

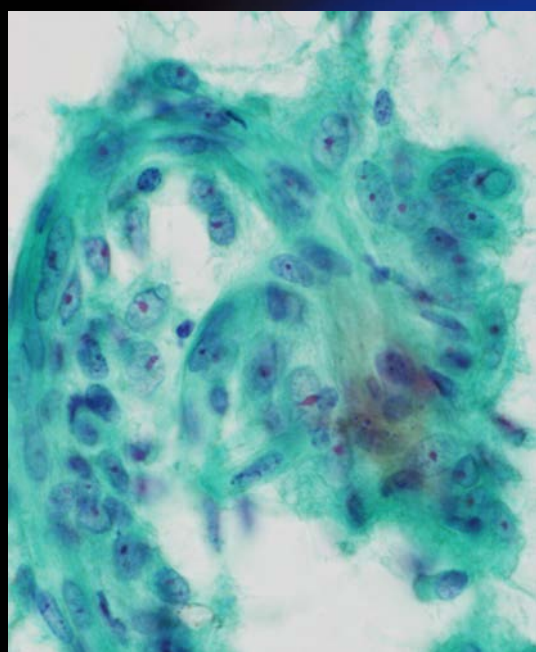
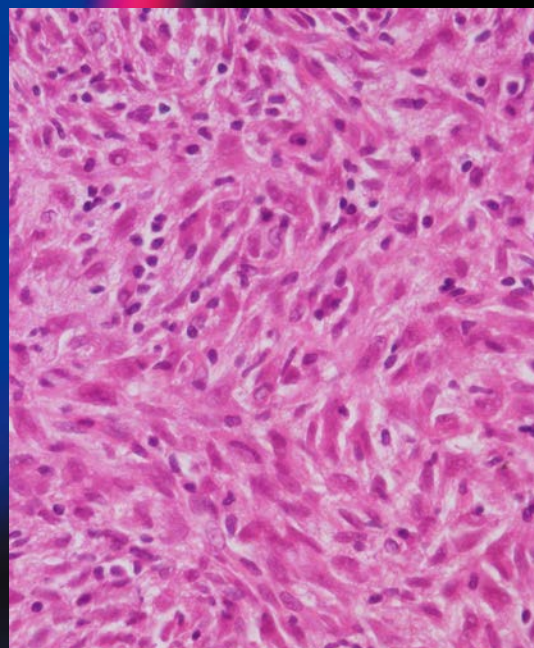
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日 臨 細 胞 誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第59巻 第2号 令和2年3月

日本臨床細胞学会雑誌

THE JOURNAL
OF THE JAPANESE
SOCIETY OF CLINICAL
CYTOLOGY



公益社団法人
日本臨床細胞学会

<http://www.jscc.or.jp/>

Vol.59 No. 2
Mar. 2020

目 次

巻頭言.....齋藤 豪

〈原 著〉

ティッシュペーパーを使用した迅速・簡便な集細胞法（セルブロック法）とその応用に関する基礎的研究
.....東大和病院病理細胞診断科 坂牧久仁子・他 （83）

〈症 例〉

HIV 関連 Burkitt lymphoma の 1 例——剖検時に採取された脳脊髄液の細胞像——
.....長崎大学原爆後障害医療研究所腫瘍・診断病理学 本山 高啓・他 （92）

臨床的に顎下腺腫瘍が疑われた粘液線維肉腫の 1 例
.....JA 広島厚生連尾道総合病院病理研究検査科 神田 真規・他 （99）

膝に発生した退形成癌の 2 例
.....済生会熊本病院中央検査部病理 近藤 妙子・他 （103）

〈短 報〉

気管支に発生した inflammatory myofibroblastic tumor の 1 例
.....済生会熊本病院中央検査部病理 田上 圭二・他 （112）

術中迅速細胞診が有用であった中枢神経系原発悪性リンパ腫の 1 例
.....国立国際医療研究センター国府台病院中央検査部 若林 僚・他 （114）

投稿規定.....(116)

編集委員会.....(123)

＊

〈表紙写真〉

気管支発生の炎症性筋線維芽細胞性腫瘍

（左：パパニコロウ染色，右：H-E 染色）（田上 圭二・他，左：Photo. 1b，右：Photo. 2a inset，ともに 113 頁）

CONTENTS

Editorial.....	Tsuyoshi Saito
----------------	----------------

Original Article

Novel cell clots (tissue) capture technique using tissue paper (TxT technique) for the new era of cytopathology Kuniko Sakamaki, et al. (Dept. of Diag. Path. and Cytol., Higashiyamato Hosp., Tokyo)	(83)
--	--------

Clinical Articles

A case of HIV-associated Burkitt lymphoma diagnosed via cytology of cerebrospinal fluid collected at autopsy Takahiro Motoyama, et al. (Dept. of Tumor and Diag. Path., Atomic Bomb Disease Inst., Nagasaki Univ., Nagasaki)	(92)
A case of myxofibrosarcoma suspected of submandibular gland tumor Masanori Koda, et al. (Dept. of Path., JA Onomichi General Hosp., Hiroshima)	(99)
Two cases of anaplastic carcinoma of the pancreas Taeko Kondo, et al. (Dept. of Path., Saiseikai Kumamoto Hosp., Kumamoto)	(103)

Brief Notes

A case of an inflammatory myofibroblastic tumor arising from the bronchus Keiji Tanoue, et al. (Dept. of Path., Saiseikai Kumamoto Hosp., Kumamoto)	(112)
A case of primary central nervous system lymphoma in which intraoperative rapid cytology was useful for its histological the diagnosis Ryo Wakabayashi, et al. (Dept. of Path. and Lab. Med., National Center for Global Health and Med., Kohnodai Hosp., Chiba)	(114)

Notice to contributors.....	(116)
-----------------------------	-------

Cover Photo

Inflammatory myofibroblastic tumor arising from the bronchus (Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Keiji Tanoue, et al., Left : Photo. 1b, Right : Photo. 2a inset, p113)	
--	--



巻頭言

Tsuyoshi Saito

齋藤 豪

札幌医科大学産婦人科学講座

▶ 細胞診断学の変革期



私は昭和61年卒業後に日本臨床細胞学会に入会し、諸先輩の指導を受けながら平成5年に細胞診指導医を取得、平成30年には第59回総会（春期大会）を開催させていただきました。これらの30年以上にわたる活動を通じ私が日本臨床細胞学会に対して感じることは、臨床医にとって学会、そして細胞診断が遠い存在になりつつあるのではないかという危機感です。私が属している婦人科領域においてもHPV検査をはじめとし、癌の早期診断の手法として分子生物学を中心として細胞診以外にも新しい技術が開発され、細胞診の重要性が相対的に低下していると思われる。その辺が私の漠然とした危機感です。それを克服するのは日本臨床細胞学会に課せられたテーマであるかもしれませんが、そのためには新しい手法を取り入れた細胞診断を日本臨床細胞学会が率先して提案することが大切と考えます。そのためには細胞診断を用いる一人一人に細胞診に対する深い知識が必要です。また、日本臨床細胞学会雑誌におきましてもそのような幅広い技術が取り入れられた研究発表が掲載されてくることが期待されます。

細胞診断学への分子生物学の台頭ばかりではなく、AIが形態学そのもののあり方を変革する可能性も考えなければなりません。私たちに身近な顔認証を見ても分かるように、AIによる画像解析技術は日進月歩です。この波は細胞形態学をも飲み込むのは時間の問題です。私たち細胞診断に関わる人間にとってもこれを脅威として拒絶するのではなく、この進歩をいち早く取り入れ日常診療のツールとして利用する工夫を考えるのがあるべき姿と考えます。今後はこのような研究発表も本学会誌で取り上げられるようになる事が理想です。

これまでも述べたように日本臨床細胞学会、さらには本邦の細胞診断学の活性化のためには本学会誌から優れた論文が数多く発表される事が不可欠です。この学会誌ですが、担当事務から始まり、編集委員会、査読者をはじめ、非常に多くの方の協力によって成り立っております。特に厳正な審査をするためには、論文内容の専門化、そして分子生物学をはじめとした多様化によって、適当な査読者を探すのも大変な作業となっております。これらの難題を乗り越えることによって、学会の総合力もアップするということになるのだと思いますが、会員の皆様も自己の、そして細胞診断学の進歩のためにも積極的に素晴らしい研究成果を発表すると同時に、査読者にトライしていただきたいと願っております。

原 著

ティッシュペーパーを使用した迅速・簡便な集細胞法
(セルブロック法) とその応用に関する基礎的研究

坂牧久仁子¹⁾ 川井 健司²⁾ 河村 淳平¹⁾ 島方 崇明¹⁾
 林 友理恵¹⁾ 篠 友希¹⁾ 後藤 芳章¹⁾ 鴨志田伸吾³⁾
 桑尾 定仁¹⁾

東大和病院病理細胞診断科¹⁾, 実験動物中央研究所病理解析センター²⁾, 神戸大学大学院保健学研究科病態解析学領域³⁾

目的: セルブロック (CB) 法は確定診断のみならず, その後の治療方針決定にきわめて有用である. 今回, われわれは従来法とは異なり, ティッシュペーパーを用いた CB 作製法 (TxT 法) を考案したので報告する.

方法: 2017 年 7 月~2018 年 11 月に細胞診検体として提出された体腔液 96 例中の 20 例を対象とした. TxT 法における CB の作製手順および作製に使用した被覆素材の検討, アルギン酸ナトリウム法と TxT 法に対するアルシアン青染色の影響, TxT 法での免疫染色の検討などを行った.

成績: TxT 法に用いる被覆素材はティッシュ 2 枚組が沈渣を包みやすく, 薄切も容易であった. さらに, 繊維間隙が最も小さく癌細胞の漏れ出しは確認されなかった. TxT 法はアルシアン青染色および免疫染色において, ティッシュ繊維が癌診断に全く影響しなかった.

結論: CB は病理診断に必要不可欠であり, TxT 法は事前準備の必要がなく, 経験の有無を問わず, 集細胞からブロック作製までの操作が簡便であった. 本法は細胞病理学の発展のみならず, 日常の癌診療に資すること大であると考えられる.

Key words : Cell block, Cell capture technique, TxT technique, Immunostaining

I. はじめに

Novel cell clots (tissue) capture technique using tissue paper (TxT technique) for the new era of cytopathology

Kuniko SAKAMAKI¹⁾, C. T., I. A. C., Kenji KAWAI²⁾, C. T., J. S. C., Jumpei KAWAMURA¹⁾, C. T., I. A. C., Takaaki SHIMAKATA¹⁾, C. T., I. A. C., Yurie HAYASHI¹⁾, C. T., I. A. C., Yuki SHINO¹⁾, C. T., J. S. C., Yoshiaki GOTO¹⁾, C. T., J. S. C., Shingo KAMOSHIDA³⁾, C. T., C. M. I. A. C., Sadahito KUWAO¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Diagnostic Pathology and Cytology, Higashiyamato Hospital

²⁾Pathology Analysis Center, Central Institute for Experimental Animals

³⁾Laboratory of Pathology, Department of Medical Biophysics, Kobe University Graduate School of Health Sciences

論文別刷請求先 〒207-0014 東京都東大和市南街1の13の12 東大和病院病理細胞診断科 坂牧 久仁子

令和元年 5 月 27 日受付

令和元年 8 月 22 日受理

がん性胸・腹膜炎を伴う終末期がん患者からの病理組織検体採取は困難な場合が多い. そのため低侵襲で的確な集細胞法であるセルブロック (cell block : CB) 法は, 確定診断のみならずその後の治療方針決定にきわめて有用である. 近年, CB 法は体腔液に加えて穿刺吸引細胞診 (fine needle aspiration cytology : FNAC) や液状化検体細胞診 (liquid-based cytology : LBC) で得られる材料においても広く応用されている. 乳癌や肺癌の診断・診療に関しては, バイオマーカー検索が積極的に推奨されており^{1,2)}, American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists (ASCO/CAP) では, 再発乳癌におけるバイオマーカーの再評価を含め, 生検の採取が不可能な場合は

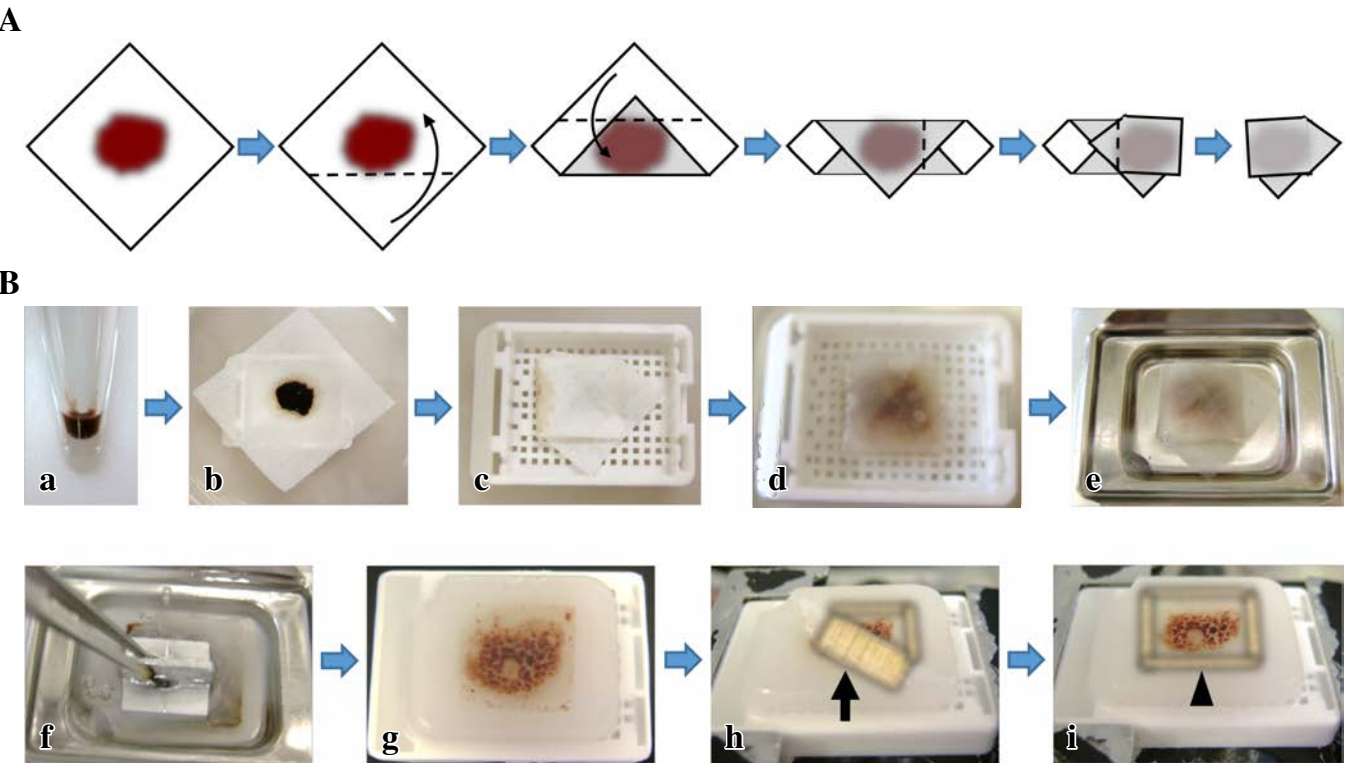


Fig. 1 Procedure of TxT capture technique

After 6-hour fixation in 10% neutralized buffered formalin and centrifugation, sediment (cell clots) was centrally placed over the tissue (40 mm²) in the sample cassette. Four corners were then folded (A), which was followed by the tissue processing step. Following paraffin permeation, folded tissue was placed in the embedding plate and gently pressed using the tamper. Cell clots (tiny tissue fragments) were easily recognized even in the paraffin block. During rough cutting, superficial tissue paper (arrow) was removed, and cell clots wrapped in tissue paper (arrowhead) were clearly exposed over the cutting surface (B).

Table 1 Comparison and characterization of nonwoven materials used in the TxT capture technique

Material	Pulp	Pulp	Pulp	Cellulose	Polyester polyethylene	Nylon
Product name	nepia tissue (Double)	nepia tissue (Single)	Kimwipes	CLEANE WIPE-P	Kurupack	SAMPLE PACK
Close-up image						
Thickness [mm]	0.10	0.05	0.15	0.07	0.05	0.10
Gap size [μm]	7×23	65×137	21×51	46×67	94×140	205×248
Company name	Oji Nepia Co., Ltd.	Oji Nepia Co., Ltd.	NIPPON PAPER CRECIA Co., Ltd.	Asahi Kasei Corp.	Matsunami Glass Ind., Ltd.	Eiken Chemical Co., Ltd.
Wrapping	○	△	○	×	—	—
Embedding	◎	◎	○	△	○	○
Cutting	◎	◎	○	△	△	×
Sampling cell number	◎	○	○	◎	△	△

◎ : best, ○ : better, △ : acceptable, × : insufficient or difficult, — : not evaluated. bar = 100 μm

CBによる評価が推奨されている³⁾。さらに、肺癌におけるPD-L1の発現検索でCBの活用および貴重なリソースとしての有効性が報告されている⁴⁾。

これまでのCBの作製方法は、大別すると遠心分離細胞収集法（遠心管法、クロロホルム法など）^{5,6)}、試薬添加による細胞凝固・固化法（アルギン酸ナトリウム法、グルコマンナン法など）⁷⁻¹²⁾、容器を使用する方法（クライオバイアル法、綿棒チューブ法など）¹³⁻¹⁸⁾およびバッグなどによる方法（コロジオンバッグ法、ナイロンメッシュ法など）¹⁹⁻²³⁾が報告されている。しかし、これらの方法には事前の試薬調整や操作方法の習熟が必要な場合があり、必ずしも簡便とはいえない。また、沈渣を容器から取り出す際や包埋時などの操作過程における細胞回収率低下の問題も指摘されている¹⁵⁾。

今回、われわれは従来のCB法とは異なり、①操作が簡便で、②事前の準備が必要でなく、③細胞回収率の高い、ティッシュペーパーを使用したCB法を考案したので報告する。本法では生検材料に近い細胞所見が得られることより、tissue (cell clot) by tissue capture technique/TxT法として日常業務に導入している。

II. 対象と方法

1. 対象

東大和病院にて、2017年7月～2018年11月に細胞診検体として提出された体腔液96例中、細胞診標本作製後に余剰沈渣が確認できた検体20例を対象とした。

2. TxT法を用いたCBの作製手順

沈渣に10倍以上の10%中性緩衝ホルマリンを添加し、混和後6時間以上室温固定した。1500 rpm (400 G)、3分の条件で遠心沈殿後、沈渣をスタンダードカセット（アンク）内に敷いた4～5 cm 角のティッシュの中心部にスポイトで移した。スピッツ内に残存した沈渣は少量の10%中性緩衝ホルマリンを再度添加し、すべての沈渣を回収した。包み方はティッシュの四隅を上下左右に折り畳み（Fig. 1A）、そのままカセットの蓋を閉めて型通り自動包埋装置でパラフィン浸透まで行った。包埋は沈渣がティッシュに包まれた状態で包埋皿に移動させ、タンパーで軽く押し当てながら冷却しCBを作製した。薄切は粗削りで上面の被覆されたティッシュ（矢印）を除去し、ティッシュ（矢頭）に包まれた細胞塊が露出した時点で薄切標本を作製した（Fig. 1B）。

3. TxT法によるCB作製における被覆素材の検討

CB作製時に使用する紙や不織布などの被覆素材は、細胞形態の保持、細胞の変性、パラフィンブロック作製過程

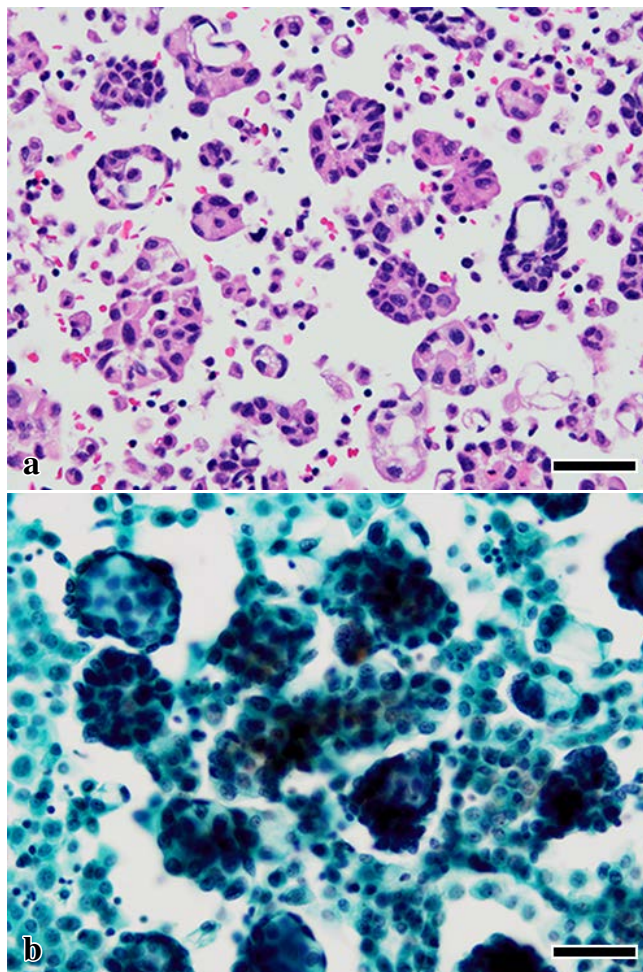


Photo. 1 Comparison of TxT sample histology and routinely processed cytology. Hematoxylin-eosin stained TxT sample (a) obtained from various wrapping materials showing adenocarcinoma compared with Papanicolaou cytology (b) (bar = 50 μ m).

