

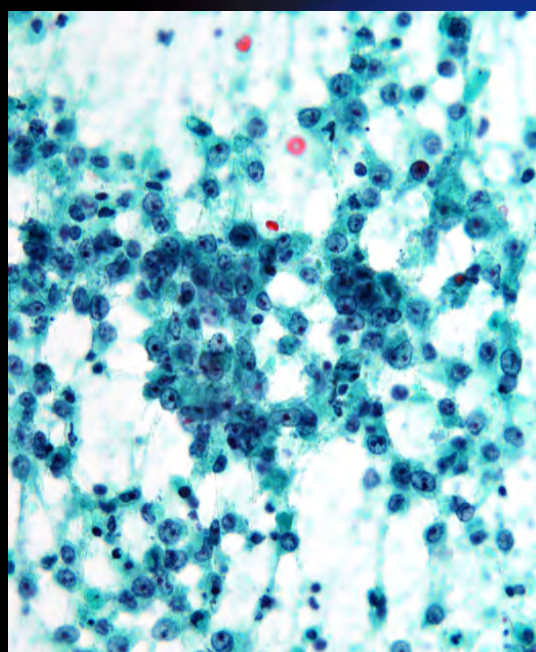
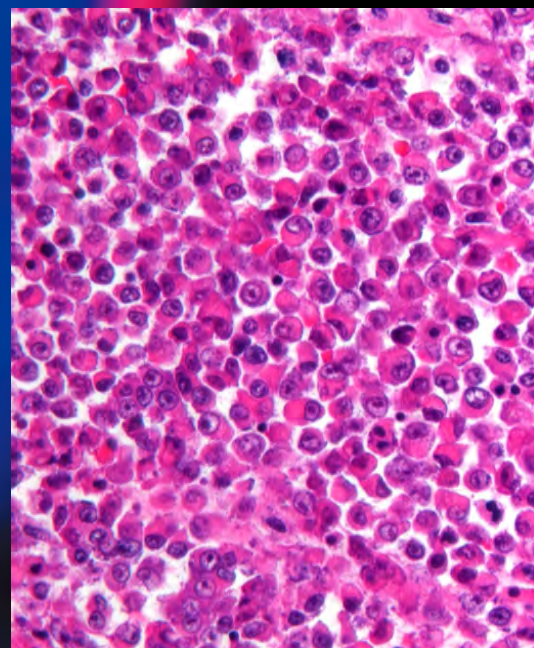
ONLINE ISSN 1882-7233
PRINT ISSN 0387-1193

日 臨 細 胞 誌
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第59巻 第4号 令和2年7月

日本臨床細胞学会雑誌

THE JOURNAL
OF THE JAPANESE
SOCIETY OF CLINICAL
CYTOLOGY



公益社団法人
日本臨床細胞学会

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

Vol.59 No.
July 2020

4

目 次

巻頭言	森谷 卓也
-----	-------

〈原 著〉

超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA）の採取圧の違いによる膵癌細胞像の比較検討	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター病理診断科 浜島 裕理・他 （165）
深層学習（deep learning）を用いた人工知能構築に要する子宮頸部細胞取得倍率についての検討	福井大学医学部附属病院病理診断科/病理部 森 正樹・他 （174）

〈症 例〉

子宮内膜細胞診陽性のみを呈した腹膜漿液性癌の 1 例	武蔵野赤十字病院産婦人科 黒須 博之・他 （181）
成人に発生した腎ラブドイド腫瘍の 1 例	国立国際医療研究センター国府台病院中央検査部 荒川 文子・他 （186）
胸壁軟部組織に発生した脊索腫の 1 例	公益財団法人東京都保健医療公社豊島病院病理診断科 久和 美咲・他 （192）

〈短 報〉

胸水乾燥塗抹標本中に HHV-8 DNA の存在を確認しえた原発性滲出液リンパ腫の 1 例	帝京大学ちば総合医療センター病院病理部 内田 浩紀・他 （197）
---	-----------------------------------

投稿規定	(200)
編集委員会	(207)

＊

〈表紙写真〉

成人に発生した腎ラブドイド腫瘍
（左：パパニコロウ染色，右：H-E 染色）（荒川 文子・他，左：Photo. 2, 187 頁，右：Photo. 8, 189 頁）

CONTENTS

Editorial.....	Takuya Moriya
----------------	---------------

Original Articles

Cytological changes in pancreatic cancer cells caused by the sampling pressure in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration Yuri Hamashima, et al. (Dept. of Path., Tokyo Metropolitan Geriatric Hosp., Tokyo)	(165)
Effect of microscopic magnification on the establishment of an artificial intelligence for cervical cells using deep learning Masaki Mori, et al. (Div. of Surg. Path., Univ. of Fukui Hosp., Fukui)	(174)

Clinical Articles

A case of serous peritoneal cancer who presented with abnormal endometrial cytology Hiroyuki Kurosu, et al. (Dept. of Obst. and Gynecol., Musashino Red Cross Hosp., Tokyo)	(181)
A case report of a rhabdoid tumor of the kidney in an adult Ayako Arakawa, et al. (Dept. of Path. and Lab. Med., National Center for Global Health and Med., Kohnodai Hosp., Chiba)	(186)
A case of soft tissue chordoma of the chest wall Misaki Hisawa, et al. (Dept. of Path., Tokyo Metropolitan Health and Med. Corporation Toshima Hosp., Tokyo)	(192)

Brief Note

A case of primary effusion lymphoma with the presence of human herpesvirus-8 DNA in a pleural effusion smear Hiroki Uchida, et al. (Dept. of Path., Teikyo Univ. Chiba Med. Center, Chiba)	(197)
---	-------

Notice to contributors.....	(200)
-----------------------------	-------

Cover Photo

Rhabdoid tumor of the kidney in an adult (Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Ayako Arakawa, et al., Left : Photo. 2, p187, Right : Photo. 8, p189)	
---	--



巻頭言

Takuya Moriya

森谷卓也

公益社団法人日本臨床細胞学会副理事長

川崎医科大学学長補佐・病理学教授

▶ 新しい生活様式を迎えて



会員の皆様におかれましては、時下ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。平素は学会活動へのご支援とご協力を賜り、心より御礼を申し上げます。この度、日本臨床細胞学会雑誌第59巻第4号(2020年7月発行)が発刊されました。いつも以上に大変興味深い論文が掲載されていますので、ぜひお目通しのほど、お願い致します。

今年は、新型コロナウイルス感染症が蔓延し、東京オリンピックをはじめ多くのイベントが延期、あるいは中止となりました。三密を避ける必要性、多人数が集まることができないことから、webを利用した活動の模索が始まりました。私が勤務している大学でも、講義は録画してオンデマンドで視聴していただいておりますし、病院実習は患者さんと接しない形での工夫が求められました。病理部については、しばらくはオンライン会議ツールを利用した課題学習を行っていましたが、ようやく病院に学生が院内の部門に立ち入ることが許可され、本来の実習に戻りつつあります。一方、低学年の病理実習(顕微鏡実習)を行うことができないため、学生の理解を深めるための代替案を模索中です。

当学会でも、理事会等の会議がオンラインで実施され、この原稿を書いている数日後には第61回日本臨床細胞学会総会(春期大会)(佐藤之俊会長)が開催される予定になっています。「新しい生活」としての取り組みは、単なる代替開催ではなく、これからの学会の在り方、運用を考える上でも極めて貴重な機会と考えられますので、この度の総会(春期大会)における実施状況の把握と振り返り、さらには次世代への展望に、大いに期待したいと考えています。

学会活動には、学会員相互の交流とスキルアップを目指す意味での学術集会、専門家集団の質を担保し、全体のレベルを向上させるための各種講習会、公益社団としての啓蒙活動・社会貢献がありますが、もう一つは学会雑誌があります。査読により承認されたもののみが掲載されますので、論文の質は学会が認めた(担保した)ものとなります。また、論文のクオリティは、学会のステータス(レベル)がどの程度であるかを示す指標ともいえます。さらに、個々の論文は学会会員以外にも公開されますので、本学会のアクティビティを知らしめるためのツールとしても活用できるものと考えられます。本日、医学中央雑誌で「日本臨床細胞学会」で検索したところ42855件が、さらに「会議録除く」と組み



巻頭言

合わせてみると 6319 件がヒットしました。私自身の経験からも、本学会雑誌はきめ細かい丁寧な査読のもとに、公正で質の高い論文が採択されており、極めて質の高い論文が数多く掲載されているものと考えております。

臨床細胞学のさらなる発展に寄与し、研究成果を社会に積極的に還元する意味でも、学会雑誌への多数の、積極的な投稿をお願い申し上げます。

原 著

超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA）の採取圧の違いによる
膵癌細胞像の比較検討

浜島 裕理 松田 陽子 江坂四季音 鈴木 明美
今泉 雅之 白幡 浩人 木曾 有里 児島 宏哉
木村 勇里 野中 敬介 新井 富生

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター病理診断科

目的：EUS-FNAは侵襲があるため、十分な検体量を採取する方法を決定することは重要である。本研究では、穿刺時の陰圧の有無や順番、穿刺回数による細胞像の違いを検討した。

方法：2015～2016年に当施設でEUS-FNAの4回穿刺を施行し、組織学的に膵癌と診断された37例を対象とした。1, 2回目はシリンジによる10 ml陰圧, 3, 4回目は自然陰圧で穿刺する群を“陰圧先群”, 1, 2回目を自然陰圧, 3, 4回目を10 ml陰圧の群を“陰圧後群”の2群に分け、4回それぞれの細胞診標本作製した。異型細胞量、非結合性、壊死量、血液量、正常細胞量をスコア化、統計解析した。

成績：陰圧後群では穿刺2回目の異型細胞が最も多く、3, 4回目に少なくなった。陰圧先群では4回目で異型細胞が最も多かった。陰圧先群に比べ、陰圧後群のほうが1, 2回目と3, 4回目ともに異型細胞を多く認めた。また、結合性の強さと異型細胞量は正の相関を示した。

結論：膵癌症例のEUS-FNAでは、最初に陰圧をかけないほうが異型細胞を多く採取できる可能性が示唆された。結合性の弱い膵癌では異型細胞が少なくなるため、少数の異型細胞を見落とさないことが重要である。

Key words : Pancreatic cancer, Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration, Suction, Non-suction, Cytology

I. はじめに

超音波内視鏡下穿刺吸引法（endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration : EUS-FNA）は、従来診断困難であった膵臓や胃粘膜下組織、リンパ節などの病変を、胃や十二指腸内腔より超音波内視鏡で観察しながら穿刺し、病理診断を可能とする検査方法である。

EUS-FNAが登場するまで膵疾患に対して比較的早期に診断できる検体は膵液や胆汁であったが、得られる細胞は長時間剥離した状態であることに加え、胆汁や消化酵素の影響で変性をきたしており、細胞形態の観察が困難なことが多かった。

膵液細胞診による癌検出の感度は30～79%、特異度は

Cytological changes in pancreatic cancer cells caused by the sampling pressure in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration

Yuri HAMASHIMA, C. T., I. A. C., Yoko MATSUDA, M. D., Shikine ESAKA, C. T., I. A. C., Akemi SUZUKI, C. T., I. A. C., Masayuki IMAI-ZUMI, C. T., I. A. C., Hiroto SHIRAHATA, C. T., I. A. C., Yuri KISO, C. T., J. S. C., Hiroya KOJIMA, C. T., J. S. C., Yuri KIMURA, C. T., J. S. C., Keisuke NONAKA, M. D., Tomio ARAI, M. D.

Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

論文印刷請求先 〒173-0015 東京都板橋区柴町35の2 地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター病理診断科 浜島裕理

令和元年5月7日受付

令和元年6月4日受理

Table 1 Characteristics of the prior and posterior suction groups

Group	No. of Cases	The order of needle passes			
		1	2	3	4
Prior suction group	18	+	+	-	-
Posterior suction group	19	-	-	+	+

+ : aspiration with suction with a 10 ml-syringe, - : aspiration without suction

91~100%と報告され、検体処理法、診断者の熟練度により成績が左右されることが指摘されていた¹⁾。1990年代半ばEUS-FNAが欧米で開発され、解剖学的に体表からの穿刺アプローチが難しい膵の検体採取が可能となった²⁾。EUS-FNA検体を用いた良悪性の細胞学的鑑別診断能は、膵腫瘍性病変で正診率は76~95%、感度は64~94%、特異度は93~100%と報告され¹⁾、診断感度、特異度に優れている。偶発症として、出血、膵炎、感染、消化管穿孔、急性門脈閉塞、癌の播種などがあげられるが、膵炎は、一般的にはendoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP)後のものと比較すると頻度は少なく、軽度であり、有用な検査法と期待されている^{3~5)}。さらに、免疫組織化学的検索⁶⁾やfluorescence *in situ* hybridization (FISH)、遺伝子解析にも応用でき、分子病理学的研究⁷⁾においても重要なツールである。

しかし、EUS-FNA検体は採取量が少ないことや血液や壊死物に覆われて標的細胞が観察しがたい場合があり、診断困難となる症例を少なからず経験する。また、検査の侵襲を考慮すると、頻回に施行できないため、一度の検査での診断精度向上がきわめて重要であり、穿刺針や穿刺方法に関するさまざまな試みがなされている。膵病変の穿刺時に50 ml陰圧で吸引する方法と10 ml陰圧で吸引する方法の比較では、高い陰圧をかけたほうが採取される細胞量が多くなるが、血液の混入が問題点として指摘されている⁸⁾。また、血液混入量に明らかな差異はないが、10 mlシリンジによる陰圧をかけることで、より多くの標本を作製でき、感度が高くなるという報告もある⁹⁾。穿刺回数については、膵病変では3回で診断に十分な量が採取されると報告されている¹⁰⁾一方、膵充実性腫瘍では3回以上の穿刺が必要とする報告¹¹⁾や、通常型膵癌を疑う場合は3回以上の穿刺を要するという報告もある¹²⁾。また、リンパ節では5回の穿刺、膵臓やその他の病変では少なくとも7回の穿刺により、高い正診率につながるとも報告されている¹³⁾。部位や病変によって最適なEUS-FNAの穿刺方法が異なると考えられており、現在のところ統一した見解はない。

そこで今回われわれは、膵癌から検体量を十分に得られる穿刺条件を決めるために、陰圧の有無や順番、穿刺回数

による細胞像の違いを検討したので報告する。

II. 対 象

2015年2月から2016年12月に当センターにてEUS-FNAを施行した症例のうち、本研究への参加の同意が得られ、内視鏡医が4回穿刺可能と判断し、組織学的に膵癌と診断された37例（男性16例、女性21例、年齢中央値78歳、分布58~91歳）を本研究の解析に用いた。

本研究は、東京都健康長寿医療センター倫理委員会の承認を受けて実施した（承認番号：R17-12）。

III. 方 法

1. EUS-FNAによる検体の採取（通常のEUS-FNAと同様）

超音波内視鏡（GF-UCT260, OLYMPUS社、東京）および超音波装置（EU-ME1, OLYMPUS社）を用いて標的腫瘍を胃あるいは十二指腸内腔から描出し、超音波内視鏡穿刺針を用いて腫瘍を超音波内視鏡ガイド下に穿刺した。穿刺針は、22と25ゲージ（Expect, Boston Scientific社、Marlborough, MA；ProCore, Cook社、Bloomington, IN；EZ Shot 3 Plus, OLYMPUS社）のいずれかを用いた。穿刺針の太さについては、詳細不明なため、検討できなかった。

穿刺時の陰圧のかけ方については、10 mlシリンジを引きながら穿刺吸引を行う10 ml陰圧と、シリンジによる吸引は行わず、シリンジは装着せずにスタイレットを引き抜くことによってのみ発生する自然陰圧の2種類を用いた。穿刺回数は4回とし、内視鏡医が患者を2群に分けて、陰圧のかけ方の順番を変えた。1, 2回目は10 ml陰圧、3, 4回目は自然陰圧の群を“陰圧先群（Prior suction group）”、1, 2回目を自然陰圧、3, 4回目を10 ml陰圧の群を“陰圧後群（Posterior suction group）”とした（Table 1）。

なお、1回の穿刺では、同腫瘍部内の近い場所を、一般的なEUS-FNA穿刺と同様に20回程度、針を前後にストロークさせた。内視鏡の経験年数19年の内視鏡医がほとんどのEUS-FNAを施行し、一部の症例は、その内視鏡医の監督のもと、経験年数9年の内視鏡医がEUS-FNAを施行した。

2. 採取後の検体処理、評価方法

4回穿刺のそれぞれについて、採取された検体をスライドガラス上に載せ、下方より赤色ライトで照射し、検体の観察を行った（Photo. 1）。組織塊は組織標本用に20%ホルマリン液で固定した。残りの液体成分をすり合わせ法にて

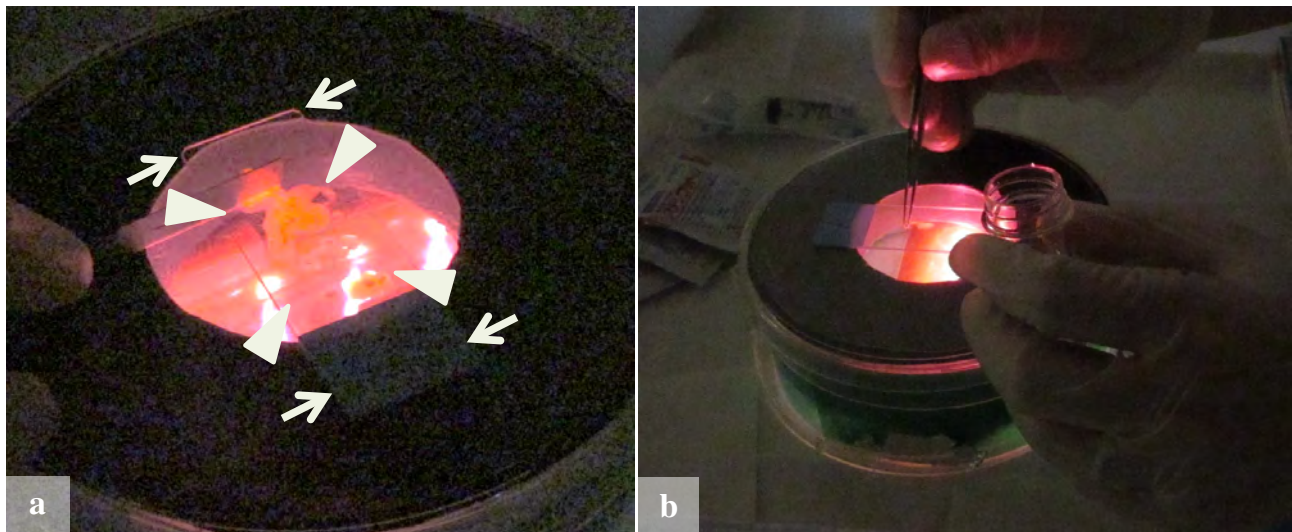


Photo. 1 Preparation of EUS-FNA samples using red light

a : The sample was macroscopically observed using red light. Arrows indicate the slide glass. Arrowheads indicate the EUS-FNA sample. b : Small solid masses were collected and immersed in formalin for preparing a tissue block.

