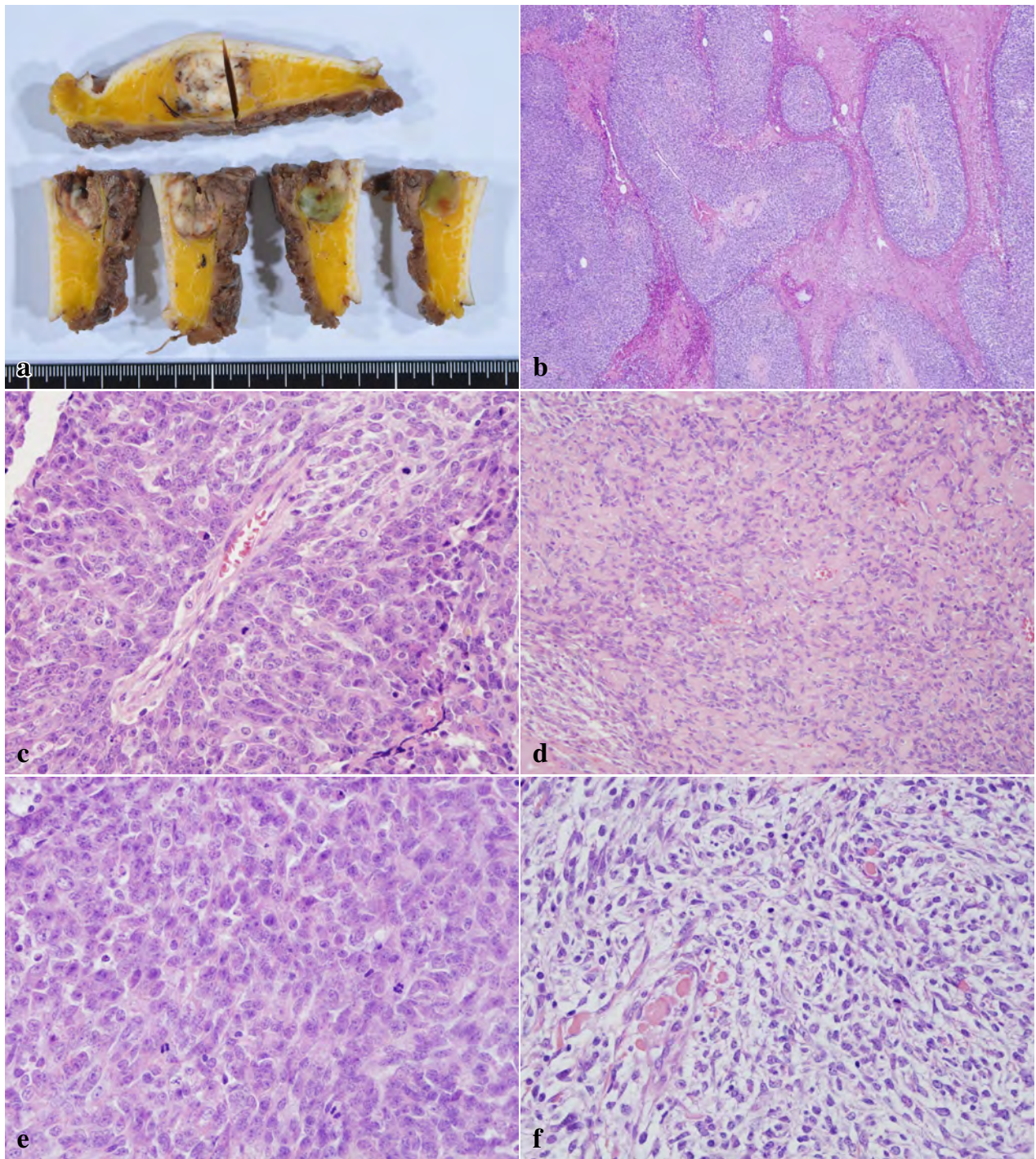


Photo. 3 Macroscopic and histological pictures of the wide resection material. a : The tumor was well-circumscribed and grey-white in color, with focal hemorrhages. b : The tumor cells showed solid nested growth, with perivascular clustering of tumor cells ($\times 10$). c : High-power view of the perivascular clustering of tumor cells ($\times 40$). d : The tumor showed a hyalinized stroma ($\times 20$). Epithelioid (e) and clear (f) cells were observed ($\times 40$). (b-f, HE staining)

れ、Hornick ら⁵⁾はその核異型を核の多形性や空胞状ないし粗顆粒状クロマチン、明瞭な核小体と定義している。上述した基準により悪性腫瘍とされたMCでは再発・転移が40～50%で生じると報告されているものの³⁾、有用な所見

が核異型のみであり、十分な組織学的悪性基準が確立されているとはいいがたい。しかし、少なくとも核異型を有する軟部筋上皮腫瘍に関しては、厳重な経過観察が必要であるといえる。本例においては、術後約2年以上が経過して