での破損、薄切の可否、染色性および診断への影響について比較検討を行った。対象とした被覆素材は、パルプ素材製品としてネピアティッシュ 150W-S（王子ネピア）および病理検査室内に普及しているキムワイプ S-200（日本製紙クレシア）、セルロース素材ではレンズやガラスのワイピングに使用されるクリーンワイプ-P（旭化成）、病理組織収納袋として使用されるポリエステルポリエチレン素材のクルパック SS 箔付き（松浪硝子工業）およびナイロン素材のサンプルパック・小型（栄研化学）の5製品で検討を行った。なお、ティッシュに関しては1枚と2枚組での比較も行った。また、HE染色標本における癌細胞の形態保持と鏡検下での繊維による視覚的影響および細胞分布についても検証した。

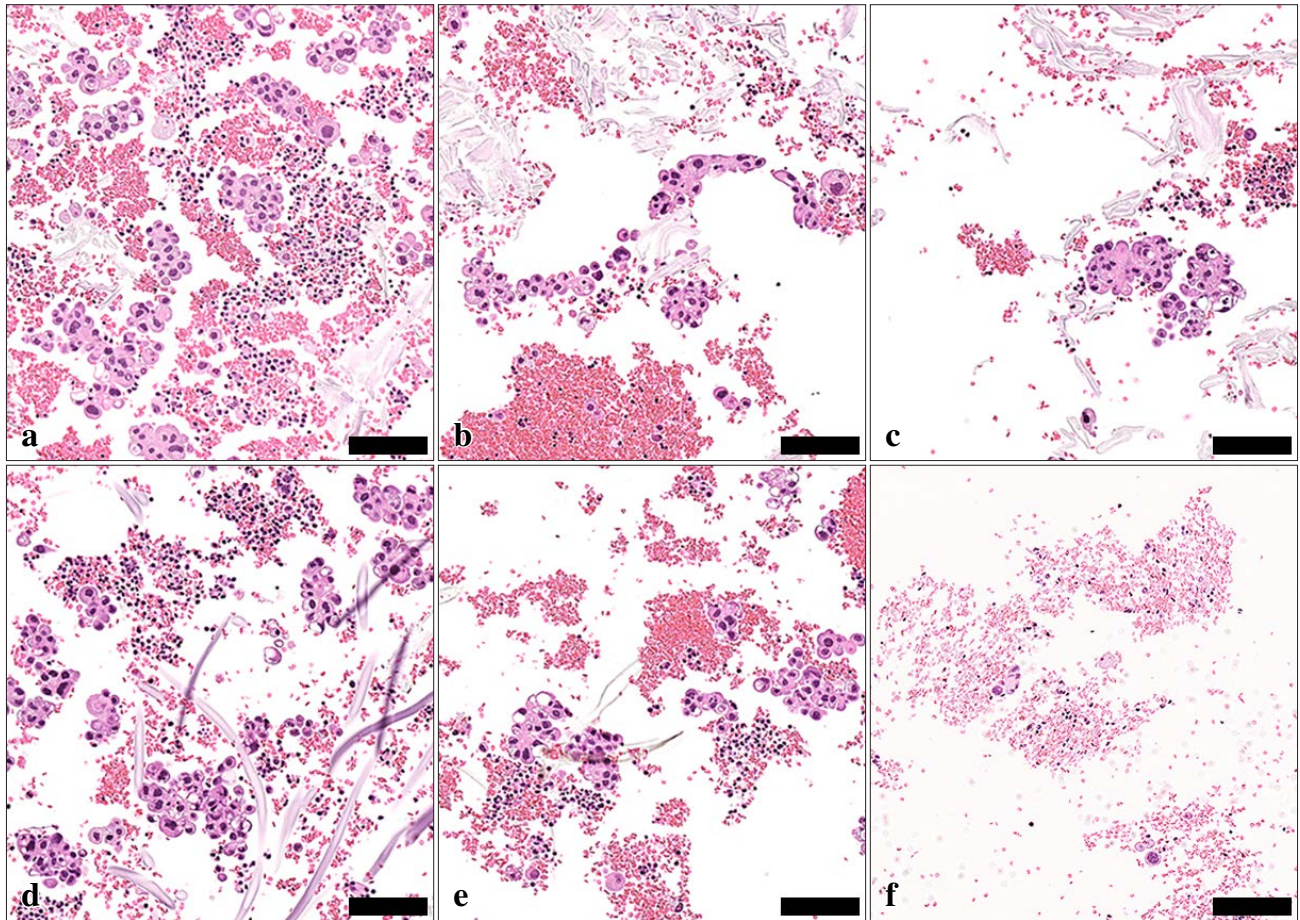


Photo. 2 Histology of TxT samples in various wrapping materials. Fine cell-clot morphology was eventually preserved in double-layered tissues (a) and was followed by CLEAN WIPE-P (d), single-layered tissue (b), and Kimwipes (c) in descending order. CLEAN WIPE-P (d), Kurupack (e), and SAMPLE PACK (f) showed cell loss and less qualified morphology (HE staining, bar = 100 μ m).

4. TxT 法における特殊染色および免疫染色の検討

代表的な CB の作製に使用されるアルギン酸ナトリウム法 (sodium alginate technique : SA 法) を対象に, (1) 検体処理における処理時間, (2) アルシアン青染色と免疫染色での染色性について比較した. 免疫染色はポリマー法で行い, 使用した一次抗体は抗 TTF-1 抗体 (clone SPT24, ライカ) および抗ケラチン/サイトケラチン 7 抗体 (clone OV-TL 12/30, ニチレイ) を使用した. 二次抗体はヒストファイン シンプルステイン MAX-PO MULTI (ニチレイ), DAB 発色は Dako Liquid DAB + Substrate Chromogen System (Agilent), 核染色はマイヤーのヘマトキシリン (武藤化学) を用いた.

III. 結 果

TxT 法に使用した被覆素材の検討結果を Table 1 に示す. 被覆素材の厚さに大差は認められず, 約 0.05~0.15 mm 厚

であった. おのおのを構成している繊維間隙はティッシュ 2 枚組が最も小さく, 次いでキムワイプ, クリーンワイプ-P, ティッシュ 1 枚, クルパック, サンプルパックの順であった. 素材の包みやすさは柔軟性がポイントとなり, ティッシュ 2 枚組とキムワイプが同等の包みやすさで, ティッシュ 1 枚, クリーンワイプ-P の順に続いた. 包埋時の取り扱いおよび薄切切片的の作製に関しては, ティッシュ 1 枚および 2 枚組が良好であった. また, いずれの被覆素材においてもパラフィン浸透による溶解・破損は認められず, 折り畳まれた状態が維持されているため, 取り扱いが簡便で, 包埋皿への移動が容易であった. 包埋時に被覆素材内への気泡の混入が認められるが, タンパーを押し当てることで容易に除去が可能であった.

薄切切片的の作製は, パルプ系素材がパラフィンの浸透性が最も良好で, 薄切時の被覆素材の抵抗やメスへの損傷がなく, 切片作製が容易であった. しかし, クリーンワイプ-P, クルパックおよびサンプルパックではパラフィンの

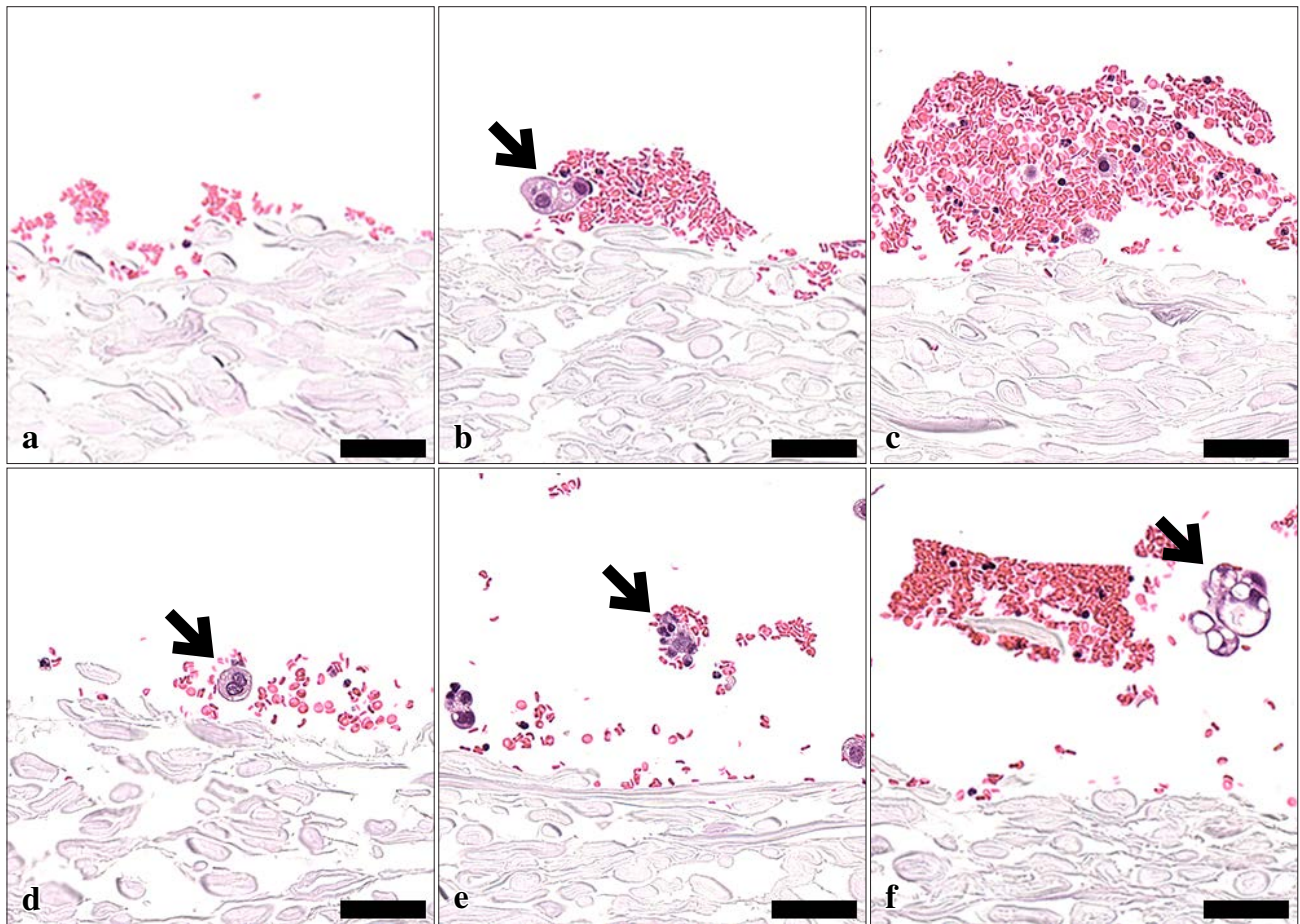


Photo. 3 Cell loss among the various wrapping materials. For evaluation of cell loss among various wrapping materials, each wrapping material was placed over filter paper and cell clots were placed. The removal of the wrapping material and filter papers was histologically processed and examined. Only red blood cells and lymphocytes penetrated through the double-layered tissue papers (a) and Kimwipes (c), but adenocarcinoma clusters penetrated through single-layered tissue paper (b) and CLEAN WIPE-P (d), Kurupack (e), and SAMPLE PACK (f) (HE staining, bar = 50 μ m). Cancer cells were indicated by arrows.

浸透が悪く、切片のシワや被覆素材周囲に穴あきを生じた。

TxT 法で作製した CB の HE 染色像では、パパニコロウ染色の腺癌細胞の形態を反映し、良好に保持されていた (Photo. 1)。それぞれの被覆素材の CB においてクリーンワイプ-P およびクルパックでは、繊維が断片化し標本上へのコンタミネーションとして見出された。さらに、サンプルパックでは細胞の漏れ出しが多く、他の被覆素材に比べ得られた細胞が少数であった (Photo. 2)。

おのおのの被覆素材の繊維の間隙から細胞の漏れ出しを確認するため、濾紙の上に各被覆素材を敷き、細胞の漏れ出しの程度を確認を行った。被覆素材から漏れ出した細胞量は繊維の間隙が大きいほど多量であった。最も間隙の狭いティッシュ 2 枚組およびキムワイプでは、赤血球やリンパ球のみ漏れ出したが、ティッシュ 1 枚、クリーンワイプ-P、クルパックおよびサンプルパックでは腺癌細胞塊の漏れ出し (矢印) も確認された (Photo. 3)。

TxT 法の作製過程においては、細胞沈渣量と折り畳み面との面積比の検討が必要であった。被覆素材を沈渣と密着させて折り畳むと細胞分布が均等であったが、沈渣に対し折り畳み面が大きい場合、辺縁部への細胞の拡散が認められた (Photo. 4)。

SA 法との比較において、各種被覆素材を用いた場合の TxT 法の検体処理時間は、遠心分離後からティッシュに包みカセットの蓋を閉める工程まで 5 分以内であった。アルシアン青染色では SA 法で用いるアルギン酸がアルシアン青に強陽性に染色されたが、ティッシュのバルブ素材には若干の反応をみるのみであった。また、ティッシュは SA 法に比し、腺癌細胞と繊維が密着しないため、腫瘍細胞の判定が容易であった (Photo. 5)。

免疫染色ではティッシュとの非特異的反応に関しても検証を行った。TTF-1 抗体およびサイトケラチン 7 抗体を用いた免疫染色において加熱による抗原性賦活化を行った

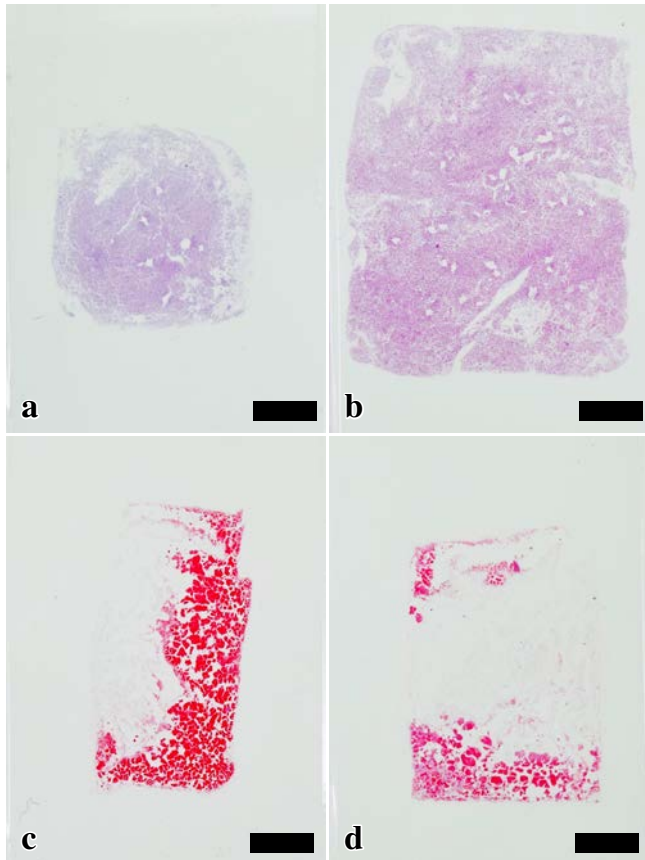


Photo. 4 Relationship between wrapping area and cell-clot distribution. In concordance with cell-clot volume and wrapping area, cells were uniformly distributed (a, b). However, with a lesser volume of cell-clots, cells were peripherally and unevenly distributed (c, d) (HE staining, bar = 5 mm).

が、ティッシュへの共染や剥離を生じず、背景のティッシュによる癌診断への影響は全く認められなかった (Photo. 6).

IV. 考 察

CB は 1896 年に Bahrenburg²⁴⁾ によって 2 人の患者の腹水から作製されたことが始まりといわれている。その後、多種多様な CB 作製方法が報告されているが、標準化されていないのが現状である。

遠心分離細胞収集法や試薬添加による細胞凝固・固化法では、細胞の取り出し時に容器内に細胞が残存する問題があり、それを防ぐためポリエチレン (PE) で作られた綿棒チューブ¹⁵⁾ やスポイト¹⁸⁾ などが応用されてきた。PE は接着性が悪い特性を持っており、剥離しやすく柔らかな材質なので、集細胞容器として使用されてきた。試薬添加によ

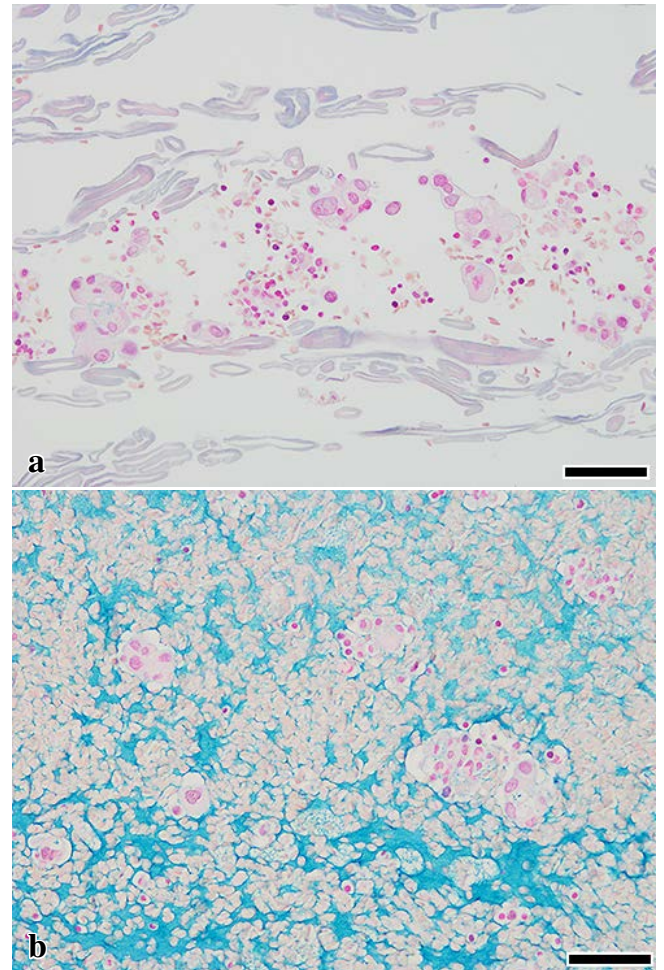


Photo. 5 Effect of alcian blue staining on tissue paper fibers and wrapping materials. Although tissue paper fibers were faintly stained by alcian blue, recognition of adenocarcinoma cells was straightforward and never interfered with (a). In the sodium alginate technique, materials were deeply stained with alcian blue. Adenocarcinoma recognition was not easier than that of the TxT sample (b) (bar = 50 μ m).

る細胞凝固・固化法では、試薬の事前準備・調整を行うことが必須で、ただちに CB の作製を行うことができない短所がある。また、濾紙¹⁷⁾ やクルパック²²⁾ などを使用した方法においては、細胞が繊維間に潜り込むため完全に剥離させることが困難で包埋時に細胞のロスを生じてしまう。

今回、われわれの CB 作製法はこれまでに報告があったティッシュペーパー²⁵⁾、レンズペーパー²⁶⁾ を用いた方法と異なり、細胞沈渣を包み込む (被覆する) ことで、作製過程で生じる細胞のロスがなく、細胞塊と被覆素材を一括に薄切が可能で、さらに特別な容器・器具や試薬の準備を必要としないなど、CB の作製が極めて簡便かつ短時間に片行える点が優れているといえる。

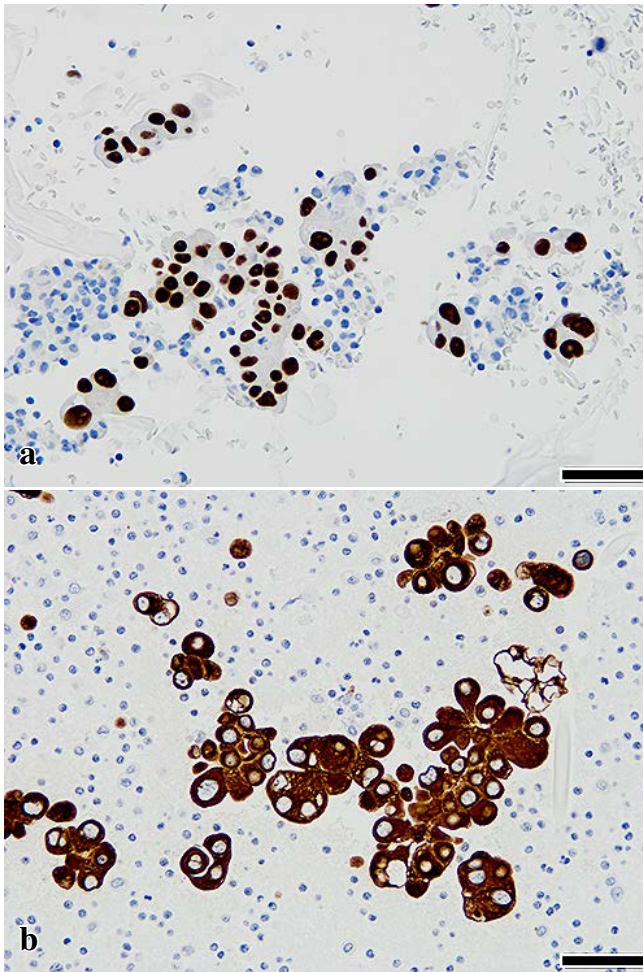


Photo. 6 Immunostaining for TxT captured samples. Non-specific staining was not obtained for immunostaining of TTF-1 (a) and cytokeratin 7 (b). Cancer diagnosis was perfectly completed (bar = 50 μ m).

被覆素材の選択には、パラフィンの浸透性および素材の耐久性、細胞沈渣と素材が分離することなく薄切可能であることに加え、細胞形態に影響を及ぼさないことが重要といえる。ティッシュを用いた CB の作製は池田ら²⁵⁾も検討しているが、2枚組のティッシュを1枚ずつに分けて細胞沈渣を挟む手法で、操作性や細胞の漏出についての記載は認められなかった。使用するティッシュの材質に関しては、なるべく薄くて繊維の隙間が細かいものが望ましいと述べている。しかし、われわれの検討ではティッシュ1枚の際、繊維間隙が大きくなると同時にペーパー自体の強度が弱く、取り扱いが困難であった。パルプ（植物繊維）を原料とするペーパーと細胞の関連性をワンギーソン染色によって確認した。繊維間隙は均一ではなく、疎の部分では細胞集塊よりも間隙が大きかったが、2枚に重ねることで間隙が小さくなっていた（Photo. 7）。つまり、繊維間隙の狭小なティッシュ2枚組を用いるほうが、パラフィンの浸

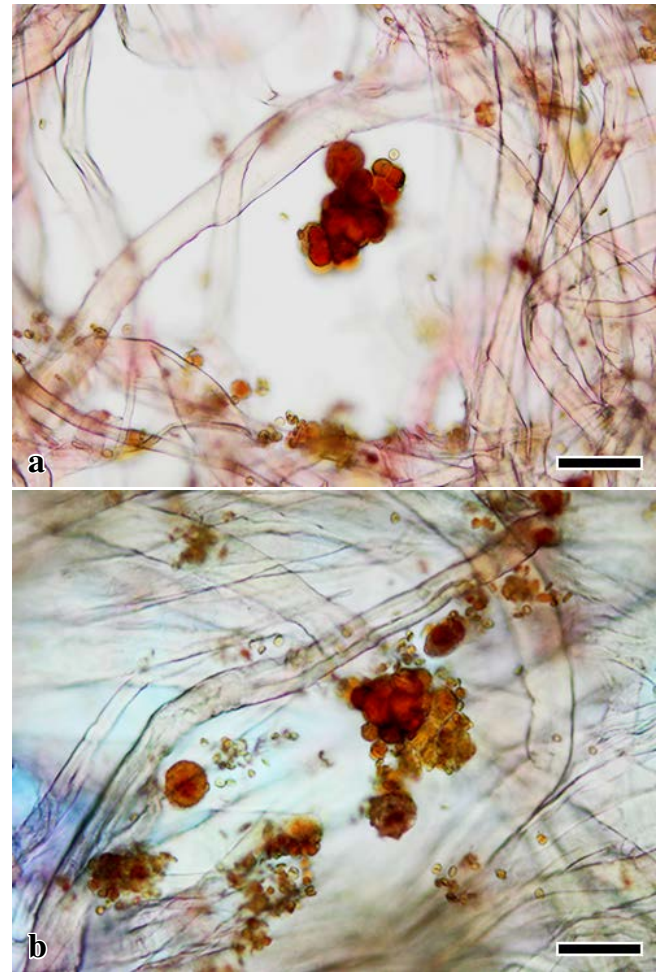


Photo. 7 Relation of fiber gaps and tissue paper numbers. When using single-layer tissue paper, fiber gaps were widened and cells easily penetrated through these gaps (a). Double-layered tissue paper made narrower fiber slits, and fewer cells were penetrated and preserved in the tissue paper (b) (van Gieson staining, bar = 50 μ m).