Table 2 Score of cytologic findings

Cytologic findings	Score	Description
Cellularity of atypical cells	0	Undiagnosed amount
	1	Present in numbers interfering with the diagnosis
	2	Score less than 3, but not interfering with the diagnosis
	3	Sufficient material for diagnosis
Discohesion	0	Many cluster cells
	1	Equal numbers of single cells and cell clusters
	2	Many single cells
Necrotic cells	0	None or rare
	1	Less in number than epithelial cells
	2	More in number than epithelial cells
Blood cells	0	None or rare
	1	Present, but not interfering with the diagnosis
	2	Covering epithelial cells and interfering with the diagnosis
Normal cells	0	None or rare
	1	Less in number than atypical cells
	2	More in number than atypical cells

塗抹, 95%アルコール固定を行い, 細胞診標本とした。細胞診標本は, Papanicolaou 染色を行い, 通常の細胞診判定を行うとともに, 病理医 1 名 (細胞診断の経験年数: 16 年), 細胞検査士 3 名 (同経験年数: 7 年, 13 年, 13 年) が, 異型細胞量, 非結合性, 壊死量, 血液量, 正常細胞量について, 0, 1, 2, 3 あるいは 0, 1, 2 のスコア化を行っ

た (Table 2)。判定者各自が互いの評価についてブラインドで評価した。スコアについては膵癌の EUS-FNA 検体での診断上, 問題となる項目を選定した。各項目に関するスコアの細胞像を Photo. 2~6 に示す。4 名のスコアの平均値を Stat View J version 5.0 (SAS Institute Inc, Cary, NC) にて統計解析を行った。データは平均値 ± 標準偏差で表し

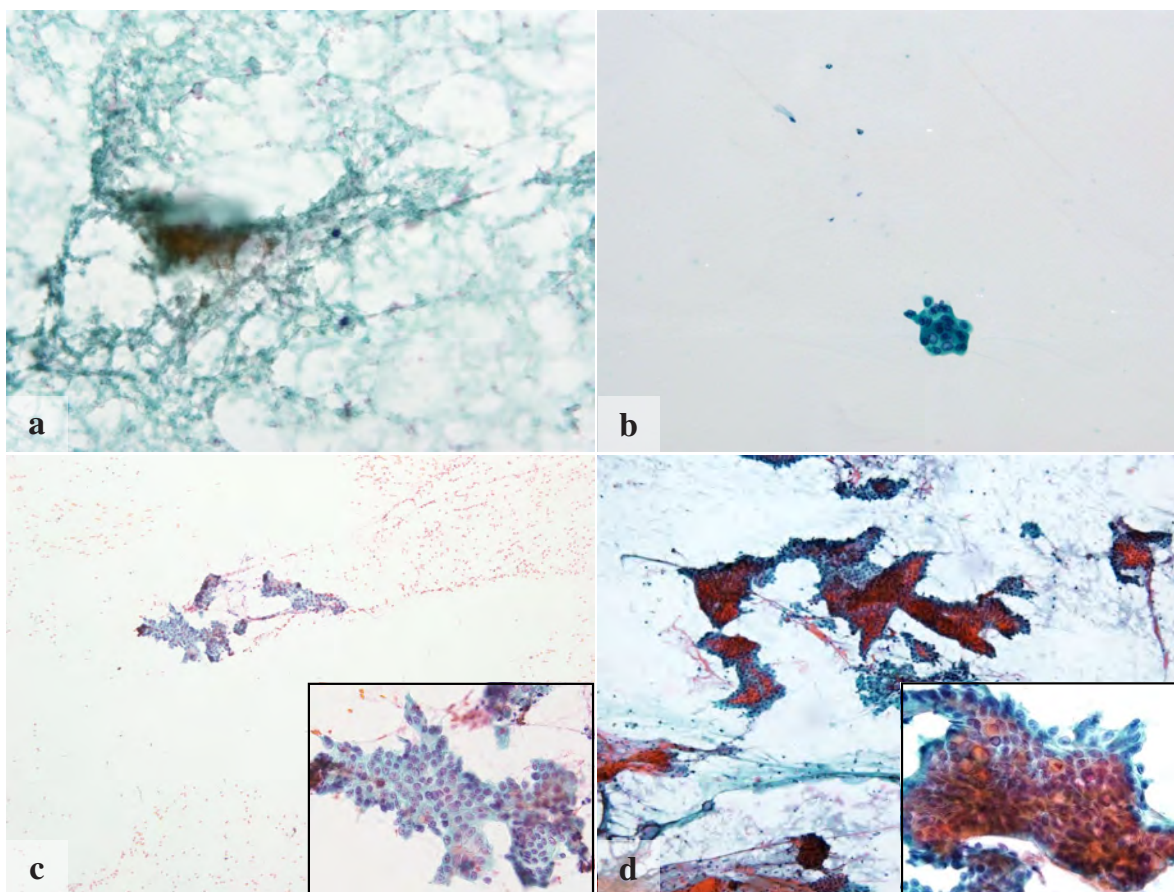


Photo. 2 Representative cytological findings of the cellularity of atypical cells

a : Score 0 corresponded to the presence of blood cells without atypical cells (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 20$). b : Score 1 corresponded to the presence of a few atypical cells (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 20$). c : Score 2 corresponded to the presence of some atypical cell clusters (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 10$; inset, original magnification, $\times 20$). d : Score 3 corresponded to the presence of many atypical cells (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 10$; inset, original magnification, $\times 20$).

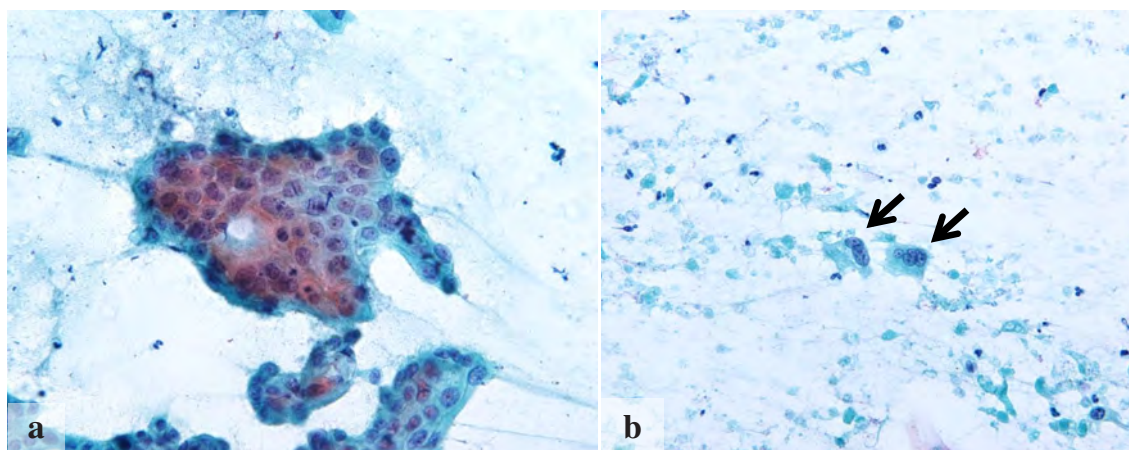


Photo. 3 Representative cytological findings of discohesion of atypical cells

a : Score 0 corresponded to the presence of atypical cell clusters with tight adhesion (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$). b : Score 2 corresponded to the presence of isolated atypical cells (arrows) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).

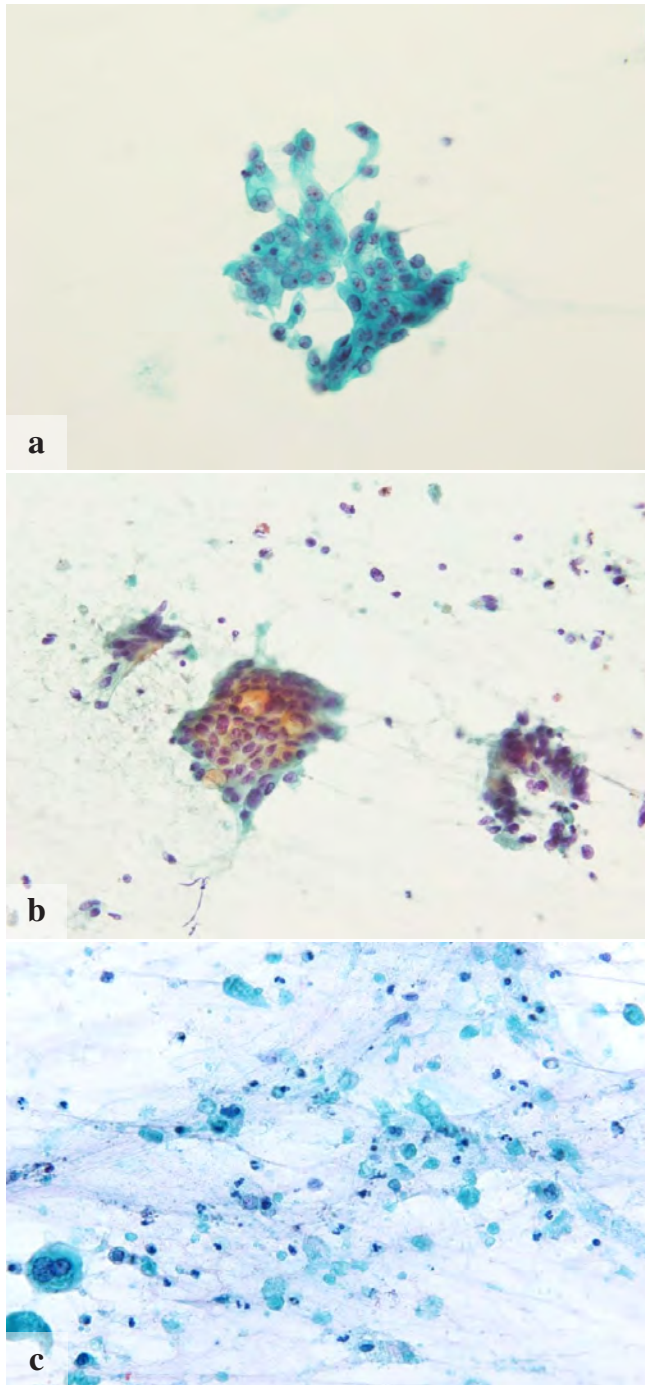


Photo. 4 Representative images of evaluation of necrotic cells
 a : Few necrotic cells with atypical cells (Score 0) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).
 b : Necrotic cells with the same number of atypical cells (Score 1) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).
 c : Large number of necrotic cells with only a few atypical cells (Score 2) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).

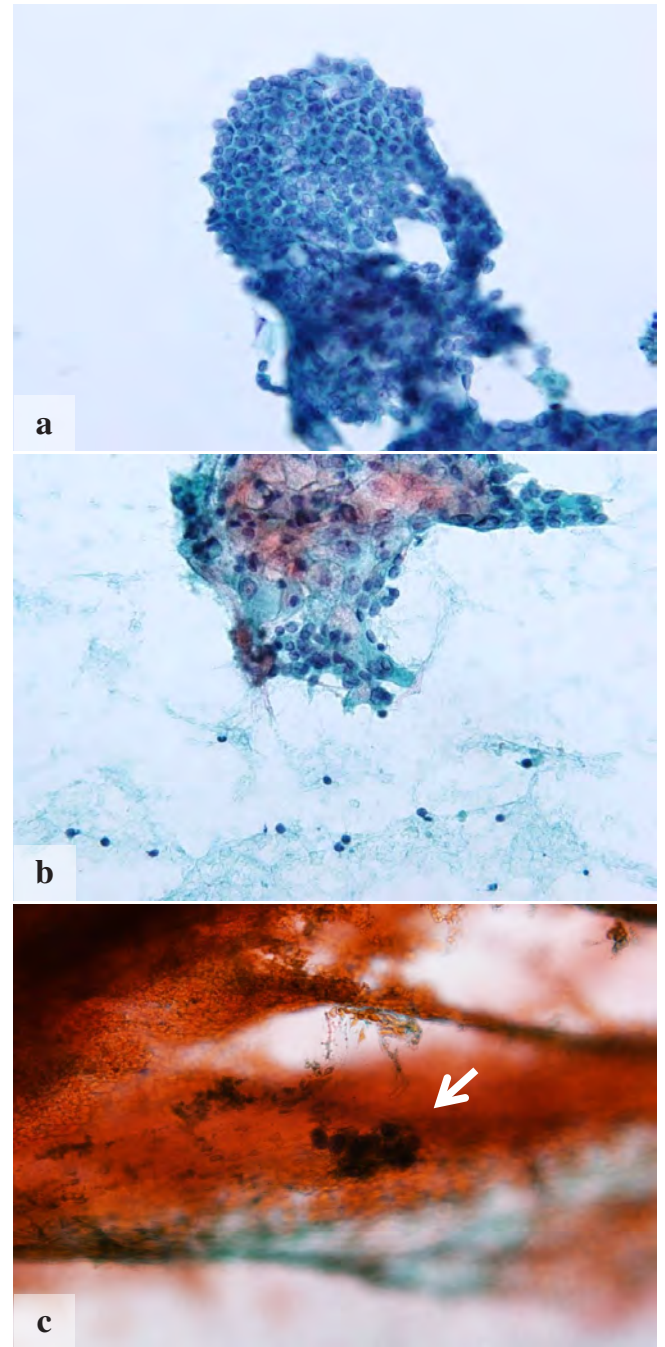


Photo. 5 Representative images of evaluation of blood cells
 a : Few blood cells (Score 0) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).
 b : A few blood cells (Score 1) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).
 c : Atypical cells (arrow) covered by numerous blood cells (Score 2) (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).

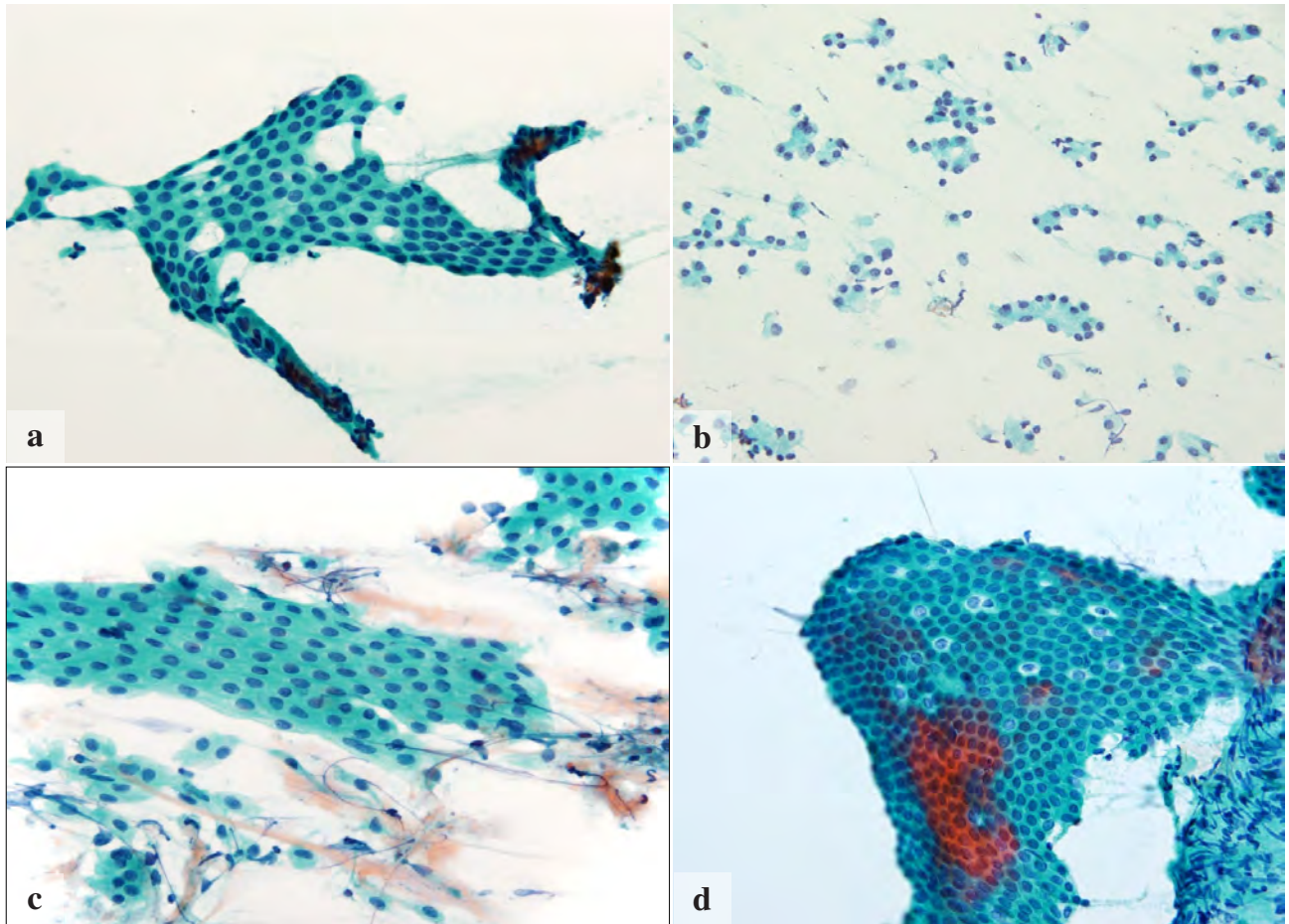


Photo. 6 Normal cells in EUS-FNA samples

a : Pancreatic duct cells (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$). b : Pancreatic acinar cells (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$). c : Mucosal epithelial cells of the stomach (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$). d : Mucosal epithelial cells of the duodenum (Papanicolaou staining, original magnification, $\times 40$).

た．“陰圧先群”，“陰圧後群”での2群間の比較を対応のない t 検定で，穿刺1，2，3，4回目での比較を対応のある t 検定で解析した．各スコアの相関関係を回帰直線で求めて解析した． $p < 0.05$ を有意差ありとした．

IV. 結 果

異型細胞は，“陰圧後群”では4回穿刺のうち，2回目が最も多く採取され，3，4回目に少なくなった ($p < 0.05$)．2回目は，“陰圧先群”より“陰圧後群”のほうが多く採取された ($p < 0.05$) (Fig. 1)．

穿刺1，2回目と3，4回目の平均について，2群間の比較を行ったところ，いずれも“陰圧後群”のほうが多く採取され，1，2回目では有意差がみられた ($p < 0.05$) (Fig. 2)．

陰圧の有無や穿刺回数と，非結合性，壊死量，血液量，

正常細胞量については，有意差を認めなかった．

異型細胞量と非結合性では，結合性の強いときほど異型細胞が多く採取される傾向がみられ，1，3，4回目で有意な相関が認められた ($p < 0.05$)．Fig. 3に1回目のグラフを示した．

異型細胞量と，血液量，正常細胞量については，有意な相関を認めなかった．

V. 考 察

本検討により，陰圧をかける順番によって採取される異型細胞量が異なることが明らかとなった．異型細胞量については，陰圧後群で，2回目の穿刺が最も多く採取され，3，4回目に徐々に減っていく傾向がみられた．この傾向の原因として，使用回数による針の摩耗によって生じる可能性を考えたが，陰圧先群では4回目の穿刺が最も多く採取

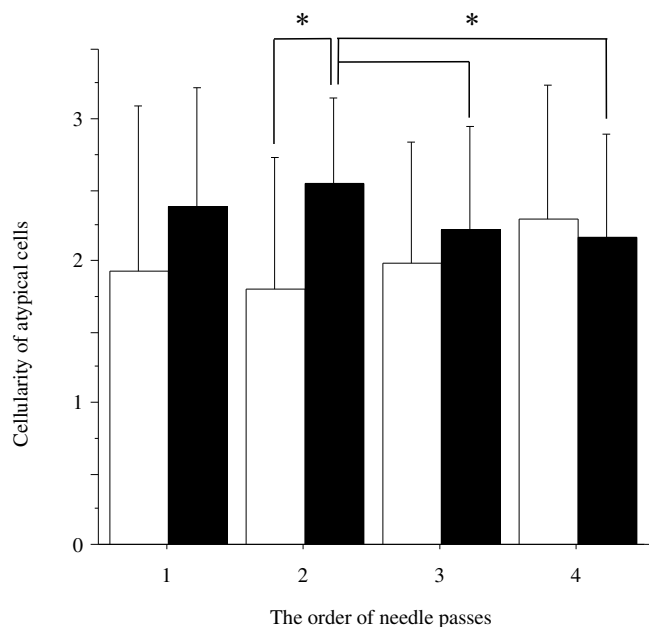


Fig. 1 Comparison of the cellularity of atypical cells according to the order of needle passes
The data represent means $\pm$ SD. Clear rectangle, prior suction group; filled rectangle, posterior suction group.
*: $p < 0.05$

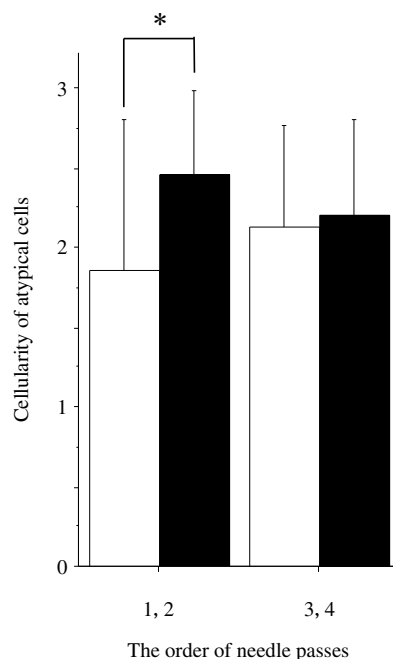


Fig. 2 Comparison of cellularity of atypical cells according to the order of needle passes (1, 2 vs. 3, 4)
The data represent means $\pm$ SD. Clear rectangle, prior suction group; filled rectangle, posterior suction group.
*: $p < 0.05$

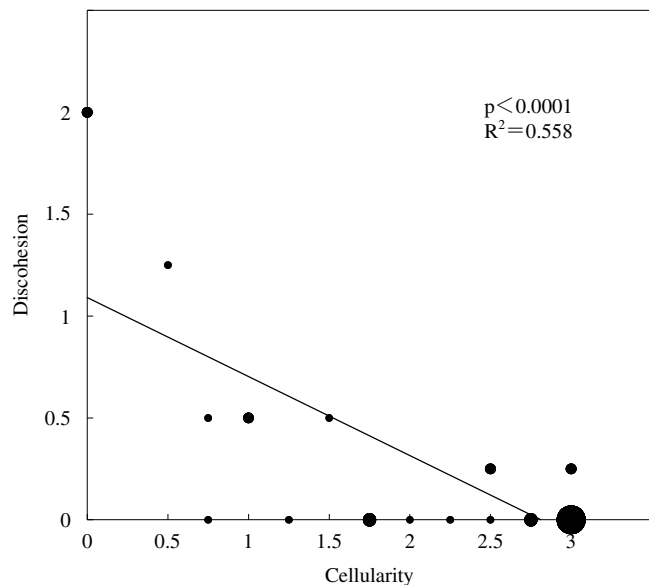


Fig. 3 Correlation between cellularity and discohesion
The graph shows the results of the first needle pass.

