

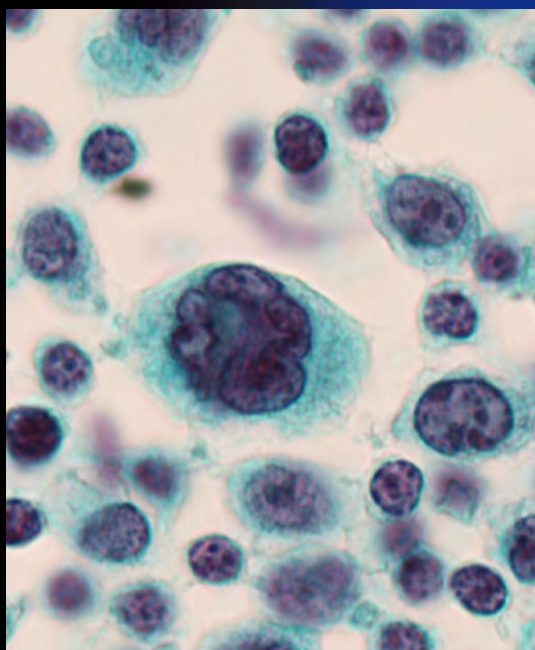
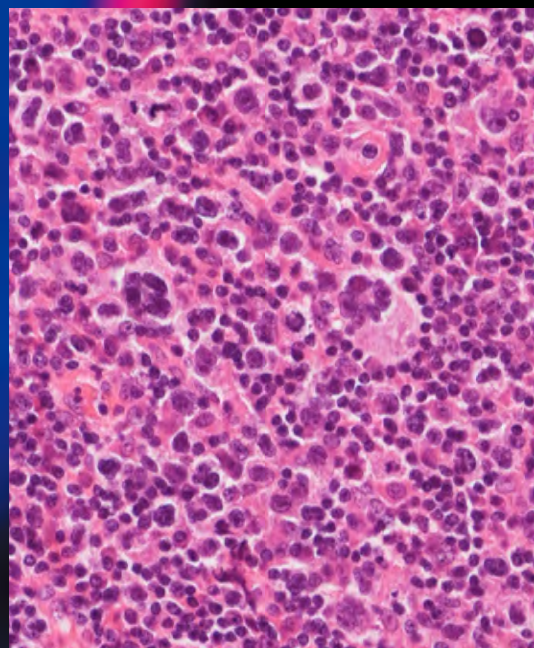
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日 臨 細 胞 誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第58巻 第5号 令和元年9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.58 No. **5**
Sept. 2019

目 次

巻頭言.....佐藤 之俊

〈原 著〉

- 子宮頸部細胞診における ThinPrep® Integrated Imager の有用性について
.....大阪警察病院病理科 金田 敦代・他 （189）
- 子宮体癌の術前子宮鏡検査と腹腔細胞診
.....慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 平野 卓朗・他 （196）
- 肺腺癌由来の悪性胸水セルブロック検体を用いた *EGFR* 遺伝子変異,
ALK, PD-L1 タンパク発現状態の検討
.....山形県立中央病院病理診断科 柳川 直樹・他 （202）

〈症 例〉

- 自然尿中に腫瘍細胞を認めた肺原発腺癌膀胱転移の 1 例
.....独立行政法人地域医療機能推進機構埼玉メディカルセンター病理診断科 河村 憲一・他 （208）
- TP63* の再構成を認めた ALK 陰性未分化大細胞型リンパ腫における細胞診断学的検討
.....埼玉医科大学総合医療センター病理部 大野 優子・他 （214）

〈短 報〉

- ホルマリン固定組織からの LBC 標本作製法
.....大阪府済生会中津病院検査技術部 谷村満知子・他 （220）

投稿規定.....(222)

編集委員会.....(229)

＊

〈表紙写真〉

ALK 陰性未分化大細胞型リンパ腫
(左：パパニコロウ染色，右：H-E 染色) (大野 優子・他，左：Photo. 1c, 215 頁，右：Photo. 2a, 216 頁)

CONTENTS

Editorial.....	Yukitoshi Satoh
----------------	-----------------

Original Articles

Benefits of the ThinPrep® Integrated Imager for cervical cytology Atsuyo Kaneda, et al. (Dept. of Path., Osaka Police Hosp., Osaka)	(189)
Impact of preoperative hysteroscopy on outcomes of peritoneal cytology in patients with endometrial cancer Takuro Hirano, et al. (Dept. of Obst. & Gynecol., Keio Univ. School of Med., Tokyo)	(196)
Analyses of epidermal growth factor receptor mutations and anaplastic lymphoma kinase and programmed death ligand 1 expression using cytology cell blocks of malignant pleural effusion derived from lung adenocarcinomas Naoki Yanagawa, et al. (Dept. of Diag. Path., Yamagata Pref. Central Hosp., Yamagata)	(202)

Clinical Articles

A case of metastatic adenocarcinoma in the urinary bladder from primary lung cancer ——The urinary cytology and histological findings—— Ken-ichi Kawamura, et al. (Dept. of Diag. Path., Saitama Med. Center, JCHO, Saitama)	(208)
A case report of ALK-negative anaplastic large cell lymphoma (ALCL) with <i>TP63</i> rearrangement Yuko Ohno, et al. (Dept. of Path., Saitama Med. Center, Saitama Med. Univ., Saitama)	(214)

Brief Note

Technique for preparation of liquid based cytology specimens from formalin-fixed tissue Machiko Tanimura, et al. (Dept. of Clin. Lab., Osaka Saiseikai Nakatsu Hosp., Osaka)	(220)
---	-------

Notice to contributors.....	(222)
-----------------------------	-------

Cover Photo

ALK-negative anaplastic large cell lymphoma (Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Yuko Ohno, et al., Left : Photo. 1c, p215, Right : Photo. 2a, p216)	
--	--



巻頭言

Yukitoshi Satoh

佐藤之俊

日本臨床細胞学会理事長

▶ 日本臨床細胞学会雑誌への期待



日本臨床細胞学会雑誌第58巻第5号の発行にあたり、矢納編集委員長より巻頭言の依頼が届きました。その理由を推察するに、私が今年度から本学会の理事長を拝命し、所信表明した課題の一つに、「細胞診に関する情報を発信する」ために、学会雑誌の内容とあり方を見直し、診療、研究、教育面での支援を強化していきたいと表明したからだと思います。

日本臨床細胞学会にとって、日常の細胞診業務における情報を発信すること、研究成果を発信すること、それに加えて、研究や細胞診における国際的な協力体制を推進することは公益法人としての使命だと考えます。この情報発信のツールとして重要なのが、学会の学術的な顔であり機関誌である「日本臨床細胞学会雑誌」です。この学会雑誌は、私が編集委員長時代に電子化を推進した結果、利便性が増した半面、印刷媒体が廃止され、細胞診に興味のある人は自ら能動的に情報を収集しなければならないという状況に変化しました。医学雑誌の電子化は医学会全体では避けることのできない方向性でしたが、投稿数が減少し、学術的な活動に危機感を感じているのは私だけではないと思います。

本学会の活動は、ご存知のように細胞検査士と細胞診専門医という両輪からなり、我が国におけるがん検診や多くの診断に貢献しています。現在、疾患の細胞診断に加え、細胞における分子発現や遺伝子異常の解析や、ゲノム情報による診断も取り入れられています。このように、医療の急速な変化に対応し、臨床現場に速やかに還元される医療を細胞診の立場から提供しなければなりません。そして、これらを広く発信していくのが日本臨床細胞学会雑誌の主たる役割だと考えます。

そこで、今回の編集委員会はメンバーの多くを刷新し、若手を起用し、立て直しを図ることにいたしました。矢納先生にはその先頭に立って進んで頂きたいと期待しています。また、定款施行細則「評議員選任に関する施行細則」第1章 評議員の被選任条件にあるように、本学会評議員は原則として査読を行うという責務を有しています。ここで、査読や編集に従事する方々にお願ひがあります。本学会雑誌は「日本医学会分科会機関誌」の1つです。日本医学会分科会が発行する機関誌の編集者により日本医学雑誌編集者会議 (Japanese Association of Medical Journal Editors : JAMJE) という組織が構成されていま



す。JAMJE の活動目的として、1) 医学雑誌と編集者の自由と権利の擁護、2) 医学雑誌の質の向上への寄与、3) 著者と医学雑誌・編集者の倫理規範の策定、4) 海外の編集者会議との連携の4項目が掲げられています。さらに、JAMJE はその活動目標に即した編集方針を作成するための医学雑誌編集ガイドラインを作成し、発表倫理や医学雑誌の質の向上に対応しています。このガイドラインの中で、私が強調したいのは、当たり前かもしれませんが、

- ①編集者は、雑誌の内容に関して誠実性 (honesty) と公正性 (integrity) を保証し、バイアスを最小にすること。情報の機密性を守ること。
- ②査読者は、原稿を評価してコメントを作成することにより原稿の改善を助長すること、投稿原稿がその雑誌に掲載するのが適切であるかを編集者に提言すること、そして、査読期限を守ること、原稿に関する機密を保持すること、偏見的や侮蔑的なコメントをしないこと。

です。これらは http://jams.med.or.jp/guideline/jamje_201503.pdf に公開されています。

さて、今回の第5号をみてみよう。矢納編集委員長になって初めての雑誌です。内容は原著3編、症例2編、短報1編という構成で、術前子宮鏡検査による腹腔細胞診への影響を検討したもの、自動スクリーニング支援装置の有用性の検討、細胞診セルブロックを用いたバイオマーカーの測定、ALK 陰性未分化大細胞型リンパ腫症例、肺原発腺癌膀胱転移という希少症例、さらには、ホルマリン固定組織からの LBC 標本作製法について、などいずれも医療現場に還元される意義の深い力作揃いです。新たな雑誌の時代を感じさせる内容だと思うのは私だけではないと思います。

最後に、日本臨床細胞学会会員を主体として、多くの研究成果や症例報告などが雑誌に寄せられ、編集委員と評議員を中心に、「日本臨床細胞学会雑誌」が新たなフェーズで発展していくことを大いに願ってやみません。

原 著

子宮頸部細胞診における ThinPrep® Integrated Imager の有用性について

金田 敦代 安岡 弘直 郡司有理子 福田 沙織
 青木 弘 島田 香 築山あゆみ 辻 洋美
 辻本 正彦

大阪警察病院病理科

目的：子宮頸部細胞診における自動スクリーニング支援装置 ThinPrep® Integrated Imager（以下 I2）の有用性について検討した。

方法：ThinPrep® 標本でマニュアル検鏡（以下 M 検鏡）を施行した子宮頸部細胞診 552 例を対象とし，M 検鏡と I2 を用いた検鏡（以下 I2 検鏡）の判定結果，組織診断との対比およびハイリスク HPV 陽性率の比較を行った。

成績：M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定の一致率は 88.4%，細胞判定と組織診断の一致率は M 検鏡で 86.2%，I2 検鏡で 93.1% であった。M 検鏡 NILM 症例の約 9 割は I2 が選択した 22 視野のみの検鏡で判定可能であった。組織診断 LSIL の検出率は M 検鏡で 95.0%，I2 検鏡で 97.5%，組織診断 HSIL 以上の検出率は M 検鏡で 60.0%，I2 検鏡で 86.7% となり，I2 検鏡で HSIL 以上の検出率が高かった。ハイリスク HPV 適中率は I2 検鏡で高かった。

結論：I2 は組織診断一致率が高く，検鏡時間短縮も期待でき，HPV 感染に伴う細胞変化をよりの確に認識していると推察される。そのため，高い細胞診断精度と効率化を兼ね備えた優れた支援システムと考えられる。

Key words：Cervical cancer, ThinPrep® Integrated Imager, Liquid based cytology, Automated screening system, Cervical cytology

I. はじめに

細胞診検査の普及に伴い，1950 年代より子宮頸部細胞診標本を自動でスクリーニングする装置の開発が始まった。

当時のコンピューター技術では画像のデータ処理に膨大な時間がかかり，また細胞の重なり，乾燥，血液細胞の混入，組織・粘液などの残留物，萎縮性変化などが開発の大きな障害となった¹⁾。これらの障害に対する問題が解決せず，米国での開発は1960年初頭より停滞し，製品化にはいたらなかった²⁾。

一方で，コンピューターによる画像解析のためにスライドガラスへの細胞塗抹を薄層化する目的で開発が進んでいた液状化検体細胞診（Liquid based cytology，以下 LBC）は，標本作製の自動化や標準化という副次的な効果をもたらしつつ自動スクリーニング装置の開発に大きな影響を与えたが，境界病変の細胞所見について細胞検査士によるスクリーニングと同等の精度を有するまでにはいならず，自動スクリーニング装置の用途は自動スクリーニング支援装

Benefits of the ThinPrep® Integrated Imager for cervical cytology
 Atsuyo KANEDA, C. T., Hironao YASUOKA, M. D., Yuriko GUNJI, C. T., I. A. C., Saori FUKUDA, C. T., Hiroshi AOKI, C. T., I. A. C., Kaori SHIMADA, C. T., Ayumi TSUKIYAMA, C. T., I. A. C., Hiromi TSUJI, M. D., Masahiko TSUJIMOTO, M. D., F. I. A. C.

Department of Pathology, Osaka Police Hospital

論文印刷請求先 〒 543-0035 大阪市天王寺区北山町 10 の 31 大阪警察病院病理科 安岡弘直

平成 30 年 8 月 2 日受付

平成 31 年 3 月 1 日受理

置へと変わっていった。

このような技術開発の中心である米国では、1998年にFocal Point Slide Profiler (BD Diagnostics 社、以下 FP)³⁾、2003年にThinPrep® Imaging System (Hologic 社、以下 TIS)^{4,5)}が、それぞれ子宮頸部細胞診標本の1次スクリーニング用装置として米国FDA (Food and Drug Administration) の承認を受け、また、自動スクリーニング支援装置を用いた精度管理基準が定められたこともあり、広く使用されている⁶⁾。

この自動スクリーニング支援装置は今後本邦でも普及することが予想されるが、本邦での詳細な報告は少ない。自動スクリーニング支援装置 TIS の小型機である ThinPrep® Integrated Imager (Hologic 社、以下 I2) は、ThinPrep® 標本のすべての細胞について、その核の濃さと大きさを指標として約 90 秒で画像解析し、細胞検査士が検鏡すべき 22 視野を自動的に選択する機能を有しており、I2 専用染色 ThinPrep® Stain (以下 TP 染色) を用いることが条件となっている⁷⁾。

今回われわれは、I2 を用いて子宮頸部細胞診標本におけるその有用性について検討を行った。本研究は通常検査の一環として行われ、ThinPrep® により再現性のある標本が複数枚作製可能であるため⁸⁾、日常診療で頻用される通常のパパニコロウ染色と I2 専用である TP 染色の染色性を比較し、I2 の有用性について検討することを目的に、同一バイアルの残余検体から標本作製する研究デザインを採用した。

II. 対象および方法

2016 年 2～4 月に当院で行われた LBC (ThinPrep®) による子宮頸部細胞診検査 552 例を対象とした。細胞診標本は自動塗抹装置である ThinPrep® 5000 プロセッサ (Hologic 社) を用いて作製した。552 例の内訳は、NILM (negative for intraepithelial lesion or malignancy) 429 例、ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) 72 例、LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) 39 例、ASC-H (atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous epithelial lesion) 5 例、HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) 5 例、Adenocarcinoma 2 例である。

細胞検査士によるダブルチェックで検鏡を行い、ベセスダ 2001 準拠報告様式に沿って通常のパパニコロウ染色による ThinPrep® 標本の判定を行った (以下 M 検鏡)。I2 検鏡用標本は、552 例の ThinPrep® 残余検体から ThinPrep® 5000 プロセッサを用いて標本を塗抹し、Hologic 社により規定された染色条件があらかじめプログラムされている自動染色装置 Compass (Hologic 社) を用いて TP 染色を行

い、その後 I2 を用いて検鏡 (以下 I2 検鏡) を行った。

I2 検鏡の際には、M 検鏡の細胞判定結果を伏せたブラインド状態で検鏡を行った。I2 による細胞判定は Hologic 社の推奨するプロトコールに準じて、選択された 22 視野の検鏡を行い、異常所見がなければそのまま NILM とし、22 視野中に 1 視野でも異常所見が疑われる細胞を認めた場合には、全視野検鏡へ移行しベセスダ 2001 準拠報告様式に沿って診断した。I2 検鏡は 3 名の細胞検査士 (細胞診断経験年数はおおの 22 年、8 年、3 年) で行った。

判定者 3 名が一致、または 2 名が一致したものを最終判定とし、3 名が不一致となった症例は判定者間 3 名でディスカッションを行い最終判定とした。ディスカッション後、不一致症例について再度 I2 検鏡を行い、細胞判定を比較した。

本研究での検討項目は次の 5 項目とした。

1. M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定結果の比較
2. M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定不一致症例に関する検討
3. I2 検鏡における細胞判定が判定者間で不一致となった症例の検討
4. 組織診が施行された 58 例について組織診断結果との比較
5. M 検鏡判定 ASC-US 症例のハイリスク HPV (human papillomavirus) 検査結果との比較

ハイリスク HPV 検査にはハイブリッドキャプチャー法 (キアゲン社、以下 HC 法) を用いた。

III. 結 果

1. M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定結果の比較

Table 1 に M 検鏡細胞判定と I2 検鏡細胞判定との比較結果を示す。M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定の一致率は 88.4% (488/552) であった。また細胞判定 NILM を陰性、ASC-US 以上を陽性と定義した場合の両者の一致率は 92.6% (511/552) であった。M 検鏡において NILM となった 429 例中 385 例 (89.7%) は、I2 が選択した 22 視野のみの確認検鏡で診断が可能であった。I2 が選択した 22 視野内に異常所見が疑われ、全視野検鏡へ移行した割合は、NILM 症例で 10.3%、ASC-US 症例で 83.3%、ASC-H、LSIL、HSIL、Adenocarcinoma の各症例では 100% であった。

2. M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定不一致症例に関する検討

細胞判定の不一致症例は 552 例中 64 例 (11.6%) であった (Table 1)。そのうち 39 例 (60.9%) は NILM と ASC-US の判定不一致であった。

以下に代表的な不一致症例を 2 例示す。

症例 1 : M 検鏡 ASC-US (Photo. 1a) / I2 検鏡 ASC-H

Table 1 Comparison of cytological diagnoses between manual and I2 tests (N = 552)

		Manual-Test						Total
		NILM	ASC-US	LSIL	ASC-H	HSIL	Adenocarcinoma	
I2-Test	NILM	410	22					432
	ASC-US	17	37	3				57
	LSIL	1	10	31	1	1		44
	ASC-H	1	3		4			8
	HSIL			5		4		9
	Adenocarcinoma						2	2
	Total	429	72	39	5	5	2	552

NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy : ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance : LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion : ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous epithelial lesion : HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion.