透性と折り畳まれたティッシュの取り扱いが確実で、かつ破損や腫瘍細胞の漏れ出しを防ぐ最適な被覆素材であると考えられた。

佐藤ら²³⁾はクルパックを用いた CB で悪性リンパ腫の診断が可能と報告している。クルパックによる CB でも腫瘍細胞数が十分であれば問題なく診断が可能である。しかし、クルパックは間隙が大きく、腫瘍細胞が漏れ出すことから、他のサンプルへのコンタミネーションが危惧される。

今回使用したパルプ素材のティッシュは、メーカーによる CB 作製の取り扱いに差は認められなかったが、保湿性の高い「鼻セレブ（王子ネピア）」など高級ティッシュでは、柔らかく加工されているため包みにくくコスト高となる。また、再生紙 100% のティッシュでも TxT 法には使用可能であるが、不純物の混入の可能性が懸念される。

ティッシュはパラフィンが浸透すると透過性が良くなり、被覆した細胞沈渣の確認を行うことができる。目視での確認が困難な微量沈渣では、ホルマリン固定時にヘマトキシリンを1滴添加し着色することで、検体処理や薄切時の確認が容易であった。

当院では、このTxT法をCBに限らず、超音波内視鏡下穿刺吸引法 (endoscopic ultrasound-fine needle aspiration : EUS-FNA) で得られた検体、TURにより断片化した膀胱腫瘍や凝血塊中に含まれる子宮内膜片など崩れやすい組織検体においても応用を拡大している。

V. 結 語

がんゲノム医療の進歩により免疫組織化学的検索や遺伝子変異解析が求められる昨今、組織材料と同等の結果が得られるCBは病理診断に必要不可欠である。しかし、その作製方法がルーチン業務の負担となつてはならず、検体処理の確実性、利便性、さらには迅速性が求められている。

前準備の必要がなく、集細胞からブロック作製までの操作が簡便で細胞の紛失がないTxT法は経験の有無を問わず、細胞病理学の発展および実臨床に寄与するCB作製法と考える。

筆者らに開示すべき利益相反はありません。

本論文の要旨は第57回日本臨床細胞学会秋期大会(2018年11月、神奈川)において報告した。

Abstract

Objective : The cell block technique is useful for both final diagnosis and determining suitable cancer treatment. We invented and developed a novel unique cell block technique using tissue paper named "tissue/cell clots-by-tissue capture technique" (TxT technique).

Study Design : We examined 20 out of 96 samples of cavity fluid submitted for cytology, and further checked each TxT step and the quality of various wrapping materials. The effects of alcian blue stain for sodium alginate (SA) and TxT samples were also investigated. Quantification of immunostaining for samples obtained by TxT technique was performed.

Results : Handling of double-layered tissue was easier and more useful for tissue sectioning. Only minimal cell loss through fiber slits was observed. Tissue fibers did not affect the final diagnosis without unfavorable alcian blue stain or immunostaining results.

Conclusion : The cell block technique is essential for pathological diagnosis. Advanced preparation was not necessary for the TxT technique, and the procedure from cell sampling to preparation of paraffin blocks was very easy and quick. These preliminary results demon-

strated that this technique could offer a major contribution to the further development of cytopathology and determination of cancer treatment.

文 献

- 1) 日本乳癌学会, 編. 乳癌診療ガイドライン2 疫学・診断編 (第4版). 東京: 金原出版; 2018.
- 2) 日本肺癌学会, 編. 肺癌診療ガイドライン (第5版). 東京: 金原出版; 2018.
- 3) Wolff, A. C., Hammond, M. E., Hicks, D. G., Dowsett, M., McShane, L. M., Allison, K. H., et al. American Society of Clinical Oncology : College of American Pathologists. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer : American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. J Clin Oncol 2013 ; 31 : 3997-4013.
- 4) Wang, H., Agulnik, J., Kasymjanova, G., Wang, A., Jiménez, P., Cohen, V., et al. Cytology cell blocks are suitable for immunohistochemical testing for PD-L1 in lung cancer. Ann of Oncol 2018 ; 29 : 1417-1422.
- 5) 福島範子, 朝隈蓉子. セルブロック (cell block) 法. 検と技 1975 ; 3 : 49-54.
- 6) 畠山重春, 和泉智子, 倉若志保. 液状検体よりのセルブロック標本の作り方. Medical Technology 1999 ; 27 : 613-618.
- 7) 佐野順司, 吉本尚子, 溝口良順, 齊藤みち子. アルギン酸ナトリウムを用いたセルブロック法有用性についての検討. 日臨細胞会誌 2005 ; 44 : 291-297.
- 8) 伊藤 仁, 小山田裕行, 加戸伸明, 芹澤昭彦, 宮嶋葉子. セルブロック作製法と特殊染色 (胸腹水). 病理と臨 2010 ; 28 : 1136-1140.
- 9) 神谷 誠, 竹崎悌二, 富澤雄一, 岩佐和彦, 中里洋一. グルコマンナンを用いたセルブロック作製法. 病理と臨 2006 ; 24 : 871-875.
- 10) 牛島友則. 細胞診断および免疫染色に有用 cell block 標本の作製法. 検と技 2005 ; 33 : 19-26.
- 11) 川嶋活彦, 田丸盛夫, 野尻順子. 寒天を用いたセルブロック法. 病理技術 1983 ; 27 : 24-26.
- 12) 兵頭直樹, 則松良明, 大崎博之, 森田 渚, 高石裕子, 木下幸正・ほか. 新しいセルブロック作製法 (パラフィン・寒天サンドイッチ法) の考案と比較検討. 医学検査 2015 ; 64 : 600-604.
- 13) 濱川真治, 柏崎好美, 櫻井 勉, 小坂美絵, 近藤洋一, 倉品賢治・ほか. クライオバイアルを用いた簡易セルブロック作製法. 病理技術 2006 ; 69 : 18-19.
- 14) 濱川真治. 体腔液細胞診塗抹標本・セルブロック作製におけるピットホール. 検と技 2016 ; 44 : 426-429.
- 15) 信広亮輔, 柴田 淳, 小林 剛, 脇本真帆, 佐々木なおみ. 消化器および体腔液細胞診における簡易セルブロック作製法併用の有用性. 医学検査 2015 ; 64 : 196-201.
- 16) Marcos, R., Santos, M., Marrinhas, C., Caniatti, M. Cell tube

- block : a new technique to produce cell blocks from fluid cytology samples. *Vet Clin Pathol* 2017 ; 46 : 195-201.
- 17) Karishma, M. D., Punnya, V. A., Alka, D. K., Seema, H. Modified alcohol-formalin cell block technique in head and neck pathology diagnosis. *Acta Cytol* 2018 ; 62 : 39-43.
- 18) 西原和代, 松井美智代, 下山玲子, 佐々木志保, 藤中浩樹, 島津宏樹・ほか. ポリエチレン製使い捨てピペットと袋オートブラートを利用した簡単なセルブロック作製法 (ピペット・オートブラート法). *日臨細胞会誌* 2012 ; 51 : 329-332.
- 19) 坂東美奈子, 広川満良. コロジオンバッグを用いたセルブロック作製法. *臨床検査* 1994 ; 38 : 1335-1338.
- 20) 三宅康之, 福屋美奈子, 鐵原拓雄, 畠 榮, 北堀美奈, 藤井美佳・ほか. 胸腹水におけるコロジオンバッグを用いたセルブロック組織診の意義. *臨床検査* 1997 ; 41 : 595-597.
- 21) 夏目園子, 新福正人, 佐竹立成, 丸山孝夫, 鷺見成晴, 金子正博. 子宮内膜細胞診におけるセルブロック法の検討. *日臨細胞会誌* 1991 ; 30 : 657-661.
- 22) 太田 歩, 佐藤恵子, 藤井千登勢, 藤井里佳, 野間麻美, 高野千代美・ほか. 当センターにおけるセルブロック作製法とその有用性について—子宮内膜細胞診を中心に—. *広島臨床検査* 2015 ; 4 : 13-18.
- 23) 佐藤恵子, 高橋里佳, 藤井千登勢, 岡田美恵子, 栗田浩子, 吉藤彩子・ほか. セルブロック法を活用した体腔液細胞診の診断. *日臨細胞広島会誌* 2013 ; 34 : 47-53.
- 24) Bahrenburg, L. On the diagnostic result of the microscopical examination of the ascitic fluid in two cases of carcinoma involving the peritoneum. *Cleveland Med Gaz* 1896 ; 11 : 274-278.
- 25) 池田雅一, 三井秀昭, 鈴木健久, 矢澤卓也, 伊藤隆明, 北村均. 日常的に使用している器具を用いたセルマイクロレイパラフィンブロック作製法の検討 (セルブロック作製を中心に). *医学検査* 2004 ; 53 : 288-294.
- 26) 舟橋信司, 平塚友香莉, 中村淳博, 岡本清尚. 当院におけるレンズペーパーを用いたセルブロック作製法とその有用性について. *高山赤十字病院紀要* 2014 ; 38 : 3-6.

症 例

HIV 関連 Burkitt lymphoma の 1 例

——剖検時に採取された脳脊髄液の細胞像——

本山 高啓¹⁾ 松田 勝也¹⁾ 上木 望¹⁾ 里 翼²⁾

穴見 正信³⁾ 新野 大介⁴⁾ 中島 正洋¹⁾

長崎大学原爆後障害医療研究所腫瘍・診断病理学¹⁾, 長崎みなとメディカルセンター病理診断科²⁾, 長崎病理診断科³⁾,
佐世保市総合医療センター病理診断科⁴⁾

背景：HIV 関連 Burkitt lymphoma (BL) の細胞像の 1 例を経験したので報告する。

症例：60 歳代，日本人男性。髄膜脳炎に罹患し HIV 感染が判明した。左腋窩リンパ節腫瘍が出現し，生検を施行。HE 染色では大型異型細胞がびまん性に増殖し diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) が疑われた。しかし，免疫組織化学では CD10, Bcl-6 が陽性，CD3, Bcl-2 が陰性，Ki-67 標識率 95%，c-Myc 陽性率 84% を示し，B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and BL と診断され化学療法が施行されたが，寛解せず永眠された。剖検時に採取した脳脊髄液細胞診では中型～大型細胞が孤立性に出現し，核の多形性を認めた。ギムザ染色では腫瘍細胞の 59% に細胞質内空胞が認められ，BL が示唆された。

結論：本邦での HIV 関連 BL は非典型的な細胞像を示すことが多いため，ギムザ染色での細胞所見が重要となる。

Key words : HIV-associated lymphoma, Burkitt lymphoma, Cytology, Case report

I. はじめに

本邦において，バーキットリンパ腫 (Burkitt lymphoma : BL) は小児に多く，小児悪性リンパ腫の約 30～40% を占めるが，成人では 1% とまれである¹⁾。一方，HIV 感染者 (平均年齢 45.4 歳) ではびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma : DLBCL) が 50.2% と多いものの，BL が 27.5% 発生するとされ，成人での BL 発生率が高いことが報告されている²⁾。

本邦における HIV 関連 BL は，病理組織学的に典型的な BL の像を示すことは少なく，多くは DLBCL に類似した像を示すと報告されている^{2,3)}。

今回，HIV 関連 BL 剖検例の脳脊髄液細胞診所見を中心に，文献的考察を加えて報告する。

A case of HIV-associated Burkitt lymphoma diagnosed via cytology of cerebrospinal fluid collected at autopsy

Takahiro MOTOYAMA¹⁾, C. T., J. S. C., Katsuya MATSUDA¹⁾, C. T., I. A. C., Nozomi UEKI¹⁾, M. D., Tsubasa SATO²⁾, C. T., I. A. C., Masanobu ANAMI³⁾, C. T., I. A. C., Daisuke NIINO⁴⁾, M. D., Masahiro NAKASHIMA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Tumor and Diagnostic Pathology, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University

²⁾Department of Pathology, Nagasaki Harbor Medical Center City Hospital

³⁾Nagasaki Diagnostic Pathology Clinic

⁴⁾Department of Pathology, Sasebo City General Hospital

論文別刷請求先 〒 852-8523 長崎県長崎市坂本 1 の 12 の 4 長崎大学原爆後障害医療研究所腫瘍・診断病理学 本山高啓

平成 31 年 3 月 1 日受付

平成 31 年 4 月 25 日受理

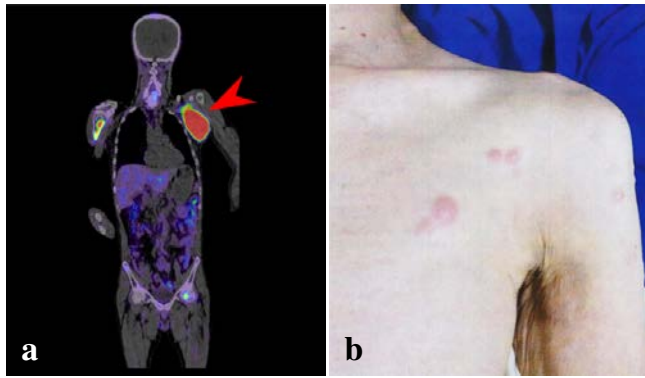


Photo. 1 SPECT-CT (a) and Macroscopic (b) findings of left anterior chest, axilla, and upper arm. a : A mass 10 cm in diameter is seen in the left axilla. b : A slightly elevated reddish lesion can be observed in the left anterior chest, axilla, and upper arm.

II. 症 例

患 者：60 歳代，日本人男性。

主 訴：全身倦怠感。

既往歴：水痘带状疱疹ウイルス性 (varicella zoster virus : VZV) 髄膜脳炎。

現病歴：VZV 髄膜脳炎で近医へ入院後，HIV 感染症 (HIV-RNA 量：110000 copies/ml，CD4 陽性 T 細胞数：146/ μ l) が判明し，抗レトロウイルス療法 (anti-retroviral therapy : ART) を開始した。その後，長崎大学病院に転院し HIV 感染に対する治療を継続していた。ART 療法を開始し約 1 年後には，HIV-RNA 量が検出限界以下 (<20 copies/ml)，CD4 陽性 T 細胞数が 150~170/ μ l と経過は良好であったが，左腋窩リンパ節腫瘍が出現し (Photo. 1a)，生検にて DLBCL と診断された。Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) 療法を行ったが，腫瘍の増大傾向がみられたため病理診断が見直され，2008 年 WHO 分類の B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and BL (iDLBCL/BL) へと変更された。投薬を etoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide, and doxorubicin hydrochloride (EPOCH) へ切り替えると腫瘍の縮小傾向を認めた。しかし，EPOCH の 2 コース目から左前胸部，左腋窩および左上腕部に小隆起性皮膚病変が認められたため (Photo. 1b)，rituximab を追加し病変部の消退を確認した。その後，頭部 X 線 CT および MRI で水頭症と中枢神経浸潤が指摘された (Photo. 2)。徐々に意識レベルが低下し，水頭症の診断から約 1 ヶ月後に永眠された。

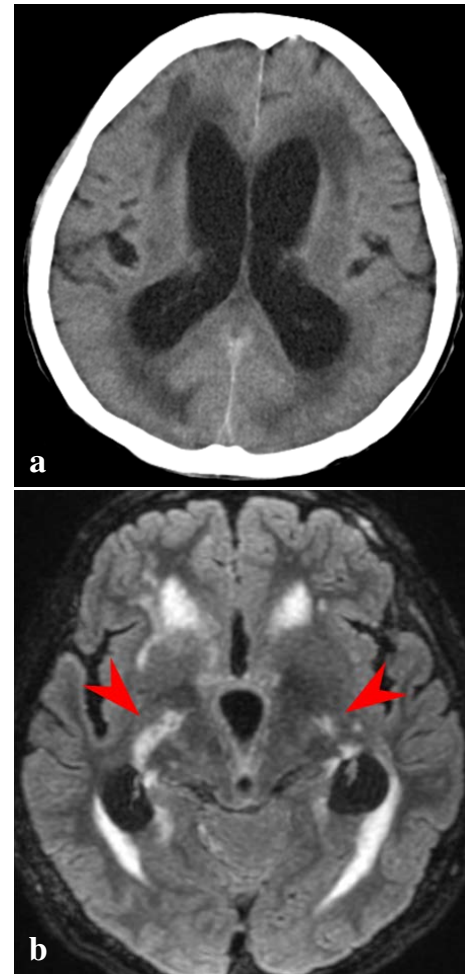


Photo. 2 Head CT scan (a) and MRI-FLAIR (b). a : Ventricles are abnormally enlarged. b : A high signal area is detected in the perivascular cavity of the basal ganglia.

III. 病理組織所見

左腋窩リンパ節生検では異型細胞のびまん性増殖を認めた (Photo. 3a)。大型異型細胞を主体とし，核の多形性高度，多数の核片を貪食した組織球と核分裂像を認め (Photo. 3b)，starry sky appearance を示した。免疫組織化学では CD20，CD79a が陽性，cytokeratin (AE1/AE3)，CD3 が陰性であり DLBCL と診断された。(Photo. 3c, d) 治療反応性が低いため，病理診断のコンサルテーションを行った。その際，免疫組織化学で CD10，Bcl-6 陽性，Bcl-2，MUM-1 陰性，Ki-67 標識率 95%，c-Myc 陽性率 84% (Photo. 3e) が確認され，iDLBCL/BL と診断された。

左上腕部皮膚病変の生検では真皮浅層から深層にかけ

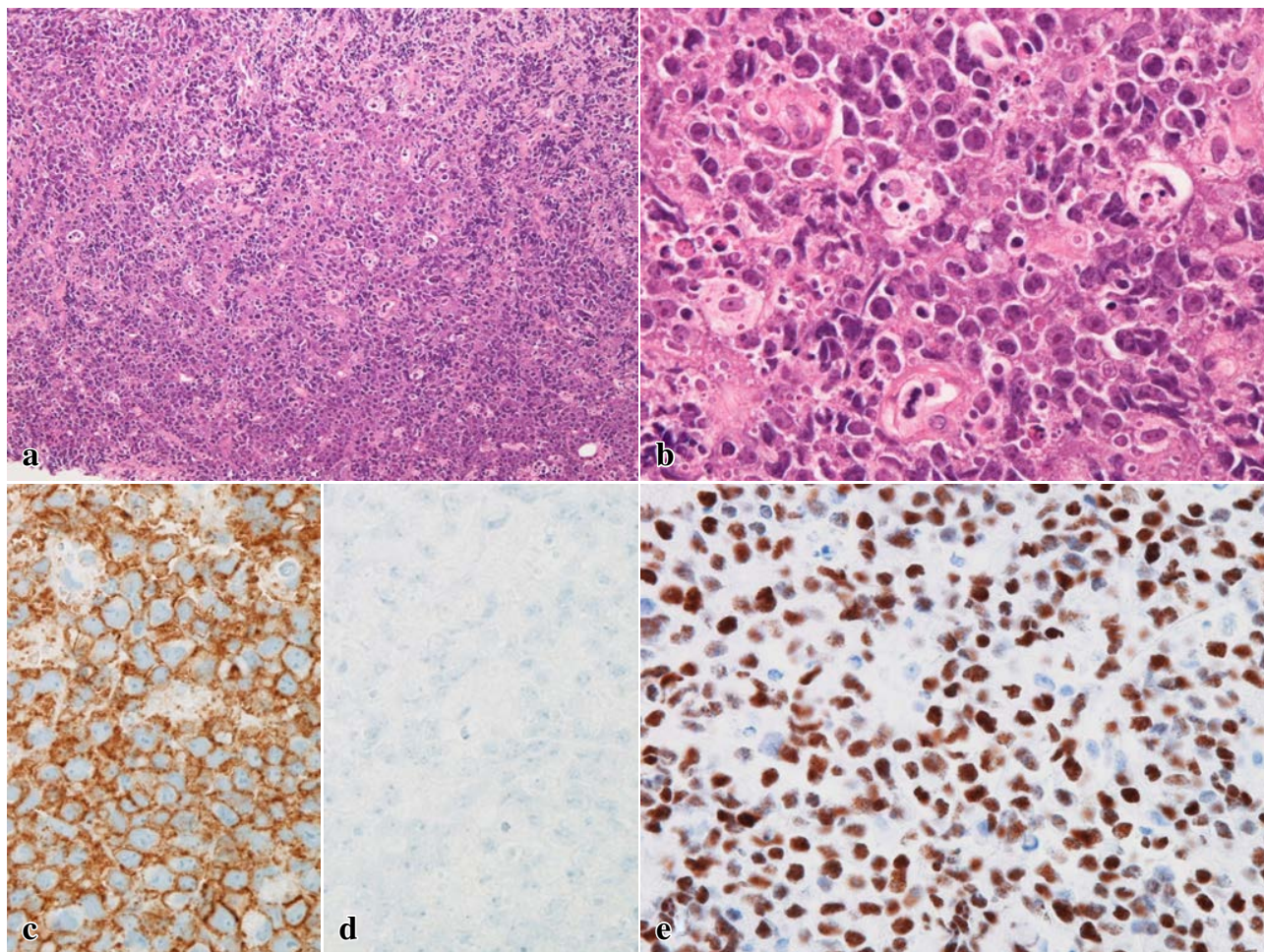


Photo. 3 Histological findings of axillary lymph node biopsy. Diffuse proliferation of neoplastic lymphoid cells (a) and starry sky appearance and mitosis (b) are seen on H & E staining (a, $\times 10$, b, $\times 40$). Immunohistochemistry (IHC) of CD20 (c), CD3 (d), and c-Myc (e) (c-e : IHC, $\times 40$).