されたため、針の摩耗のみでは説明がつかなかった。また、陰圧後群のほうが、陰圧先群より異型細胞量は多くなる傾向がみられ、はじめから高い陰圧をかける必要性はないと考えられた。さらに、結合性の強い膵癌症例ほど異型細胞が多く採取されたことから、高分化な腫瘍部のほうがより

多くの細胞が針内に入りやすいと推測された。つまり、逆に言うと、結合性が弱い低分化な腫瘍部を穿刺した場合は採取される細胞量が少ないということである。しかし、このような場合でも個々の細胞の異型性に注意して観察すれば診断はそれほど困難ではない。

Photo. 3a に、非結合性のスコア 0（結合性が強い）と判断した細胞像、Photo. 3b にスコア 2（結合性が弱い）と判断した細胞像を示す。Photo. 3a では、結合性を有する異型細胞集塊が出現し、腺腔構造がみられる。核は類円形で、クロマチン増量は軽度、小型の核小体がみられる。Photo. 3b では、多核や著明な核形不整、クロマチン増量をみとめる比較的大型の異型細胞が孤立性に出現している。少数でも、Photo. 3b に示すような、比較的強い異型に注目することで、診断が可能となる。また、膵癌や胆道系腫瘍は、浸潤先進部にいくに伴って低分化になる傾向がみられる¹⁴⁾。そのため、より多くの細胞を採取するには、浸潤先進部を避けて採取することが望ましいと考えられる。

今回の検討から、自然陰圧での 1~2 回の穿刺後に、肉眼的に、細胞量が少ないと判断した場合には、エコー下で腫瘍内の穿刺部位を微調整することでより多くの標的細胞が採取できると考えられた。

Kudo らは、10 ml シリンジによる 10 ml 陰圧と 60 ml シリンジによる 50 ml 陰圧の吸引の比較において、細胞量に

については高い陰圧をかけることで、より多くの細胞が得られるが、診断精度については、低陰圧群と高陰圧群で明らかな違いはないと報告している⁸⁾。

われわれの検討では、1, 2回目と3, 4回目を統合した結果から、前2回分のみを比較すると“陰圧後群”つまり自然陰圧のほうが多く採取できた。また、Kudoらの報告は組織学的検討であるのに対し、今回の検討は細胞学的検討であり、液体成分に含まれる異型細胞量や検体処理の過程による影響を受け、結果に違いが生じた可能性も考えられる。他にも、用いる陰圧の数値による影響も否定できず、これらの点に関しては今後の課題と考える。

また、Puriらの充実性腫瘍におけるEUS-FNAの検討では、自然陰圧検体と10 ml陰圧検体の比較で、血液混入量に明らかな差異はない⁹⁾と報告されており、この点はわれわれの検討結果と一致した。しかし、Wallaceらは、リンパ節を対象とした検討で、吸引と非吸引を比較すると、吸引することで正診率が上がることはないが、血液量が増えることを報告している¹⁵⁾。穿刺部位や臓器による違いも今後、検討が必要と考えられる。

本研究の限界

“陰圧先群”“陰圧後群”の2群間の背景因子の比較がされておらず、バイアスの存在が否定できない。

VI. 結 語

組織学的に膵癌と診断された症例のEUS-FNAでは、最初に陰圧をかけないほうが異型細胞を多く採取できる可能性が示唆された。結合性の弱い膵癌では異型細胞が少なくなるため、少数の異型細胞を見逃さないことが重要である。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は第59回日本臨床細胞学会総会（春期大会）で発表した。

謝辞 本論文を投稿するにあたり、ご協力いただいた当センター消化器内科の西村誠先生、松川美保先生、藤井悠子先生に深謝いたします。

Abstract

Objective : The optimal method for collecting samples by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA), which is especially significant because only small amounts of samples can be obtained by this procedure, remains under debate. This study was aimed at clarifying how different collection methods can influence the cytological findings.

Study Design : We investigated the data of 37 subjects with pancreatic cancer who underwent EUS-FNA. The subjects were divided into 2

groups : the “Prior suction group”, representing samples obtained by the former 2 needle passes with suction and the latter 2 needle passes without suction, and the “Posterior suction group”, representing samples obtained by the former 2 needle passes without suction and the latter 2 needle passes with suction. Samples were individually prepared and evaluated cytologically.

Results : In the “Posterior suction group”, the number of atypical cells in the specimens obtained by the 2nd needle pass was larger than that in the samples obtained by the 3rd and 4th needle passes. In the “Prior suction group”, the number of atypical cells in the specimens obtained by the 4th needle pass was higher as compared with that in the samples obtained by the other needle passes. The number of atypical cells was higher in the “Posterior suction group”. The degree of cellular adhesion of the atypical cells was positively correlated with the cellularity.

Conclusion : Our findings suggest that the “Posterior suction method” may be better to obtain specimens for the diagnosis of pancreatic cancer by EUS-FNA. In poorly cohesive pancreatic cancer, it is important not to overlook the presence of a few atypical cells.

文 献

- 1) 内藤善哉, 中泉明彦, 大久保文彦, 片山博徳, 清水道生, 白石泰三・ほか. 膵臓. 公益社団法人 日本臨床細胞学会, 編. 細胞診ガイドライン5 消化器 2015年度版 口腔/唾液腺/消化管/肝胆道系/膵臓. 東京: 金原出版; 2015. 257-312.
- 2) 安田一朗. 膵病変に対するEUS-FNA. *Gastroenterol Endosc* 2010; 52: 1722-1732.
- 3) 成瀬宏仁, 田中一光, 八木澤允貴, 工藤大樹, 堀本啓大, 山本桂子・ほか. 同一膵癌症例に対するERCPとEUS-FNAの病理診断能と偶発症の検討. 道南医学会大会並びに総会プログラム・抄録集 2016; 69: 96-99.
- 4) 宮田英樹, 野村佳克, 岩尾年康. 膵癌診断におけるERCP膵液細胞診とEUS-FNAの比較検討. *Gastroenterol Endosc* 2012; 54 (Suppl. 1): 1271.
- 5) 北野雅之, 坂本洋城, 小牧孝充, 野田佳寿, 末富洋一郎, 工藤正俊. EUSによる膵腫瘍診断. *消化器内視鏡* 2008; 20: 582-591.
- 6) 江坂四季音, 松田陽子, 浜島裕理, 今泉雅之, 児島宏哉, 木曾有里・ほか. 超音波内視鏡下穿刺吸引法における膵管上皮異型細胞の特徴的細胞像とセルブロック検体組織像の検討. *日臨細胞会誌* 2018; 57: 199-212.
- 7) Nishimura, M., Matsukawa, M., Fujii, Y., Matsuda, Y., Arai, T., Ochiai, Y., et al. Effects of EUS-guided intratumoral injection of oligonucleotide STNM01 on tumor growth, histology, and overall survival in patients with unresectable pancreatic cancer. *Gastrointest Endosc* 2018; 87: 1126-1131.
- 8) Kudo, T., Kawakami, H., Hayashi, T., Yasuda, I., Mukai, T., Inoue, H., et al. High and low negative pressure suction techniques in EUS-guided fine-needle tissue acquisition by using 25-gauge needles : a multicenter, prospective, randomized, controlled

- trial. *Gastrointest Endosc* 2014 ; 80 : 1030-1037.
- 9) Puri, R., Vilmann, P., Săftoiu, A., Skov, B. G., Linnemann, D., Hassan, H., et al. Randomized controlled trial of endoscopic ultrasound-guided fine-needle sampling with or without suction for better cytological diagnosis. *Scand J Gastroenterol* 2009 ; 44 : 499-504.
- 10) Cha, S. W., Lee, T. S., Lee, T. H., Lee, T. H., Choi, H. J., Jung, S. W., et al. Optimal number of needle passes by endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration for obtaining adequate diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2014 ; 56 (Suppl. 1) : 1338.
- 11) Jeong, S. H., Yoon, H. H., Kim, E. J., Kim, Y. J., Kim, Y. S., Cho, J. H. High-resolution endoscopic ultrasound imaging and the number of needle passages are significant factors predicting high yield of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for pancreatic solid masses without an on-site cytopathologist. *Medicine (Baltimore)* 2017 ; 96 : e5782.
- 12) 渡邊貴之, 丸山真弘, 伊藤哲也, 米田 傑, 丸山雅史, 児玉亮・ほか. 超音波内視鏡下穿刺吸引生検 (EUS-FNA) の成績と正診率向上のための検討. *ENDOSCOPIC FORUM for digestive disease* 2012 ; 28 : 8-15.
- 13) LeBlanc, J. K., Ciaccia, D., Al-Assi, M. T., McGrath, K., Imperiale, T., Tao, L. C., et al. Optimal number of EUS-guided fine needle passes needed to obtain a correct diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2004 ; 59 : 475-481.
- 14) 永田耕治, 清水道生. 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 胆管癌・膵癌. 東京: 文光堂; 2015. 137-148.
- 15) Wallace, M. B., Kennedy, T., Durkalski, V., Eloubeidi, M. A., Etamad, R., Matsuda, K., et al. Randomized controlled trial of EUS-guided fine needle aspiration techniques for the detection of malignant lymphadenopathy. *Gastrointest Endosc* 2001 ; 54 : 441-447.

原 著

深層学習 (deep learning) を用いた人工知能構築に要する 子宮頸部細胞取得倍率についての検討

森 正樹¹⁾ 木戸 尚治²⁾ 津森 太亮³⁾ 平野 靖⁴⁾
稲井 邦博⁵⁾ 樋口 翔平¹⁾ 今村 好章¹⁾

福井大学医学部附属病院病理診断科/病理部¹⁾, 大阪大学大学院医学系研究科人工知能画像診断学共同研究講座²⁾,
山口大学大学院創成科学研究科電気電子情報系専攻³⁾, 同 大学院創成科学研究科 (工学系学域) 知能情報工学分野⁴⁾,
福井大学医学部病態医学講座分子病理学領域⁵⁾

目的: 婦人科頸部細胞診検体を対象に, deep learning による人工知能 (artificial intelligence : AI) 構築に必要となる, デジタル画像取得時の条件について検討を行った.

方法: 学習・検証用画像には 20 倍, 40 倍の倍率で撮影した 451 枚 (20 倍 : 187 枚, 40 倍 : 264 枚) の細胞診画像に含まれる 996 個の細胞画像を用いた. ベセスダシステムに基づき分類した NILM, ASC-US, LSIL, ASC-H, HSIL, SCC の各細胞にラベル付け (アノテーション) を行った. また NILM は NILM 群, ASC-US・LSIL は low-risk 群, ASC-H・HSIL・SCC は high-risk 群と 3 群のカテゴリに再分類した. AI は物体検出モデル Faster R-CNN で構築し, 画像を入れ替えて検出と分類を 5 回行い, 平均適合率と平均再現率を求めた.

成績: いずれの群においても 40 倍画像を用いた AI が, 平均適合率, 平均再現率ともに, 良好な結果を示した.

結論: 細胞診においても AI 活用の可能性が示唆される一方, 微細な細胞構築の認識が重要な細胞診における AI 構築には, 高倍率で取得した高精細画像の活用が不可欠と考えられた.

Key words : Artificial intelligence (AI), Cytology, Deep learning, Faster R-CNN, High magnification images

I. はじめに

Deep learning (深層学習) は, ヒトの中枢神経を模した多層ニューラルネットワーク (multilayer neural networks) を活用した機械学習法の一つである, 人工知能 (artificial intelligence : AI) の構築につながる核心的技術で, これま

で画像認識, 音声認識, 言語処理分野で産業化されている. 特に二値化画像やカラー画像の認識と識別に優れた特性を示すことから, 医療分野においても, 放射線, 内視鏡画像による病変部位の検出, 病理組織診断の支援を目指して, 日本医療研究開発機構 (Japan Agency for Medical Research and Development : AMED) を中心に産学官連携研究が進められている¹⁾. われわれも, AI による細胞診標

Effect of microscopic magnification on the establishment of an artificial intelligence for cervical cells using deep learning

Masaki MORI¹⁾, C. T., I. A. C., Shoji KIDO²⁾, M. D., Taisuke TSU-MORI³⁾, B. E., Yasushi HIRANO⁴⁾, M. D., Kunihiro INAI⁵⁾, M. D., Shouhei HIGUCHI¹⁾, M. D., Yoshiaki IMAMURA¹⁾, M. D., F. I. A. C.

¹⁾Division of Surgical Pathology, University of Fukui Hospital

²⁾Department of Artificial Intelligence Diagnostic Radiology, Osaka University Graduate School of Medicine

³⁾Graduate School of Sciences and Technology for Innovation, Elec-

trical and Electronic Information System Major, ⁴⁾Graduate School of Sciences and Technology for Innovation, Intelligent Information Engineering Field (Engineering Department), Yamaguchi University

⁵⁾Division of Molecular Pathology, Department of Pathological Sciences, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui

論文別刷請求先 〒910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月 23 の3 福井大学医学部附属病院病理診断科/病理部 森 正樹

令和元年 9 月 19 日受付

令和元年 10 月 22 日受理

Table 1 Classification of three independent categories used in this study

Category	Bethesda classification
NILM group	NILM
Low-risk group	ASC-US and LSIL
High-risk group	ASC-H, HSIL, and SCC
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 HSIL, HSIL : high grade squamous intraepithelial lesion, SCC : squamous cell carcinoma	

本中の異型・悪性細胞の検出と診断支援を目標に医工連携を進め、細胞診領域で利用可能な AI 構築を試みてきた²⁾。

Deep learning に必要となる学習データの収集は、病理学領域においてはバーチャルスライドを活用した whole slide image (WSI) からの取得が効率的で、組織診標本における WSI 診断や AI 研究では、20 倍画像の活用が主流となっている^{3,4)}。しかし、40 倍の画像を活用する細胞診において、20 倍画像の活用が可能なのかは明らかではない。そこで、今回、婦人科頸部細胞診において、deep learning による AI 構築に必要なデジタル画像取得時の倍率に焦点を当て、正常細胞、異型細胞、悪性細胞等を良好に検出できる顕微鏡画像取得時の条件について検討を行った。

II. 材料と方法

1. 機械学習・検証用画像の取得

機械学習・検証用画像には、学内倫理委員会に申請し承認（承認番号：20180067）を受けた後、福井大学医学部附属病院産婦人科を受診して採取後 LBC (liquid based cytology)-papanicolaou 染色された子宮頸部細胞診の LBC 標本 (SurePath 法) を利用した。細胞検査士 2 名ならびに細胞診指導医 1 名、計 3 名で評価・診断された正常細胞、異型細胞、悪性細胞、トリコモナスおよびカンジダを含む細胞診 LBC 標本を、20 倍、40 倍の倍率でデジタル撮影した 451 枚 (20 倍画像 187 枚、40 倍画像 264 枚) の TIFF 画像 (いずれも、2448×1920 pixel) に含まれる細胞診画像を利用した。

各画像中に含まれる目的の細胞を矩形の bounding box で囲み、MATLAB アプリケーション (MathWorks, MATLAB R2017a, USA) の学習イメージラベラーを用い、ベセスダシステムに従い、negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM), atypical squamous cells of undeter-

Table 2 The number of slide images and the annotated cytological diagnosis according to the two different magnifications

Magnification	No. of images	Annotation		
		NILM	Low-risk	High-risk
×20	187	349	68	119
×40	264	234	76	150
Total	451	583	144	269

mined significance (ASC-US), low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H), high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), squamous cell carcinoma (SCC) の診断名のラベル付け (アノテーション) を行った。画像内に複数の分類すべき細胞があった場合は、それぞれアノテーションを行った。細胞が集塊を形成する場合には、その集塊全域、もしくは集塊を複数に分けてアノテーションした。

アノテーションされた細胞画像数に不均衡があったため、本研究では NILM は NILM 群、ASC-US, LSIL は low-risk 群、ASC-H, HSIL, SCC を high-risk 群と 3 群のカテゴリに再分類した (Table 1)。アノテーションされた bounding box の総数は 996 個で、その内訳は NILM 群 583 個、low-risk 群 144 個、high-risk 群 269 個であった (Table 2)。これらの画像は、必要に応じ工学的手法を用いて拡張 (augmentation) を行った。

2. AI の構築と評価方法

今回の検討では、津森、木戸らにより構築された AI を活用した²⁾。具体的には、deep learning の物体検出モデルである Faster R-CNN (regions with convolutional neural networks)⁵⁻⁷⁾を用い、アノテーションされた画像の 80% を利用して AI を構築した。また、学習に用いた画像データを除いた 20% を検証用画像データとした。結果の出力には、多クラス分類を行う課題によく用いられるソフトマックス関数 (分類項目が a, b, ..., n と n 項目の場合、 $a + b + \dots + n = 1$ とし、 $a > b, \dots, n$ の際に、a を出力する) を活用し、最大値を AI の予測確率とした⁸⁾。

AI の精度評価は、細胞検査士によって正解ラベルの付けられた領域と、AI が認識した領域の重なり具合を比較し、二つの領域の重なり (Intersection over Union : IoU) が 0.5 以上を示し、かつ AI の予測した悪性度のクラスが正解ラベルと一致した場合に、正しい予測と定義した。それに基づき、NILM 群、low-risk 群、high-risk 群の各群における適合率 (Precision : 正しく予測した bounding box 数/出力されたすべての bounding box 数、陽性的中率と同意) と、再現率 (Recall : 正しく予測した bounding box 数/正解 bound-

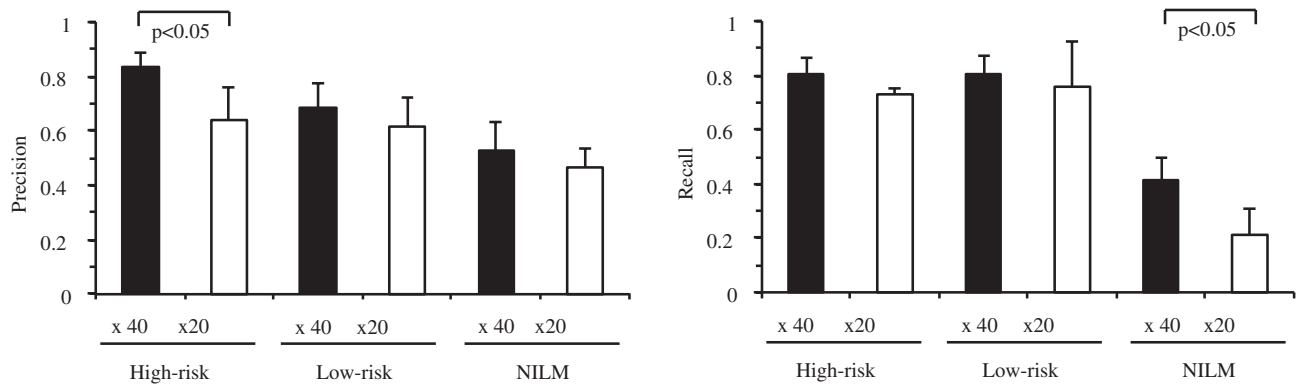


Fig. 1 Precision and recall rates in each category. Closed bar and open bar represent the mean of 5 independent computing experiments using the image data obtained by $\times 40$ magnification view and by $\times 20$ magnification views, respectively.

