

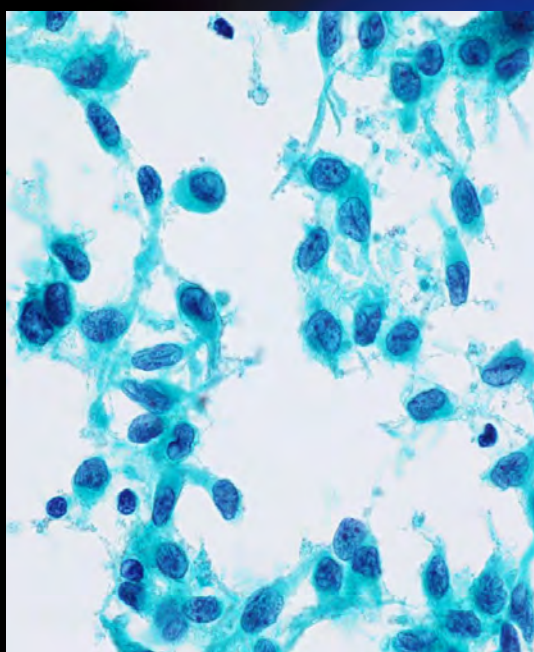
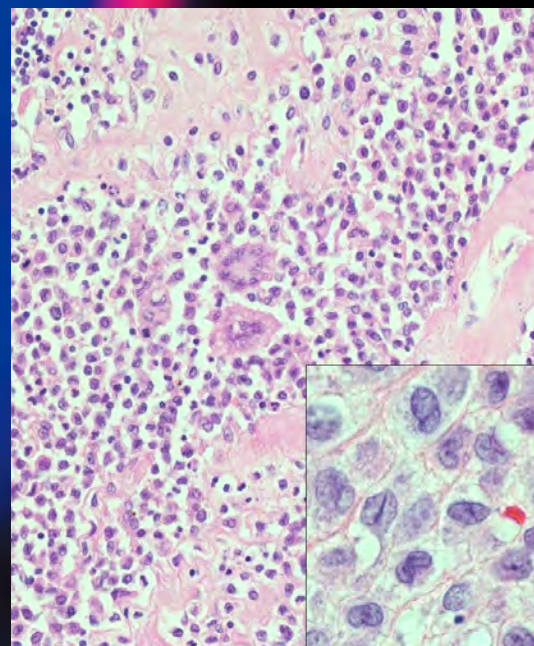
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日 臨 細 胞 誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第57巻 第3号 平成30年5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.
May 2018

3

目 次

編集委員巻頭言	芹澤 昭彦
---------	-------

〈原 著〉

甲状腺髄様癌の細胞診断学的特徴の究明

.....野口病院研究検査科 丸田 淳子・他 (151)

Cellprep 法による子宮頸部細胞診の評価

.....公益財団法人佐々木研究所附属杏雲堂病院検査科 小瀬木輪子・他 (159)

〈症 例〉

肺癌検診喀痰細胞診で発見されたⅠ期上咽頭癌とⅠ期肺小細胞癌の重複癌の 1 例

.....公益財団法人ちば県民保健予防財団病理・細胞診断科 田口 明美・他 (169)

甲状腺に病変を形成したランゲルハンス細胞組織球症の 1 例

.....群馬大学医学部附属病院病理部 竹渕 友弥・他 (177)

超音波気管支鏡ガイド下針生検（EBUS-TBNA）で推定可能であった線維形成性小円形細胞腫瘍の 1 例

.....秀和総合病院検査科病理 瀬戸口知里・他 (183)

投稿規定	(189)
------	------------

編集委員会	(196)
-------	------------

＊

〈表紙写真〉

ランゲルハンス細胞組織球症

（左：パパニコロウ染色，右：H-E 染色）（竹渕友弥・他，左：Photo. 2b, 179 頁，右：Photo. 3b, 180 頁）

CONTENTS

Editorial.....	Akihiko Serizawa
----------------	------------------

Original Articles

Determination of the cytologic features of medullary thyroid carcinoma Junko Maruta, et al. (Dept. of Path., Noguchi Thyroid Hosp. and Foundation, Oita)	(151)
Evaluation and application of Cellprep for cervical cytology Rinko Ozeki, et al. (Dept. of Lab. Med., Sasaki Inst., Kyoundo Hosp., Tokyo)	(159)

Clinical Articles

A case of stage I nasopharyngeal carcinoma combined with stage I small cell lung cancer detected with sputum cytology during lung cancer screening Akemi Taguchi, et al. (Chiba Foundation for Health Promotion and Disease Prevention, Chida)	(169)
A case of Langerhans cell histiocytosis of the thyroid gland Tomoya Takebuchi, et al. (Dept. of Path., Gunma Univ. Hosp., Gunma)	(177)
A case of desmoplastic small round cell tumor suspected by the findings of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration cytology (EBUS-TBNA) Chisato Setoguchi, et al. (Dept. of Path., Shuuwa General Hosp., Saitama)	(183)
Notice to contributors.....	(189)

Cover Photo

Langerhans cell histiocytosis (Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Tomoya Takebuchi, et al., Left : Photo. 2b, p179, Right : Photo. 3b, p180)	
---	--



編 集 委 員 卷 頭 言

Akihiko Serizawa

芹 澤 昭 彦

東海大学医学部附属病院病理検査技術科

▶ 年度とスタート



平成27年度より編集委員を努めてさせていただき早3年が経ちました。伝統と権威がある日本臨床細胞学会誌の編集に携わることができる事は身に余る光栄であるとともに、私に課せられた重責に日々身の引き締まる次第でございます。若輩者ですがより良い学会誌に貢献できるよう引き続き頑張りますのでよろしくお願いいたします。

私が現在執筆している巻頭言における関東は例年に比べ少し早い開花となりましたが、まさに桜が満開となっており綺麗な桜吹雪に心躍る季節となっております。桜といえば4月の年度ははじめの季節であり、皆様の職場におきましても新職員、新入生を迎え新たなスタートとなっているかと思われます。この「年度」であります。諸外国でもあるようですが、そのスタートの月や行事が異なるようです。学校年度におきましては、アメリカ、ヨーロッパ、中国では9月、韓国では3月。会計年度におきましては、アメリカは10月、ヨーロッパや中国は1月だそうです。それに対し日本では、学校や会計をはじめ他の行事におきましても4月スタートが多いようです。このことは四季がある日本ならではの、冬から春にかけて桜を代表とする草花が目覚め咲き始め、新しい命も多く生まれるこの季節がスタートの「年度」と非常にマッチしていると思います。

日本臨床細胞学会雑誌第57巻第3号では、2編の原著論文、3編の症例報告の執筆をいただいております。

原著論文においては、小瀬木輪子らの「Cellprep法による子宮頸部細胞診の評価」では、風圧併用型フィルター転写法（Cellprep法）を用いた液状化細胞診（LBC）の検討として、子宮頸部標本223例を従来法と比較しております。Cellprep標本では壊死、炎症性細胞、病原性微生物などの背景情報も保存されており、細胞の大きさや形も大きな変化は認められず、特に子宮頸部高度病変の検出感度は従来法に比べ高く、Cellprep法におけるLBC法の有用性が報告されています。丸田淳子らの「甲状腺髄様癌の細胞診断学的特徴の究明」では、髄様癌の細胞像が多彩性を示すことにより、正診率のバラツキや検者間に誤差を生じやすいことから、検者間誤差の生じにくい細胞所見や計測値を用いて、髄様癌の診断への応用とその結果からアルゴリズムの作成の検討を行っています。髄様癌の診断に有用な所見として、粗顆粒状のクロマチン、4核以上の多核腫瘍細胞、アミロイドに加え、核の



縦横比や核の長径の最小値と最大値の比を詳細に解析しロジスティック回帰分析により髄様癌 7 例を推定しえたと、とても客観性が持てる結果となっており、さらには、アルゴリズムを用いることにより検者間誤差や施設間差の解消に有用と思われました。

症例報告は、竹渕友弥らの「甲状腺に病変を形成したランゲルハンス細胞組織球症の 1 例」では、ランゲルハンス細胞組織球症が 17 年の経過で症状が悪化した症例に対し、甲状腺穿刺細胞診検体とまれであるが細胞学的特徴を捉えることが肝要と考察されています。田口明美らの「肺癌検診喀痰細胞診で発見された I 期上咽頭癌と I 期肺小細胞癌の重複癌の 1 例」では、上咽頭癌と小細胞癌それぞれが I 期で発見されるのは比較的まれであるのに関わらず、両者がともに I 期で発見されたというとても貴重な症例です。小細胞癌の腫瘍細胞は検出できなかったものの、上咽頭癌の異型細胞を検診で判定できたことにより重複癌を発見できた細胞診が有用な症例でした。瀬戸口知里らの「超音波気管支鏡ガイド下針生検 (EBUS-TBNA) で推定可能であった線維形成性小円形細胞腫瘍の 1 例」では、近年、増えつつある超音波気管支鏡ガイド下針生検 (EBUS-TBNA) での、円形細胞腫瘍について細胞学的な所見に加え免疫細胞化学染色においても詳細に考察されています。以上、症例報告は 3 編です。いずれの症例報告においても、普段、われわれが経験することが少ないまれな腫瘍において、臨床学的、細胞学的、文献的にも詳細に考察されており、日常における細胞診断業務に役立つ有意義な論文と思われます。

最後であります。2018 年 11 月 17、18 日に、当院病理学の中村直哉教授が学会長を務めさせていただき、第 57 回日本臨床細胞学会秋期大会がパシフィコ横浜で開催されます。多くの会員の皆様に参加いただくことをお願いするとともに、多くの演題も発表いただき、その研究成果を日本臨床細胞学会雑誌にぜひとも投稿いただけるよう合わせてお願い申し上げます。

原 著

甲状腺髄様癌の細胞診断学的特徴の究明

丸田 淳子¹⁾ 廣川 満良²⁾ 佐々木栄司³⁾ 越川 卓⁴⁾
加藤 良平⁵⁾ 坂本 穆彦⁶⁾

野口病院研究検査科¹⁾, 隈病院病理診断科²⁾, 伊藤病院診断技術部³⁾

修文大学看護学部看護学科⁴⁾, 山梨大学人体病理学⁵⁾, 大森赤十字病院検査部⁶⁾

目的：甲状腺髄様癌の細胞診所見について検者間誤差の生じにくい細胞所見と核の計測値を用いて診断に有用な所見を検索し、診断率向上と診断のアルゴリズムの提案を検討する。

方法：髄様癌 78 例、乳頭癌 20 例、低分化癌 20 例、濾胞癌 20 例の細胞診標本を対象に、細胞形態学的鑑別、細胞計測、統計学的解析を行い、髄様癌の鑑別に有用な項目を求めた。

成績：髄様癌の診断に有用な所見は、1) 粗顆粒状のクロマチン、2) 4 核以上の多核腫瘍細胞、3) アミロイド、4) 核の縦横比 1.6 以上、5) 核の縦横比 CV 25% 以上、6) 核の長径の最小値と最大値の比 3.7 以上であった。これらの所見は髄様癌 59 例に認められ、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌には認められなかった。さらに、ロジスティック回帰分析により髄様癌 7 例を推定した。

結論：検者間誤差が生じにくい細胞所見および計測値を用いたアルゴリズムを用いることにより、髄様癌の 84.6% が診断可能であった。

Key words : Thyroid, Aspiration, Algorithm, Medullary carcinoma

I. はじめに

髄様癌は甲状腺癌の 5~10% を占め、1/3 が遺伝性である^{1,2)}。通常はエコーで指摘された腫瘍に細胞診を施行して

髄様癌が判明し、その後遺伝子検査が実施される。他の臨床所見、たとえば家族歴や血清カルシトニン測定などで髄様癌が疑われている症例においては、細胞診で髄様癌を推定することはさほど問題ないが、非遺伝性（散発性）症例では、細胞診による髄様癌推定は重要であるが必ずしも容易ではない。

髄様癌の正診率は 11.8~87.5%^{3~5)}で、特徴的核所見が広く知られ正診率の高い乳頭癌に比べると、必ずしも高くない。これは、髄様癌がまれな疾患であることに加えて、細胞像の多彩性から特有な所見が理解されていないことに起因している⁶⁾。そのため、細胞診検査とともに穿刺針の洗浄液を用いたカルシトニン測定^{7,8)}や免疫細胞学的検索⁹⁾を行うことにより診断率が上昇するとの報告がある。しかしながら、それらを実施できる施設は限られており、実施する場合も細胞形態にて髄様癌の可能性を示す必要がある。今回、われわれは、検者間誤差の生じにくい細胞所見と計測値を用いて髄様癌の診断が可能かを検討し、その結果を報告するとともに診断のアルゴリズムの提案を検討した。

Determination of the cytologic features of medullary thyroid carcinoma

Junko MARUTA¹⁾, C. T. I. A. C., Mitsuyoshi HIROKAWA²⁾, M. D., F. I. A. C., Eiji SASAKI³⁾, C. T. I. A. C., Takashi KOSHIKAWA⁴⁾, M. D., F. I. A. C., Ryohei KATOH⁵⁾, M. D., Atsuhiko SAKAMOTO⁶⁾, M. D., F. I. A. C.

¹⁾Department of Pathology, Noguchi Thyroid Hospital and Foundation

²⁾Department of Diagnostic Pathology and Cytology, Kuma Hospital

³⁾Department of Laboratory, Ito Hospital

⁴⁾Department of Pathology, Shubun University Faculty of Nursing

⁵⁾Department of Pathology, University of Yamanashi

⁶⁾Department of Laboratory Medicine, Omori Red Cross Hospital

論文別刷請求先 〒 874-0902 大分県別府市青山町 7 の 52 野口病院研究検査科 丸田 淳子

平成 29 年 3 月 24 日受付

平成 30 年 2 月 5 日受理

Table 1 Cytological findings of thyroid carcinomas

	MTC (n=78)	PTC (n=20)		FTC (n=20)		PDC (n=20)	
	n (%)	n (%)	p *	n (%)	p *	n (%)	p *
Salt and pepper chromatin	46 (59.0)	0 (0)	<0.01	0 (0)	<0.01	0 (0)	<0.01
Nuclear grooves	2 (2.6)	20 (100)	<0.01	1 (5.0)	NS	8 (40.0)	<0.01
Intranuclear cytoplasmic inclusions	6 (7.7)	17 (85.0)	<0.01	1 (5.0)	NS	4 (20.0)	NS
Multinucleated carcinoma cells (≥4)	7 (9.0)	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS
Amyloid	12 (15.4)	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS

MTC, medullary thyroid carcinoma ; PTC, papillary thyroid carcinoma ; FTC, follicular thyroid carcinoma ;

PDC, poorly differentiated carcinoma

* Corrected Bonferroni χ^2 test NS, Not Significant

II. 対象および方法

2001年1月～2015年3月の間に医療法人野口病院にて甲状腺摘出術を施行した18479例（甲状腺癌7582例）のうち髄様癌は90例（0.49%）であり、そのうち術前の穿刺吸引細胞診にて検体適正であった78例〔男：女、25：53、年齢16～89歳（中央値54歳）、腫瘍径3～65mm（中央値15mm）〕を対象とした。穿刺は超音波ガイド下で22G針にて行われた。用いた標本は合わせ法にて作製した95%アルコール固定Papanicolaou染色標本であり、これらの細胞所見の見直しを後ろ向きに行った。

検者間誤差の生じにくい所見として、粗顆粒状クロマチン、核の溝、核内細胞質封入体、多核腫瘍細胞、アミロイドを選択した。粗顆粒状クロマチンは核の中に明らかな顆粒状の凝集が複数個ある細胞が出現細胞の大部分を占める場合を所見あり、核の溝は出現細胞の1/10程度にみられる場合を所見あり、核内細胞質封入体と多核腫瘍細胞は1つでもあれば所見ありとした。アミロイドは、1. 背景に液状のコロイド成分がない、2. ライト緑好性、3. 無構造物質、4. 均一あるいは中心部が周辺部に比してやや濃い染色性、5. 凹凸のある歪な形状、6. 辺縁が不明瞭、7. 腫瘍細胞と接している、等の所見から総合的に判定し、標本中に少量でもあれば所見ありとした。細胞診標本が複数枚ある場合は細胞量の最も多い標本で前述の所見の出現率を求めた。

核面積と核の周囲長の計測をオリンパスBX53、CellSensVer. 1.6にて1例につき200個行った。それらの計測値から楕円近似により核の縦横比（長径と短径の比）、長径を算出した。縦横比にて核の形状を類円形核（縦横比<1.35）、卵円形核（1.35≤縦横比<1.6）、紡錘形核（縦横比≥1.6）に分類し、各症例における形状の出現率をみた。核の形状のばらつきは核の縦横比の変動係数（CV；coefficient of variation）を、核の大小不同は長径の最小値と最大値の比を用いて比較した。

髄様癌の比較対象として、同期間から乳頭癌20例〔男：女、4：16、年齢12～89歳（中央値63歳）、腫瘍径8mmから65mm（中央値26mm）〕、濾胞癌20例〔男：女、4：16、年齢25～89歳（中央値53歳）、腫瘍径7mmから55mm（中央値26mm）〕、低分化癌（WHO分類）¹⁾20例〔男：女、6：14、年齢20～89歳（中央値73歳）、腫瘍径8～65mm（中央値37mm）〕を無作為に抽出して同様に検討した。

統計学的解析はSAS JMP8.0 (Institute Inc., Cary, NC., U. S. A) を用いて、 χ^2 検定、Dunnnett検定、順位検定、ロジスティック回帰分析を行った。

III. 結 果

1. 細胞所見 (Table 1)

粗顆粒状クロマチンは髄様癌の78例中46例（59.0%）にみられ、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌ではみられなかった。核の溝と核内細胞質封入体は髄様癌、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌のいずれにも出現したが、乳頭癌ではそれぞれ20例中20例（100%）と20例中17例（85.0%）と高頻度であった。2核以上の多核腫瘍細胞は、髄様癌の43.6%、乳頭癌の5.0%、低分化癌の5.0%にみられた。3核以上の多核腫瘍細胞は、髄様癌の9.0%、低分化癌の5.0%にみられた。4核以上の多核腫瘍細胞は髄様癌78例中7例（9.0%）にみられたが、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌では確認されなかった。髄様癌における多核腫瘍細胞は核が紡錘形よりも円形の形状を示す症例で多くみられた。アミロイドは髄様癌の78例中12例（15.4%）にみられ、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌では出現しなかった。

粗顆粒状クロマチン、4核以上の多核腫瘍細胞、アミロイドは、いずれも髄様癌のみに出現し、これらの所見のうち少なくとも一つがみられる髄様癌は78例中53例（67.9%）であった。

Table 2 Nuclear sizes and aspect rates of thyroid carcinomas

	MTC (n=78)	PTC (n=20)	p*	FTC (n=20)	p*	PDR (n=20)	p*
	Ave. $\pm$ SD (Range)	Ave. $\pm$ SD (Range)		Ave. $\pm$ SD (Range)		Ave. $\pm$ SD (Range)	
Nuclear size (μm^2)	40.5 $\pm$ 13.8 (20.9-100.4)	51.0 $\pm$ 10.4 (34.9-65.6)	<0.01	47.1 $\pm$ 15.5 (31.1-79.6)	NS	53.6 $\pm$ 13.3 (28.7-79.1)	<0.01
Nuclear aspect rate	1.38 $\pm$ 0.15 (1.16-1.88)	1.31 $\pm$ 0.06 (1.25-1.47)	0.05	1.20 $\pm$ 0.17 (1.11-1.29)	<0.01	1.26 $\pm$ 0.09 (1.14-1.51)	<0.01

MTC, medullary thyroid carcinoma ; PTC, papillary thyroid carcinoma ; FTC, follicular thyroid carcinoma ; PDC, poorly differentiated carcinoma *Dunnett test

Table 3 Nuclear shapes of thyroid carcinomas

Shape	MTC (n=78)	PTC (n=20)	p*	FTC (n=20)	p*	PDC (n=20)	p*
	n (%)	n (%)		n (%)		n (%)	
Round nuclei (aspect rate < 1.35)	41 (52.6)	17 (85.0)	NS	20 (100)	NS	18 (90.0)	NS
Oval nuclei (1.35 $\leq$ aspect rate < 1.6)	31 (39.7)	3 (15.0)	NS	0 (0)	NS	2 (10.0)	NS
Spindle nuclei (aspect rate $\geq$ 1.6)	6 (7.7)	0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS

MTC, medullary thyroid carcinoma ; PTC, papillary thyroid carcinoma ; FTC, follicular thyroid carcinoma ; PDC, poorly differentiated carcinoma

*Corrected Bonferroni rank test NS, Not Significant

2. 核の画像解析

1) 核面積と核の縦横比 (Table 2)

髄様癌の平均核面積は $40.5 \pm 13.8 \mu\text{m}^2$ で、乳頭癌 ($51.0 \pm 10.4 \mu\text{m}^2$; $p < 0.01$) や低分化癌 ($53.6 \pm 13.3 \mu\text{m}^2$; $p < 0.01$) 比して有意に小さく (Dunnett 検定), 濾胞癌との有意差はなかった. 髄様癌の核の平均縦横比は 1.38 ± 0.15 で、乳頭癌 (1.31 ± 0.06 ; $p = 0.05$), 濾胞癌 (1.20 ± 0.17 ; $p < 0.01$), 低分化癌 (1.26 ± 0.09 ; $p < 0.01$) のいずれよりも大きかった (Dunnett 検定).

2) 核の形状 (Table 3)

核の形状は、類円形核 (縦横比 < 1.35, Photo. 1), 卵円形核 ($1.35 \leq$ 縦横比 < 1.6, Photo. 2), 紡錘形核 (縦横比 $\geq$ 1.6, Photo. 3) に分類した. 髄様癌 78 例中 41 例 (52.6%) が類円形核, 31 例 (39.7%) が卵円形核, 6 例 (7.7%) が紡錘形核であった (Table 3). 乳頭癌では 20 例中 17 例 (85.0%) が類円形核, 3 例 (15.0%) が卵円形核であった. 濾胞癌は 20 例中 20 例 (100%) が類円形核であった. 低分化癌では 20 例中 18 例 (90.0%) が類円形核, 2 例 (10.0%) が卵円形核であった.

紡錘形核は髄様癌のみに出現し、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌では出現しなかったが、類円形核、卵円形核、紡錘形核のいずれの出現頻度に関しても他の腫瘍との間に有意差

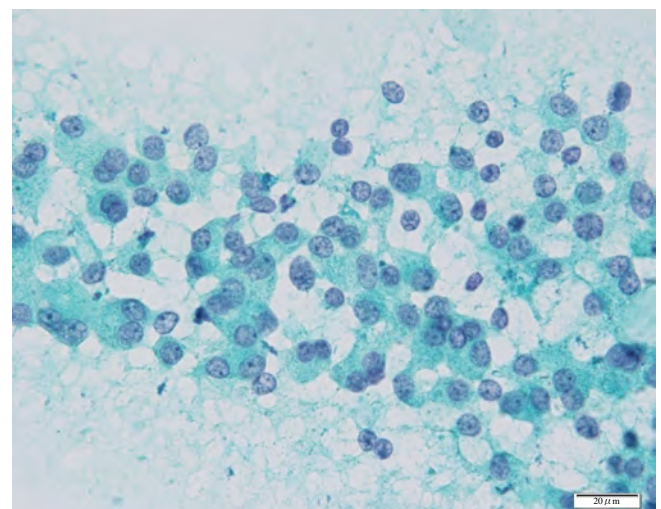


Photo. 1 Medullary thyroid carcinoma : round nuclei (aspect ratio 1.27) (Papanicolaou staining, $\times 40$).

はなかった.

3) 核の縦横比の変動係数 (Table 4)

Table 4 に核の縦横比の CV を示す. CV 20% 以上は髄様癌 78 例中 40 例 (51.3%), 乳頭癌 20 例中 2 例 (10.0%), 濾胞癌 20 例中 0 例 (0%), 低分化癌 20 例中 2 例 (10.0%) で、後 3 者に比して髄様癌の頻度は有意に CV が大きかつ

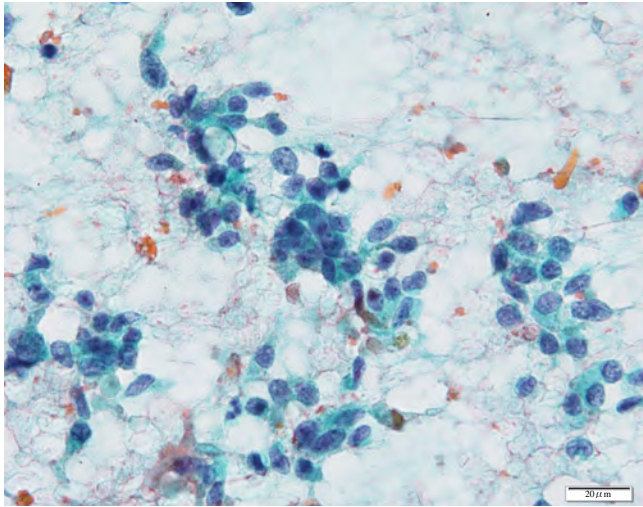


Photo. 2 Medullary thyroid carcinoma : oval nuclei (aspect ratio 1.54) (Papanicolaou staining, $\times 40$).