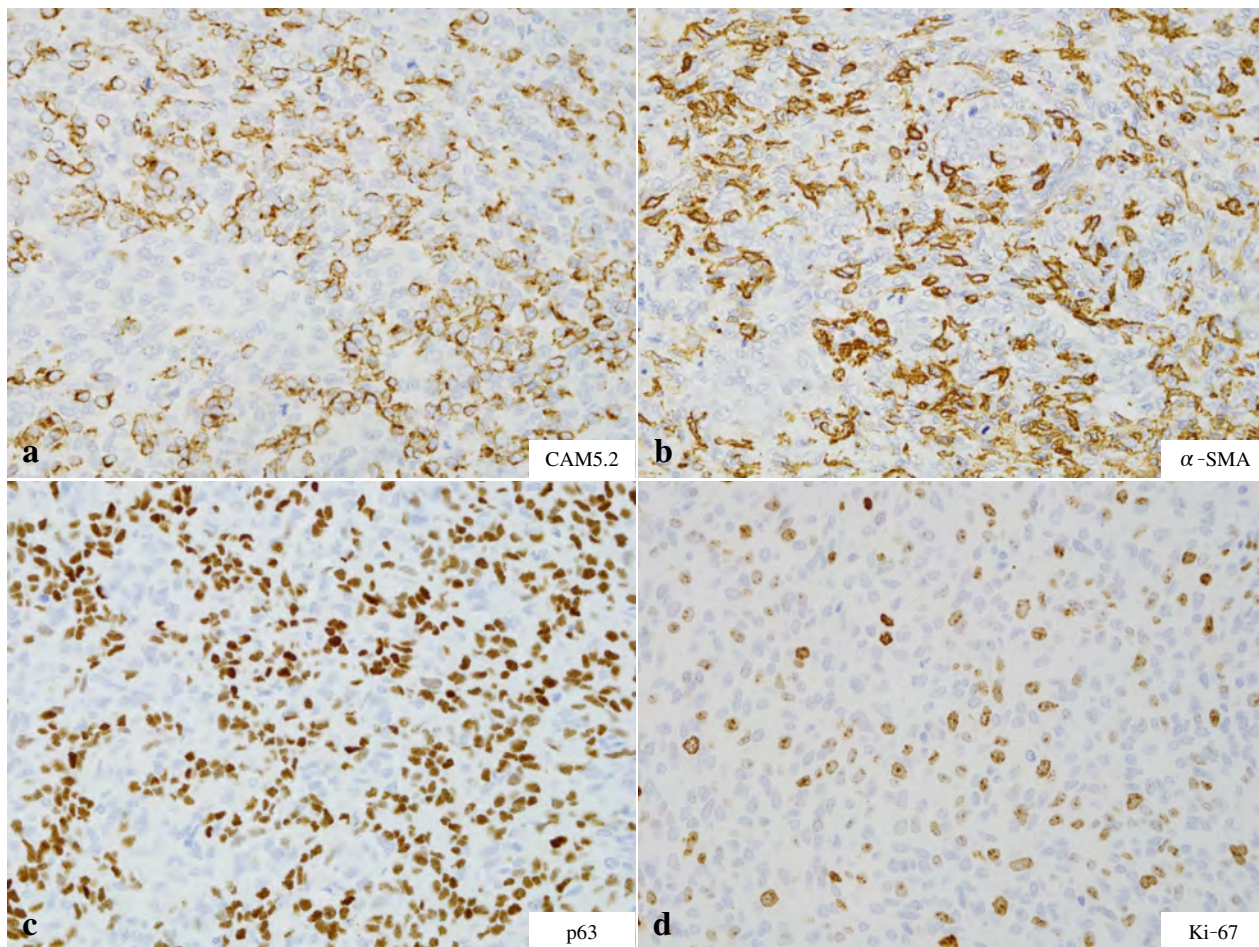


Photo. 4 Immunohistochemistry for (a) cytokeratin CAM5.2 ($\times 40$), (b) α -SMA ($\times 40$), (c) p63 ($\times 40$), (d) Ki-67 ($\times 40$).

いるが、再発・転移は認められない。また、遺伝子学的所見として軟部筋上皮腫瘍では *EWSR1* 遺伝子再構成が 45% で認められる³⁾。

軟部組織原発筋上皮腫瘍の細胞診に関する報告は、Park ら⁶⁾、Wang ら⁷⁾、Machado ら⁸⁾ の 3 つの報告がある。その報告されている細胞所見をまとめると (Table 1), 3 者ともに粘液様物質を背景に形質細胞様の異型細胞の出現がみられ、Park らと Wang らは、円形～卵円形細胞や紡錘形細胞の出現、Machado らは均一な円形細胞の出現がみられたと報告している。また、核所見に関しては良悪性ともに均一な円形～卵円形核で、細顆粒状クロマチンを呈し、悪性では明瞭な核小体も認めるとされている。本例では、Machado らの報告に類似し均一な類円形細胞が出現しており、明瞭な核小体を有する腫瘍細胞もみられたが、3 者ともにみられた粘液様物質や形質細胞様の異型細胞はみられなかった。このような背景所見および細胞がみられなかったため、本例では ES を疑い、MC を推定できなかった。しかし、Machado らも細胞診にて MC の推定にはいたっておらず、円形細胞腫瘍の診断にとどまっていた。このことか

ら、MC は ES のような円形細胞腫瘍との鑑別が問題になると考えられた。

ES の臨床所見としてよく知られているように、ES は 10 歳代の小児および若年者に好発し、軟部組織発生では傍椎体、胸壁、後腹膜、下肢に多い。主訴としては、局所の痛み、腫瘍、発熱、倦怠感などがある⁹⁾。細胞像として、NC 比の高い均一な類円形を呈する腫瘍細胞が孤立性に出現することが多いが、結合性の弱い集塊やロゼット様配列がみられることもある。核は類円形で、核小体はあまり目立たない¹⁰⁾。以上の細胞所見より、MC と ES の鑑別点としては粘液様物質の有無、出現細胞の多様性、小型ないしは明瞭な核小体の有無、ロゼット様配列が挙げられる。しかし、本例では粘液様物質がみられず、腫瘍細胞も比較的均一に出現しており、多様性がみられなかった。また、一部に小型ないしは明瞭な核小体を有する腫瘍細胞はみられたが、ロゼット様配列も散見されたため、本例のような出現形態を呈した場合、細胞学的に両者を鑑別することは難しいと考えられた。

また、骨外性粘液型軟骨肉腫 (extraskelatal myxoid chon-

Table 1 The cytological findings of myoepithelial tumors of the present and reported cases

	Park SJ, et al. ⁶⁾ Myoepithelioma (n = 1)	Wang G, et al. ⁷⁾ Myoepithelioma (n = 1)	Machado I, et al. ⁸⁾ Myoepithelial carcinoma (n = 1)	Present case Myoepithelial carcinoma (n = 1)
Specimen preparation	Imprint	Fine-needle aspiration	Fine-needle aspiration	squash
Background	myxoid materials	myxoid matrix	myxoid	clear
Pattern	clusters, sheets, isolated	clusters, sheets, isolated	sheets, isolated	isolated, clusters
Cellular configuration	round to spindle	round to oval, focally spindle	uniformly round	uniformly round to oval
Cellular border	well-defined or indistinct	well-defined	—	indistinct
Nuclear details				
shape	uniformly round to ovoid	uniformly round to ovoid	round to ovoid	round to ovoid
margin	smooth	smooth	—	not thick
chromatin pattern	finely	finely	finely	finely
nucleoli	small	small	prominent	small or prominent
Others	plasmacytoid appearance	plasmacytoid appearance	plasmacytoid appearance	rosette-like arrangement
	long, tapering cytoplasmic	long, tapering cytoplasmic	rhabdoid-like appearance	perivascular clustering of
	processes cytoplasmic vacuola-	processes cytoplasmic		tumor cells
	tion cells with naked nuclei	vacuolation naked nuclei		mitosis

drosarcoma, 以下 EMC) も MC と類似する形態を呈することがあるため、鑑別に挙がる⁸⁾。EMC の臨床所見として、50~60 歳代が約半数を占めるが、幅広い年齢で発生する。好発部位は大腿や膝窩、肩甲などの四肢近位や肢帯であり、通常、筋肉内の深部に発生する。主訴は、腫瘍の触知や局所の痛みである¹¹⁾。細胞像としては、粘液様物質を背景に、比較的均一な類円形~短紡錘形を呈する腫瘍細胞が、索状ないしは網目状に出現する。核異型は目立たず、コーヒー豆様の深い核溝所見が特徴とされている¹⁰⁾。また、cellular variant では、粘液様物質に乏しい背景となり、腫瘍細胞が、充実性の増殖をうかがわせる集塊や孤立性に出現することがある^{10,12)}。以上の細胞所見より、MC は EMC に比して多様性がみられることが鑑別点の一つに挙げられるが、その所見に乏しい場合には、EMC の特徴的所見であるコーヒー豆様の深い核溝の有無に着眼することが、両者の鑑別に有用であると考えられた。本例では、多様性に乏しい出現であったが、コーヒー豆様の深い核溝所見はみられず、EMC との鑑別は可能であった。

結論として、本論文では本例を含めた 4 例の細胞所見を比較したが、一貫した細胞所見はみられず、多様な形態を示す筋上皮腫瘍は腫瘍の一部のみで診断を行う生検や細胞診では、採取された箇所によって細胞・組織形態が異なり、推定することが困難な場合が多いと考えられた。しかし、腫瘍の採取箇所により出現細胞に差異はあるものの、円形細胞を主体とした悪性細胞がみられた際には、臨床所見も加味し、MC を鑑別に挙げる必要があると考えられた。

本論文の要旨は第 55 回日本臨床細胞学会秋期大会(2016 年 11 月、大分)にて発表した。

Abstract

Background : Myoepithelial carcinoma (MC) of the soft tissue is very rare, and its cytological/histological diagnosis is challenging.