ing box の数, 感度に相当) を算出した。順次, 学習・検証用画像を入れ替えて 5 回検証し, それらの平均適合率と平均再現率を求めた。

各群間の比較には, Student *t* test (Ekuseru-Toukei, BellCurve 社, 東京) を用い, 有意水準 5% 未満を統計学的に有意と判定した。

III. 結 果

1. 正しい予測に対する高倍率学習データの有効性

今回, 学習用画像データを 40 倍, 20 倍の倍率で取得し, 3 群間の適合率 (precision), 再現率 (recall) を検討した (Fig. 1)。40 倍の倍率で取得した画像を用いた平均適合率は, high-risk 群 0.832 ± 0.054 (95% 信頼区間: 0.603~0.765), low-risk 群 0.684 ± 0.092 (95% 信頼区間: 0.784~0.880), NILM 群 0.526 ± 0.104 (95% 信頼区間: 0.417~0.435) であった。また, 平均再現率は high-risk 群 0.806 ± 0.058 (95% 信頼区間: 0.755~0.857), low-risk 群 0.808 ± 0.065 (95% 信頼区間: 0.751~0.865), NILM 群 0.416 ± 0.078 (95% 信頼区間: 0.348~0.484) であった。一方, 20 倍で取得した平均適合率, 平均再現率は, それぞれ high-risk 群 0.640 ± 0.121 (95% 信頼区間: 0.553~0.747), low-risk 群 0.616 ± 0.105 (95% 信頼区間: 0.524~0.708), NILM 群 0.466 ± 0.067 (95% 信頼区間: 0.408~0.524), ならびに high-risk 群 0.730 ± 0.019 (95% 信頼区間: 0.714~0.746), low-risk 群 0.758 ± 0.165 (95% 信頼区間: 0.614~0.902), NILM 群 0.212 ± 0.096 (95% 信頼区間: 0.128~0.296) であった。いずれの群間でも, 40 倍で取得した画像を用いた適合率, 再現率の平均値が 20 倍画像の結果より高値となる傾向を示し, 特に high-risk 群の平均適合率と NILM 群の平均再現率では統計学的な有意差が確認された。

2. 学習データ (正解ラベル) と AI 出力画像の比較

今回の検討における学習データ (正解ラベル, 40 倍で取得) と, その画像を用いて構築した AI からの出力結果の一部を提示する。いずれの画像も左側に正解ラベル (a), 右側に AI 出力画像 (b) を提示した。Photo. 1a では, 画像の中央に N/C 比の大きい high-risk 群 (HSIL) の異型細胞が認められたが, AI も予測確率 1.00 で high-risk 群 (HSIL) と正しく分類していた。また, 1 個の細胞を除き同じ画像に含まれる 3 個の NILM の細胞も予測確率 0.92~0.99 で正しく検出されていた (Photo. 1b)。集塊状に出現している high-risk 群 (HSIL) の細胞について集塊全域に bounding box で取り囲んだ (Photo. 2a) 場合でも, AI はほぼ同じ範囲に矩形を表示した (予測確率 1.00, Photo. 2b)。同様に, low-risk 群の核異型を認める koilocyte (LSIL) の検出も正しく実施された (Photo. 3)。

一方, 間質細胞を伴った頸管腺細胞の細胞集塊において腺細胞のみに NILM とアノテーションした場合 (Photo. 4a), AI は二つの bounding box を表示した。このうちの一つは, 間質細胞および頸管腺細胞集塊を囲む大きな bounding box であったが, IoU 値は小さく, 正解ラベルと病変の重なりは低かった。診断においても, AI は予測確率 0.99 で high-risk 群 (HSIL) と判断したが, 正解ラベルと異なっており, 最終的に誤認識と判定した (Photo. 4b)。また, もう一つは NILM と表示したが, その部分の予測確率は 0.13 と低値であった (Photo. 4b)。

写真には示さないものの, NILM に関しては, 炎症性変化の細胞集塊に対しても, 同一部位に対する複数の bounding box 表示をはじめ, 扁平上皮化生細胞が検出されない場合もあった。反面, トリコモナスやカンジダは, 比較的検出されやすい傾向にあった。

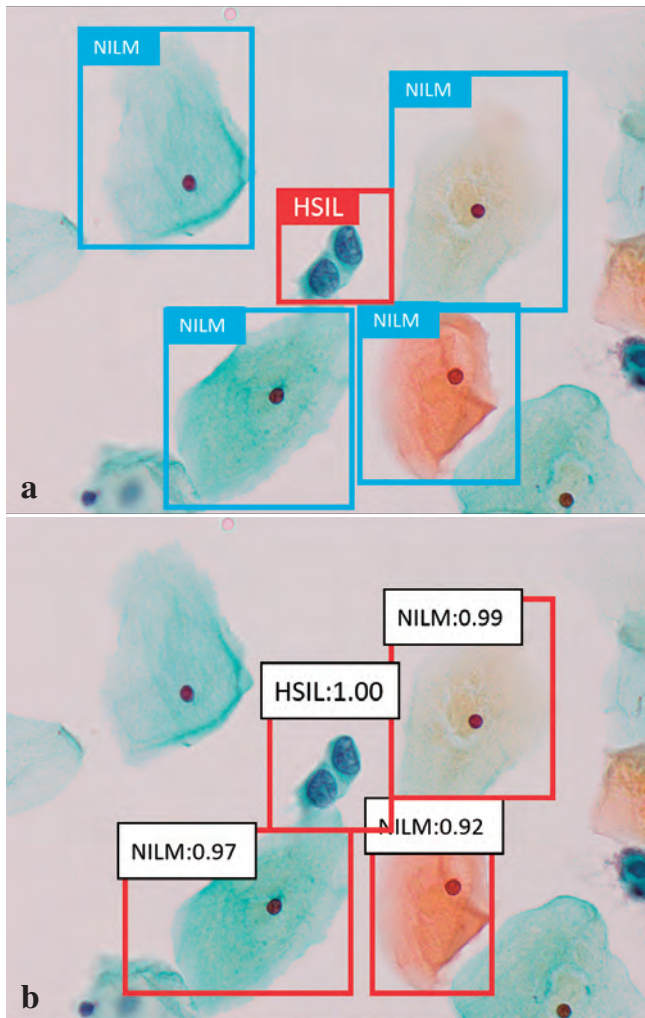


Photo. 1 Representative bounding boxes correctly annotated by AI (a) and the probability values (b). HSIL : high-grade squamous intraepithelial lesion, NILM : negative for intraepithelial lesion or malignancy (Papanicolaou staining, $\times 40$).

IV. 考 察

細胞診検査は、ヒトの視覚から得られる細胞の形態に着目して評価・分類を行うため、形態学的検査に位置づけられる。一方、人工のニューラルネットワークは、対象となる細胞をどのように判断、評価、分類するのかについてはブラックボックス化され不明であり、現今では処理過程の論理的解釈を理解することは難しいとされている。そのため、ユーザー側からすると、どのような学習データを準備すべきかわかりにくい。今回は、20 倍で取得した細胞画像と 40 倍で撮影した画像を活用して精度検定を行った。平均適合率と平均再現率は、high-risk 群、low-risk 群、NILM 群

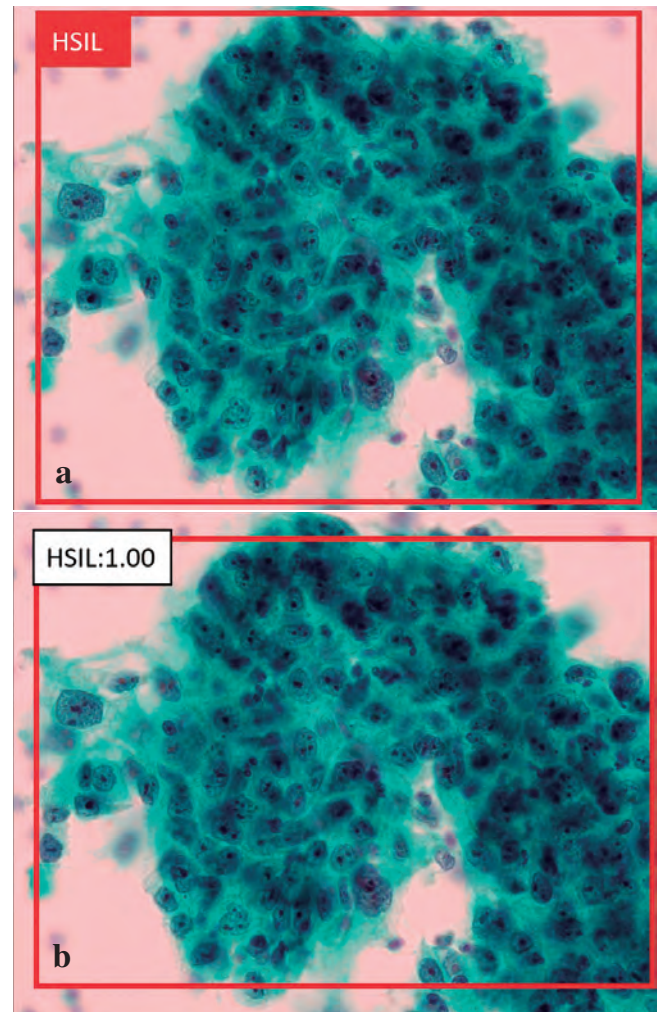


Photo. 2 Atypical cell clusters detected as HSIL (a) with a probability value of 1.00 (b) by AI. HSIL : high-grade squamous intraepithelial lesion (Papanicolaou staining, $\times 40$).

のいずれにおいても、40 倍画像で学習させた場合のほうが、20 倍画像の学習結果より高い傾向を示し、特に high-risk 群での適合率、NILM 群の再現率は有意に上昇していた。また、今回の検討では、条件を統一するために、20 倍、40 倍画像のいずれも同じ解像度で取得していた。したがって、細胞レベルの微小な形態上の差を効率よく学習させるには、高倍率で取得した学習画像を用意するべきであると考えられる。

診断精度の観点から、適合率と再現率の平均値に着目すると、high-risk 群、low-risk 群では 0.61~0.83 間の値を示し、いずれも 2/3 以上に達していた。一方、NILM 群では 40 倍画像を活用した場合でも、平均適合率と平均再現率は、せいぜい 0.5 かそれ以下にとどまり、これらは誤認識と未検出という二つの要因により発生していた。誤認識や未検出に至る原因の一つには、学習用画像データの不足が

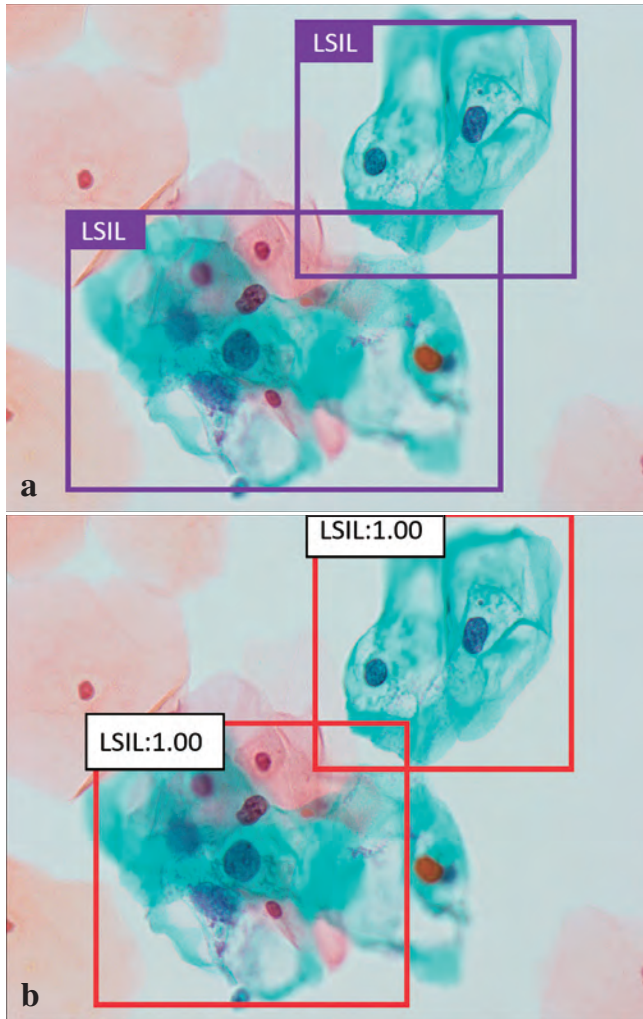


Photo. 3 Well-recognized LSIL cell clusters (a) and their probability values (b) by AI. LSIL : low-grade squamous intraepithelial lesion (Papanicolaou staining, $\times 40$).

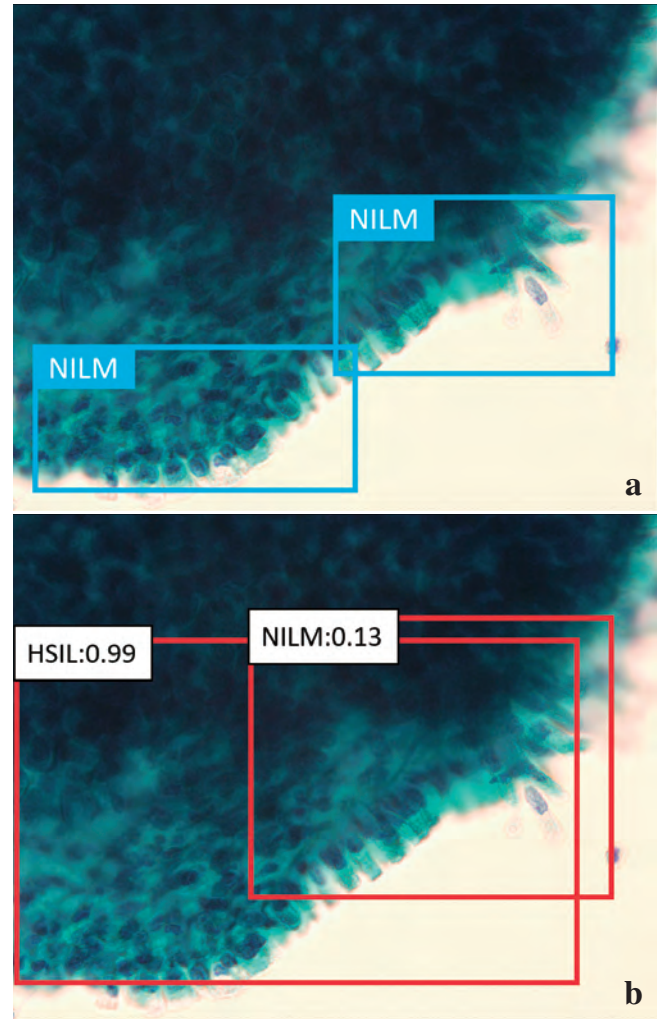


Photo. 4 A misdiagnosed stromal cell clusters by AI. Although a cytotechnologist assessed this stromal cell clusters as NILM (a), AI partially misdiagnosed it as HSIL (b) with a high probability value. HSIL : high-grade squamous intraepithelial lesion, NILM : negative for intraepithelial lesion or malignancy (Papanicolaou staining, $\times 40$).

知られている。今回用意した学習用画像は、NILM 群が全体の 60% 弱を占めていた (583/996 枚, 58.5%)。しかし、NILM 群に分類される細胞には、子宮頸部の正常上皮細胞に加え、トリコモナスやカンジダなどの非腫瘍性の感染病原、腺細胞、扁平上皮化生細胞なども含まれていた。正常上皮細胞に比べ、そもそも感染病原や扁平上皮化生細胞などは絶対数が少ない。そのため、NILM 群に含まれる細胞を細かく分類すると、細胞数の不均衡が生じる可能性が高い。実際、学習用画像データが少ない場合は、学習 loss による誤認識、未検出が発生する傾向にあることはよく知られており、その解決策として画像データを増やすことや学習データの「拡張」(augmentation) で、より高い識別精度が得られることも知られている⁹⁾。

また、未検出に限ると、集塊状の頸管腺細胞や扁平上皮化生細胞などの間質細胞が目立った。このような細胞はし

ばしば集塊を形成するため、細胞境界面の認識が困難で、適切なアノテーションができていなかった可能性もある。アノテーションは、ヒトによりなされる作業であるため、ラベル付けにおける質的・量的な改善が AI の精度向上につながる可能性が高い。

さらに、単層の細胞に比べ、複雑な細胞集塊では細胞境界が不明瞭となるため、AI は集塊に含まれる個々の細胞の特徴抽出が苦手である可能性もある。実際、細胞検査士による通常の細胞診検査でも、いわゆる Z stack 部分では手動で焦点深度を微妙に変更しながら観察する診断手技が取られている。最近、焦点を変えながら撮影した細胞の多重焦点顕微鏡画像列から、細胞の 3 次元形状を推定する技術が開発されている。この方法は、共焦点顕微鏡のように X

軸, Y 軸を固定し, Z 軸を移動させることで, 各焦点深度の画像を抽出し, それを層状に組み合わせることで 3 次元像を作成する手段で, 任意の面はもとより立体化した細胞形状を作成することができる¹⁰⁾とされており, このような技術を組み合わせることにより, 集塊を構成する各細胞の質的評価がコンピュータ内で実施できる可能性があり, AI 診断における Z stack 対策の糸口につながる可能性が期待される。

学習データを大量かつ広く多施設から収集するには, バーチャルスライドを活用した WSI の取得を考えなければならない。通常, デジタル画像の取得は, 画像の取り込みに要する時間やファイルサイズを考慮して低～中拡大倍率でデータを取得し, 必要に応じて拡大して閲覧することが普通であろう。事実, 組織診における WSI 診断や AI 診断では, 20 倍で取得された画像を用いた研究結果が報告されている^{3,4)}。しかしながら, 今回の検討では, 解像度を一定にしていたにもかかわらず, 40 倍で取得した学習画像で構築した AI の診断精度と, 20 倍画像を用いた診断精度には乖離が生じ, 高倍率画像を活用した方が勝っていた。

この結果は, 細胞診に対する学習用画像データの構築のために WSI を使用する場合は, 高倍率での画像データの取得が不可欠と考えられた。ただし, 今回の学習データは, 光学顕微鏡に設置したデジタルカメラを活用して撮影したものであり, バーチャルスライド装置を活用する場合の画像の取得倍率についても, 今後検証する必要がある。

現在, deep learning を活用した AI 構築のためには大量の学習用データの取得のみならず, 正確なアノテーションが必須である。AI 技術が革新的に進むにせよ, 現状では学習データはヒトが作製して, コンピュータに入力しなければならない。この過程で多大な労力と時間が必要となっている。アノテーションされた細胞には, 一定の訓練と実務を経験すれば, 間違ふことのない典型例も含まれるが, ASC-US や ASC-H のように, 細胞検査士間で判定に差が生じる病変も含まれていることが必要である。そのため, 単一施設での研究には限界があり, このことが当該研究の limitation でもある。

また, 今回の検討では SurePath 法で作製した LBC 標本のみを活用した。そのため, LBC 標本作製機器間の染色性の相違や異なる標本作製法での再現性については検討できていない。しかしながら, 医用画像は, 風景, 動植物, 建物, 自動車などの一般的な画像に比べて圧倒的に数が少なく, 通常 flipping (ひっくり返し), rotation (回転) や elastic transformation (引き延ばし) などの工学的手法で学習画像を大量に augmentation させる必要がある¹¹⁾。すなわち, deep learning に活用される学習画像は, オリジナル画

像から人工的に微妙な変化を加えられているものも混在していることが多く, 換言すると augmentation の過程で, 擬似的に標本作製機器や染色性などで生じうる微妙な差異を模した平準化がなされている可能性が高い。実際, augmentation を行うことで AI の冗長性や堅牢性が増すと考えられており, 結果的に標本作製機器や染色性の違いに基づく再現性に大差は生じないと考察される。しかしながら, 実臨床で活用する前には, この仮説も検証しておく必要がある。したがって, 種々の方法で作製された標本から多数の学習画像の取得とアノテーションのためにも, 関連学会を中心に当該研究の先行施設などを核とした多施設共同研究の実施が必要と考えられる。

今回の検討で, Faster R-CNN を用いて構築した AI を用いた細胞の検出・分類研究結果は, 細胞診検査における本技術利用の実現可能性を示唆するものであった。この技術が導入されると, 将来, 細胞診検査の自動スクリーニングや画像診断支援システムの実用化が期待できる。また, 関心領域の自動抽出やダブルチェックの省力化を介した業務時間短縮, さらにディスプレイ上で同一細胞を閲覧して, 多職種による discussion が容易となることも期待される。今後とも医工連携を促進して, 医療関係者が求める AI を構築し, 令和時代に求められる最先端の細胞診診断を推進することが期待される。

本研究は科学研究費補助金(新学術領域研究: 26108009 並びに基盤 C 研究: 16K09930)の支援を受けた。

筆者らに開示すべき利益相反はありません。

Abstract

Objective : To clarify the magnification of microscopy capturing the image data to design the architecture of deep learning-based artificial intelligence (AI) for gynecological cervical cytology.