(Photo. 1b), 生検組織診断は異型未熟扁平上皮化生細胞であった。その後の細胞診による経過観察では NILM となっている。

症例 2 : M 検鏡 LSIL (Photo. 2a) / I2 検鏡 HSIL (Photo. 2b), 生検組織診断は HSIL / CIN (cervical intraepithelial neoplasia) 3 であった。M 検鏡標本を再検鏡すると N/C 比の高い小型異型細胞 (Photo. 2c) がごくわずかに認められた。

3. I2 検鏡における細胞判定が判定者間で不一致となった症例の検討

Table 2 に I2 検鏡判定が 3 名の細胞検査士間で不一致となった結果, および再検鏡した結果を示す。3 名の細胞検査士間の細胞判定が不一致となった症例は 14 例あり, M 検鏡 NILM 症例で 3 例 (0.7%), M 検鏡 ASC-US 症例で 5 例 (6.9%), M 検鏡 LSIL 症例で 3 例 (7.7%), および M 検鏡 ASC-H 症例で 3 例 (60.0%) であった。再検鏡により不一致例は 14 例から 6 例に減少した。

4. 組織診が施行された 58 例について組織診断結果との比較

細胞判定後に組織診を施行した 58 例における M 検鏡, I2 検鏡それぞれの細胞判定と組織診断結果との比較を Table 3 に示す。細胞診 NILM / 組織診陰性, 細胞診 ASC-US / 組織診陰性ないし LSIL / CIN1, 細胞診 LSIL / 組織診 LSIL / CIN1, 細胞診 ASC-H ないし HSIL / 組織診 HSIL / CIN2 ないし HSIL / CIN3, 細胞診 Adenocarcinoma / 組織診 Adenocarcinoma, である場合に一致と定義すると, 細胞判定と組織診断の一致率は M 検鏡で 86.2% (50/58), I2 検鏡で 93.1% (54/58) であった。LSIL の病変検出率は, M 検鏡で 95.0% (38/40), I2 検鏡で 97.5% (39/40), HSIL 以上の病変検出率は M 検鏡で 60.0% (9/15), I2 検鏡で 86.7% (13/15) であり, I2 検鏡で HSIL 以上の病変検出率が高い

結果となった。

5. M 検鏡判定 ASC-US 症例のハイリスク HPV (human papillomavirus) 検査結果との比較

ハイリスク HPV 検査が施行された症例の M 検鏡診断結果と I2 検鏡診断結果の比較を Table 4 に示す。M 検鏡判定 ASC-US 72 例中 36 例で検査が施行され, ハイリスク HPV 検査陽性症例は 21 例であった (陽性率 58.3%)。I2 検鏡判定 ASC-US 57 例中 18 例で検査が施行され, ハイリスク HPV 陽性症例は 12 例であった (陽性率 66.7%)。M 検鏡 ASC-US / I2 検鏡 NILM 症例は 10 例あり, そのうち 9 例はハイリスク HPV 検査が陰性であった。また, M 検鏡 ASC-US / I2 検鏡 LSIL 症例は 8 例あり, 全例においてハイリスク HPV 検査は陽性であった。

IV. 考 察

同一症例における M 検鏡と I2 検鏡の細胞判定の一致率は 88.4% で, NILM を陰性, ASC-US 以上を陽性と定義した場合の両者の一致率は 92.6% と高い値を示し, I2 検鏡は M 検鏡とほぼ同等の精度を有すると考えられた。I2 の大型機である TIS を用いた解析はこれまでに報告があり^{4,5,9)}, Biscotti らは手動検鏡と TIS 検鏡を比較し, 細胞判定の一致率を 93.3% と報告している⁴⁾。これは前述した本研究における I2 検鏡と M 検鏡の細胞判定一致率とほぼ等しく, I2 には TIS と同等の診断精度や有用性があると思われる。また, NILM 症例の約 9 割を I2 が選択した 22 視野のみの検鏡で診断することが可能であった。

本研究においては, 実際に個々の症例で検鏡時間を測定していないが, 日常のスクリーニング検査から算出した M 検鏡での NILM 標本に要する 3 名の検鏡平均時間が約 3 分であり, I2 検鏡標本で 22 視野のみの検鏡で NILM と判定

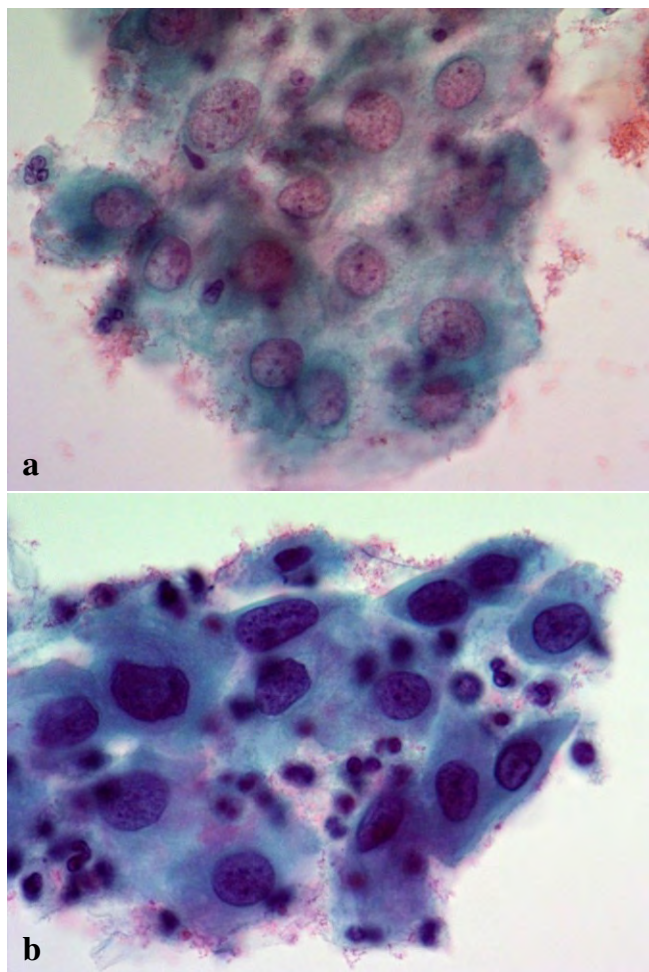


Photo. 1 Two liquid based cytology (LBC) slides were diagnosed as being atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US; a) and atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous epithelial lesion (ASC-H; b). Atypical cells with slightly enlarged but almost normochromasia were diagnosed as being ASC-US (a). Atypical metaplastic cells, with increased nuclear-cytoplasmic ratios and nuclear hyperchromasia providing inadequate evidence to diagnose these as high-grade squamous intraepithelial lesions, were interpreted as ASC-H (b). (a: Papanicolaou staining, $\times 40$, b: ThinPrep® staining, $\times 40$).

した症例に要する3名の平均検鏡時間が約1分であることから、NILM症例においては検鏡時間の短縮が見込まれると考えられた。

一方で、M検鏡とI2検鏡の細胞診判定には11.6%の割合で不一致がみられた。不一致症例のうちI2検鏡でNILMとなった症例(22例)は、M検鏡では全例ASC-USであった。その22例のM検鏡標本を再検鏡したところ、クロマチン増量に乏しくても核腫大を認めればASC-USとしていくことが多く、22例中19例でM検鏡にてASC-US判定を

過大評価しているものと考えられた。I2は、核内DNA含量に基づいて検鏡すべき22視野を選択しており、クロマチン増量に乏しい核腫大細胞は選択されない傾向にある。そのためM検鏡でASC-US判定となった症例の多くがI2検鏡ではNILMの判定となったと考えられた。

ベセスダ2001準拠報告様式では、それまでのクラス分類にはなかったASCなどの新しい細胞判定カテゴリーが加わり、そのクライテリアには細胞検査士間において多少なりとも差があるとされ¹⁰⁾、またASCのカテゴリーは個々の細胞に適用するのではなく、標本全体の判断のためのものとして設定されている。あいまいで主観的な所見を内包したASCの概念は明確な判断基準の作成が困難であるため、再現性の低さを招いているともいわれている¹¹⁾。

本研究においても、M検鏡とI2検鏡の約6割でNILM、ASC-US判定が不一致となったが、ASCカテゴリーのあいまいな概念が少なからず影響しているものと考えられた。

逆に、I2検鏡にてややover diagnosisになった理由として、Pap染色とTP染色の染色性の違いが挙げられる。M検鏡で軽度の異型扁平上皮細胞(Photo. 1a)と判断しASC-USと判定したが、I2検鏡では形態学的に扁平上皮化生細胞と推定したものの、TP染色により核が濃く染色され、クロマチンが増量しているものと判断したため、異型度をより強く評価してASC-Hと判定した症例(Photo. 1b)がある。これは、Pap染色とTP染色の染色性の違いが判定不一致の理由と考えられた。Halfordらの報告においてもTP染色で核の染色性が濃くなることが指摘されており¹²⁾、コンピューター画像解析を目的に核を濃く染色するTP染色標本の検鏡には習熟が必要であると思われる。

M検鏡LSIL/I2検鏡HSILとなった症例のなかには、M検鏡標本を見直すと、より高度な異型細胞を検出しえた症例がある。一例として、M検鏡標本でLSIL相当の大型異型細胞(Photo. 2a)が多数認められ、同時に存在する少数のHSIL相当の小型異型細胞(Photo. 2c)の見落としが確認された。生検組織診断はHSIL/CIN3であった。I2による検鏡は、まず、選択された22視野を順に確認していくものであり、選択された視野中にHSIL相当の小型異型細胞が含まれていれば、次のステップの全視野検鏡の際には、あらかじめ小型異型細胞の出現に注意しながら検鏡を進めることが可能となる。このことからI2は、細胞診標本のスクリーニング支援に加えて、陰性標本や判定済み標本のダブルチェック用としても有用であることが示唆される。

I2検鏡で細胞検査士間に14例の判定不一致が生じたことは、TP染色の特徴である明瞭に染色される核を、クロマチン増量の有意所見として認識する傾向があり、検討当初細胞検査士がこの特徴的な染色性に習熟していないことで

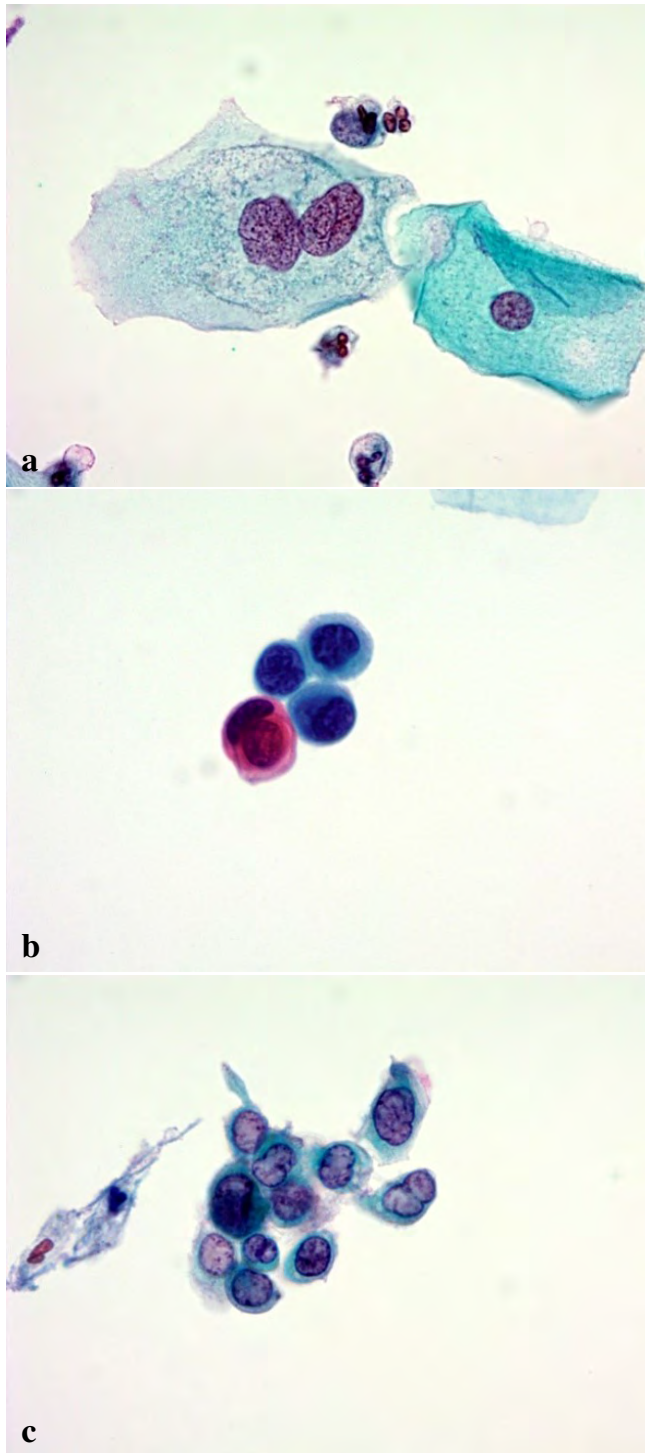


Photo. 2 Three liquid based cytology (LBC) slides were diagnosed as being low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL : a), and high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL : b, c). Atypical cells characterized by nuclear enlargement, hyperchromasia, and binucleation were diagnosed as being LSIL (a). Atypical parabasal cells with increased nuclear-cytoplasmic ratios and nuclear hyperchromasia were diagnosed as being HSIL (b). Paired cells were also seen (b). Atypical cells, with increased nuclear-cytoplasmic ratios, thick and irregular nuclear membranes, and irregular chromatin distribution, were suggestive of HSIL (c) (a, c : Papanicolaou staining, $\times 40$, b : ThinPrep® staining, $\times 40$).

Table 2 The number of mismatch cases before and after re-screening

Manual test	Number	Before re-screening	After re-screening
NILM	429	3 (0.7%)	1 (0.2%)
ASC-US	72	5 (6.9%)	2 (2.8%)
LSIL	39	3 (7.7%)	2 (5.1%)
ASC-H	5	3 (60.0%)	1 (20.0%)
HSIL	5	0 (0%)	0 (0%)
Adenocarcinoma	2	0 (0%)	0 (0%)

NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy ; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance ; LSIL low-grade squamous intraepithelial lesion ; ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous epithelial lesion ; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion.

判定にばらつきが生じたものと推察される。しかし、これらの不一致症例において、それぞれの判定者が着目した細胞について全判定者で再検鏡を行い、細胞所見を協議し、再度 I2 検鏡で判定したところ、不一致が 6 例に減少したことは、検討開始時期から TP 染色標本の検鏡トレーニングを積み、かつ、I2 が選択した 22 視野を検鏡するというワークフローにも習熟したことで判定のばらつきが軽減され、細胞検査士間の細胞判定に関するクライテリアの差が小さくなったためと考えられた。

また、細胞所見について、I2 により選択された 22 視野に絞っての議論が可能となったため、クライテリアのすり合わせが行いやすくなったことも再検鏡による判定不一致症例を減少させた大きな理由の一つと考えられ、このことから I2 は、細胞検査士の教育研修用のツールとしても有用であると思われる。

M 検鏡と I2 検鏡それぞれの診断精度を評価するために組織診断結果との比較を行ったところ、I2 検鏡では M 検鏡よりも組織診断との一致率が高かった。LSIL 病変検出率は M 検鏡と I2 検鏡に大差はなかったが、HSIL 以上では I2 検鏡が M 検鏡よりも高い病変検出率であった。これまでの TIS 検鏡による報告では、高度異型扁平上皮病変の検出率について、TIS 検鏡で有意に上昇を認めたものと⁵⁾、有意差はないがわずかに上昇を認めたものがあるが⁹⁾、本研究を含めて自動スクリーニング支援装置による検鏡が手動検鏡よりも劣るという報告はみられず、自動スクリーニング支援装置による検鏡が有用であることを示唆しているものと考えられる。

細胞診判定 ASC-US におけるハイリスク HPV の陽性率は 50~75% と報告されている¹³⁾。本研究では、それぞれの検鏡群で ASC-US と判定された症例におけるハイリスク HPV 陽性率は、M 検鏡で 58.3%、I2 検鏡で 66.6% と、これまでの報告とほぼ一致した結果であり、I2 検鏡のほうがやや高

Table 3 The correlation between cytological and histological diagnoses

		Histological diagnosis				
		Negative	LSIL/CIN 1	HSIL/CIN 2	HSIL/CIN 3	Adenocarcinoma
Manual test	ASC-US	3	16		2	
	LSIL		22	3	1	
	ASC-H		1		3	
	HSIL		1	2	2	
	Adenocarcinoma					2
	Total	3	40	5	8	2
I2-test	ASC-US	2	11			
	LSIL		28	2		
	ASC-H	1			5	
	HSIL		1	3	3	
	Adenocarcinoma					2
	Total	3	40	5	8	2

CIN, cervical intraepithelial neoplasia : ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance : LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion : ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous epithelial lesion : HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion.

Table 4 Comparison of diagnostic results of manual tests and I2 tests in the case of HPV-DNA

HPV-DNA	Manual test/I2-test			Total
	ASC-US/ASC-US	ASC-US/NILM	ASC-US/LSIL	
+	12	1	8	21
-	6	9	0	15

NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy : ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance : LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion : HPV, human papillomavirus : DNA, deoxyribonucleic acid.

率であった。Miller らの報告でも、HC 法を用いたハイリスク HPV 検査結果との比較で、手動検鏡症例の HPV 陽性率が 35.9%、TIS 検鏡では 39.8%と、TIS 検鏡症例では HPV 陽性率がやや高くなったとされており⁹⁾、本研究の結果と同様の傾向がみられた。I2 検鏡での ASC-US 症例においてハイリスク HPV の陽性率がやや高かったことに加え、M 検鏡 ASC-US/I2 検鏡 NILM となった 10 例中 9 例 (90%) でハイリスク HPV 検査が陰性であったこと、また、M 検鏡 ASC-US/I2 検鏡 LSIL となった全症例においてハイリスク HPV 検査が陽性であったことは、I2 検鏡による細胞判定が M 検鏡よりも HPV 感染に伴う細胞変化をよりの確に認識している可能性を示唆しているものと考えられた。

TIS よりも先に米国 FDA の承認を取得した BD Diagnostics 社の FP は、TIS と同様の大型機器であり、その基本原理に画像解析技術を用いている点は TIS と同様だが、細胞判定にいたるアルゴリズムには違いがあるとされており、

LBC 標本のみならず従来法標本にも適応できるという利点を有している。本邦においても FP の細胞診検査の精度管理における有用性が報告されており¹⁴⁾、細胞診検査の精度管理が強化される中で、FP や TIS および I2 などの自動スクリーニング支援装置の需要が今後さらに高まることが期待されている。

今回われわれが使用した I2 は、専用の TP 染色を用いることが指定されており、常に一定の染色性を維持できることから染色結果について施設間差をなくし、標準作製の標準化に寄与するという利点があり、かつ小型で設置場所を選ばないため、一般の病院施設でより活用しやすいものと考えられる。欧米では子宮頸がん検診の高い受診率を支えるために LBC や自動スクリーニング支援装置の導入が進んでいる。

近年本邦においても LBC の導入が徐々に進んでいるが、その普及率は欧米に比べるといまだ高くない状況にある。本邦では子宮頸がん検診受診率が欧米に比して低いという

ことが大きな問題として取り上げられているが、その受診率向上を課題とする中で、細胞検査士の不足も同時に問題として取り上げられている。このような状況の中で、今回われわれが検討した自動スクリーニング支援装置は、細胞診検査の効率化と高い診断精度を兼ね備えた優れた支援システムであり、今後本邦における子宮頸がん検診受診率の向上、子宮頸癌の発生率低下に大いに貢献できるツールであると考えられる。

筆者らに、開示すべき利益相反状態はない。なお本研究はホロジックジャパン株式会社との共同研究である。

なお、この内容は第 55 回日本臨床細胞学会秋期大会（大分）と第 59 回日本臨床細胞学会春期大会（札幌）で発表した。

Abstract

Objective : We compared the performance of a computerized ThinPrep® (TP) Integrated Imager (I2) with the manual reading of paired TP slides stained with an ordinary Papanicolaou stain (TPM).

Study Design : The study consisted of 552 cases, and compared the results of I2-screened TP (TPI) with TPM. This study also compared high risk human papillomavirus (HPV) positive rates in cases of atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) diagnosed using TPI with those diagnosed using TPM.

Results : Concordance in cytologic diagnoses between TPI and TPM was 88.4%. Concordance between cytologic and histologic diagnoses for TPM was 86.2%, and that for TPI was 93.1%. The detection rate of a low-grade squamous intraepithelial lesion with TPM was 95.0% and that for TPI was 97.5%. The detection rate of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) and high-grade disease with TPM was 60.0%, and that of TPI was 86.7%. These results suggest TPI is more accurate than TPM for diagnoses of HSIL and high-grade disease. The high-risk HPV positive rate in ASC-US cases of TPM was 58.3%, and that for TPI was 66.7%.

Conclusion : The I2 is useful in cervical screening and may contribute to improved accuracy in cytologic diagnoses.

文 献

- 1) Bengtsson, E., Malm, P. Screening for cervical cancer using automated analysis of PAP-smears. *Comput Math Methods in Medicine* 2014 ; 1-12.
- 2) Valente, P. T., Schantz, H. D. Cytology Automation : An Overview. *Laboratory Medicine* 2001 ; 32 : 686-690.

- 3) Patten, S. F. Jr., Lee, J. S., Wilbur, D. C., Bonfiglio, T. A., Colgan, T. J., Richart, R. M., et al. The Autopap300 QC System multi-center clinical trials for use in quality control rescreening of cervical smears : II. Prospective and archival sensitivity studies. *Cancer* 1997 ; 81 : 343-347.
- 4) Biscotti, C. V., Dawson, A. W., Dziura, B., Galup, L., Kabawat, S. As-sited primary screening using the automated ThinPrep Imaging System. *Am J Clin Pathol* 2005 ; 123 : 281-287.
- 5) Dziura, B., Quinn, S., Richard, K. Performance of an imaging system vs manual screening in the detection of squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *Acta Cytol* 2006 ; 50 : 309-311.
- 6) Elsheikh, T. M., Austin, R. M., Chhieng, D. F., Miller, F. S., Moriarty, A. T., Renshaw, A. A. American Society of Cytopathology workload recommendations for automated Pap test screening : developed by the productivity and quality assurance in the era of automated screening task force. *Diagn Cytopathol* 2013 ; 41 : 174-178.
- 7) ThinPrep® Integrated Imager オペレータマニュアル 2014. 東京 : ホロジックジャパン株式会社 ; 2014.
- 8) Hutchinson, M. L., Isenstein, L. M., Goodman, A., Hurley, A. A., Douglass, K. L., Mui, K. K., et al. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep® processor, *Am J Clin Pathol* 1994 ; 101 : 215-219.
- 9) Miller, F. S., Nagel, L. E., Kenny-Moynihan, M. B. Implementation of the ThinPrep Imaging System in a high-volume metropolitan laboratory. *Diagn Cytopathol* 2007 ; 35 : 213-217.
- 10) 石田亜光, 斉藤誠人, 永瀬泰平, 富澤一与, 栗原康哲, 高草木俊範・ほか. 子宮頸部異型化生細胞の評価における判定者間の不一致. *医学検査* 2017 ; 66 : 486-492.
- 11) Stoler, M. H., Schiffman, M., ALTS Group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations : realistic estimates from the ASCUS LSIL Triage Study. *JAMA* 2001 ; 285 : 1500-1505.
- 12) Halford, J. A., Batty, T., Duhig, J., Lee, C., Walker, K. Comparison of the sensitivity of conventional cytology and the ThinPrep Imaging System for 1,083 biopsy confirmed high-grade squamous lesions. *Diagn Cytopathol* 2010 ; 38 : 318-326.
- 13) Sherman, M. E., Schiffman, M., Cox, J. T. Effects of age and human papillomavirus load on colposcopy triage : Data from the randomized atypical squamous cell of undetermined significance/low grade intraepithelial lesion triage study (ALTS). *J Nat Cancer Inst* 2002 ; 16 : 102-107.
- 14) Sugiyama, Y., Sasaki, H., Komatsu, K., Yabushita, R., Oda, M., Yanoh, K., et al. A multi-institutional feasibility study on the use of automated screening system for quality control rescreening of cervical cytology. *Acta Cytol* 2016 ; 60 : 451-457.