Case : A Japanese man in his late teens was referred to our institution for a painless mass in the left shoulder, that had first been noticed 10 years previously. The mass had increased rapidly in size during the previous six months. Open biopsy and wide resection were performed. Squash preparation cytology obtained at open biopsy showed that the tumor was composed of small round tumor cells, with some focal cluster formation, including occasional perivascular clustering. Rosette-like structures were also seen. Cytologically, Ewing sarcoma was suspected. Histologically, the tumor was composed of tumor cells proliferating in solid nests, with focal reticular pattern formation, in a myxoid and hyalinized stroma. Based on these findings, considered together with the findings of immunohistochemical and genetic analyses, the tumor was diagnosed as MC of the soft tissue.

Conclusion : Since MC may exhibit different features in cytology samples taken from different sites, it may be difficult to make a precise diagnosis. When round tumor cells are detected in cytology samples of the soft tissue, MC should be considered, taking into account the clinical and genetic findings.

文 献

- 1) Stromeyer, F. W., Haggitt, R. C., Nelson, J. F., Hardman, J. M. Myoepithelioma of minor salivary gland origin. Light and elec-

- tron microscopical study. Arch Pathol 1975 ; 99 : 242-245.
- 2) Fedhila Ben Ayed, F., Douira Khomsi, W., Rhayem, S., Doghri, R., Khemiri, M., Barsaoui, S. Soft tissue myoepithelial carcinoma in a child : Case report. J Pediatr Hematol Oncol 2016 ; 38 : 321-323.
 - 3) Fletcher, C. D. M., Bridge, J. A., Hogendoorn, P. C. W., Mertens, F. WHO classification of tumours of soft tissue and bone. 4th edition. Lyon : IARC press ; 2013.
 - 4) Jo, V. Y. Myoepithelial Tumors : An Update. Surg Pathol Clin 2015 ; 8 : 445-466.
 - 5) Hornick, J. L., Fletcher, C. D. Myoepithelial tumors of soft tissue : a clinicopathologic and immunohistochemical study of 101 cases with evaluation of prognostic parameters. Am J Surg Pathol 2003 ; 27 : 1183-1196.
 - 6) Park, S. J., Kim, A. R., Gu, M. J., Choi, J. H., Shin, D. S. Imprint cytology of soft tissue myoepithelioma : a case study. Korean J Pathol 2013 ; 47 : 299-303.
 - 7) Wang, G., Tucker, T., Ng, T. L., Villamil, C. F., Hayes, M. M. Fine-needle aspiration of soft tissue myoepithelioma. Diagn Cytopathol 2016 ; 44 : 152-155.
 - 8) Machado, I., López-Soto, M. V., Rubio, L., Navarro, L., Llombart-Bosch, A. Soft tissue myoepithelial carcinoma with rhabdoid-like features and EWSR1 rearrangement : Fine needle aspiration cytology with histologic correlation. Diagn Cytopathol 2015 ; 43 : 421-426.
 - 9) 野島孝之, 小田義直. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 骨腫瘍. 東京 : 文光堂 ; 2016.
 - 10) 日本臨床細胞学会, 編. 細胞診ガイドライン 2 乳腺・皮膚・軟部骨. 東京 : 金原出版 ; 2015.
 - 11) 長谷川 匡, 小田義直. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 軟部腫瘍. 東京 : 文光堂 ; 2011.
 - 12) 川島麻里沙, 古田則行, 星 利良, 神田浩明, 平井康夫. 圧挫細胞診が診断に有用であった骨外性粘液型軟骨肉腫 cellular variant の 1 例. 日臨細胞会誌 2010 ; 49 : 347-351.

症 例

サーベックスブラシコンビ®を用いた 外陰細胞診が診断に有用であった外陰 Paget 病の 2 例

北澤 純¹⁾ 高橋 顕雅¹⁾ 西野万由美²⁾ 岡本 明子²⁾宮元 伸篤²⁾ 新川 由基²⁾ 黒澤 学³⁾市立長浜病院産婦人科¹⁾, 同 中央検査技術科²⁾, 同 病理診断科³⁾

背景：外陰 Paget 病は外陰悪性腫瘍の 1~2%とまれな腫瘍である。今回、擦過細胞診にて外陰 Paget 病を推定しえた 2 例を経験したため報告する。

症例：症例 1；82 歳，女性。2 年前より外陰部掻痒感，発赤があり，症状が増悪したため当院へ紹介され受診した。外陰部の擦過細胞診では，きれいな背景に孤立性に N/C 比が高くクロマチン微細な小型細胞が散見された。核小体が複数みられ，軽度核形不整を伴う細胞も認められた。集塊はみられなかったが，相互封入像が認められた。

症例 2；79 歳，女性。近医で子宮筋腫を認めたため，当院へ紹介され受診した。当科受診時，外陰部に広範な発赤を伴う皮膚肥厚を認めた。外陰部の擦過細胞診では，きれいな背景に N/C 比の高い小型細胞が孤立散在性に認められ，クロマチンは微細で核小体が目立っていた。平面的な小集塊も 1 ヲ所あり，細胞は N/C 比が高く，核小体が目立ち，クロマチンは微細だった。

結論：外陰部病変の擦過細胞診で異型のある腺系細胞が認められたら，Paget 病も鑑別に入れた精査が必要である。また，外陰擦過細胞診にてブラシを用いることで細胞採取数が増加し，診断精度が向上する可能性が示唆された。

Key words : Paget's disease, Vulva, Cytology, Immunohistochemistry, Case report

I. 緒 言

外陰 Paget 病は外陰悪性腫瘍の 1~2%の頻度の非常にま

れな疾患で¹⁾，大型の異型細胞（Paget cell）が主に表皮内で増殖する悪性腫瘍である。本症の予後は病巣が表皮内に限局した早期病変では比較的良好だが，皮下組織に浸潤した進行例（Paget 癌）では不良である。早期発見と治療が望まれるが，掻痒感や疼痛を伴う紅斑や湿疹などの症状が非特異的であるため診断が遅れることが多い²⁾。また，外陰部の細胞診は採取される細胞数が少なく，正診率が低い³⁾。

今回，外陰部の擦過細胞診にて外陰 Paget 病を推定し早期に発見することができた 2 例を経験したため，細胞像を中心に報告する。

II. 症 例

症例 1

Usefulness of vulvar cytology using Cervex-Brush Combi® in the diagnosis of vulvar Paget's disease—Two case reports—

Jun KITAZAWA¹⁾, M. D., Akimasa TAKAHASHI¹⁾, M. D., Mayumi NISHINO²⁾, C. T., Akiko OKAMOTO²⁾, C. T., Nobuatsu MIYAMOTO²⁾, C. T., Yoshiki NIIKAWA²⁾, C. T., Manabu KUROSAWA³⁾, M. D.

¹⁾Department of Obstetrics and Gynecology, ²⁾Department of Central Laboratory Technology, ³⁾Department of Diagnostic Pathology, Nagahama City Hospital

論文別刷請求先 〒 526-0043 滋賀県長浜市大戌亥町 313 市立長浜病院産婦人科 北澤 純

平成 29 年 8 月 3 日受付

平成 30 年 1 月 8 日受理



Photo. 1 Vulvar lesion (Case 1). Eczema-like erythema around the right labium majus (arrow).