Study Design : 187 and 264 slide images were captured using $\times 20$ and $\times 40$ magnification, respectively. From the 451 slide images, a total of 996 cell and/or cell clusters images (536 for $\times 20$ and 460 for $\times 40$ images) were individually annotated according to the Bethesda system, followed by trichotomizing into the negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM), low-risk (atypical squamous cells of undetermined significance [ASC-US] and low-grade squamous intraepithelial lesion [LSIL]), or high-risk (atypical squamous cells cannot exclude HSIL [ASC-H], high-grade squamous intraepithelial lesion [HSIL], and squamous cell carcinoma [SCC]) groups for training data set. The training data set was split into 80% and 20% segments as training set and validation set, respectively. AI was established by deep learning using a faster region-based convolutional neural networks (Faster R-CNN) system, and the trained network was evaluated using precision and

recall via 5 independent tests.

Results : Overall, the mean precision and recall using $\times 40$ images were inclined to be higher than $\times 20$ images among the three categories, especially representing statistical significances with precision in high-risk ($p < 0.05$) and recall in NILM groups ($p < 0.05$), respectively.

Conclusion : These results established for us the importance of the necessity for good quality of training cellular images to establish diagnostic AI for gynecological cervical cytology.

文 献

- 1) 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 平成 30 年度「臨床研究等 ICT 基盤構築・人工知能実装研究事業」
https://www.amed.go.jp/news/event/page_000001_01041.html
(2020.02.12 reference)
- 2) 津森太亮, 木戸尚治, 平野 靖, 森 正樹, 稲井邦博, 今村好章. Faster R-CNN を用いた子宮頸部細胞診における悪性細胞の検出. Med Image Technol 2019 ; 37 : 155-163.
- 3) Tabata, K., Mori, I., Sadaki, T., Itoh, T., Shiraishi, T., Yoshimi, N., et al. Whole-slide imaging at primary pathological diagnosis : Validation of whole-slide imaging-based primary pathological diagnosis at twelve Japanese academic institutes. Pathol Int 2017 ; 67 : 547-554.
- 4) Lucus, M., Jansen, I., Savic-Heijink, C. D., Meijer, S. L., de Boer, O. J., van Leeuwen, T. G., et al. Deep learning for automatic Gleason pattern classification for grade group determination of prostate biopsies. Virchows Archiv 2019 ; 475 : 77-83.
- 5) Ren, S., He, K., Girshick, R., Sun, J. Faster R-CNN : Towards Real-Time Object Detection with Region Proposal Networks. arXiv 2015 : 1506. 01497.
- 6) LeCun, Y., Bottou, L., Bengio, Y., Haffner, P. Gradient-based learning applied to document recognition. Proceedings of the IEEE 1998 ; 86 : 2278-2324.
- 7) Krizhevsky, A., Sutskever, I., Hinton, G. E. Imagenet classification with deep convolutional neural networks. In Proc of NIPS, 2012.
- 8) 山下隆義. イラストで学ぶディープラーニング 改定第 2 版. 東京 : 講談社 ; 2018. 12-33.
- 9) 藤田広志. 医用画像ディープラーニング入門. 東京 : オーム社 ; 2019. 112-115.
- 10) 山口貴大, 長原 一, 諸岡健一, 中島悠太, 浦西友樹, 倉爪亮・ほか. 多重焦点顕微鏡画像列からの細胞の 3 次元形状復元. 情報処理学会研究報告 2019 ; 33 : 173-179.
- 11) Binder, T., Tantaoui, E. M., Pati, P., Catena, R., Set-Aghayaa, A., Gabrani, M. Multi-organ gland segmentation using deep learning. Front Med 2019 ; 6 : 173. doi: 10.3389/fmed.2019.00173.

症 例

子宮内膜細胞診陽性のみを呈した腹膜漿液性癌の 1 例

黒須 博之¹⁾ 山崎 龍王¹⁾ 小林 織恵¹⁾ 小林弥生子¹⁾櫻井うらら²⁾ 梅澤 聡¹⁾武蔵野赤十字病院産婦人科¹⁾, 同 病理診断科²⁾

背景：卵巣癌・卵管癌・腹膜癌は早期診断・治療が難しく、約半数がStage III, IV期で発見される。子宮内膜細胞診のみ陽性で、画像検査では病変を指摘できず、術中に腹膜漿液性癌と診断した1例を報告する。

症例：54歳，未閉経，5妊4産。検診で子宮内膜細胞診疑陽性となり近医を受診し，再検で子宮内膜細胞診陽性となり当院紹介となった。子宮内膜組織診を繰り返し施行したが，異常所見は認めなかった。1年後に不正性器出血を認め当院再診となり，子宮内膜細胞診で再度陽性となった。子宮内膜組織診では癌細胞を認めず，MRI，PET-CT，子宮鏡検査では明らかな病巣を指摘できなかった。4ヵ月後の子宮内膜細胞診再検でも陽性となり，明らかな原発病変は指摘できなかったが，子宮体部漿液性癌の可能性を考え，手術療法を施行した。開腹時，両側卵巣表面に砂粒状の病変を認め，組織診にて high-grade serous carcinoma の診断となった。

結論：子宮内膜細胞診異常が，卵巣癌・卵管癌・腹膜癌の発見の契機となる場合がある。画像検査で病巣の特定が困難な場合は，診断的な手術療法も含めた治療方針の検討が必要であると考えられた。

Key words : High-grade serous carcinoma, Endometrial cytology, Case report

I. はじめに

卵巣癌・卵管癌・腹膜癌は早期診断・治療が難しく，約半数がStage III, IV期で発見される。子宮内膜細胞診のみ陽性で，画像検査では病変を指摘できず，術中に腹膜漿液性癌と診断した1例を報告する。

II. 症 例

患 者：54歳，未閉経 月経周期不整，5妊4産。
既往歴：逆流性食道炎，甲状腺腫，右頸椎症性神経根症。
家族歴：特記事項なし。
手術歴：なし。

現病歴：子宮がん検診を受け，子宮内膜細胞診で疑陽性となった。精査目的で近医を受診し，子宮内膜細胞診が再度施行され陽性となり当院へ紹介となった。子宮内膜組織診を繰り返し施行したが，異常所見は認めなかった。1年後に不正性器出血を認め当院再診となった。

診察所見：子宮は鶏卵大で両側付属器は触知せず。

血液検査所見：腫瘍マーカーはCEA 0.8 ng/ml, CA19-9 2.0 U/ml, CA125 7.6 U/ml, AFP 2.0 ng/mlと正常値だった。

画像検査所見：経膈超音波検査で子宮内膜肥厚なし。両側付属器腫大や腹水は認めなかった。MRIでは子宮内膜の肥厚を認めず，両側卵巣は正常大，腹水貯留は認めなかった（Photo. 1）。PET-CT検査で子宮や両側付属器に集積を認めなかった。子宮鏡検査で子宮内腔に突出する病変は認

A case of serous peritoneal cancer who presented with abnormal endometrial cytology

Hiroyuki KUROSU¹⁾, M. D., Tatsuo YAMAZAKI¹⁾, M. D., Orii KOBAYASHI¹⁾, M. D., Yaeko KOBAYASHI¹⁾, M. D., Urara SAKURAI²⁾, M. D., Satoshi UMEZAWA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Obstetrics and Gynecology, ²⁾Department of Pathology, Musashino Red Cross Hospital

論文別刷請求先 〒003-0804 札幌市白石区菊水4条2の3の54 独立行政法人国立病院機構北海道がんセンター婦人科 黒須博之
平成31年2月14日受付
令和元年5月30日受理

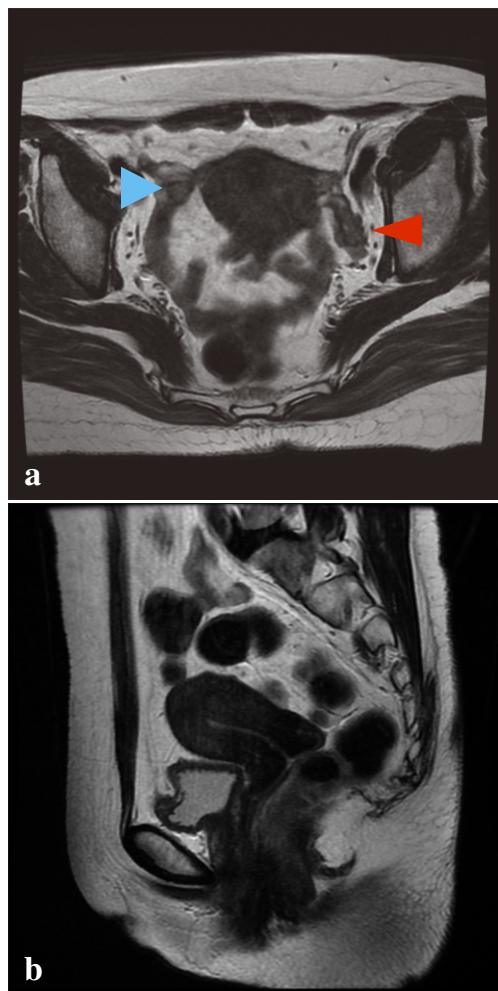


Photo. 1 T2-weighted MR image

- a : Axial image showing bilateral ovaries there is no evidence of ovarian enlargement (blue arrow head : right ovary red arrow head : left ovary).
b : Sagittal image showing a thinned endometrium.

めなかった。

臨床経過：再診時の子宮内膜細胞診は再度陽性を認めたが、内膜組織診では atypical cells で明らかな癌組織は検出されなかった。しかしながら4ヵ月後の内膜細胞診再検にて adenocarcinoma の診断となり、明らかな原発病変は指摘できなかったが、子宮体部漿液性癌の可能性を考え、手術療法を施行した。開腹時、両側卵巢表面に砂粒状の病変を認め、術中迅速病理検査で漿液性癌の診断となり、単純子宮全摘＋両側付属器切除＋ダグラス窩腹膜病変切除＋大網切除術を施行した。病理組織診断で両側卵巢表面、右卵管采、ダグラス窩腹膜、大網表層に high-grade serous carcinoma を認め、高異型度漿液性癌、卵巢・卵管・腹膜（分類不能）、pT3aNxM0、FIGO Stage IIIA2 の診断となった。

術後、化学療法を施行し2年6ヵ月の時点で再発なく経過している。

III. 細胞学的所見

子宮内膜細胞診：萎縮内膜を背景に砂粒小体を伴う大小の立体的な集塊を認めた。集塊辺縁は平滑で球状小集塊～不整重積集塊としてみられ、部分的に核の突出もみられた。核は類円形～不整形で大小不同であった。背景はきれいで萎縮内膜と増殖期内膜が混在していた。石灰化小体様物質の混在を認めた (Photo. 2)。

術中腹腔内洗浄細胞診：核腫大、明瞭な核小体、クロマチン増量を示す異型細胞を大小の集塊で認めた。核の偏在、細胞質淡明・空胞を呈し、乳頭状構造を認めた (Photo. 3)。

IV. 病理学的所見

肉眼所見：両側卵巢は正常大で両側卵巢表面、ダグラス窩腹膜に白色で砂粒状の小結節病変を認めた (Photo. 4)。

組織学的所見：充実性卵巢やスリット状の裂隙状腔を有する胞巣を形成し増殖する腫瘍を認めた。腫瘍細胞は不整核を有し、核分裂像が目立ち、一部に壊死を伴っていた (Photo. 5)。免疫染色では p16 陽性であり、p53 は過剰発現型の変異型と考えられた。WT-1 は陰性であった。卵巢では表層主体に腫瘍を認め、一部で実質への浸潤像を認めた。右卵管采では4 mm、ダグラス窩腹膜では1 mmの小結節病変として腫瘍が認められた。以上より高異型度漿液性癌、卵巢・卵管・腹膜（分類不能）、pT3aNxM0、FIGO Stage IIIA2 と診断した。両側卵管の検索からは serous tubal intraepithelial carcinoma の存在は明らかでなかった。

V. 考 察

本例では検診での内膜細胞診異常が腫瘍発見の契機であった。組織診、画像検査では明らかでなく、腹腔内微小病変で発症する疾患の診断への有用性が考えられた。

卵巢癌・卵管癌・腹膜癌において内膜細胞診が陽性となる頻度は12～26%との報告があり、腹腔細胞診陽性例のみと24～73%とされている¹⁻³⁾。内膜細胞診陽性は腹腔細胞診陽性に大きく影響を受けることが示唆されているが、腹水量と陽性率は相関しておらず⁴⁾、組織型（明細胞癌）、腹水量（500 ml 以上）、病期（Ⅲ期またはⅣ期）が陽性率に寄与するとの報告がある¹⁾。本例においても術前には腹水貯留は認めなかったものの、術中の腹水細胞診は陽性で

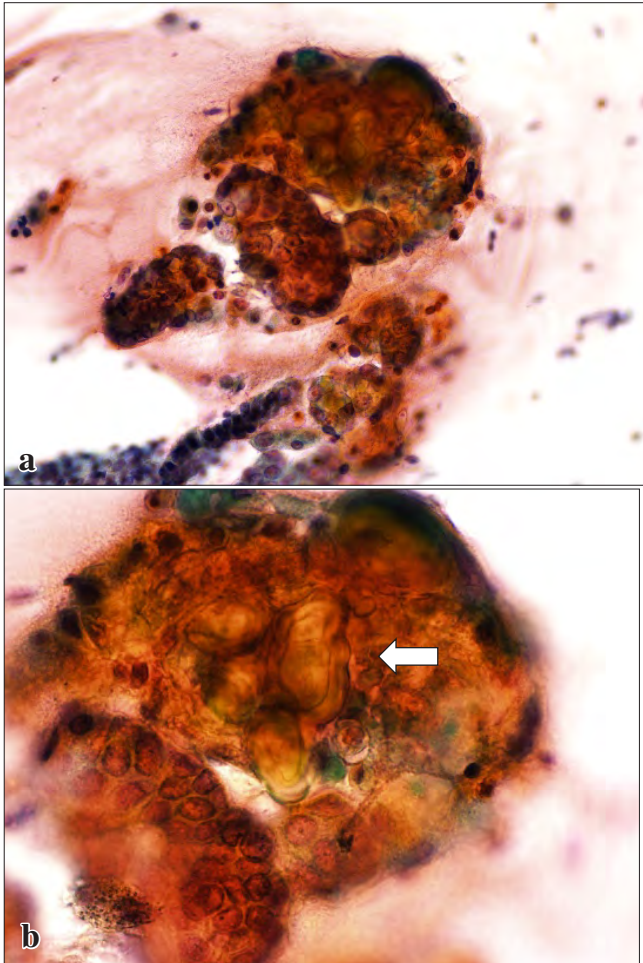


Photo. 2 Preoperative endometrial cytology
Cluster with a psammoma body in a background of atrophic endometrium (arrow) (Papanicolaou staining, a : $\times 20$, b : $\times 40$).

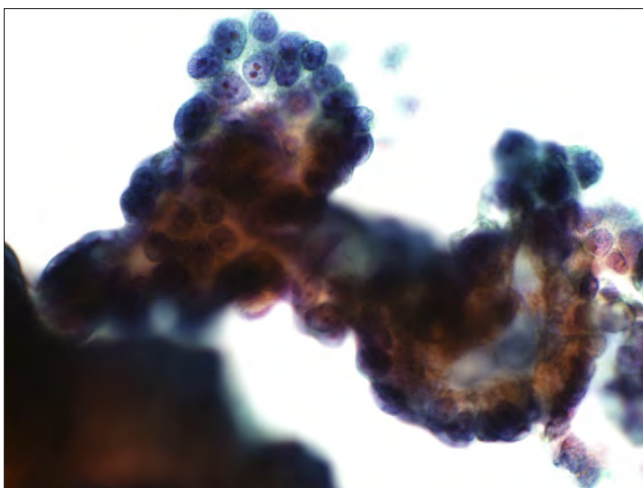


Photo. 3 Ascites cytology
Papillary clusters of atypical cells showing increased chromatin (Papanicolaou staining, $\times 40$).

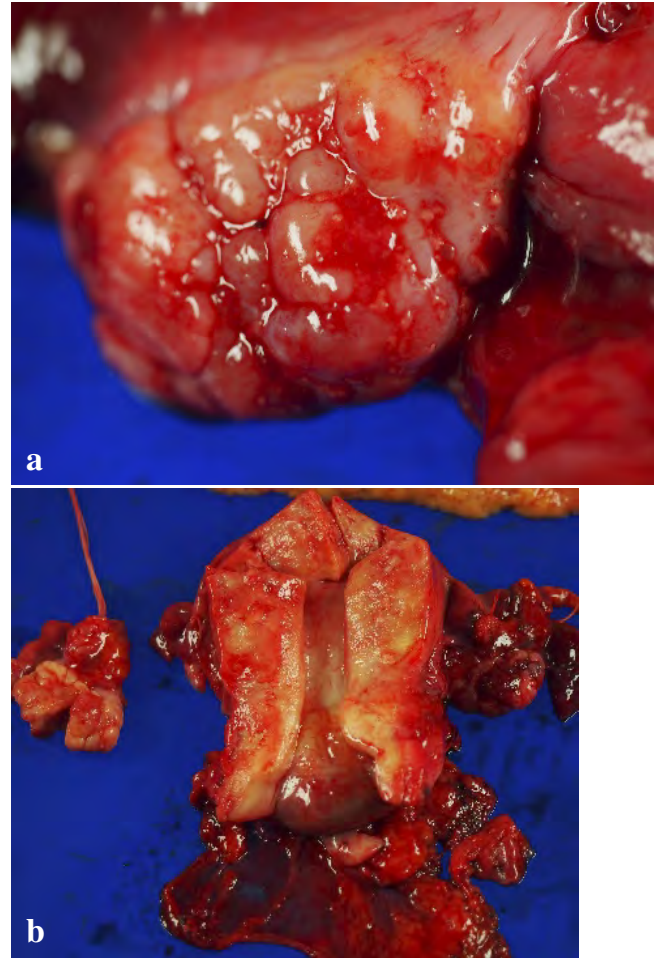


Photo. 4 Macroscopic findings
a : Serosal papillary tumor on the surface of the right ovary.
b : No evidence of tumor in the uterine corpus.