て、異型細胞のびまん性増殖を認めた。免疫組織化学の結果は腋窩リンパ節と同様であった。なお、Epstein-Barr virus encoded small RNA-*in situ* hybridization (EBER-ISH) は陰性であった。以上の結果より iDLBCL/BL の転移と診断した (Photo. 4)。

IV. 細胞所見

剖検 (死後 14 時間 30 分) 時に採取した脳脊髄液では、N/C 比の高い中型～大型細胞を孤立散在性に認めた。核にはくびれや切れ込みなどの著明な核形不整が観察された。核クロマチンは微細顆粒状に増量し、1～数個の明瞭な核小体を認めた (Photo. 5a, b)。ギムザ染色では、好塩基性細胞質を有し、腫瘍細胞の 59% に細胞質内空胞が認められた (Photo. 5c)。また、核崩壊した細胞や核片を貪食した組織球いわゆる tingible body macrophage (TBM) も散見さ

れ (Photo. 5d)、BL を推定し悪性リンパ腫と報告した。

V. Flow cytometry 解析

剖検時に採取された脳脊髄液で flow cytometry が施行され、CD10、CD19、CD20 陽性で κ/λ 比の高い細胞を多く認めた。

VI. 考察

これまでに日本臨床細胞学会雑誌において、HIV 関連悪性リンパ腫 (HIV-associated lymphoma : HAL) の報告は鳥羽らが報告した primary effusion lymphoma (PEL) の 3 例⁴⁾ のみで、BL や DLBCL の報告はない。BL は古典的にはアフリカの小児に発生するきわめて進行の早い B 細胞性リンパ腫で、95% 以上の症例で EBV が関与している。一方、日

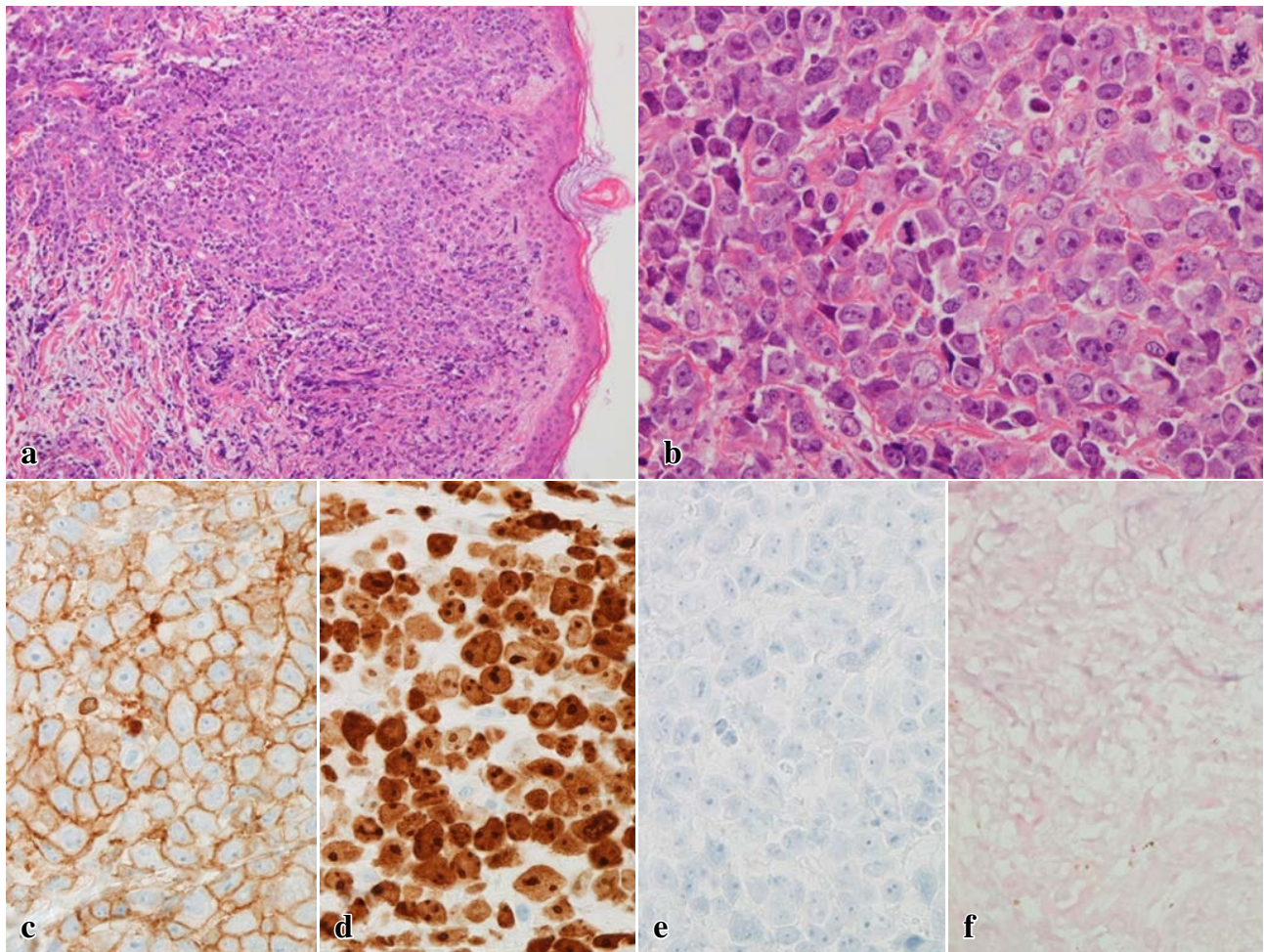


Photo. 4 Histological findings of skin lesions. Diffuse proliferation of neoplastic lymphoid cells (a). Severe nuclear atypia with a prominent nucleoli (b) (H & E staining, a $\times 10$, b $\times 40$). CD10 tests positive (c) and the Ki-67 labeling index is 95% (d). Tumor cells test negative for Bcl-2 (e) and Epstein-Barr virus encoded small RNA *in situ* hybridization (EBER-ISH) (f) (c-e : IHC, $\times 40$, f : *in situ* hybridization, $\times 40$).

本や欧米では小児のみならず高齢者にも発生し, EBV 陽性率が低値 (約 30%) であることが報告されている^{2,3)}. しかし, EBV 感染の有無にかかわらず BL では *MYC* 遺伝子異常が高率に検出される^{5,6)}ため, *MYC* 遺伝子異常の検出が BL の診断において重要となる. 一方, DLBCL はあらゆる年齢に発症する非ホジキンリンパ腫の最も一般的な組織型であるが, 亜型によって病態や予後が異なることが知られている^{5,6)}. これらのリンパ腫の中には形態的特徴と免疫組織化学および遺伝子解析結果の乖離によって, BL と DLBCL の中間的な特徴を示す症例も少なくない. このような特徴を示すリンパ腫は 2008 年 WHO 分類の iDLBCL/BL に該当する⁵⁾. iDLBCL/BL の中には *MYC*, *BCL-2*, *BCL-6* 遺伝子の再構成によるいわゆる double-hit あるいは triple-hit lymphoma に含まれる例も存在するが⁵⁾, 2017 年 WHO 分類では High grade B-cell lymphoma (HGBL) に変

更され, 遺伝子再構成の有無を明記することとなった⁶⁾. しかし, HAL では double-hit lymphoma, triple-hit lymphoma はほとんど認められず, DLBCL と BL の鑑別が困難な症例であっても HGBL を用いることは推奨されていない³⁾. また, 本邦の HAL 症例では, 典型的な組織像をとる BL はむしろ少数で, 形態学的特徴と免疫組織化学および遺伝学的解析結果が乖離する症例も報告されている^{2,3)}. HIV 関連 BL の免疫組織化学では CD10, CD20 および Bcl-6 陽性, Bcl-2 陰性の典型的な BL のパターンをとり *MYC* 遺伝子の異常も認められるが, 細胞が大型で多形性に富む例が多く, しばしば starry sky appearance を欠く. Ota ら²⁾は, 形態学的に DLBCL を考慮すべき症例でも, 免疫組織化学や *MYC* 遺伝子再構成解析で BL のパターンをとる症例は現在では BL の範疇に含めると報告している.

本例では *MYC* 遺伝子解析に適した DNA が採取できず,

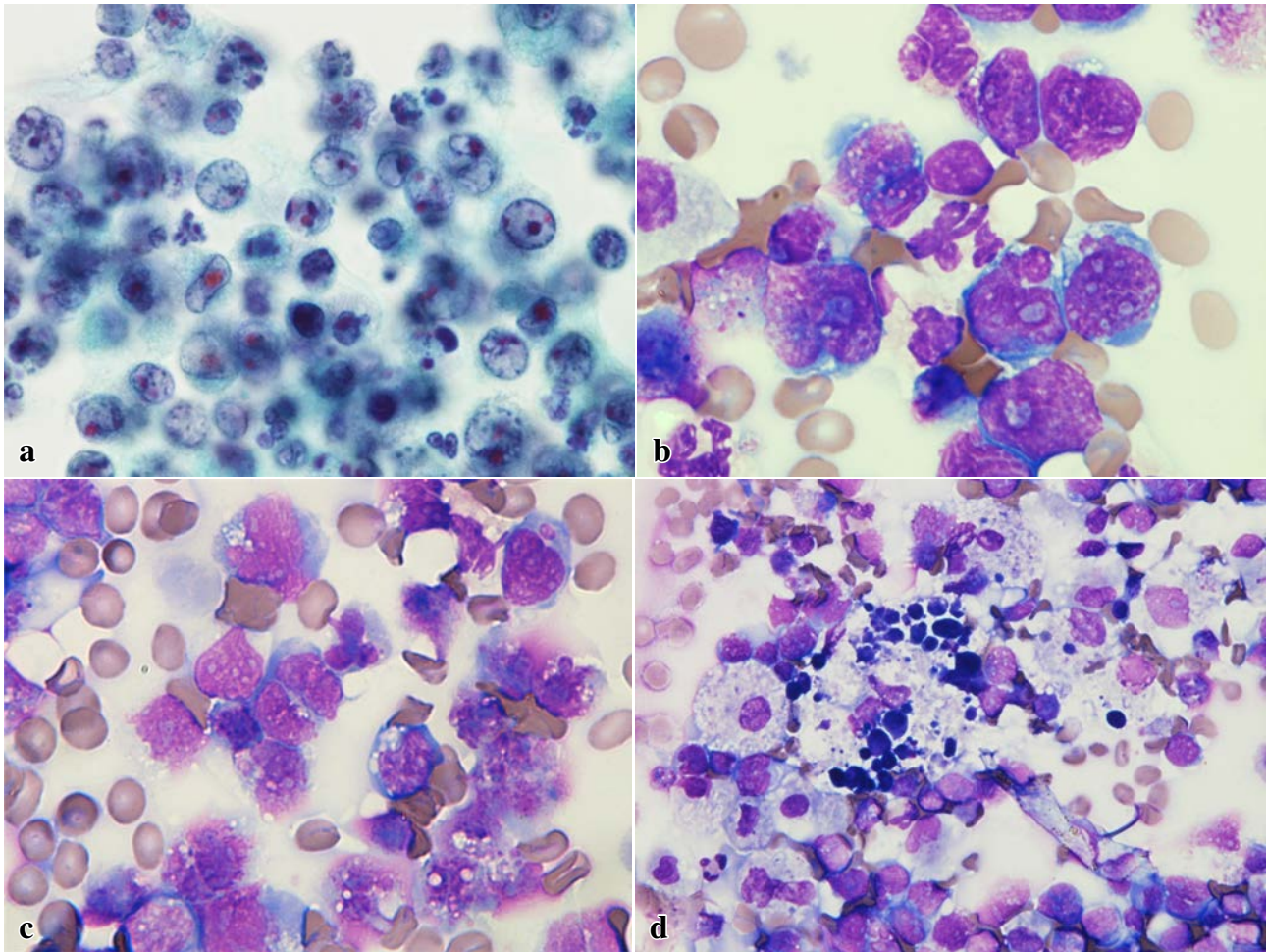


Photo. 5 Cytological findings of cerebrospinal fluid at autopsy. Large tumor cells with severe nuclear atypia are observed (a : Pap. staining, $\times 100$, b : Giemsa staining, $\times 100$). Small vacuoles can be seen in the basophil cytoplasm. Tingible body macrophages can be observed (c, d : Giemsa staining, $\times 80$).

遺伝子異常の有無については確認できなかった。しかし免疫組織化学的に c-Myc 陽性率が高い症例では高頻度に MYC 遺伝子異常が検出されるため⁷⁾、本例においても MYC 遺伝子再構成を伴う可能性が示唆された。

BL の捺印細胞診では、異型が乏しい中型リンパ球が出現するが、一部には核のくびれや切れ込みを有する。組織学的特徴である starry sky appearance と同様の所見が特にギムザ染色で観察され、パパニコロウ染色では、TBM がみられる。さらに細胞質には多数の細胞質内空胞を有し、脂肪染色で陽性を示す^{8~11)}。本例の細胞像では、著明な核形不整を伴う大型異型リンパ球と TBM が出現し、細胞質内空胞が高頻度に認められた。しかしこの細胞所見は脳脊髄液細胞診の所見であり、捺印細胞診所見とは異なる可能性がある。本例では脳脊髄液でのみ細胞診が施行されたため、捺印細胞診像との比較はできなかったが、一般に、脳脊髄液などの液状検体では、細胞膨化や細胞質の空胞化な

どの細胞変性を伴うことが多いとされている¹²⁾。さらに本例は化学療法後の剖検例であるため、上述した細胞所見が細胞変性の影響である可能性も否定できない。そこでホルマリン固定パラフィン切片上で脂肪滴膜タンパクの検出が可能で、BL で高率に陽性を示すと報告されている¹³⁾抗 anti-adipocyte differentiation-related protein (adipophilin ; Perilipin-2) 抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。その結果、左腋窩リンパ節および皮膚病変部生検組織のどちらも抗 Perilipin-2 陽性を示したため (Photo. 6)、細胞診で認められた細胞質内空胞は変性所見ではなく脂肪滴であると考えられた。BL の捺印細胞診標本での細胞質内空胞出現率は DLBCL に比べて高率であるという報告もあり¹¹⁾、ギムザ染色標本における高率な細胞質内空胞は BL を診断するうえで重要な所見であると考えられた。

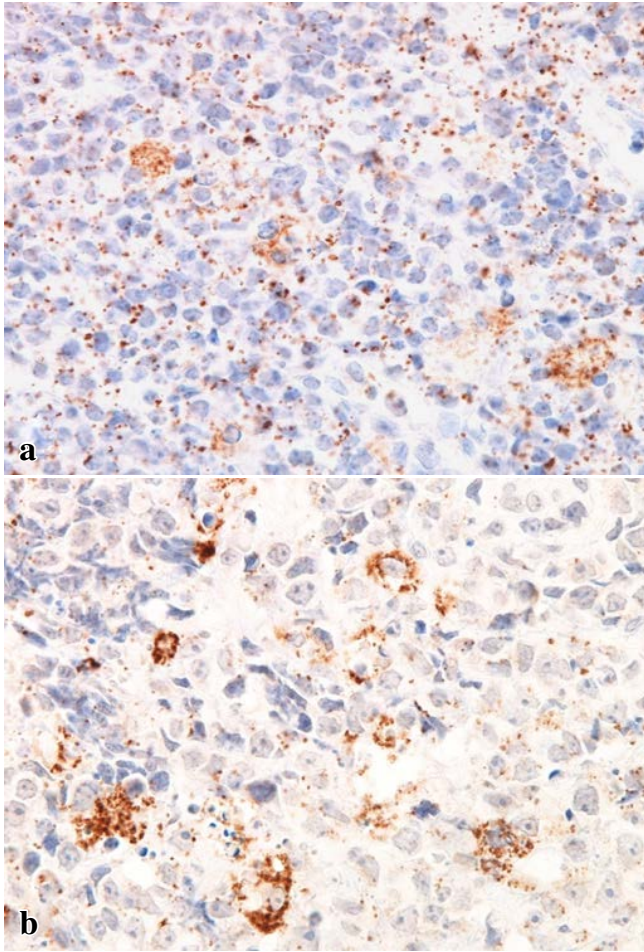


Photo. 6 Immunohistochemical findings for Perilipin-2 (adipophilin). Perilipin-2 tests positive in the cytoplasm of the tumor biopsies from the axillary lymph node (a) and skin lesion (b) (a, b : IHC, $\times 40$).

VII. 結 語

DLBCLとBLの鑑別は治療法を選択するうえで重要であるが、HALの臨床病理学および細胞学的特徴を念頭に細胞像を観察することで、HIV関連BLの推定診断が可能であると思われた。細胞質内空泡は組織診では観察できずギムザ染色標本での特徴的所見であるため、HIV関連BLの診断に際して、ギムザ染色での細胞所見が重要となる。

今回は遺伝子異常の有無について確認できなかったが、BLの診断には遺伝子解析が必須であり、それに供するための検体採取に留意することも重要である。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

謝辞 本症例の診断にご協力いただいた久留米大学医学部病理学

講座の大島孝一先生、三好寛明先生、長崎大学原爆後障害医療研究所血液内科学の宮崎泰司先生、中島 潤先生、同放射線災害医療学の鈴木啓司先生に深謝いたします。

Abstract

Background : We report herein on an autopsy case of Burkitt lymphoma (BL) in an HIV-infected patient.

Case : An HIV-positive Japanese male in his sixties with a history of meningoencephalitis developed a left axillary lymph node mass, and a biopsy was performed. H & E staining of the specimen showed diffuse proliferation of atypical large lymphoid cells, which suggested diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). The immunohistochemical findings revealed that tumor cells were positive for CD10, Bcl-6, and were negative for CD3 and Bcl-2. c-Myc was positive in 84% of the tumor cells and the Ki-67 labeling index was 95%. Taken together, the diagnosis was B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and BL. The patient died due to central nerve invasion of the tumor despite chemotherapy. At autopsy, a cytological examination was performed employing cerebrospinal fluid. Papanicolaou staining showed moderate to large tumor cells with pleomorphic nuclei. Cytoplasmic vacuoles were observed by Giemsa staining in 59% of the tumor cells, which suggested BL.

Conclusion : HIV-associated BL often presents with atypical morphological findings especially in the Japanese population. Intracytoplasmic vacuoles seen in Giemsa-stained specimens is one of the important features in diagnosing BL.

文 献

- 1) 森 鉄也. 小児白血病リンパ腫治療の背景とエビデンス 非ホジキンリンパ腫 成人と小児で非ホジキンリンパ腫の病理組織型の違いはなんですか? . 小児内科2007 ; 39 : 2216-2218.
- 2) Ota, Y., Hishima, T., Mochizuki, M., Kodama Y., Moritani, S., Oyaizu, N., et al. Classification of AIDS-related lymphoma cases between 1987 and 2012 in Japan based on the WHO classification of lymphomas, fourth edition. Cancer Med 2014 ; 3 : 143-153.
- 3) 大田泰徳, 比島恒和, 望月 眞, 児玉良典, 片野晴隆. Current Topics エイズ関連リンパ腫の病理診断. 病理と臨 2012 ; 30 (2) : 195-203.
- 4) 鳥羽希和子, 峰宗太郎, 村田行則, 飯塚利彦, 猪狩 亨. Extracavitary PEL を含む 3 例の HHV-8 陽性 AIDS 関連悪性リンパ腫の細胞学的検討. 日臨細胞会誌 2014 ; 53 (6) : 419-426.
- 5) Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al. World Health Organization Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon : IARC Press : 2008. 214-217.
- 6) Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al. World Health Organization Classification of

- Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon : IARC Press ; 2017. 291-297, 330-341.
- 7) Kluk, M. J., Ho, C., Yu, H., Chen, B. J., Neuberg, D. S., Dal Cin, P., et al. MYC Immunohistochemistry to Identify MYC-Driven B-Cell Lymphomas in Clinical Practice. *Am J Clin Pathol* 2016 ; 145 (2) : 166-179.
- 8) 栢尾純子, 田丸淳一, 角南勝介, 佐藤武幸, 齊藤 忠, 福本泰彦・ほか. リンパ節穿刺吸引細胞診により診断したt (2 ; 8) バーキットリンパ腫完全寛解例. *日臨細胞会誌* 1998 ; 37 (5) : 520-524.
- 9) 鈴木孝夫, 岸本浩次, 北村隆司, 楯 玄秀, 光谷俊幸. 体腔液中に出現したバーキットリンパ腫の1例. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 (3) : 302-303.
- 10) 川上 舞, 北澤恵理子, 佐竹秀夫, 石川 誠, 小川弥生, 高木芳武・ほか. 胸水に出現したバーキットリンパ腫の一例. *日本臨床細胞学会北海道支部会報* 2013 ; 22 : 22-25.
- 11) 今井宏樹, 仲村 武, 岸本浩次, 野崎真仁, 牧野 純, 小山剛司・ほか. 悪性リンパ腫のギムザ染色における細胞質内空胞の検討. *日臨細胞会誌* 2016 ; 55 (4) : 215-223.
- 12) 坂本穆彦, 覚道健一, 本山悌一, 福田利夫, 藤井雅彦, 加藤良平・ほか. 細胞診を学ぶ人のために. 東京 : 医学書院 ; 2011. 279, 295.
- 13) Ambrosio, M. R., Piccaluga, P. P., Ponzoni, M., Rocca, B. J., Malagnino, V., Onorati, M., et al. The alteration of lipid metabolism in Burkitt lymphoma identifies a novel marker : adipophilin. *PLoS One* 2012 ; 7 : 1-7.
-

症 例

臨床的に顎下腺腫瘍が疑われた粘液線維肉腫の 1 例

神田 真規 杉山 佳代 佐々木健司 米原 修治

JA 広島厚生連尾道総合病院病理研究検査科

背景：粘液線維肉腫は四肢の皮下に好発し、頭頸部領域での発生はきわめてまれである。今回われわれは、臨床的に顎下腺腫瘍が疑われた粘液線維肉腫の 1 例を経験したので報告する。

症例：50 歳代，男性。左顎下腺腫瘍の疑いにて，当院耳鼻咽喉科を紹介された。触診では硬結を伴う可動性不良な腫瘍が触知され，細胞診検査が行われた。細胞診標本では出血性背景の中に粘液様物質が認められた。紡錘形核をもつ異型細胞がリンパ球と混在し，散在性から一部集塊状に出現していた。異型細胞の核は大小不同を示し，奇怪な核をもつ大型細胞もみられクロマチンは細顆粒状に増量していた。以上の所見から鑑別困難とし，粘液線維肉腫疑いと診断した。病理組織学的に腫瘍は，顎下腺周囲の軟部組織に発生した粘液線維肉腫であった。

結論：背景の粘液様物質，紡錘形核をもつ異型細胞の増生と核の多形性，さらに奇怪な核をもつ大型細胞を見出すことが粘液線維肉腫を推定できる手掛かりになると考える。

Key words : Myxofibrosarcoma, Aspiration cytology, Differential diagnosis, Case report

I. はじめに

粘液線維肉腫 (myxofibrosarcoma, 以下 MFS) は粘液産生を特徴とする線維芽細胞あるいは筋線維芽細胞由来の悪性腫瘍であり，以前は粘液型悪性線維性組織球腫 (myxoid malignant fibrous histiocytoma, 以下 myxoid MFH) と呼ばれていた。MFS は高齢者の四肢の皮下に好発し，頭頸部発生は極めてまれである。今回われわれは臨床的に顎下腺腫瘍が疑われた粘液線維肉腫の 1 例を経験したので，穿刺吸引細胞所見を中心に報告する。

A case of myxofibrosarcoma suspected of submandibular gland tumor

Masanori KODA, C. T., I. A. C., Kayo SUGIYAMA, C. T., I. A. C., Kenji SASAKI, C. T., I. A. C., Shuji YONEHARA, M. D.