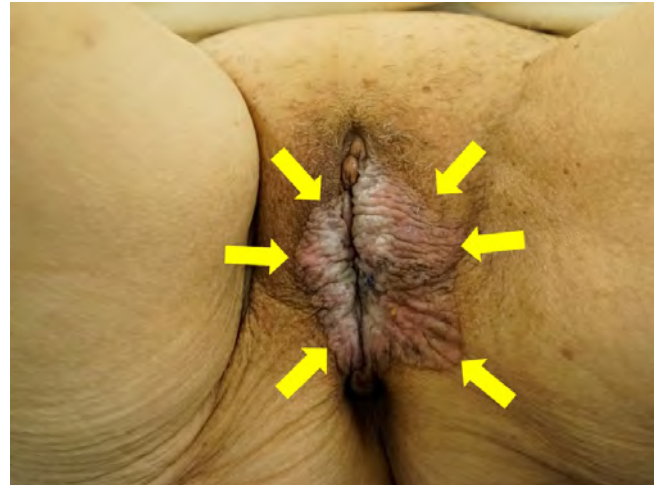


Photo. 2 Vulvar lesion (Case 2). Eczema-like erythema with well-defined borders in the vulva (arrow).



Photo. 3 Vulva after V-Y extension flap formation (Case 2).

患 者：82 歳，女性。4 経妊 4 経産，閉経 45 歳。

既往歴：63 歳時に胃癌 (Stage I A)。

現病歴：2 年前より外陰部の掻痒感，発赤があり，近医で外用薬を処方されていたが，症状が増悪したため当科へ紹介され受診した。

外陰部の肉眼所見：右大陰唇を中心とした約 10×6 cm の範囲に湿疹様紅斑を認め，外陰癌や Paget 病などの可能性が疑われた (Photo. 1)。同部位の擦過細胞診にて Paget 病が疑われ，パンチ生検で Paget 病と診断された。胸部レントゲン検査，腹部 CT 検査，骨盤 MRI 検査では他臓器に異常は認められなかった。

経 過：患者の希望により，保湿剤のみでの経過観察の方針とした。診断後 1 年経過した時点で，病変の発赤が増強しているものの，病変の拡大は認めない。

症例 2

患 者：79 歳，女性。3 経妊 3 経産，閉経 53 歳。

既往歴：本態性高血圧症，胆嚢結石。

現病歴：胆嚢結石のため近医内科で経過観察中，子宮筋腫が認められたため，当科を紹介され受診した。

外陰部の肉眼所見：外陰部に 10×7 cm の境界明瞭な湿疹様紅斑が認められ，一部に白苔が付着しており，外陰癌や Paget 病などの可能性が疑われた (Photo. 2)。同部位の擦過細胞診にて Paget 病が疑われ，パンチ生検で Paget 病と診断した。胸腹部 CT や骨盤 MRI 検査では他臓器に異常は認めなかった。

経 過：Mapping biopsy 後に単純外陰切除術，V-Y 伸展皮弁形成術を施行した (Photo. 3)。術後 6 ヶ月経過した時点で再発所見なく外来にて経過観察中である。

III. 擦過細胞像

いずれの症例もきれいな背景に孤立性に N/C 比が高くクロマチン微細な小型細胞が散見された (Photo. 4a および Photo. 5a)。

症例 1 では，核小体が複数みられ，軽度核形不整を伴う細胞も認められた (Photo. 4b)。集塊はみられなかったが，相互封入像が 1 ヶ所に認められた (Photo. 4c)。

症例 2 では，クロマチンは微細で核小体が目立っていた (Photo. 5b)。平面的な小集塊も 1 ヶ所あり，細胞は N/C 比が高く，核小体が目立ち，クロマチンは微細だった。メラニン色素ははっきりとは確認できなかった (Photo. 5c)。

IV. 組織および免疫組織化学

症例 1：組織学的に，表皮内に細胞質内粘液を有し核の

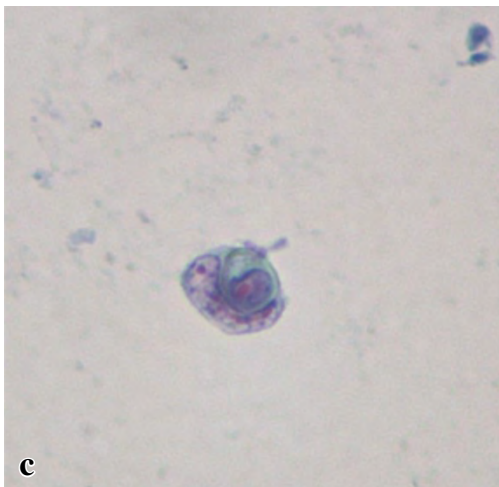
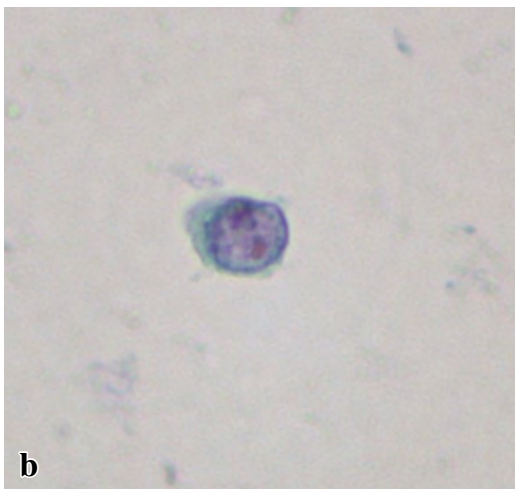
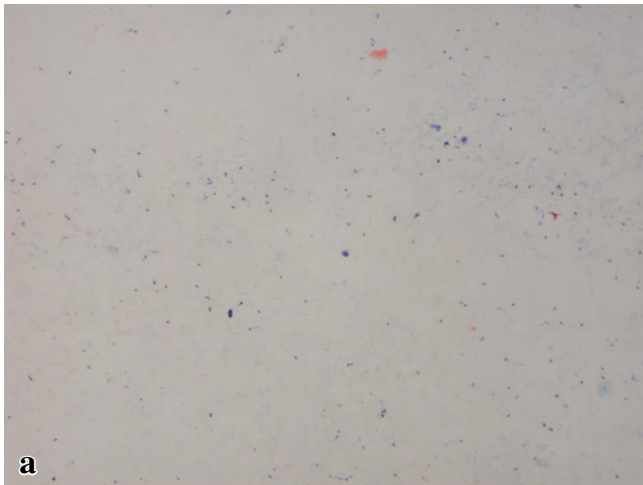


Photo. 4 a : Cytological features of the vulval lesion (Case 1, Papanicolaou staining, $\times 10$).
 b : Some isolated small cells with fine nuclear chromatin and a high N/C ratio are found. The cellular nuclei show multiple nucleoli, and cells with mild nuclear irregularities are also observed (Papanicolaou staining, $\times 40$).
 c : A cell with mutual inclusion is seen (Papanicolaou staining, $\times 40$).