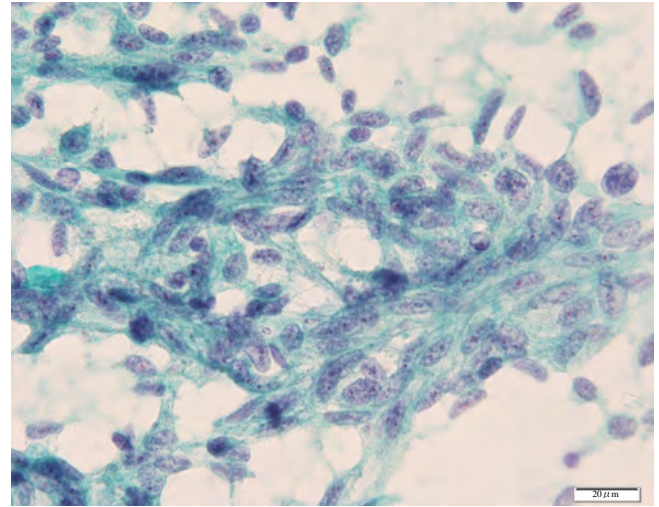


Photo. 3 Medullary thyroid carcinoma, spindle nuclei (aspect ratio 1.88) (Papanicolaou staining, $\times 40$).

Table 4 Coefficient of variation on nuclear aspect rate in thyroid carcinomas

	MTC (n = 78)		PTC (n = 20)		FTC (n = 20)		PDC (n = 20)	
CV	n (%)		n (%)	p *	n (%)	p *	n (%)	p *
$\geq 20\%$	40 (51.3)		2 (10.0)	< 0.01	0 (0)	< 0.01	2 (10.0)	< 0.01
$\geq 25\%$	10 (12.8)		0 (0)	NS	0 (0)	NS	0 (0)	NS

MTC, medullary thyroid carcinoma ; PTC, papillary thyroid carcinoma ; FTC, follicular thyroid carcinoma ; PDC, poorly differentiated carcinoma ; CV, coefficient of variation

*Corrected Bonferroni χ^2 NS, Not Significant

Table 5 Maximum/minimum value ratio of major axis of the nuclei of thyroid carcinomas

	MTC (n = 78)		PTC (n = 20)		FTC (n = 20)		PDC (n = 20)	
	Ave. $\pm$ SD (Range)		Ave. $\pm$ SD (Range)	p *	Ave. $\pm$ SD (Range)	p *	Ave. $\pm$ SD (Range)	p *
Maximum/minimum value ratio of major axis of the nuclei	3.4 ± 1.6 (2.1-12.6)		2.2 ± 0.4 (1.7-3.1)	< 0.01	2.2 ± 0.4 (1.8-3.6)	< 0.01	2.3 ± 0.3 (1.8-3.0)	< 0.01

MTC, medullary thyroid carcinoma ; PTC, papillary thyroid carcinoma ; FTC, follicular thyroid carcinoma ; PDC, poorly differentiated carcinoma *Dunnett test

た ($p < 0.01$, Bonferroni 補正済 χ^2 検定). CV 25% 以上は髄様癌のみであり, 髄様癌は同一症例内における核の形状のばらつきが, 乳頭癌, 濾胞癌, 低分化癌に比して大きかった.

4) 核の大小不同 (Table 5)

核の大小不同を核の長径の最小値と最大値の比を用いて比較した. 髄様癌の平均は 3.4 ± 1.6 であり, 乳頭癌の 2.2 ± 0.4 , 濾胞癌の 2.2 ± 0.4 , 低分化癌の 2.3 ± 0.3 に比して有意に大きかった ($p < 0.01$, Dunnett 検定) (Table 5). 髄様癌における核の長径の最小値と最大値の比は, 2.1~12.6 (Photo. 4) の範囲であり, 3.7 以上を示したのは髄様癌 19

例 (24.4%) のみであった.

3. 髄様癌診断のアルゴリズム

細胞所見にて, 髄様癌のみにみられた3つの所見 (1. 粗顆粒状クロマチン, 2. 4核以上の多核腫瘍細胞, 3. アミロイド) のうちいずれかが存在する髄様癌は78例中53例 (67.9%) であった. いずれの所見も認められない髄様癌25例を対象に, 核の計測値から求めた髄様癌のみにみられた3つの所見 (1. 核の縦横比 1.6 以上, 2. 核の縦横比 CV 25% 以上, 3. 核の長径の最小値と最大値の比 3.7 以上) のうちいずれかを認める髄様癌は6例であった. このことから, 細胞所見と核の計測により髄様癌78例中59例, 75.6%

が診断可能であった。残りの 19 例について対照症例を用いてロジスティック回帰分析による髄様癌の推定を行った結果 (Table 6), 90% 以上の確率で髄様癌を推定できる項目と計測値は, 核面積 $30.6 \mu\text{m}^2$ 以下と核の縦横比 1.46 以上であった。この値のいずれかに合致する髄様癌は 7 例で, 乳頭癌の 1 例は後者の条件を, 低分化癌の 2 例は両方の条件を満たしていた。上記の結果から, Fig. 1 の髄様癌診断のアルゴリズムを作成した。このアルゴリズムに従えば, 髄様癌 78 例中 66 例 (84.6%) が診断でき, 感度は 83%, 特異度は 96% であった。

IV. 考 察

甲状腺の主な上皮性腫瘍として, 悪性では乳頭癌, 濾胞癌, 低分化癌, 未分化癌, 髄様癌があり, 良性では濾胞腺腫, 腺腫様甲状腺腫がある。細胞診の報告では良悪の判定に加えて前述の組織型推定が求められているが, 濾胞腺腫と濾胞癌は区別せず濾胞性腫瘍として報告する⁶⁾。濾胞性腫瘍の特殊型である好酸性細胞型濾胞性腫瘍は, 孤在性の出現傾向, 豊富な境界明瞭な好酸性顆粒状細胞質, しばしば核の 2 倍以上の大小不同性, 著明な核小体の特徴とし, 濾胞性腫瘍とは細胞所見が異なるため好酸性細胞型である

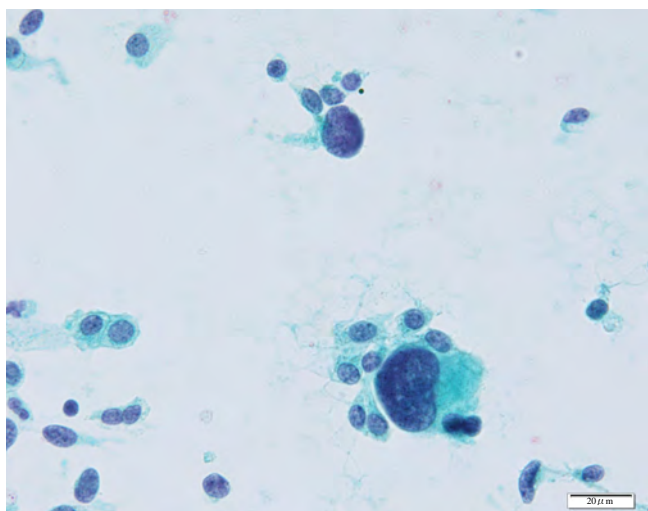


Photo. 4 Medullary thyroid carcinoma : the ratio of the maximum/minimum diameter of the major axis of the nuclei was 12.6 (Papanicolaou staining, $\times 40$).

ことを明記する⁶⁾。腺腫様甲状腺腫は小濾胞構造のみがみられる場合は濾胞性腫瘍と鑑別ができないが, それ以外は組織推定が可能である。また, 未分化癌も十分な細胞量があれば間違えることはない。したがって, 細胞診上問題となるのは, 乳頭癌, 濾胞性腫瘍, 低分化癌, 髄様癌である。

甲状腺癌では乳頭癌, 濾胞癌, 濾胞腺腫など病変によりクロマチンの濃度が異なる^{10,11)}。そのため, 細胞診標本においても, 粉末状の淡明なクロマチンが乳頭癌の 83%¹²⁾に, 過染色核が濾胞癌の 40%¹³⁾に, 粗顆粒状クロマチンが低分化癌の 40~95.45%^{9,14,15)}, 髄様癌の 65.4~100%^{9,16,17)}にみられるなど病変により所見が異なる。なかでも, 粗顆粒状クロマチンは髄様癌の特徴の一つとされており, 本検討では髄様癌 78 例中 46 例 (59.0%) にみられた。髄様癌の粗顆粒状クロマチンの所見を 1+ (=focal), 2+ (=frequent in many fields), 3+ (=found extensively) として評価した報告では, 1+ 以上は 65.4% であり, そのうちの 7.7% が 1+ (=focal) であった¹⁶⁾。このことから, 全髄様癌細胞が粗顆粒状クロマチンを呈するのではなく, 部分的にしかみられないことがあるといえる。したがって, 観察部位や評価基準により出現率に差が生じると思われる。本検討基準では, 粗顆粒状クロマチンは乳頭癌, 濾胞癌, 低分化癌のいずれにもみられなかった。そのため, 粗顆粒状クロマチンは積極的に髄様癌を推定することが可能な所見であると考えられる。

髄様癌における多核腫瘍細胞の出現率は, 2 核腫瘍細胞は 55.6%⁹⁾, 多核腫瘍細胞は 19.2~44.4%^{9,16)}, 2 核あるいは多核腫瘍細胞は 46~100%^{9,17,18)}と報告により異なっている。本検討では 2 核以上の多核腫瘍細胞の出現率は 43.6% であり, 多核腫瘍細胞は紡錘形よりも円形の核を示す症例で多く観察された。そのため, 対象症例の核の形状の割合により出現率も異なると思われる。核数でみると, 2 核以上や 3 核以上は低頻度ながら乳頭癌や低分化癌にもみられたが, 4 核以上の多核腫瘍細胞は髄様癌 7 例 (9%) のみであった。多核腫瘍細胞は出現の有無ではなく核数に着目すると他病変との鑑別に用いることができると考える。

アミロイドは Papanicolaou 染色標本にてライト緑に染まる均一無構造物質であり, 髄様癌の診断基準の一つとされる⁶⁾。しかし, 類似の所見を呈するものとしてコロイドがあり両者の鑑別は重要である。アミロイドはコンゴー赤染

Table 6 Logistic regression analysis for 19 medullary thyroid carcinoma cases

Parameter	Estimated formula	Coefficient $\pm$ S. E.*	p**	Deducing value***
Nuclear size, ave (μm^2)	$Y = 1 / (1 + e^{0.211 \times -7.57})$	-0.211 ± 0.05	< 0.01	≤ 30.6
Nuclear aspect rate, ave	$Y = 1 / (1 + e^{-12.45 \times -17.34})$	12.45 ± 3.77	< 0.01	≥ 1.46

*S. E., Standard Error ** χ^2 test ***90% probability

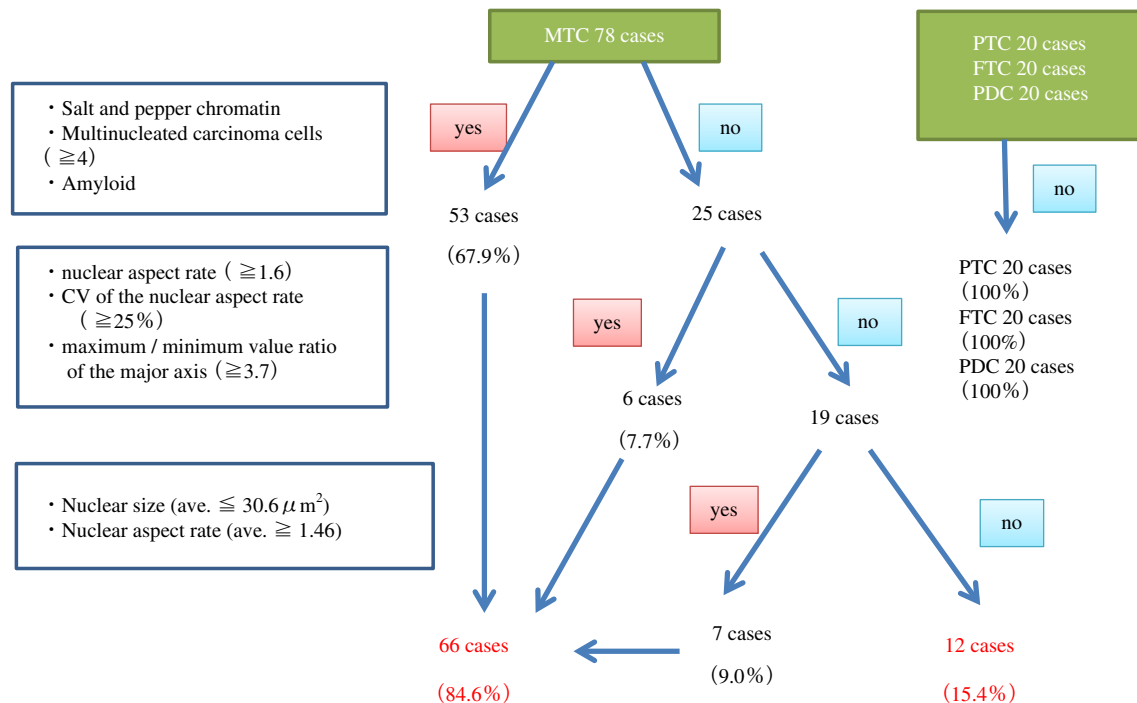


Fig. 1 Algorithm for the diagnosis of medullary thyroid carcinoma

MTC, medullary thyroid carcinoma : PTC, papillary thyroid carcinoma : FTC, follicular thyroid carcinoma :

PDC, poorly differentiated carcinoma : CV, coefficient of variation

色が陽性で、偏光顕微鏡にて緑黄色の偏光を確認する必要がある。アミロイドは髄様癌症例の80%でみられ、細胞診標本への出現率は34~80%^{1,17,18)}である。本検討では髄様癌78例中12例(15.4%)の細胞診標本にアミロイドが出現し、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌では観察されなかったため髄様癌の有力な指標である。

本検討の計測値から核の形状を類円形、卵円形、紡錘形に分類すると、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌の多くは類円形核を示すが、髄様癌では類円形核、卵円形核、紡錘形核などすべての形状を示し、症例によって形状が異なり、多彩であった。特に、紡錘形核は髄様癌のみでみられる形状であり、6例(7.7%)であった。紡錘形を示す細胞としては線維細胞などがあるが、それらと区別できればかなり有力な所見となる。また、同一症例内の核の形状のばらつきを核の縦横比のCVで比較すると、髄様癌ではCV 20%以上が40例(51.3%)あり、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌に比して有意に多かった。CV 25%以上は髄様癌10例(12.8%)のみであった。髄様癌では症例間で形状が多彩であることに加えて同一症例内でも核の形状にばらつきがあるといえる。縦横比1.6以上を示す紡錘形核を除けば、髄様癌と乳頭癌、濾胞癌、低分化癌との鑑別には、核の形状ではなく形状のばらつきに着目すると10例(12.8%)が鑑別可能である。

本検討では大小不同を核の長径の最小値と最大値の比を用いて比較したところ、髄様癌の平均は3.4であった。低分化癌においては核の大小不同が乳頭癌や濾胞癌よりも有意にみられるとの報告¹⁹⁾があるが、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌の平均は2.2~2.3と髄様癌より小さな値を示し、3.7を超える症例は髄様癌19例(24.4%)のみであった。髄様癌は乳頭癌、濾胞癌、低分化癌に比べて大小不同がみられるといえる。髄様癌は濾胞性腫瘍と間違われることが最も多い²⁰⁾が、核の長径の最小値と最大値の比を用いることにより鑑別が可能である。

細胞診の報告では、組織型推定が可能な腺腫様甲状腺腫、好酸性細胞型濾胞性腫瘍、未分化癌を除き、本検討結果より作製したアルゴリズムに従えば、まず、核に注目する。髄様癌の59.0%が粗顆粒状クロマチンを呈し、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌では観察されないため、粗顆粒状であれば髄様癌を確定できる。同時に、核が単核か多核かも観察する。腫瘍細胞の多核化は、2核以上は乳頭癌の5%、低分化癌の5%に、3核の腫瘍細胞は低分化癌の5%にみられるため、核数が大切である。4核以上の多核腫瘍細胞は髄様癌の9.0%にしか観察されないが、髄様癌のみの所見である。次に、背景に注目する。髄様癌の15.4%にアミロイドが出現し、乳頭癌、濾胞癌、低分化癌では出現しない。コロイドとの鑑別が必要であるものの、アミロイドを認めれば

ば髄様癌を確定できる。粗顆粒状クロマチン, 4 核以上の多核腫瘍細胞, アミロイドのうち一つでも観察されたら髄様癌の確定診断ができ, 髄様癌の 67.9% が乳頭癌, 濾胞癌, 低分化癌と鑑別可能である。細胞所見にて鑑別できない 32.1% の髄様癌については, 核の面積と周囲長を計測する。計測値から算出した計算値のうち, 髄様癌のみでみられる特徴は, 平均核の縦横比 1.6 以上, 核の縦横比の CV 25% 以上, 核の長径の最小値と最大値の比の 3.7 以上である。これらは, 細胞所見では紡錘形の形状, 症例内での核の形状のばらつきが大きい, 核の大小不同がみられることを示している。それぞれ, 髄様癌の 7.7%, 12.8%, 24.4% でみられ, 乳頭癌, 濾胞癌, 低分化癌にはないため, 一つでもあれば髄様癌を確定できる。細胞所見と計測値にて髄様癌の 75.6% が髄様癌以外の腫瘍と鑑別可能である。鑑別できない 24.4% の髄様癌について乳頭癌, 濾胞癌, 低分化癌を用いたロジステック回帰分析を実施し, 求められた髄様癌の推定値である平均核面積 $30.6 \mu\text{m}^2$ 以下, 平均核の縦横比 1.46 以上であれば 9% の髄様癌を診断できるが, 乳頭癌の 5%, 低分化癌の 10% も条件を満たす。以上より, 本検討での髄様癌の正診率は 84.6% であった。諸家らの報告^{3~5)}の一部より低い正診率ではあるが, 検者間誤差が生じにくい細胞所見および計測値を用いたため再現性のある数値であると考え。したがって, 施設間差のある髄様癌発見率や細胞診正診率の解消へ繋がることが期待される。

著者らは開示すべき利益相反はありません。

本研究の一部は日本臨床細胞学会平成 26~27 年度班研究課題「甲状腺髄様癌の細胞学的特徴の究明」の助成によるものである。

謝辞 稿を終えるにあたり, 本検討に協力をいただいた隈病院・樋口観世子氏, 隈病院・鈴木彩葉氏に深謝します。

Abstract

Objective : We examined the cytological features of medullary carcinoma (MC) of the thyroid gland, including the nuclear dimensions, in order to identify useful diagnostic features for MC that are unlikely to be beset by errors arising from inter-examiner differences, and propose a diagnostic algorithm for improvement of the diagnosis rate.

Study Design : Using cytological specimens obtained from 78 cases of MC, 20 cases of papillary carcinoma, 20 cases of follicular carcinoma and 20 cases of poorly differentiated carcinoma of the thyroid gland, we compared the rates of detection of salt and pepper chromatin, nuclear grooves, nuclear cytoplasmic inclusion bodies and multinucleated carcinoma cells, the amyloid and nuclear areas, the nuclear aspect ratio (ratio of the major axis diameter to minor axis diameter?), and the long diameter of the nuclei in order to identify features useful for the diagnosis of MC.

Results : Diagnosis of MC was confirmed in 59 cases. It was esti-

mated by logistic regression analysis in a further 7 cases. Based on our findings, we suggest the following as useful features for the diagnosis of MC : 1) salt and pepper appearance of the nuclear chromatin ; 2) 4 or more multinucleated carcinoma cells ; 3) presence of amyloid ; 4) nuclear aspect ratio ≥ 1.6 ; 5) CV of the nuclear aspect ratio $\geq 25\%$, 6) ratio between the minimum and maximum longest diameters of the nuclei ≥ 3.7 .

Conclusion : Among the 78 specimens of MC, the diagnosis could be made by cytologic examination in 66 cases (84.6%).

文 献

- 1) DeLellis, R. A., Lloyd, R. V., Heitz, P. U., Charis, E. Pathology and genetics of tumor of endocrine organs : WHO classification of tumors. Lyon : IARC Press ; 2004. 86-91.
- 2) 内野真也, 丸田淳子, 伊藤亜希子, 野口志郎. 甲状腺癌の臨床と穿刺吸引細胞診・遺伝学的検査. 機器・試薬 2012 ; 35 (3) : 347-353.
- 3) Trimboli, P., Treglia, G., Guidobaldi, L., Romanelli, F., Nigri, G., Valabrega, S., et al. Detection rate of FNA cytology in medullary thyroid carcinoma : a meta-analysis. Clin Endocrinol (Oxf) 2015 ; 82 (2) : 280-285.
- 4) Dustin, S. M., Jo, V. Y., Hanley, K. Z., Stelow, E. B. High sensitivity and positive predictive value of fine-needle aspiration for uncommon thyroid malignancies. Diagn Cytopathol 2012 ; 40 (5) : 416-421.
- 5) Essig, G. F. Jr., Porter, K., Schneider, D., Debora, A., Lindsey, S. C., Busonero, G., et al. Fine needle aspiration and medullary thyroid carcinoma : the risk of inadequate preoperative evaluation and initial surgery when relying upon FNAB cytology alone. Endocr Pract 2013 ; 19 (6) : 920-927.
- 6) Pitman, M. B., Oertel, Y. C., Geisinger, K. R. "Medullary Thyroid Carcinoma", The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Ali, S. Z., ed. New York : Springer : 117-128, 2010.
- 7) Trimboli, P., Cremonini, N., Ceriani, L., Saggiorate, E., Guidobaldi, L., Romanelli, F., et al. Calcitonin measurement in aspiration needle washout fluids has higher sensitivity than cytology in detecting medullary thyroid cancer : a retrospective multicentre study. Clin Endocrinol (Oxf) 2014 ; 80 (1) : 135-140.
- 8) Trimboli, P., Guidobaldi, L., Bongiovanni, M., Crescenzi, A., Alevizaki, M., Giovannella, L. Use of fine-needle aspirate calcitonin to detect medullary thyroid carcinoma : A systematic review. Diagn Cytopathol 2016 ; 44 (1) : 45-51.
- 9) Das, D. K., Mallik, M. K., George, S. S., Sheikh, Z. A., Pathan, S. K., Haji, B. E., et al. Secretory activity in medullary thyroid carcinoma : a cytomorphological and immunocytochemical study. Diagn Cytopathol 2007 ; 35 (6) : 329-337.
- 10) Murata, S., Mochizuki, K., Nakazawa, T., Kondo, T., Nakamura, N., Yamashita, H., et al. Detection of underlying characteristics of nuclear chromatin patterns of thyroid tumor cells using texture and factor analyses. Cytometry 2002 ; 49 (3) : 91-95.