Department of Pathology, JA Onomichi General Hospital

論文別刷請求先 〒 722-8508 広島県尾道市平原 1 の 10 の 23 JA 広島厚生連尾道総合病院病理研究検査科 神田真規

平成 31 年 4 月 2 日受付

令和 元年 8 月 6 日受理

II. 症 例

患 者：50 歳代，男性。

既往歴：大腸癌。

現病歴および経過：前医にて左顎下腺腫瘍を指摘されたことから，精査・加療を目的として当院耳鼻咽喉科に紹介された。触診では左顎下部に，可動性不良な固い腫瘍が触知された。MRI 検査および穿刺吸引細胞診検査で悪性が否定できないことから，左顎下腺を含む腫瘍摘出術を受けた。

MRI 所見：左顎下腺は腫大し，内下部に 31×28×14 mm 大の腫瘍を認めた (Photo. 1)。

細胞学的所見：術前穿刺吸引標本では，血性背景に粘液様物質と散在性に出現する有核細胞成分を認めた。類円形から紡錘形核の異型細胞がリンパ球と混在してみられ，細胞質は淡く細胞境界は不明瞭であった (Photo. 2a)。異型細胞は核形不整と核の多形性を示し，核クロマチンは細顆粒状であった (Photo. 2b)。奇怪な核をもつ大型異型細胞 (Photo. 2c) やライトグリーン好性のコラーゲンと思われる硝子様物質も散見された (Photo. 2d)。

以上の細胞所見より粘液線維肉腫を疑ったが，顎下腺腫瘍

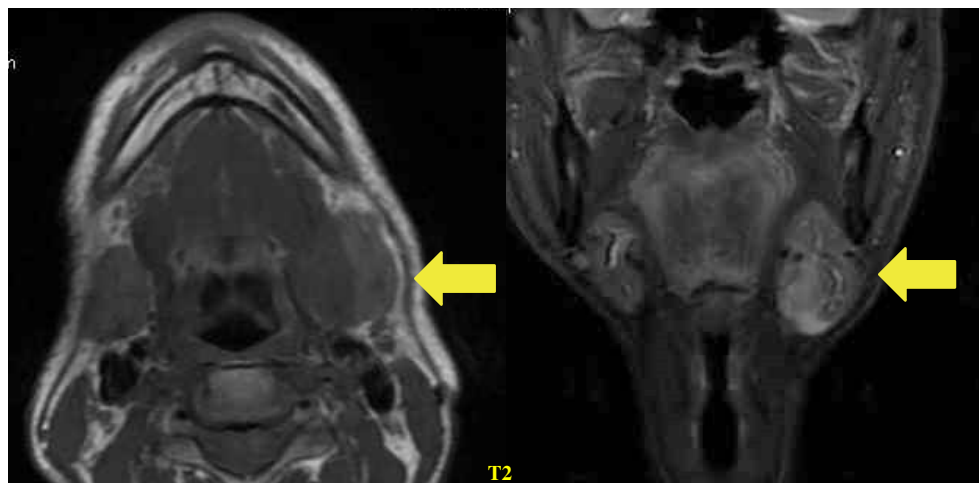


Photo. 1 T1-weighted MRI imaging : The mass size is 31×28×14 mm in the left submandibular gland (arrows).

であることから鑑別困難とした。そして粘液線維肉腫を推定病変に挙げ、組織型確定のため腫瘍摘出を臨床側に促した。

肉眼所見：既存の顎下腺に接して35×30×15 mm大の腫瘍組織を認めた。断面は灰白色充実性で光沢をもつ半透明部分が混在していた (Photo. 3)。

病理組織学的所見：粘液基質を背景に、紡錘形細胞が増殖する腫瘍組織からなっており、粘液腫状の間質に富む部分と、細胞密度が高く核異型が強い部分が混在していた (Photo. 4a)。リンパ球を中心とする炎症細胞の浸潤や、奇怪な大型核をもつ腫瘍細胞も認めた (Photo. 4b)。顎下腺実質ならびに周囲骨格筋への腫瘍細胞の浸潤や、壊死物質は認めなかった。腫瘍内にはcurvilinearと形容される曲線状血管を認めた (Photo. 4c)。免疫染色では、vimentinのみ陽性となり、smooth muscle actin (SMA), desmin, CD34, S-100はすべて陰性で、MIB-1 indexは20%であった。以上の所見から粘液線維肉腫と診断した。

III. 考 察

粘液線維肉腫は、1977年にWiessらがMFHの中でも予後良好なmyxoid variantを提唱したことがはじまりである。同年Angervallらによってmyxofibrosarcomaと呼称され、2018年のWHO分類ではTumor of uncertain differentiationに分類されている腫瘍である^(1,2,3)。MFSは全肉腫の10%を占める比較的頻度の高い腫瘍であり、50～70歳代の中高年に好発する^(4,5)。発生部位は四肢がもっとも多く^(5,6,7)、頭頸部発生の報告例はわれわれが検索したかぎり、世界で20例が報告されているに過ぎない。MFSは細胞密度、異型性の程度、壊死や出血の有無などによりLow,

Intermediate, およびHigh-gradeに分類される^(8,9)。Low-gradeは乏しい細胞成分が豊富な粘液基質と混在し、細長く屈曲した血管が豊富な像を示す。細胞異型は軽度である。High-gradeは広範囲が充実性の病変であり、細胞異型は強く出血や壊死を伴うものである。MFSの再発率は50%以上と高いが、5年生存率は60～70%と比較的予後良好である。Low-gradeの症例では転移の可能性は低い、High-gradeの場合は肺、骨、リンパ節への転移が報告されている。MFSの肉眼所見は、半透明でゼラチン状の断面であり、悪性度が高くなると灰白色調の固い結節が混在する。自験例では肉眼的に灰白色の結節と半透明部分が混在していることや、組織標本上で細胞密度が高い部分が多く、細胞異型が強いためHigh-gradeと考えられた。

MFSの詳細な細胞所見の報告は少ないながら、Olsonらにより穿刺吸引細胞診22例が報告されている。その細胞診判定は多形腺腫、紡錘細胞性腫瘍、肉腫という結果であった。また本腫瘍の細胞学的特徴として①粘液物質(88%)、②紡錘形細胞(82%)、③核の多形性(76%)、④多核細胞(71%)、⑤曲線状の血管(65%)の5所見がみられたと報告している⁽¹⁰⁾。また虎谷らが摘出組織標本上で偽脂肪芽細胞と呼ばれる細胞を報告している⁽⁸⁾。この①～④の所見は自験例の細胞診標本でもみられたが、⑤のcurvilinearと形容される曲線状血管や、偽脂肪芽細胞は自験例の細胞診標本上では認めなかった。報告はされていないが自験例の細胞診標本上にコラーゲンと思われる硝子様物質を認めた。

MFSの免疫染色については診断に有用なものは報告されていないが、自験例ではvimentinのみ陽性、SMA, desmin, CD34, S100は陰性であり、MIB-1 indexは20%であった。既報告例でも陽性はvimentinのみであり、

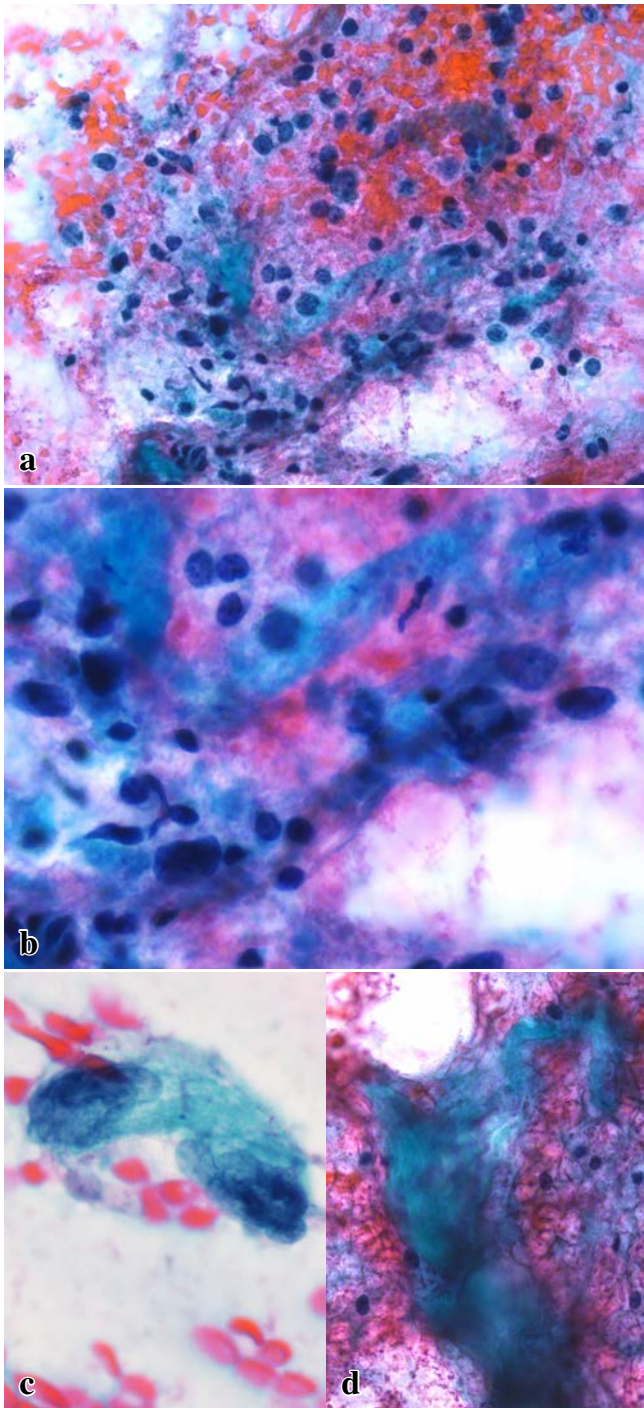


Photo. 2 Cytological findings of FNAC. a : Tumor cells consist of round to spindled cells with a wide range of shapes and sizes in a myxoid component (Pap. staining, $\times 20$). b : Tumor cells exhibit pleomorphic nuclei with fine granular chromatin. The cytoplasm is scant to dense (Pap. staining, $\times 40$). c, d : Large atypical cells and collagen can be observed (Pap. staining, $\times 20$).

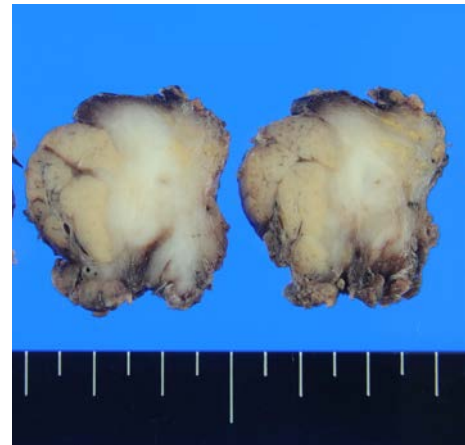


Photo. 3 Gross findings : The tumor measured $35 \times 30 \times 15$ mm and comprised a greyish white and solid mass.

SMA, CD117, desmin, S100, human melanin black-45 (HMB-45), leukocyte common antigen (LCA), epithelial membrane antigen (EMA), ケラチン等の抗体はすべて陰性と報告されており^(2,4), 自験例と既報告例とで乖離は認めなかった。

鑑別診断は、多形腺腫などの筋上皮細胞性腫瘍、陳旧性神経鞘腫、粘液型脂肪肉腫が挙げられる。多形腺腫との鑑別点は上皮細胞成分と間質性粘液の出現である。筋上皮腫・筋上皮癌との鑑別点は形質細胞様の筋上皮細胞の出現である。陳旧性神経鞘腫との鑑別点は、核の柵状配列と核内空胞をもつ異型細胞の出現である。粘液型脂肪肉腫では、脂肪芽細胞と毛細血管の出現がポイントとなる。

自験例では診断に必要な特徴的細胞所見は得られていたが、臨床的に顎下腺腫瘍の穿刺標本であったため細胞診での診断は容易ではなかった。しかし MFS は多くの部位からの報告例があることを理解し、特徴的細胞所見である背景の粘液様物質、多形を示す核をもつ紡錘形異型細胞がみられた症例では、術前細胞診での本例の推定は可能であると考え。

IV. ま と め

今回われわれは、臨床的に顎下腺腫瘍が疑われた粘液線維肉腫を経験した。顎下腺腫瘍として摘出されたが、組織診断では顎下腺周囲の軟部組織より発生した粘液線維肉腫であった。細胞診では粘液様物質の存在や紡錘形核をもつ異型細胞の出現と、その多形性が診断の根拠となった。穿刺した臓器と細胞像が一致しない症例については細胞像から腫瘍を推定し、画像所見を再評価することが必要であると考え。

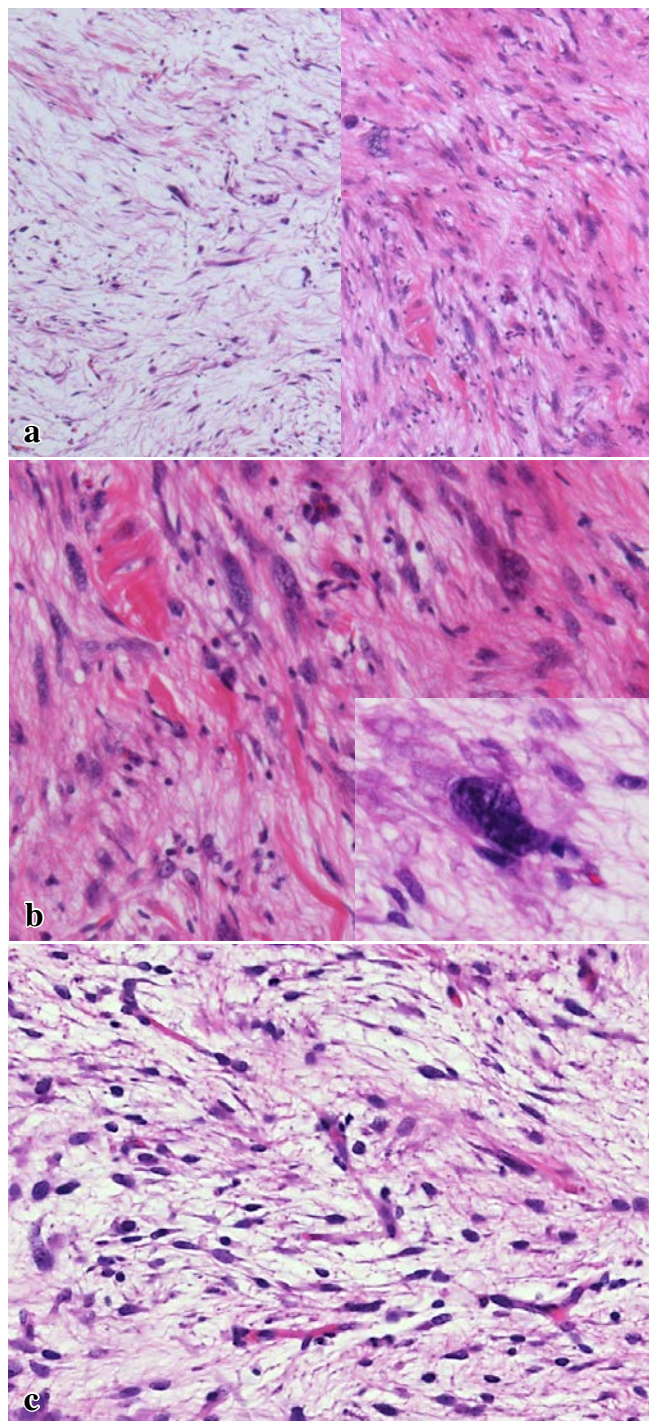


Photo. 4 Microscopic findings. a : Atypical and pleomorphic spindle cells proliferate in a myxoid stroma (H. E. staining, $\times 4$). b : The spindle cells exhibit pleomorphism and include bizarre giant cells (H. E. staining, $\times 20$). c : Curvilinear vascular structures can also be seen in this field (H. E. staining, $\times 10$).

謝辞 本稿の執筆にあたり臨床情報等ご指導いただいた当院耳鼻科 石井秀将先生に深謝します。

著者らは開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

Background : Myxofibrosarcomas often occur subcutaneously in the extremities. Outbreaks in the head and neck area are extremely rare. We report herein on a case of myxofibrosarcoma clinically suspected to be a submandibular gland tumor.

Case : A male in his 50 s was suspected as having a left submandibular gland tumor. He was referred to our Department of Otolaryngology. The tumor was elastic and firm on palpation. On the fine needle aspiration (FNA) cytologic findings, tumor cells were spindle shaped/fusiform or having ovoid nuclei with a myxoid matrix against a hemorrhagic background. Tumor cells exhibited marked nuclear pleomorphism and fine granular chromatin. Based on the cytologic findings, the tumor was tentatively identified as a probable myxofibrosarcoma.

Conclusion : Mucus fibrosarcoma can be diagnosed from the findings of the mucus and atypical spindle cells. Myxofibrosarcoma can be diagnosed from cytologic findings of the myxoid matrix and atypical pleomorphic spindle cells.

文 献

- 1) 元井 信, 畠 榮, 村上 渉, 小林孝子, 亀井敏昭. 細胞診断マニュアル 細胞像の見方と診断へのアプローチ. 東京: 篠原出版; 2014. 260-261.
- 2) 藤本徳毅, 藤井紀和, 植西敏浩, 田中俊宏. 粘液線維肉腫の1例. *Skin Cancer* 2008 ; 23 (2) : 175-179.
- 3) Elder, D. E., Massi, D., Scolyer, R., I., Willemze, R. WHO classification of skin tumors. Lyon : IARC ; 2018. 371-372.
- 4) 白波瀬渉, 梅田朋子, 阿部 元, 富田 香, 北村美奈, 河合由紀・ほか. 乳癌術後放射線照射 10 年後に発症した腋窩粘液線維肉腫 (myxofibrosarcoma) の1例. *滋賀医大誌* 2011 ; 24 (1) : 27-30.
- 5) 公益社団法人日本臨床細胞学会. 細胞診ガイドライン 乳腺・皮膚・軟部骨. 東京: 金原出版; 2015. 213.
- 6) 日本病理学会. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 軟部腫瘍. 東京: 文光堂; 2011. 38-43.
- 7) Bibbo, M., Wilbur, D. C. Comprehensive cytopathology. Amsterdam : Elsevier Saunders ; 2014.371.
- 8) 虎谷茂昭, 坂本哲彦, 越智 康, 宮本睦美, 小川郁子, 岡本哲治. 上顎に発生した粘液線維肉腫の1例. *日本口腔外科学会雑誌* 2014 ; 60 : 354-358.
- 9) Cibas, E. S., Ducatman, B. S. Cytology diagnostic principles and clinical correlates. Amsterdam : Elsevier Saunders ; 2014.481-483.
- 10) Olson, M. T., Ali, S. Z. Myxofibrosarcoma : Cytomorphologic findings and differential diagnosis on fine needle aspiration. *Acta cytol* 2012 ; 56 : 15-24.

症 例

膵に発生した退形成癌の2例

近藤 妙子 杉谷 拓海 木下 史暁 松岡 拓也
 中川 美弥 田上 圭二 神尾多喜浩

済生会熊本病院中央検査部病理

背景：退形成癌は比較的まれな腫瘍であり、予後不良である。今回われわれは、膵に発生した退形成癌の2例を経験したので報告する。

症例：症例1. 70歳代、女性。心臓手術後の経過観察中に、腹部超音波検査で膵頭部に腫瘍を認めた。症例2. 70歳代、女性。腹痛を主訴に受診し、CTで膵頭部に腫瘍を認めた。いずれもEUS-FNA (endoscopic ultrasound-fine needle aspiration) が施行された。細胞像は、いずれも類円形または紡錘形の腫瘍細胞が散在性にあるいはシート状の集塊で出現し、破骨型多核巨細胞も認めた。肉眼的に、2例とも腫瘍内部に高度の出血・壊死を認めた。組織学的に、腫大した核小体と核の大小不同を有する紡錘形細胞や多角形細胞が増殖し、一部に腺管構造を認めた。出血部では破骨型多核巨細胞が目立ち、症例1では一部に軟骨基質を認めた。免疫染色では紡錘形細胞と多角形細胞がビメンチン強陽性、CAM5.2陽性、破骨型多核巨細胞がCD68陽性、CAM5.2陰性であった。いずれも退形成癌と診断された。

結論：膵腫瘍の細胞診で、円形・紡錘形の腫瘍細胞や多核巨細胞を認めた場合、退形成癌も念頭に置く必要がある。

Key words : Anaplastic carcinoma, Pancreas, Cytology, Case report

I. はじめに

退形成癌は、膵癌取り扱い規約第7版では浸潤性膵管癌の1亜型に分類されており、全膵癌の0.18%¹⁾と比較的まれな腫瘍で、予後不良である。

今回われわれは、膵に発生した退形成癌の2例を経験したので報告する。

II. 症 例

症例1

患 者：70歳代、女性。

既往歴：僧帽弁・大動脈弁閉鎖不全症、心筋梗塞、慢性心不全、慢性閉塞性肺疾患。

現病歴：心臓手術後の経過観察中に、貧血と低蛋白血症を認め、精密検査となった。

画像所見：腹部超音波検査では、膵頭部に6.3×3.8 cm大の腫瘍を認めた。腫瘍内部は高エコーと低エコーが混在しており、多数の石灰化を認めた。造影CTでは、腫瘍辺縁のみが造影され、内部に造影効果の乏しい囊胞成分を認めた (Photo. 1a)。

症例2

患 者：70歳代、女性。

既往歴：特になし。

現病歴：急な腹痛を主訴に救急外来を受診し、CTで膵

Two cases of anaplastic carcinoma of the pancreas

Taeko KONDO, C. T., J. S. C., Takumi SUGITANI, C. T., J. S. C., Fumiaki KINOSHITA, C. T., J. S. C., Takuya MATSUOKA, C. T., J. S. C., Miya NAKAGAWA, C. T., J. S. C., Keiji TANOUE, C. T., I. A. C., Takihiro KAMIO, M. D.