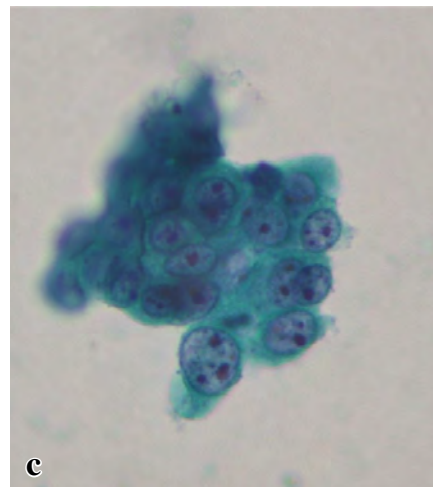
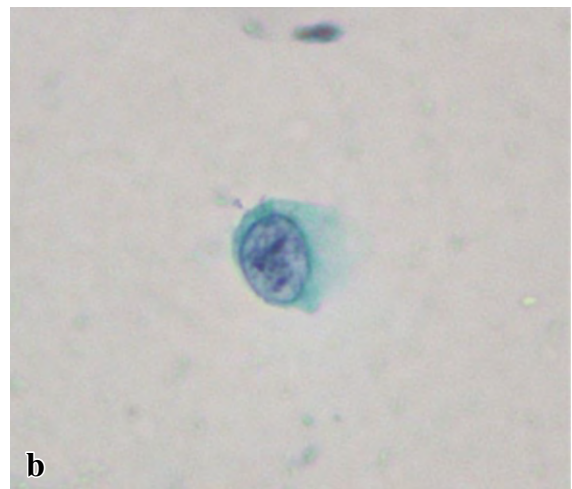
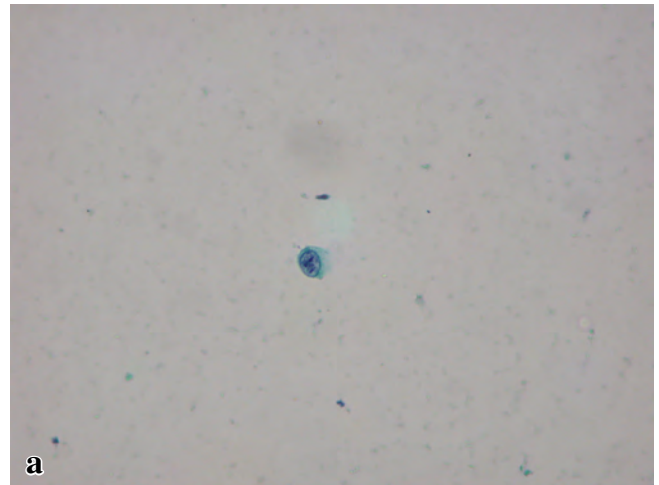


Photo. 5 a : Cytological features of the vulval lesion (Case 2, Papanicolaou staining, $\times 10$).
 b : Some isolated small cells with micro chromatin in the nuclei and a high N/C ratio are seen (Papanicolaou staining, $\times 40$).
 c : The section also shows a planar small clump composed of cells with a high N/C ratio, with the nuclei containing prominent nucleoli and fine chromatin (Papanicolaou staining, $\times 40$).

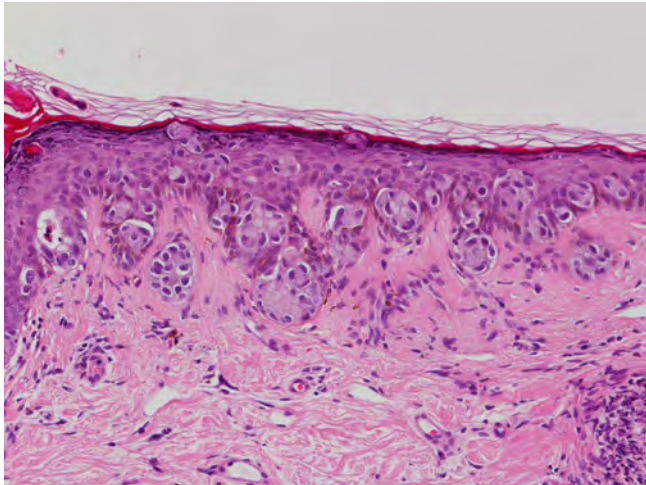


Photo. 6 Histological findings of Case 1. Atypical glandular epithelial cells occurring as isolated cells or forming small nests are diffusely distributed in the epidermis (HE staining, $\times 20$).

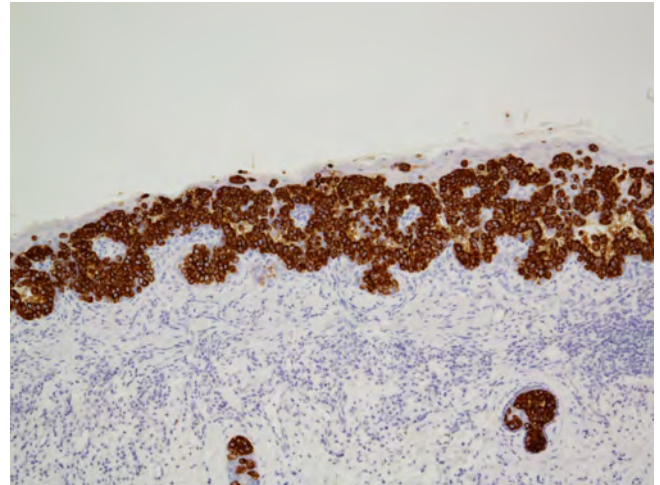


Photo. 7 Immunohistochemical findings of Case 1. The tumor cell cytoplasm shows positive staining for CK7 ($\times 10$).

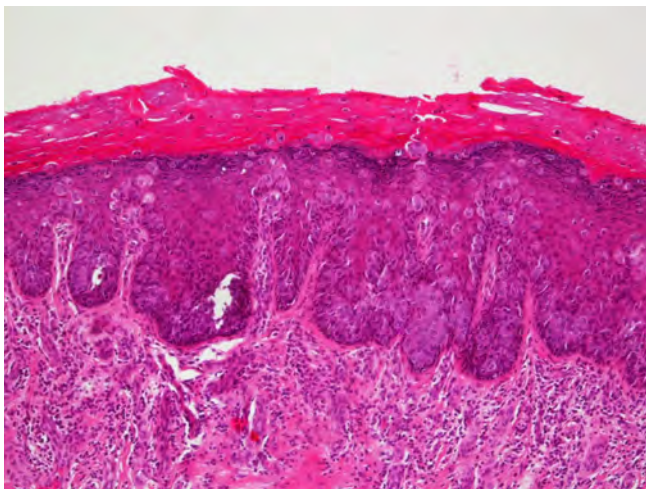


Photo. 8 Histological findings of Case 2. Atypical glandular epithelial cells that occurring as isolated cells or forming small nests are diffusely distributed in the epidermis. In addition, hyperkeratosis of the surface layer is observed. There were no lesions that extended beyond the basement membrane (HE staining, $\times 20$).