あり、手術進行期はⅢ期であった。卵管内に微小乳頭状の腫瘍が浮遊しているのが認められたことから、本例においては卵管采もしくは卵巢表面の腫瘍細胞が卵管を通して内腔に達したことが推察された。

本邦において卵巢腫大を伴うⅢ期、Ⅳ期の卵巢癌・卵管癌・腹膜癌における子宮内膜細胞診陽性例の報告や、Ⅰ期卵巢癌における子宮内膜細胞診陽性例の報告は散見されるが、卵巢正常大で腹水貯留を認めない StageⅢ期症例の報告はまれである。

画像所見が明らかでない場合、細胞の形態のみから子宮頸部腺癌、子宮体癌、子宮外悪性腫瘍を鑑別するのは困難との報告がみられる^{5,6)}。背景および腫瘍細胞集塊の出現様式、正常内膜細胞の混在に注目することで、ある程度の区別が可能ではないかとの検討がなされ、子宮体部漿液性癌と比較した場合、卵巢漿液性癌では、背景が比較的きれい、癌細胞が辺縁平滑で丸みを帯びた集塊で出現する、正常子宮

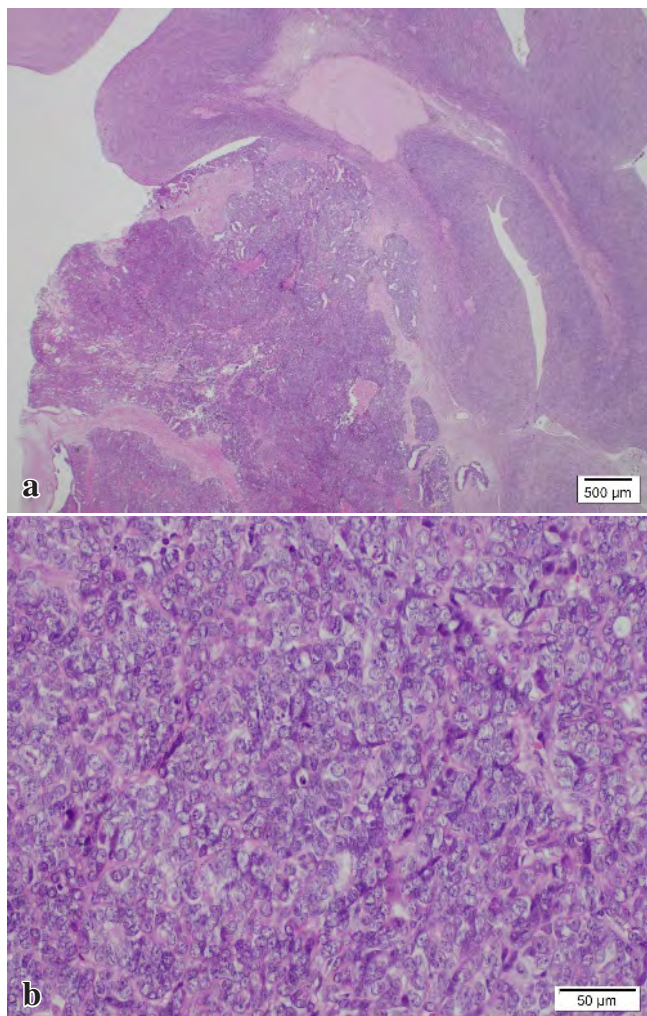


Photo. 5 Histological findings of the right ovary
Tumor cells with irregular nuclei and numerous mitotic figures (HE staining, a : $\times 20$, b : $\times 200$).

内膜細胞の混在が認められるといった特徴があるとされているが、個々の腫瘍細胞の形態のみでは区別が困難である⁷⁾。

Brown らの報告では臨床的に画像検査で指摘できないが組織学的に同定可能な潜在性癌の期間が4.3年、潜在性癌からⅢ期以上の進行癌になるのに約0.8年と計算している⁸⁾。本例の組織学検査からすでに腹膜、大網に病変を認めていることから、画像診断で検出可能となるよりも早い段階で癌性腹膜炎を生じる症例が存在することが示唆され、スクリーニングが難しく、発見時進行癌であることが多い原因であることが推察された。

子宮内膜細胞診を用いた体癌検診は死亡率減少効果の有無について判断する適切な根拠がないという評価にとどまっており、内膜組織生検に代わるものではないことを意識して施行することが必要であるとされている⁹⁾。一方で内膜細胞診による検診で発見された子宮体癌は早期例が多

く、生存率が良好であるとの報告や⁹⁾、本例のような他臓器癌の発見に寄与した例の報告もなされている。

子宮内膜細胞診で捉えた悪性所見が唯一の診断所見となる場合があり、再現性のある細胞診異常の場合には、子宮外悪性腫瘍の可能性も視野に治療方針を検討する必要があると考えられた。

VI. 結 論

子宮内膜細胞診異常が、卵巣癌・卵管癌・腹膜癌の発見の契機となる場合がある。繰り返す検査異常のみで画像検査で病巣の特定が困難な場合では、診断的な手術療法も含めた治療方針の検討が早期発見に必要であると考えられた。

筆者らに開示すべき利益相反状態なし。

本論文の要旨は第56回日本臨床細胞学会秋期大会にて発表した。

Abstract

Background : Ovarian cancer, as also fallopian tube cancer and primary peritoneal cancer, is difficult to diagnose in its early stages. We report a case that presented with only abnormal endometrial cytology, without any abnormal imaging findings.

Case : A 54-year-old woman with abnormal endometrial cytology was referred to our hospital. We performed endometrial biopsy, MRI, PET-CT and hysteroscopy, but could not establish a diagnosis. As the positive endometrial cytology persisted on repeat testing, we suspected the possibility of uterine or ovarian cancer, and performed surgery. Laparotomy revealed papillary lesions on the surface of the ovaries bilaterally. Histopathology was consistent with the diagnosis of high-grade serous carcinoma.

Conclusion : Endometrial cytology could offer an opportunity for the detection of ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer. Diagnostic surgery may need to be considered in cases with persistently positive endometrial cytology where imaging examinations fail to show abnormal findings.

文 献

- 1) Hirasawa, T., Yasuda, M., Muramatsu, T., Itoh, H., Shinozuka, T., Makino, T., et al. Cytology study of ascites and the endometrium in ovarian carcinoma, Clinical significance. *Acta Cytol* 1997 ; 41 : 1451-1455.
- 2) Jobo, T., Arai, M., Iwaya, H., Kato, Y., Ohno, E., Kuramoto, H. Usefulness of endometrial aspiration cytology for the preoperative diagnosis of ovarian carcinoma. *Acta Cyto* 1999 ; 43 (2) : 104-109.
- 3) Otsuka, I., Kameda, S., Hoshi, K. Early detection of ovarian and

- fallopian tube cancer by examination of cytological samples from the endometrial cavity. *Br J Cancer* 2013 ; 109 (39) : 603-609.
- 4) 大野光春, 山本裕之, 神田雄司, 佐藤智子, 田中 恵, 津村典利・ほか. 卵巣癌の腔頸管細胞診ならびに子宮内膜細胞診について. *日臨細胞会誌* 1986 ; 25 : 87-93.
- 5) 山本阿紀子, 小松京子, 百村麻衣, 平野和彦, 寺戸雄一, 坂本穆彦・ほか. 子宮頸癌検診を契機に発見された正常大卵巣癌症候群の 1 例. *日臨細胞会誌* 2011 ; 50 (3) : 181-185.
- 6) 土田 秀, 神山晴美, 寺田美保, 新井美紀, 笠松哲光, 竹内浩司・ほか. 子宮頸部および内膜細胞診標本に腫瘍細胞を認めたが, 原発巣の推定が困難であった卵巣癌の 1 例. *医学検査* 2013 ; 62 (5) : 573-576.
- 7) 根本玲子, 杉山裕子, 荒井祐司, 平井康夫, 佐藤 恒, 荷見勝彦・ほか. 子宮体部漿液性腺癌と卵巣・卵管原発漿液性腺癌の子宮内膜細胞像の比較検討. *日臨細胞会誌* 2000 ; 39 (3) : 137-141.
- 8) Brown, P. O., Palmer C. The preclinical natural history of serous ovarian cancer : defining the target for early detection. *PLoS Med* 2009 ; 6 (7) : e1000114.
- 9) 日本産科婦人科学会. 産婦人科診療ガイドライン婦人科 外来編 2017. 東京 : 公益社団法人日本産科婦人科学会事務局 ; 2017. 76-77.

症 例

成人に発生した腎ラブドイド腫瘍の1例

荒川 文子¹⁾ 田島 秀昭¹⁾ 若林 僚¹⁾ 小川 勝¹⁾
 當銘 良也²⁾ 石田 剛^{1,3)}

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⁾,
 独立行政法人国立病院機構埼玉病院病理診断科³⁾

背景：腎ラブドイド腫瘍 (rhabdoid tumor of the kidney : RTK) は乳児期に好発するきわめて予後不良でまれな悪性腫瘍で、ラブドイド細胞の出現を特徴とし、免疫染色では Cytokeratin と Vimentin に陽性で INI1 は陰性である。RTK の成人症例を経験したので報告する。

症例：33 歳，女性。CT で左腎に径 14 cm の腫瘍がみられ，腎腫瘍摘除術施行。摘出腫瘍の剖面捺印標本で，多数の中等大から大型の異型細胞が散在性に認められ，腫瘍細胞の結合性は弱かった。核は偏在傾向であり，類円形から軽度不整形の核を有し，核小体は腫大し明瞭であった。細胞質内の封入体様構造は，パパンニコロウ染色やギムザ染色では不明瞭であったが，HE 染色ではエオジンに濃染し認識しやすかった。腎発生の腫瘍で，組織学的にはラブドイド細胞を含む異型細胞が出血と壊死を伴いまん性に増殖していた。免疫染色で腫瘍細胞は Cytokeratin, Vimentin, EMA, Neurofilament に陽性，INI1, Desmin, Myogenin は陰性であった。以上より RTK と診断した。

結論：ラブドイド細胞にみられる硝子様好酸性細胞質内封入体様構造は HE 染色標本で，認識しやすい。非常にまれな腫瘍だが，きわめて予後不良で迅速な診断が求められることから，推定診断には，発生部位，詳細な細胞所見と免疫染色に加え，HE 染色の併用が望ましいと考える。

Key words : Malignant rhabdoid tumor, Kidney, Adult, Case report

I. はじめに

腎ラブドイド腫瘍 (rhabdoid tumor of the kidney : RTK)

A case report of a rhabdoid tumor of the kidney in an adult

Ayako ARAKAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Hideaki TAJIMA¹⁾, C. T., I. A. C., Ryo WAKABAYASHI¹⁾, C. T., J. S. C., Masaru OGAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Yoshiya TOME²⁾, C. T., I. A. C., Tsuyoshi ISHIDA^{1,3)}, 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

³⁾Department of Diagnostic Pathology, National Hospital Organization Saitama Hospital

論文別刷請求先 〒 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 荒川文子

令和元年 8 月 15 日受付

令和元年 9 月 27 日受理

は，乳児期に発症するきわめて予後不良の悪性腫瘍である。Beckwith らにより腎芽腫の一亜型として報告され¹⁾，その後 Haas らにより小児腎腫瘍の一疾患概念として考えられるようになった²⁾。発症頻度は，全小児腎腫瘍の約 2% とされているが³⁾，成人発生はきわめてまれで 6 例の症例報告があるのみである⁴⁾。

ラブドイド腫瘍は，硝子様好酸性細胞質内封入体様構造をもついわゆるラブドイド細胞 (rhabdoid cell) の出現が特徴とされている⁵⁾。封入体様構造は，電顕的には中間径フィラメントの集塊であり，PAS 反応陰性から弱陽性である。また，腫瘍細胞は免疫組織化学的に Cytokeratin と Vimentin に陽性である⁶⁾。

腫瘍発生には，*SMARCB1* (INI1/BAF47) の両アレルの異常が関連している。*SMARCB1* 遺伝子は 22q11.2 に位置し，この遺伝子の異常がラブドイド腫瘍の分子病態に中心的な役割を果たしている。ほぼすべての RTK 症例で



Photo. 1 A contrast-enhanced CT scan coronal section reveals a large, inhomogeneous tumor of the left kidney.

SMARCB1 の異常が検出され、かつその大部分が両アレルの異常であることが示されている⁷⁾。そのため原則としてこの異常のないすべての正常細胞や多くの腫瘍で免疫組織化学的に発現が認められる *INI1* が本腫瘍では陰性となるという特徴がある⁸⁾。

ラブドイド腫瘍は、肝、軟部組織、中枢神経などにも発生する。今回、成人女性に発生した *RTK* の症例を経験し、腫瘍剖面捺印標本を作製したので、細胞像を中心に報告する。

II. 症 例

33 歳、女性。約 3 ヶ月前、下腹部痛で当院受診。CT にて左腎が 12×9 cm 大に腫大していた。背側に不均一で高吸収の液体貯留があり腎出血が疑われた。一部、腫瘍様に見えたため経過観察となった。その 2 ヶ月後の CT では、左腎に径 14 cm の粗大な腫瘍が明らかとなり、腫瘍内に血管構造がみられ腎腫瘍の増大と考えられたが、腎癌としては非定型的であった (Photo. 1)。両肺野に散在性に小結節がみられ多発肺転移が疑われたため、左腎腫瘍摘除術が施行された。術前に尿細胞診が 1 回提出されたが、異型細胞は認められなかった。

術後 2 ヶ月で腫瘍の進行により永眠された。

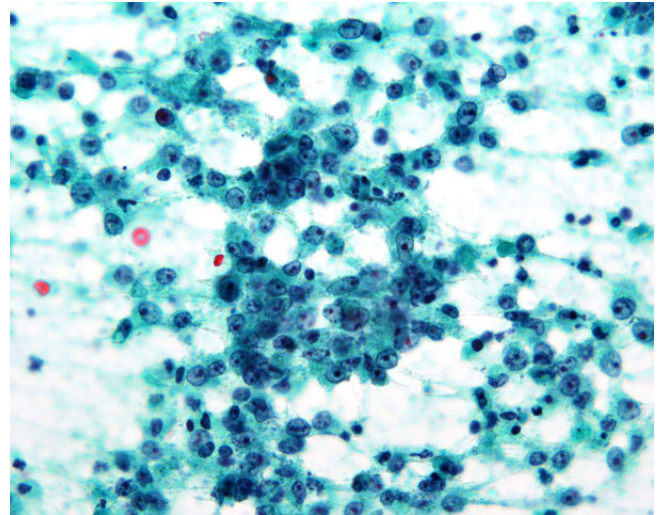


Photo. 2 Imprint cytology of the tumor. Numerous atypical tumor cells with conspicuous nucleoli are observed haphazardly scattered against a necrotic background (Papanicolaou staining, ×40).

III. 細胞所見

検体は摘出左腎腫瘍剖面捺印標本。強い壊死性背景に赤血球が少数みられ、無数の異型細胞が認められた (Photo. 2)。異型細胞の結合性は弱く、ほとんどの細胞が散在性に認められた。血管周囲にも多数の異型細胞がみられたが、結合性は弱かった (Photo. 3)。異型細胞は中等大から大型で、核は偏在傾向、核縁が肥厚し、粗クロマチンを有する類円形から軽度不整形の核を有していた。核小体は大型で明瞭であった。細胞質は淡く豊かで、細胞質内に封入体様構造がみられる細胞はごく少数であった。

二核細胞が少数みられたが、多核細胞は認められなかった。封入体様構造は、ライトグリーン淡染性で周囲の細胞質との境目は不明瞭だった (Photo. 3, inset)。封入体様構造は PAS 反応陰性から弱陽性であった。細胞診検体の HE 染色標本では、エオジンに濃染する細胞質内封入体様構造が、パパニコロウ染色標本と比べてより明瞭に認められた (Photo. 4)。

腎原発の腫瘍であることから、鑑別診断として腎細胞癌を挙げたが、出現細胞に結合性が弱く散在性で、細胞質は PAS 反応陰性からごく軽度の弱陽性であることから否定的と考えた。細胞所見から肉腫を強く疑ったが特定の肉腫を推定することはできなかった。

組織学的所見を踏まえて細胞転写法で免疫染色を行った。その結果、腫瘍細胞は Cytokeratin (AE1/AE3) 陽性、Vimentin 陽性、*INI1* 陰性であった (Photo. 5)。

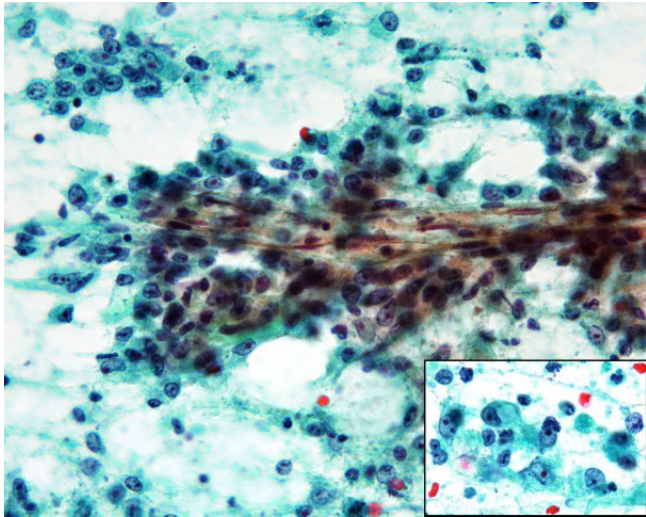


Photo. 3 Imprint cytology of the tumor. No cohesiveness among the tumor cells is found (Papanicolaou staining, $\times 40$). Inset : Intracytoplasmic inclusion body-like structure is observed (Papanicolaou staining, $\times 40$).

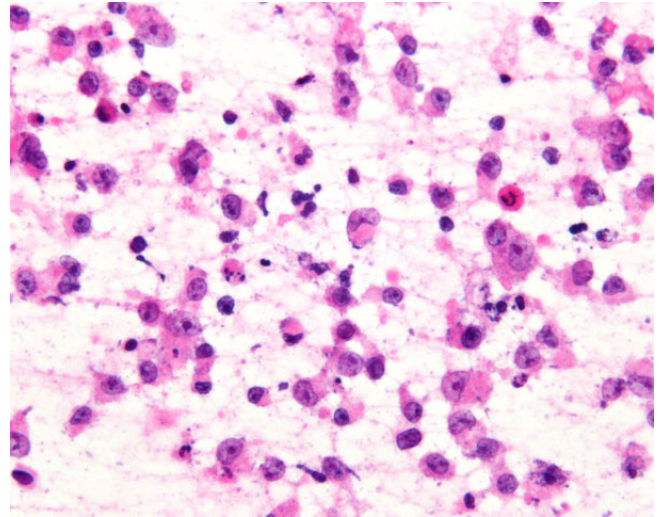


Photo. 4 Imprint cytology of the tumor. Intracytoplasmic inclusion body-like structures of the rhabdoid cells are easily recognized in an H. E. staining preparation (H. E. staining, $\times 40$).

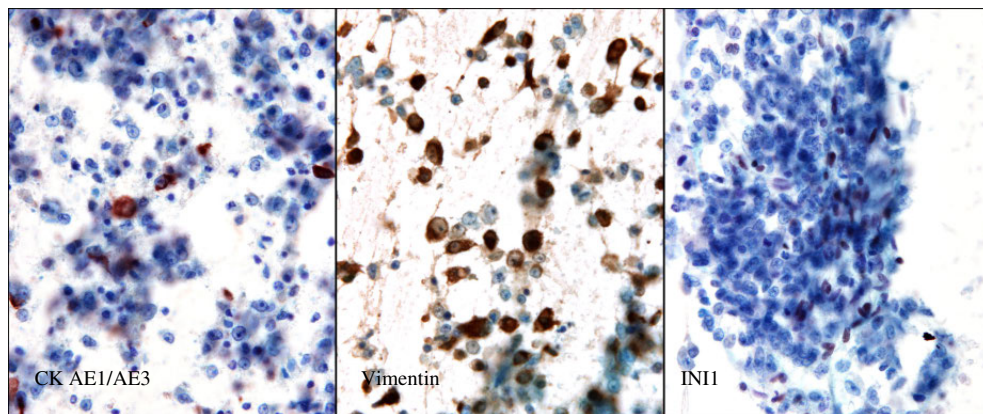


Photo. 5 Immunocytochemical staining of the imprint cytology specimen. The tumor cells are positive for Cytokeratin AE1/AE3 and Vimentin, but negative for INI1 (Immunostaining, $\times 40$).