Department of Pathology, Saiseikai Kumamoto Hospital

論文別刷請求先 〒861-4193 熊本市南区近見5の3の1 済生会熊本病院中央検査部病理 近藤妙子

令和元年 5 月 13 日受付

令和元年 5 月 23 日受理

頭部に出血を伴う腫瘍がみられ、精密検査となった。

画像所見：腹部超音波検査では、臍頭部に4.2×3.2 cm大の腫瘍を認めた。内部は不均一で、低～高エコーを示し、嚢胞成分や血流信号を認めた。造影CTでは腫瘍内部が一部増強し、腫瘍内出血が疑われた (Photo. 1b)。

III. 細胞学的所見

症例 1

EUS-FNA (endoscopic ultrasound-fine needle aspiration) で採取された細胞診標本では、リンパ球を背景に、紡錘形細胞ならびに類円形核と豊富な円形または多角形の細胞質を有する細胞が散在性にあるいはシート状集塊で出現していた (Photo. 2a)。細胞は中型から大型で、単核または複数核を有しており、核の大小不同や核形不整、核小体を認めた。集塊では紡錘形細胞と円形細胞が混在しており (Photo. 2b)、散在性に出現する細胞は紡錘形細胞が主体であり、一部に円形細胞も出現していた (Photo. 2c)。また、ヘモジデリンを貪食した多核巨細胞も認めた (Photo. 2d)。紡錘形細胞や結合性の乏しい散在性の腫瘍細胞を認めたので、退形成癌や間葉系腫瘍などを考えたが、出現細胞が少なく、良悪性の評価および組織型の推定は困難であった。

症例 2

EUS-FNA で採取された細胞診標本では、好中球・リンパ球を背景に、円形または紡錘形の腫瘍細胞がシート状に出現していた (Photo. 3a)。細胞は中型で、単核あるいは複数核を有しており、核形不整や核の大小不同、核小体が見られ、一部に異型の強い巨核細胞も認めた。集塊を形成する細胞は、ほとんどが円形細胞であり、一部に腺管様構造も認めた (Photo. 3b)。一方、散在性または疎な結合性を示す細胞も円形細胞が主体であるが、一部に紡錘形細胞も認めた (Photo. 3c)。背景には多数の破骨型多核巨細胞が出現していた (Photo. 3d)。比較的多数の円形あるいは紡錘形の腫瘍細胞や破骨型多核巨細胞が出現しており、第一に退形成癌を考えた。

IV. 病理学的所見

症例 1

腫瘍の肉眼所見：腫瘍は臍頭部に存在し、最大径は6.7×4.2 cmであった。断面では乳頭部近傍の共通管および臍管内を埋め尽くすように腫瘍が増殖し、内部に高度の出血や壊死がみられ、一部に嚢胞成分を認めた (Photo. 4a, b)。

組織学的所見：背景に大小の毛細血管が増生し、内部は

出血に伴い嚢胞変性をきたしていた。術前の画像検査で捉えられていた嚢胞の所見に一致すると判断された (Photo. 4c)。核の大小不同と腫大した核小体を有する紡錘形の腫瘍細胞が不規則に錯綜しながら増殖し、多角形の腫瘍細胞も充実性に増殖していた (Photo. 5a)。部分的にヘモジデリンの沈着や破骨型多核巨細胞を認めた (Photo. 5b)。腫瘍を構成する細胞は、紡錘形細胞が主体であり、多角形細胞は部分的であった。一部に腺管構造が散見されたものの、腺癌成分は10%未満とわずかであった (Photo. 5c)。一部では軟骨基質が散見された (Photo. 5d)。免疫染色では紡錘形細胞および多角形細胞がビメンチンにびまん性に陽性、CAM5.2に一部陽性、CD68陰性であった。一方、破骨型多核巨細胞はCD68とビメンチン陽性、CAM5.2陰性であった (Photo. 6)。以上の所見から、退形成癌と診断された。

症例 2

腫瘍の肉眼所見：腫瘍は臍頭部に存在し、最大径は4.6×3.0 cmであった。症例1と同様、内部に高度の出血や壊死がみられ、一部に嚢胞成分を認めた (Photo. 7a, b)。

組織学的所見：症例1と同様、ルーペ像では出血に伴う嚢胞変性を認めた (Photo. 7c)。破骨型多核巨細胞が多数出現し (Photo. 8a)、部分的に腫大した核小体と核の大小不同を有する多角形の単核細胞や紡錘形細胞が増殖していた (Photo. 8b)。また、多角形の上皮様細胞が胞巣状に増殖し、明らかな腺癌成分も10%以上認めた (Photo. 8c, d)。免疫染色では紡錘形細胞および多角形細胞がビメンチンにびまん性に陽性、CAM5.2に一部陽性、CD68陰性であった。一方、破骨型多核巨細胞はCD68とビメンチン陽性、CAM5.2陰性であった。以上の所見から、退形成癌と診断された。

V. 考 察

退形成癌は、1954年にSommersらによって、肉腫様増生を呈する腺癌の一型である pleomorphic carcinoma として初めて報告された²⁾。本邦では従来、未分化癌 (undifferentiated carcinoma) とされていたが、ほとんどの症例で腫瘍の一部に腺管癌成分がみられることから、腺癌取扱い規約第4版³⁾では浸潤性腺癌の1亜型に分類されるようになった。また、第6版⁴⁾までは、未分化癌は分化方向の不明な上皮性腫瘍に分類され、退形成癌と区別されていた。しかし、2010年のWHO分類では undifferentiated (anaplastic) carcinoma として収載されたので、2016年に発行された規約第7版⁵⁾では、それに合わせて退形成癌と未分化癌が同義語として表記されるようになった。また、第6版⁴⁾

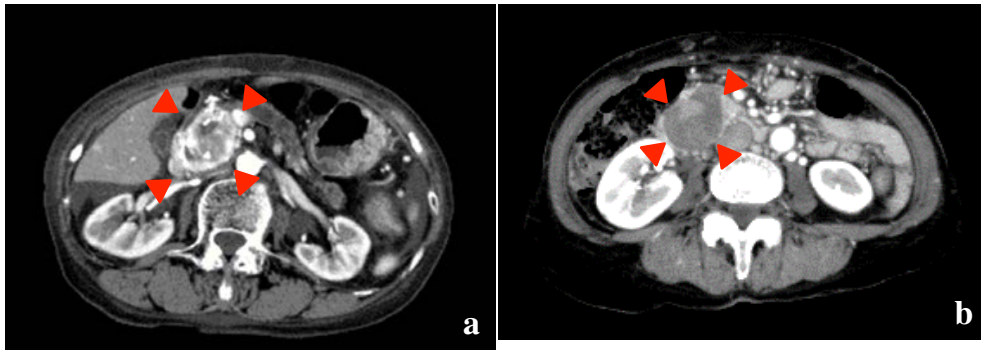


Photo. 1 Abdominal CT. Abdominal CT revealed a tumor in the pancreatic head. In Case 1, only the margin of the tumor showed enhancement, with a cystic component observed within the tumor (a : arrowheads). In Case 2, the tumor was partially enhancing, with suspected hemorrhage within the tumor (b : arrowheads).

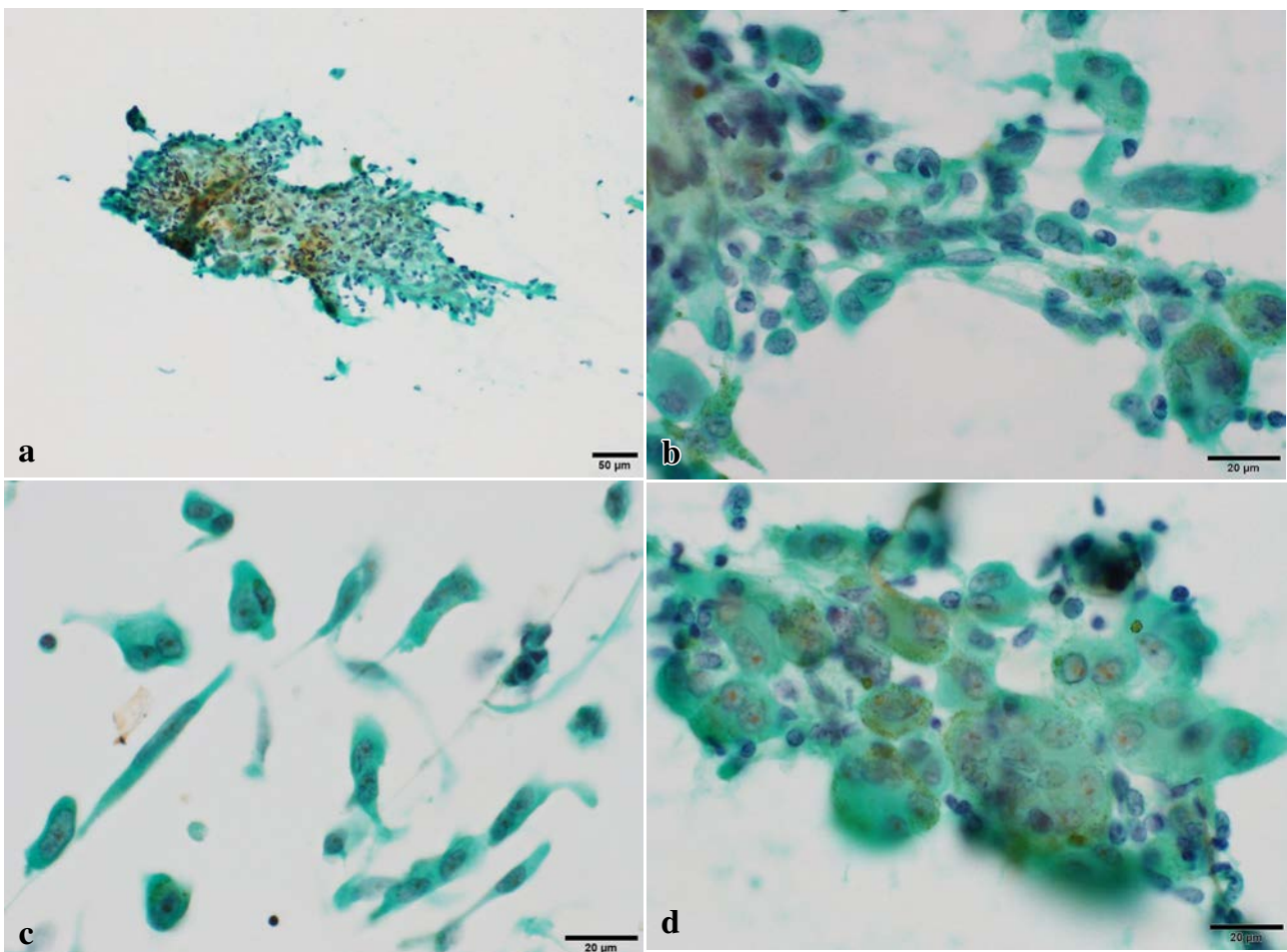


Photo. 2 Fine needle aspiration cytology of the tumor in Case 1 (a : Papanicolaou staining, $\times 20$, b, c, d : Papanicolaou staining, $\times 40$). Round and spindle-shaped tumor cells are seen in clusters or arranged in sheets (a, b). Scattered round and spindle-shaped tumor cells (c). Osteoclast-like giant cells (d).

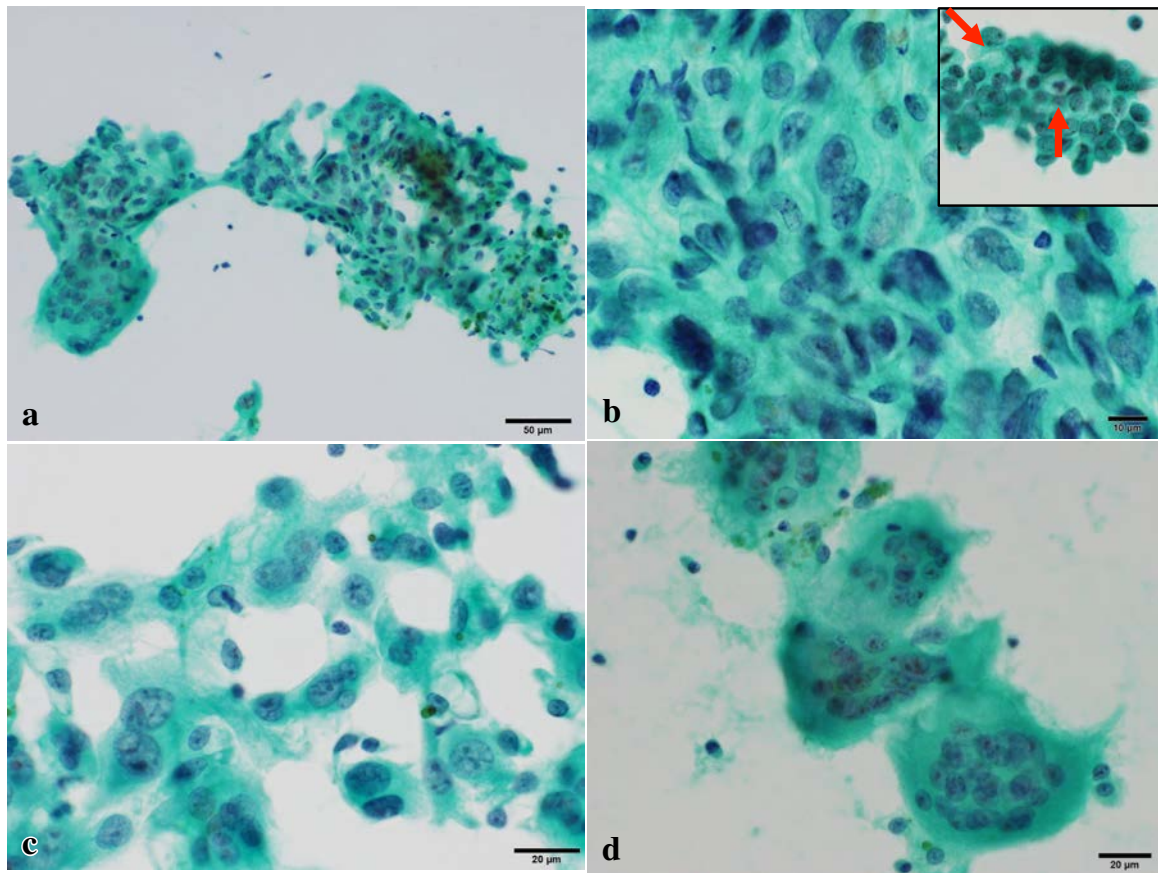


Photo. 3 Fine needle aspiration cytology of the tumor in Case 2 (a : Papanicolaou staining, $\times 20$, b : Papanicolaou staining, $\times 60$, c, d : Papanicolaou staining, $\times 40$). Round and spindle-shaped tumor cells are seen in clusters or arranged in sheets (a). The tumor cells show irregularly shaped nuclei and prominent nucleoli (b). A few gland-like structures are observed ((Inset) Papanicolaou staining, $\times 60$; arrows). Scattered round cells (c). Osteoclast-like giant cells (d).

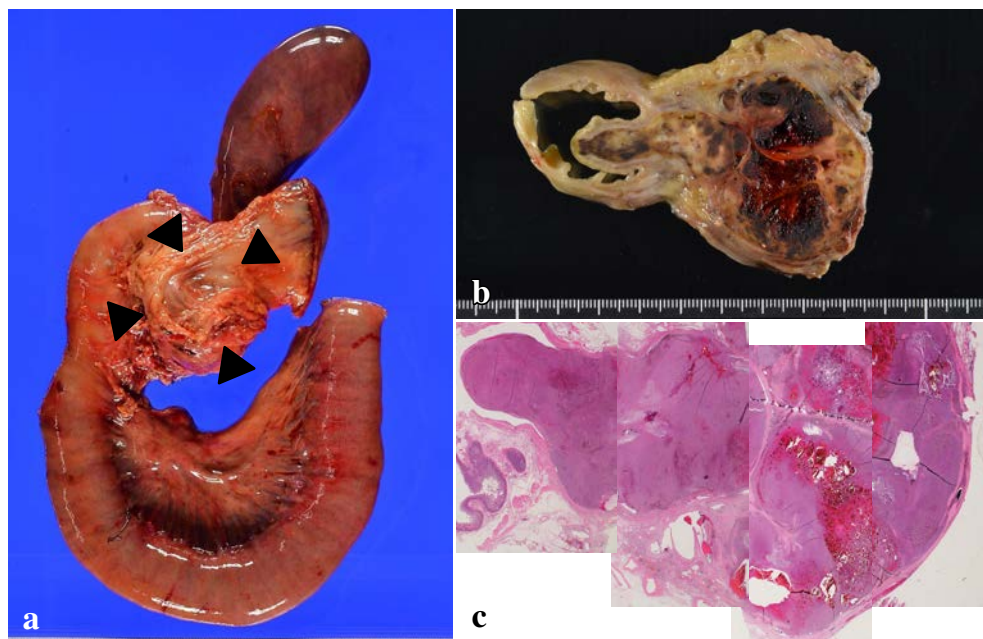


Photo. 4 Macroscopic findings of the resected tumor in Case 1 (c : H-E staining, $\times 0.5$). The tumor, arising from the head of the pancreas (a : arrowheads), showing severe hemorrhage and necrosis (b). Cyst formation with hemorrhage is observed (c).

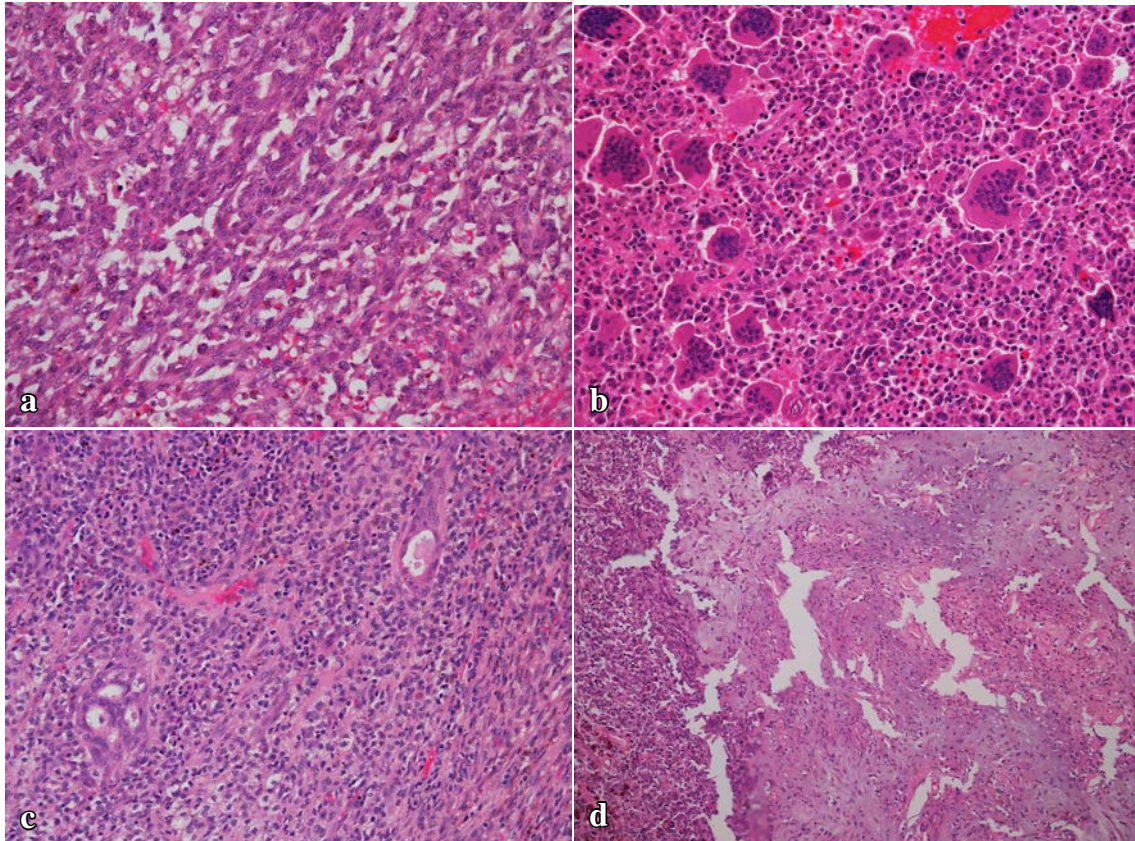


Photo. 5 Histological findings in Case 1 (a, b, c : H-E staining, $\times 20$, d : H-E staining, $\times 10$). Spindle-shaped cells proliferating in a disarray (a), and osteoclast-like giant cells are seen (b). Small foci of adenocarcinoma (c) and cartilage matrix (d) are observed.

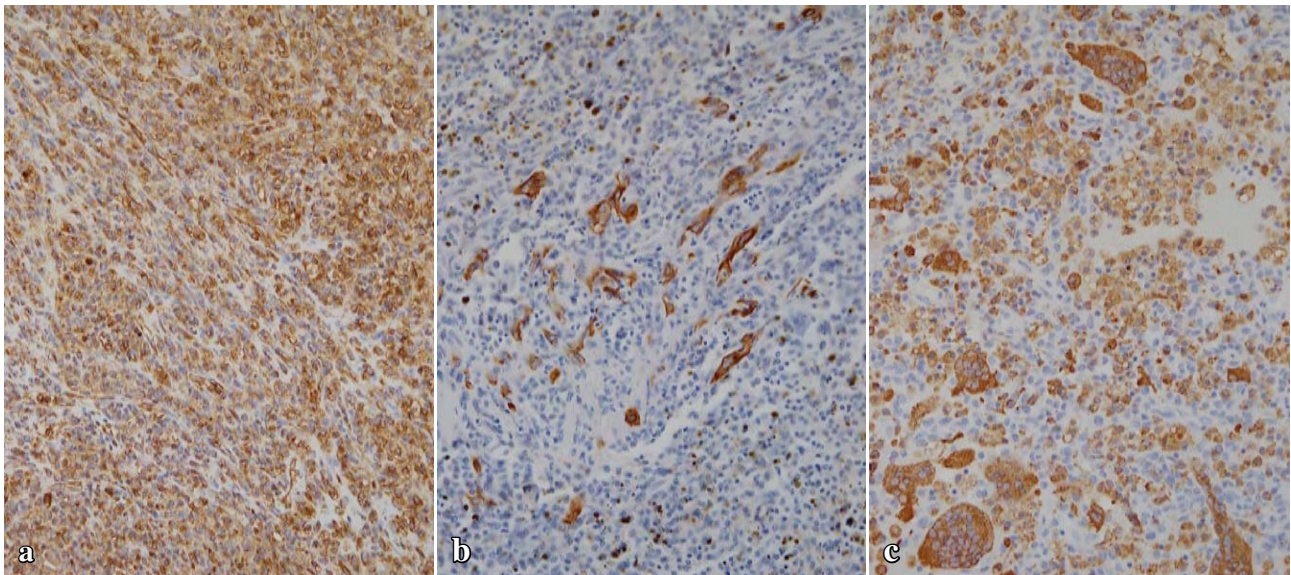


Photo. 6 Immunostaining in case 1, $\times 20$. The spindle-shaped and round tumor cells showed diffuse positive staining for vimentin (a). The spindle-shaped and round tumor cells showed focal positive staining for CAM5.2 (b). On the other hand, the osteoclast-like giant cells showed positive staining for CD68 (c).