- 11) Basu, S., Kolouri, S., Rohde, G. K. Detecting and visualizing cell phenotype differences from microscopy images using transport-based morphometry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 ; 111 (9) : 3448-3453.
 - 12) Hapke, M. R., Dehner, L. P. The optically clear nucleus. A reliable sign of papillary carcinoma of the thyroid? *Am J Surg Pathol* 1979 ; 3 (1) : 31-38.
 - 13) 樋口観世子, 廣川満良, 佐々木栄司, 丸田淳子, 越川 卓, 加藤良平・ほか. 甲状腺細胞診濾胞性病変におけるアルゴリズムと報告様式の提案. *日臨細胞会誌* 2014 ; 53(4) : 264-270.
 - 14) Bongiovanni, M., Bloom, L., Krane, J. F., Baloch, Z. W., Powers, C. N., Hintermann, S., et al. Cytomorphologic features of poorly differentiated thyroid carcinoma : a multi-institutional analysis of 40 cases. *Cancer* 2009 ; 117 (3) : 185-194.
 - 15) Kane, S. V., Sharma, T. P. Cytologic diagnostic approach to poorly differentiated thyroid carcinoma : a single-institution study. *Cancer Cytopathol* 2015 ; 123 (2) : 82-91.
 - 16) Kaushal, S., Iyer, V. K., Malthur, S. R., Ray, R. Fine needle aspiration cytology of medullary carcinoma of the thyroid with a focus on rare variants : a review of 78 cases. *Cytopathology* 2011 ; 22 (2) : 95-105.
 - 17) Green, I., Ali, S. Z., Allen, E. A., Zakowski, M. F. A spectrum of cytomorphologic variation in medullary thyroid carcinoma. Fine-needle aspiration findings in 19 cases. *Cancer* 1997 ; 81 (1) : 40-44.
 - 18) Pustaszeri, M. P., Bongiovanni, M., Faquin, W. C. Update on the cytologic and molecular features of medullary thyroid carcinoma. *Adv Anat Pathol* 2014 ; 21 (1) : 26-35.
 - 19) 中澤久美子, 弓納持勉, 峰 広美, 佐藤詩織, 中澤匡男, 近藤哲夫・ほか. 甲状腺低分化癌は診断可能? —10項目のパラメーター解析—. *日臨細胞会誌* 2014 ; 53 (5) : 349-355.
 - 20) Eilers, S. G., LaPolice, P., Mukunyadzi, P., Kapur, U., Wendel Spiczka, A., Shah, A., et al. Thyroid fine-needle aspiration cytology : performance data of neoplastic and malignant cases as identified from 1558 responses in the ASCP Non-GYN Assessment program thyroid fine-needle performance data. *Cancer Cytopathol* 2014 ; 122 (10) : 745-750.
-

原 著

Cellprep 法による子宮頸部細胞診の評価

小瀬木輪子¹⁾ 岩屋 啓一²⁾ 馬屋原裕子¹⁾ 森田 有香¹⁾
 新井 美枝¹⁾ 高杉ゆかり¹⁾ 菊池 良子³⁾ 三宅 清彦³⁾
 坂本 穆彦⁴⁾ 坂本 優³⁾

公益財団法人佐々木研究所附属杏雲堂病院検査科¹⁾, 同 病理診断科²⁾, 同 婦人科³⁾, 大森赤十字病院検査部⁴⁾

目的：風圧併用型フィルター転写法（Cellprep 法）を用いた液状化検体細胞診（LBC）の子宮頸部病変について、細胞形態や病変検出率を明らかにする。

方法：2014 年 3 月～2015 年 6 月の間、子宮頸部病変を経過観察中の 223 例を対象とした。従来法として直接塗抹標本作製した後、専用ブラシで採取した細胞を Cellprep Plus® にて標本作製した。Cellprep 標本を直接塗抹標本と比較検討し、病理組織診断と照合した子宮頸部高度病変の検出精度を求めた。

成績：Cellprep 標本は壊死物質、炎症性細胞、病原微生物、および粘液などの背景情報が保存され、細胞の大きさや形も従来法と比べて明らかな変化はみられなかった。そして従来法に用いた判定基準に準拠すると、子宮頸部高度病変の検出感度は、従来法と比べて Cellprep 法で有意に高く、特異度、陰性的中率、陽性的中率には有意差はなかった。

結論：Cellprep 法は、従来の細胞判定基準を踏襲することが可能であり、直接塗抹標本から LBC 標本に切り替える際に適した方法の一つと考えられた。

Key words : Cervical cytology, Cellprep, Liquid based cytology, Sensitivity, Specificity

I. 緒 言

婦人科子宮頸部細胞診は、子宮頸癌スクリーニングとして癌の早期発見に貢献してきた。しかし、近年、若年者層

の罹患率の増加が新たな問題点として指摘されている^{1,2)}。

子宮頸癌の主なリスク要因として、ヒトパピローマウィルス（human papillomavirus : HPV）感染はすでに確立し、特にハイリスク型 HPV（high-risk HPV : HR-HPV）と呼ばれる一群の HPV は子宮頸癌の 95% 以上の患者から検出されている^{3~5)}。欧米では細胞診と HPV 検査を組み合わせた新たなスクリーニング法の有用性が報告され、厚生労働省でも「がん検診のあり方に関する検討会」にて、HPV 検査を併用した子宮頸がん検診の有効性について実施調査が行われている²⁾。このような背景のなかで、細胞診検査と HPV 検査を同時に行う液状化検体細胞診（Liquid based cytology : LBC）の導入施設が増加している^{6,7)}。2014 年の診療報酬の改定にて、婦人科検体を用いた液状化検体管理加算が少額ながら算定できるようになったが、今後の LBC 法の普及のためには、診療報酬点数のさらなる加算が期待されている。

現在国内では、数社から LBC の標本作製装置が販売されている。すでに LBC 法の有用性の検討は数多くなされ、採

Evaluation and application of Cellprep for cervical cytology

Rinko OZEKI¹⁾, C. T., I. A. C., Keiichi IWAYA²⁾, M. D., Yuko Umayahara¹⁾, C. T., I. A. C., Yuka MORITA¹⁾, C. T., Mie ARAI¹⁾, M. T., Yukari TAKASUGI¹⁾, M. T., Ryoko KIKUCHI³⁾, M. D., Kiyohiko MIYAKE³⁾, M. D., Atsuhiko SAKAMOTO⁴⁾, M. D., F. I. A. C., Masaru SAKAMOTO³⁾, M. D.

¹⁾Department of Laboratory Medicine, ²⁾Department of Diagnostic Pathology, ³⁾Department of Gynecology, Sasaki Institute, Kyoundo Hospital

⁴⁾Department of Pathology and Laboratory Medicine, Omori Red Cross Hospital

論文別刷請求先 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 1 の 8 公益財団法人佐々木研究所附属杏雲堂病院検査科 小瀬木輪子

平成 29 年 6 月 12 日受付

平成 30 年 2 月 2 日受理

取手技および標本作製の標準化によって、従来法より高い精度が得られると報告されている^{8,9)}。LBC法の原理は主にフィルター転写法と沈降塗抹法の2つに大別され、Cellprep Plus[®] (製造元 BIODYNE CO. LTD, 販売元ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社) は、風圧を併用したフィルター転写法 (Cellprep 法) を用いている¹⁰⁾。その標本作製原理は、吸引風圧によりバイアル内の細胞をメンブレンフィルターに付着させ、フィルター上の細胞をスライドガラスに転写させる際、補助的にエアースプレーを用いて塗抹させる方式である。子宮頸部より採取された細胞は、専用の細胞診固定用バイアル (Cellprep 婦人科・口腔用バイアル) に回収され、固定液中で収縮した細胞は、Cellprep 法により適度な風圧を受けて細胞が広がることによって収縮が還元される。

婦人科細胞診において、Cellprep 法での精度と有用性に関する報告は、現時点において検索した範囲では見当たらなかった。

本研究は Cellprep Plus[®] を使い、Cellprep 法で作製した標本の質の評価と、Cellprep 法と従来法での細胞診の高度病変検出精度について比較し、子宮頸部細胞診における Cellprep 法の有用性を検討した。

II. 対象と方法

2014 年 3 月～2015 年 6 月の間で、院内倫理審査委員会の承認の下、当院婦人科外来において子宮頸部病変の既往がある症例を対象とした。このうち治療履歴がなく、文章による同意を得られた 223 例について子宮頸部細胞診検査、病理組織検査、HPV 検査を同時併用で施行して検討した。年齢中央値は 38.0 歳であった。

検体採取方法は、全例にコルポスコピー診を行い、従来法として綿棒とサイトブラシで子宮腔部・頸部の細胞を採取し塗抹標本作製した。次に Cellprep 法として、専用のディスプレイザブル・cervical ブラシを用いて採取した細胞を Cellprep 専用婦人科・口腔用バイアルに懸濁して Cellprep システムにて標本作製し、引き続きコルポスコピーガイド下に狙い組織診を施行した。また、標本作製後の Cellprep 法の残検体を用いて HR-HPV 検査を行った。

細胞診検査はパパニコロウ染色を施しベセスダシステム 2001 に従い判定した¹¹⁾。

検討に使用した Cellprep PLUS[®] はバイアルとスライドガラスを 1 枚ずつセットし塗抹する半自動システムである。バイアル内に前処理剤を含有するので前処理工程はなく、塗抹時には、バイアルの混濁状態に応じて、塗抹細胞量を 3 段階に調整できる。Cellprep システムでは基本的に

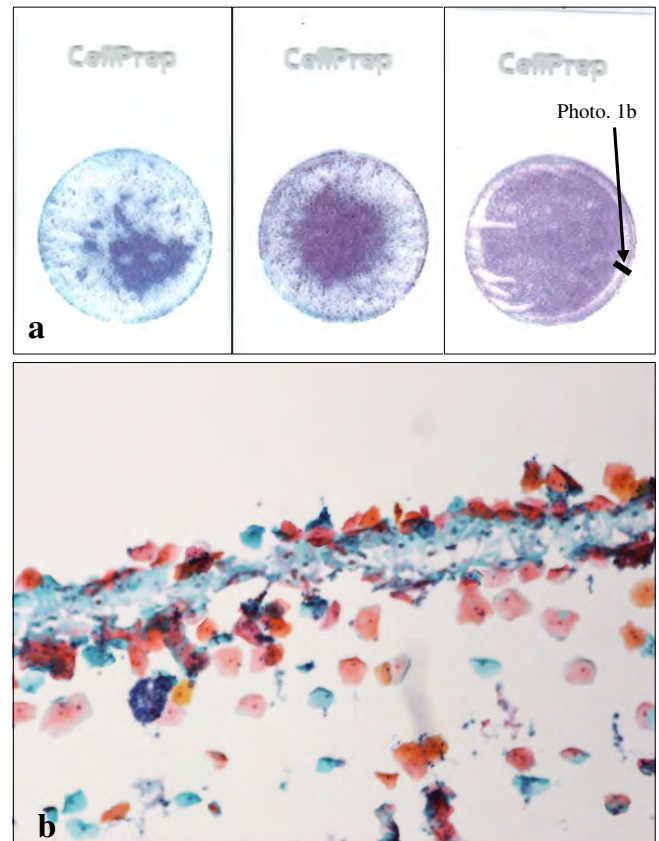


Photo. 1 Gross features of specimens with an excess number of cells.
a : A moth-eaten appearance and double rings are seen.
b : A crush artifact is detected along the outer ring, indicated by the black line in Photo. 1a (Pap. staining, $\times 20$).

前処理は不要であるが、血液成分が多量の場合には溶血処理が推奨されている。

検討項目は次の 2 項とした。

1) Cellprep 法で作製した標本での、塗抹状態・染色性・細胞像について検討した。細胞の大きさは、無作為に抽出した Cellprep 法と従来法の 10 対の陰性標本を用いて、各標本 10 個ずつ扁平上皮細胞の核の長径、短径、および細胞質の長径、短径を測定した。

なお、測定は、対物 40 倍のレンズを使用して観察し、顕微鏡撮影装置 (NikonDS カメラコントロールユニット DS-L3) に備わる測長機能を用いた。

2) 細胞診の精度における LBC 法と従来法の比較として、おのおのの細胞診判定結果と病理組織診断結果を照合し子宮頸部高度病変の検出精度を求めた。

本研究における子宮頸部高度病変の疾患定義は、組織診で cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 以上と診断さ

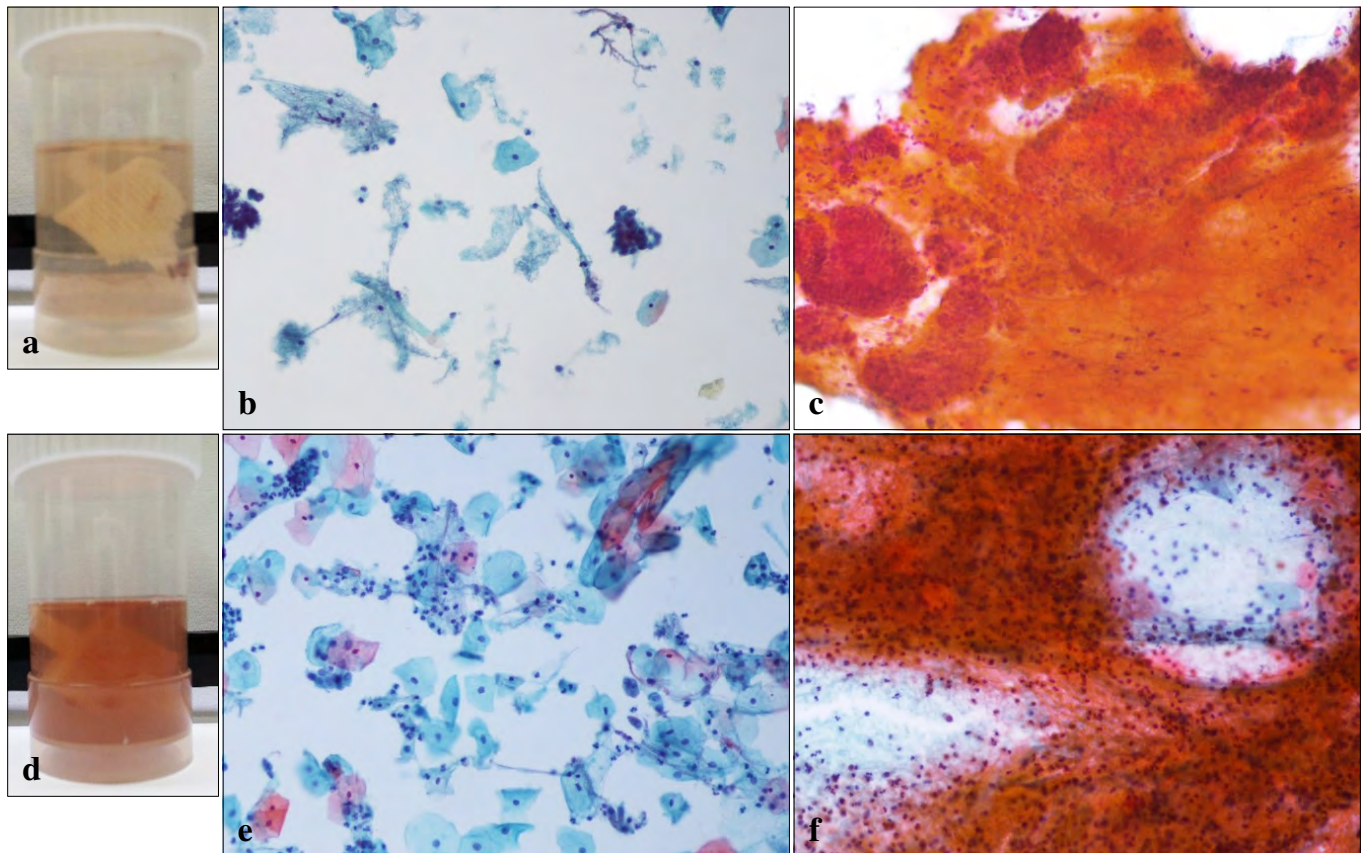


Photo. 2 Association between the color of the vial sample and the number of red blood cells. a : Pink-colored vial sample. b : Pap smear of sample a prepared by the Cellprep method (Pap. staining, $\times 20$). c : Pap smear of the same specimen prepared by the conventional method. A large number of red blood cells are seen in the Pap smears (Pap. staining, $\times 20$). d : Red-colored vial sample. e : Pap smear of sample d prepared by the Cellprep method (Pap. staining, $\times 20$). f : Pap smear of the same specimen prepared by the conventional method. Fewer red blood cells are seen than in the pink-colored vial sample (Pap. staining, $\times 20$).

れた場合を「疾患あり」とし, CIN2 の確定がつかなかった場合を「疾患なし」とした. 細胞診判定での扁平上皮系の病変の定義は, negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM), atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) と判定したものを「陰性」, atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H) 及び high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) 以上と判定したものを「陽性」とした. また, 腺系の病変の定義は, NILM, atypical glandular cells (AGC) と判定したものを「陰性」, adenocarcinoma *in situ* (AIS) 以上を「陽性」とした.

これらの結果から, Cellprep 法と従来法のそれぞれについて, クロス集計法を作成し, 感度, 特異度, 陽性的中率, 陰性的中率を算出した. Cellprep 法と従来法との値についての統計学的比較には修正済み Wald 法を用いて信頼区間を計算した. おおのこの統計値はエクセル統計2015を用いて算出した. 信頼区間が95%を超えた場合に有意差ありと判定した. 細胞の大きさについてはt検定を用いて評価し,

p 値が 0.05 未満であった場合に有意差ありと判定した.

なお, Cellprep 法での HPV 検査の検討結果については本稿の第 2 報として別途報告する.

III. 結 果

1) Cellprep システムの標本について塗抹状態, 染色性, 細胞像, 保存性の結果は次のとおりであった.

(1) 塗抹状態

セットする時間も含め標本 1 枚あたり約 30 秒で, 塗抹面が約 20 mm の標本が作製できた.

バイアル中の細胞量が多い場合は, 虫食い状, 2 重環のような不均一な塗抹状態になり, 塗抹面の辺縁では細胞の挫滅もみられた (Photo. 1).

Cervical ブラシへの組織片の付着は, 採取細胞量が多過ぎる目安となるため, その場合, バイアル内の固定液を減量し希釈液 (ダイルート液) で 2~3 倍に希釈する必要があった.

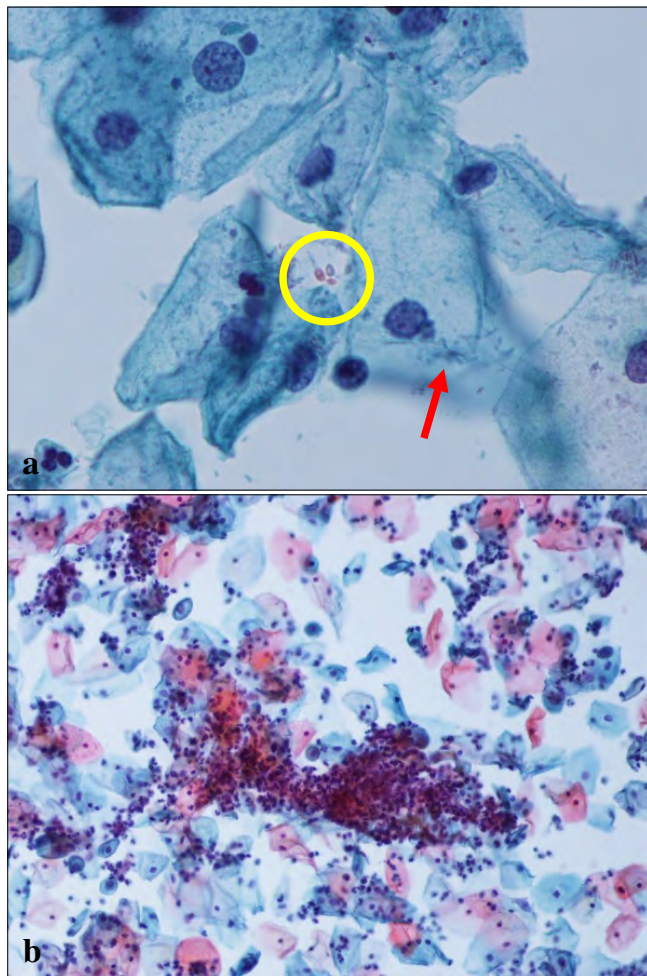


Photo. 3 Background features in the Pap smear of a cytological specimen prepared by the Cellprep method.

a : Fungi are seen in the yellow circle, and bacterial cells are indicated by the red arrow (Pap. staining, $\times 100$).

b : Neutrophils are seen (Pap. staining, $\times 20$).

血液成分の塗抹への影響の検討として、バイアルの赤色調の濃淡と標本上の赤血球の量を比較したところ、両者に関連性はなかった (Photo. 2)。また、溶血処理を行っても壊れた赤血球が凝集塊として残存するため、処理前との差はほとんど認められなかった。

(2) 染色性

従来法と同じプロトコルで染色した場合、Cellprep 法では、孤立散在性の細胞は淡染傾向にあり、集塊部分では核の濃染傾向がみられた。

(3) 細胞像

同一対象者から作製した従来法と LBC 法の細胞像を比較した。

LBC 標本では、粘液、赤血球や好中球が減少し、背景は比較的清浄であるが、判定の補助的所見である、壊死物質、

炎症所見 (好中球)、細菌などの背景情報は従来法と同様に得られた (Photo. 3)。

細胞の大きさは、Cellprep 法と従来法との間で、正常上皮細胞 (Photo. 4)、種々の異常細胞 (Photo. 5) とともに大きな差を認めなかった。陰性標本における測定結果は、Cellprep 法でののおのの測定平均値は核長径: $8.4 \mu\text{m}$ 、核短径: $6.4 \mu\text{m}$ 、細胞質長径: $52.4 \mu\text{m}$ 、細胞質短径: $33.6 \mu\text{m}$ であった。これに対して従来法では、核長径: $8.1 \mu\text{m}$ 、核短径: $6.5 \mu\text{m}$ 、細胞質長径: $57.1 \mu\text{m}$ 、細胞質短径: $37.3 \mu\text{m}$ であった。これらの平均値は、いずれにも有意な差はみられなかった。

Cellprep 標本での細胞集塊は、比較的小型の集塊が多く、集塊の形状も細長いものが多かった。また、異型細胞の集塊は、扁平系、腺系ともに集塊辺縁が円滑で丸みを帯びていたが、核の局在や核縁、核クロマチンの状態、核小体などの核内所見は従来法と同様に扁平系、腺系のおのの特徴がみられた (Photo. 6)。

扁平系の高度異型病変 (中等度異形成、高度異形成、上皮内癌、扁平上皮癌) の集塊では、従来法と同様に異型度が高くなるほど、集塊の所見 (細胞密度、重積性、配列)、核内所見 (核形不整、核の大小不同、核クロマチンの顆粒、核小体) に異常が出現していた (Photo. 7)。

さらに、化生変化を伴う異型扁平上皮細胞が出現する症例では、移行帯が病変部位であると推定できた (Photo. 8)。

また、子宮頸管腺が通常産生する頸管粘液と異なる、lobular endocervical glandular hyperplasia や minimal deviation adenocarcinoma で産生される胃型ムチンは従来法と同様に黄色調を呈していた (Photo. 9)。

2) 細胞診の精度における Cellprep 法と従来法の比較

今回検討した 223 例での Cellprep 法と従来法の細胞診判定と病理組織診断との照合結果の内訳は Table 1 のようになった。このうち標本不適正は、Cellprep 法、従来法ともに該当例はなかった。それぞれの結果から、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率を Table 2 に示した。感度については Cellprep 法では 88.5% で従来法の 83.3% に比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。これに対して特異度は、Cellprep 法では 95.3% で従来法の 97.6% に比べて明らかな差は認められなかった。また、陽性的中率は Cellprep 法が 93.4%、従来法が 96.4%、陰性的中率は、Cellprep 法が 91.7%、従来法が 88.6% であった。おのおの、明らかな差は認められなかった。

IV. 考 察

LBC 法は、従来法と比較して、不適正標本が減少し鏡検

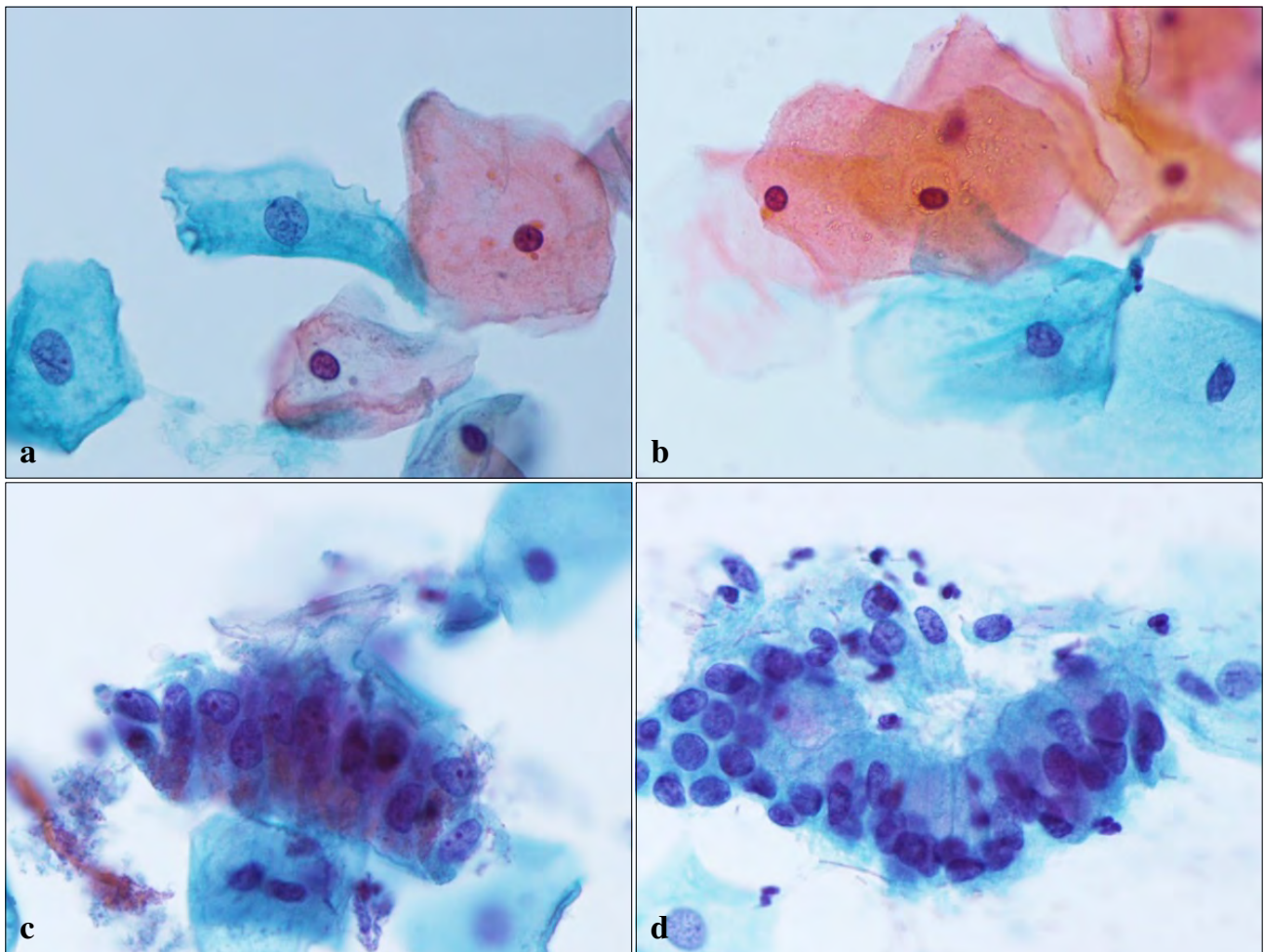


Photo. 4 Shapes and sizes of normal epithelial cells in Pap smears of cytological specimens prepared by the Cellprep method and conventional method. a : Squamous epithelium in a Cellprep smear. b : Squamous epithelium in a conventional smear. c : Ciliated epithelial cells in a Cellprep smear. d : Ciliated epithelial cells in a conventional smear. There were no differences in the shapes or sizes of the normal epithelial cells between the cytological specimens prepared by the conventional method and those prepared by the Cellprep method (Pap. staining, $\times 100$).