IV. 病理組織学的所見

摘出検体は $21.5 \times 17.0 \times 14.0$ cm 大で、著明な出血、壊死を伴う腫瘍により、ほぼ全体が占拠されていた。肉眼的には、腫瘍は線維性被膜に覆われた軟らかい腫瘍で、viable な腫瘍成分と思われるところは白色を呈していた。辺縁に既存の腎組織が圧排性に確認され、腎実質から発生した腫瘍と判断された。また、左副腎は形状を保ったまま腫瘍外縁に圧排されて認められた (Photo. 6)。

組織学的には、大型で明瞭な核小体と大型の類円形異型核および好酸性の封入体様構造を有する胞体をもつ腫瘍細胞（いわゆるラブドイド細胞）が、びまん性に増殖してい

た (Photo. 7, 8)。核分裂像は多数みられ、異型核分裂像も認められた。出血を伴う地図状の壊死が広範に認められ、静脈侵襲を多数認めた。腎実質は圧排されて周辺に残存していたが、腫瘍内にも腎尿細管や糸球体組織が埋没してみられ、腫瘍の浸潤性増殖が示唆された。腫瘍は腎盂内にも進展していたが尿管断端に腫瘍はみられなかった。腎門部のリンパ節に転移が認められた。腫瘍は腎被膜外にも浸潤し、腎周囲脂肪織に進展していた。左副腎は腫瘍に圧排されて変形し、一部副腎の実質内に腫瘍の浸潤を認めた。

免疫組織化学的に腫瘍細胞は、Cytokeratin (AE1/AE3), Cytokeratin (CAM5.2), Epithelial membrane antigen (EMA), Neurofilament, Vimentin に陽性、Calretinin, CD3, CD20, CD30 (Ki-1), CD34, CD79a, CD99, Cyto-



Photo. 6 Gross findings of the formalin-fixed left nephrectomy specimen. A large necrotic tumor with prominent hemorrhage is observed.

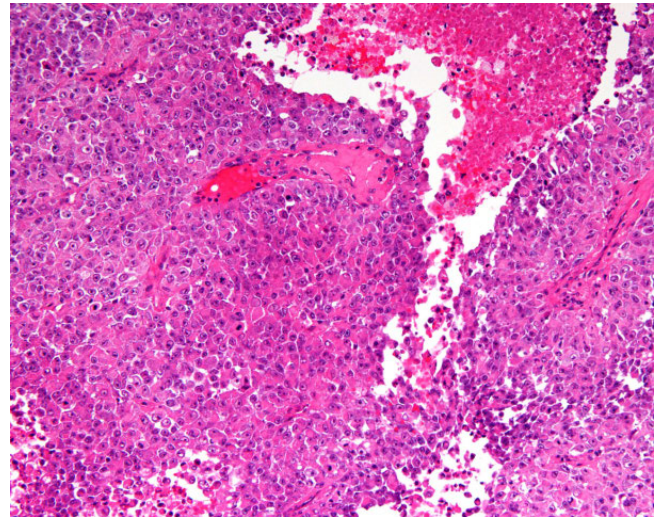


Photo. 7 Histologic findings of the tumor. Diffuse proliferation of the atypical tumor cells is found (H. E. staining, ×10).

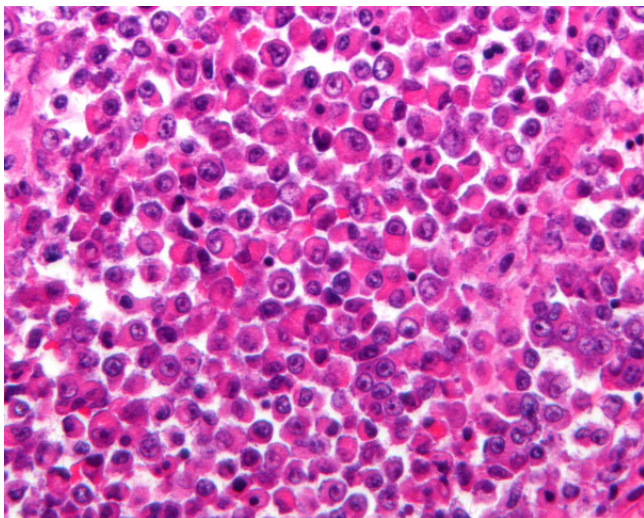


Photo. 8 Histologic findings of the tumor. Rhabdoid cells with intracytoplasmic eosinophilic inclusion body-like structures are observed (H. E. staining, ×40).

keratin 5/6, Desmin, Glial fibrillary acidic protein (GFAP), human melanin black (HMB45), Muscle specific actin (HHF35), Myogenin, Desmin, Placental alkaline phosphatase (PLAP), S-100 protein, Synaptophysin, α -smooth muscle actin は陰性だった。また、INI1 は陰性だった (Table 1, Photo. 9)。

以上、INI1 が陰性であり、複数の中間径フィラメントと EMA の発現もみられることから、HE 像と合わせ、RTK と診断した。

鑑別診断として、腎細胞癌、腎血管筋脂肪腫、悪性リンパ腫、Ewing 肉腫、悪性中皮腫、胚細胞腫瘍、悪性黒色腫、横紋筋肉腫などが挙げられたが、病理組織像と免疫染色結果から否定的だった。

Table 1 Immunohistochemical study in this case

Antibody	Result
Calretinin	—
CD3	—
CD20	—
CD30 (Ki-1)	—
CD34	—
CD79a	—
CD99	—
Cytokeratin (AE/1AE3)	+
Cytokeratin (CAM 5.2)	+
Cytokeratin 5/6	—
Desmin	—
EMA	+
GFAP	—
HMB45	—
INI1	—
Muscle specific actin (HHF35)	—
Myogenin	—
Neurofilament	+
PLAP	—
S-100 protein	—
Synaptophysin	—
Vimentin	+
α -smooth muscle actin	—

EMA : epithelial membrane antigen

GFAP : glial fibrillary acidic protein

HMB : human melanin black

PLAP : placental alkaline phosphatase

V. 考 察

RTK は組織学的にラブドイド細胞の出現により特徴づ

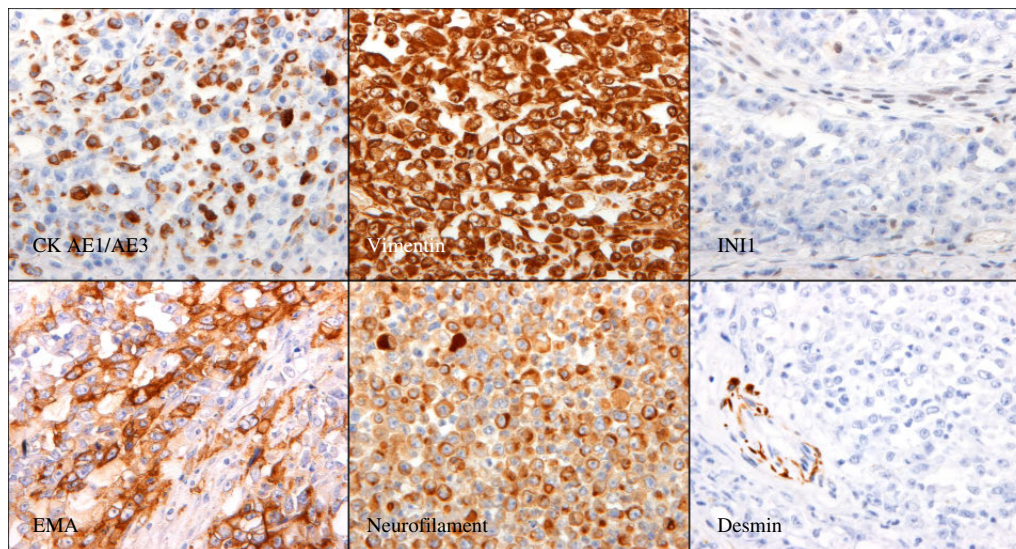


Photo. 9 Immunohistochemical staining of the formalin-fixed paraffin-embedded histological specimen. The tumor cells are positive for Cytokeratin (CK) AE1/AE3, Vimentin, Epithelial membrane antigen (EMA), and Neurofilament, but negative for INI1 and Desmin (Immunostaining, $\times 40$).

けられる。ラブドイド細胞は次のような特徴を有する細胞である。すなわち、大型異型核と大型明瞭な核小体がみられ、豊富な細胞質を有する異型細胞で、光顕レベルでは球状硝子様好酸性細胞質内封入体様構造が認められる。この封入体様構造は、電顕的には中間径フィラメントの球状凝集塊からなる⁹⁾。これまでの報告によれば、RTKのパパニコロウ染色の細胞像の特徴として、散在性から疎な結合で出現し、比較的豊富なライトグリーン好染性の細胞質を有し、一部の細胞に細胞質内封入体様構造がみられ、核は類円形から不整形でクロマチンは細顆粒状を呈し、大型の核小体が1～数个認められるとされている¹⁰⁻¹²⁾。

本例の細胞診捺印標本では、腫瘍細胞に大型で明瞭な核小体はみられたが、細胞診検査で通常染色するパパニコロウ染色やギムザ染色標本の観察では、細胞質内封入体様構造は不明瞭であり、組織像でのラブドイド細胞の本例での出現頻度を考慮すると、封入体様構造と認識できる構造物は組織所見と比べて不均衡に少なかった。その理由として、細胞質内封入体様構造はもともと細胞質に存在する中間径フィラメントが集塊状に異常凝集したものであり、周囲の細胞質と膜構造で分画されるような構造ではないため、パパニコロウ染色、ギムザ染色では、周囲の細胞質と染色性に明瞭な差が認められず、これらの染色では細胞診標本で認識しにくいと考えられた。一方、HE染色では、細胞質内封入体様構造はエオジンに濃染するため、パパニコロウ染色やギムザ染色よりも明らかに認識しやすく、細胞診標本でもHE染色を併用することによって、ラブドイド細胞を識別しやすくなると考えられる。

ラブドイド細胞は、ほかの肉腫や癌腫でも出現することがあるので、ラブドイド細胞が出現したからといってRTKと診断することはできないが、ラブドイド細胞の出現する腫瘍は、悪性度の高い腫瘍であることが多く、細胞診標本でのラブドイド細胞の特徴を知っておくことは重要であると考えられる。また、“ラブドイド”という名称やHE染色で好酸性を示す細胞質がみられることから、RTKを横紋筋肉腫（ラブドミオサルコマ：rhabdomyosarcoma）と、ラブドイド細胞を横紋筋芽細胞（rhabdomyoblast）と混同しないことが肝要である。

細胞診における鑑別診断として、腎細胞癌、腎血管筋脂肪腫、悪性リンパ腫、Ewing肉腫、悪性中皮腫、胚細胞腫瘍、悪性黒色腫、横紋筋肉腫などが考えられる。肉腫様変化を伴わない腎細胞癌とは、上皮性結合がほとんどみられないことやPAS反応の所見から鑑別できると考えられる。腎血管筋脂肪腫とは、脂肪細胞、血管組織、平滑筋様紡錘形細胞がみられず、Desmin, HMB45, α -SMA陰性であることから鑑別可能と考える。悪性リンパ腫、Ewing肉腫、悪性中皮腫および胚細胞腫瘍とは核所見や細胞質の所見から鑑別可能と考えられる。核小体が明瞭な点は悪性黒色腫に類似するが、腫瘍の発生部位、メラニン顆粒がみられないことやHMB45陰性であることから鑑別できると考えられる。また、RTKには細胞質に横紋構造がないことや腫瘍細胞が比較的単調であることなどから横紋筋肉腫とは鑑別できると考えられる。一方、疾患概念からみるとRTKと近位型類上皮肉腫とは腫瘍細胞の特徴や遺伝子変異など共通する所見があり、両腫瘍の異同について議論されている

が, 本例は腎発生の腫瘍であり, 成人例ではあるが RTK と考えるのが妥当と考えられる。

VI. 結 語

2 歳までに好発するきわめて予後不良の悪性腫瘍である RTK の成人女性症例を経験した。本腫瘍は, 発生頻度がきわめて低く, 日常業務で遭遇する機会はとても少ないと考えられるが, 非常に予後不良な腫瘍であり, ごくまれに成人に発生することもあることから, その細胞像を把握しておくことは重要であると考えられる。

推定診断には, ラブドイド細胞の硝子様好酸性細胞質内封入体様構造の把握が重要であるが, 細胞診検査で通常染色するパバニコロウ染色やギムザ染色では封入体様構造は不明瞭であることから, 発生部位, 詳細な細胞所見と免疫染色の検索に加え, 細胞診標本においても HE 染色の併用が望ましいと考える。

筆者らに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 60 回日本臨床細胞学会春期大会 (2019 年 6 月 8 日, 東京) にて発表した。

Abstract

Background : Rhabdoid tumor of the kidney (RTK) represents a highly malignant rare tumor usually seen in infants. Rhabdoid cells that have eosinophilic inclusion body-like structures are characteristic in RTKs. The tumor cells are positive for cytokeratin and vimentin, but characteristically negative for INI1. An adult case of RTK is reported herein.

Case : A 33-year-old female suffered from abdominal discomfort and a CT scan detected a large tumor of the left kidney. Nephrectomy was performed. An imprint cytological specimen of the cut surface of the tumor showed scattered, numerous medium- to large-sized atypical cells which had eccentric, irregular-shaped nuclei and conspicuous nucleoli. No cohesiveness among the tumor cells was found. Inclusion body-like structures were obscure in Papanicolaou and Giemsa staining, however, these were easily recognized in H. E. staining. Histologically, diffuse proliferation of atypical tumor cells containing rhabdoid cells was found. Immunohistochemically, the tumor cells were positive for cytokeratin, vimentin, EMA, and neurofilament, but negative for INI1. Thus, a histological diagnosis of RTK was made.

Conclusion : Inclusion body-like structures of the rhabdoid cells in

an RTK were easily recognized within H. E. staining, even in cytological specimens. Thus, in addition to tumor location and detailed cytological observation, H. E. staining is useful for the cytological diagnosis of RTKs.

文 献

- 1) Beckwith, J. B., Palmer, N. F. Histopathology and prognosis of Wilms tumors : results from the First National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 1978 ; 41 : 1937-1948.
- 2) Haas, J. E., Palmer, N. F., Weinberg, A. G., Beckwith, J. B. Ultrastructure of malignant rhabdoid tumor of the kidney. A distinctive renal tumor of children. *Hum Pathol* 1981 ; 12 : 646-657.
- 3) Argani, P., Dehner, L., Leuschner, I. World Health Organization classification of tumours, pathology & genetics : tumours of the urinary system and male genital organs. 4th ed. Lyon : IARC Press ; 2016 ; 55-56.
- 4) Zhao, G., Na, R., Yang, Y., Han, R. Pure malignant rhabdoid tumor of the left kidney in an adult : A case report and review of the literature. *Oncol Lett* 2013 ; 5 : 1481-1484.
- 5) 大喜多肇. 小児腎腫瘍. *病理と臨* 2012 ; 30 : 1230-1235.
- 6) 橋本 洋, 軟部腫瘍. 向井 清, 真鍋俊明, 深山正久, 編. *外科病理学* 第 4 版. 東京 : 文光堂 ; 2006. 1584.
- 7) Jackson, E. M., Sievert, A. J., Gai, X., Hakonarson, H., Judkins, A.R., Tooke, L., et al. Genomic analysis using high-density single nucleotide polymorphism-based oligonucleotide arrays and multiplex ligation-dependent probe amplification provides a comprehensive analysis of INI1/SMARCB1 in malignant rhabdoid tumors. *Clin Cancer Res* 2009 ; 15 : 1923-1930.
- 8) Hoot, A. C., Russo, P., Judkins, A. R., Perlman, E. J., Biegel, J. A. Immunohistochemical analysis of hSNF5/INI1 distinguishes renal and extra-renal malignant rhabdoid tumors from other pediatric soft tissue tumors. *Am J Surg Pathol* 2004 ; 28 : 1485-1491.
- 9) 佐野寿昭, 檜澤一夫. いわゆるラブドイド細胞の性状と成り立ち. *病理と臨* 1992 ; 10 : 1356-1360.
- 10) 寺澤孝一, 花牟禮富美雄, 植村勝男, 松野正宏, 佐藤信也, 浅田祐士郎. 軟部 Malignant rhabdoid tumor の 1 例. *日臨細胞会誌* 1997 ; 36 : 622-626.
- 11) 堀江 弘, 中山 茂, 岩井 潤, 江東孝夫, 真家雅彦. 傍脊椎より発生した腎外性 malignant rhabdoid tumor の 1 例. *日臨細胞会誌* 1991 ; 30 : 95-99.
- 12) 鈴木文子, 森 裕二, 神津悦子, 木村文一, 高桑俊文, 田所衛・ほか. : 軟部悪性 Rhabdoid 腫瘍の 1 例. *日臨細胞会誌* 1995 ; 34 : 1172-1175.

症 例

胸壁軟部組織に発生した脊索腫の 1 例

久和 美咲¹⁾ 楠木 麻子¹⁾ 柴崎 洋子¹⁾ 小池 昇¹⁾
秋田 英貴¹⁾ 鄭 子文¹⁾ 元井 亨²⁾

公益財団法人東京都保健医療公社豊島病院病理診断科¹⁾, 東京都立駒込病院病理科²⁾

背景：脊索腫 (chordoma) は胎児期脊索に由来する比較的まれな悪性骨腫瘍である。今回われわれは左胸壁に発生した脊索腫の 1 例を経験したので報告する。

症例：80 歳代，男性。左胸壁に皮下腫瘍を指摘され，組織生検で脊索腫と診断された。経過観察していたが，腫瘍に増大傾向を認めたため，腫瘍摘出術を施行した。摘出された腫瘍の断面はモザイク状に乳白色調の領域と灰白色調の領域が混在する充実性病変で境界はおおむね明瞭であった。捺印細胞診では粘液基質様の背景に上皮様結合を有する多稜形の腫瘍細胞が大小の細胞集塊を形成して出現し，類円形様の核内封入体をもつ細胞を多数認めた。細胞質はライトグリーンに淡染し，坦空胞細胞も認められた。組織標本では上皮様細胞や坦空胞細胞がシート状および索状に配列し，周囲には粘液状基質を伴っていた。偏在性に核内封入体を多数含む腫瘍細胞もみられた。これらの腫瘍細胞の核は免疫化学染色で brachyury に陽性を示した。以上の所見より脊索腫と診断した。

結論：中心骨外発生の脊索腫 (extra-axial chordoma) はまれであり，その診断は困難であるが，本例は，組織像・細胞像のいずれも脊索腫に特徴的な所見を示しており，免疫組織化学的にも brachyury が陽性を示し，診断しえた。

Key Words : Extra-axial chordoma, Cytology, Physaliphorous cell, Brachyury, Case report

I. はじめに

脊索腫 (chordoma) は胎児期脊索に由来する腫瘍で悪性骨腫瘍の中では 1~4% にすぎないまれな腫瘍である¹⁾。脳底部斜台，仙骨，脊椎骨が好発部位とされており，一般的

には完全切除が難しく，放射線照射の適応となることが多い。今回われわれは左胸壁軟部組織に発生した脊索腫を経験したので報告する。

II. 症 例

症 例：80 歳代，男性。

主 訴：左胸壁に皮下腫瘍があるとの自覚症状あり。

既往歴：14 年前，上行結腸癌（当院で手術実施）。

完全房室ブロック（ペースメーカー留置）。

検査所見：特記すべき所見なし。

現病歴：2 年半前に左胸壁に皮下腫瘍を自覚し，精査目的で当院を受診した。胸腹部 CT で左胸壁と斜角筋の間の軟部組織に 5.3×2.2 cm 大の腫瘍を認めた。病変は充実性で内部の構造が不均一であり，神経系由来もしくは間葉系由来と考えられたが，境界明瞭であった。臨床経過から増大傾向が乏しく，良性腫瘍を考えたが，悪性の可能性も完

A case of soft tissue chordoma of the chest wall

Misaki HISAWA¹⁾, C. T., Asako KUSUNOKI¹⁾, C. T., Yoko SHIBASAKI¹⁾, C. T., Noboru KOIKE¹⁾, C. T., Hidetaka AKITA¹⁾, M. D., Ja-Mun CHONG¹⁾, M. D., Toru MOTO²⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Health and Medical Corporation Toshima Hospital

²⁾Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital

論文印刷請求先 〒173-0015 東京都板橋区柴町 33 の 1 公益財団法人東京都保健医療公社豊島病院病理診断科 鄭 子文

令和元年 8 月 21 日受付

令和元年 9 月 15 日受理

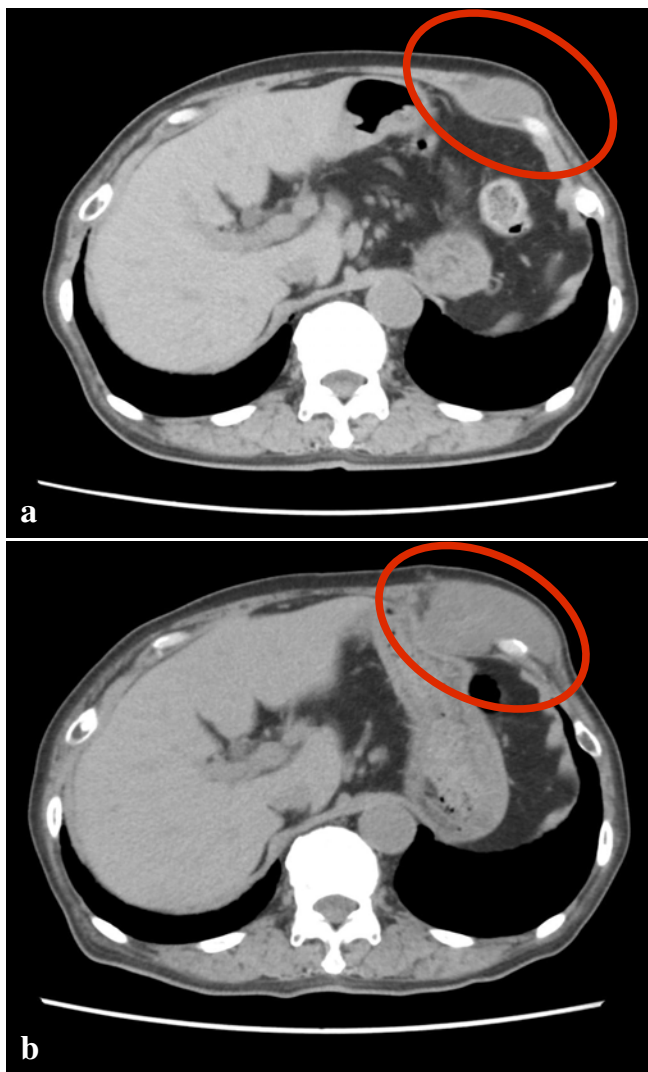


Photo. 1 a : Chest CT images showing a tumor measuring 5.3 cm × 2.2 cm in the left chest wall.
b : Chest CT images obtained 17 months after the previous CT showing a tumor measuring 5.8 cm × 3.7 cm

全には否定できなかった (Photo. 1a). 確定診断のために施行された組織生検で、好酸性背景に胞体内に複数の空胞を有する坦空胞細胞 (physaliphorous cell) を認め、これらの腫瘍細胞は免疫組織化学染色で brachyury に陽性を示し、脊索腫と診断した。腫瘍が CT 上で 5.8 × 3.7 cm 大に増大したため、腫瘍摘出術を施行した (Photo. 1b).