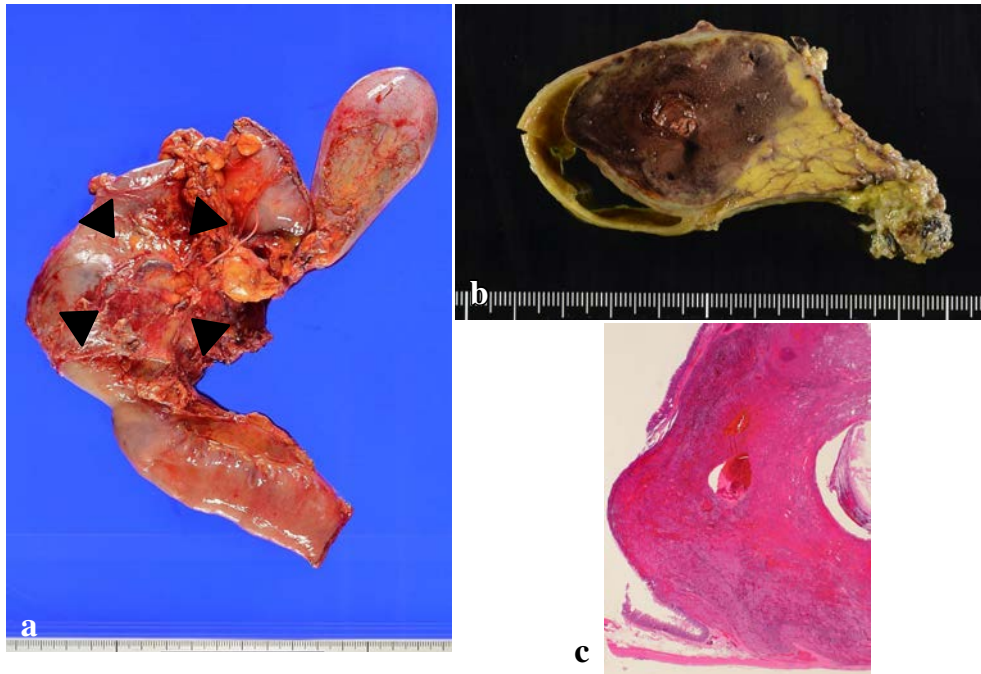


Photo. 7 Macroscopic findings of the resected tumor in Case 2 (c : H-E staining, $\times 0.5$). The tumor, arising from the head of the pancreas (a : arrowheads), showing severe hemorrhage and necrosis (b). Cyst formations with hemorrhage is observed (c).

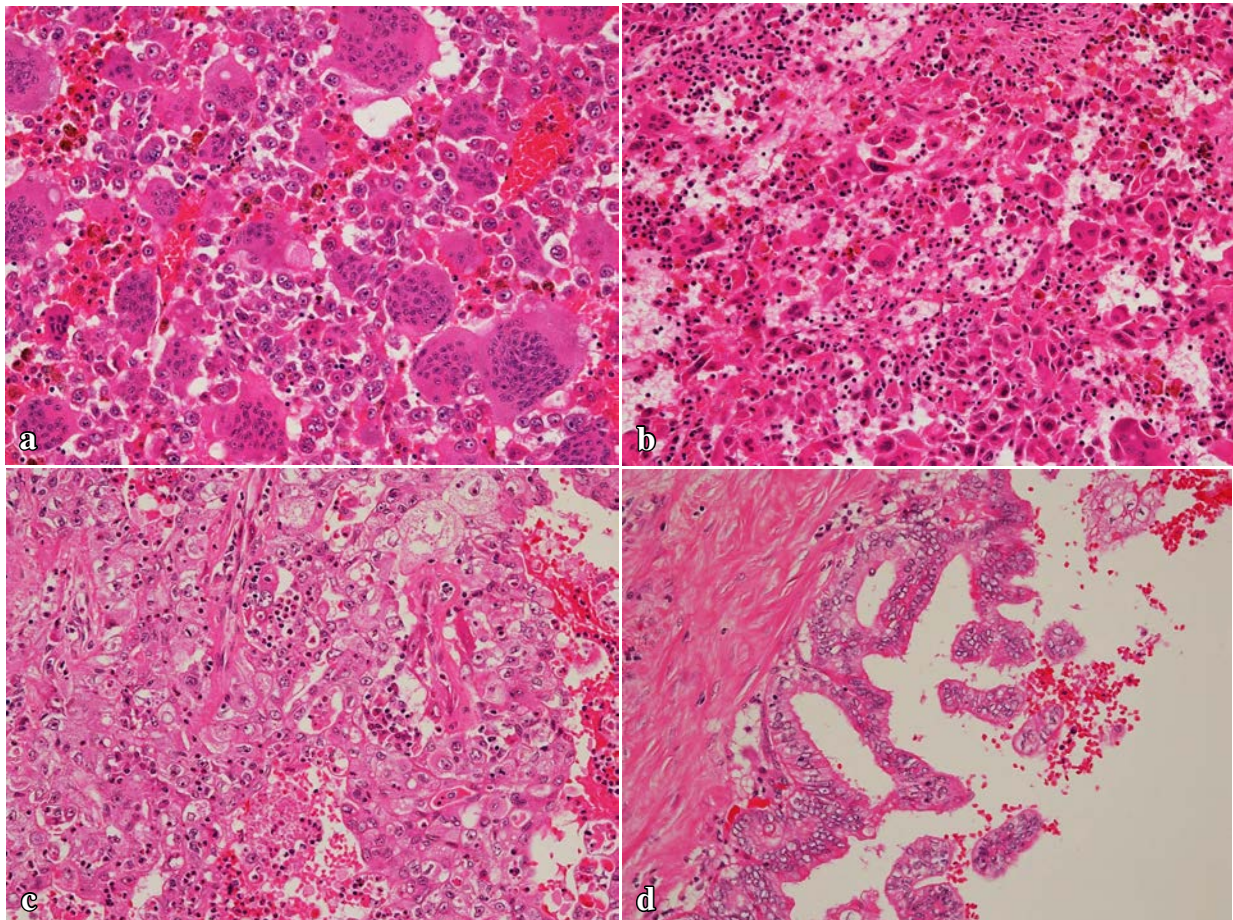


Photo. 8 Histological findings in Case 2 (H-E staining, $\times 20$). Numerous osteoclast-like giant cells (a) and polygonal cells (b) are seen. Alveolar structures composed of epithelioid cells (c) and foci of adenocarcinoma (d) are also observed.

Table 1 Comparison of the findings between the two cases.

		Case 1	Case 2
Imaging findings		Numerous calcifications	No calcification
		Cystic component	Intratumoral hemorrhage
Macroscopic findings		Severe hemorrhage and necrosis	Severe hemorrhage and necrosis
		Cystic component	Solid component
Cytological findings	Osteoclast-like giant cells	Moderate number	Numerous
	Clusters	Spindle-shaped cells and round cells	Round cells
	Isolated cells	Mainly spindle-shaped cells	Round cells and spindle-shaped cells
Histological findings	Osteoclast-like giant cells	In part	Most
	Appearance of the tumor cells	Mainly spindle-shaped cells with some polygonal cells	Spindle-shaped cells and polygonal cells
	Adenocarcinoma component	A few glandular structures Solid alveolar clusters	Glandular structures Solid alveolar clusters
	Cartilage matrix	Yes	No

までは退形成癌は 4 型に分類されていたが、第 7 版⁵⁾では巨細胞型が多形細胞型にまとめられ、多形細胞型 (pleomorphic type)、紡錘細胞型 (spindle cell type)、破骨型多核巨細胞 (osteoclast-like giant cells) を伴う退形成癌の 3 型に分類されている。

退形成癌は比較的まれな腫瘍であり、その発生頻度は全膀胱癌の 0.18%¹⁾といわれている。臨床的に男性の割合が 57.5%とやや多く¹⁾、診断時の平均年齢は 62~67 歳と高齢者に多い⁶⁾。発生部位は膀胱頭部、膀胱体部、膀胱尾部の順に多く⁷⁾、腫瘍の最大径は平均 7.3 cm であり、通常型膀胱癌より大きい。造影 CT では腫瘍辺縁部に造影効果がみられ、腫瘍中心部は低吸収を呈することが多い⁸⁾。これは、急速な膨張性発育のため腫瘍の中心部が出血壊死に陥りやすく、最後まで血流の残った辺縁が造影されることを示唆しており、本腫瘍の特徴を反映したものと考えられる⁹⁾。

肉眼的に腫瘍は充実性であり、断面では部分的に囊胞を伴い出血や壊死を認める¹⁰⁾。

組織学的には、髄様で細胞密度が高く、円形や紡錘形、多形性を呈する核異型の著しい単核または 2~3 個の核を有する腫瘍細胞が増殖している。部分的に破骨型多核巨細胞が肉腫様増生を示しており、一部に通常型の浸潤性膀胱癌の像を認める。破骨型多核巨細胞は非腫瘍性で間葉系の細胞と考えられ、通常 20 個以上の単一な小型核を有し、出血部や壊死に隣接する領域で認められることが多い¹⁰⁾。前記した 3 型の特徴として、多形細胞型は多形性に富み、単核あるいは多核の巨細胞や紡錘形細胞が混在している。紡錘細胞型では、紡錘形の腫瘍細胞が主として増殖している。破骨型多核巨細胞を伴う退形成癌では、円形または紡錘形の腫瘍細胞と大型の破骨細胞類似の多核巨細胞からな

る。これら 3 つの組織型は混在することが多く、ときに骨や軟骨、骨格筋などの異所性の間質成分を含むことがある¹¹⁾。

免疫組織化学的には、核異型を有する腫瘍細胞がビメンチンに陽性であり、一部ではサイトケラチンに陽性となる。破骨型多核巨細胞は CD68、ビメンチンに陽性、サイトケラチン陰性である¹⁰⁾。

細胞学的には、退形成癌の細胞診に関する報告が少なく、その特徴も明らかではない。しかし、数少ない論文¹²⁾と今回経験した自験例を基に考察すると、①円形や紡錘形の腫瘍細胞が出現する、②腫瘍細胞は中等度から高度異型を示す単核または複数核を有する、③結合性は緩やかである、④著明な核小体を 1~数個有する、⑤一部に腺管構造などの腺癌成分がみられる、⑥多核巨細胞が出現する、などの特徴が挙げられる。

今回経験した 2 例の画像および肉眼所見、細胞所見、組織学的所見を比較した (Table 1)。2 例とも肉眼的に高度の出血・壊死がみられ、画像的には症例 1 で石灰化を認めた。症例 1 では破骨型多核巨細胞が部分的に出現し、紡錘形細胞や多角形細胞など多彩な細胞像が混在していたので、多形細胞型に相当する。また、一部に石灰沈着を伴う軟骨基質を認めた。細胞診標本でも紡錘形細胞が主体で、散在性または集塊状に出現しており、一部に円形細胞も混在していたことから、組織所見を反映する細胞像であった。症例 2 では紡錘形細胞と多角形細胞が混在していたが、破骨型多核巨細胞が腫瘍の大部分を占めており、破骨型多核巨細胞を伴う退形成癌に相当する。細胞診標本でも多数の破骨型多核巨細胞がみられ、円形の腫瘍細胞が集塊で出現しており、症例 1 と比較して散在性細胞の出現が少ない印象で

あった。一部に腺管様構造を認めたが、細胞診で膵管癌成分を捉えるのは難しいと考える。退形成癌では、ときに粘液性嚢胞腫瘍 (mucinous cystic neoplasm : MCN) を合併することが報告されている¹⁰⁾。自験例では、2例とも画像所見および肉眼所見、ルーペ像で嚢胞を認めたが、いずれも出血に伴う嚢胞変性であり、MCNを示唆する所見を認めなかった。

細胞学的あるいは組織学的に鑑別を要するものとして、癌肉腫や軟部腫瘍などが挙げられる。退形成癌は癌肉腫と表記されることもあるが、退形成癌では癌成分と肉腫様成分に移行像がみられ、両者に移行像がみられない「真の癌肉腫」とは異なる¹²⁾。特に症例1では腫瘍内に軟骨成分を認めたが、軟骨細胞に細胞異型はみられず、また上皮様の多角形細胞と紡錘形細胞に移行像を認めたことから、真の癌肉腫は否定された。骨・軟骨化生を伴う化生性乳癌と同様、膵の退形成癌でも骨や軟骨を伴うことがあると考えられる¹³⁾。一方、軟部腫瘍との鑑別として、軟部腫瘍は非上皮性の腫瘍細胞のみで構成されるのに対して、退形成癌では癌成分がみられ、肉腫様成分との移行像を認めることが挙げられる。いずれにしろ、退形成癌でみられる紡錘形の腫瘍細胞が上皮由来であっても、細胞学的に肉腫様に脱分化した場合には軟部腫瘍との鑑別が難しいことがある。両者の鑑別には、組織学的所見や免疫染色が必要不可欠である。

予後に関しては、退形成癌が生存期間中央値3.3ヵ月、1年生存率14.1%¹⁾と、通常型膵管癌と比べて予後不良である。理由として、腫瘍が急速に増殖し他臓器に遠隔転移をきたし、発見時に手術不能となることが多いためと考えられる。一方、破骨型多核巨細胞を伴う退形成癌は、他の組織型の退形成癌および通常型膵管癌に比べて遠隔転移やリンパ節転移が少ないといわれている。その5年生存率は59.1%、生存期間中央値は7.67年であり、通常型膵管癌の15.7%、1.59年と比較して有意に予後は良好であることが報告されている¹⁴⁾。自験例では現在、症例1は術後2年、症例2は術後1年6ヵ月が経過しているが、両者とも再発、転移はみられず、良好な経過をたどっている。治療の第一選択は切除であり、切除不能である場合には抗癌剤治療、化学放射線療法などが試みられているが、有効性は明らかでない。術後化学療法や切除後再発に対しても確立されたものはなく、通常型膵管癌に準じてGEMやS-1を用いた薬物療法が主として行われている¹⁵⁾。

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57回日本臨床細胞学会秋期大会(神奈川)で報告した。

Abstract

Background : Anaplastic carcinoma is a rare tumor and carries a poor prognosis. Herein, we report two cases of anaplastic carcinoma of the pancreas.

Cases : Case 1 : A female patient in her 70 s was detected to have a tumor in the pancreatic head by abdominal ultrasonography performed during a follow-up visit after a cardiac operation.

Case 2 : A female patient in her 70 s was admitted to hospital complaining of abdominal pain. Abdominal computed tomography (CT) revealed a tumor in the pancreatic head.

Endoscopic ultrasound-fine needle aspiration (EUS-FNA) biopsy was performed in both patients.

Cytologically, round and spindle-shaped tumor cells were seen, either scattered, in clusters, or arranged in sheets. Osteoclast-like giant cells were also recognized.

On gross examination, both tumors showed severe hemorrhage and necrosis on cut surface.

Histological examination revealed proliferation of spindle-shaped and polygonal tumor cells with prominent nucleoli and irregular nuclear contour arranged in a disarray or in a solid sheets. Small foci of adenocarcinoma were also seen. Osteoclast-like giant cells were prominent in the hemorrhagic areas. In Case 1, cartilaginous matrix was also seen.

On immunohistochemical examination, the spindle-shaped cells and polygonal cells showed positive staining for vimentin and CAM5.2, while the osteoclast-like giant cells showed positive staining for CD68.

Based on above findings both tumors were diagnosed as anaplastic carcinoma.

Conclusion : Identification of spindle-shaped/round tumor cells and osteoclast-like multinucleated giant cells on pancreatic cytology should suggest the possibility of anaplastic carcinoma in the differential diagnosis.

文 献

- 1) 日本臨床膵臓学会. 膵癌登録報告2007. 膵臓 2007 ; 22 : 1-427.
- 2) Sommers, S. C., Meissner, W. A. Unusual carcinoma of the pancreas. Arch Pathol 1954 ; 58 : 101-111.
- 3) 日本膵臓学会, 編. 膵癌取扱い規約第4版. 東京 : 金原出版 ; 1993.
- 4) 日本膵臓学会, 編. 膵癌取扱い規約第6版. 東京 : 金原出版 ; 2009.
- 5) 日本膵臓学会, 編. 膵癌取扱い規約第7版. 東京 : 金原出版 ; 2016.
- 6) 戸高明子, 佐々木恵子. 通常型膵癌 特殊な組織型 (臨床病理学的特徴) 退形成癌. 日本臨床 2015 ; 73 : 194-198.
- 7) 路川陽介, 中原一有, 末谷敬吾, 森田 亮, 北川紗里香, 白勢大門・ほか. 急性膵炎を契機に発見された紡錘細胞型膵退形成癌の1例. 膵臓 2016 ; 31 : 85-92.
- 8) Tschang, T. P., Garza-Garza, R., Kissane, J. M. Pleomorphic car-

- cinoma of the pancreas : an analysis of 15 cases. *Cancer* 1977 ; 39 : 2114-2126.
- 9) 山野寿久, 平井隆二, 黒田雅利, 高木章司, 池田英二, 辻 尚志. 主膵管内に進展を示した退形成性膵管癌の 1 例. *日臨外会誌* 2013 ; 74 : 1053-1059.
- 10) 清水道生, 永田耕治. 比較的稀ではあるが重要な膵疾患. *病理と臨床* 2016 ; 34 (8) : 816-823.
- 11) 永田耕治, 清水道夫. 浸潤性膵管癌(亜型, 前駆病変を含む). 鬼島 宏, 福嶋敬宜, 編. *腫瘍病理鑑別診断アトラス胆道癌・膵癌*. 東京 : 文光堂 ; 2015. 137-148.
- 12) 鮫島彩香, 木下史暁, 松岡拓也, 中川美弥, 田上圭二, 神尾多喜浩・ほか. 膵に発生した退形成癌の 1 例. *日臨細胞九州会誌* 2017 ; 48 : 67-71.
- 13) 神尾多喜浩, 須古修二, 吉田慎一, 川村房子, 一門美江, 井東さやか・ほか. 化生性乳癌の 1 例—その細胞像と免疫組織化学的検討—. *日臨細胞会誌* 1995 ; 34 (6) : 1133-1138.
- 14) Muraki, T., Reid, M. D., Basturk, O., Jang, K.T., Bedolla. G., Bagci. P., et al. Undifferentiated Carcinoma with Osteoclastic Giant Cells of the Pancreas : Clinicopathological Analysis of 38 Cases Highlights A More Protracted Clinical Course than Currently Appreciated. *Am J Surg Pathol* 2019 apr ; 40 (9) : 1203-1216.
- 15) 戸高明子, 福富 晃. 膵退形成癌と膵未分化癌に対する薬物療法. *胆と膵* 2012 ; 33 (8) : 669-674.

気管支に発生した inflammatory myofibroblastic tumor の 1 例

田上 圭二 中川 美弥 松岡 拓也 近藤 妙子 神尾多喜浩

済生会熊本病院中央検査部病理

I. はじめに

Inflammatory myofibroblastic tumor (IMT) は小児や若年成人の肺や肝、膀胱などに好発するまれな腫瘍である¹⁾。

今回、われわれは若年者の気管支に発生した IMT を経験したので、細胞像を中心に報告する。

II. 症 例

症 例：20 歳代、女性。

既往歴：特記すべき事項はない。

現病歴：2 週間ほど前から咳が出現し、39℃ の発熱で前病院を受診した。症状はいったん改善したが、CT で右中間気管支幹に腫瘍を認めた。気管支鏡で易出血性の腫瘍がみられ、擦過細胞診で異型細胞を認めたが、診断にいたらなかった。精査治療目的のため当院を受診した。

III. 細胞学的所見

気管支擦過細胞診では、少数のリンパ球を背景に、紡錘形細胞が散在性にあるいは緩い結合性を示す集塊を形成しながら出現していた (Photo. 1a)。細胞は類円形から楕円形の核を有し、核クロマチンは微細顆粒状で、小型の核小体を 1~数個認めた。核異型は乏しいが、核の大小不同や核内細胞質封入体を認めた (Photo. 1b)。

IV. 病理学的所見

肉眼的には右中間気管支内に 38×27 mm 大の腫瘍がみ

られ、断面は黄白色充実性であった。

組織学的には、核の大小不同と腫大した核小体を有する紡錘形の腫瘍細胞が錯綜しながら増殖し、ときに巨核細胞を認めた。間質には軽度のリンパ球・形質細胞浸潤や泡沫細胞の集簇がみられた (Photo. 2)。免疫染色では腫瘍細胞がビメンチンと ALK (anaplastic lymphoma kinase) に強陽性、CAM5.2 に一部陽性、 α 平滑筋アクチンとデスミン、S-100 蛋白陰性であった。以上の所見から、IMT と診断された。なお、ALK break-apart FISH (fluorescence *in situ* hybridization) を施行した結果、陽性率 34% と転座が証明された。

V. 考 察

IMT は筋線維芽細胞の特徴を示す紡錘形細胞の増殖からなり、主にリンパ球や形質細胞などの炎症細胞浸潤を伴う腫瘍である。肺や腸間膜・大網などの腹腔内に好発し、頭蓋内や骨を含むほぼ全身の各所において発生例が報告されている¹⁾。肺 IMT の発生頻度は肺切除全体の 0.04~0.3% 程度と報告されているが^{2,3)}、そのうち気管支原発はその 10% 程度といわれている³⁾。

IMT の細胞学的特徴は、①背景のリンパ球や形質細胞などの炎症細胞、②核異型の乏しい紡錘形細胞の出現、③核内細胞質封入体の存在、などが挙げられる⁴⁾。

細胞学的な鑑別診断として、紡錘形細胞が出現する肺結核や紡錘形細胞癌、未分化多形肉腫、平滑筋肉腫などが挙げられる。未分化多形肉腫との鑑別では、紡錘形細胞の多形性や核分裂像、壊死などが重要である。紡錘形細胞癌との鑑別には、病変内に明らかな上皮成分の有無を確認することが肝要である。

診断にあたっては、形態学的特徴や免疫組織化学的所見などの病理学的所見に加えて、発生部位や年齢なども踏まえて総合的に行う必要がある。

本論文の要旨は、第 54 回日本臨床細胞学会秋期大会 (2015 年 11 月、名古屋市) で報告した。

A case of an inflammatory myofibroblastic tumor arising from the bronchus

Keiji TANOUE, C. T., I. A. C., Miya NAKAGAWA, C. T., J. S. C., Takuya MATSUOKA, C. T., J. S. C., Taeko KONDO, C. T., J. S. C., Takihiro KAMIO, M. D.