子宮体癌の術前子宮鏡検査と腹腔細胞診

平野 卓朗¹⁾ 山上 亘¹⁾ 真壁 健¹⁾ 坂井 健良¹⁾
 二宮 委美¹⁾ 野村 弘行¹⁾ 片岡 史夫¹⁾ 平沢 晃¹⁾
 進 伸幸²⁾ 青木 大輔¹⁾

慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室¹⁾, 国際医療福祉大学三田病院産婦人科²⁾

目的：子宮体癌の腹腔細胞診陽性の背景因子を明らかにし、子宮鏡検査が腹腔細胞診陽性に与える影響を検討することを目的とした。

方法：当院にて子宮鏡検査を施行した後に、開腹もしくは腹腔鏡下に手術療法を施行した414例に関して、腹腔細胞診の結果と臨床病理学的因子との関連を後方視的に検討した。

成績：414例中13例(3%)で腹腔細胞診陽性であった。腹腔細胞診陽性の有意なリスク因子として、単変量解析では類内膜癌 Grade 3+特殊組織型、付属器転移、大網転移、腹膜播種が挙げられ($p<0.001$)、多変量解析では類内膜癌 Grade 3+特殊組織型($p=0.01$)と大網転移が挙げられた($p<0.001$)。またリスク因子別では大網転移陽性例で腹腔細胞診陽性例が最も多かった(7/10例, 70%)。12例で腹腔細胞診陽性のリスク因子である類内膜癌 Grade 3+特殊組織型もしくは大網転移を認めた。1例のみリスク因子を有さず腹腔細胞診が陽性となった症例を認め、多発子宮筋腫や子宮腺筋症によって、子宮鏡の検査時間や還流圧を通常より要したことが原因と推定されたが、術後再発を認めず経過している。

結論：術前に子宮鏡検査を施行したにもかかわらず腹腔細胞診陽性となった例は少なく、そのほとんどが腹腔細胞診陽性のリスク因子を有する症例であったため、術前子宮鏡検査による腹腔細胞診への影響は軽微であろうと考えられた。

Key words : Endometrial cancer, Hysteroscopy, Peritoneal cytology

I. 緒 言

子宮鏡検査は、不正出血の質的診断のほか特に子宮体癌の診断において、子宮内膜の肥厚、隆起、色調異常、異常血管像などの観察に適した検査方法である¹⁾。また、子宮体癌の頸管進展を評価する方法として、MRIによる画像診断とともに子宮鏡検査による頸管の観察が用いられる。しかしながら子宮鏡検査により子宮内腔に持続的な圧力が加わることから、内腔の悪性細胞を経卵管的に腹腔内に散布させてしまう危険性がある²⁾。その一方で、子宮体癌の術前診断に行う子宮鏡検査では悪性細胞を腹腔内に散布し予後を悪化させる可能性は少ないとの報告もある³⁾。

そこで今回われわれは、改めて子宮体癌の腹腔細胞診陽性の背景因子を明らかにするとともに、子宮鏡検査が腹腔

Impact of preoperative hysteroscopy on outcomes of peritoneal cytology in patients with endometrial cancer

Takuro HIRANO¹⁾, M. D., Wataru YAMAGAMI¹⁾, M. D., Takeshi MAKABE¹⁾, M. D., Kensuke SAKAI¹⁾, M. D., Tomomi NINOMIYA¹⁾, M. D., Hiroyuki NOMURA¹⁾, M. D., Fumio KATAOKA¹⁾, M. D., Akira HIRASAWA¹⁾, M. D., Nobuyuki SUSUMU²⁾, M. D., Daisuke AOKI¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Obstetrics & Gynecology, Keio University School of Medicine

²⁾Department of Obstetrics & Gynecology, International University of Health and Welfare Mita Hospital

論文別刷請求先 〒160-8582 東京都新宿区信濃町35 慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 平野卓朗

平成30年11月14日受付

平成31年4月17日受理

Table 1 Clinicopathological background in positive and negative peritoneal cytology patients

		Cytology positive (n = 13)	Cytology negative (n = 401)
Age, mean		58 (34-75)	55 (23-87)
Surgical staging (FIGO2008)	I A	2	251
	I B	0	53
	II	0	25
	III	3	65
	IV	8	7
Histological type	Endometrioid carcinoma G1	0	168
	G2	2	140
	G3	1	42
	Non-endometrioid carcinoma	10	51
	Myometrial invasion	13	324
	Serosal invasion	2	7
	Metastasis to adnexa	5	15
	Metastasis to omentum	7	2
	Peritoneal dissemination	4	4
False positive cytology (%)		—	9 (2.2)

細胞診陽性に与える影響を多数例で検討することを目的とした。

II. 対象と方法

対象は 2011 年から 2015 年に、病理学的に子宮体癌と診断され、術前に当院にて子宮鏡検査を施行した後に、開腹もしくは腹腔鏡下に手術療法を施行し、術中腹水細胞診または腹腔洗浄細胞診（以下、腹腔細胞診）を施行した症例とした。次に当院での子宮鏡検査の手順を示す。

通常当院では術前検査の一環として手術 1 ヶ月前ごろに子宮鏡検査を施行している。子宮鏡本体は Olympus 社の OES ヒステロファイバースコープ HYF-XP を使用し、検査時間は 5～10 分程度であり、還流液には生理食塩水を使用し、還流方法は通常は自然滴下であるが必要に応じて加圧している。

また腹腔細胞診の採取方法であるが、開腹手術/腹腔鏡下手術ともに、腹腔内観察後に子宮への操作を行う前に採取している。その際に採取に十分な腹水貯留がない場合には、生理食塩水 50～100 ml を用いて骨盤内を十分に洗浄し、その洗浄液を採取し通常 50 ml を細胞診検査に提出している。採取後の検体は Papanicolaou 染色を行った後に複数の細胞検査士と細胞診専門医により判定を行う。なお、本検討では疑陽性は陰性に分類した。

これらの腹腔細胞診の結果と臨床病理学的因子を診療録より収集し、SPSS ver24 による後方視的に統計学的解析を行った。単変量解析には χ^2 解析を用い、多変量解析には多

重ロジスティック解析を用い、 $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

なお、本研究は慶應義塾大学医学部倫理審査委員会より承認を受けた（承認番号 20120243）。

III. 結 果

Table 1 に腹腔細胞診陽性例と陰性例における臨床病理学的背景および腹腔細胞診陽性の頻度を示す。手術進行期 (FIGO 2008) 別では、I A 期 253 例 (61%)、I B 期 53 例 (13%)、II 期 25 例 (6%)、III 期 68 例 (16%)、IV 期 15 例 (4%) であった。病理組織型別では類内膜癌 Grade 1 (以下 G1) 168 例 (41%)、Grade 2 (以下 G2) 142 例 (34%)、Grade 3 (以下 G3) 43 例 (10%)、特殊組織型 61 例（うち漿液性癌 18 例、粘液性癌 1 例、明細胞癌 6 例、混合癌 17 例、未分化癌 3 例、癌肉腫 16 例）(15%) であった。対象症例のうち腹水細胞診陽性例は 13/414 例 (3%) であり、手術進行期 (FIGO2008) 別にみると I A 期 2/253 例 (0.8%)、III 期 3/68 例 (4%)、IV 期 8/15 例 (53%) であり、病理組織型別にみると類内膜癌 G2 2/142 例 (1%)、類内膜癌 G3 1/43 例 (2%)、特殊組織型 10/61 例 (16%)、うち漿液性癌 3 例、癌肉腫 4 例、混合癌 3 例) であった。また腹水細胞診陽性 9 例における手術進行期は I A 期 4 例、III 期 3 例、IV 期 2 例であった。

次に腹腔細胞診陽性例のリスク因子に関して解析を行った結果を Table 2 に示す。単変量解析では類内膜癌 G3+ 特殊組織型、漿膜浸潤、付属器転移、大網転移、腹膜播種が

Table 2 Risk factors for positive peritoneal cytology

	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value
Endometrioid carcinoma G3 and Non-endometrioid carcinoma	18.5 (4.0-85.1)	<0.001	9.0 (1.7-48.3)	0.01
Depth of myometrial invasion $\geq 50\%$	1.7 (0.5-5.2)	n. s	—	
Serosal invasion	10.3 (1.9-55.1)	0.03	—	
Metastasis to adnexa	16.1 (4.7-55.2)	<0.001	—	
Metastasis to omentum	233.3 (39.9-1364.6)	<0.001	104.9 (14.5-758.3)	<0.001
Peritoneal dissemination	17.4 (4.6-66.2)	<0.001	—	

Table 3 Clinicopathological findings in 13 positive peritoneal cytology patients

Case	Age	Operation	Histological type	Surgical staging (FIGO2008)	Non-endometrial carcinoma	Metastasis of omentum	Serosal invasion	Metastasis of adnexa	Peritoneal dissemination
1	57	Laparoscopy	Mixed carcinoma (Endometrioid + serous)	I A	+	—	—	—	—
2	53	Laparoscopy	Endometrioid carcinoma G2	I A	—	—	—	—	—
3	54	Laparoscopy	Serous carcinoma	III A	+	—	—	+	—
4	75	Laparotomy	Carcinosarcoma	III C1	+	—	+	—	—
5	61	Laparotomy	Carcinosarcoma	III C2	+	—	—	—	—
6	70	Laparotomy	Mixed carcinoma (Endometrioid + clear cell)	IV B	+	+	—	—	+
7	72	Laparotomy	Carcinosarcoma	IV B	+	+	—	—	—
8	34	Laparotomy	Endometrioid carcinoma G2	IV B	—	+	—	+	—
9	75	Laparotomy	Serous carcinoma	IV B	+	+	—	—	—
10	58	Laparotomy	Mixed carcinoma (Endometrioid + serous)	IV B	+	—	—	—	+
11	41	Laparotomy	Serous carcinoma	IV B	+	+	—	+	+
12	38	Laparotomy	Endometrioid carcinoma G3	IV B	—	+	—	+	+
13	63	Laparotomy	Carcinosarcoma	IV B	+	+	+	+	—

腹腔細胞診陽性に有意に相関するリスク因子であり、多変量解析では類内膜癌 G3 + 特殊組織型と大網転移が有意なリスク因子であった。

次に腹腔細胞診陽性例のリスク因子に関しては、特殊組織型 10/63 例 (16%)、大網転移 7/10 例 (70%)、漿膜浸潤 2/10 例 (20%)、付属器転移 5/20 例 (25%)、腹膜播種 4/13 例 (31%) であり、大網転移をきたした症例が最も腹腔細胞診陽性率が高かった。

次に Table 3 に腹腔細胞診陽性症例の病理学的所見を示す。腹腔細胞診が陽性となった 12 例において、多変量解析で有意なリスク因子として挙げられた類内膜癌 G3 + 特殊組織型もしくは大網転移を認めていたが、症例 2 のみ該当しなかったため以下に経過を示す。

症例 2 は 53 歳 0 妊 0 産、閉経前の患者であり子宮内膜生検で類内膜癌 G2 を認めた。手術施行前の骨盤 MRI で子宮内膜の肥厚を認めるとともに子宮腺筋症、多発子宮筋腫を認めた (Photo. 1)。PET-CT では明らかなリンパ節腫大や遠隔転移は認めなかった。子宮鏡検査施行時、子宮内腔に

子宮筋腫とみられる多数の隆起性病変を認め、内腔の拡張が困難であった。

手術は腹腔鏡下で行い、子宮に子宮筋腫と子宮腺筋症を認めるも両側付属器に異常を認めなかった。腹腔鏡観察範囲内において腹腔内や大網に明らかな播種病変は認めず、腹腔内に少量の血性腹水を認めたため腹腔細胞診を施行した。摘出子宮の術中迅速病理診断において類内膜癌 G2、体部筋層浸潤は 1/34 mm であったため、腹腔鏡下拡大子宮全摘出術と両側付属器摘出術と骨盤リンパ節郭清を施行し手術を終了した。

術後病理診断では類内膜癌 G2、体部筋層浸潤は 1/20 mm、頸管浸潤や脈管侵襲、付属器転移は認めず、摘出されたリンパ節にも転移を認めなかった (0/44)。以上より子宮体癌 I A 期 (pT1aN0M0) であったが、腹腔細胞診は陽性であった。

採取された腹腔細胞診検体には、上皮性の結合性を有し重積性を呈する細胞集塊を多数認め、細胞自体には核腫大や核の大小不同、明瞭な核小体を認め、腺癌の存在を推定



Photo. 1 Findings of magnetic resonance imaging (MRI) T2 weighted image in case 2.

MRI shows thickening of the endometrium and multiple myomas with adenomyosis in the uterus.

する所見であった (Photo. 2)。腹水細胞診陽性であったため術後化学療法を施行し、現在術後 1 年 7 ヶ月が経過しているが再発を認めず経過している。

当症例に関しては、腹腔鏡手術であり進行期の過小評価は否定できないが、子宮鏡検査時に内腔の拡張が不十分であり、還流圧が過剰になったり検査時間が長引いた可能性があり、子宮鏡検査の関与が疑わしいと考えられた。

IV. 考 察

当施設では以前より子宮体癌患者の術前検査では基本的に子宮鏡検査を行っている。主たる評価項目は骨盤 MRI を併用しての腫瘍の頸管進展の有無であるが、子宮内膜細胞診陽性にもかかわらず子宮内膜生検で悪性像を認めない症例において子宮内腔の腫瘍の局在を肉眼的に確認するという目的や、体下部発生の子宮体癌と子宮頸癌との鑑別を行うという目的で行う場合もあり、術式の選択を含む治療方針の決定に役立つと考えている。その結果、単一施設で 400 例以上の子宮体癌患者に子宮鏡検査を行いデータの蓄積が可能となり、今回の検討にいたることができた。

子宮体癌の腹腔細胞診陽性率は 4.9~21.2% とされており⁴⁾、本研究での結果でもほぼ同程度の陽性率であった。また本邦の子宮体がん治療ガイドラインによれば、腹腔細胞診陽性のリスク因子は 1/2 以上の体部筋層浸潤、類内膜癌 Grade 3+ 特殊組織型、子宮外進展とされ、大網転移や後腹膜リンパ節転移と有意に相関したとする報告も認めら

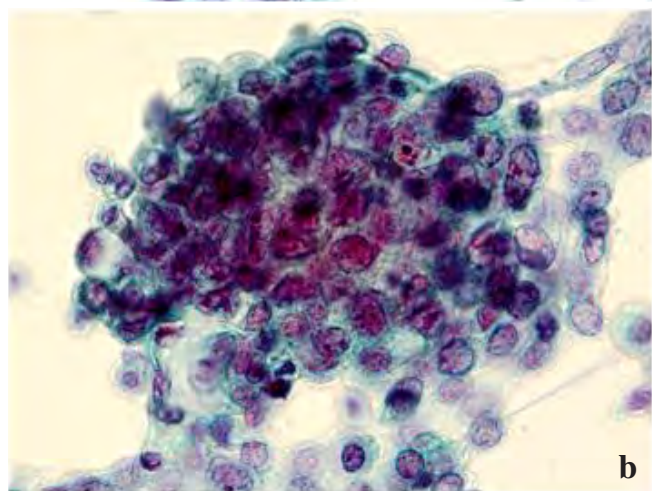
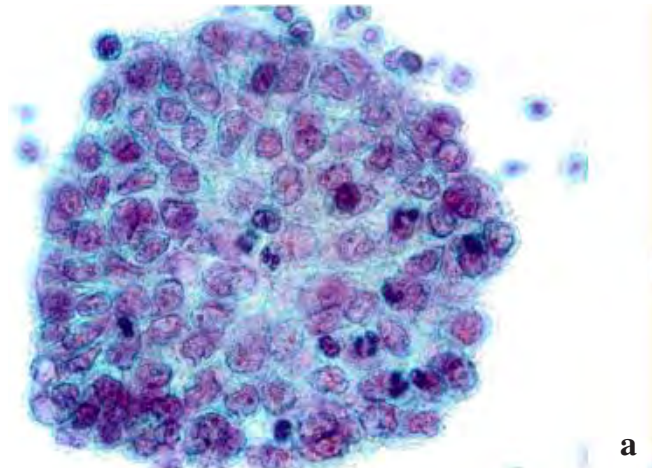


Photo. 2 a, b: Findings of peritoneal lavage cytology in case 2 (Pap. staining, $\times 40$).

A syncytial cluster of cells having epithelial binding and overlapping can be seen. The cells in the clusters have variably sized nuclei, occasionally enlarged nuclei and prominent nucleolus, leading to a suspected adenocarcinoma.

れているが⁵⁾、当院の症例を用いた解析では類内膜癌 G3+ 特殊組織型、大網転移が有意なリスク因子であり、筋層浸潤は有意なリスク因子ではなかった。

また子宮体癌 I A 期類内膜癌 G1 もしくは G2 の低リスク群とされる症例における腹腔細胞診陽性率は 1% 程度であり⁶⁾、当院の陽性率 0.4% (1/241 例) と比較し同程度であった。また腹腔細胞診陽性の類内膜癌 G1 もしくは G2 は、陰性例と比較して無再発生存期間や全生存期間に有意差を認めず⁶⁾、当院でも 1 例のみ同様の症例を認めたが、現在無再発で経過している。

本研究の限界としては、子宮鏡検査未施行例との比較を行っていない点である。Dovnik らによれば⁷⁾、I 期の子宮体癌症例において、子宮内膜全面搔爬を施行した群に比べ

子宮鏡検査を施行した群で有意に腹腔細胞診陽性率が高かったとしている (12.8% vs. 3.4%, $p=0.046$). さらに Chen らによれば⁸⁾, type II の子宮体癌の術前検査で診断的に子宮内膜全面搔爬を行った群より子宮鏡検査を行った群で有意に腹腔細胞診陽性率が高かったと報告している (30% vs. 12%, $p=0.008$).

これらの研究はいずれも子宮鏡検査下で内膜生検を行っているため、当院で通常行っている観察のみの子宮鏡検査よりも、より患者に侵襲を与えるものと考えられる。しかしながら、当院においても子宮鏡検査未施行の子宮体癌症例の腹腔細胞診陽性率との比較を行い、子宮鏡検査による影響が本当に少ないか検証する必要がある。また腹腔細胞診陽性のリスク因子として類内膜癌 G3+特殊組織型、大網転移が挙げられたが、これらが子宮鏡検査未施行例で腹腔細胞診陽性となった症例でも同様のリスク因子となるかについても検証を行う必要がある。

本研究の結果により、子宮体癌患者において組織型や病変の進行が腹腔細胞診の結果に強く影響し、子宮鏡検査の影響は軽微であると推測された。また子宮鏡検査が誘因となり腹腔細胞診が陽性となった1例も術後無再発で経過しており、総じて術前の子宮鏡検査の実施が子宮体癌患者の予後に及ぼす影響も低いと考えられた。

子宮体癌症例において、子宮内腔の卵管角周囲に腫瘍が偏在することで腫瘍が十分に採取できず、子宮内膜細胞診と子宮内膜生検の結果に乖離を認める症例がときおり存在する。また体下部発生の子宮体癌と子宮頸癌の鑑別が必要な症例も存在する。さらに若年性子宮体癌/子宮内膜異型増殖症に対する高用量黄体ホルモン投与による妊娠性温存療法において、頻回の内膜全面搔爬による子宮内腔の癒着や内膜の菲薄化を防ぐ目的で、再発時診断に子宮鏡検査を併用した報告もある⁹⁾。

そのほかに卵巣癌や卵管癌、腹膜癌により経卵管的に腫瘍細胞が子宮内腔に流入し内膜細胞診が陽性となった場合には、子宮内腔の粗大病変の確認が必要な場合もある。このように子宮体癌のみならず、婦人科悪性腫瘍の診断における子宮鏡検査の意義は大きいと考える。また子宮内膜異型増殖症や異型ポリープ状腺筋症、子宮内膜ポリープといった前癌病変や良性病変に関しても、併存する子宮体癌の見逃しを防ぐ目的での子宮鏡検査も有用である。

本検討を踏まえれば、肉眼的な悪性腫瘍の確認を目的とした子宮鏡検査は、予後への影響を過度に懸念することなく必要であれば行う意義が十分にあると考える。

しかし一方で、このような術前の診断に苦慮する症例を除けば、子宮体癌の全症例において子宮鏡検査は必須ではないと考えられ、検査の適応については十分に考慮する必

要がある。

V. 結 語

術前に子宮鏡検査を施行したにもかかわらず腹腔細胞診陽性となった例は少なく、そのほとんどが腹腔細胞診陽性のリスク因子を有する症例であったため、術前子宮鏡検査による腹腔細胞診への影響は軽微であろうと考えられた。

著者らは開示すべき利益相反はありません。

Abstract

Objective : The aim of this study was to clarify the background of peritoneal cytology positive endometrial cancer patients and to examine the relevance of hysteroscopy on obtaining a positive peritoneal cytology diagnosis.

Study Design : This study was a retrospective study on 414 patients at our institution, who underwent laparotomy or laparoscopic surgery after preoperative hysteroscopy between 2011 and 2015. Peritoneal cytology or peritoneal washing cytology was performed intraoperatively. We analyzed the cytological result and clinicopathological risk factors.

Results : Peritoneal cytology results were positive in 13 patients (3%). Endometrial carcinoma grade 3 and non-endometrioid carcinoma, metastasis to the adnexa, metastasis to the omentum, and peritoneal dissemination were significantly associated with positive cytology in a univariate analysis ($p<0.001$). Endometrial carcinoma grade 3 and non-endometrioid carcinoma and metastasis to the omentum were significantly associated with positive cytology in a multivariate analysis ($p=0.01$, $p<0.001$ respectively). In the risk factors of positive cytology, omentum metastasis positive cases were the most frequent (7/10 patients). Almost all patients with positive cytology had one or two risk factors. However, one patient had none of the risk factors. The presence of multiple myomas and adenomyosis were presumed to cause considerable time and water pressure in performing hysteroscopy, which led to positive cytology. Recurrence has not been seen in this case after hysterectomy until now.

Conclusion : There were only few cases in which the ascites cytology became positive after preoperative hysteroscopy, and most cases had risk factors for positive ascitic cytology. The influence on ascites cytology by preoperative hysteroscopy is considered to be minimal.