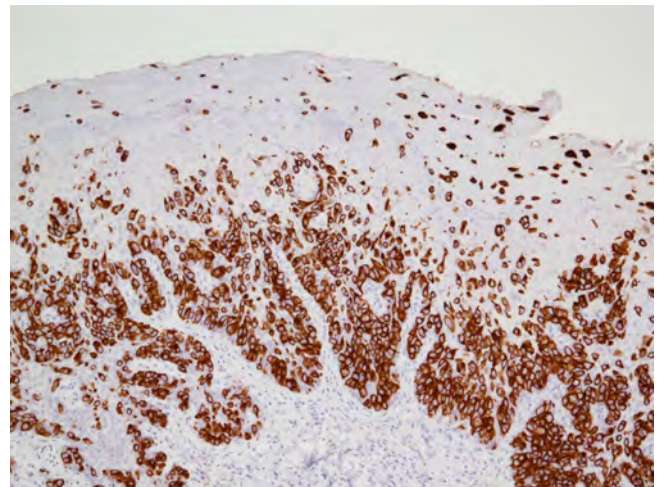


Photo. 9 Immunohistochemical findings of Case 2. The tumor cell cytoplasm shows positive staining for CK7 ($\times 10$).

陰性, GFDPF-15 および p16 ごく一部陽性で, 一次性 Paget 病の可能性が疑われた (Photo. 9).

V. 考 察

偏在傾向を示す異型細胞が孤立性または小型胞巣を形成し散在性に増殖していた (Photo. 6). 免疫組織化学的に, 腫瘍細胞は CK7 陽性, CK20 陰性であり, 一次性 Paget 病の可能性が疑われた (Photo. 7).

症例 2: 組織学的に, 表皮内に核の偏在した異型腺上皮細胞が孤立性または小型胞巣を形成し散在性に分布していた. また, 表層の過角化を認めた. 病変の広がり 10.5 $\times$ 7 cm におよんだが, 間質浸潤は認めなかった (Photo. 8). 免疫組織化学的に腫瘍細胞は CK7 陽性, p63 および CK20

Paget 病は, James Paget が 1874 年に乳房の病変として報告し, 肉眼的に湿疹様紅斑局面を呈する皮膚癌で, 淡明な細胞質を持つ大型の異型細胞 (Paget cell) により特徴づけられる表皮内腺癌である. アポクリン腺の豊富な腋窩, 乳腺, 外陰, 肛門周囲に認めることが多く, 乳腺由来の乳房 Paget 病とそれ以外の乳房外 Paget 病に分類される. 外陰 Paget 病は, 1901 年 Dubreuth が報告し認知されたが, 女性の外陰悪性腫瘍の約 2% とかなりまれな腫瘍である.

外陰部の悪性腫瘍の診断には、組織生検がもっとも重要であることに議論の余地はない。擦過細胞診はその部位の性格上、採取細胞数が少なく、また乾燥などの変性が加わることが多く有用性は低いとされているが、今回われわれは子宮頸部細胞診にて使用しているサーベックスブラシコンビ®を用いることにより、擦過細胞診で Paget 病を推定しえた症例を 2 例経験した。

外陰 Paget 病の細胞学的特徴は次の 5 点である⁴⁾。

- ①腫瘍細胞は平面的な孤立散在性で一部は集簇性に出現する。
- ②細胞は円形ないし類円形で胞体は明るく豊富で、細胞境界は明瞭。
- ③核は大型で中心に存在するかまたは偏在し、核クロマチンは顆粒状で不均等に分布する。
- ④核小体は肥大し著明で複数認めることもある。
- ⑤腫瘍細胞の相互封入や三日月形の核 (crescent formation) も特徴的所見。

今回経験した 2 例では、外陰部病変の擦過細胞診で N/C 比の高い小型細胞を認め、症例 1 では Paget 病に特徴的な相互封入像を認めたことから Paget 病を念頭に精査を行うことができた。症例 2 では相互封入像は認めなかったが、その他の 4 つの所見が認められたため、Paget 病の可能性が示唆された。

外陰 Paget 病には外陰部が原発の一次性 Paget 病以外に、肛門、直腸、膀胱、子宮頸部などに発生した悪性腫瘍が表皮内を進展した二次性 Paget 病が約 20% ある⁵⁾。一次性 Paget 病では 15% の症例で直下に腺癌を伴うことがあり、外科的に切除する際には十分広範囲に、かつ浅会陰筋膜までの深さの切除が必要になる⁶⁾。一次性和二次性の鑑別の一助として免疫組織化学が施行される。主な免疫組織化学の種類を Table 1 に示す⁷⁾。今回の 2 例とも CK7：陽性、CK20：陰性であり、原発性 Paget 病を示唆する結果であった。

外陰 Paget 病では擦過細胞診での陽性率が低いことがしばしば問題となる。その理由として、腫瘍細胞が病変部の皮膚深層にみられることが多いこと、初期の段階では病変部が痂皮で覆われ、擦過による採取細胞数が少ないことなどが挙げられる³⁾。Masukawa らは接触圧迫法で 5 例中 4 例に異型細胞が出現し、早期診断に細胞診は有用としているが⁸⁾、Birge や Woodruff らは否定的な見解を示しており^{9,10)}、本邦からの報告でも児玉らが 6 例中 2 例で陽性になったに過ぎず、早期診断上は必ずしも有用ではないとされている¹¹⁾。この否定的な見解の細胞採取法は綿棒による擦過であった。当院では過去 10 年間に本報告の 2 例を含め 8 例の外陰 Paget 病を経験した。過去の 6 例は微温生理食

Table 1 Immunohistochemistry of Paget's disease

Primary lesion	Positive	Negative
vulva	CK7, GCDFP-15	CK20
rectum, anus	CK20, CDX2	CK7, GCDFP-15
urothelium	CK7, CK20	GCDFP-15
cervix	p16	GCDFP-15

CK : cytokeratin, GCDFP : gross cystic disease fluid protein

塩水で湿潤した綿棒で病変を擦過していたが、十分な細胞数が採取されなかったことや乾燥していたことなどが原因で、細胞診陽性例は 3 例と陽性率は低かった。そこで今回提示した 2 例では、子宮頸部細胞診にて使用しているサーベックスブラシコンビ®を外陰擦過細胞診に用いることで採取細胞数が増加し、2 例とも腫瘍細胞を検出することが可能であったと推察される。サーベックスブラシコンビ®使用による欠点として擦過時の疼痛や費用などが挙げられる。実際には、いずれの症例でも外陰擦過時の疼痛を訴えることはほとんどなかった。一方、費用は綿棒の約 10 倍であるが、その差を考慮しても、ブラシを用いる方法は、採取細胞量の観点から優れている。しかしこの方法でも採取できた細胞数は十分量とはいえず、採取細胞数を増やすように検体採取法を検討することが重要であると考えられた。また外陰部擦過細胞診で陰性であっても、掻痒感や湿疹様紅斑の持続などの臨床所見がある場合は、Paget 病を念頭において鑑別をする必要がある。

VI. 結 語

外陰 Paget 病は初期であれば予後良好な疾患であり、早期診断が重要である。組織診を行えば診断は確実であるが、侵襲の高い検査である。検体採取法を検討することにより、細胞診においても、診断精度を高くすることが可能であり、高侵襲な組織診を回避できる可能性が示唆された。

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 54 回滋賀県臨床細胞学会学術集会および総会 (2017 年 2 月、守山) にて発表した。

Abstract

Background : Vulvar Paget's disease is a rare malignancy of the vulva. Herein, we describe the cytological features of two cases of vulvar Paget's disease in which the diagnosis was suspected from the findings of scraping cytology.

Case : Case 1 : An 82-year-old woman presented with a 2-year his-

tory of pruritus and redness of the vulva. Vulvar cytology revealed some small isolated cells with fine nuclear chromatin and a high N/C ratio. The cellular nuclei contained multiple nucleoli and many cells with mild nuclear irregularities were also observed. Furthermore, a cell with a mutual inclusion was also seen.