精度が向上する。さらに、同一検体にて HPV 検査の併用が可能である。以上の大きな利点は、LBC 法への導入を後押しする一方、消耗品による経費の増加、標本作製の手技の複雑さなどの問題点が挙げられる¹²⁾。もう一つの問題点として、LBC 標本上の細胞収縮が指摘されている。平成 23 年度の千葉県臨床検査技師会細胞検査研究班の精度管理報告書によると、半数以上の施設で LBC 標本(LBC PREP 法)上では細胞が収縮すると報告している¹³⁾。本研究では、Cellprep 法標本と従来法標本の、細胞質の長短径、および核の長短径の測定結果から、両法間での細胞の大きさに有意差は生じなかった。

本研究で使用した Cellprep システムは、既存の LBC 作製装置と比較し、細胞の収縮率が低い。その理由として、風圧を利用することによって保存液中で収縮した細胞を人体からの脱落時と同じ大きさに還元させる原理に要因があ

ると思われる。

Lee らの膀胱の尿路上皮細胞癌の検討では、Cellprep で作製した標本は Thinprep® で作製した標本より、約 1.3 倍の細胞径が得られている¹⁴⁾。

また、標本に好中球や粘液物質などの背景情報が残存し従来法に近い標本が得られる点からも、Cellprep 法は LBC 導入時の標本に対する違和感の軽減が可能と思われる。

標本作製手技においても Cellprep システムは比較的簡便で、バイアル内に溶血剤が含有されているために複雑な前処理は不必要である。なお、血液成分が多量の場合の溶血処理法も準備されているが、婦人科検体に関しては明瞭な処理効果に乏しかった。

本研究では、Cellprep 標本の陰性例、陽性例の細胞を判定するうえで苦慮するような症例はほとんどなかったが、集塊の判定には慎重を期す必要性を感じた。他の LBC 標本

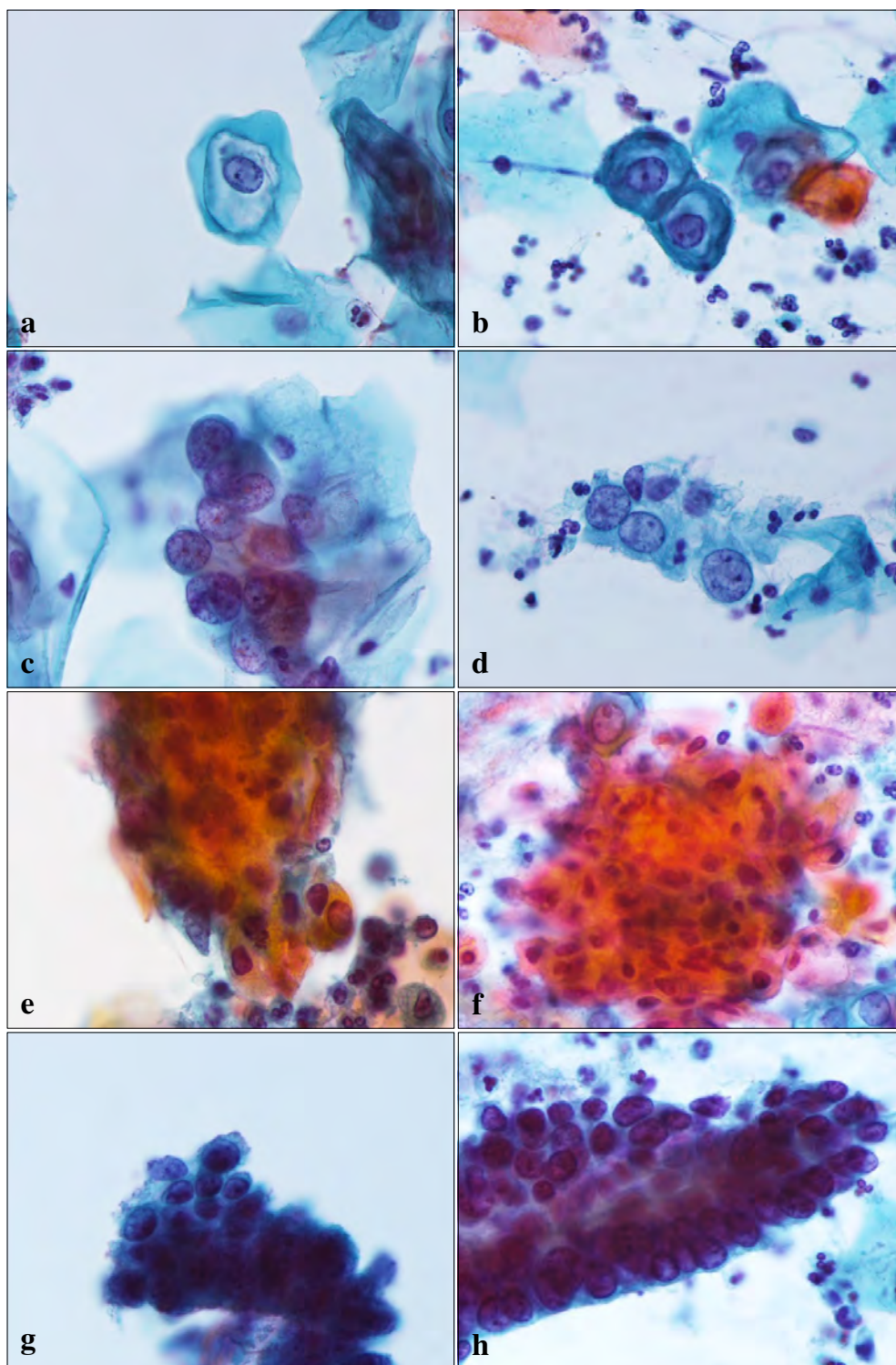


Photo. 5 Shapes and sizes of in various abnormal epithelial cells in Pap smears of cytological specimens prepared by the Cellprep method and the conventional method. a : Koilocytotic atypia in a Cellprep smear. b : Koilocytotic atypia in a conventional smear. c : CIS in a Cellprep smear. d : CIS in a conventional smear. e : Squamous cell carcinoma in a Cellprep smear. f : Squamous cell carcinoma in a conventional smear. g : Adenocarcinoma *in situ* in a Cellprep smear. h : Adenocarcinoma *in situ* in a conventional smear. There were no differences in the shapes or sizes of the cells in each cytopathological state between the cytological specimens prepared by the Cellprep method and those prepared by the conventional method (Pap. staining, $\times 100$).

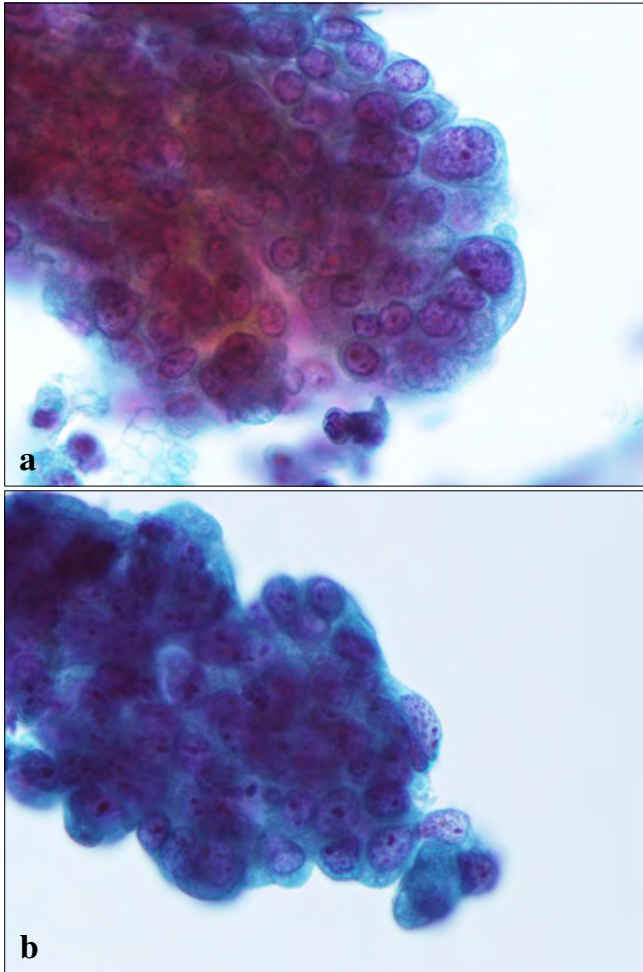


Photo. 6 Abnormal nuclear findings in the Pap smear of a cytological specimen prepared by the Cellprep method.
 a : A thickened nuclear margin is seen in the CIS cells.
 b : Nuclear protrusion is seen in the adenocarcinoma cells.
 (Pap. staining, $\times 100$)

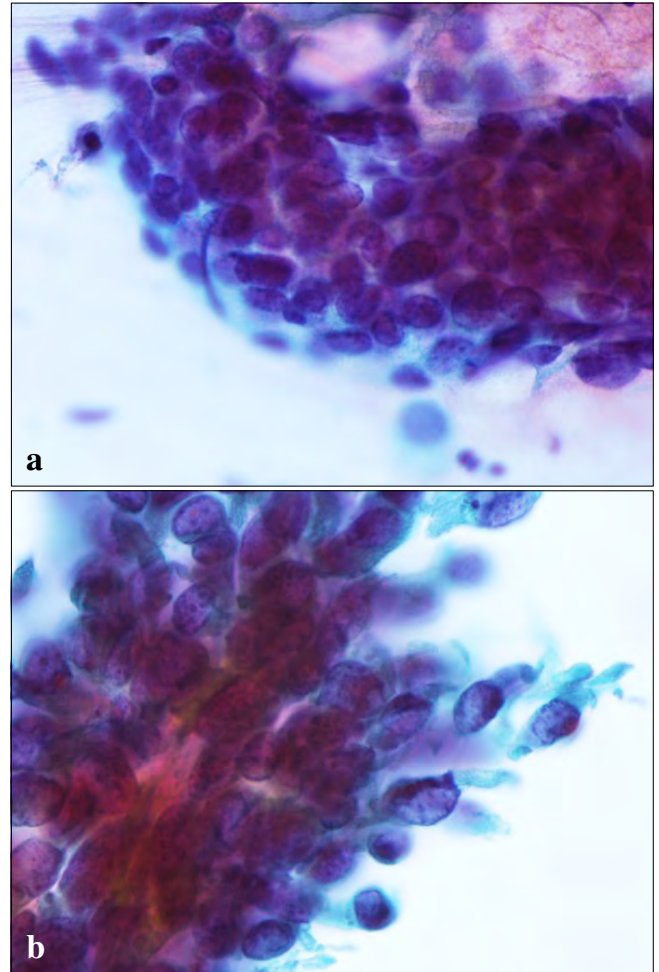


Photo. 7 Structure of a cancer cell cluster in the Pap smear of a cytological specimen prepared by the Cellprep method.
 a : CIS cells proliferating in an alveolar fashion.
 b : The squamous cell carcinoma cells are stratified and dissociated from the fibrovascular core.
 (Pap. staining, $\times 100$)

と同様に、Cellprep 標本においても、集塊での異型細胞はやや濃く染色され、集塊辺縁が扁平系も腺系もわずかに丸みを帯びてくる。また、Cellprep 標本では、孔が $90\mu\text{m}$ のプレフィルターを通過するため小型で縦長の集塊が多くなり、集塊の細胞密度がやや高めにみえる傾向にあった。しかし、集塊での細胞密度、重積性、細胞配列の所見と、核形、核クロマチンの状態、核小体などの核内所見を注意深く観察し、従来法の判定基準に準拠することによって正確な判定が可能である。

次に、高度病変における検出精度に関しては、すでに、他機種による LBC 法の有用性の検討で、従来法との細胞診判定の精度の比較が多数報告されている^{8,9,15~20}。引用したすべての論文では、不適正標本が改善されたとある。一方、感度、特異度については、「感度、特異度ともに有意差

がない」とされる報告と、「感度は LBC 法が高く、特異度は有意差がない」との 2 種類の報告がある。

本研究では、従来法、Cellprep 法ともに不適正標本は 1 例もなく、標本の不適正率の比較にはいたらなかった。その要因として、当施設が産科を除外した婦人科専門の 2 次検診病院であるために、平素から不適正標本の出現率がきわめて低いことが挙げられる。

また、高度病変検出精度の結果は、Cellprep 法では従来法に比べて感度が高く、特異度、陽性的中率、陰性的中率については明らかな差を認めなかった。従来法に比べ Cellprep 法で感度が高い理由としては、LBC 法の最大の利点である、重積性の少ない均等に塗抹された標本による点と、鏡検範囲が限局されている点において、従来法より見落とし率が減少し高い感度が得られたと考えられる。なお、本

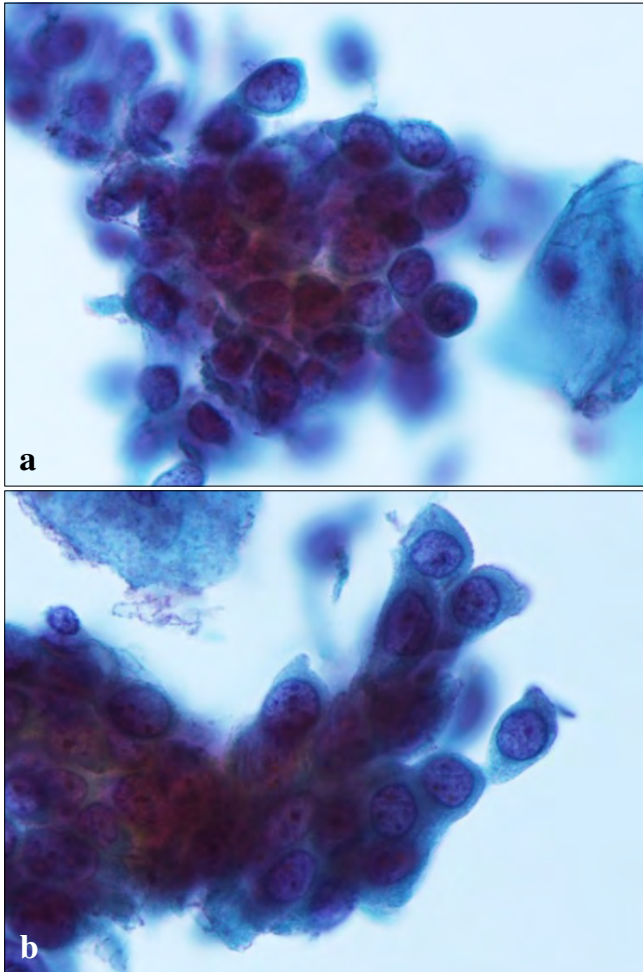


Photo. 8 Cytological findings of a CIS case in the Pap smear of a cytological specimen prepared by the Cellprep method.
 a : The whole parabasal layer is replaced by cancer cells, which are seen forming an irregular cluster.
 b : Same cancer cells spreading to the squamo-columnar junction. A few epithelial cells showing metaplastic changes.
 (Pap. staining, $\times 100$)

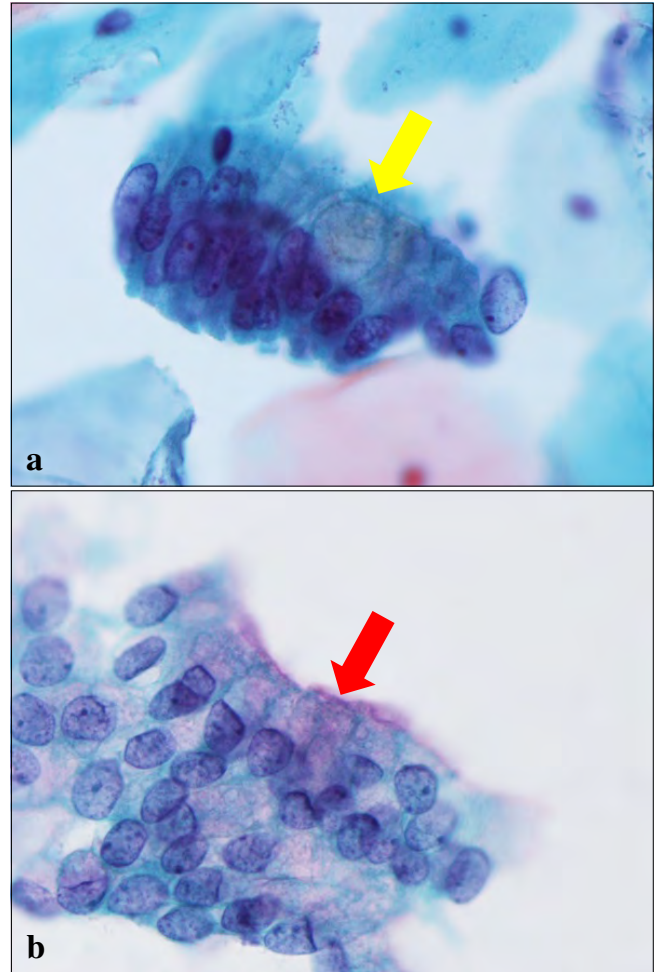


Photo. 9 Various types of intracytoplasmic mucus in the Pap smear of a cytological specimen prepared by the Cellprep method.
 a : Yellowish mucus is indicated by the yellow arrow in the epithelial cells of lobular endocervical glandular hyperplasia.
 b : Pink mucus is indicated by the red arrow in the endocervical cells.
 (Pap. staining, $\times 100$)

検討での子宮頸部高度病変の疾患定義は、「疾患あり」を CIN2 以上においたため、病理組織診断は CIN1 で細胞診判定が HSIL (中等度異形成) の場合、偽陽性の扱いになる。仮に、CIN1 以上を「疾患あり」とし、ASC-US, LSIL も「陽性」とした場合、すべてにおいて Cellprep 法は従来法より精度が高いとの結果が得られている。

V. 結 語

Cellprep システムを用いて作製された標本は、背景情報が残存し、細胞の収縮率も低く、従来法の判定基準を踏襲しうる細胞像が得られた。高度病変検出精度の検討から

は、従来法に比べて感度が高く、特異度、陽性的中率、陰性的中率は遜色ない判定結果が得られた。集塊を形成した異型細胞の判定には多少の習練が必要ではあるが、LBC 法導入時の判定基準の混乱を軽減しうる方法であると示唆された。

著者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

謝辞 佐々木研究所附属杏雲堂病院婦人科 山口乃里子医師、森本恵爾医師、横須賀治子医師、小屋松安子医師、種村健二郎医師、および田中忠夫医師には検体の採取および臨床情報の提供等ご協力をいただき深く感謝いたします。

Table 1 Diagnoses from cytological specimens prepared by the Cellprep method and conventional method versus the histological diagnoses

	NILM		ASC-US		ASC-H		LSIL		HSIL		SCC		AGC		AIS		AD		ADSQ	
	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS	Cellprep	CS
Histology (n = 223)																				
Negative (84)	76	76	3	3	0	0	2	2	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GD (1)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
GH (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
CIN1 (41)	13	17	6	6	0	0	19	18	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CIN2 (27)	3	4	0	1	0	0	7	9	17	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CIN3 (57)	1	0	0	0	1	1	0	2	55	54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SCC (7)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0
AIS (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
AD (3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0
ADSQ (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
n	94	97	9	10	1	1	28	31	78	70	7	7	1	2	1	1	3	3	1	1
(%)	(42.2)	(43.5)	(4.0)	(4.5)	(0.4)	(0.4)	(12.6)	(13.9)	(35.0)	(31.4)	(3.1)	(3.1)	(0.4)	(0.9)	(0.4)	(0.4)	(1.3)	(1.3)	(0.4)	(0.4)

GD, glandular dysplasia ; GH, glandular hyperplasia ; CIN, cervical intraepithelial neoplasia ; SCC, squamous cell carcinoma ; AIS, adenocarcinoma *in situ* ; AD, adenocarcinoma ; ADSQ, adenosquamous carcinoma ; NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy ; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance ; ASC-H, atypical squamous cells cannot exclude HSIL ; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion ; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion ; AGC, atypical glandular cells ; CS, conventional smear

Table 2 Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of Cellprep cytology and conventional cytology

	Sensitivity (%) (95%CI)		Specificity (%) (95%CI)		PPV (%) (95%CI)		NPV (%) (95%CI)	
Cellprep cytology	88.5 (83.7-91.5)		95.3 (91.6-97.5)		93.4 (88.3-96.6)		91.7 (88.2-93.8)	
Conventional cytology	83.3 (78.9-85.3)		97.6 (94.3-99.2)		96.4 (91.2-98.7)		88.6 (85.5-90.0)	

CI, confidence interval ; PPV, positive predictive value ; NPV, negative predictive value

Abstract

Objective : This study was conducted to evaluate the cellular morphologies in specimens prepared using Cellprep Plus® (a liquid-based cytological adaptation of the filter-transfer method by using wind pressure).

Study Design : The study cohort comprised 223 patients who were followed up from March 2014 to June 2015 for cervical lesions. The cervical lesions were evaluated in cytological specimens prepared by the conventional method and those prepared by the Cellprep method. The cellular morphologies in the Cellprep Plus® specimens were compared with those in the conventional smear specimens.

Results : The smear background of inflammatory cells, necrotic debris, pathogens, and/or mucus was maintained in the Cellprep Plus® specimens. There were no evident differences in the cellular sizes or shapes between the Cellprep Plus® and conventional smear specimens. Although large clusters of epithelial cells were deformed in the Cellprep Plus® specimens, the morphological criteria for differentiating between “negative” and “positive” cases remained the same as those used in the conventional smear specimens. The sensitivity of the Cellprep Plus® method for detecting intraepithelial lesions was significantly higher than that of the conventional smear method ; however, no significant difference in the specificity, negative predictive value or positive predictive value was found between the two methods.

Conclusion : The Cellprep Plus® method should be considered as a suitable alternative to the conventional smear method for preparation of specimens for cytology.

文 献

- 厚生労働省. がん検診のあり方に関する検討会中間報告書 子宮がん検診の検診項目について. 2012.
- 平成 20 年度厚生労働省がん研究助成金「がん検診の適切な方法とその評価法の確立に関する研究」班, 平成 21 年度厚生労働省がん研究助成金「がん検診の評価とあり方に関する研究」班. 有効性評価に基づく子宮頸がん検診ガイドライン. 2009.
- Miura, S., Matsumoto, K., Oki, A., Satoh, T., Tsunoda, H., Yasugi, T., et al. Do we need a different strategy for HPV screening and vaccination in East Asia? *Int J Cancer* 2009 ; 119 : 2713-2715.
- 竹原和弘, 中村絃子, 川上洋介, 西脇森衛, 戸田 環, 西村俊直・ほか. 子宮頸部病変における HPV genotype について. *日臨細胞会誌* 2011 ; 50 : 147-151.
- Azuama, Y., Kusumoto-Matsuo, R., Takeuchi, F., Uenoyama, A., Kondo, K., Tsunoda, H., et al. Human papillomavirus genotype distribution in cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 and invasive cervical cancer in Japanese women. *Jpn Clin Oncol* 2014 ; 44 : 910-917.
- 立花美津子, 河西十九三, 黒川裕子, 大木洋子, 早田篤子, 藤澤武彦・ほか. 子宮がん集団検診における液状化検体細胞診の有用性. *調査研究ジャーナル* 2012 ; 1 : 12-17.
- 黒島義克, 大竹賢太郎, 赤嶺奈月, 青山 肇, 松崎晶子, 齊尾征直・ほか. 沖縄本島中部地区市町村子宮頸がん検診への LBC 全面導入効果—従来法と LBC 法の比較検討—. *日臨細胞会誌* 2016 ; 55 : 137-141.
- 平井康夫, 古田則行, 荒井祐司, 星 利良, 池畑浩一, 藤原潔・ほか. 子宮頸部病変検出における液状化細胞診 (LBC) ThinPrep の精度と有用性評価のための前方視的検討. *日臨細胞会誌* 2010 ; 49 : 237-241.
- 師岡恭之, 渡邊孝子, 小山芳徳, 安達純世, 豊永安洋, 山本善也・ほか. 子宮頸部擦過細胞診に SurePath 法導入がもたらす影響 従来法との比較検討. *日臨細胞会誌* 2015 ; 54 : 1-7.
- Son, S. M., Koo, J. H., Choi, S. Y., Lee, H. C., Lee, Y. C., Song, H. G., et al. Evaluation of urine cytology in urothelial carcinoma patients : A comparison of Cellprep Plus® liquid-based cytology and conventional smear. *Korean J Pathol* 2012 ; 46 : 68-74.
- Solomon, D., Nayar, R. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. New York : Springer-Verlag ; 1994.
- 中田聡子, 湊 宏, 寺内利恵, 三輪有香子, 黒瀬 望, 中野万里子・ほか. 北陸地方における液状化細胞診の普及状況と諸問題—アンケート調査から—. *日臨細胞会誌* 2015 ; 54 : 128-134.
- 松尾真吾. 平成 23 年度千臨技細胞診検査研究班精度管理報告書 液状検体による細胞判定と LBC 法を用いた標本作製の評価 [Cited 2011 2.3]. Available from : http://www.chiringi.or.jp/k_library/saiboh/2011/2011_2_3_seidokanri.pdf.
- Lee, Y. M., Hwang, J. Y., Son, S. M., Choi, S. Y., Lee, H. C., Kim, E. J., et al. Comparison of diagnostic accuracy between Cellprep Plus® and Thinprep® Liquid-based preparation in effusion cytology. *Diagn Cytopathol* 2014 ; 42 : 384-390.
- Arbyn, M., Bergeron, C., Klinkhamer, P., Martin-Hirsch, P., Sierbers, A. G., Bulten, J. Liquid compared with conventional cervical cytology : a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2008 ; 111 : 167-177.
- Hussein, T., Desai, D., Tomlinson, A., Kitchener, H. C. The comparative diagnostic accuracy of conventional and liquid-based cytology in a colposcopic setting. *BJOG* 2005 ; 112 : 1542-1546.
- Sheet, E. E., Constantine, N. M., Dinisco, S., Dean, B., Cibas, E. S. Colposcopically directed biopsies provide a basis for comparing the accuracy of Thinprep and Papanicolaou smears. *J Gynecol Tech* 1995 ; 1 : 27-33.
- Ferenczy, A., Robitaille, J., Franco, E., Arseneau, J., Richart, R. M., Wright, T. C. Conventional cervical cytologic smears vs. ThinPrep smears. A paired comparison study on cervical cytology. *Acta Cytol* 1996 ; 40 : 1136-1142.
- Akamatsu, S., Kodama, S., Himeji, Y., Ikuta, N., Shimagaki, N. A comparison of liquid-based cytology with conventional cytology in cervical cancer screening. *Acta Cytol* 2012 ; 56 : 370-374.
- Beerman, H., van Dorst, E.B., Kuenen-Boumeester, V., Hogenboom, P. C. Superior performance of liquid-based versus conventional cytology in a population-based cervical cancer screening program. *Gynecol Oncol* 2009 ; 112 : 572-576.