文 献

- 1) 日本産科婦人科学会/日本産婦人科医会, 編. 産婦人科診療ガイドライン婦人科外来編 2017. 東京: 日本産科婦人科学会; 2017.
- 2) Polyzos, N. P., Mauri, D., Tsioras, S., Messini, C. I., Valachis, A.,

- Messinis, I. E. Intraperitoneal dissemination of endometrial cancer cells after hysteroscopy a systematic review and meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2010 ; 20 (2) : 261-267.
- 3) Cicinelli, E., Tinelli, R., Colafiglio, G., Fortunato, F., Fusco, A., Mastrolia, S., et al. Risk of long-term pelvic recurrences after fluid minihysteroscopy in women with endometrial carcinoma : a controlled randomized study. *Menopause* 2010 ; 17 (3) : 511-515.
- 4) Wethington, S. L., Barrena Medel, N. I., Wright, J. D., Herzog, T. J. Prognostic significance and treatment implications of positive peritoneal cytology in endometrial adenocarcinoma : Unraveling a mystery. *Gynecol Oncol* 2009 ; 115 : 18-25.
- 5) 日本婦人科腫瘍学会, 編. 子宮体がん治療ガイドライン 2018 年版. 東京 : 金原出版 ; 2018.
- 6) Scott, S. A., van der Zanden, C., Cai, E., McGahan, C. E., Kwon, J. S. Prognostic significance of peritoneal cytology in low-intermediate risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2017 ; 145 : 262-268.
- 7) Dovnik, A., Crnobrnja, B., Zegura, B., Takac, I., Pakiz, M. Incidence of positive peritoneal cytology in patients with endometrial carcinoma after hysteroscopy vs. dilatation and curettage. *Radiol Oncol* 2017 ; 51 (1) : 88-93.
- 8) Chen, J., Clark, L. H., Kong, W. M., Yan, Z., Han, C., Zhao, H., et al. Does hysteroscopy worsen prognosis in women with type II endometrial carcinoma? *PLoS ONE* 2017 ; Mar 23 12 (3) e0174226.
- 9) Wang, C. J., Chao, A., Yang, L. Y., Hsueh, S., Huang, Y. T., Chou, H. H., et al. Fertility-preserving treatment in young women with endometrial adenocarcinoma a long-term cohort study. *Inter J Gynecol Cancer* 2014 ; 24 (4) : 718-728.

原 著

肺腺癌由来の悪性胸水セルブロック検体を用いた EGFR 遺伝子変異, ALK, PD-L1 タンパク発現状態の検討

柳川 直樹¹⁾ 渡邊いづみ²⁾ 上野 大²⁾ 郷右近秀平²⁾
鈴木 裕²⁾ 植松美由紀²⁾ 齋藤 明見¹⁾ 緒形 真也¹⁾

山形県立中央病院病理診断科¹⁾, 同 検査部病理²⁾

目的: 肺腺癌由来の悪性胸水と診断された細胞診セルブロック検体を用いて *EGFR* 遺伝子変異, ALK および PD-L1 タンパク発現状態を検討した.

方法: 悪性胸水が疑われた 140 例から胸水が採取された. 細胞診セルブロックが作製され *EGFR* 遺伝子変異, 免疫組織化学を用いて ALK および PD-L1 タンパクの発現状態が検討された.

成績: 肺腺癌由来の悪性胸水と診断された検体は 40 例であった. *EGFR* 遺伝子変異は 13 例 (32.5%) に認められ, ALK 免疫組織化学染色は 1 例 (2.5%) が陽性であった. PD-L1 免疫組織化学染色は高発現が 8 例 (20%), 低発現が 14 例 (35%), 無発現が 18 例 (45%) であった. 9 例の同一症例の組織検体に対し同様の検査を行った. *EGFR* 遺伝子変異, ALK 免疫染色の結果はセルブロックでの検討と一致していた. PD-L1 免疫染色に関しては 7 例で一致, 2 例で不一致だった.

結論: 細胞診セルブロックを用いたバイオマーカーの測定は, *EGFR*, ALK については有用であった. PD-L1 についてはさらなる検討が必要であるが, 測定方法や判定基準を確立することにより治療の選択に有用になると考えられた.

Key words : Pulmonary adenocarcinoma, Malignant pleural effusion, Cytology cell block, PD-L1, *EGFR*

I. はじめに

近年, さまざまな分子標的治療薬や免疫チェックポイント

阻害薬が開発され, それぞれが有効な治療として確立してきている. それらの治療薬の選択においては種々のバイオマーカーを測定することが必須であり, それらを測定することによって患者を層別化し, 安全で有効な治療を行えるようになってきている. 通常, バイオマーカーの測定には組織診検体が標準的に用いられているが, 患者の状態によっては組織診検体を採取することが困難な事例に時に遭遇することもある.

悪性胸水は肺癌をはじめ種々の悪性腫瘍で出現するが, 比較的侵襲が少なく採取が容易であり, 細胞診検体やセルブロックを作製して診断に有用な情報を得ることができるようになってきている. しかしながらバイオマーカーを測定する検体としてはいまだ完全には確立されていない.

今回, 私達は免疫組織化学染色を併用して原発性肺腺癌由来の悪性胸水と診断された細胞診セルブロック検体を用いて *EGFR* (epidermal growth factor receptor) 遺伝子変

Analyses of epidermal growth factor receptor mutations and anaplastic lymphoma kinase and programmed death ligand 1 expression using cytology cell blocks of malignant pleural effusion derived from lung adenocarcinomas

Naoki YANAGAWA¹⁾, M. D., Izumi WATANABE²⁾, C. T., J. S. C., Hiroki UENO²⁾, C. T., J. S. C., Syuhei GOUKON²⁾, C. T., J. S. C., Yu SUZUKI²⁾, C. T., J. S. C., Miyuki UEMATSU²⁾, C. T., I. A. C., Akimi SAITO¹⁾, M. D., Shin-ya OGATA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Diagnostic Pathology, ²⁾Department of Laboratory Medicine, Yamagata Prefectural Central Hospital

論文別刷請求先 〒 990-2292 山形県山形市青柳 1800 山形県立中央病院病理診断科 柳川直樹

平成 31 年 1 月 28 日受付

平成 31 年 4 月 11 日受理

異, ALK (anaplastic lymphoma kinase) タンパク発現, PD-L1 (programmed death ligand 1) タンパク発現状態を検討した.

II. 対象と方法

1. 対象

2014 年 1 月から 2018 年 1 月までの間に悪性胸水が疑われた 140 例に対し, 胸腔穿刺が施行され胸水が採取された. 細胞診断と同時に細胞診セルブロックが作製された. セルブロックは検体の提出状態に応じて, 以下の 3 つの方法のいずれかを用いて作製された.

1) フィブリン塊の検体を 10% 緩衝ホルマリンで固定 (フィブリンクロット法).

2) 検体を 3000 回転/分, 2 分間遠心分離後にバッフィーコートベンリーゼ (旭化成, 東京, 日本) で包み 10% 緩衝ホルマリンで固定 (遠心分離収集法).

3) 検体を 3000 回転/分, 2 分遠心分離後にバッフィーコートと同量程度の 1% アルギン酸ナトリウム・20% ホルマリン水溶液を入れ混合し 30 分程度固定する. 3000 回転/分, 2 分遠心後に上清を捨て, 1M 塩化カリウム水溶液を入れて固化する (アルギン酸ナトリウム法).

それぞれその後包埋装置にかけ, パラフィンブロックにした. 細胞診断についてはパパニコロウ染色を用いて行われたが, 診断が困難な症例に対してはセルブロックを用いて免疫組織化学染色を行い診断の補助とした.

肺腺癌由来の悪性胸水と診断された 40 例に対し次の 3 つの検査を行った.

2. 方法

1) EGFR 遺伝子変異検査: セルブロック検体から Promega 社 (Wisconsin, USA) の Maxwell® 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification Kit と Maxwell® 16 を用いて DNA を抽出した後, この DNA を鋳型として i-densy 5320 (ARKRAY, Kyoto, Japan) を用いた Quenching Probe (QP) 法で EGFR exon18 から exon21 領域の遺伝子変異解析を行った.

2) ALK 免疫組織化学染色検査: EGFR 遺伝子変異検査を行い陰性であった 27 例を, 外部検査会社 (株式会社 SRL, 東京, 日本) に提出し ALK 免疫組織化学染色検査を依頼した. その後抗体を入手し, VENTANA 社 (Arizona, USA) の OptiView ALK (D5F3) キットを用いて, VENTANA BenchMark XT にて 40 例の再検査を行った.

3) PD-L1 免疫組織化学染色検査: VENTANA 社の PD-L1 (SP263) 抗体と Optiview DAB ユニバーサルキットを使用し, VENTANA BenchMark XT にて免疫組織化学染

Table 1 The proportion of EGFR mutation, ALK and PD-L1 protein expression

EGFR mutation	N = 40 (%)
Mutated	13 (32.5%)
No mutated	27 (67.5%)

ALK immunohistochemistry	N = 40 (%)
Positive	1 (2.5%)
Negative	39 (97.5%)

PD-L1 immunohistochemistry	N = 40 (%)
High expression	8 (20%)
Low expression	14 (35%)
No expression	18 (45%)

EGFR, epidermal growth factor receptor ;
ALK, anaplastic lymphoma kinase ; PD-L1,
programmed death ligand 1

色を行った. 判定基準は細胞膜または細胞質が染色された腫瘍細胞を PD-L1 陽性として, さらに体外診断薬である DAKO 社 (California, USA) の PD-L1 IHC 22C3 pharmDx 「DAKO」のスコアリングガイドラインを参考に最低 100 個以上の適切な腫瘍細胞を計測し, Tumor Proportion Score (PD-L1 発現腫瘍細胞/腫瘍細胞の総数, 以下 TPS) を算出し 3 段階 (無発現, TPS < 1%; 低発現, TPS 1-49%; 高発現, TPS ≥ 50%) に評価した.

III. 結 果

40 例中, EGFR 遺伝子変異は 13 例 (32.5%) に認められた (Table 1). ALK 免疫組織化学染色は 1 例 (2.5%) が陽性であった (院外, 院内両方で陽性) (Photo. 1). PD-L1 免疫組織化学染色は高発現が 8 例 (20%), 低発現が 14 例 (35%), 無発現が 18 例 (45%) であった (Table 1) (Photo. 2).

続いて組織検体との比較検討を行った. 40 例中 9 例で組織検体を得られた. うち 5 例はセルブロック作製時とほぼ同時期に検体が採取されていた. 残りの 4 例は悪性胸水での再発症例であり, セルブロック作製前の検体であった. 9 例に対し同様の検査を行った. EGFR 遺伝子変異, ALK 免疫染色の結果はセルブロックでの検討と一致していた. PD-L1 免疫染色に関しては 7 例で一致, 2 例で不一致だった. 一致例 7 例の内訳は, (セルブロック/組織) で (無発現/無発現) が 2 例, (低発現/低発現) が 4 例, (高発現/高発現) が 1 例であった. 不一致例 2 例の内訳は (低発現/高発現) であり両者ともに再発例であった. 作製方法はフィ

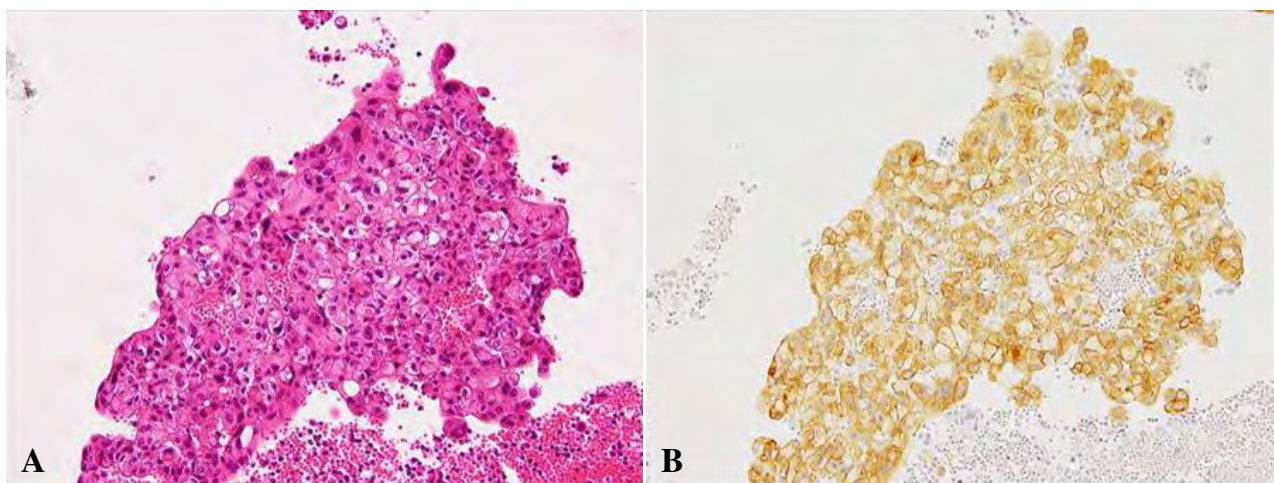


Photo. 1 Hematoxylin Eosin (A) staining and ALK (B) immunohistochemical staining of lung adenocarcinoma cells using a cell block cytologic specimen ($\times 20$, objective).

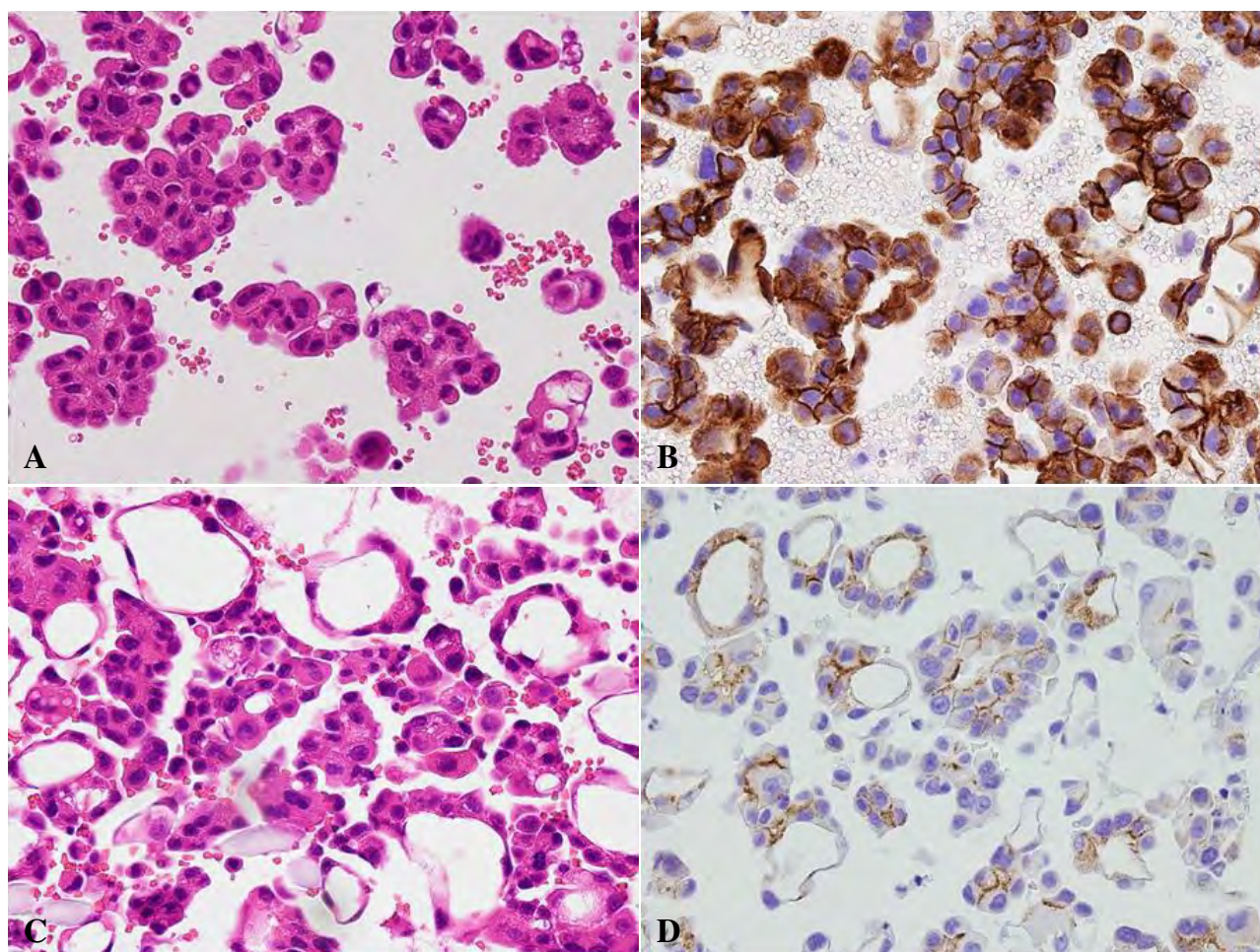


Photo. 2 Hematoxylin Eosin staining (A, C) and PD-L1 immunohistochemical staining (B, D) of lung adenocarcinoma cells using a cell block cytologic specimen. A and B are from the same case with high PD-L1 expression ($\times 20$, objective). C and D are from the same case with low PD-L1 expression ($\times 20$, objective).

Table 2 The relationship between cell block construction methods and the status of PD-L1 immunohistochemistry and *EGFR* mutation

	PD-L1 immunohistochemistry		
	High (8)	Low (14)	None (18)
1) Fibrin clot (15)	4 (26.7%)	5 (33.3%)	6 (40%)
2) Centrifugation (13)	3 (23.1%)	4 (30.8%)	6 (46.1%)
3) Sodium alginate (12)	1 (8.3%)	5 (41.7%)	6 (50%)

	<i>EGFR</i> mutation	
	Mutated (13)	No mutated (27)
1) Fibrin clot (15)	5 (33.3%)	10 (66.7%)
2) Centrifugation (13)	4 (30.8%)	9 (69.2%)
3) Sodium alginate (12)	4 (33.3%)	8 (66.7%)

PD-L1, programmed death ligand 1; *EGFR*, epidermal growth factor receptor

ブリックロット法が 1 例, アルギン酸ナトリウム法が 1 例であった。

続いてセルブロック作製法別に検討した。40 例中, 15 例が①フィブリックロット法, 13 例が②遠心分離収集法, 12 例が③アルギン酸ナトリウム法で作製されていた。作製法と PD-L1 免疫染色との関係ではアルギン酸ナトリウム法で PD-L1 の高発現の割合が低かった (8.3%) が, 統計学的に作製方法間で有意差は認められなかった ($p=0.817$) (Table 2)。 *EGFR* 遺伝子検査についても作製方法間で有意差は認められなかった ($p=0.998$) (Table 2)。

IV. 考 察

進行・再発非扁平非小細胞肺癌においては, *EGFR* 遺伝子変異検査, *ALK* 融合遺伝子検査, *ROS1* 融合遺伝子検査, *BRAF* 遺伝子変異検査, PD-L1 免疫組織化学染色検査を行うよう推奨されている¹⁾。それらのバイオマーカーの測定には組織診検体が標準的に用いられているが, 患者の状態によっては組織診検体を採取することが困難で細胞診検体のみしか採取できない症例に時に遭遇することもある。その際に細胞診セルブロックを用いてバイオマーカーを検索できれば, 患者に非常に有用になると考えられる。

今回の検討で *EGFR* 遺伝子変異は 13 例 (32.5%), *ALK* 免疫染色陽性は 1 例 (2.5%) 認められた。加えて組織検体との比較検討では全例一致していた。日本人の肺腺癌における *EGFR* 遺伝子変異の頻度は 21%~68% と報告されており²⁾, 今回の検討頻度は範囲内であった。 *ALK* 遺伝子の異常は 2~5% と報告されており^{3~5)}, 今回の検討頻度は範

囲内であった。日本肺癌学会が提示している肺癌患者における *EGFR* 遺伝子変異検査の手引きではセルブロック検体についての説明がされており⁶⁾, また肺癌患者における *ALK* 融合遺伝子検査の手引きではセルブロックの作製が推奨されており⁷⁾, 今回の検討も踏まえてセルブロックは実臨床で十分有効であると思われる。実際に *EGFR* 遺伝子の変異や *ALK* 免疫染色陽性の症例に対してはそれぞれの分子標的治療薬が投与された。

PD-L1 タンパクの発現については高発現が 8 例 (20%), 低発現が 14 例 (35%), 無発現が 18 例 (45%) であった。現在のところ, 細胞診検体を用いた PD-L1 タンパク発現状態はコンパニオン診断における評価法としては公式には認められていないが, 検討したいいくつかの報告はある。Skov らは肺癌細胞診セルブロックと組織診検体の同一ペアを検討し, PD-L1 発現の高い一致率をみたし報告している⁸⁾。

本邦では学会報告であるが, 吉田らが肺腺癌細胞診セルブロックと手術検体のペアを検討し, 56% で発現が一致したと述べている⁹⁾。悪性胸水を用いた検討では Tseng らは 102 例の肺癌由来の悪性胸水を用いたセルブロックで検討を行い 18 例 (17.6%) で PD-L1 の発現がみられたと報告している¹⁰⁾。Wang らは 79 例の非小細胞肺癌由来の悪性胸水セルブロックの検討を行い 54 例 (69%) で PD-L1 の発現をみたし述べている¹¹⁾。

本邦では学会報告であるが, 鈴木らが胸水セルブロックと組織診材料との比較を行い, 検討症例 10 例中セルブロック 5 例で発現がみられ, また陰性/陽性に関する染色態度で 8 例が一致した, と報告している¹²⁾。Torous らは非小細胞肺癌のセルブロック 94 例を検討し, 高発現 33 例 (35.1%), 低発現 20 例 (21.3%), 無発現 35 例 (37.2%), 不適 6 例 (6.4%) と, 組織診検体での発現と比較しても遜色なかったと報告している¹³⁾。本検討においては 7 例で一致, 2 例で不一致だった。不一致の理由については, 同一症例における組織検体とセルブロックの PD-L1 の発現の高低についてまで詳細に検討した報告は少なく, 吉田らは手術検体とセルブロックとの検討で手術検体を基準とすると, 低発現から無発現へ変化したのが 2 例, 無発現から低発現へ変化したのが 2 例あったと報告しており⁹⁾, 鈴木らはセルブロック検体では発現の割合が高くなる傾向を認めたと報告していたのみであった¹²⁾。

私達の検討では組織検体と比べてセルブロックの方が低発現であり, 前二者の発表を含めて発現の高低について一定の傾向はなかったが, 私達の 2 例は再発症例であり腫瘍の形質が変化した可能性も考えられた。ただし少なくとも低発現をきたしており, 最近 PD-L1 阻害薬の一次適応において TPS の基準が変更 ($\geq 50\%$, 高発現から $\geq 1\%$, 低発

現へ) されたことを踏まえると、バイオマーカーとしての評価に影響は少ないと思われた。

以上の報告からPD-L1タンパクの発現検索にセルブロックは使用可能と思われる。しかしながら大きな問題がみられる。それは今回の報告を含め、発現頻度に非常に大きな偏りがみられることである。この原因として、①セルブロック作製は多数の方法があり統一されていないことが考えられた。本検討においても3つの方法が使われていたので方法別にわけて検討したところ、有意差は認めなかったがPD-L1の染色態度に差が認められた。この差の理由については現時点では明らかでない。今後の検討課題と思われた。

②さらには複数の抗体が存在しており、それぞれで発現状態の評価・解釈が異なる。これについては主要な抗体を用いて同一症例に対し免疫組織化学染色を行い、各抗体間における発現率について調べた多くの報告がある。Hirschらの報告によれば、私達が用いたSP263は現在唯一の体外診断薬であるDAKO社の22C3と発現状態において強い相関が認められた、とされているが他の抗体では相関が明らかでないものもあった、と述べられていた¹⁴⁾。

③加えて組織球や免疫細胞、反応性中皮細胞においてもPD-L1は発現することが知られており、腫瘍細胞との鑑別が難しいことがある。本検討においても免疫染色を併用し腫瘍細胞と他の細胞を鑑別したが難しい症例もあった。その理由として全く同一の切片を異なる染色でみることは困難であり、どうしても同定にいたらない細胞もみられた。さらに免疫染色は標本の状態や保存方法により染色態度に違いがでることもあり、そのため同定できない細胞もみられた。これらの問題の解決には今後多数の症例での解析、免疫染色の精度管理が必要と思われた。

V. 結 語

肺腺癌由来の悪性胸水セルブロックを用いて、EGFR遺伝子変異、ALKタンパク発現、PD-L1タンパク発現の検討を行った。患者の状態によっては組織診検体を採取することが困難で細胞診のみが検査の検体となることもある。細胞診セルブロックを用いたバイオマーカーの測定は、EGFR、ALKについては実臨床に有用だと考えられた。PD-L1についてはさらなる検討が必要であるが、PD-1およびPD-L1阻害薬は有効な治療法でありまた適応範囲も拡大してきている。測定方法や判定基準を確立することにより治療の選択に有用になると考えられた。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

Objective : We examined the status of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations and expression of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and programmed death ligand 1 (PD-L1) using cytology cell blocks of malignant pleural effusion derived from pulmonary adenocarcinomas.