Case 2 : A 79-year-old woman was referred to us with a uterine myoma. Physical examination revealed extensive eczema-like erythema of the vulvar area. Vulvar scraping cytology revealed some small isolated cells with micro chromatin in the nuclei and a high N/C ratio. A small planar clump was also seen, composed of cells with a high N/C ratio, with the nuclei containing prominent nucleoli, and fine chromatin.

Conclusion : In cases with vulvar lesions where scraping cytology reveals glandular cells with atypical morphology, it is necessary to conduct detailed examination bearing in mind the possible diagnosis of Paget's disease. For effective vulvar scraping cytology, namely, to maximize the number of cells collected, use of a brush may be useful.

文 献

- 1) Parker, L. P., Parker, J. R., Bodurka-Bervers, D., Deavers, M., Bervers, M. W., Shen-Gunther, J., et al. Paget's disease of the vulva : pathology, pattern of involvement, and prognosis. *Gynecol Oncol* 2000 ; 77 : 183-189.
- 2) 森岡 幹, 宮本真豪, 安藤 智, 市原三義, 石川哲也, 奥田剛・ほか. 外陰 Paget 病の 2 例. *日本産科婦人科学会東京地方部会会誌* 2006 ; 55 : 99-102.
- 3) 楠田朋代, 永井宣隆, 上馬場是美, 向井啓司, 平田英司, 澤崎 隆・ほか. 外陰 Paget 病の細胞像. *日臨細胞会広島会誌* 2002 ; 23 : 10-14.
- 4) 日本臨床細胞学会. *細胞診ガイドライン 1 婦人科・泌尿器* 2015 年版. 東京 : 金原出版 ; 2015. 27.
- 5) Wilkinson, E. J., Brown, H. M. Vulvar Paget disease of urothelial origin : a report of three cases and a proposed classification of vulvar Paget disease. *Hum Pathol* 2002 ; 33 : 549-554.
- 6) 寒河江悠介, 渡邊のぞみ, 稲田収俊, 宮崎有美子, 横山玲子, 坂田晴美・ほか. 免疫染色が診断に有用であった続発性外陰 Paget 病の 1 例. *産婦の進歩* 2013 ; 65 : 402-407.
- 7) Kurman, R. J., Ronnett B. M., Sherman, M. E., Wilkinson E. J. *Atlas of Tumor Pathology, 4th Series, Fascicle 13- Tumors of Cervix, Vagina & Vulva. USA : Armed Forces Institutes of Pathology* : 2011. 334-339.
- 8) Masukawa, T., Friedrich, E. G. Jr. Cytopathology of Paget's disease of the vulva. *Diagnostic abrasive cytology. Acta Cytol* 1978 ; 22 : 476-478.
- 9) Birge, E. A., Cron, R. S., Madden, W. Paget's disease of the vulva. *Obstet Gynecol* 1958 ; 12 : 425-429.
- 10) Woodruff, J. D., Williams, T. F. Jr. The dopa reaction in Paget's disease of the vulva : report of a case. *Obstet Gynecol* 1959 ; 14 : 86-90.
- 11) 児玉省二, 小幡憲郎, 半藤 保, 後藤 明, 竹内正七, 永井絵津子. 外陰部 Paget 病の細胞診とその病理組織像. *日臨細胞会誌* 1982 ; 21 : 104-111.

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.jssc.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/jjssc/>

4. 執筆要項

1) 文章と文体

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

の限りではない。英文での投稿原稿の場合も和文の場合に準ずる。

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

2) 原稿の書き方 (電子投稿でない場合)

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

3) 電子ファイル

以下の電子ファイル形式を推奨する。

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

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

4) 総説・原著・調査報告・症例報告・短報論文の様式

(1) 構成

タイトルページ, 内容抄録, 索引用語 (key words), 本文, 利益相反状態の開示, 英文抄録, 文献, 写真, 図, 表の順とする。原稿には通し頁番号をふる。タイトルページ (1 枚目) には, 当該論文における修正稿回数 (初回, 修正 1 など), 論文の種別 (原著, 症例報告, 短報など), 和文の表題 (50 字以内), 著者名, 所属のほかに論文別刷請求先, 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使用する場合は、原著者 (あるいは団体) より投稿論文を電子公開することを含めた許諾が必要で、これを証明

する書類を添付する。

(8) 図・表・写真

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

5) 特集論文の様式

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

6) 読者の声

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

- (1) 表題は和文50字以内とする. 表題に相当する英文も添える.

改行して本文を記述する.

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

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

7) 英文投稿の場合

A4縦にダブルスペースで10頁以内とする.

和文抄録を付し, 図・表その他は和文の場合に準ずる.

5. 別 刷

別刷を希望するときは, 校正時に部数を明記して申し込む.

6. 論文の審査

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

とる. 原稿の組体裁, 割付は編集委員会に一任する.

7. 校 正

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

8. 掲 載 料

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

9. 依頼原稿

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

依頼原稿の著者は, 日本臨床細胞学会会員に限らない.

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

10. 本規定の改定

投稿規定は改定することがある.

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

添付1 Acta Cytologica への投稿について

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

添付2 以下の2項目は毎年1号に掲載する.

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

NOTICE TO CONTRIBUTORS

1. Authorial responsibility :

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

2. Categories of articles published :

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

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

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

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

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

5) All authors will be required to complete a conflict of interest disclosure form as part of the initial manuscript submission process. The corresponding author is responsible for obtaining completed forms from all authors of the manuscript. The form can be downloaded from (<http://www.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)
- (Partial revision January 2017)

Appendix 1. Submission of manuscripts to *Acta Cytologica*

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

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

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

日本臨床細胞学会編集委員会 (平成 29 年～30 年)