症 例

肺癌検診喀痰細胞診で発見された I 期上咽頭癌と I 期肺小細胞癌の重複癌の 1 例

田口 明美¹⁾ 柴 光年²⁾ 金親 久美¹⁾ 渋谷 潔³⁾
中谷 行雄⁴⁾ 中島 崇裕⁵⁾ 吉野 一郎⁵⁾ 藤澤 武彦¹⁾

公益財団法人ちば県民保健予防財団病理・細胞診断科¹⁾, 国保直営総合病院君津中央病院呼吸器外科²⁾,
千葉大学医学部附属病院成田赤十字病院肺がん治療センター³⁾, 千葉大学大学院医学研究院診断病理学⁴⁾,
同 医学研究院呼吸器病態外科学⁵⁾

背景：上咽頭癌は、本邦では年間罹患数 500 例のまれな腫瘍で、多くは進行癌で発見される。肺小細胞癌も早期診断が困難で、手術施行例はまれである。喀痰検診により I 期上咽頭癌が発見され、その精査中に I 期肺小細胞癌が診断された 1 例を経験したので報告する。

症例：68 歳，男性，喫煙指数 900。喀痰検診 D 判定（高度異型細胞）にて当施設を受診。胸部 CT 検査は陰性で、紹介病院での気管支鏡検査でも異常所見は認められなかった。2 年後の喀痰集検が E 判定（癌細胞）のため、紹介病院にて内視鏡検査を再施行し、生検組織診を行ったところ、I 期上咽頭癌が診断された。また胸部 CT 検査にて出現した肺小結節が経過観察中に増大したため、胸腔鏡下右中葉切除術を施行した結果、I 期肺小細胞癌の診断が得られた。細胞像ではライトグリーン好性の異型扁平上皮細胞および癌細胞が判定に有用であった。

結論：喀痰細胞診と胸部 CT 検査の併用による精査および経過観察は、重複癌の早期発見に有用であった。喀痰細胞診では黄色調のみならずライトグリーン好性の異型細胞にも留意する必要がある。喀痰細胞診は発見が困難な頭頸部癌の早期発見に貢献できる可能性が示唆された。

Key words : Lung cancer mass screening, Sputum cytology, Nasopharyngeal carcinoma, Small cell lung carcinoma, Double cancer

I. はじめに

肺癌検診喀痰細胞診は肺門部扁平上皮癌の早期発見を主な目的に実施されているが¹⁾、喀痰細胞診では喉頭・咽

頭・口腔等の上気道からの剥離細胞が喀痰に混入するため、肺癌のみならず頭頸部癌の発見の契機になっている²⁻⁵⁾。上咽頭癌（nasopharyngeal cancer : NPC）は初期症状に乏しいだけでなく、視診が困難な位置に発生するため、多くは進行癌で発見されている。また早期から頸部リ

A case of stage I nasopharyngeal carcinoma combined with stage I small cell lung cancer detected with sputum cytology during lung cancer screening

Akemi TAGUCHI¹⁾, C. T., I. A. C., Mitsutoshi SHIBA²⁾, M. D., M. I. A. C., Hisami KANEOKA¹⁾, C. T., I. A. C., Kiyoshi SHIBUYA³⁾, M. D., Yukio NAKATANI⁴⁾, M. D., Takahiro NAKAJIMA⁵⁾, M. D., Ichiro YOSHINO⁵⁾, M. D., Takehiko FUJISAWA¹⁾, M. D.

¹⁾Chiba Foundation for Health Promotion and Disease Prevention

²⁾Department of Thoracic Surgery, Kimitsu-Chuo Hospital

³⁾Chiba University Hospital Department of Chest Surgery, JRC Narita Hospital

⁴⁾Department of Fundamental Pathology, ⁵⁾Department of General Thoracic Surgery, Chiba University Graduate School of Medicine

論文別刷請求先 〒261-0002 千葉市美浜区新港 32 の 14 公益財団法人ちば県民保健予防財団病理・細胞診断科 田口明美

平成 29 年 6 月 19 日受付

平成 30 年 1 月 15 日受理

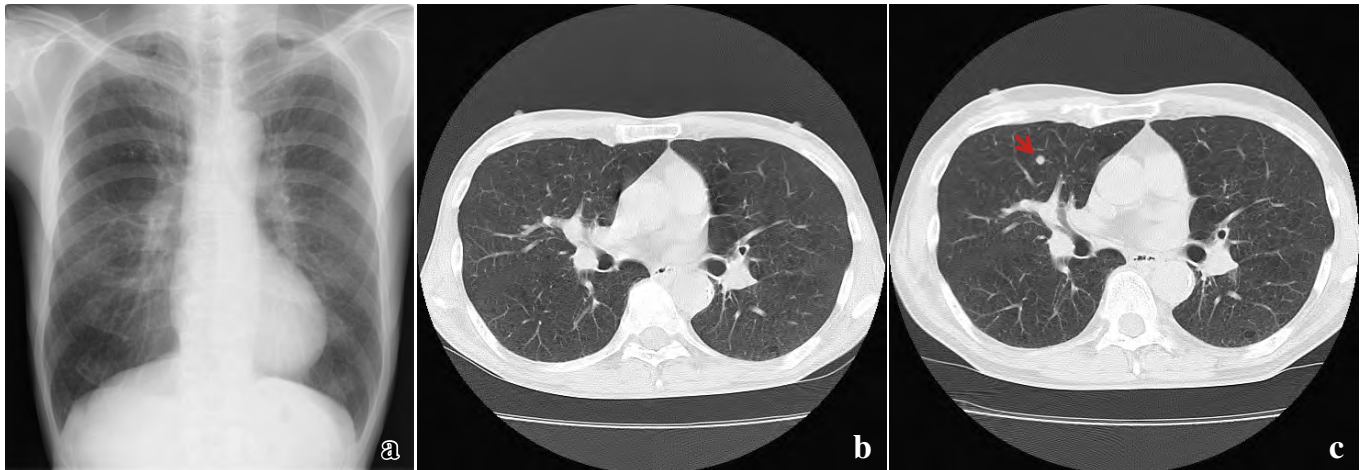


Photo. 1 Chest X-ray examination images. Plain chest X-ray (a) and CT (b) just after the initial mass screening for lung cancer at our institute, shows no abnormal finding. Two years later, new nodule 7 mm in diameter appeared in the right S5 of the chest CT (c) taken at our institute. Red arrow indicates the new nodule.

ンパ節転移や遠隔転移がみられ、他の頭頸部癌と比較して予後は不良である⁶⁻⁸⁾。外科的切除が困難で、組織学的に低分化扁平上皮癌であることが多く、放射線療法が治療の主体である。一方、肺小細胞癌 (small cell lung carcinoma: SCLC) も早期診断が困難であるうえ予後不良な腫瘍であり、手術施行例は少数である。今回われわれは肺癌検診喀痰細胞診を契機に I 期 NPC が発見され、その精査中に I 期 SCLC が診断された重複癌の症例を経験したので報告する。

II. 症 例

患 者：68 歳、男性、喫煙指数 900、飲酒歴なし。

主 訴：自覚症状なし。

既往歴：35 歳で十二指腸潰瘍の手術。

職 歴：特記すべきものなし。

現病歴：肺癌検診の胸部 X 線検査は陰性であったが、喀痰細胞診にて D 判定/要精密検査となり、当施設の呼吸器科専門外来を受診した。胸部画像診断は X 線検査・CT 検査ともに陰性であったが (Photo 1a, b)、喀痰細胞診の追加検査は D 判定であり、高度異型細胞の出現が認められた。紹介病院にて気管支鏡検査が予定されたが、心臓に異常が認められたため経過観察となった。2 年後の肺癌検診では胸部 X 線検査陰性、喀痰細胞診 E 判定 (要精密検査) となり、再び当施設の外来を受診。胸部 CT 検査にて、前回認められなかった 7 mm 大の結節が右中葉 S5 に出現していた (Photo. 1c)。紹介病院の呼吸器外科にて内視鏡検査を施行したところ、気管支系に悪性所見はなかったが、上咽頭に粘膜不整が認められた (Photo. 2)。同部位に生検

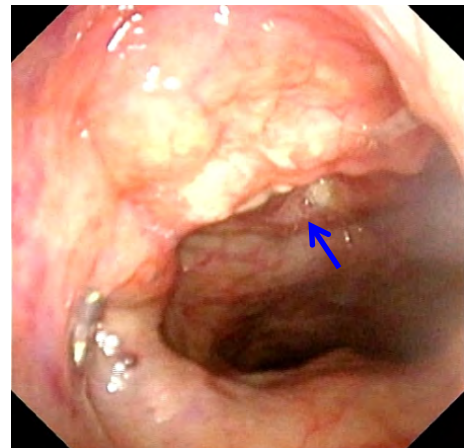


Photo. 2 Endoscopic finding of the nasopharynx. An irregular tumorous lesion can be observed but it is confined to the nasopharynx (clinical stage I).

組織診を施行したところ、中～低分化の扁平上皮癌と診断された。腫瘍は上咽頭に局限し、リンパ節転移は認められず、c-T1N0M0/I 期上咽頭扁平上皮癌の診断により放射線治療が行われた。

NPC に特徴的な Epstein-Barr (EB) ウイルス粒子抗原 EBV-VCA に対する抗体価 EBV 抗体検査の結果は、抗 EBV-VCA IgG：40、IgM：10 未満、IgA：10 未満、EBV-EA-DR IgG：10 未満で、EB ウイルス感染は確認できなかった。

また紹介病院の精査にて、右中葉 S5 に出現した小結節の増大傾向が認められたため、胸腔鏡下右中葉切除術が施行された。病理組織診断の結果は、I A 期肺原発 SCLC であった。

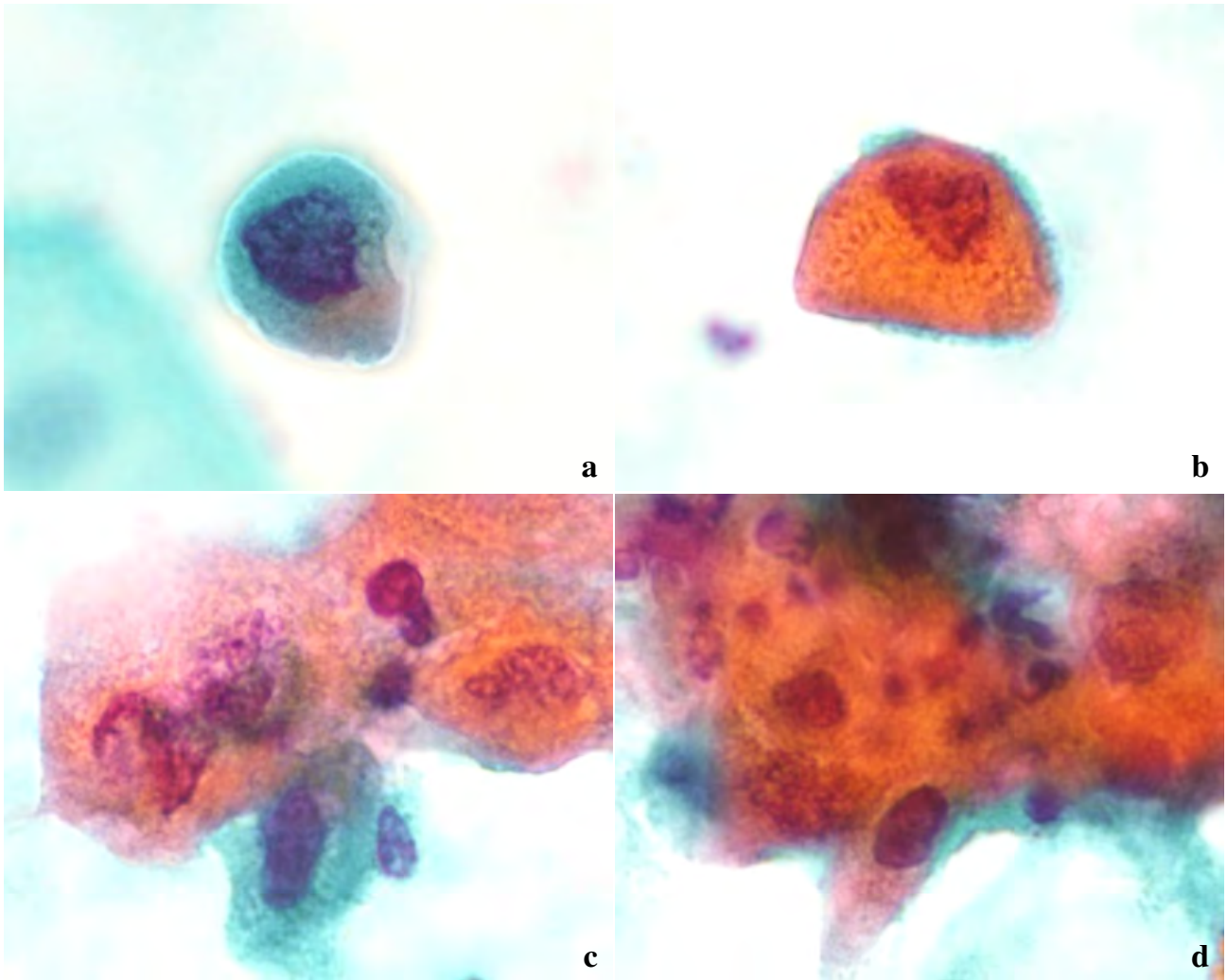


Photo. 3 Cytological images at the initial mass screening with sputum cytology (class D). a : LG-philic medium size atypical cells are visible with nuclear chromatin aggregation. b : OG-philic medium size atypical cells are observed with nuclear chromatin aggregation. c : Eosin/OG-philic nuclear atypical cell can be seen. d : LG/Eosin-philic nuclear atypical cell is shown (Sputum cytology, Pap. staining, $\times 100$).

III. 細胞学的所見

喀痰集検 D 判定と 2 年後の喀痰集検 E 判定における, 追加作製標本を含む蓄痰標本 6 枚に出現した, 中等度異型以上の異型上皮細胞および癌細胞を, 下記のとおり分類し解析した. 大きさは細胞の長径により小型細胞 (S: $\sim 20 \mu\text{m}$)・中型細胞 (M: $21 \sim 40 \mu\text{m}$)・大型細胞 (L: $41 \mu\text{m}$ ~), Papanicolaou 染色の染色性はライトグリーン好性細胞 (LG)・エオジン好性細胞 (Eo)・オレンジ G 好性細胞 (OG), 形状は円形および類円形細胞 (R)・非円形細胞 (NR), 異型度は中等度異型細胞 (MATP)・高度異型細胞 (SATP)・癌細胞 (M) に分類し, 変性の程度は核内および核縁の識別が可能であれば中等度変性細胞 (MD) とし,

不明瞭であれば高度変性細胞 (SD) とした. 喀痰保存液を使用した 3 日間の蓄痰は, すべて粘液融解法で処理を行った. なお D 判定と E 判定の 2 群間の比較は, χ^2 検定による統計学的な解析を行い, p 値 0.05 未満を有意とした.

喀痰集検 D 判定では核クロマチンの増量した N/C 比の低い NR/Eo が, 比較的優位に出現していた. 細胞質はやや肥厚しているが, 光輝性は明らかでなかった. 色調は赤みを帯びた橙色を呈するものが多く, レモンイエローや鮮やかな黄色調の細胞は認められなかった (Photo. 3). 2 年後の E 判定喀痰標本では R/LG が優位に出現し, 異型細胞の出現様式に変化が認められた. 特に悪性と考えられた細胞は, LG あるいは LG と Eo の両染色性に染色された核異型の強い大型細胞であった (Photo. 4).

細胞の解析結果の詳細は, Fig. 1 に示した. 異型上皮細

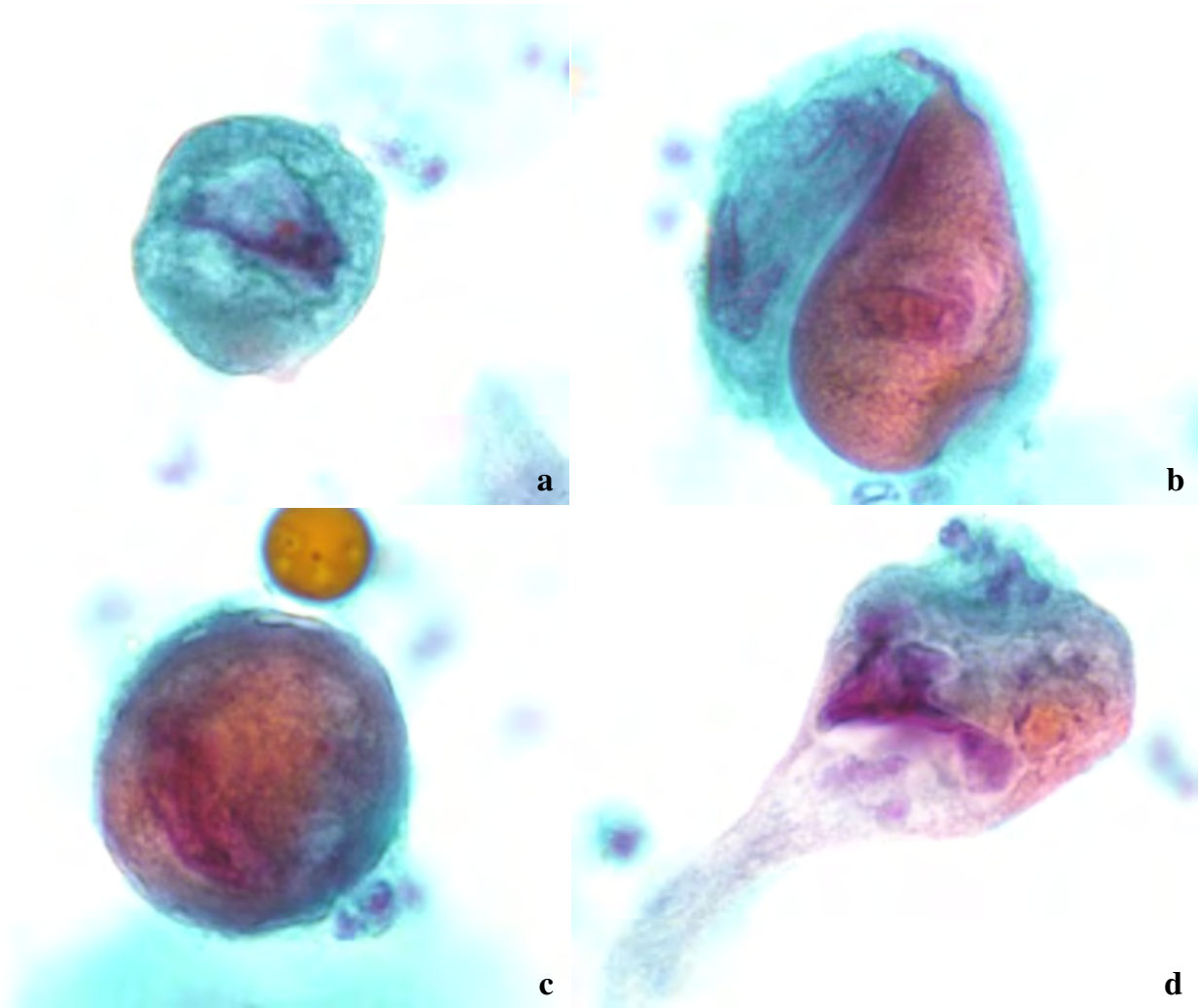


Photo. 4 Cytological images of sputum cytology two years after (class E). a : LG-philic atypical cells demonstrate nucleolus and nuclear chromatin aggregation. b : An eosinophilic cell is adjacent to LG-philic cells. c : An eosinophilic cell is seen adjacent to LG-philic cells. d : A LG/Eosin amphophilic large cell is shown (Sputum cytology, Pap. staining, $\times 100$).

胞および癌細胞の出現数・大きさ・異型度・変性の程度に有意差は認められなかった (Fig. 1a, c, d). しかし異型細胞の形状および染色性については, D 判定で NR/Eo 57 個 (34.8%) に対し E 判定では R/LG 75 個 (52.4%) で, 出現した異型細胞の分布に統計学的有意差が認められた ($p < 0.001$) (Fig. 1b).

SCLC については, すべての蓄痰標本において再検討したが, SCLC を示唆する細胞の出現は認められなかった.

IV. 病理組織学的所見

1. 上咽頭癌の生検病理組織像

上咽頭の不整粘膜の生検病理組織像は, 大小不揃いな核を有する多角形～紡錘形の扁平上皮細胞がシート状～胞巣状に浸潤増殖していた. 一部に角化傾向を伴う扁平上皮癌

で, 分化度は中～低分化であった. EBV が原因と推察される細胞の変化は, 生検組織標本のなかでは認められなかった (Photo. 5).