Study Design : Pleural effusion from 140 patients with suspected malignant effusion was harvested. Cytological diagnosis was performed, and cytology cell blocks were constructed at the same time. Using cytology cell blocks, EGFR mutation analysis and immunohistochemistry analysis of ALK and PD-L1 were conducted.

Results : Pleural effusion was obtained from 40 patients diagnosed as having malignant effusion derived from pulmonary adenocarcinoma. EGFR mutations were detected in 13 of 40 (32.5%) and expression of ALK was found in 1 of 40 (2.5%). Regarding expression of PD-L1, 8 of 40 (20%) showed high expression, 14 (35%) showed low expression, and 18 (45%) showed no expression. The same examinations were performed for nine tissue specimens that corresponded to cytology cell blocks. The results of the EGFR mutations and expression of ALK were concordant between cell blocks and tissue specimens. As to expression of PD-L1, seven cases were concordant, but two cases were discordant.

Conclusion : The analyses of EGFR mutations and ALK expression using cytology cell blocks were useful. Further investigation about PD-L1 expression is currently necessary; however, if an examination method and accurate scoring system are established, it will become useful in the selection of therapeutic strategies.

文 献

- 1) 日本肺癌学会, 編. 肺癌診療ガイドライン 2018 年版. 東京: 金原出版; 2018. 49-50.
- 2) Midha, A., Dearden, S., McCormack, R. EGFR mutation incidence in non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology: a systematic review and global map by ethnicity (mutMapII). Am J Cancer Res 2015; 5: 2892-2911.
- 3) Fukui, T., Yatabe, Y., Kobayashi, Y., Tomizawa, K., Ito, S., Hataoka, S., et al. Clinicoradiologic characteristics of patients with lung adenocarcinoma harboring EML4-ALK fusion oncogene. Lung Cancer 2012; 77: 319-325.
- 4) Wong, D.W., Leung, E.L., So, K.K., Tam, I.Y., Sihoe, A.D., Cheng, L.C., et al. The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS. Cancer 2009; 115: 1723-1733.
- 5) Takahashi, T., Sonobe, M., Kobayashi, M., Yoshizawa, A., Menju, T., Nakayama, E., et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer with EML4-ALK fusion gene. Ann Surg Oncol 2010; 17: 889-897.
- 6) 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. 肺癌患者における

- EGFR 遺伝子変異検査の手引き 第 4 版. <https://www.haigan.gr.jp/uploads/files/4.0%E7%89%88%E3%80%80EGFR20181126.pdf> (最終アクセス日: 2018 年 12 月 1 日)
- 7) 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. 肺癌患者における ALK 融合遺伝子検査の手引き 第 2.1 版. <https://www.haigan.gr.jp/uploads/files/photos/1039.pdf> (最終アクセス日: 2018 年 12 月 1 日)
- 8) Skov, B. G., Skov, T. Paired comparison of PD-L1 expression on cytologic and histologic specimens from malignancies in the lung assessed with PD-L1 IHC 28-8pharmDx and PD-L1 IHC 22C3pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017 ; 25 : 453-459.
- 9) 吉田和広, 澁木康雄, 時田和也, 杉山迪子, 橋本大輝, 元井紀子. 肺癌細胞診における PD-L1 IHC 検査の妥当性に関する検討. *日臨細胞会誌* 2018 ; 57 (Suppl. 1) : 277.
- 10) Tseng, Y. H., Ho, H. L., Lai, C. R., Luo, Y. H., Tseng, Y. C., Whang-Peng, J., et al. PD-L1 Expression of tumor cells, macrophages, and immune cells in non-small cell lung cancer patients with malignant pleural effusion. *J Thorac Oncol* 2018 ; 13 : 447-453.
- 11) Wang, H., Agulnik, J., Kasymjanova, G., Wang, A., Jimenez, P., Cohen, V., et al. Cytology cell blocks are suitable for immunohistochemical testing for PD-L1 in lung cancer. *Ann Oncol* 2018 ; 29 : 1417-1422.
- 12) 鈴木 学, 小野寺清隆, 三枝文恵, 中 千裕, 四宮義貴, 白井恵美・ほか. PD-L1 の免疫組織化学におけるセルブロックの有用性の検討. *日臨細胞会誌* 2017 ; 56 (Suppl. 2) : 835.
- 13) Torous, V. F., Rangachari, D., Gallant, B. P., Shea, M., Costa, D. B., VanderLaan, P. A. PD-L1 testing using the clone 22C3 pharmDx kit for selection of patients with non-small cell lung cancer to receive immune checkpoint inhibitor therapy : are cytology cell blocks a viable option? *J Am Soc Cytopathol* 2018 ; 7 : 133-141.
- 14) Hirsch, F. R., McElhinny, A., Stanforth, D., Ranger-Moore, J., Jansson, M., Kulangara, K., et al. PD-L1 Immunohistochemistry assays for lung cancer : results from phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol* 2017 ; 12 : 208-222.

症 例

自然尿中に腫瘍細胞を認めた肺原発腺癌膀胱転移の1例

河村 憲一¹⁾ 江原 輝彦¹⁾ 松井 宏江¹⁾ 鶴岡 慎悟¹⁾
 清水 健¹⁾ 是松 元子²⁾ 緒方 衝³⁾

独立行政法人地域医療機能推進機構埼玉メディカルセンター病理診断科¹⁾, LSI メディエンス²⁾,
 防衛医科大学校臨床検査医学³⁾

背景：転移性膀胱腫瘍は全膀胱腫瘍の0.5~2%を占める。一方腺癌は膀胱腫瘍の2%以下で、半分は転移性が占める。今回化学療法中に、自然尿中に腫瘍細胞を認めた肺原発腺癌膀胱転移を経験した。

症例：60歳代、男性。肺腺癌、cT2N3M0 Stage III Bの診断で化学療法が施行された。病変は次第に増大し、治療効果は「安定」から「進行」へと移行した。2年9ヵ月後、肉眼的血尿が出現した。尿細胞診では、偏在する明い核を有する大型細胞が不規則重積を示す集塊状に出現し、腺癌が考えられた。膀胱鏡で頂部左壁に5 mm大の隆起性病変を認めた。生検標本では粘膜固有層主体に細索状、小胞巣状に浸潤し粘膜表面にも露出する癌がみられ、免疫組織化学染色でCK7陽性、CK20陰性、TTF-1陽性、Napsin A陽性であることから肺癌の転移と診断された。

結論：尿細胞診で腺癌を認めた場合には、転移の可能性も念頭におき既往歴の検索や臨床医との情報交換が重要と思われる。

Key words : Urinary cytology, Urinary bladder, Metastatic carcinoma

I. はじめに

転移性膀胱腫瘍は、膀胱腫瘍の0.5~2%を占めるとされている^{1,2)}。また、腺癌は膀胱腫瘍の2%以下で、その内訳では転移性腫瘍が半数以上を占める³⁾。今回われわれは肺

腺癌の膀胱転移が尿中に出現したまれな症例を経験した。細胞・組織像と文献的考察を述べる。

II. 症 例

患 者：60歳代、男性。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：前立腺肥大症。

現病歴：2008年6月に咳嗽、喀痰を主訴に当院内科を受診、胸部単純X線写真で左中肺野に異常陰影が認められた(Photo. 1)。気管支鏡では左舌区入口部に隆起性病変を認め、同部位からの気管支ブラシ擦過細胞診により肺腺癌と診断された。cT2N3M0 Stage III Bのため化学療法が開始された。2009年4月、頻尿を主訴に当院泌尿器科を受診するが顕微鏡的血尿はなく、超音波検査でも膀胱に腫瘍は認められなかった。

化学療法は2010年9月まで複数回行われたが、肺病変や縦隔リンパ節の腫大を認め、奏効率はstable diseaseからprogressive diseaseへと移行した。2010年8月腹部CTで

A case of metastatic adenocarcinoma in the urinary bladder from primary lung cancer—The urinary cytology and histological findings—

Ken-ichi KAWAMURA¹⁾, C. T., I. A. C., Teruhiko EHARA¹⁾, C. T., I. A. C., Hiroe MATSUI¹⁾, C. T., I. A. C., Shingo TSURUOKA¹⁾, C. T., I. A. C., Ken SHIMIZU¹⁾, M. D., F. I. A. C., Motoko KOREMATSU²⁾, C. T., I. A. C., Sho OGATA³⁾, M. D.

¹⁾Department of Diagnostic Pathology, Saitama Medical Center, JCHO

²⁾LSI Medience Corporation

³⁾Department of Clinical Laboratory Medicine, National Defense Medical College

論文別刷請求先 〒330-0074 さいたま市浦和区北浦和4の9の3
 独立行政法人地域医療機能推進機構埼玉メディカルセンター病理診断科 河村憲一

平成30年12月17日受付

平成31年4月21日受理



Photo. 1 X ray film of the chest reveals an abnormal shadow in the left middle lung field.

肝左葉に造影後期低吸収の単発性腫瘤が出現し転移が疑われた。同日に行われた全身骨シンチで右仙骨に集積があり骨転移が疑われた。2011 年 1 月に上皮増殖因子受容体異常の有無を調べるため行われた気管支鏡下生検で、腺癌が確認された。同年 3 月に、肉眼的血尿が出現したため尿細胞診が施行され、腺癌と診断された。

CT, 超音波検査では腎臓, 膀胱内腔に腫瘍性病変は認められなかった。膀胱壁肥厚や水腎症も認められなかった。膀胱鏡で頂部左壁に 5 mm 大の亜有茎性結節型腫瘍を認め (Photo. 2), 経尿道的膀胱腫瘍切除術検体で, 肺からの転移性腺癌と診断された。その後の経過では 3 ヶ月後に MRI で右頭頂葉に 5 mm 大の転移を認めている。尿細胞診で腺癌と診断後 1 年 8 ヶ月経過した 2012 年 11 月死亡した。剖検は行われていない。

III. 細胞学的所見

自然尿標本では, 血性背景中にリンパ球に混在して不規則重積性を示す結合性の緩い細胞集塊が出現していた (Photo. 3a, b)。個々の細胞では, 細胞質はライトグリーンに軽度濃染するが, 通常の尿路上皮癌のような緻密さはなく, 細胞質辺縁は比較的明瞭であった (Photo. 3b)。核は偏在し腫大を示し, くびれや切れ込みなどの形状不整が目立った (Photo. 3c)。核クロマチンには密な増量がみられた。

膀胱洗浄標本では著明な血性背景中に, リンパ球に混在して好中球の 4~5 倍程度の大型核を示す異型細胞が集塊や孤立散在性に多数みられた。個々の細胞では, 細胞質は

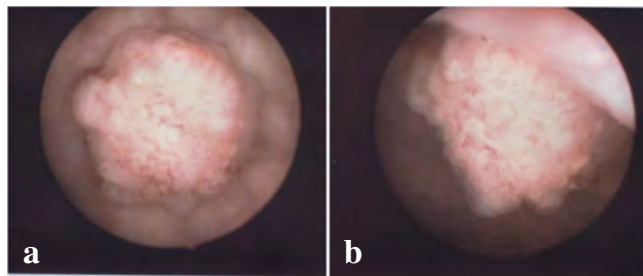


Photo. 2 Cystoscopy reveals a pedunculated nodular tumor in the left apex of the urinary bladder (a, b).

良性尿路上皮に比較して, ライトグリーンに軽度濃染するものが多く, 一部で不均質であった。N/C 比が高く, 核は偏在していた。核の腫大や核形不整もみられた。クロマチンは淡染するものが多く, 1~数個の核小体がみられた。また, 腺腔様配列を示す大型集塊がみられた (Photo. 3d, e)。以上より腺への分化を示す尿路上皮癌が否定できなかったが, 細胞が大型で核が明るく核偏在性, 核形不整が目立つ所見に加えて, 集塊に明らかな不規則重積を認めたことから腺癌を考えた。

IV. 組織学的所見

気管支鏡下生検では, 線維化, 瘢痕組織を覆うようにあるいはシート状に配列し増生する癌がみられた。Crush artifact を伴っているため, 腺腔形成や乳頭状構造は評価困難であった。細胞間橋, 角化は明かでなかった。個々の細胞は, 立方状~多稜形で弱好酸性の細胞質と, 核小体が目立ち類円形に腫大する核を有していた。細胞質は重厚感を欠き, 一部ではレース状を呈していた。免疫組織化学染色では, CK7 陽性, CK20 陰性, TTF-1 陽性, Napsin A 陽性であり, 低分化腺癌と診断された。

経尿道的膀胱腫瘍切除検体では, 低いドーム状隆起がうかがわれる病変が採取されていた (Photo. 4a)。粘膜固有層を主体として浸潤し, 比較的広い範囲で表面に露出する癌がみられた。細索状, 小胞巣状あるいは吻合状を呈し増生していた (Photo. 4b)。細胞間に空隙を認めたが, crush artifact が加わっており腺腔とは断定できなかった。細胞間橋, 角化はみられなかった。個々の細胞では, 弱好酸性でやや厚い細胞質と, 偏在する核がみられた。小型の核小体出現していた (Photo. 4c)。高異型度尿路上皮癌の部分像としても矛盾しないように思われたが, 依頼書の情報から肺癌の既往歴が得られたので免疫組織化学染色を行った。CK7 (Photo. 5a), TTF-1 (Photo. 5b), Napsin A が陽性, CK20, GATA3 が陰性であり, 肺癌の転移が示唆された。

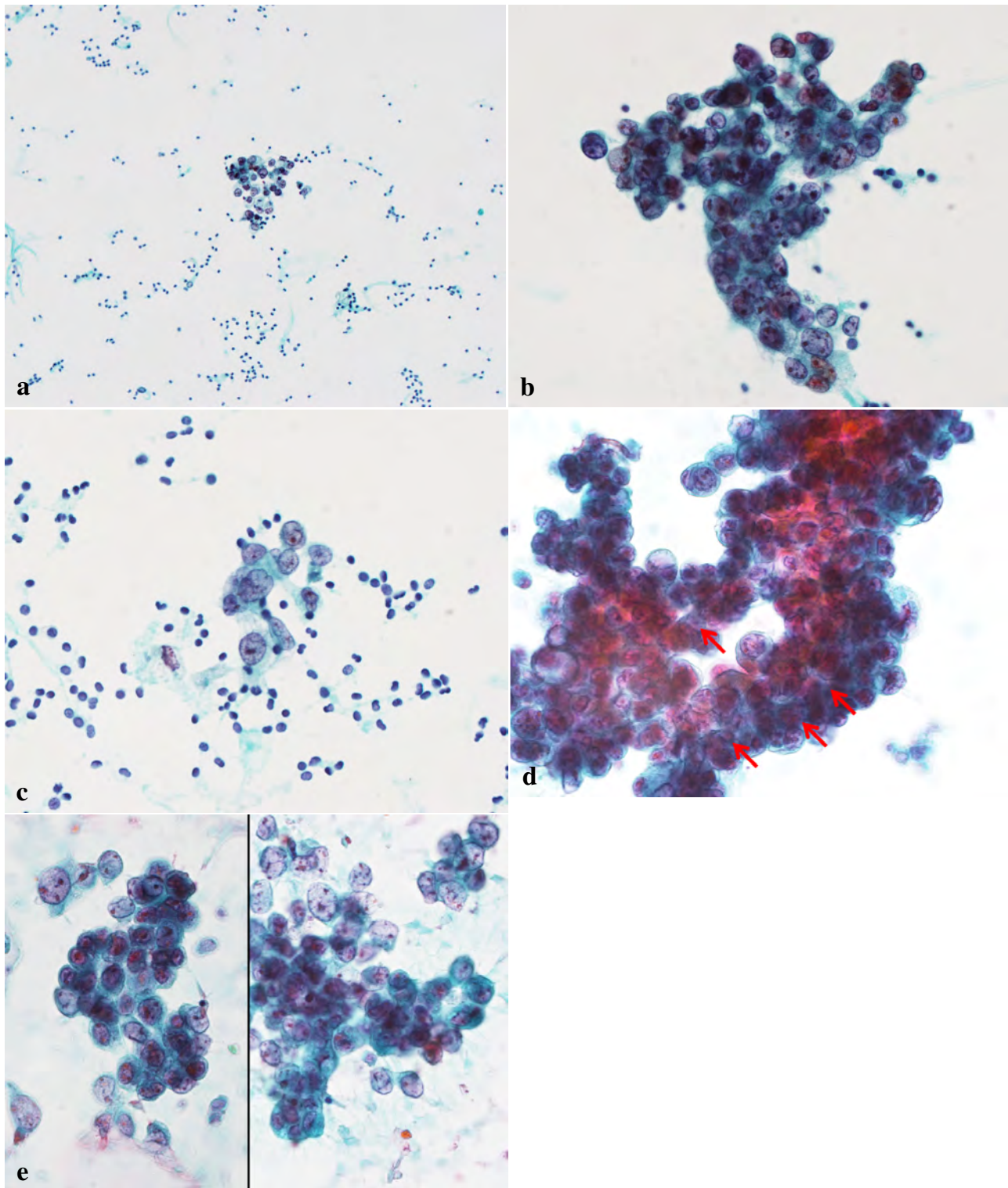


Photo. 3 Cytological findings of voided urine (a, b, c) and washing cytology of the urinary bladder (d, e). a : Carcinoma cell cluster on a hemorrhagic background with lymphocytes (Pap. staining, $\times 20$). b : Carcinoma cell cluster showing loose cohesiveness, irregular overlapping and enlarged nuclei (Pap. staining, $\times 60$). c : The cytoplasm is weakly stained with light green. Nuclear abnormalities are evident, such as nuclear enlargement, eccentric location and irregular contour (Pap. staining, $\times 60$). d : Urinary bladder washing cytology reveals a large cluster with irregular overlapping reminiscent of glandular arrangement (arrows) (Pap. staining, $\times 60$). e : Urinary bladder washing cytology reveals a radial arrangement (left) and a glandular arrangement (right) (Pap. staining, $\times 60$).

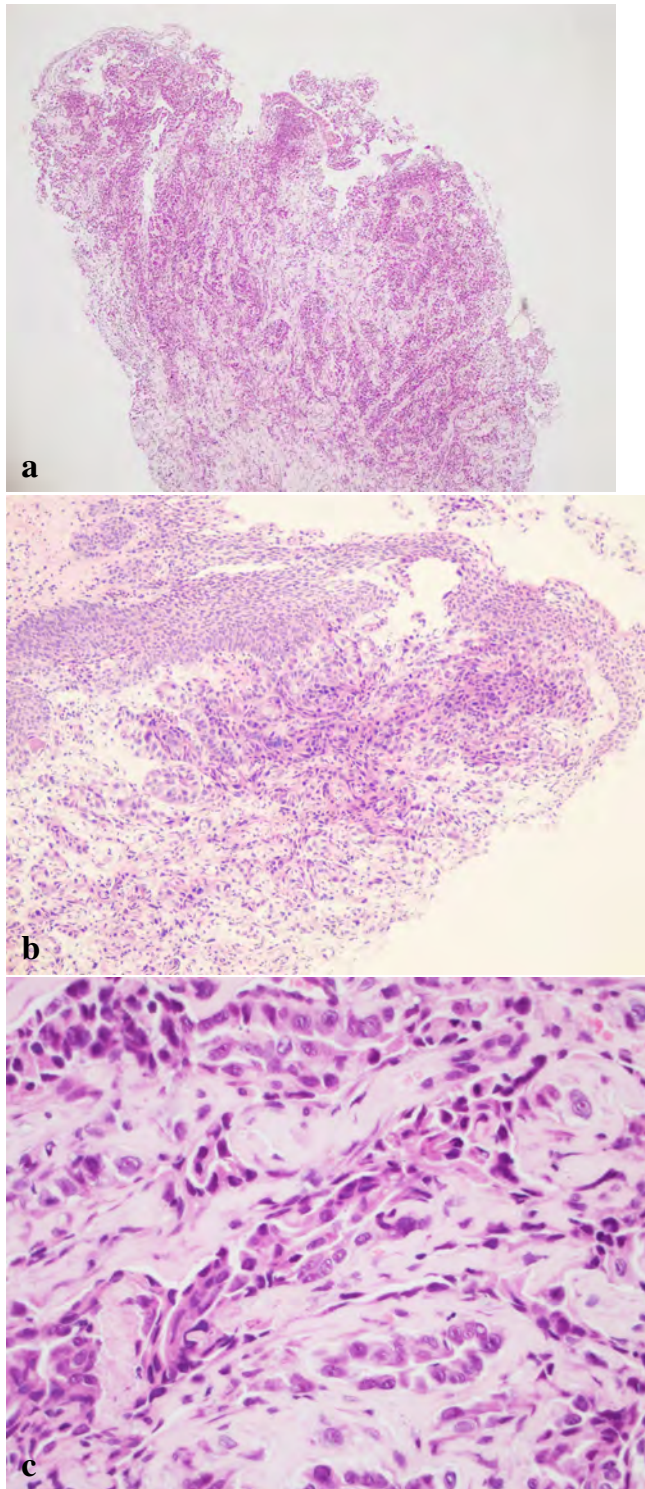


Photo. 4 Histological findings of the urinary bladder biopsy. a : A dome-shaped elevated tumor is seen with the lumen exposed (HE staining, $\times 4$). b : The lesion is composed of thin trabecular, small alveolar or anastomosing arrangements (HE staining, $\times 10$). c : Carcinoma cells possess weakly eosinophilic and thick cytoplasm, and eccentrically located nuclei with prominent nucleoli (HE staining, $\times 40$).