Department of Pathology, Saiseikai Kumamoto Hospital

論文印刷請求先 〒 861-4193 熊本市南区近見 5 の 3 の 1 済生会熊本病院中央検査部病理 田上圭二

平成 31 年 1 月 22 日受付

平成 31 年 3 月 8 日受理

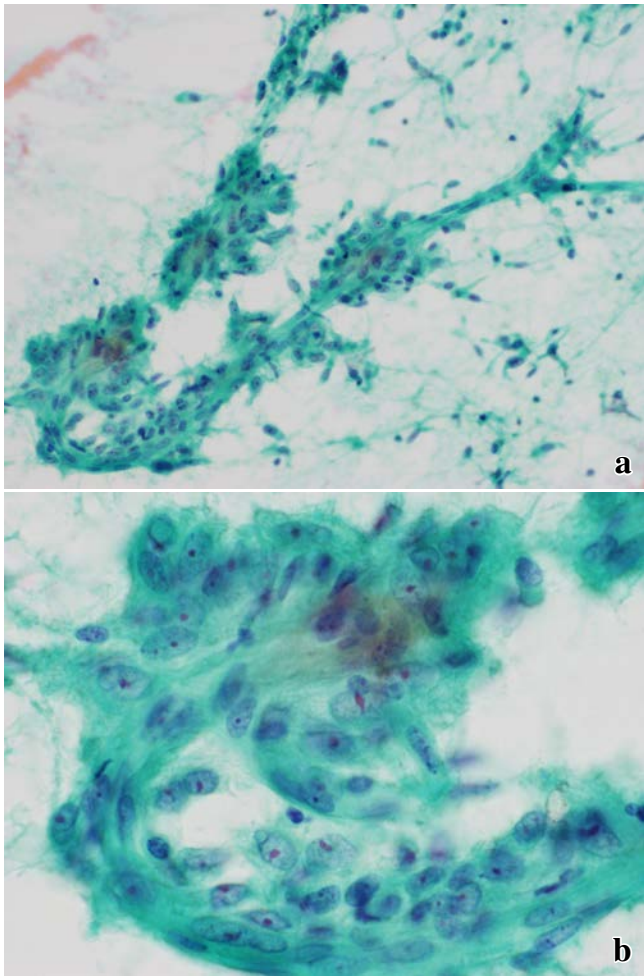


Photo. 1 a : Spindle-shaped tumor cells have proliferated in a scattered manner or showed loose clusters on the cytology of the bronchial brushing (Papanicolaou staining, $\times 40$). b : The size of the nuclei differs from tumor cell to tumor cell and intranuclear cytoplasmic inclusion bodies can be seen in the tumor cells (Papanicolaou staining, $\times 60$).

謝 辞 細胞診標本の借用を快諾頂きました入江準二先生(長崎みなとメディカルセンター市民病院病理診断科)に深謝いたします。筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

Inflammatory myofibroblastic tumors (IMTs) are a rare tumor occurring in young adults and arising in the lung, liver and urinary bladder. We report herein a case of an IMT in the bronchus of a young patient from the point of the cytological findings. Based on the results of computed tomography imaging, a 20-year-old female was informed that she had a nodule of 35 mm in diameter in the bifurcation of her trachea. Following cytological examination of the bronchial brushing, spindle-shaped tumor cells were seen to have proliferated in a scattered manner or showed loose clusters. The size of the nuclei differed from tumor cell to tumor cell and intranuclear cytoplasmic inclusion bodies can be seen in the tumor cells.

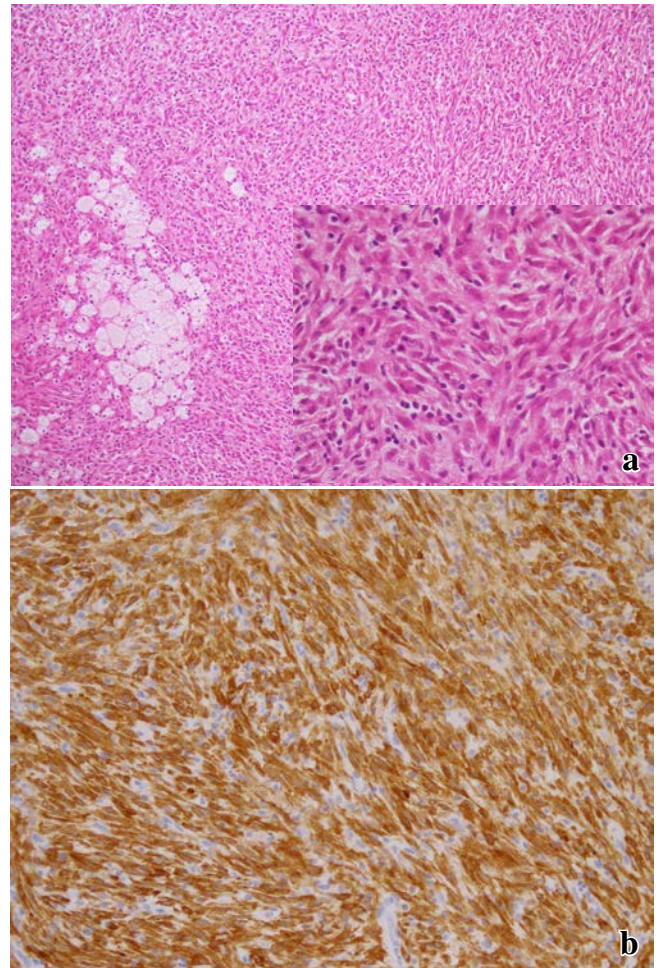


Photo. 2 a : The spindle-shaped tumor cells proliferate and lymphocytes or plasma cells, and foamy cells have infiltrated the background (HE staining, $\times 10$). Inset : The spindle-shaped tumor cells proliferate in disarray and lymphocytes have infiltrated the background (HE staining, $\times 40$). b : Tumor cells test positive for ALK staining (Immunostaining, $\times 20$).

Histologically, spindle-shaped tumor cells proliferated in disarray and lymphocytes or plasma cells infiltrated the background. We diagnosed an IMT based on the immunostaining results.

文 献

- 1) 久岡正典, 橋本 洋. 炎症性筋線維芽細胞性腫瘍における最近の知見. 病理と臨床 2007 ; 25 (5) : 421-426.
- 2) Cerfolio, R. J., Allen, M. S., Nascimento, A. G., Deschamps, C., Trastek, V. F., Miller, D. L., et al. Inflammatory pseudotumors of the lung. Ann Thorac Surg 1999 ; 67 : 933-936.
- 3) 柳田正志, 戸田省吾. 気管支に発生した炎症性筋線維芽細胞腫瘍の 1 切除例. 気管支学 2009 ; 31 (1) : 36-39.
- 4) 柳谷典子, 工藤慶太, 文 敏景, 星 利良, 元井紀子, 石川雄一・ほか. 胸腔鏡手術により診断および完全切除しえた肺炎症性筋線維芽細胞腫の 1 例. 日臨細胞会誌 2013 ; 52 (2) : 164-168.

短 報

術中迅速細胞診が有用であった中枢神経系原発悪性リンパ腫の1例

若林 僚¹⁾ 田島 秀昭¹⁾ 荒川 文子¹⁾ 小川 勝¹⁾ 當銘 良也²⁾ 石田 剛¹⁾国立国際医療研究センター国府台病院中央検査部¹⁾, つくば国際大学医療保健学部臨床検査学科²⁾

I. はじめに

脳腫瘍の術中迅速診断では、治療方針や切除範囲決定のため、腫瘍の組織型の判断が非常に重要であり、精度の高い診断が求められる¹⁾。今回われわれは、術中迅速診断において、細胞診が有用であった中枢神経系原発悪性リンパ腫の1例を経験したので報告する。

II. 症 例

78歳、男性。歩行障害を主訴に脳神経外科を受診。Gd造影MRI検査で右尾状核頭から淡蒼球にかけてT2強調画像で高信号の腫瘍が認められた。鑑別診断として中枢神経系原発悪性リンパ腫、膠芽腫、転移性腫瘍が挙げられた。全身精査でその他の有意な異常所見は認められず、確定診断のため、頭蓋内腫瘍摘出術が施行された。術中に迅速病理組織診断の検体が提出され、それを用いて凍結病理組織標本とともに捺印細胞診標本を作製した。

III. 細胞所見

捺印細胞診パパニコロウ染色では、lymphoglandular body (LGB) がみられる背景に、結合性に乏しい比較的単調な腫瘍細胞が散在性に多数出現していた。細胞は大型でN/C比がきわめて高く、核には軽度の核形不整を認め、核

縁は薄く、クロマチンは微細ないし粗顆粒状で、1個から数個の明瞭な核小体が認められた (Photo. 1a)。May-Giemsa 染色では、好塩基性細胞質内に小空胞が認められた (Photo. 1b)。核分裂像は多数観察された。以上の所見より、大細胞型の悪性リンパ腫を推定した。膠芽腫を疑う細胞質突起などの神経系細胞由来を示唆する所見は認められず、出現細胞に上皮の結合性が認められないことから癌の転移も否定的であった。

IV. 組織学的所見

凍結組織の迅速 HE 染色標本では、凍結時のアーチファクトにより、核の変形および核内空胞がみられたが、多くの細胞は結合性に乏しく、大型の腫瘍細胞が散在性に出現し、細胞質突起は認められなかった (Photo. 2a)。よって細胞診での推定組織診断と同様に悪性リンパ腫を第一に考える所見であった。

20%中性緩衝ホルマリン液を用いて固定したパラフィン包埋切片では、大型の異型リンパ球がびまん性に増殖して認められた (Photo. 2b)。核分裂像も多数認められ、細胞質突起は観察されなかった。免疫組織化学的に、CD20、CD79aが陽性、CD3、CD5、CD10、CD30、cytokeratin AE1/AE3、glial fibrillary acidic protein、S-100 protein が陰性であった。Ki-67 陽性細胞は約 60%と高頻度に認められた。中枢神経系に限局した病変であり、中枢神経系びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system (CNS)) と診断された。

V. 考 察

中枢神経系原発悪性リンパ腫は全脳腫瘍の約 2%程度と比較的まれであるが²⁾、グリオーマや他の脳腫瘍とは治療方針や手術での切除範囲が異なるため、術中迅速診断においてこれらと鑑別診断することはきわめて重要である¹⁾。凍結組織標本は薄切によるアーチファクトや挫滅の影響により、細胞所見の詳細な観察が困難になることが多い。こ

A case of primary central nervous system lymphoma in which intraoperative rapid cytology was useful for its histological the diagnosis

Ryo WAKABAYASHI¹⁾, C. T., J. S. C., Hideaki TAJIMA¹⁾, C. T., I. A. C., Ayako ARAKAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Masaru OGAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Yoshiya TOME²⁾, C. T., I. A. C., Tsuyoshi ISHIDA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology and Laboratory Medicine, National Center for Global Health and Medicine, Kohnodai Hospital

²⁾Department of Medical Technology, Faculty of Health Science, Tsukuba International University

論文刷請求先 〒272-8516 千葉県市川市国府台1の7の1 国立国際医療研究センター国府台病院中央検査部 若林 僚

令和元年 6 月 25 日受付

令和元年 7 月 15 日受理

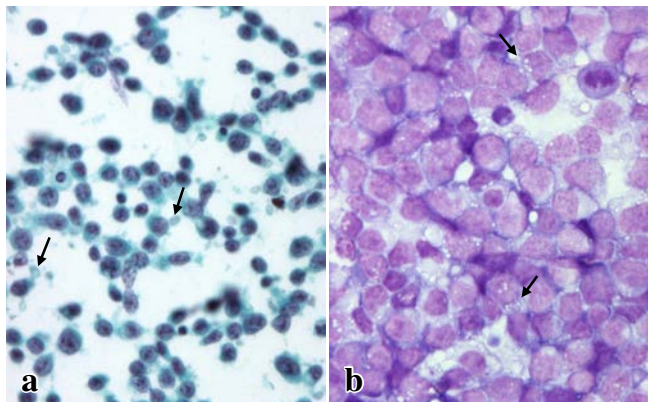


Photo. 1 Cytological findings. a : Diffusely arranged tumor cells with round nuclei containing coarse chromatin. Note the lymphoglandular bodies (arrows) (Pap. staining, ×40). b : Note the intracytoplasmic vacuoles (arrows) (May-Giemsa staining, ×40).

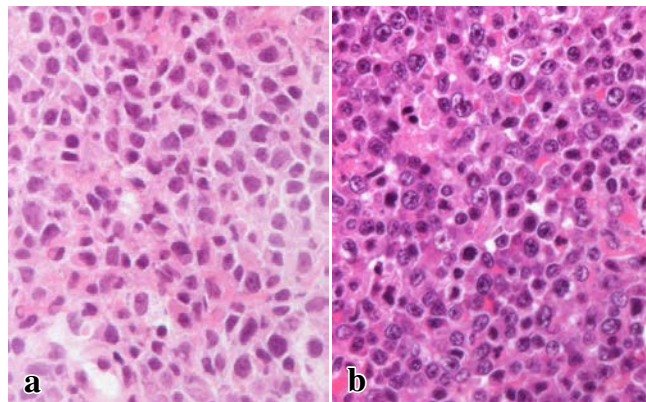


Photo. 2 Histological findings. a : Relatively monotonous neoplastic cell proliferation is recognized (Rapid H & E staining of frozen sections, ×40). b : Diffuse proliferation of atypical lymphoid cells. Scattered mitotic figures are seen (H & E staining, ×40).

れに対し細胞診標本は凍結，薄切の操作が加わらないため，細胞個々の所見がより観察しやすく，両者を併用することで正診率が上がることが知られている¹⁾。

腫瘍細胞の結合性や細胞質突起の有無などは凍結組織標本よりも細胞診でより詳細に観察することができる。したがってさまざまな細胞学的特徴を有する脳腫瘍を鑑別しなければならない術中迅速診断では，凍結組織標本よりも細胞診が有用である場合がある。

本例の捺印細胞診標本において，背景のLGBや大型の類円形核を有するN/C比の高い結合性に乏しい大型の腫瘍細胞が認められ，粗顆粒状クロマチン，細胞質内小空胞など悪性リンパ腫を示唆する特徴的な細胞所見が得られた。このことから凍結組織標本からよりも上記の細胞診の所見から中枢神経系びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫の組織診断をより強く推定することができたと考える。

捺印細胞診標本での鑑別診断として，膠芽腫や小細胞癌の転移が挙げられる。膠芽腫では腫瘍細胞の多形性，細胞質突起や神経線維成分を認める点が鑑別になり，小細胞癌はN/C比の高い腫瘍細胞を認める点では悪性リンパ腫と同様だが，細胞の上皮性結合を認める点で鑑別が可能であると考えられる。

LGBはパパニコロウ染色でライトグリーン好染の類円形から破碎状の無構造物として観察され，リンパ濾胞の胚中心に由来する細胞質破碎物といわれている³⁾。悪性リンパ腫と他の悪性腫瘍との鑑別に有用な所見とされており^{1,3)}，背景にLGBがみられた場合は悪性リンパ腫を鑑別に挙げることが重要である。

VI. 結 語

術中迅速細胞診が有用であった中枢神経系原発悪性リン

パ腫の1例を経験した。細胞診標本は凍結操作等を経ないため，アーチファクトが少なく，細胞形態の詳細な観察に適している。臨床情報や画像所見に加え，脳腫瘍の迅速診断では，凍結組織標本だけでなく，捺印細胞診標本を積極的に併用することが診断精度の向上に寄与すると考えられる。

本論文の要旨は，第31回関東臨床細胞学会学術集会（2017年，埼玉）にて発表した。

筆者らは，開示すべき利益相反状態はありません。

Abstract

A 78-year-old male presented to us with gait disturbance. Cranial gadolinium-enhanced MRI revealed a brain tumor occupying the area from the right caudate nucleus to the pallidum, which was visualized as a high signal intensity on T2-weighted images. Primary central nervous system lymphoma, glioblastoma, and metastatic tumor were considered in the differential diagnosis, and surgical removal of the tumor was performed for a definitive diagnosis. Intraoperative imprint cytology revealed the tumor to be composed of numerous atypical large lymphoid cells with large ovoid nuclei containing coarse chromatin and prominent nucleoli; the cytoplasm in some of the cells contained vacuoles. Lymphoglandular bodies were observed in the background. Based on the cytological findings, the diagnosis of malignant lymphoma, large cell type, was made. Intraoperative rapid cytology is useful for histological the diagnosis of brain tumors.

文 献

- 1) 伊古田勇人, 平戸純子. 脳腫瘍. 病理と臨 2013; 31: 235-238.
- 2) 日本脳神経外科学会・日本病理学会, 編. 脳腫瘍取扱い規約 (第4版). 東京: 金原出版; 2018. 4.
- 3) 扇田智彦, 大澤久美子, 田丸淳一. リンパ節. 清水道生, 編. 実用細胞診トレーニング, これで分かる細胞の見方. 東京: 秀潤社; 2008. 147.

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で使用する場合は、原著者 (あるいは団体) より投稿論文を電子公開することを含めた許諾が必要で、これを証明する書類を添付する。

(8) 図・表・写真

a. 図、表は英文で作成する。写真、図、表は Photo.

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

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

5) 特集論文の様式

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

6) 読者の声

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

- (1) 表題は和文50字以内とする。表題に相当する英文も添える。

改行して本文を記述する。

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

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

7) 英文投稿の場合

A4縦にダブルスペースで10頁以内とする。

和文抄録を付し，図・表その他は和文の場合に準ずる。

5. 別 刷

別刷を希望するときは，校正時に部数を明記して申し込む。

6. 論文の審査

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

7. 校 正

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

8. 掲 載 料

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

9. 依頼原稿

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

10. 本規定の改定

投稿規定は改定することがある。

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

添付1 Acta Cytologica への投稿について

投稿規定は www.karger.com/acy 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	草苅 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	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	高田 恭臣	高野 忠夫	高野 浩邦	高野 政志	高橋 顕雅
高橋 芳久	高橋 恵美子	鷹橋 浩幸	高松 潔	田口 雅子	田口 健一
竹井 裕二	武田 麻衣子	竹原 和宏	田尻 琢磨	橘 啓盛	楯 真一
田中 京子	田中 綾一	田中 一朗	田中 尚武	田中 浩彦	棚田 諭
谷川 輝美	谷口 智子	谷山 清己	田沼 順一	田原 紳一郎	玉手 雅人
田丸 淳一	千酌 潤	塚田 ひとみ	辻村 亨	津田 均	土田 秀
筒井 英光	角田 肇	寺井 義人	寺田 倫子	寺畑 信太郎	寺本 典弘
寺本 瑞絵	土居 正知	田路 英作	徳田 雄治	渡具 知克	徳永 英樹
戸澤 晃子	栃木 直文	富永 英一郎	豊田 進司	鳥居 貴代	内藤 子来
内藤 嘉紀	永井 雄一郎	中泉 明彦	中尾 佳史	長阪 一憲	長坂 徹郎
中里 宜正	中澤 久美子	長嶋 健	永瀬 智	中塚 伸一	仲村 勝
中山 富雄	中山 宏文	中山 淳	南部 雅美	新倉 仁	西川 鑑
西川 武	錦見 恭子	西田 直代	西野 幸治	西村 理恵子	西森 誠
西山 憲一	布引 治	野澤 真由	能登 原憲司	野中 道子	野村 弘行
野本 靖史	橋口 真理子	長谷川 清志	秦 美暢	畑中 一仁	服部 学
馬場 洋一郎	羽原 利幸	濱川 真治	林 茂徳	林 真也	林 俊哲
原 由紀子	原田 憲一	坂東 健次	阪 埜浩司	東田 太郎	東 美智代
樋口 佳代子	飛田 陽	秀島 克己	平沢 晃	平田 哲士	平林 健一
廣井 禎之	廣島 健三	廣田 誠一	福島 万奈	福島 裕子	福屋 美奈子
藤井 丈士	藤田 茂樹	伏見 博彰	藤山 淳三	藤原 寛行	二神 真行
古田 玲子	古旗 淳	星 利良	星田 義彦	細根 勝太	堀江 香代
堀 由美子	彭 為霞	前田 純一	前田 ゆかり	増田 健太	増田 しのぶ
町田 知久	松井 成明	松浦 基樹	松澤 こず恵	松下 宏	松田 育雄
松田 勝也	松永 徹	松林 純	松本 光司	松本 慎二	松元 隆
松山 篤二	丸 喜明	丸川 活司	丸田 淳子	三浦 弘守	三浦 弘之
水野 美香	三橋 暁	湊 宏	南 優子	南口 早智子	三村 明弘
宮井 由美	宮城 淳	三宅 真司	三宅 康之	宮崎 龍彦	宮嶋 葉子
宮本 朋幸	村田 晋一	村田 哲也	望月 紀英	元井 亨	物部 泰昌
森定 徹	森下 由紀雄	森 康浩	森村 豊	八重 檉伸生	安岡 弘直
安田 政実	矢田 直美	柳田 聡	矢野 恵子	矢野 博久	山上 亘
山口 知彦	山口 浩	山口 倫	山崎 奈緒子	山下 博	山田 隆司
山田 隆	山田 麻里沙	山田 恭輔	山田 鉄也	山田 範幸	山元 英崇
山本 晃人	矢持 淑子	横井 豊治	横尾 英明	横瀬 智之	横山 俊朗
吉岡 治彦	吉田 勤	吉田 浩一	吉野 潔	吉見 直己	米田 操
米山 剛一	梁 善光	和田 直樹	渡部 洋	渡邊 純	渡辺 寿美子
渡邊 みか					

(50 音順)

令和二年三月二十二日発行

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
発行所 公益社団法人 日本臨床細胞学会
駿河台サンライズビル三階
電話 〇三(五五七七)四六八〇 振替 〇〇一一〇〇―三三五四五