2. 肺腫瘍病理組織像

術後病理での肺の腫瘍の大きさは $1.5 \times 1.4 \times 1.0$ cm で (Photo. 6a), 断面は肉眼的に灰白色であった. HE 標本の腫瘍細胞は壊死を伴いながら胞巣状に浸潤増殖し, 核分裂像が多数認められた. 腫瘍細胞の核クロマチンは細～粗顆粒状で, 核小体を有するが小型で目立たなかった. 不整形核が互いに圧排し合うような, 鑄型状配列が散見された (Photo. 6b). 背景には痰粉が沈着し, 中等度の気腫性変化を呈していたが, 胸膜浸潤および明らかなリンパ管浸潤は認められなかった. また腫瘍細胞の免疫組織化学的検索は, synaptophysin (+) (Photo. 7a), chromogranin A (+) (Photo. 7b) であった. 以上の所見より, p-T1aN0M0p-

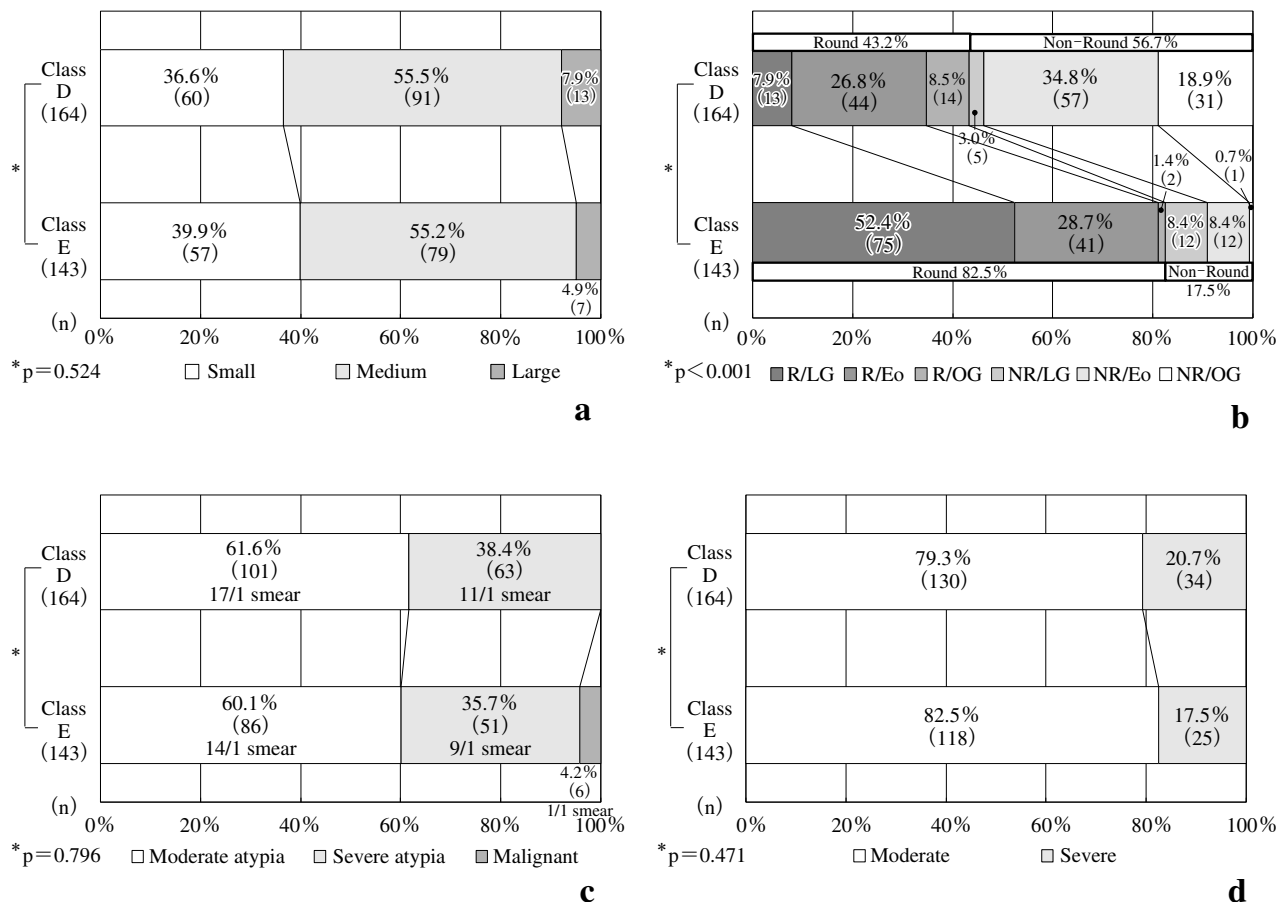


Fig. 1 Comparison of the characters of atypical squamous cells in the sputum detected at the first mass screening for lung cancer (class D), and two years later (class E). a : The size of atypical squamous cells showed no significant difference. $p=0.524$. b : Compared to the class D smears, LG-philic round or almost round cells dominated, and OG-philic cells appeared less frequently in the class E smears. $p<0.001$. c : In both groups, approximately 60% of atypical cells were moderately atypical cells, and a small number of malignant cells were detected in the class E smears. $p=0.796$. d : Approximately 20% of atypical cells were severely degenerated cells in both groups. $p=0.471$.

m0D0E0/ I A 期肺原発 SCLC と診断された。

V. 考 察

NPC は台湾、中国南部、東南アジアなどの一部の地域では発症率が高いが⁶⁾、わが国ではまれな疾患であり、現在わが国における 1 年間の発生数は約 500 例と推定されている。解剖学的に上咽頭は、鼻腔後端の後鼻孔から軟口蓋の上面にあたる部分で、鼻腔と咽頭の境界部に位置する。構成する粘膜は円柱線毛上皮と扁平上皮が混在し、両者の境界には移行上皮が存在する⁷⁾。中・下咽頭および喉頭が扁平上皮であるのに対し、上咽頭は他とは異なる特殊な粘膜を有している。

NPC 患者のウイルス粒子抗原に対する EBV 抗体価 (IgA, IgG) が健常人より高いことから、NPC と EBV 感染との関連性が示唆されているが^{6,7,9,10)}、本例では EBV の感染は確

認できなかった。本例は上咽頭と肺の 2 つの臓器に発生した重複癌で、上咽頭癌の診断から肺小細胞癌の診断までに 1 年 4 ヶ月を要しており、異時性の癌に分類される。また外的因子である喫煙が複数の領域に影響を与える広域発癌 field cancerization である可能性が示唆された^{11,12)}。重複癌の本邦における発生頻度は 1990 年代後半になると 10% を超える報告が多く、近年急速に増加傾向にある。特に頭頸部領域は他の領域に比べ重複癌の頻度が高い。頭頸部癌では続発する第 2 癌が食道/肺/頭頸部に発生することが多く、この 3 部位で全体の 60% 以上が占められている¹³⁾。

SCLC もまた早期診断が難しい癌であり、SCLC 全体の 5 年生存率は 14.7% と予後不良である。SCLC は増殖が速くまた転移しやすいため、診断時にはすでに多くの症例でリンパ節転移や遠隔転移が認められている。抗がん剤や放射線に対する感受性が高いことから、標準治療は化学放射線治療とされているが、その成績は不良である。SCLC の 5

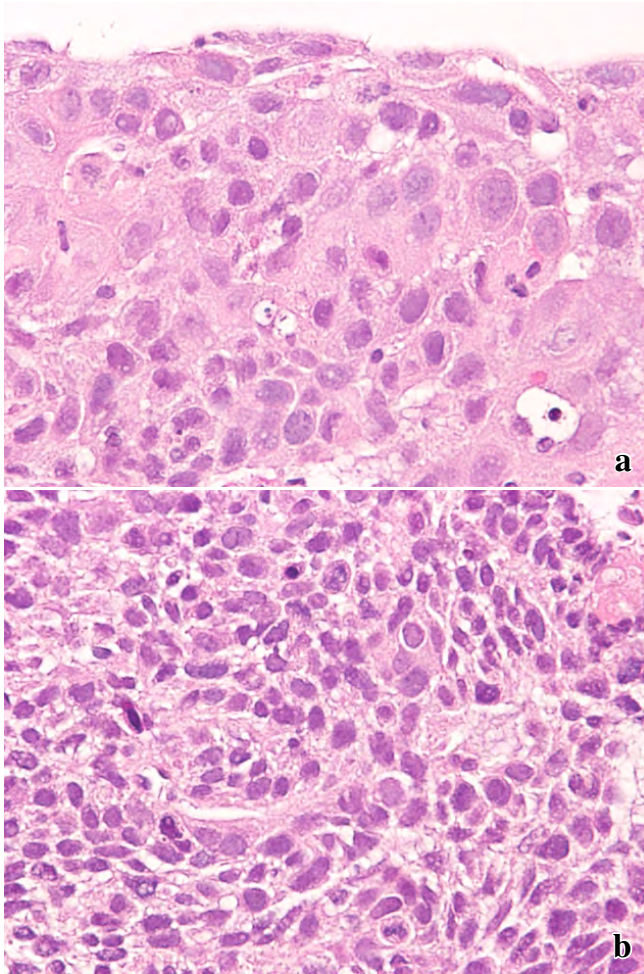


Photo. 5 Histopathological finding of the biopsy obtained from the nasopharynx (a, b). Large and small irregular polygonal—spindle shaped malignant squamous cells are infiltrating and proliferating from sheet to alveolar form. Partly accompanied by a tendency to keratinization, the degree of differentiation is moderate to low (HE staining, $\times 40$).

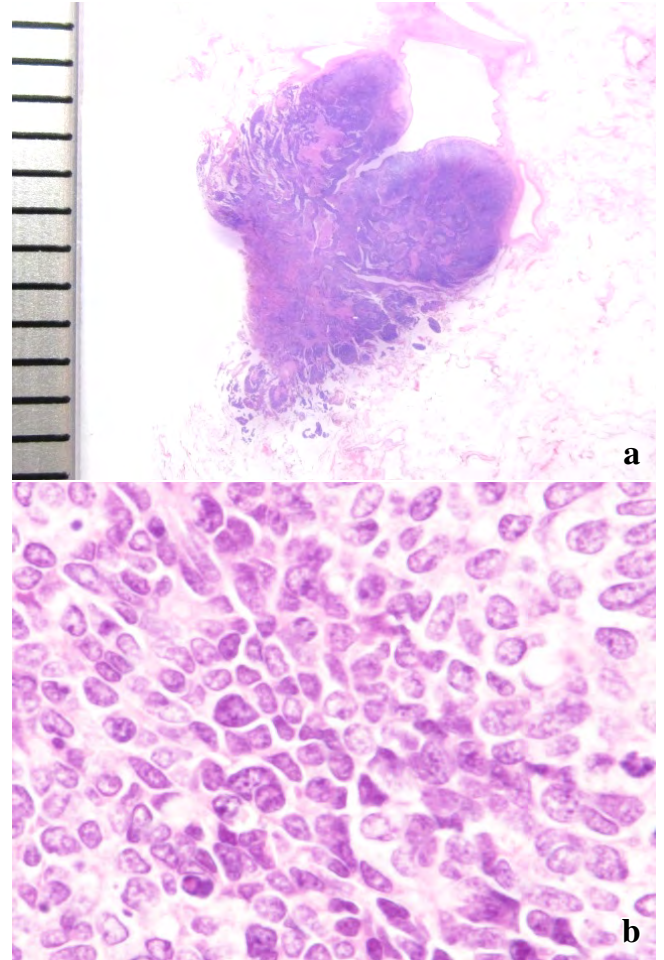


Photo. 6 Histopathological finding of the lung small cell carcinoma.

a : Overall figure of the lung tumor, $1.5 \times 1.4 \times 1.0$ cm in size (HE staining, One scale indicate 1 mm).

b : Compact cancer cells of irregular nuclei with high N/C ratio proliferate densely to squeeze out. Nuclear chromatin is fine to coarse granular, nucleolus is small and inconspicuous (HE staining, $\times 40$).

年生存率を向上させるには、治療切除が可能な I A 期の段階で検出することが求められている¹⁴⁾。

本例は喀痰検診の蓄痰標本に出現していた異型扁平上皮細胞の検出が契機となり、気管支鏡検査と胸部 CT 検査を施行したことによって、I 期 NPC と I A 期 SCLC の重複癌の診断が得られた。NPC および SCLC の多くは進行癌で発見される腫瘍であり、両者が I 期癌で発見されるのはきわめてまれである。当施設では喀痰細胞診で癌が疑われる場合は、癌が確定していない受診者に対しても、喀痰細胞診と胸部 CT 検査による経過観察を行っている。両者によるスクリーニングが、本例の第 1 癌のみならず第 2 癌の早期発見に有用であった可能性が示唆された。

喀痰検診の対象者は、50 歳以上で喫煙指数が 600 以上で

ある。これらの重喫煙者は頭頸部癌の高危険群でもあり、当施設では喀痰検診が契機で発見された癌の 17% は頭頸部癌である。喫煙以外にも過度の飲酒が頭頸部癌の発生要因になっていることが知られているが、本例は飲酒の常習者ではなかった。したがって NPC と SCLC の発癌の要因には、喫煙が関与している可能性が示唆された。喀痰細胞診は喫煙が発癌要因となる複数領域（気管・気管支・咽頭・喉頭・口腔・頸部食道など）から混入した異型細胞を詳細に観察できるため、重喫煙者における広域発癌の早期発見に最も適した検査法であり、増加傾向が認められる重複癌の発見率向上に貢献できると考えられる。

本例の D 判定喀痰標本では扁平上皮として分化傾向を認める NR が半数以上であったが、2 年後の E 判定では非

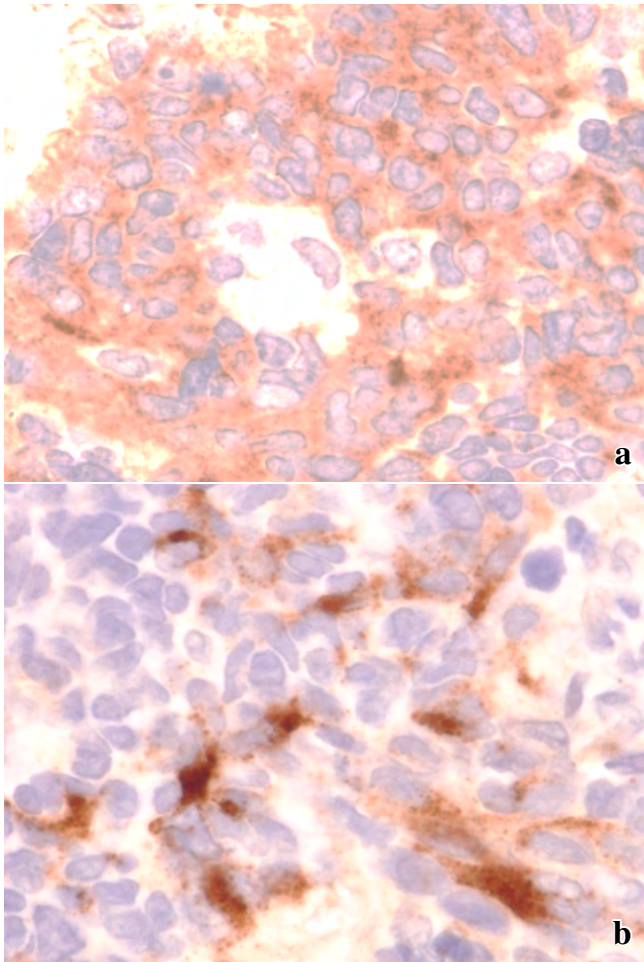


Photo. 7 Immunohistochemistry of the resected lung tumor.

a : synaptophysin (+) (× 40).

b : chromogranin A (+) (× 40).

角化型の LG/R が半数以上を占めていた。喀痰細胞診は気道全体からの剥離細胞が対象となるため、細胞の由来を特定することは困難であり、D 判定と E 判定の異型細胞の由来が同じであるかを同定することはできない。したがって癌細胞を含む LG 好性の異型細胞の出現が経過とともに優勢となった要因は推察の範囲内であるが、気道表面に露出した腫瘍の分化度の変化や、病巣周囲の粘膜を含めた病態の変化が、可能性として考えられた。

E 判定細胞は、LG あるいは LG と Eo の両染色性を呈する核異型の強い大型細胞であったが、その出現数は少数であった。LG 好性の異型細胞の多くは小型～中型の円形細胞で、弱拡大では Dust cell との鑑別が困難であった。喀痰細胞診のスクリーニングでは OG 好性の光輝性細胞に注目しがちであるが、LG 好性の異型細胞の検出にも配慮した、慎重な見方が必要である。喀痰細胞診で LG 好性の異型細胞が優勢に出現していた場合には、肺癌のみならず咽頭癌の可能性も念頭に置き、両者の鑑別を考慮した細胞観察が

必要になるものと考えられた。

VI. 結 語

肺癌検診喀痰細胞診が契機で、I 期 NPC と I 期 SCLC の重複癌が発見された症例を経験した。喀痰細胞診と胸部 CT 検査の併用による精査および経過観察は重複癌の早期発見に有用であった。細胞像では OG 好性の光輝性細胞のみならず、LG 好性の非角化型異型上皮細胞にも留意する必要があった。喀痰細胞診は喫煙を発癌要因とする複数領域の早期癌の検出に適した検査法であり、肺癌のみならず発見が困難な頭頸部癌の早期発見にも貢献できる可能性が示唆された。

筆者らは開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は、第 54 回日本臨床細胞学会秋期大会（2015 年、名古屋）において発表した。

Abstract

Background : Nasopharyngeal carcinomas are rare tumors with an annual incidence of 500 cases in Japan and are often found in advanced cancer. It is also difficult to diagnose small cell lung carcinoma at an early stage and surgical cases are rare. We report herein on a case of nasopharyngeal carcinoma diagnosed with sputum cytology, combined with stage I small cell lung cancer detected during the examination.

Case : A 68-year-old man, a heavy smoker (smoking index : 45 pack-year), consulted our institute because marked atypical cells (level D) were detected on sputum cytology during a mass screening program for lung cancer. The chest CT examination was negative, and abnormal findings were not observed in the endoscopic examination. After 2 years, endoscopy was performed again because cancer cells (level E) were screened on sputum cytology and stage I nasopharyngeal carcinoma was diagnosed with an endoscopic biopsy. In addition, as a pulmonary nodule, which had appeared in the chest CT examination, increased during follow-up, a thoracoscopic right middle lobectomy was performed, and diagnosis of stage I small cell lung carcinoma was obtained. In sputum smears, non-keratinizing squamous epithelial cells stained with light green were useful for the diagnosis.

Conclusion : Scrutiny and follow-up with a combination of sputum cytology and chest CT examination were useful for the early detection of multiple cancers. In sputum cytology, it was necessary to pay attention not only to yellowish photo-luminescent but also to light green-philic atypical epithelial cells. Our experience suggested that sputum cytology could contribute to early detection of head and neck cancers that are otherwise difficult to detect.

文 献

- 1) 日本肺癌学会, 編. 肺癌取り扱い規約, 改訂第8版. 東京: 金原出版; 2017. 193-197.
- 2) 田口明美, 柴 光年, 渋谷 潔, 中谷行雄, 吉野一郎, 藤澤武彦・ほか. 肺がん検診喀痰細胞診で発見された頭頸部扁平上皮癌の検討. 日臨細胞会誌 2015; 54 (1): 8-15.
- 3) 佐藤雅美, 齊藤泰紀, 永元則義, 遠藤千顕, 佐川元保, 藤村重文・ほか. 肺癌集検喀痰細胞診によって発見された肺癌以外の悪性腫瘍症例の検討. 気管支学 1992; 14 (4): 328-333.
- 4) 斎藤裕夫, 小野 勇, 海老原 敏, 吉積 隆, 池田茂人, 小野良祐. 喀痰細胞診から発見に至った頭頸部癌 (肺癌検診と頭頸部癌). 癌の臨床 1985; 31 (13): 1665-1668.
- 5) 田口明美, 柴 光年, 田島ひとみ, 吉田美紀子, 鴻池克寛, 桑原竹一郎・ほか. 肺癌検診喀痰細胞診で発見された下咽頭扁平上皮癌の検討. 日臨細胞会誌 2006; 45 (3): 177-183.
- 6) Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P., Sidransky, D., eds. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. WHO Classification of Tumours, 3rd Edition, Volume 9. Lyon: IARC; 2005. 85-97.
- 7) 藤井良一, 今西順久, 富田俊樹, 坂本耕二, 重富征爾, 羽生昇・ほか. 上咽頭癌の治療成績および予後因子の統計学的検討. 日耳鼻 2012; 115: 773-782.
- 8) 古川 昶. 新図説耳鼻咽喉科・頭頸部外科講座第5巻 頭頸部腫瘍. 東京: メジカルビュー社; 2001. 180-187.
- 9) 吉崎智一, 室野重之, 竹下 元, 古川 昶. EBウイルスと上咽頭癌. 臨床と微生物 1999; 26 (5): 51-53.
- 10) Si, Y., Deng, Z., Lan, G., Du, H., Wang, Y., Si, J. The safety and immunological effects of rAd5-EBV-LMP2 vaccine in nasopharyngeal carcinoma patients: A phase I clinical trial and two-year follow-up. Chem Pharm Bull 2016; 64: 1118-1123.
- 11) 園田 聡, 鈴木幹男, 瀬野悟史, 櫻井弘徳, 花満雅一, 片岡英幸・ほか. 頭頸部多重癌の検討. 耳鼻臨床 2006; 99 (4): 333-338.
- 12) 藤澤武彦, 渋谷 潔, 齊藤幸雄, 馬場雅行, 柴 光年, 廣島健三・ほか. 肺と咽・喉頭, 食道との重複癌における背景因子と治療成績. 日気食会報 1998; 49 (2): 161-167.
- 13) 堀内正敏. 新図説耳鼻咽喉科・頭頸部外科講座第5巻 頭頸部腫瘍. 東京: メジカルビュー社; 2001. 8-9.
- 14) 大塚倫之, 岡本紀雄, 倉田香葉子, 白山敬之, 田宮基裕, 森下直子. ナビゲーションシステムとガイドシース併用気管支腔内超音波断層法 (EBUS-GS) が診断に有用であったIA期小細胞肺癌の1例. 気管支学 2014; 36 (1): 63-67.

症 例

甲状腺に病変を形成したランゲルハンス細胞組織球症の1例

竹 淵 友 弥¹⁾ 佐 野 孝 昭²⁾ 後 藤 優 典¹⁾ 星 川 里 美¹⁾
 栗 原 康 哲¹⁾ 伊 古 田 勇 人³⁾ 平 戸 純 子¹⁾ 小 山 徹 也^{1,2)}

群馬大学医学部附属病院病理部¹⁾, 群馬大学大学院医学系研究科病理診断学²⁾,
 同 医学系研究科病態病理学³⁾

背景: ランゲルハンス細胞組織球症 (Langerhans cell histiocytosis : LCH) は, ランゲルハンス細胞の増殖と周囲の炎症性細胞浸潤によりさまざまな部位や臓器を傷害する疾患である。今回われわれは17年の経過で症状が悪化し, 皮膚や甲状腺, 腋窩, 脊椎, 肛門へと浸潤した LCH を経験したので報告する。

症例: 40 歳代男性。20 歳代の時に気胸で他院に入院し, 肺好酸球性肉芽腫症と診断されたが, 経過観察は行われなかった。最近になって両側腋窩のしこりと右肩から背部にかけての皮膚の腫れに気づき, 当院に紹介受診となり皮膚生検が行われた。それから2週間後に気胸を発症し, 肺部分切除を行った。いずれの検体も病理組織学的に LCH と診断された。さらに画像診断で甲状腺への転移が疑われ, 甲状腺穿刺吸引細胞診が行われた。細胞像は淡く泡沫状の細胞質と核に切れ込みをもった細胞が, 結合性の緩い集塊や孤立性にみられた。免疫染色は CD1a, Langerin が陽性で, LCH に相当する所見であった。

結論: 甲状腺穿刺吸引細胞診においても LCH の細胞像の特徴を把握することで, 診断推定は可能であると思われる。

Key words : Thyroid, Cytology, Langerhans cell histiocytosis, Case report

I. はじめに

ランゲルハンス細胞組織球症 (Langerhans cell histiocytosis : LCH) は, かつて histiocytosis X という疾患名で Letterer-Siwe disease, Hand-Schüller-Christian syndrome, 好酸球性肉芽腫などとして知られていたいくつかの疾患を

包括する原因不明の疾患で, ランゲルハンス細胞の増殖によりさまざまな部位や臓器を傷害する¹⁾。LCH が甲状腺に発生または浸潤することはまれであり, その細胞学的所見が記載されている文献は少なく²⁻⁸⁾, 本邦での報告は初めてである。

今回, われわれは 17 年の経過で症状が悪化し, 右頸部から背側胸部の軟部組織や甲状腺, 肺, 腋窩皮膚, 大腿部深部, 肛門に多発性病変を形成した LCH の細胞診断を甲状腺穿刺吸引細胞診検体で経験したので報告する。

II. 症 例

患 者: 40 歳代, 男性。

主 訴: 両側腋窩皮疹。

既往歴および現病歴: 20 歳代の時に気胸で他院に入院。その時まで喫煙歴あり (60 本/日)。肺部分切除術の手術検体で肺好酸球性肉芽腫症と診断されたが, その後の経過観察は行われなかった。最近になってから両側腋窩のしこり

A case of Langerhans cell histiocytosis of the thyroid gland

Tomoya TAKEBUCHI¹⁾, C. T., I. A. C., Takaaki SANO²⁾, M. D., Yusuke GOTO¹⁾, C. T., I. A. C., Satomi HOSHIKAWA¹⁾, C. T., C. M. I. A. C., Yasunori KURIBARA¹⁾, C. T., J. S. C., Hayato IKOTA³⁾, M. D., Junko HIRATO¹⁾, M. D., Tetsunari OYAMA^{1,2)}, M. D.

¹⁾Department of Pathology, Gunma University Hospital

²⁾Department of Diagnostic Pathology, ³⁾Department of Pathology, Graduate School of Medicine, Gunma University

論文別刷請求先 〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3の39の15 国立大学法人群馬大学医学部附属病院病理部 竹淵友弥

平成29年8月28日受付

平成30年1月15日受理



Photo. 1 Representative view of the heterogeneous parenchyma seen on ultrasound of the right thyroid lobe in transverse views.