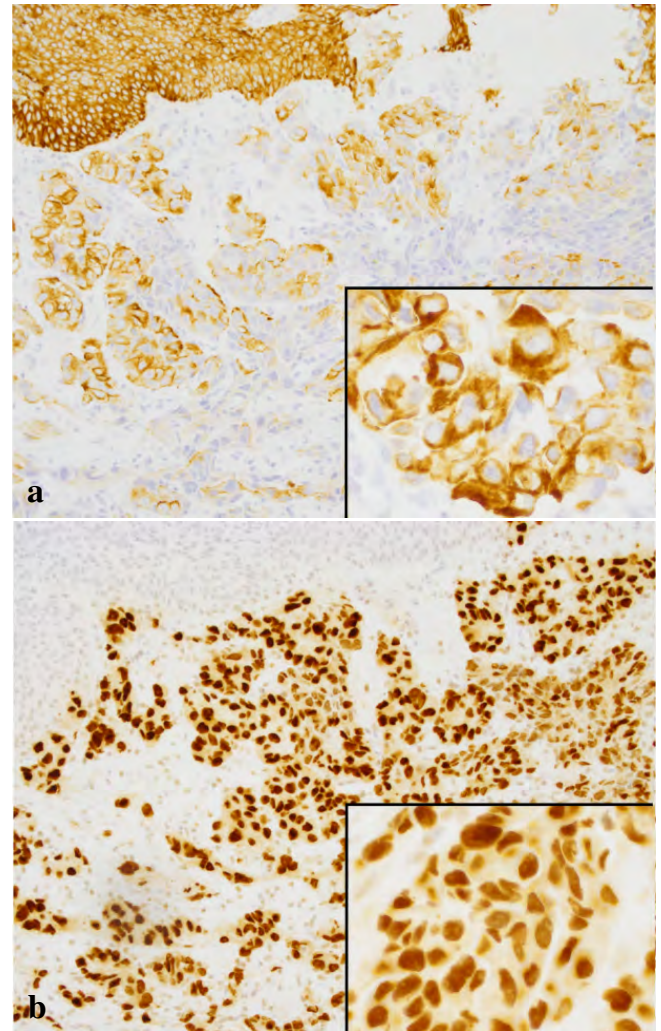


Photo. 5 Immunohistological findings of the urinary bladder biopsy. a : Carcinoma cells are positive for CK7 ($\times 20$, Inset, $\times 60$). A non-neoplastic urothelium is also positive. b : Carcinoma cells are positive for TTF-1 ($\times 20$, Inset, $\times 60$).

V. 考 察

他臓器からの膀胱への転移の頻度については、いくつかの集計された報告がある。WHO 発刊の Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs には、外科的に切除された膀胱癌の 2% に転移がみられる¹⁾と記載されている。剖検例についての検索では、担癌患者の剖検例の約 0.5% に膀胱転移を認めたとされている²⁾。Klinger は、5000 例の剖検例の 33 例に膀胱転移を認めたと報告している。その基礎疾患あるいは原発巣の内訳は、9 例が血液・網内系悪性腫瘍、24 例が固型癌であった⁴⁾。Ganem らは、自験例と 24 文献のまとめから膀胱転移 80 例

の一覧表を作成している⁵⁾。いずれにしても、膀胱への転移はまれである。

膀胱への転移経路として、①直接浸潤、②剥離した細胞の reimplantation、③白血病や悪性リンパ腫の進展、④リンパ行性あるいは血行性による遠隔転移、という4つの経路が記されている⁵⁾。①は隣接臓器からの進展で転移の70%を占めるとされ¹⁾、結腸、前立腺、直腸、子宮頸部の順に多いと記載されている³⁾。②は腎盂、尿管に発生した尿路上皮癌が膀胱粘膜で成長するものを意味する。③、④はいずれも基礎疾患の進行によるものである。本例が該当するのは④であり、原発臓器あるいは疾患としては、胃癌、皮膚の悪性黒色腫、乳癌、肺癌の順と報告されており⁵⁾、乳癌と肺癌の順序が逆という報告もある³⁾。

原発臓器を肺癌に絞って膀胱転移について検索すると、Luomanen らによる末期肺癌の剖検例 676 例の検討では、8 例の膀胱転移が報告されている⁶⁾。組織型の内訳は、腺癌が3例、扁平上皮癌2例、小細胞癌3例である。逆に組織型にかかわらず最も転移が多かった臓器は副腎で、296 例に認めている。以下、肝 289 例、骨 234 例、脳 130 例と続き、膀胱は精巣、気管と同じ 20 位とかなり下位であった。

本邦での肺癌の膀胱転移について検索したところ、症例報告として論文が1編、本例の主治医からの報告を除き学会発表が2件検索できた。論文は本学会雑誌に掲載されたもので、組織型は小細胞癌である⁷⁾。剖検により、他臓器転移が確認されている。学会発表では、1例が小細胞癌、1例が腺癌であった^{8,9)}。いずれも抄録のため詳細は不明だが、小細胞癌例は原病により死亡し、腺癌症例は Stage IV と進行癌であった。本例では膀胱以外は画像診断によるが、多臓器転移をきたし亡くなっている。いずれの症例でも膀胱転移という状態は、末期肺癌の全身転移の部分像ととらえることができる。

膀胱における転移巣の形態については、文献的に focal protuberant lesion を形成する場合と、diffuse involvement を示す場合に分けられる。focal protuberant lesion は肉眼的血尿で発症する。本邦では大部分の転移は protuberant type で diffuse involvement はきわめてまれという報告がある¹⁰⁾。上述の症例報告、学会発表例および本例は画像あるいは膀胱鏡で病変が確認でき病理学的検索が可能であったので、いずれも protuberant type と考えられる。

これに対し、欧米の文献では膀胱壁に diffuse involvement を示すことが多いと記載されている。転移では尿路上皮は通常 intact で、actual ulceration は起きにくく⁵⁾、血尿はまれ¹¹⁾とされている。また症状が乏しいため診断がつきにくく、発見時には水腎症などを伴っていることが多い³⁾。本邦と欧米での転移形式の差の原因は不明である。

本例では、尿細胞診検体提出時に肺癌の既往についての臨床情報は提示されなかった。尿細胞診では、印環細胞、淡明細胞、粘液細胞あるいは空胞を有する細胞はみられず集塊を形成する結合性を呈した点から、膀胱原発とすれば腺癌 NOS に相当すると推察された。一部では尿路上皮癌類似の所見を呈する細胞も混在することから、腺への分化を伴う高異型度の尿路上皮癌の可能性も完全には否定できなかった。しかし本例では壊死性背景が目立たない点が、通常の高異型度尿路上皮癌とは異なると思われた。

一方、経尿道的膀胱腫瘍切除検体では、病理依頼書に肺癌の既往歴が記載されていたため、鑑別診断のための免疫染色をすみやかに行うことができた。その情報がなかった場合、組織学的に最初から他臓器からの転移を念頭において検索することは、おそらくできなかったと思われる。改めて標本を見直しても、HE 染色の増殖様式や個々の細胞所見のみで高異型度尿路上皮癌を最初から否定することは困難と思われた。組織診と比べて細胞診では細胞質の厚さ、性状など個々の細胞の観察や判別に優れているため、本例でも尿細胞診標本の方が腺癌を推定しやすい状況にあったと思われた。

Epstein らは、遠隔臓器からの膀胱転移を疑わせる病理組織学的所見として、尿路上皮細胞に異常がない、脈管侵襲が高度である、固有筋層のみに存在する、膀胱ではまれな組織型であるなどの事項をあげている¹²⁾。逆に、signet-ring cell, plasmacytoid, clear cell, enteric type などの他臓器でも頻度高く認められる組織像の場合には、しばしば鑑別は容易ではないと記載している。

腺癌に焦点を絞ると、「腎盂・尿管・膀胱癌取扱い規約第1版」では、膀胱原発の腺癌として腺癌 NOS、腸型、粘液型、印環細胞型、明細胞型の5つの型が挙げられている¹³⁾。これらの型は、Epstein らの記載のように消化管、女性生殖器などでも頻度の高いものであり¹²⁾、組織パターン、細胞像のみからは原発か転移かの鑑別が困難な場合が多いと思われる。

HE 染色標本、パパニコロウ染色標本だけでは鑑別診断が困難な症例の場合について Petersen らは、①臨床経過として先行する進行癌の有無について情報を得ること、②転移の可能性について慎重に検討すること、③免疫組織化学染色パネルを十分に活用することが重要と思われるとしている¹¹⁾。

免疫組織化学染色パネルにより腺癌の鑑別診断が可能となる例として^{12,14)}、一部の例外を除き膀胱原発腺癌では CK7 陽性、CK20 陽性、CDX-2 時に陽性、 β catenin 核に陰性、PSA 陰性、NKX3.1 陰性であるが、肺腺癌では CK7 陽性、CK20 陰性、TTF-1 陽性、Napsin A 陽性である。しか

しながら, 前述の Epstein らがときに鑑別不能と指摘した腸型腺癌では¹²⁾, 肺原発と大腸原発が同様の染色結果を呈し鑑別が困難な場合があると記載されている¹⁵⁾. このような場合は, 画像所見, 膀胱鏡所見, 病理組織所見などから総合的に判定することが必要と思われる.

VI. 結 語

尿細胞診で腺癌症例に遭遇したら, 初回から近接臓器からの浸潤や遠隔臓器からの転移の可能性も念頭において, 臨床医に組織学的検査や全身的な画像検査を推奨していくことも重要と思われる.

筆者らは, 開示すべき利益相反状態はありません.

本論文の要旨は第 53 回日本臨床細胞学会総会にて発表した.

Abstract

Background : Metastatic urinary bladder carcinoma from lung cancer is extremely rare.

Case : A man in his sixties was treated with chemotherapeutic agents for advanced lung cancer (a poorly differentiated adenocarcinoma, cT2N3M0, Stage III B). The response rate was stable or progressive. After 2 years and 9 months, macroscopic hematuria appeared and he was diagnosed as having adenocarcinoma rather than urothelial carcinoma following urinary cytology. A 5 mm elevated tumor was observed on cystoscopy. Pathological examinations revealed metastatic adenocarcinoma from lung cancer with a positive immunohistochemical reaction for CK7, TTF-1, Napsin A and a negative reaction for CK20 and GATA3.

Conclusion : When adenocarcinoma is diagnosed in a urinary cytology specimen, metastasis from other organs should be included in the differential diagnosis.

文 献

- 1) Grignon, D. J., Epstein, J. I., Oliva, E., Ro, J. Y., Shen, S. S. Metastatic tumours. In : Moch, H., Humphrey, P. A., Ulbright, T. M., Reuter, V. E., eds. World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon : IARC Press ; 2016. 130.
- 2) Young, R. H. Unusual Variants of Primary Bladder Carcinoma

and Secondary Tumors of the Bladder. In : Young, R. H., ed. Contemporary Issues in Surgical Pathology Volume 13. Pathology of the Urinary Bladder. New York : Churchill Livingstone ; 1989. 128-130.

- 3) Okutur, K., Eren, O. O., Demir, G. Metastasis of gastric signet-ring cell carcinoma to the urinary bladder : a case report and review of the literature. Case Rep Oncol Med (online open access article) 2015, 1-5.
- 4) Klinger, M. E. Secondary tumors of the genito-urinary tract. J Urol 1951 ; 65 : 144-153.
- 5) Ganem, E. J., Batal, J. T. Secondary malignant tumors of the urinary bladder metastatic from primary foci in distant organs. J Urol 1956 ; 75 : 965-972.
- 6) Luomanen, R. K., Watson, W. L. Autopsy Findings. In : Watson, W. L., ed. Lung Cancer - A Study of Five Thousand Memorial Hospital Cases. Saint Louis : Mosby ; 1968. 504-510.
- 7) 佐々木真紀子, 小林昇二, 山田啓輔, 石川雅士, 串田吉生, 平川栄一郎・ほか. 膀胱に転移した肺原発小細胞癌の 1 例. 日臨細胞会誌 1998 ; 37 : 226-229.
- 8) 石塚聖洋, 藤江俊秀, 土屋公威, 玉岡明洋, 坂下博之, 角 勇樹・ほか. 膀胱転移が契機となり診断された肺癌の 1 例. 肺癌 2010 ; 50 : 954-955.
- 9) 石原理裕, 石原八十士, 芝木國雄, 山崎隆治, 中野邦夫, 笠原敏男. 肺小細胞癌の膀胱転移の 1 例. 泌尿器外科 2001 ; 14 : 992.
- 10) Ota, T., Shinohara, M., Kinoshita, K., Sakoma, T., Kitamura, M., Maeda, Y. Two cases of metastatic bladder cancers showing diffuse thickening of the bladder wall. Jpn J Clin Oncol 1999 ; 29 : 314-316.
- 11) Petersen, R. O., Sesterhenn, I. A., Davis, C. J. Urinary Bladder. In : Urologic Pathology 3rd ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins ; 2009 : 175-284.
- 12) Epstein, J. I., Reuter, V. E., Amin, M. B. Secondary Tumors of the Bladder. In : Biopsy Interpretation of the Bladder. 3rd ed. Philadelphia : Wolters Kluwer ; 2017 : 329-346.
- 13) 日本泌尿器科学会・日本病理学会・日本医学放射線学会, 編. 腎盂・尿管・膀胱癌取扱い規約 第 1 版. 東京 : 金原出版 ; 2011.
- 14) 都築豊徳. III. 腺系腫瘍. 都築豊徳, 森永正二郎, 編. 腫瘍病理鑑別診断アトラス「腎盂・尿管・膀胱癌」. 東京 : 文光堂 ; 2012 : 90-94.
- 15) 日本肺癌学会, 編. 肺癌取扱い規約 第 8 版. 東京 : 金原出版 ; 2017.

症 例

TP63 の再構成を認めた ALK 陰性未分化大細胞型リンパ腫における細胞診断学的検討

大野 優子 大澤 久美子 青木 智章 菊地 淳
増田 渉 百瀬 修二 東 守洋 田丸 淳一

埼玉医科大学総合医療センター病理部

背景：ALCL は CD30 陽性の大型リンパ球からなる T 細胞リンパ腫の一亜型である。ALK 陽性型と陰性型に分けられる。近年、ALK 陰性 ALCL の 8% の症例に *TP63* の再構成を認めるとされている。

症例：67 歳、男性。胸部異常陰影を指摘され、右頸部リンパ節生検を施行し、ALK 陰性 ALCL と診断された。骨髓、気管支、脳脊髄液に浸潤を認め、診断から半年後に死亡した。リンパ節捺印標本・組織標本において、成熟リンパ球を背景に大型腫瘍細胞の増殖を認め、common pattern を呈していた。腎形・馬蹄形核を有する hallmark cell や、花弁状核を有する大型細胞が介在していた。腫瘍細胞の相互接着性を示す部分や、分裂像も多数認められた。免疫組織化学では、CD2, CD4, CD30, 細胞傷害性分子が陽性で、p63 の発現を認め、ALK は陰性を示した。FISH 法とシーケンスにより、*TP63* の再構成、*TBL1XR1/TP63* の融合転写産物が証明された。

結論：*TP63* の再構成を伴う ALK 陰性 ALCL は非常にまれで予後不良である。亜型診断には、免疫組織化学染色と FISH 法を併用することが必要である。

Key words : Anaplastic large cell lymphoma, *TP63*, Cytology, Lymphoma, Case report

I. はじめに

未分化大細胞型リンパ腫 (anaplastic large cell lym-

phoma : ALCL) は anaplastic lymphoma kinase (ALK) 陽性型と陰性型に分類され、それぞれ臨床的予後が異なる。いずれも多形性に富み、馬蹄形の核と豊富な細胞質を有する大型の異型細胞の増殖を認める CD30 陽性の T 細胞性リンパ腫である。ALK 陰性 ALCL の特異的な染色体異常は知られていなかったが、近年 *DUSP22* や *TP63* の再構成を伴う一群の存在が認識された¹⁾。今回、*TP63* の再構成を認めた症例を経験したので報告する。

II. 症 例

67 歳、男性。他院にて胸部異常陰影を指摘された。1 ヶ月後、当院で右頸部リンパ節生検を施行され、ALK 陰性 ALCL と診断された。骨髓、気管支生検・洗浄液でも腫瘍細胞が認められた。CHOP 療法を 4 コース施行したが、4 ヶ月後に複視・下肢疼痛が出現し、脳脊髄液にも浸潤がみられた。髄注療法を行ったが、6 ヶ月後には食欲不振、意識

A case report of ALK-negative anaplastic large cell lymphoma (ALCL) with *TP63* rearrangement

Yuko OHNO, C. T., I. A. C., Kumiko OHSAWA, C. T., I. A. C., Tomoaki AOKI, C. T., I. A. C., Jun KIKUCHI, M. D., Wataru MASUDA, M. D., Shuji MOMOSE, M. D., Morihiro HIGASHI, M. D., Jun-ichi TAMARU, M. D.

Department of Pathology, Saitama Medical Center, Saitama Medical University

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

平成 31 年 3 月 5 日受付

令和元年 5 月 9 日受理

※ 本論文は、Pathol Int 2019 Mar ; 69 (3) : 155-159.記載症例を再検討したものである。

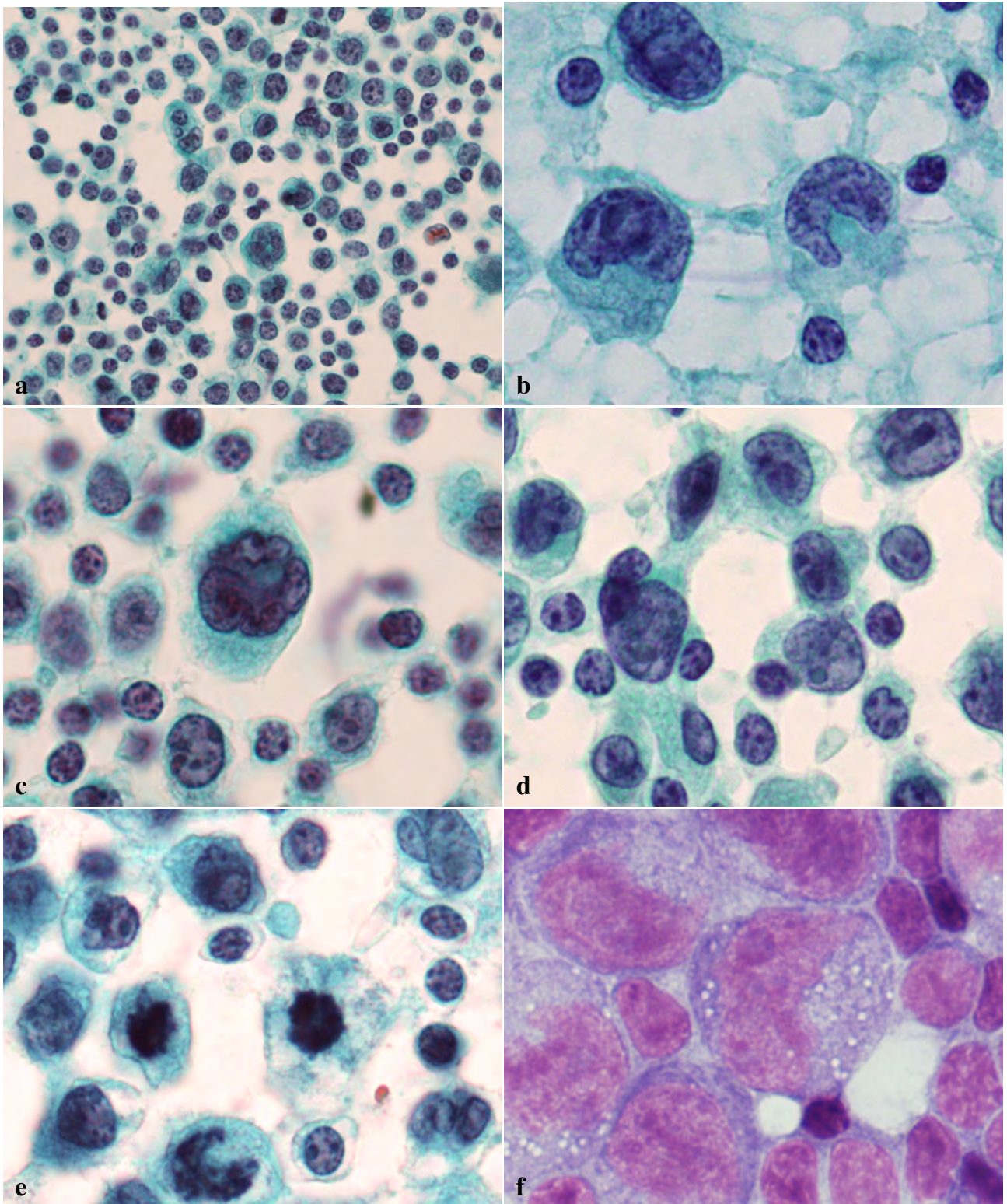


Photo. 1 Stamp preparation from right cervical lymph node. a : A diffuse proliferation of large tumor cells is seen against the background of mature lymphocytes (Pap. staining, $\times 40$). b : Hallmark cell : Kidney-shaped or horseshoe-shaped nucleus, and an emphasized Golgi area (Pap. staining, $\times 100$). c : Outstanding large cells can be seen with an abundant cytoplasm and wreath-like nucleus (Pap. staining, $\times 100$). d : Cohesive tumor cells (Pap. staining, $\times 100$). e : Mitosis of tumor cells is prominent (Pap. staining, $\times 100$). f : Basophilic cytoplasm and intracytoplasmic vacuoles (May-Grünwald Giemsa staining, $\times 100$).