委員長: 竹島信宏

担当理事: 井上健

委員: 伊藤以知郎
富永英一郎

幹事: 岡田真也

査読委員: 相島慎一

阿部英二

有廣光司

池田聡

石谷健

伊東恭子

今野元博

岩田卓

白田実男

梅澤敬

遠藤浩之

大金直樹

太田善夫

大森真紀子

岡本吉明

小野瀬亮

柿沼廣邦

梶原直央

加藤一喜

金尾祐之

鴨井青龍

河原明彦

紀川純三

北澤莊平

京哲

久山佳代

小島淳美

小林佑介

近内勝幸

佐川元保

佐藤慎也

塩澤哲

島田宗昭

白波瀬浩幸

杉山裕子

進伸幸

三上芳喜

岡本三四郎

古田則行

河内茂人

青木裕志

安倍秀幸

有馬良一

池田純一郎

出馬晋二

伊藤雅文

今村好章

上田善彦

内田克典

浦野誠

小穴良保

大亀真一

大塚重則

緒方衝

小倉豪

尾松公平

垣花昌俊

梶原博

加藤拓

金山清二

川越俊典

河原栄

菊池朗

北澤理子

清川貴子

黒川哲司

小島勝

小林陽一

齊尾征直

桜井孝規

佐藤誠也

品川明子

清水和彦

白山裕子

鈴木淳

関田信之

九島巳樹

星利良

谷川輝美

明石京子

阿部仁

飯田哲士

池本理恵

磯西成治

稲田健一

井村穰二

上原剛

内田好明

卜部省悟

及川洋恵

大久保文彦

大野喜作

岡輝明

小椋聖子

小山田裕行

郭翔志

加勢宏明

加藤智美

金子千之

川崎朋範

河原邦光

木佐貫篤

北村隆司

草苅宏有

黒住昌史

小塚祐司

小宮山慎一

齋藤生朗

笹川寿之

佐藤美紀子

澁木康雄

清水道生

菅井有

鈴木直

関根浄治

清水健

的田真紀

明瀬光里

荒木邦夫

伊倉義弘

石井真美

井谷嘉男

井野元智恵

伊豫田明

宇佐美知香

宇津木久仁子

卜部理恵

大井章史

大崎博之

大林千穂

岡俊郎

尾崎聡

小山徹也

覚野綾子

片岡竜貴

加藤利奈

鹿股直樹

川瀬里衣子

河村憲一

岸野万伸

木下勇一

串田吉生

黒瀬圭輔

小西登

小山芳徳

坂谷貴司

佐々木素子

郷久晴朗

渋谷秀美

清水禎彦

杉島節夫

鈴木雅子

園田顕三

芹澤昭彦

矢納研二

秋葉純

有泉泰

池田仁恵

石岡伸一

市原周

今井裕

岩井幸子

碓井宏和

馬屋原健司

江口正信

大石徹郎

大崎能伸

大原樹

岡部義信

尾崎敬

甲斐敬太

笠井孝彦

片山博徳

門田球一

神尾多喜浩

河野光一郎

川村直樹

鬼島宏

木村文一

工藤明子

黒田一

小林裕明

近藤英司

坂本優

笹秀典

澤崎隆

渋谷潔

下釜達朗

杉谷雅彦

鈴木正人

駄阿勉

寺井義人

阿部彰子

有田茂実

池田桂子

石川雄一

市村友季

今井律子

岩崎雅宏

薄田勝男

梅澤聡

蝦名康彦

大井恭代

大谷博

大平達夫

岡本聡

小田義直

利部正裕

笠松高弘

香月奈穂美

加戸伸明

神山晴美

河野裕夫

神田浩明

岸本浩次

喜友名正也

久布白兼行

黒田誠

小林博久

近藤哲夫

嵯峨泰

佐治晴哉

澤田達男

渋谷信介

下条久志

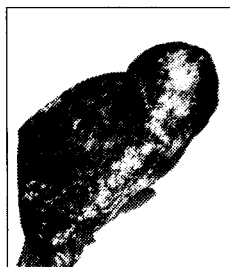
杉山徹

鈴木美和

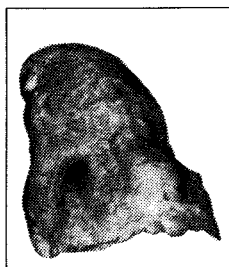
多比良朋希

高倉 聡	高田 恭臣	高野 忠夫	高橋 顕雅	高橋 恵美子	高橋 円
高橋 芳久	高松 潔	田口 健一	田口 雅子	武井 英博	竹井 裕二
竹下 盛重	武田 麻衣子	武田 玲郁	竹原 和宏	田尻 琢磨	田勢 亨
橘 啓盛	楯 真一	田中 一朗	田中 耕平	田中 尚武	田中 浩彦
田中 綾一	田中 良太	棚田 諭	田沼 順一	田畑 務	玉田 裕
田村 浩一	千 酌 潤	塚田 ひとみ	塚本 徹哉	辻 浩介	都島 由紀雄
津田 浩史	土田 秀	筒井 英光	角田 肇	寺戸 信芳	寺畑 信太郎
寺本 典弘	寺本 瑞絵	土居 正知	田路 英作	徳田 雄治	渡具 知 克
徳永 英樹	戸澤 晃子	富田 裕彦	豊島 将文	豊田 進司	鳥居 貴代
内藤 嘉紀	中泉 明彦	中尾 佳史	長坂 徹郎	中里 宜正	中澤 久美子
長嶋 健	永瀬 智	中山 行雄	中塚 伸一	中村 栄男	仲村 勝
中村 力也	中山 淳	中山 富雄	中山 宏文	南部 雅美	新倉 仁
西尾 浩	西ヶ谷 順子	西川 鑑	錦見 恭子	西野 幸治	西村 由香里
西村 理恵子	西森 誠	西山 憲一	布引 治	野田 裕	能登 原憲司
野中 道子	野村 秀高	野村 弘行	野本 靖史	則松 良明	羽賀 博典
端 晶彦	橋口 真理子	長谷川 清志	長谷川 哲哉	畠 榮	畑中 一仁
秦 美暢	蜂須賀 徹	服部 学	羽鳥 努	羽原 利幸	濱川 真治
林 茂徳	林 俊哲	原田 憲一	坂東 健次	阪埜 浩司	東田 太郎
東 美智代	樋口 佳代子	姫路 香里	平沢 晃	平田 哲士	平林 健一
廣井 禎之	廣川 満良	廣島 健三	廣田 誠一	福島 裕子	福島 万奈
福留 伸幸	福屋 美奈子	藤井 丈士	藤田 茂樹	藤田 勝	伏見 博彰
藤山 淳三	藤原 潔彦	藤原 寛行	二神 真行	古田 玲子	古旗 淳
干川 晶弘	星田 健太	増田 し のぶ	堀 由美子	本間 慶一	前田 純一
前田 祐介	増岡 和子	松下 宏隆	町田 知久	松井 成明	松浦 基樹
松浦 光司	松本 慎二	松元 隆之	松田 陽子	松永 淳子	松林 純世
松本 喜明	三浦 弘守	三浦 弘之	丸川 活司	丸田 淳子	丸山 康博
三橋 暁	皆川 幸久	湊 宏	三上 幹男	水野 美香	三田 明弘
宮井 由美	宮城 悦子	宮城 淳	南口 早智子	南 優子	三村 明子
宮本 朋幸	棟方 哲	村田 哲也	三宅 真司	三宅 康之	宮嶋 葉子
森定 徹	森澤 宏行	森下 明博	望月 紀英	元井 康浩	元木 葉子
安岡 弘直	安田 政実	矢田 直美	森下 由紀雄	柳井 広之	森村 豊
矢野 博久	山上 亘	山口 知彦	谷田 部 恭	山崎 龍王	矢野 恵子
山田 壮亮	山田 恭輔	山田 隆司	山口 隆	山田 鉄也	山下 博
山本 晃人	山元 英崇	横井 豊治	山田 英明	横瀬 智之	山田 範幸
山横 山宗伯	横山 良仁	吉岡 治彦	横尾 明彦	吉田 浩一	横山 勤
吉田 朋美	吉野 潔	吉見 直己	吉澤 明	米山 剛一	梁 善光
若 狭 朋子	鷺谷 清忠	和田 直樹	米田 邊 純	渡辺 寿美子	渡部 洋

(50 音順)

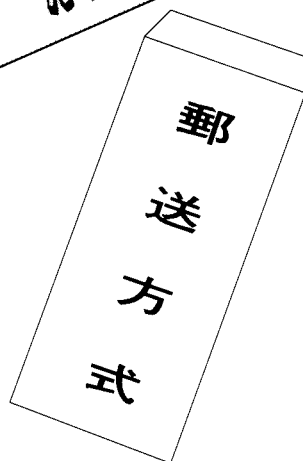


左側：長期間喫煙者の肺



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