と右肩から背部にかけての皮膚の腫れに気づき、当院に紹介受診となった。両側腋窩の皮膚切除術が行われ、それから2週間後に気胸を発症し、肺部分切除が行われた。いずれの検体も病理組織学的にLCHと診断された。その後に行われたPET検査で右頸部から背側胸部の軟部組織、甲状腺、肺、腋窩皮膚、大腿部深部、肛門に集積を認め、LCHの浸潤が疑われた。甲状腺の精査が行われ、TSH: 10.63 μ IU/mL, FT3: 1.88 pg/mL, FT4: 0.99 ng/mL, 自己抗体陰性であり、潜在性甲状腺機能低下症が疑われた。超音波画像では両葉ともにびまん性に軽度腫大していた。血流の増大はなく、辺縁は不整、内部エコーは粗雑であった(Photo. 1)。超音波画像上では慢性甲状腺炎が疑われる所見であったが、LCHの浸潤の可能性も否定できないため穿刺吸引細胞診が行われた。

III. 細胞学的所見

血性背景に、淡く広い細胞質と類円形～楕円形の腫大核をもつ細胞が孤立性に多くみられた(Photo. 2a)。少量ではあるが、濾胞上皮細胞の小集塊も認めた(Photo. 2f)。リンパ球はみられたが、好酸性濾胞上皮細胞はみられず、慢性甲状腺炎は否定的な所見であった。孤立性細胞は類円形～紡錘形と多彩な形態を示しており、核クロマチンは細顆粒状、1～数個の核小体がみられ、「しわ」や「くびれ」などの核の切れ込みが目立った(Photo. 2b)。また、多核の細胞(Photo. 2c, d)や核分裂像も認めた。細胞転写法を用い

て、自動免疫染色装置(ベンタナXTシステム ベンチマーク, ロッシュダイアグノスティックス)による免疫染色を行った。これらの孤立性細胞はCD1a (O10, DAKO) 陽性, Langerin (929F3.01, Novus Biologicals) 陽性(Photo. 2e), TTF-1 (SPT24, ニチレイ) 陰性を示した(Photo. 2h, i)。また、ごく少量認められた濾胞上皮細胞はTTF-1 陽性を示した(Photo. 2g)。

これらの細胞は皮膚と肺の組織標本にみられたLCHの細胞と所見が類似しており、免疫染色の結果も含めてLCHの浸潤と診断した。

IV. 病理組織学的所見

皮膚切除検体(両側腋窩): 肉眼的には多数の潰瘍形成が認められ、断面では出血を伴う比較的境界明瞭な癒合性の白色腫瘍性病変の形成が認められた。組織学的には、リンパ球、好中球、好酸性球などの高度な炎症細胞浸潤を背景に、楕円形～類円形の核と乏しい好酸性の胞体をもつ腫瘍細胞が、びまん性に浸潤増殖していた(Photo. 3a)。腫瘍細胞の核にはくびれや切れ込みをもつものがみられ、結合性は緩く、部分的に硝子様物質が腫瘍間に沈着していた(Photo. 3b)。また、腫瘍の増殖は真皮～皮下脂肪組織までみられ、部分的に表皮まで浸潤していた。ベンタナ ベンチマークによる免疫染色では、S-100 蛋白(ポリクローナル抗体, DAKO), CD1a, LCA (2B11 & PD7/26, ロッシュダイアグノスティックス), Langerin が陽性で, keratin (AE1/AE3/PCK26, ロッシュダイアグノスティックス) は陰性であった(Photo. 3c, d)。BRF V600E (VE1, Spring Bioscience) の免疫染色は陰性であった。以上の所見より、LCHと診断された。

肺部分切除検体: 皮膚切除検体の細胞と類似した細胞像を示す腫瘍細胞が広く増殖しており、部分的に嚢胞状の空洞形成を伴っていた。免疫染色所見も皮膚と同様で、肺病変もLCHと診断された。

V. 考 察

LCHは、ランゲルハンス細胞の増殖性病変であり、臨床像はきわめて短期間に死にいたるものから、予後良好な単一病変まで多彩であり、腫瘍であるか炎症性病変であるのかについては長く議論されてきたが、X染色体連鎖遺伝子検索プローブを用いた解析によりモノクローナリティーが証明されている¹⁾。さらに近年ではRAS遺伝子下流のBRF V600E変異がLCHの約50%の症例にみられており、腫瘍性病変で

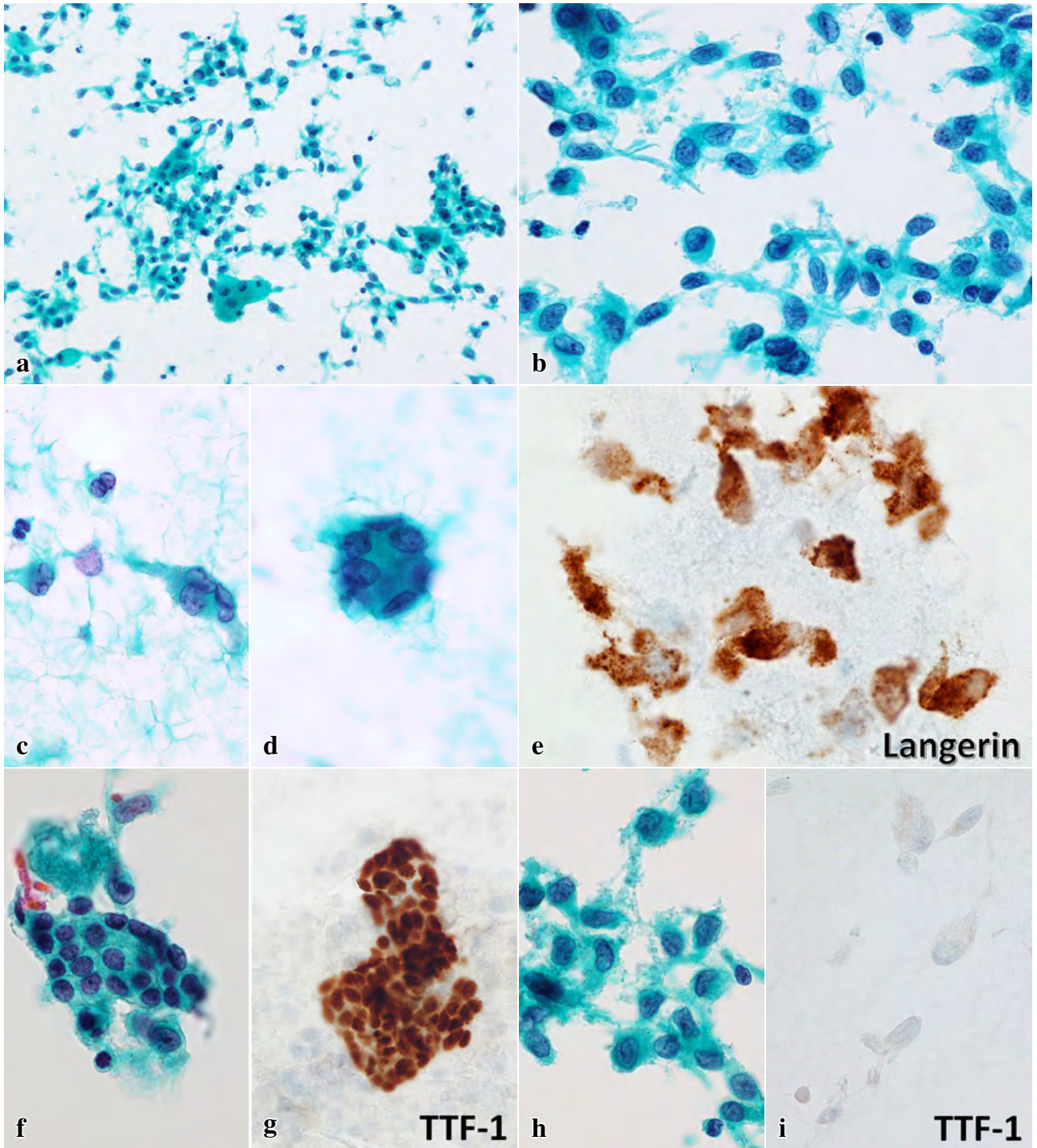


Photo. 2 Cytological findings of FNA smears of the thyroid. a, b : Tumor cells with enlarged nuclei and pale cytoplasm. Some cells show prominent nuclear grooves (Pap. staining, a : $\times 40$, b : $\times 100$). c, d : Multinucleated cells with 2-9 similar-looking nuclei with abundant cytoplasm (Pap. staining, c, d : $\times 100$). e : Immunocytochemistry showing positive staining of the tumor cells for Langerin (Immunocytochemical staining, $\times 100$). f, g : A small number of follicular cells. The cells show positive staining for TTF-1 (f : Pap. staining, $\times 100$) (g : Immunocytochemical staining, $\times 100$). h, i : Tumor cells. The cells showing negative staining for TTF-1 (h : Pap. staining, $\times 100$) (i : Immunocytochemical staining, $\times 100$).

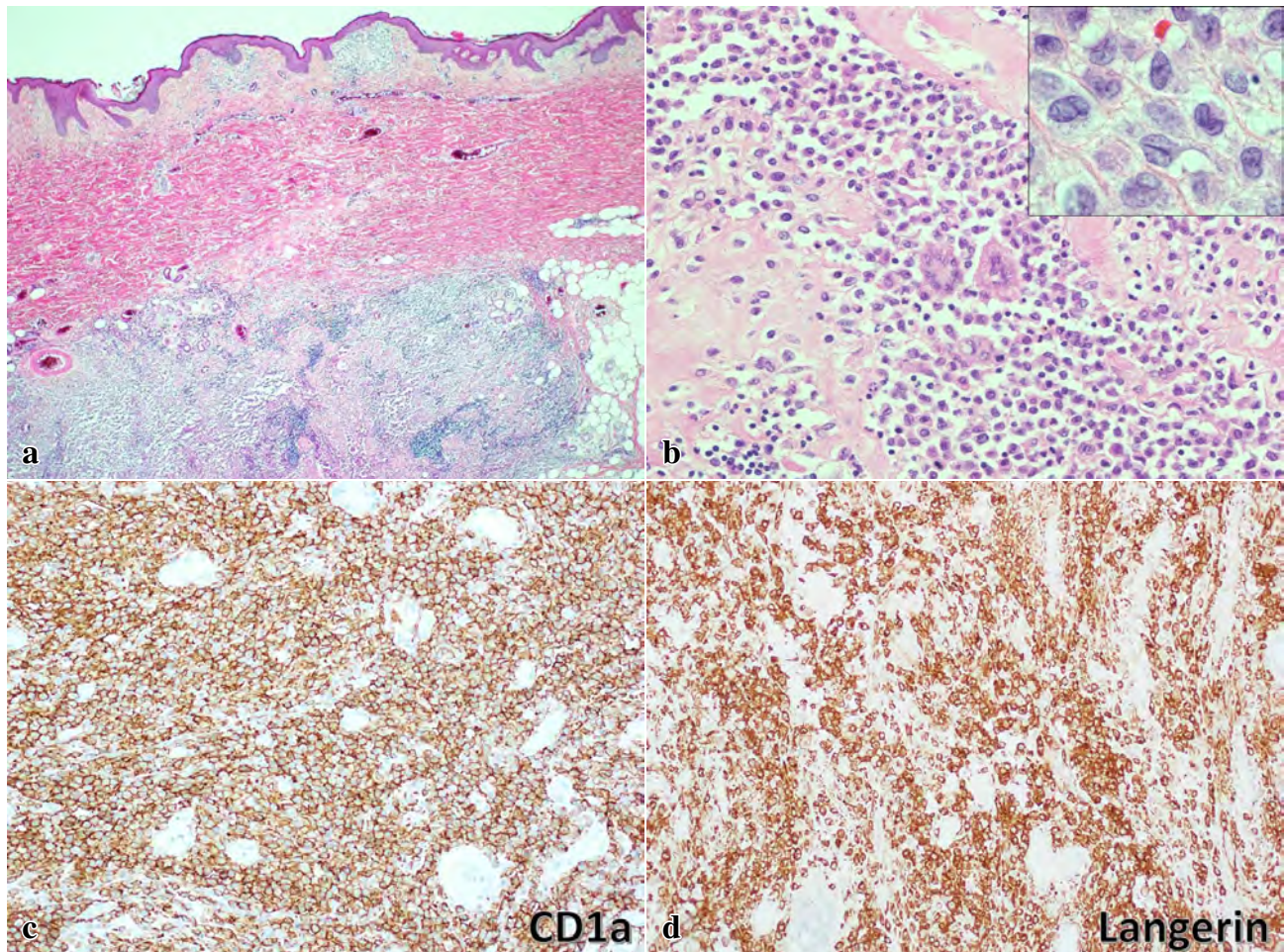


Photo. 3 Histological findings of the tumor (skin).

a : Neoplastic cells diffusely infiltrating the dermis and the subcutaneous adipose tissue (HE staining, $\times 10$).

b : The cells show nuclear grooves and irregular contours (HE staining, $\times 40$; inset, HE staining, $\times 100$).

c, d : Immunohistochemistry showing positive staining of the tumor cells for CD1a (c) and Langerin (d) (Immunohistochemical staining, $\times 40$).

ある説がより優勢である⁹⁾。本例においても *BRAF* V600E 変異を免疫染色を用いて確認したが、陰性であった。

LCH は、単一臓器に単一病変を形成する single system single site : SS 型、単一臓器に多発病変を形成する single system multiple sites : SM 型、多臓器に病変を形成する multi system multiple sites : MM 型に分類される。SS 型や SM 型は自然消退することもあり予後良好であるが、MM 型はリスク臓器（肺、肝、脾、造血器）に病変を有する症例で予後が悪いことが報告されている¹⁰⁾。

Patten らの報告¹¹⁾では甲状腺に LCH が発生した 66 例において、16 例が SS 型または SM 型、43 例が MM 型、7 例は詳細不明であった。そのうちの 39 例で甲状腺腫大がみられ、17 例に甲状腺結節が認められている。66 例中の 27 例は甲状腺機能正常、13 例は機能低下がみられている。本例では甲状腺腫大や甲状腺機能低下がみられており、臨床的

には LCH の浸潤よりも潜在性甲状腺機能低下症や慢性甲状腺炎が疑われていた。また本例では事前に LCH の MM 型として診断されていたため、LCH の甲状腺への浸潤も鑑別診断として挙げるのが容易であったが、SS 型や SM 型の甲状腺 LCH は臨床情報から本疾患を推定することは困難であると思われる⁸⁾。これまで甲状腺の FNA (fine needle aspiration) が行われた 8 例の中には (Table 1) ^{2~8)}、LCH の細胞を甲状腺癌と誤診して甲状腺切除術が行われた症例⁷⁾や、LCH を疑う細胞が出現しているにも関わらず、濾胞上皮細胞が採取されていないことから検体不良としてしまう症例などが報告されているが⁷⁾、これらはいずれも SS 型の症例であった。LCH の細胞を反応性の組織球、濾胞上皮細胞、または癌細胞として評価してしまう可能性もあるので、細心の注意を払い鏡検することが望ましい。

一方、SS 型の症例においても FNA で LCH を推定するこ

Table 1 Clinicocytological features of 9 cases of LCH of the thyroid by FNA

Authors	Age/Sex	Other organ involvement	Cytologic diagnosis	Cytologic findings							
				Atypical cell			Background				
				Nuclear groove	Multi-nucleated	Pale cytoplasm	Follicular cell	Colloid	Neutro	Lympho	Eosino
Goldstein N and Layfield LJ ²⁾	31/F	External genitalia, lung and oral cavity	Papillary carcinoma, background suggestive of LCH	+		+	+	+			+
Kirchgraber PR et al. ³⁾	16/M	Panhypopituitarism	LCH	+			+				+
Gomez-Plaza MC et al. ⁴⁾	27/F	Bone and gum	LCH	+		+	+		+	+	+
Sahoo M et al. ⁵⁾	13/M	None	LCH	+	+	+	+			+	+
Dey P et al. ⁶⁾	23/F	None	LCH	+		+				+	+
Pusztaszeri MP et al. ⁷⁾	25/F	None	Nondiagnostic due to an insufficient number of follicular cells	+		+		+	+	+	+
Pusztaszeri MP et al. ⁷⁾	38/F	None	Suspicious for papillary thyroid carcinoma	+		+					+
Saqi A et al. ⁸⁾	35/F	Skin	Suspicious for LCH	+		+					+
Takebuchi T et al. (Present case)	40 s/M	Skin, lung, anus and femoral region	LCH	+	+	+	+		+	+	

LCH : Langerhans cell histiocytosis ; FNA : Fine needle aspiration ; Neutro : Neutrophils ; Lympho : Lymphocytes ; Eosino : Eosinophils.

Blank columns indicate that the cells were not seen or that the findings on the cells were not described in the article.

とができた症例が2例ある^{5,6)}。どちらの症例も好酸球を含む炎症性の背景、腫瘍細胞の広く境界不明瞭な細胞質、核の溝や陥入を的確に捉えて LCH の診断にいたっていた。そのうちの Dey らの報告⁶⁾では乳頭癌を鑑別に挙げ、上記特徴のほかに核細胞質比 (N/C 比) が低いこと、ほとんどすべての腫瘍細胞に溝などの核形不整がみられたこと、核分裂像がみられたことなどから乳頭癌の可能性を否定している。FNA における細胞学的特徴が述べられている8例と比較すると (Table 1) ^{2~8)}、背景に出現している細胞は好酸球、リンパ球、濾胞上皮細胞などで、出現量は症例ごとに異なっているが、腫瘍細胞の形態はどの症例も本例と類似しており、広く境界不明瞭な細胞質や核のしわ、くびれなどの核形不整、結合性がみられない点が共通しており、多核化した腫瘍細胞や核分裂像がみられる症例もあった。

甲状腺の病変としては乳頭癌や髄様癌が鑑別に挙げると考えられる。乳頭癌は核溝が共通した所見ではあるが、結合性の有無や核クロマチンの性状、核内封入体の有無で鑑別が可能であると思われる。髄様癌は結合性が乏しく、二核細胞や異型の弱い紡錘形の細胞などが出現することがあ

り、本例と類似する点もあるが、髄様癌の細胞質は顆粒状で核クロマチンも顆粒状、核に「しわ」や切れ込みがみられないことなどから、形態学的に鑑別は可能であると思われる。さらに、本例においては免疫染色において TTF-1 を用いて甲状腺由来の濾胞上皮細胞とは異なると判断したが、乳頭癌は TTF-1 が陽性、髄様癌は TTF-1、calcitonin が陽性、LCH は TTF-1 が陰性、CD1a、Langerin が陽性となることから、これらの免疫染色も鑑別に有用である。

甲状腺における LCH の発生頻度はきわめて低いが、その細胞形態は他臓器にて報告されている LCH の所見と類似していた。細胞形態をしっかりと念頭におけば、甲状腺穿刺吸引細胞診においても LCH の推定は可能であると考えられる。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

なお、本論文の要旨は、平成 27 年 11 月 22 日の第 54 回日本臨床細胞学会秋期大会 (名古屋) において発表した。

Abstract

Background : LCH is a disease of unknown etiology that is mainly characterized by the proliferation of Langerhans cells. While it is known to affect many organs, involvement of the thyroid gland is rare.

Case : A man in his 40's presented to us with a history of having suffered from pneumothorax when he was in his 20's and of having been diagnosed, based on histopathology of a surgical specimen, as having eosinophilic granuloma syndrome of the lung. However, he had not been followed up since. Only recently, he had noticed an axillary lump on both sides and swelling of the right shoulder, and he was referred to our hospital. Axillary skin resection was carried out on both sides. The patient developed pneumothorax and partial lung resection was performed. Histopathology of both the resected surgical samples revealed features consistent with the diagnosis of Langerhans cell histiocytosis (LCH). Infiltration into the thyroid gland was also suspected, and fine-needle aspiration cytology examination of the thyroid gland was performed. This examination revealed tumor cells with enlarged nuclei and pale cytoplasm, and some cells showed prominent nuclear grooves. Multinucleated cells with 2-9 similar-looking nuclei with abundant cytoplasm were also seen. Immunocytochemical analysis revealed that these cells were positive for CD1a and langerin, and negative for TTF-1. Based on these features, the diagnosis of LCH of the thyroid gland was made.

Conclusion : Fine-needle aspiration cytology of the thyroid gland enabled us to make a diagnosis of LCH from the morphological characteristics of the cells.

文 献

- 1) 川瀬孝和, 中村栄男. 樹状細胞の腫瘍. 病理と臨 2006 ; 24 :

518-520.

- 2) Goldstein, N., Layfield, L. J. Thyromegaly secondary to simultaneous papillary thyroid carcinoma and histiocytosis X. Report of a case and review of the literature. *Acta Cytol* 1991 ; 35 : 422-426.
- 3) Kirchgraber, P. R., Weaver, M. G., Arafah, B. M., Abdul-Karim, F. W. Fine needle aspiration cytology of Langerhans cell histiocytosis involving the thyroid. *Acta Cytol* 1994 ; 38 : 101-106.
- 4) Gomez-Plaza, M. C., Castella, E., Lucas, A., Llatjos, M. Histiocytosis X of the thyroid. *Acta Cytol* 1996 ; 40 : 618-619.
- 5) Sahoo, M., Karak, A. S., Bhatnagar, D., Bal, C. S. Fine-needle aspiration cytology in a case of isolated involvement of thyroid with Langerhans cell histiocytosis. *Diagn Cytopathol* 1998 ; 19 : 33-37.
- 6) Dey, P., Luthra, U. K., Sheikh, Z. A. Fine needle aspiration cytology of Langerhans cell histiocytosis of the thyroid. *Acta Cytol* 1999 ; 43 : 429-431.
- 7) Pustaszzeri, M. P., Sauder, K. J., Cibas, E. S., Faquin, W. C. Fine-needle aspiration of primary Langerhans cell histiocytosis of the thyroid gland, a potential mimic of papillary thyroid carcinoma. *Acta Cytol* 2013 ; 57 : 406-412.
- 8) Saqi, A., Kuker, A. P., Ebner, S. A., Ausiello, J., Jobanputra, V. Langerhans cell histiocytosis : Diagnosis on thyroid aspirate and review of the literature. *Head Neck Pathol* 2015 ; 9 : 496-502.
- 9) Badalian-Very, G., Vergilio, J. A., Degar, B. A., MacConaill, L. E., Brander, B., Calicchio, M. L., et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2010 ; 116 : 1919-1923.
- 10) 森本 哲. Langerhans cell histiocytosis をめぐる最新の知見. *小児科臨床* 2005 ; 58 : 1807-1819.
- 11) Patten, D. K., Wani, Z., Tolley, N. Solitary Langerhans histiocytosis of the thyroid gland : a case report and literature review. *Head Neck Pathol* 2012 ; 6 : 279-289.

症 例

超音波気管支鏡ガイド下針生検 (EBUS-TBNA) で
推定可能であった線維形成性小円形細胞腫瘍の 1 例瀬戸口知里^{1,2)} 明石 巧²⁾ 櫻井 聖²⁾ 中嶋 裕²⁾
坂田 泰子²⁾ 関根 正喜²⁾ 安藤 登²⁾ 菅原江美子²⁾秀和総合病院検査科病理¹⁾, 東京医科歯科大学医学部附属病院病理部²⁾

背景：線維形成性小円形細胞腫瘍 (desmoplastic small round cell tumor : DSRCT) は主に若年男性の腹腔内に発生するまれな腫瘍であり、進行が早く予後不良である。他の小円形細胞腫瘍との鑑別には、免疫染色と遺伝子解析が有用である。今回われわれは、縦隔リンパ節の細胞診にて DSRCT と推定しえた 1 例を経験したので報告する。

症例：15 歳、男性。健診で胸部異常陰影を指摘され、胸腹部 CT, PET にて肺、肝、腹腔内の多発腫瘍、両肺門・縦隔・鎖骨上窩リンパ節腫大と FDG の異常集積を認めた。縦隔リンパ節に対して超音波気管支鏡ガイド下針生検 (EBUS-TBNA) が施行され、細胞診標本では細胞質は乏しく、核は円形～類円形で、軽度の核形不整やクロマチン増量を示す腫瘍細胞が認められた。免疫細胞化学染色では cytokeratin, desmin (一部球状) が陽性、CD56, CD3, CD20 は陰性であったことから DSRCT と推測した。鑑別疾患として横紋筋肉腫の可能性が考えられた。同時に行われた病理組織検体を用いた FISH で *EWSR1* 遺伝子の分離シグナルを、RT-PCR で *EWSR1-WT1* 融合遺伝子を認め DSRCT と確定診断した。

結論：細胞形態に加えて免疫細胞化学染色を行うことによって細胞診で DSRCT を推定することが可能であった 1 例を報告した。

Key words : Desmoplastic small round cell tumor, Cytology, EBUS-TBNA, Desmin

I. はじめに

線維形成性小円形細胞腫瘍 (desmoplastic small round cell tumor ; 以下 DSRCT) は、t(11:22)(p13:q12) の染色体転座による *EWSR1-WT1* 融合遺伝子を有する腫瘍^{1,2)}であり、若年男性の腹腔内に好発する³⁾。進行が早く、予後は不良である⁴⁾。組織学的には、小細胞からなる胞巣とそれを取り囲む豊富な線維性間質の増生が特徴である^{1,3)}。免疫染色で腫瘍細胞に上皮系、神経系、筋系、間葉系マーカーの共発現を認めることが多く、desmin が細胞質に球状の陽性像を示すのが特徴である^{3,5)}。今回われわれは、縦隔リンパ節の細胞診にて DSRCT と推定し得た 1 例を経験したので報告する。

A case of desmoplastic small round cell tumor suspected by the findings of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration cytology (EBUS-TBNA)

Chisato SETOGUCHI^{1,2)}, C. T., Takumi AKASHI²⁾, M. D., Akira SAKURAI²⁾, C. T., I. A. C., Yutaka NAKAJIMA²⁾, C. T., I. A. C., Yasuko SAKATA²⁾, C. T., I. A. C., Masaki SEKINE²⁾, C. T., I. A. C., Noboru ANDO²⁾, C. T., I. A. C., Emiko SUGAWARA²⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, Shuuwa General Hospital

²⁾Department of Surgical Pathology, Tokyo Medical and Dental University Hospital

論文別刷請求先 〒 344-0035 埼玉県春日部市谷原新田 1200 秀和総合病院検査科病理 瀬戸口知里

平成 29 年 9 月 6 日受付

平成 30 年 2 月 14 日受理

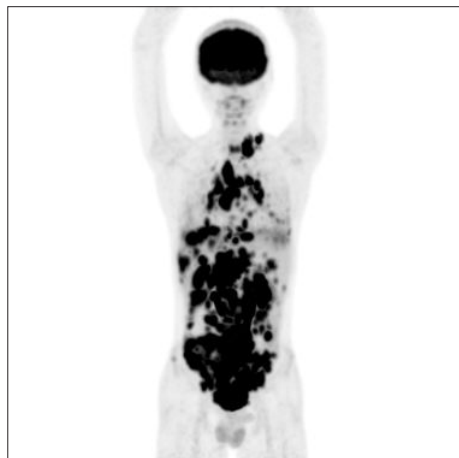


Photo. 1 PET-CT images showing multiple lung, liver and intraabdominal tumors and bilateral enlarged mediastinal and supraclavicular lymph nodes showing elevated FDG uptake.