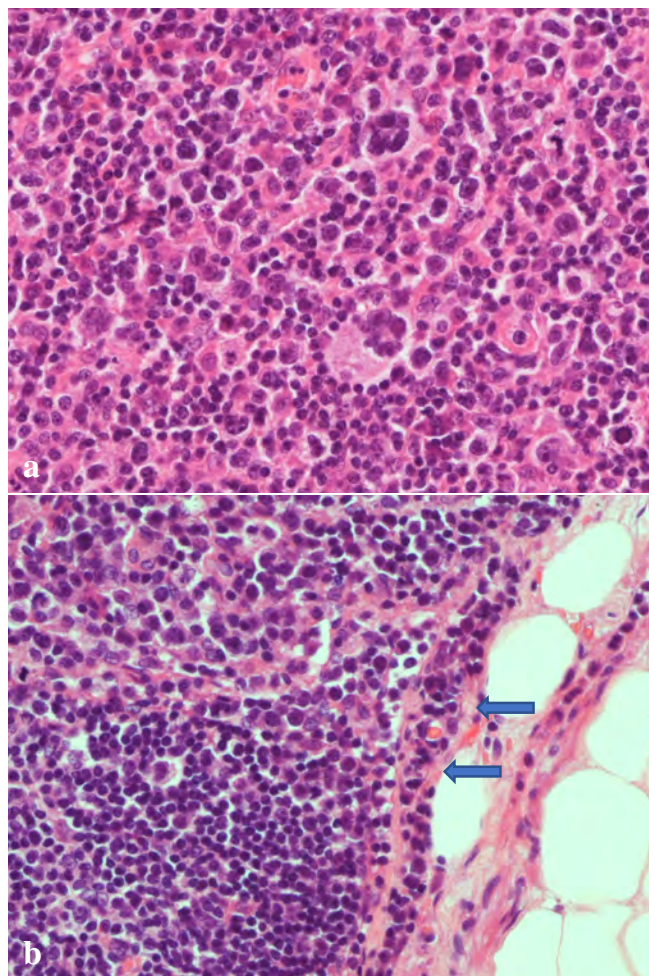


Photo. 2 Right cervical lymph node biopsy (HE staining, $\times 20$).
a : Common pattern : Diffuse proliferation of large tumor cells. b : Lymph sinus invasion of tumor cells (arrow).

障害、腎機能障害、肺炎をきたし、7ヵ月後に永眠された²⁾。

III. 細胞所見

右頸部リンパ節捺印標本において、成熟リンパ球を背景に大型腫瘍細胞の増殖を認めた(Photo. 1a)。腎形・馬蹄形核と明瞭なGolgi野を有するhallmark cell(Photo. 1b)や、豊富な細胞質と花卉状核を有する大型細胞がみられ(Photo. 1c)、腫瘍細胞の相互接着性を示す部分や(Photo. 1d)、多くの分裂像を認めた(Photo. 1e)。ギムザ染色では、腫瘍細胞の胞体は好塩基性を示し、細胞質内空胞を有していた(Photo. 1f)。右気管支洗浄液・脳脊髄液にも同様の腫瘍細胞を認めた。

IV. 病理組織所見

リンパ節生検では、本来のリンパ節構造は腫瘍細胞の増殖により破壊され、hallmark cellや花卉状核を有する大型腫瘍細胞のびまん性増殖を伴うcommon patternを呈し(Photo. 2a)、リンパ洞への浸潤もみられた(Photo. 2b)。骨髓・右気管支生検にも同様の腫瘍細胞を認めた。免疫組織化学染色では、CD2, CD4, CD30, 細胞傷害性分子(TIA-1, Granzyme B, Perforin)が陽性、CD3, CD5, CD7, CD8, ALKが陰性であった。さらにp63の発現を核に認めた(Photo. 3)。

V. TP63再構成の検索

TP63の再構成について、FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 法とシーケンスによる遺伝子解析を行った。

ホルマリン固定パラフィン包埋切片において、TP63 dual-color, break-apart probe (Empire Genomics, LLC, USA)を用いたFISH法で、100細胞中61細胞にsplit signalを認め、TP63の再構成が確認された(Fig. 1a)。

また、リンパ節凍結生材料よりRNAを抽出し、SMARTer® RACE 5'/3'Kit (Clontech Laboratories, Inc. Takara Bio Company, USA)を用いてcDNAを作成後、5'-RACE法を行った。TP63 exon4を認識するprimerを用いて5'上流の未知領域を含めて増幅、cloning後、遺伝子配列解析を行いTBL1XR1/TP63融合転写産物を同定した(Fig. 1b)。さらに、TBL1XR1 exon7 forward primerとTP63 exon4 reverse primerを用いたRT-PCRで239 bpのバンドを確認した(Fig. 1c)。この増幅産物からも5'-RACE法と同様の塩基配列が確認された(データ示さず)。

VI. 考察

ALCLは1985年にSteinらによって、Ki-1-positive ALCL (Ki-1 lymphoma) として報告された³⁾疾患であり、Hodgkin細胞に類似したCD30 (Ki-1) 陽性大型リンパ球の単調な増殖よりなる腫瘍である。その後染色体転座t(2;5)(p23;p35)を有するALCLにおいて融合蛋白p80^{NPM}-ALKが報告された⁴⁾。WHO分類第4版からは暫定的に予後良好なALK陽性型と予後不良な陰性型に分類された⁵⁾。その後、ALK陰性型の30%にDUSP22、8%にTP63の再構成が同定された²⁾。DUSP22の再構成症例はALK陽性型とほぼ同様に予後良好、TP63の再構成症例は予後不良、この3種類のど

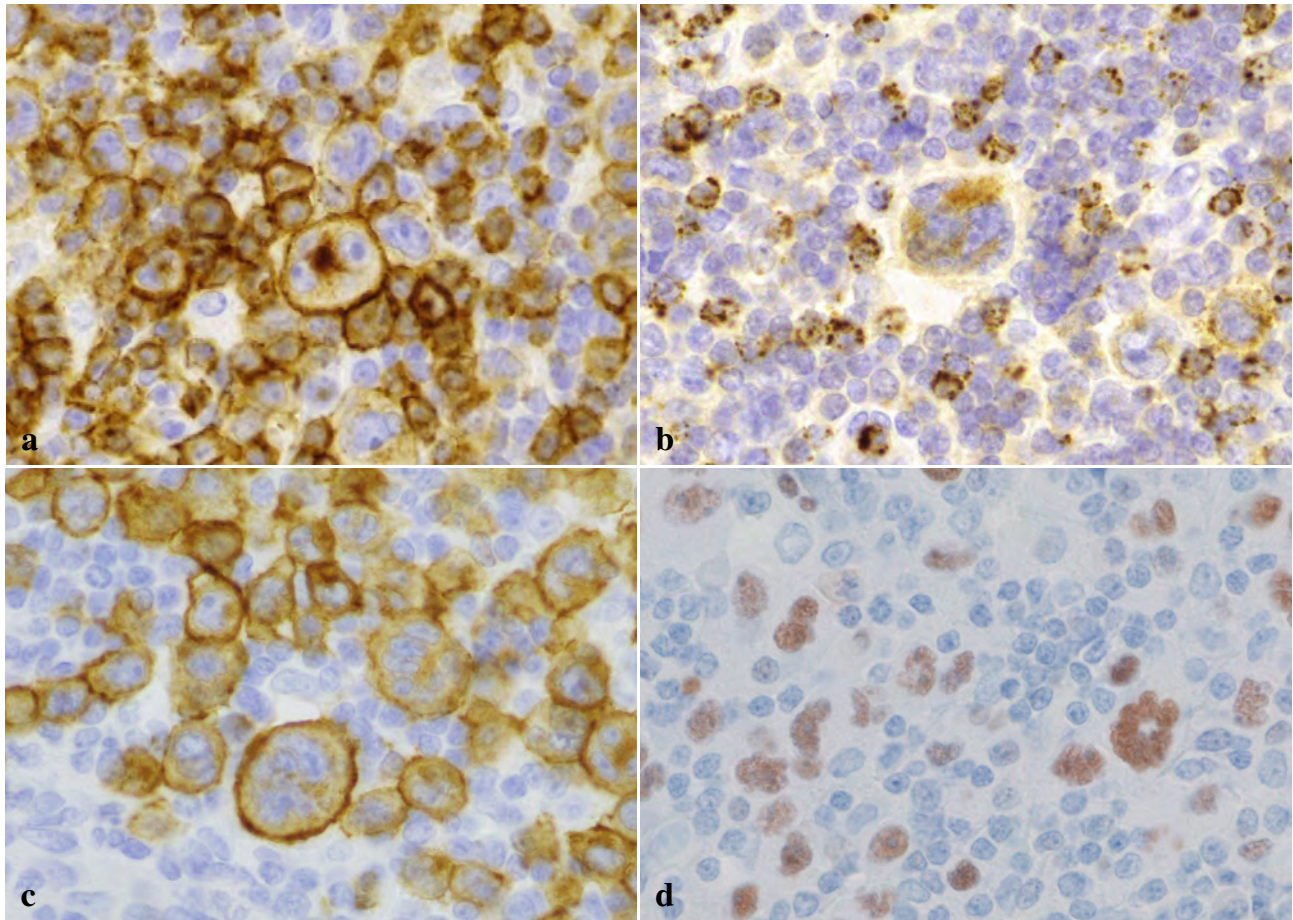


Photo. 3 Immunohistochemical findings of the right cervical lymph node (×40). The tumor cells show positive staining for CD2 (a), TIA-1 (b), CD30 (c) and p63 (d).

の再構成もない症例はその中間であり、5年生存率はそれぞれ85%、90%、17%、42%である⁶⁾。この3種類の再構成を同一症例内で有している例は報告されていない⁶⁾。このことからALCLは臨床的にも遺伝子的にもheterogeneousな疾患群であると考えられている⁶⁾。本例は診断後死亡するまで半年程度であり、不良な経過をたどった。

組織像についてはALK陽性型とALK陰性型いずれにおいてもhallmark cellや腫瘍細胞の相互接着性などの所見を認めることは共通しているが、ALK陽性型ではcommon patternのほかlymphohistiocytic, small cell, Hodgkin-like, composite patternと多彩であり、ALK陰性型では主にcommon patternをとるといった違いが知られている¹⁾。ALK陰性ALCLの腫瘍細胞はALK陽性ALCLの腫瘍細胞よりも大型で多形性を示すといわれている¹⁾。しかしながら*DUSP22*や*TP63*の再構成症例ではむしろ多形性に富む大型細胞は少ないとの報告があり、特に*DUSP22*の再構成症例ではドーナツ細胞を多く認め、細胞は比較的小型であるとされている⁷⁾。ALK陰性ALCLは、多くが*DUSP22*、*TP63*

再構成陰性の症例であり、ALK陰性型の形態的特徴とされる像は*DUSP22*、*TP63*再構成陰性の症例を反映していると考えられる。本例はcommon patternを示し、大型腫瘍細胞の増殖、hallmark cellや花弁状核を有する細胞の介在を伴い多形性に富んでいた。*TP63*再構成症例において大型細胞が増加していた報告はない。しかしながら*TP63*の再構成症例は報告例が非常に少なく、細胞形態の特徴に関する情報はほとんどない。今後、症例の蓄積とさらなる検討が望まれる。

本例は、多形性に富むリンパ腫であった。こういった細胞はALCLのみならず、Hodgkin lymphomaやdiffuse large B-cell lymphomaなどでも認める^{8,9)}ため、形態のみの診断は困難である。本例では各種マーカーの免疫組織学的検索を行い診断にいたったが、さらに核にp63の発現を認め、*TP63*の再構成の存在が示唆された。p63の発現は、3番染色体の逆位により形成される融合遺伝子*TBL1XR1/TP63*によって転写産物が作られることによる^{10,11)}。しかしp63の発現は、*TP63*の再構成のないALK陰性ALCLの35.2%

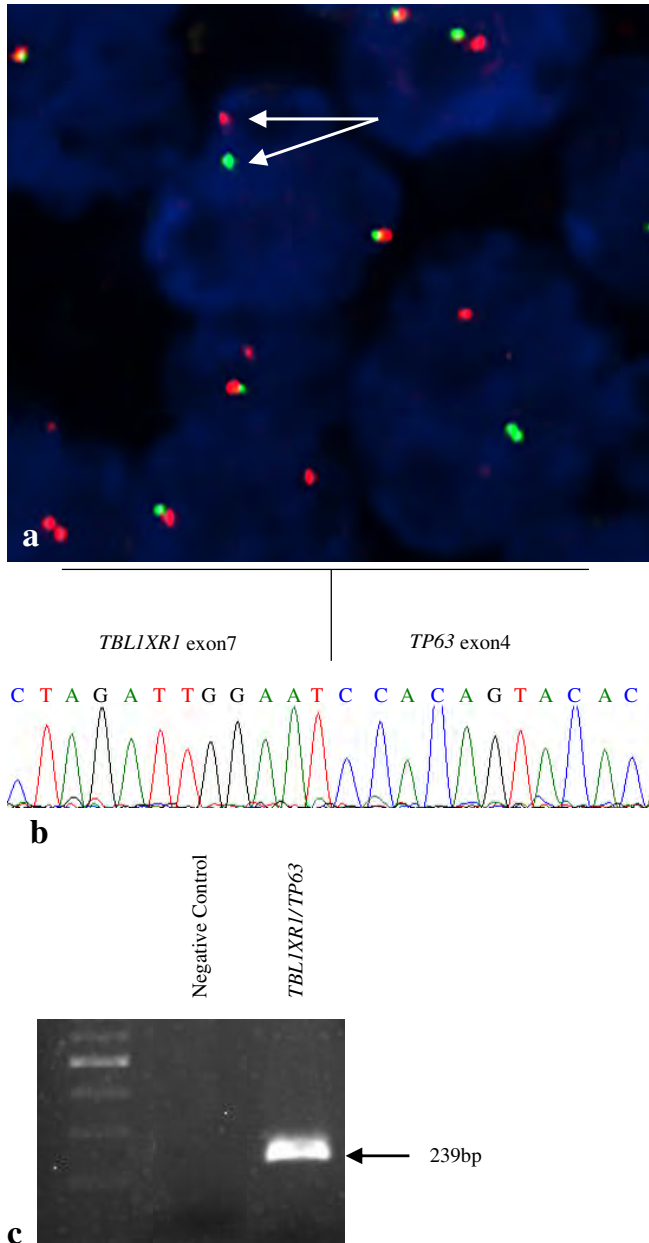


Fig. 1 *TP63* rearrangement. a : The *TP63* break apart probe shows split signals (arrow). b : A sequencing analysis shows the fusion transcript of *TBL1XR1/TP63*. c : Detection of the *TBL1XR1/TP63* fusion transcript with RT-PCR.

にも認めるため、FISH法により確認することが望ましい¹⁰⁾。本例はFISH法で*TP63*の再構成が示され、さらに転座相手をリンパ節材料における5'-RACE法と、RT-PCRの2通りの方法で確認し、これまでに報告されている*TBL1XR1/TP63*の融合転写産物¹¹⁾を確認した。

p63のN末端トランスアクチベータードメインは、アポトーシス、細胞周期停止、細胞老化を誘導し腫瘍抑制の働きを持つ¹¹⁾。再構成によりこのドメインを失った*TP63*の

RNA量は、再構成のないものと比較して25倍もの増加を示すことが知られている¹¹⁾。*ALK*陰性ALCLにおいて*TP63*の再構成を伴う症例が予後不良であるのは、これらのことが何らかの形で影響しているのかもしれない。

VII. 結 語

*ALK*陰性ALCLの中で*TP63*の再構成を伴う症例は非常にまれで、予後不良である。細胞像からは、腎形・馬蹄形核を示すhallmark cellや腫瘍の相互接着性などのALCLの特徴を捉えることが診断への第一歩となる。さらに、*ALK*陰性ALCLと診断した際には免疫組織化学染色でp63の核の発現を捉え、FISH法にて再構成の有無を確認することが、臨床に提供する重要な情報となりうるだろう。

本論文に関し筆者らは、開示すべき利益相反関連事項はありません。本稿の要旨は、第57回日本臨床細胞学会秋期大会(2018年11月、横浜)において発表した。

謝辞 稿を終えるにあたり、御教示いただきました当院病理部山下高久先生に深謝いたします。

Abstract

Background : Anaplastic large cell lymphomas (ALCLs) are a type of T-cell lymphoma, consisting of large lymphoid cells expressing CD30 and are classified into *ALK*-positive and *ALK*-negative. Recently, rearrangement of *TP63* has been identified in 8% of *ALK*-negative ALCLs.

Case : A 67-year-old man had a medical checkup and was found to have a consolidation of the lung on a chest X-ray. A computed tomography scan showed multiple lung tumors, liver tumors, and superficial lymph node swelling. A cervical lymph node biopsy was performed and confirmed the diagnosis of *ALK*-negative ALCL. He died six months after the diagnosis. Histological and cytological features revealed a common pattern of ALCL consisting of diffuse atypical cells with large and polymorphic nuclei. Hallmark cells and cohesive features of the tumor cells were also present. An immunohistochemical examination showed that these atypical cells were positive for CD2, CD4, CD30, cytotoxic molecules and p63. The expression of *ALK* was negative. A fluorescence *in situ* hybridization (FISH) study using a break-apart probe of *TP63* showed *TP63* rearrangement, and sequencing showed the *TBL1XR1/TP63* fusion gene.

Conclusion : We present a case of *ALK*-negative ALCL with *TP63* rearrangement. This type of lymphoma is scarce and has a poor prognosis. For the diagnosis of ALCL, it is necessary to use not only immunohistochemical staining but also a FISH probe.

文 献

- 1) Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S.

- A., Stein, H., et al. World health organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues revised 4th edition. Lyon : IRAC Press : 2017.
- 2) Yamashita, T., Higashi, M., Kawano, R., Momose, S., Tokuhira, M., Kizaki, M., et al. Anaplastic large cell lymphoma with *TP63* rearrangement : A dismal prognosis. *Pathol Int* 2019 ; 69 : 155-159.
- 3) Stein, H., Mason, D. Y., Gerdes, J., O'Connor, N., Wainscoat, J., Pallesen, G., et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue : Evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985 ; 66 : 848-858.
- 4) Shiota, M., Nakamura, S., Ichinohazama, S., Abe, M., Akagi, T., Takeshita, M., et al. Anaplastic large cell lymphomas expressing the novel chimeric protein p80^{NPM/ALK} : A distinct clinicopathologic entity. *Blood* 1995 ; 86 : 1954-1960.
- 5) Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al. World health organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues 4th edition. Lyon : IRAC Press : 2008.
- 6) Parrilla Casteller, E. R., Jaffe, E. S., Said, J. W., Swerdlow, S. H., Ketterling, R. P., Knudsen, R. A., et al. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood* 2014 ; 124 : 1473-1480.
- 7) King, R. L., Dao, L. N., McPhail, E. D., Jaffe, E. S., Said, J., Swerdlow, S. H., et al. Morphologic features of ALK-negative anaplastic large cell lymphomas with *DUSP22* rearrangements. *Am J Surg Pathol* 2016 ; 40 : 36-43.
- 8) 保坂直樹, 小川 勝, 松本敏男, 大垣日登美, 池原 進. Anaplastic large cell lymphoma と結節硬化型 Hodgkin 病の 2 例—リンパ節腫瘍細胞像の比較—. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 : 144-148.
- 9) 鈴木郁美, 國井 徹, 狩野正昭, 刑部光正, 前田邦彦. 比較的高い細胞接着性をもつ diffuse large B-cell lymphoma の 1 例. *日臨細胞会誌* 2015 ; 54 : 135-139.
- 10) Wang, X., Boddicker, R. L., Dasari, S., Sidhu, J. S., Kadin, M. E., Macon, W. R., et al. Expression of p63 protein in anaplastic large cell lymphoma : implications for genetic subtyping. *Hum Pathol* 2017 ; 64 : 19-27.
- 11) Vasmataz, G., Johnson, S. H., Knudson, R. A., Ketterling, R. P., Braggio, E., Fonseca, R., et al. Genome-wide analysis reveals recurrent abnormalities of *TP63* and other p53-related genes in peripheral T-cell lymphomas. *Blood* 2012 ; 120 : 2280-2289.

ホルマリン固定組織からの LBC 標本作製法

谷村満知子¹⁾ 池谷 武彦¹⁾ 三木 絵里¹⁾ 宮城 佳美²⁾
仙崎 英人²⁾

大阪府済生会中津病院検査技術部¹⁾, 同 病理診断科²⁾

I. はじめに

Liquid based cytology (LBC) 法は子宮頸部細胞診に使用する標本作製法として普及しているが、近年は甲状腺、唾液腺、乳腺などの腫瘍穿刺細胞診にも応用されてきている¹⁾。通常 LBC 標本は患者より直接採取した新鮮検体やホルマリン固定前の手術材料から BD サイトリッチTMレッド保存液 (Red 保存液) などを使用して作製された報告が本邦では多く、報告内容は直接塗抹法と LBC 法の出現細胞量や細胞像の比較検討^{2,3)}が主である。

通常ホルマリンに浸漬したものを直接塗抹した標本作製しても鏡検に値しないが、今回われわれはホルマリン固定組織片より LBC 標本を手軽に作製できる方法 (Histo LBC method) を考案した。新鮮検体で作製した LBC 法 (サイトリッチレッド: CR 法) と比較しその有用性について述べる。

II. 作 製 法

ホルマリン固定された手術材料で観察したい部位を、まづメスなどで 5 mm 角程度切り出した。切り出した組織は、シャーレ内で 0.5 mm 角程度まで細切し、Red 保存液約 8 ml

にて混和し細胞を浮遊させた。細胞浮遊液約 2 ml を遠心管 (スピッツ) に分注し 2300 回転/5 分遠心後、得られた沈渣はさらにイオン交換水 800 μ l で混和した。専用チャンバーが装着された BD シュアパスTMプレコートスライド上にサンプルを分注し 10 分間静置の後に、上清を取り除き、エタノールで 2 回洗浄を行いパパニコロウ染色に供した。CR 法は穿刺吸引細胞診で使用した針を Red 保存液で洗浄し細胞標本作製した。

III. 症 例

臨床的に唾液腺腫瘍と診断され、細胞診にて LBC 作製後に手術摘出された症例 11 例 (多形腺腫 6 例, ワルチン腫瘍 1 例, 基底細胞腺癌 1 例, 粘表皮癌 1 例, 腺癌 NOS 1 例, オンコサイト癌 1 例) について検討した。

IV. Histo LBC method と CR 法の細胞像の比較

CR 法は一般的に背景の赤血球が消失し炎症細胞は減少する。出現様式は集塊状で組織構築を保った状態で出現する。細胞質は小型化し濃染傾向であり、核は収縮し濃染傾向となる⁴⁾。Histo LBC method の所見は、11 例いずれも CR 法と細胞構築は類似していたが、背景に血球成分と結合組織が散見され、細胞量は CR 法より多く、核クロマチン網は明瞭化する傾向があった (Photo. 1, 2)。さらに Red 保存液に検体を 1 ヶ月保存した後に標本作製を試みたが、染色性、細胞所見ともに著変は認めなかった。

V. ま と め

今後 LBC 法で細胞診を鏡検する機会はより一層増加してくると思われ、従来法と異なる細胞の見方が求められている⁵⁾。希少例においては LBC 標本作製することが大変

Technique for preparation of liquid based cytology specimens from formalin-fixed tissue

Machiko TANIMURA¹⁾, C. T., I. A. C., Takehiko IKEYA¹⁾, C. T., I. A. C., Eri MIKI¹⁾, C. T., Yoshimi MIYAGI²⁾, M. D., Hideto SENZAKI²⁾, M. D.

¹⁾Department of Clinical Laboratory, ²⁾Department of Diagnostic Pathology, Osaka Saiseikai Nakatsu Hospital

論文印刷請求先 〒 520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町 滋賀医科大学医学部附属病院検査部 谷村満知子

平成 31 年 2 月 4 日受付

令和元年 5 月 13 日受理

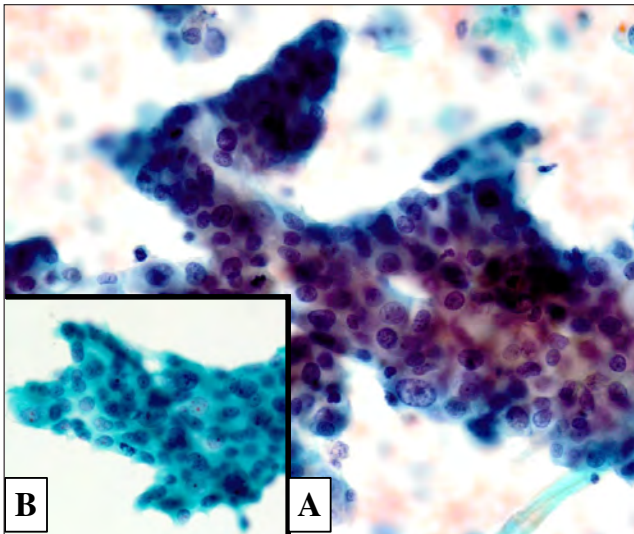


Photo. 1 Histo LBC method (A) and CR method (B) of onco-cytic carcinoma (Pap. staining, $\times 40$).

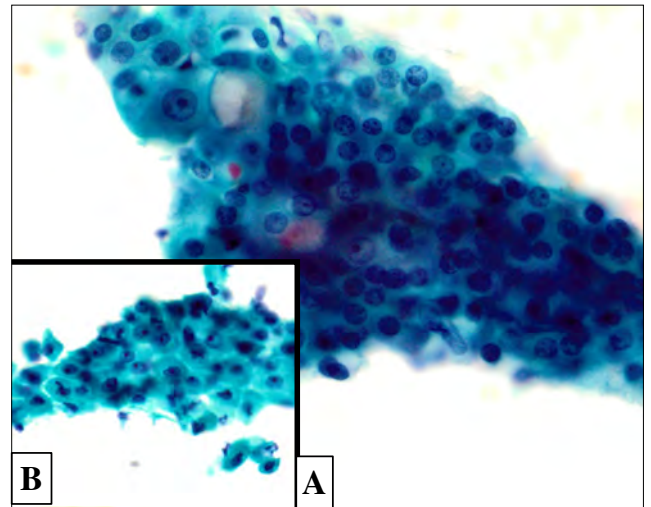


Photo. 2 Histo LBC method (A) and CR method (B) of muco-epidermoid carcinoma (Pap. staining, $\times 40$).

困難であるが, CR 法で得られなかった症例において Histo LBC method は後日標本作製ができ, LBC 標本の鏡検に対する習熟が容易となる画期的な方法である. 今後の課題として免疫染色などの特殊染色, 遺伝子関連の確認が必要と考える.

著者らは開示すべき利益相反状態はありません.

Abstract

Liquid-based cytology is used in fine-needle aspiration cytology, besides vaginal/endometrial cytology. We devised a technique for the preparation of liquid-based cytology specimens from formalin-fixed tissues.

文 献

- 1) 浅沼広子, 東 恭悟, 近藤 啓, 木戸朋美, 平野博嗣, 杉田

真太郎・ほか. 乳腺・甲状腺穿刺吸引細胞診における LBC への応用. Hokkaido Society of Clinical Cytology 2016 ; 25 : 10-14.

- 2) 梅澤 敬, 梅森宮加, 堀口絢奈, 土屋幸子, 春間節子, 沢部元司・ほか. サイトリッチ™ 法による唾液腺腫瘍穿刺吸引細胞診の標準化と診断精度向上の試み. 医学検査 2018 ; 67 (4) : 421-429.
- 3) 三宅まどか, 河原明彦, 河原真弓子, 貞嶋栄司, 木下準子, 山口知彦・ほか. ワルチン腫瘍の診断における液状化検体細胞診の併用効果. 日臨細胞会誌 2016 ; 55 (1) : 7-12.
- 4) 広川満良, 鈴木彩葉, 樋口観世子. 穿刺吸引細胞診の見方と診断そして最新の知見—細胞像と組織像を対比して—. 病理と臨床 2015 ; 33 (11) : 1187-1192.
- 5) 巻頭言. 島 榮, 則松良明, 亀井敏昭, 金城 満, 編. 液状化検体細胞診断マニュアル. 東京: 篠原出版新社; 2016. v.

日本臨床細胞学会雑誌投稿規定

1. 投稿資格

原則として投稿者は共著者も含め日本臨床細胞学会会員に限る。ただし、画像診断、治療などに直接関わった医師（2名以内）はこの限りではない。

2. 掲載論文

- 1) 論文の種別は総説、原著、調査報告、症例報告、特集、短報、読者の声である。
- 2) 投稿論文は臨床細胞学の進歩に寄与しうるもので、他誌に発表されていないものに限る。
- 3) 論文作成に際しては、プライバシー保護の観点も含め、ヘルシンキ宣言（ヒトにおける biomedical 研究に携わる医師のための勧告）ならびに人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省（平成 26 年 12 月 22 日、平成 29 年 2 月 28 日一部改正））が遵守されていること。
※これらの指針は、学会誌 1 号に記載。
- 4) 論文の著作権は本学会に帰属し、著者は当学会による電子公開を承諾するものとする。セルフ・アーカイブ（自身のホームページ、所属機関のリポジトリなど）においては表題、所属、著者名、内容抄録の公開は学会誌の発行の後に認められる。
- 5) 論文投稿に際し、著者全員の利益相反自己申告書（様式 2）を添付すること。なお、書式は <http://jscc.or.jp/coi/> からダウンロードし用いる。この様式 2 の内容は論文末尾、文献の直前の場所に記される。規定された利益相反状態がない場合は、同部分に、「筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。」などの文言を入れる。

3. 投稿形式

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

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 30mm 程度の余白をとり、左揃えとする。文字は 12 ポイント相当以上を用いるのが望ましい。
 - 3) 電子ファイル

以下の電子ファイル形式を推奨する。
Word, WordPerfect, RTF, TXT, LaTeX2e (英文のみ), AMSTeX, TIFF, GIF, JPEG, EPS, Postscript, PICT, PDF, Excel, PowerPoint.

なお、写真の解像度は、雑誌掲載サイズで 300dpi 以上が目安である。
 - 4) 総説・原著・調査報告・症例報告・短報論文の様式
 - (1) 構成

タイトルページ、内容抄録、索引用語 (key words)、本文、利益相反状態の開示、英文抄録、文献、写真、図、表の順とする。原稿には通し頁番号をふる。タイトルページ（1 枚目）には、当該論文における修正稿回数（初回、修正 1 など）、論文の種別（原著、症例報告、短報など）、和文の表題（50 字以内）、著者名、所属のほか論文別刷請求先、著作権の移譲と早期公開に対する同意を明記する。2 枚目には内容抄録、索引用語を記載する。本文は内容抄録とは別に始める。

- (2) 著者

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

原著：12 名以内

調査報告：10 名以内
 症例報告：10 名以内
 短報：6 名以内
 総説：1 名を原則とする

(3) 内容抄録

短報を除いて 500 字以内にまとめ、以下のような小見出しをつける。

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

(4) 索引用語

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

key words 例：

胆嚢穿刺吸引細胞診—胆嚢癌 4 例の細胞像と組織像—

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

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

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

(5) 本文および枚数制限

a. 原著・総説・調査報告

本文、文献を含め 10,000 字以内 (A4 判 20 頁) とする。

図・表 (写真を含まず) は、10 枚以内とする。
 写真の枚数に制限はないが、必要最少限の枚数とする。

b. 症例報告

本文、文献を含め 6,000 字以内 (A4 判 12 頁以内) とする。

図・表 (写真を含まず) は、5 枚以内とする。
 写真の枚数に制限はないが、必要最少限の枚数とする。

c. 短報

出来上がり 2 頁以内とする。

写真は 2 枚以内 (組み合わせは各々 2 枚以内)、
 図表は計 1 枚までとする。

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

(6) 英文抄録

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

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

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

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

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

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

総説：論文の内容に応じて適宜設定

短報：小見出しをつけずに 100 語以内にまとめる

(7) 文献

a. 主要のものに限る。

原著・特集・調査報告：30 編以内

症例報告：15 編以内

短報：5 編以内

総説：特に編数の制限を定めない

b. 引用順にならべ、本文中に肩付き番号を付す。

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

【雑誌の場合】

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

【単行本の場合】

著者名、表題、発行地: 発行所; 発行年 (西暦)。なお、引用が単行本の一部である場合には表題の次に編者名、単行本の表題を記し、発行年、頁—頁。他者の著作物の図表を論文中使用する場合は、原著者 (あるいは団体) より投稿論文を電子公開することを含めた許諾が必要で、これを証明する書類を添付する。

(8) 図・表・写真

a. 図、表は英文で作成する。写真、図、表は Photo.

1, Fig. 1, Table 1 などのようにそれぞれの番号をつけ、簡単な英文のタイトルと説明を付記する。

b. 本文中には写真、図、表の挿入すべき位置を明示する。

c. 顕微鏡写真には倍率を付する。光顕写真（細胞像、組織像）の倍率は撮影時の対物レンズ倍率を用いるが、写真へのスケールの挿入が好ましい。電顕写真については撮影時の倍率を表示するか、または写真にスケールを入れる。

5) 特集論文の様式

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

6) 読者の声

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

(1) 表題は和文50字以内とする。表題に相当する英文も添える。

改行して本文を記述する。

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

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

7) 英文投稿の場合

A4縦にダブルスペースで10頁以内とする。

和文抄録を付し、図・表その他は和文の場合に準ずる。

5. 別 刷

別刷を希望するときは、校正時に部数を明記して申し込む。

6. 論文の審査

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

7. 校 正

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

8. 掲 載 料

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

9. 依頼原稿

依頼原稿は、総説または原著の形式とし、査読を必要とせず、著者校正を行う。依頼原稿の著者は、日本臨床細胞学会会員に限らない。図・表・写真に関しては、和文での作成を許容する。また掲載料に関しては全額免除とする。

10. 本規定の改定

投稿規定は改定することがある。

(平成4年6月一部改定)	(平成23年8月一部改定)
(平成6年6月一部改定)	(平成24年4月一部改定)
(平成9年6月一部改定)	(平成26年5月一部改定)
(平成11年6月一部改定)	(平成26年11月一部改定)
(平成21年5月一部改定)	(平成26年12月一部改定)
(平成21年6月一部改定)	(平成27年3月一部改定)
(平成21年11月一部改定)	(平成29年1月一部改定)
(平成22年4月一部改定)	(平成29年11月一部改定)
(平成22年9月一部改定)	(平成30年11月一部改定)
(平成23年3月一部改定)	(平成31年3月一部改定)

添付1 Acta Cytologica への投稿について

投稿規定は www.karger.com/acy 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

平成29年2月28日一部改正

NOTICE TO CONTRIBUTORS

1. Authorial responsibility :

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

2. Categories of articles published :

- 1) The categories of articles published in this journal are *review articles*, *original articles*, *investigation reports*, *case reports*, *special articles*, *brief notes*, and *reader's voices*.
- 2) The submitted articles should contribute to the advancement of clinical cytology and must be submitted exclusively to this journal.
- 3) Authors must observe the Declaration of Helsinki (recommendations for physicians conducting biomedical studies in humans) and the Ethical Guidelines for Medical and Health Research Involving Human Subjects (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Ministry of Health, Labour and Welfare, March, 2015), including privacy protection.

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

- 4) Copyright for articles published in this journal will be transferred to the Japanese Society of Clinical Cytology, and the authors must agree that the articles will be published electronically by the Society. The authors are permitted to post the title, affiliations, authors' names and the abstract of their article on a personal website or an institutional repository, after publication.
- 5) All authors will be required to complete a conflict of interest disclosure form as part of the initial manuscript submission process. The corresponding author is responsible for obtaining completed forms from all authors of the manuscript. The form can be downloaded from (<http://jscc.or.jp/coi/>) The statement has to be listed at the end of the text.

3. Submission style :

- 1) As a general rule, manuscripts should be submitted electronically.
- 2) For initial submission, please access the site below.

(<https://www.editorialmanager.com/jjscc/>)

4. Instructions for manuscripts :

1) Text and writing style

- (1) Manuscript is to be written in Japanese or English.
- (2) Hiragana, daily use kanji and contemporary Japanese syllabic writing should be used, except for proper nouns and generally used technical terms. English manuscripts should be prepared essentially in the same manner as Japanese manuscripts.
- (3) Weights and measures are expressed in CGS units (cm, mm, 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 12

Investigation reports : no more than 10

Case reports : no more than 10

Brief notes : no more than 6

Review articles : just one author, as a general rule

(3) Abstract

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

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

Case reports : Background, Case (s), Conclusion

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

(4) Key words

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

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

Examples of Key words :

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

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

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

(5) Text and page limitations

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

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

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

b. *Case reports* :

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

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

c. *Brief notes* :

A brief note should not exceed two printed pages.

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

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

(6) English abstract

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

the following abbreviations.

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

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

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

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

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

Case reports : Background, Case (s), Conclusion

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

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

(7) References

- a. Only major references are to be listed.

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

Case reports : no more than 15 titles

Brief notes : no more than 5 titles

Review articles : no limit

- b. References are to be listed in the order in which they appear in the text, and indicated by superscript numbers in the text.
- c. The references should be listed in the Vancouver style, and the journal abbreviations in Japanese and English references according to the Japan Medical Abstracts Society and Index Medicus, respectively. Examples are shown below.

For journals :

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

For books :

Name (s) of the author (s). Title. Place of

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

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

(8) Figures, tables and photographs

- a. Figure and table titles are to be written in English. Photographs, figures and tables are to be numbered thus : Photo. 1, Fig. 1, Table 1, etc. Provide simple titles and explanations in English.
- b. Clearly state where the photographs, figures and tables should be positioned in the text.
- c. Magnifications are to be stated for micrographs. The magnification of the objective lens at the time the photograph was taken will be used as the magnification for photomicrographs (photographs of cells or tissues). Authors are recommended to use scale bars in the photograph. For electron micrographs, the magnification at which the photograph was taken should be stated or scales included in the photograph.

5) Style of special articles

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

6) Reader's voices

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

- (1) The title is not to exceed 50 characters, and a corresponding English title should be provided.

The text should be started on a new line.

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

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

7) English manuscripts

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

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

5. Reprints :

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

6. Review of the manuscript :

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

7. Proofreading :

The publisher will send the first galley proof to the first author, who should check and return it within three days. When the person responsible for proofreading is someone other than the first author, the person's name and address must be clearly stated when the manuscript is submitted. Only errors can be corrected on proofs. Nothing that is

not already in the manuscript can be added or corrected.

8. Publishing fee :

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

9. Revision of these rules :

The rules for submitting manuscripts may change.

(Partial revision June 1992)
 (Partial revision June 1994)
 (Partial revision June 1997)
 (Partial revision June 1999)
 (Partial revision June 2009)
 (Partial revision November 2009)
 (Partial revision April 2010)
 (Partial revision September 2010)
 (Partial revision March 2011)
 (Partial revision April 2012)
 (Partial revision May 2014)
 (Partial revision November 2014)
 (Partial revision December 2014)
 (Partial revision March 2015)
 (Partial revision January 2017)
 (Partial revision November 2018)
 (Partial revision May 2019)

Appendix 1. Submission of manuscripts to *Acta Cytologica*

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

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

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

日本臨床細胞学会編集委員会 (令和元年～3 年)

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

鈴木美和	関田信之	芹澤昭彦	園田顕三	駄阿勉	多比良朋希
高倉聡	高瀬頼妃呼	高田恭臣	高野忠夫	高野浩邦	高野政志
高橋顕雅	高橋芳久	高橋恵美子	鷹橋浩幸	高松潔	田口雅子
田口健一	竹井裕二	武田麻衣子	竹原和宏	田尻琢磨	橘啓盛
楯真一	田中京子	田中綾一	田中一朗	田中尚武	田中浩彦
棚田諭	谷川輝美	谷口智子	谷山清己	田沼順一	田原紳一郎
玉手雅人	田丸淳一	千酌潤	塚田ひとみ	辻村亨	津田均
土田秀	筒井英光	角田肇	寺井義人	寺田倫子	寺畑信太郎
寺本典弘	寺本瑞絵	土居正知	田路英作	徳田雄治	渡具知克
徳永英樹	戸澤晃子	栃木直文	富永英一郎	豊田進司	鳥居貴代
内藤子来	内藤嘉紀	永井雄一郎	中泉明彦	中尾佳史	長阪一憲
長坂徹郎	中山富雄	中澤久美子	長嶋健	永瀬智	中塚伸一
仲村勝	中山武	中山宏文	中山淳	南部雅美	新倉仁
西川鑑	西山憲一	錦見恭子	西田直代	西野幸治	西村理恵子
西森誠	野本靖史	布引治	野澤真由	能登原憲司	野中道子
野村弘行	馬場洋一郎	橋口真理子	長谷川清志	秦美暢	畑中一仁
服部学	原由紀子	羽原利幸	濱川真治	林茂徳	林真也
林俊哲	樋口佳代子	原田憲一	坂東健次	阪埜浩司	東田太郎
東美智代	廣井禎之	飛田陽	秀島克巳	平沢晃	平田哲士
平林健一	藤井丈士	廣島健三	廣田誠一	福島万奈	福島裕子
福屋美奈子	古田玲子	藤田茂樹	伏見博彰	藤山淳三	藤原寛行
二神真行	堀由美子	古旗為霞	星利良	星田義彦	細根勝太
堀江香代	町田知久	彭井成明	前田純一	前田ゆかり	増田健宏
増田しのぶ	松田勝也	松永徹	松浦基樹	松澤こず恵	松下二
松田育雄	松山篤二	丸喜明	松林純司	松本光司	松本慎弘
松元隆之	水野美香	三橋暁	丸川活司	丸田淳子	三浦弘守
三浦弘之	宮井朋幸	宮城淳一	湊宏司	南優子	南口早智子
三宮嶋	宮本徹	村田晋一	三宅真司	三宅康之	宮崎龍彦
物部泰昌	森定徹	森下由紀雄	村田哲也	望月紀英	元井亨
安岡弘直	安田政実	矢田直美	森康浩	森村豊	八重樫伸生
山上亘	山口知彦	山口浩	柳田聡	矢野恵子	矢野博久
山田隆司	山田隆	山田麻里沙	山口倫	山崎奈緒子	山下博
山元英崇	山本晃人	矢持淑子	山田恭輔	山田鉄也	山田範幸
横山俊朗	山岡治彦	吉田勤	横井豊治	横尾英明	横瀬智之
米田操	吉米山剛一	梁善光	吉田浩一	吉野潔	吉見直己
渡辺寿美子	渡邊みか		和田直樹	渡部洋	渡邊純

(50音順)

令和元年九月二十二日発行

編集兼
発行人

公益社団法人

日本臨床細胞学会
代表者 矢 納 研 二

〒100-0061 東京都千代田区神田駿河台二丁目一
番一
駿河台サンライズビル三階
発行所 公益社団法人 日本臨床細胞学会

電話 〇三(五五七七)四六八〇 振替 〇〇一一〇一〇一三五五四五