II. 症 例

患 者：15 歳，男性。

主 訴：食思不振，胸痛。

家族歴：特記事項なし。

既往歴：髄膜炎，停留睾丸。

現病歴：健診にて胸部異常陰影を指摘され，呼吸器内科を受診。胸腹部 CT にて縦隔・鎖骨上窩リンパ節腫大，腹腔内腫瘍，両肺の結節影，肝の low density area (LDA) を認め，positron emission tomography (PET) にて肺，肝，腹腔内，両肺門・縦隔・鎖骨上窩リンパ節に fluorodeoxy glucose (FDG) の異常集積を多数認めた (Photo. 1)。サルコイドーシスと悪性リンパ腫が疑われ，診断確定のため，縦隔リンパ節に対して EBUS-TBNA が施行された。

III. 細胞学的所見

多数の赤血球や小型リンパ球がみられる背景中に，腫瘍細胞が結合性の緩い集塊として，あるいは孤立散在性に多数出現していた (Photo. 2a)。腫瘍細胞の細胞質は乏しく，円形から類円形の核を有し，核小体は不明瞭であった。また，軽度の核形不整を伴い，クロマチンが細顆粒状に増量していた (Photo. 2b)。塗抹標本を用いた細胞転写法による免疫細胞化学染色 (Table 1) では，cytokeratin, desmin が陽性となり，desmin は一部が球状の陽性像を示した (Photo. 3a, b)。CD56, CD3, CD20 は陰性であった。以

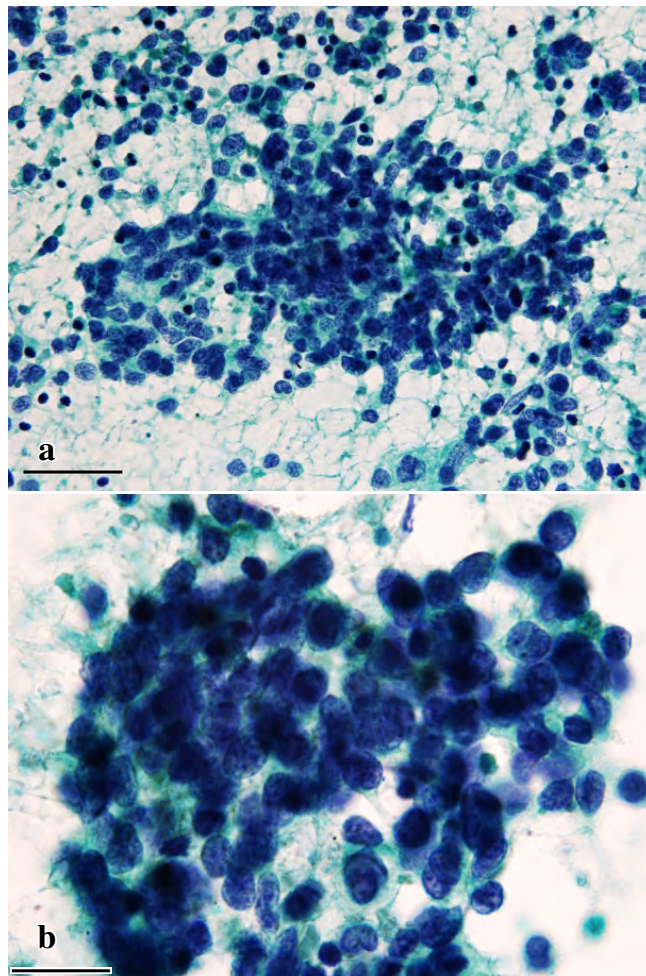


Photo. 2 Cytological findings of the EBUS-TBNA specimen. a : Small and round tumor cells are seen in loosely cohesive clusters or as dispersed single cells (Pap. staining, scale bar : 50 μ m). b : Tumor cells are uniform in size with scant cytoplasm and small hyperchromatic nuclei (Pap. staining, scale bar : 20 μ m).

上の結果より陽性 (positive)，DSRCT 疑いと診断した。

IV. 組織学的所見

N/C 比の高い小型の腫瘍細胞が密に増生する像が認められた (Photo. 4a)。核分裂像がしばしば認められたが，間質増生はごく軽度であった。免疫組織化学染色でも cytokeratin, desmin が陽性となり，desmin は一部が球状の陽性像を示した (Photo. 4b, c)。CD99, synaptophysin が陽性，CD56, chromogranin A, CD3, CD20, TdT, S100, Nkx2.2, WT1 (N 末端側抗体), Myosin, MyoD1, Myogenin は陰性であった (Table 1)。ホルマリン固定パラフィン切片と Vysis LSI EWSR1 Dual Color Break Apart Probe (Abbott Molecular) を用いた fluorescence *in situ* hybridiza-

Table 1 List of the antibodies used in this study

Cytokeratin	clone AE1/AE3	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 200
Desmin	clone D33	MONOSAN, Uden, Netherlands	diluted 1 : 50
CD56	clone CD564	LEICA biosystems, Tokyo, Japan	diluted 1 : 500
CD3	clone LN10	LEICA biosystems, Tokyo, Japan	diluted 1 : 20
CD20	clone L26	Agilent technologies, Santa Clara, United States	Ready-to-use
CD99 (MIC2)	clone 12E7	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 50
Synaptophysin	clone SP11	Diagnostic biosystems, Pleasanton, United States	diluted 1 : 50
TdT	clone SEN28	LEICA biosystems, Tokyo, Japan	diluted 1 : 100
S100	clone S100	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 2000
Nkx2.2	clone EP336	RabMab, United States	diluted 1 : 1000
Chromogranin A	clone DAK-A3	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 1000
WT1 (N-terminus)	clone 6F-H2	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 100
Myosin	clone Y32	Nichirei Bioscience, Tokyo, Japan	Ready-to-use
MyoD1	clone 5.8A	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 100
Myogenin	clone F5D	Agilent technologies, Santa Clara, United States	diluted 1 : 200

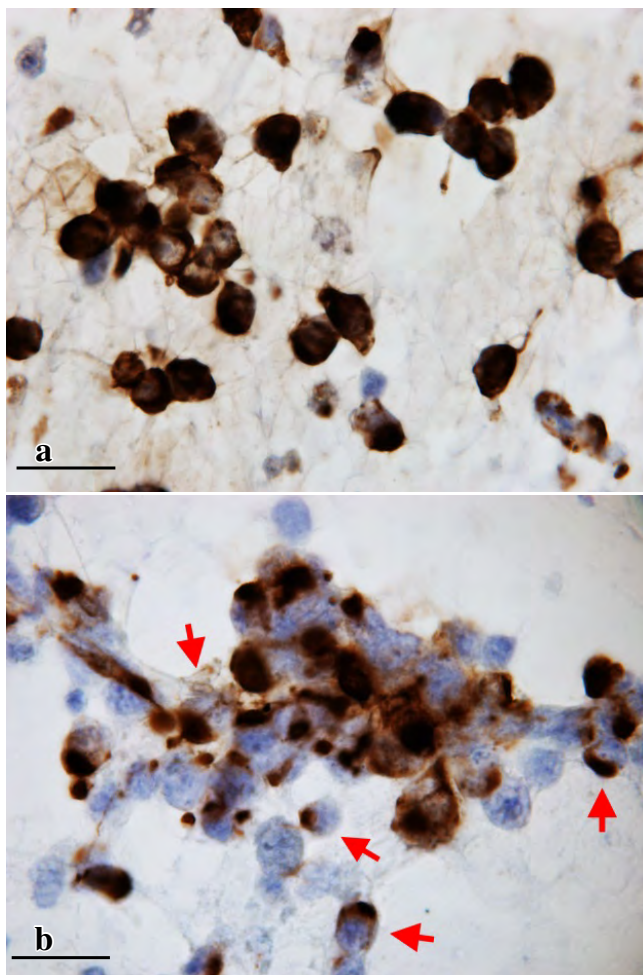


Photo. 3 Immunocytochemical findings of the EBUS-TBNA cytology specimen. Tumor cells showing positive staining for cytokeratin (a) and desmin (b). A paranuclear globular pattern of staining for desmin is seen (red arrows, scale bar : 20 μ m).

tion (FISH) では, *EWSR1* 遺伝子の分離シグナルが認められた (Photo. 4d). パラフィン切片から RNA を抽出し, *EWSR1* exon 7 forward primer (5'-TCCTACAGCCAAGCTC-CAAGTC-3') と *WT1* exon 8 reverse primer (5'-ACCTTC-GTTCACAGTCCTTG-3') を用いて行った reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) では, *EWSR1*-*WT1* 融合遺伝子が増幅された (Fig. 1a). M13 配列を付加した *EWSR1*, *WT1* プライマーで増幅産物を再増幅し, M13 primer を用いて増幅産物の direct sequence を行った結果, *EWSR1* exon 7 と *WT1* exon 8 の融合を確認した (Fig. 1b). 以上の結果より DSRCT と確定診断した.

V. 考 察

DSRCT の細胞学的特徴として円形～卵円形の核, 乏しい細胞質, 増量したクロマチン, 不明瞭な核小体が報告されており^{3,5)}, 本例の細胞像は矛盾しないものであるが, いずれも特異的な所見ではなく, 小児～若年期に発生する小円形細胞腫瘍である悪性リンパ腫, 神経芽腫, Ewing ファミリー腫瘍, 横紋筋肉腫などが鑑別疾患として挙げられる¹⁾.

免疫細胞化学染色でリンパ球系マーカー CD3, CD20 がいずれも陰性であったことから悪性リンパ腫は否定的と考えられた. 本例の腫瘍細胞は部分的には緩いながらも結合性のある集塊形成を示しており, 孤立散在性の出現パターンを示す悪性リンパ腫¹⁾とは細胞形態のみでも鑑別は可能と考えられる. 一方, 神経芽腫, Ewing ファミリー腫瘍, 横紋筋肉腫の腫瘍細胞の出現パターンは, 孤立散在性のみから結合性の緩い集塊の形成を示すものまでさまざまであり^{1,5)}, DSRCT と類似する. 本例では神経芽腫や Ewing

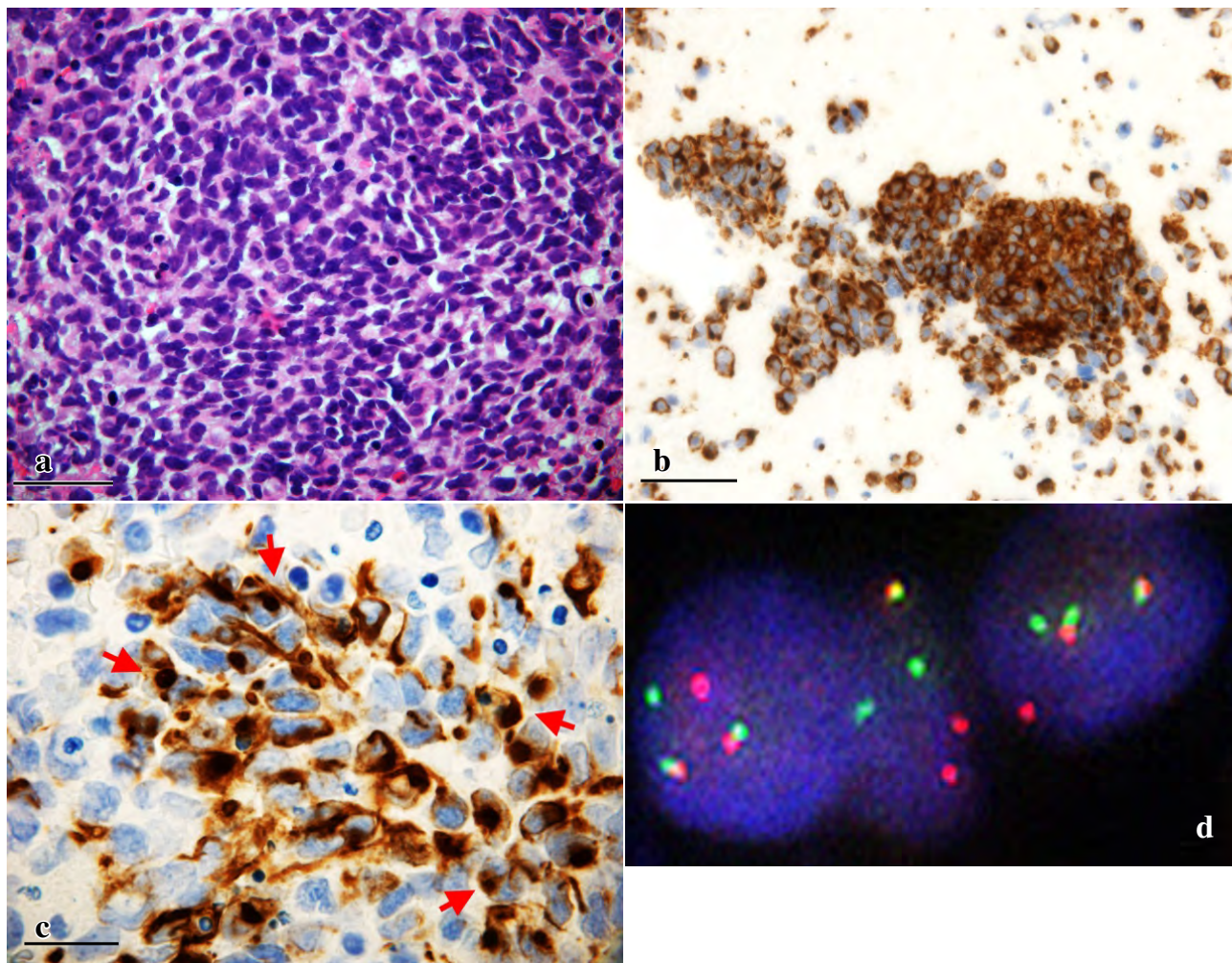


Photo. 4 Histological findings of the EBUS-TBNA specimen. a : The tumor cells are small and round, and show high nuclear/cytoplasmic ratios (H & E staining, scale bar : 50 μ m). b, c : The tumor cells show positive staining for cytokeratin (b, scale bar : 50 μ m) and desmin (c, scale bar : 20 μ m). A paranuclear globular pattern of staining for desmin is seen (red arrows). d : Fluorescence *in situ* hybridization for the *EWSR1* gene shows split red and green signals on the *EWSR1* gene.

ファミリー腫瘍の特徴とされるロゼット形成¹⁾は認められず、横紋筋への分化も認められなかったが、神経芽腫、Ewing ファミリー腫瘍、横紋筋肉腫との鑑別には免疫細胞化学染色が必要であった。

神経芽腫は CD56 が陽性、desmin, cytokeratin ともに陰性を示す⁵⁾。Ewing ファミリー腫瘍は desmin, cytokeratin ともに陰性のことが多く¹⁾、desmin, cytokeratin ともに陽性の DSRCT との鑑別が可能である。一方、横紋筋肉腫は desmin が陽性^{1,5)}、cytokeratin もしばしば陽性⁶⁾となる。球状に陽性となる desmin の染色パターンは DSRCT の特徴であり、細胞診で DSRCT を推定する根拠になったが、形態像や免疫染色パターンの類似する横紋筋肉腫との鑑別には FISH や RT-PCR が必要となる。

DSRCT では *EWSR1* 遺伝子の N 末端側領域と *WT1* 遺伝子の C 末端側領域の融合遺伝子が形成され発現する。本例

では N 末端領域を認識する WT1 抗体を用いたため WT1 は陰性となった。今回は用いることができなかった C 末端領域を認識する WT1 抗体は陽性となり DSRCT の診断に有用なことが報告されている⁷⁾。

DSRCT は初診時にすでに転移を認めることが多く、リンパ節にも転移のみられることがある^{2,4)}。EBUS-TBNA は縦隔鏡検査と比較して低侵襲で行える検体採取法⁸⁾であり、本例では縦隔リンパ節の EBUS-TBNA 検体で DSRCT の診断がなされた。DSRCT の確定診断には RT-PCR や FISH による *EWSR1*-*WT1* 融合遺伝子の検出が必要^{1,3)}ではあるが、穿刺材料からのセルブロック標本や細胞転写法によって作製した標本を用いて免疫細胞化学染色を施行することによって、細胞診のみでも他の小円形細胞腫瘍との鑑別をより短時間で行うことが可能であると考えられた。

DSRCT の治療法としては化学療法、手術療法、放射線療

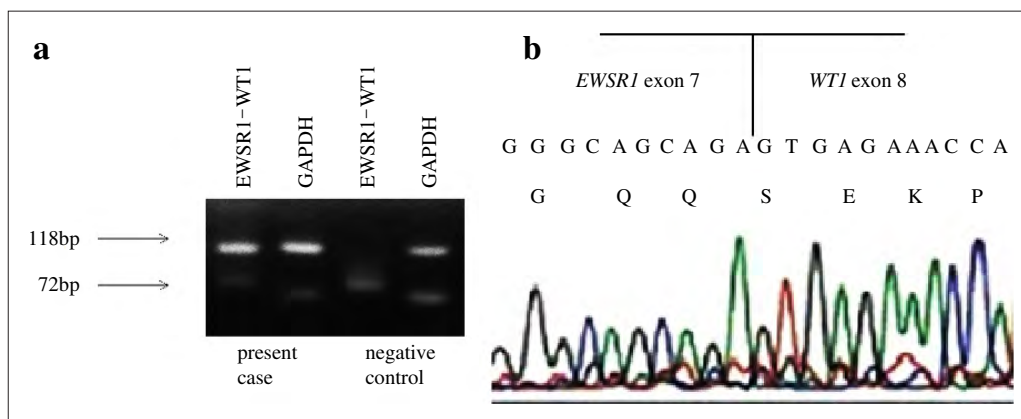


Fig. 1 a : Detection of *EWSR1-WT1* fusion transcript by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. RNA was extracted from paraffin sections (lanes 1 and 2 : present case, lanes 2 and 4 : unrelated case), and amplified with an *EWSR1* exon 7 primer and *WT1* exon 8 primer (lanes 1 and 3) and with GAPDH primers (lanes 2 and 4). A 102 base-pair product was amplified in the present case (lane 1). b : Direct sequencing of the *EWSR1-WT1* fusion transcript. The amplified *EWSR1-WT1* fusion transcript was re-amplified with M13-tagged *EWSR1* and *WT1* primers and sequenced with the M13 primer. The junction site between the *EWSR1* and *WT1* genes is shown.

法などが挙げられるが、現段階では最適な治療法は確立されていない^{4,9)}。集学的治療により生存期間が延びるという報告²⁾もあるが、寛解はまれで、5年生存率は15%程度である²⁾。最近では*EWSR1-WT1*融合遺伝子を標的とした分子標的薬による治療⁹⁾や、持続温熱腹膜灌流による治療¹⁰⁾などの研究が進んでおり、生存期間の延長に効果的かつ患者の負担の少ない治療法の確立が期待される。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

謝辞 本報告に際し病理所見をご教示頂いた東京医科歯科大学医学部附属病院病理部 桐村進先生、東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科包括病理学 倉田盛人先生、東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科人体病理学 江石義信先生、東京医科歯科大学医学部附属病院呼吸器内科 鈴木崇文先生、FISH解析を行って頂いた国立がん研究センター中央病院病理科 吉田朗彦先生に深謝申し上げます。

Abstract

Background : Desmoplastic small round cell tumor (DSRCT) is a rare malignant tumor of unknown origin that is predominantly found in the abdominal region in young adults. Herein, we report a case of DSRCT which could be suspected by the findings of cytology.

Case : A 15-year-old male patient was admitted to the hospital because of abnormal opacities detected on a plain chest x-ray. Computed tomography and positron emission tomography (PET-CT) revealed multiple tumors in both the lungs, liver, and abdominal cavity, and bilateral enlarged hilar, mediastinal and supraclavicular lymph nodes showing fluorodeoxyglucose uptake on PET. EBUS-TBNA cytol-

ogy of an enlarged mediastinal lymph node revealed small round tumor cells with irregular and hyperchromatic nuclei. Immunocytochemistry revealed positive staining for cytokeratin and desmin with a globular pattern, and negative staining for CD3, CD20, and CD56. Based on these findings, DSRCT was considered as the most probable diagnosis and rhabdomyosarcoma was considered in the differential diagnosis. Fluorescent *in situ* hybridization analysis and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis of a histological specimen revealed split signals for the *EWSR1* gene and *EWSR1-WT1* fusion transcript, respectively, confirming the diagnosis of DSRCT.

Conclusion : DSRCT can be cytologically suspected based on the morphological characteristics and immunocytochemical findings.

文 献

- 1) Akhtar, M., Iqbal, M. A., Mourad, W., Ali, M. A. Fine-needle aspiration biopsy diagnosis of small round cell tumors of childhood : a comprehensive approach. *Diagn Cytopathol* 1999 ; 21 : 81-91.
- 2) Lal, D. R., Su, W. T., Wolden, S. L., Loh, K. C., Modak, S., La Quaglia, M. P. Results of multimodal treatment for desmoplastic small round cell tumors. *J Pediatr Surg* 2005 ; 40 : 251-255.
- 3) Goldblum, J. R., Folpe, A. L., Weiss, S. W. *Enzinger and Weiss's Soft tissue tumors*. 6th edition. Philadelphia, PA : Saunders ; 2014. 1079-1084.
- 4) Wong, H. H., Hatcher, H. M., Benson, C., Al-Muderis, O., Horan, G., Fisher, C., et al. Desmoplastic small round cell tumour : characteristics and prognostic factors of 41 patients and review of the literature. *Clinical Sarcoma Research* 2013 ; 3 : 14.
- 5) Dabbs, D. J. Diagnostic immunohistochemistry theranostic and

- genomic applications. 4th edition. Philadelphia, PA : Saunders ; 2014. 854-868.
- 6) Bahrami, A., Gown, A. M., Baird, G. S., Hicks, M. J., Folpe, A. L. Aberrant expression of epithelial and neuroendocrine markers in alveolar rhabdomyosarcoma : a potentially serious diagnostic pitfall. *Mod Pathol* 2008 ; 21 : 795-806.
- 7) Murphy, A. J., Bishop, K., Pereira, C., Chilton-Macneill, S., Ho, M., Zielenska, M., et al. A new molecular variant of desmoplastic small round cell tumor : significance of WT1 immunostaining in this entity. *Human Pathol* 2008 ; 39 : 1763-1770.
- 8) 上村剛大, 小栗鉄也, 宮崎幹規, 大久保仁嗣, 前野 健, 新
実彰男. 超音波気管支鏡ガイド下針生検 (EBUS-TBNA) で診
断した原発不明癌の1例. *日呼吸誌* 2013 ; 2 (2) : 148-152.
- 9) Ikeue, T., Ohi, I., Noguchi, S., Fukao, A., Terahara, S., Horikawa, S. et al. Desmoplastic small round cell tumor of the pleura successfully treated with a lower dose of pazopanib. *Intern Med* 2016 ; 55 : 2463-2467.
- 10) Hayes-Jordan, A., Anderson, P., Curley, S., Herzog, C., Lally, K. P., Green, H. L., et al. Continuous hyperthermic peritoneal perfusion for desmoplastic small round cell tumor. *J Pediatr Surg* 2007 ; 42 : E29-E32.
-

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

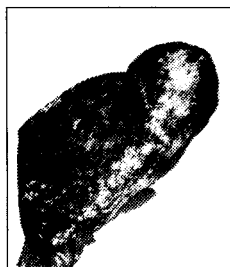
杉山徹

鈴木美和

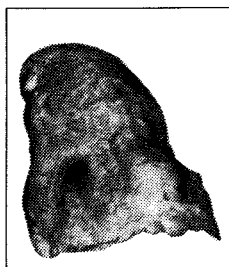
多比良朋希

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	中谷 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	細根 勝	堀 由美子	本間 慶一	前田 純一
前田 祐介	増岡 和子	増田 し のぶ	町田 知久	松井 成明	松浦 基樹
松浦 光司	松岡 慎二	松下 宏隆	松田 陽子	松永 淳子	松林 純
松本 喜明	三浦 弘守	松元 隆之	丸川 活司	丸田 淳子	丸山 康世
三橋 暁	皆川 幸久	三浦 弘之	三上 幹男	水野 美香	三田 和博
宮井 由美	宮城 悦子	湊 宏	南口 早智子	南 優子	三村 明弘
宮本 朋幸	棟方 哲	宮城 淳也	三宅 真司	三宅 康之	宮嶋 葉子
森定 徹	森澤 宏行	村田 哲也	望月 紀英	元井 亨	元木 葉子
安岡 弘直	安田 政実	森下 明博	森下 由紀雄	森 康浩	森村 豊
矢野 博久	山上 亘	矢田 直美	谷田 部 恭	柳井 広之	矢野 恵子
山田 壮亮	山田 恭輔	山口 知彦	山口 隆	山崎 龍王	山下 博
山本 晃人	山元 英崇	山田 隆司	山田 英明	山田 鉄也	山田 範幸
山横 山宗伯	山横 山良仁	横井 豊治	横尾 明彦	横瀬 智之	横山 勤
吉田 朋美	吉野 潔	吉岡 治彦	吉澤 明	吉田 浩一	梁 善光
若 狭 朋子	鷺谷 清忠	吉見 直己	米田 操	米山 剛一	渡部 洋
		和田 直樹	渡 邊 純	渡辺 寿美子	

(50 音順)

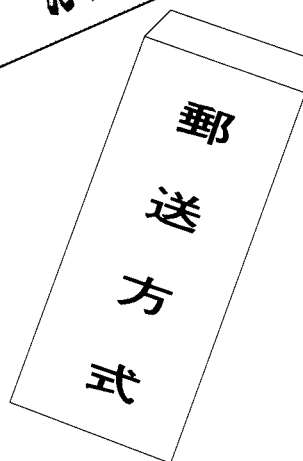


左側：長期間喫煙者の肺



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