III. 細胞学的所見

摘出標本の捺印標本 (パパニコロウ染色) では粘液基質様の背景を伴って、上皮様結合を有する多稜形の腫瘍細胞が大小の細胞集塊を形成して出現していた。核は類円形で大小不同がみられ、核クロマチンは顆粒状で核小体を 1~

数個有し、核内偽封入体も多数認めた。細胞質はライトグリーンに淡染し、空胞形成を有する坦空胞細胞も認められた (Photo. 2a, b). また、腫瘍細胞は PAS 染色陽性を示した (Photo. 2c).

IV. 病理学的所見

病変は左肋骨弓直上の皮下に存在し第 12 胸椎および斜角筋に接する充実性腫瘍で、断面はモザイク状に乳白色調の領域と灰白色調の領域が混在し、境界はおおむね明瞭であった (Photo. 3). 組織学的に好酸性の胞体を有する上皮様細胞や、胞体内に空胞を示す坦空胞細胞がシート状あるいは索状に配列し、周囲には粘液状基質を伴っていた (Photo. 4). 偏在性に核内偽封入体を多数含む腫瘍細胞もあった。免疫組織化学染色では CK AE1/AE3, CK 34βE12, EMA, vimentin, S-100 蛋白が陽性を示し、CK7 は一部陽性であった。また、生検検体の免疫組織化学的検討の結果は、CK AE1/AE3, CK 34βE12, EMA, vimentin, S-100 蛋白が陽性、CK7 は一部陽性を呈し、さらに、脊索腫に特徴的なマーカーである brachyury が核にびまん性に陽性を示した (Photo. 5). Ki-67 陽性率は数%程度であった。以上の所見より、脊索腫と診断した。

V. 考 察

野津手らの報告¹⁾によると、McMaster らの解析による脊索腫の好発部位は脊椎 (32.8%), 頭蓋内 (32.0%), 仙骨部 (29.2%) であり、残りの 6% が体幹骨以外に発生すると述べられている。好発部位以外で発生した症例報告もあるが¹⁾、本例のように胸壁に発生した症例報告は検索した範囲内ではまれな症例であると考えられる^{2~5)}。

現在、脊索腫は 2013 年の WHO classification of tumors of soft tissue and bone により、①通常型脊索腫、②通常型に軟骨成分を含む軟骨様脊索腫、③脊索腫に肉腫成分を合併する脱分化型脊索腫に分類され、腫瘍の発育や予後に差がみられるとされている⁶⁾。

かつて、正中部および脊椎の外部の軟部組織に発生する脊索腫 (中心骨外脊索腫、末梢型脊索腫) は parachordoma といわれ、筋上皮腫と互いに重要な鑑別対象とされていたが、症例の蓄積や解析により両者は同一のスペクトラムにある腫瘍と認識され 2002 年の WHO classification of tumors of soft tissue and bone では、筋上皮腫と parachordoma を一括して分類・記載された。しかし、発生段階の脊索分化に関与する転写因子である brachyury が、発生部位にかかわらず脊索腫に特異的に発現し、軟骨性腫瘍や筋上皮腫な

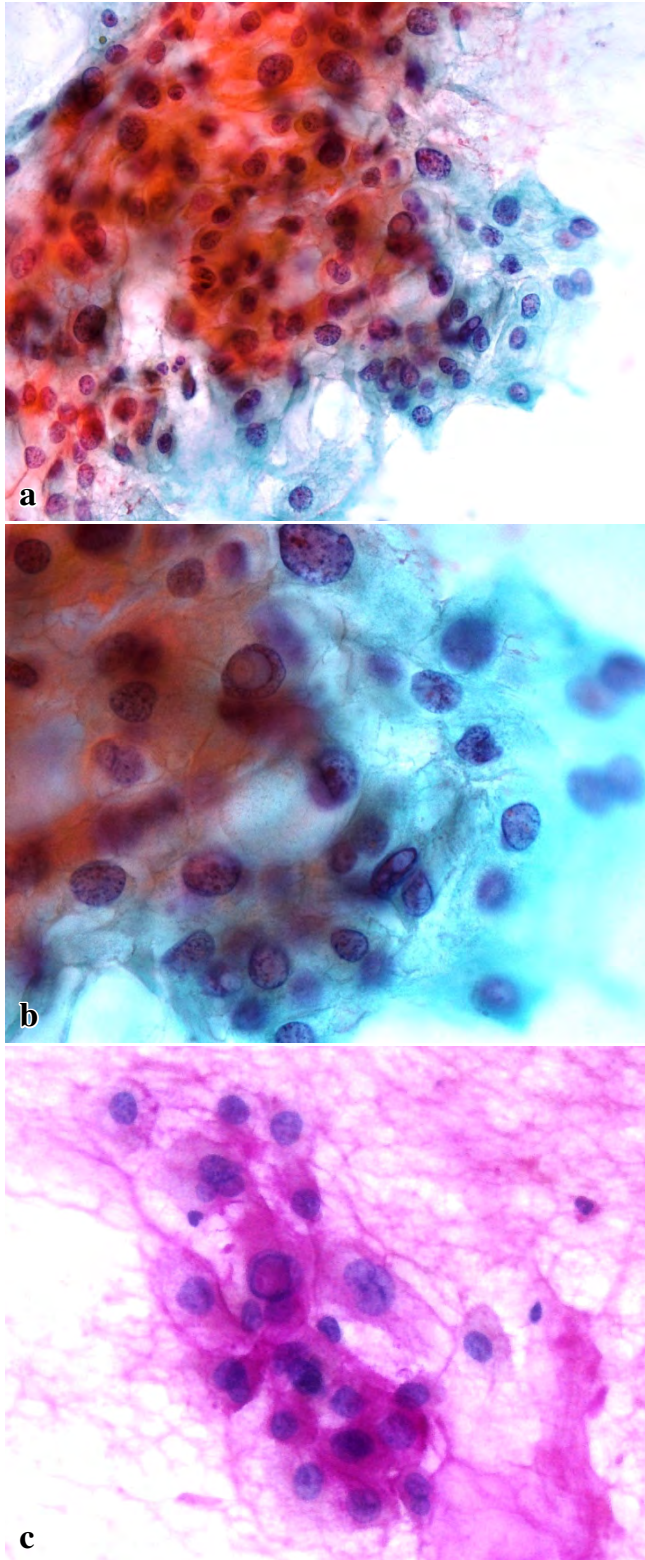


Photo. 2 a : The tumor is composed of nests of polyhedral cells. The nuclei are round, with granular chromatin and small nucleoli (Pap. Staining $\times 40$).
 b : Physaliphorous cells with light-green cytoplasm (Pap. Staining $\times 100$).
 c : PAS-positive staining of the tumor cells ($\times 40$).

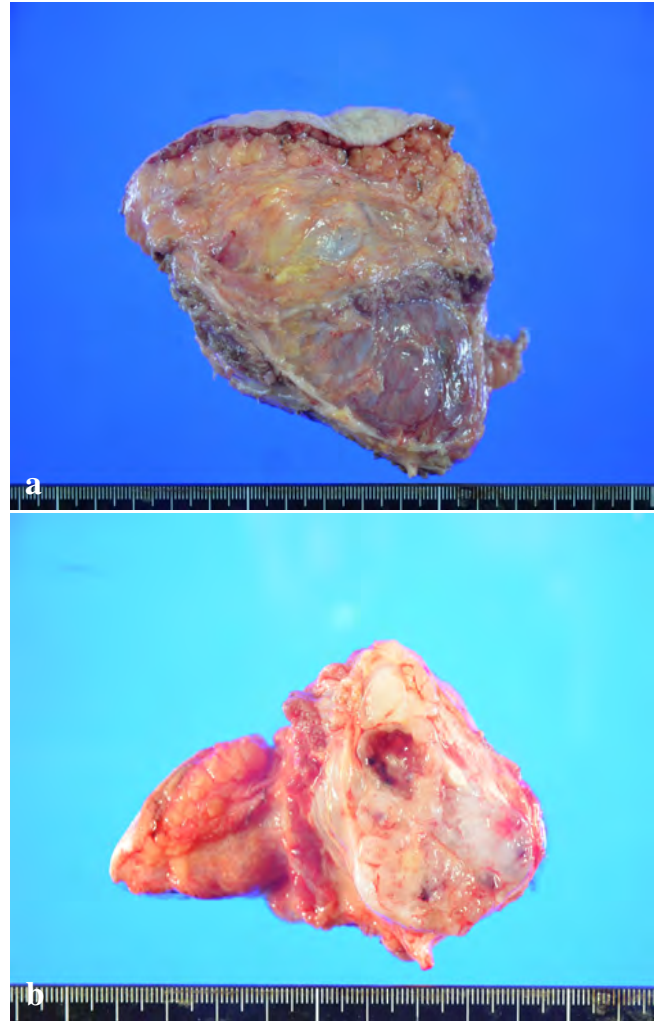


Photo. 3 a : Macroscopic examination showed that the subcutaneous tumor was solid. b : On cut section it was mosaic and white-gray.

どの脊索種に類似した腫瘍は陰性であることが判明した。その結果、脊索腫の亜型として soft tissue chordoma が改めて認識されるようになった²⁾。

脊索腫の鑑別疾患として、軟骨肉腫、筋上皮腫および筋上皮癌、転移性腺癌などが挙げられる⁷⁾。

Table 1 に示すように、cytokeratin, EMA, S-100 蛋白の免疫組織化学染色で鑑別可能な疾患もあるが、発生段階の脊索分化に関与する転写因子である brachyury が陽性を示すのは脊索腫のみである^{2,7)}。

したがって、脊索腫の確定診断には免疫組織化学染色が必要不可欠であり、cytokeratin, EMA, S-100 蛋白に加えて brachyury を併用することが重要であり、特に、本例のような発生部位がまれな中心骨外脊索腫において有用である。

脊索腫の細胞像として、背景は粘液性でメタクロマジー

を示し、胞体に空胞を有する大型の細胞、すなわち担空胞細胞が特徴であり、核内偽封入体の存在する症例も挙げられている^{7,8)}。

軟骨肉腫は、構成する細胞の異型性が強く低結合性で二核細胞を認めることが多いが、脊索腫は上皮様結合性を有

し、二核細胞を認めたい点が鑑別となる。筋上皮腫は、粘液性背景に結合性の強い細胞を認める点が脊索腫と類似するが、筋上皮腫を構成する細胞は紡錘形細胞が主体であり、筋原性マーカーが陽性である点で鑑別可能である。その他の疾患についても、脊索腫に特徴的な担空胞細胞の同定が行えれば鑑別可能である^{8~10)}。

本例は、粘液性基質を背景に、担空胞細胞および核内偽封入体を有する細胞が多数存在しており脊索腫に特徴的な所見と考えられた。また、本例は組織生検で脊索腫と診断されたうえで腫瘍摘出術が行われ、手術材料を用いて捺印細胞診を行ったが、本例のような部位であっても、画像的に脊索腫の可能性がある場合には、積極的に穿刺吸引細胞診を行っていくべきである。

今回われわれが経験した軟部発生例は、非常にまれであり、転移の可能性も考え、術後、全身検索が行われたが、好発部位を含め他臓器に原発巣は認められなかった。術後約 14 ヶ月経過しているが再発も認められていない。

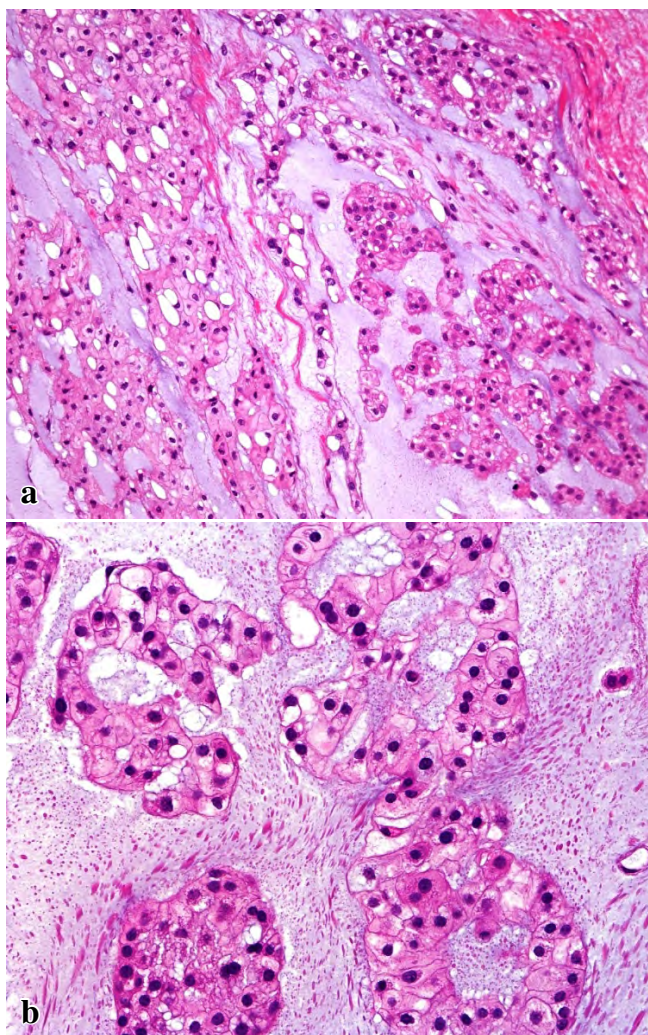


Photo. 4 Histopathological examination revealed that the tumor was composed of nests of epithelial-like cells with eosinophilic cytoplasm and physaliphorous cells (a : HE staining $\times 20$, b : HE staining $\times 40$).

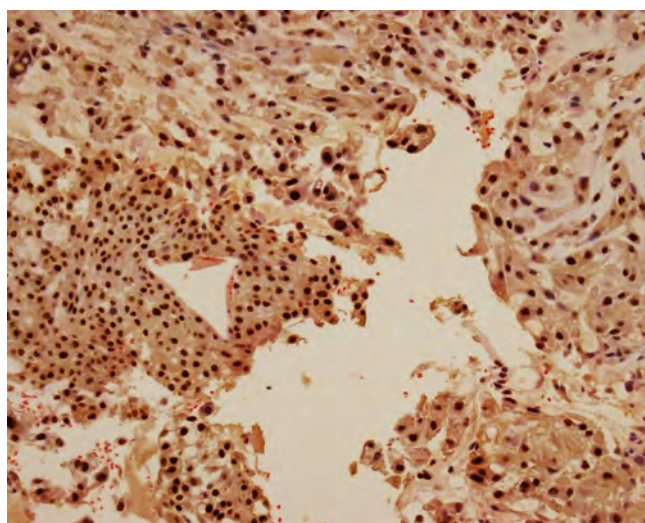


Photo. 5 Immunohistochemistry showing positive staining of the tumor cells for brachyury ($\times 20$).

Table 1 Immunohistochemical panel to aid in the differential diagnosis of chordoma

Differential diagnoses	Immunohistochemistry recommended panel			
	cytokeratin	EMA	S-100 protein	brachyury
This case	+	+	+	+
Chordoma	+	+	+	+
Conventional chondrosarcoma	—	—	+	—
Mixed tumor/myoepithelial tumors	+	+	+	—
Metastatic adenocarcinoma	+	+	—	—

VI. 結 語

今回われわれは左胸壁軟部組織に発生した脊索腫の1例を経験した。中心骨外の非典型的な部位に脊索腫が発生することはきわめてまれであり、鑑別診断は困難であるが、脊索腫に特徴的な細胞所見や、brachyuryの免疫組織化学染色などの所見を合わせることで確定診断が可能であると考えられた。

筆者らは開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は第57回日本臨床細胞学会秋期大会で発表した。

Abstract

Background : Chordoma is an uncommon malignant mesenchymal tumor that arises from in the spinal axis. We report a rare case of chordoma arising from the chest wall.

Case : A man in his 80's was diagnosed as having a tumor in his chest wall, and the tumor was completely excised. The imprint cytology findings showed tumor cells arranged in clusters with abundant cytoplasm in a mucinous background. The nuclei were round, with granular chromatin and small nucleoli. Histopathological examination of the tumor revealed characteristic physaliphorous cells and epithelial-like cells in the lesion. Immunohistochemistry revealed diffuse positive staining of the nuclei of the tumor cells. On the basis of these findings, we made the diagnosis of chordoma of the chest wall.

Conclusion : We report a rare case of chordoma arising from the chest wall, and shown that the diagnosis can be confirmed by the cytological findings.

文 献

- 1) 野津手大輔, 丸田佳代, 田中麗苗, 山口絵美, 高橋利弘, 伊藤清隆・ほか. 後縦隔原発脊索腫の1例. 日呼吸会誌 2009 ; 47 : 168-174.
- 2) Lauer, S. R., Edger, M. A., Gardner, J. M., Sebastian, A., Weiss, S. W. Soft tissue chondromas a clinicopathological analysis of 11 cases. Am J Pathol 2013 ; 37 : 719-726.
- 3) van Akkooi, A. C., van Geel, A. N., Bossems, J. H., den bakker, M. A. Extra-axial chordoma. J Bone Joint Surg Br 2006 ; 88 : 1232-1234.
- 4) Cesinaro, A. M., Maionara, A., Collina, G., Fano, R. A. Extra-axial chordoma. Report of a case with immunohistochemical study. Pathologica 1993 ; 85 : 755-760.
- 5) Gimferrer, J. M., Baldo, X., Montero, C. A., Ramirez, J. Chest wall parachordoma. Eur J Cardiothorac Surg 1999 ; 16 : 573-575.
- 6) Flanagan, A. M., Yamaguchi, T. Chordoma. In Fletcher, C. D., Bridge, J. A., Hogendoom, P. C. W., Mertens, F., eds. WHO classification of tumours of soft tissue and bone, 4th edition. Lyon : IARC Press : 2013 : 328-329.
- 7) Wasserman, J. K., Gravel, D., Purgina, B. Chordoma of the head and neck : A review. Head Neck Pathol 2018 ; 12 : 261-268.
- 8) Crapanzano, J. P., Ali, S. Z., Ginsberg, M. S., Zakowski, M. F. Chordoma a cytologic study with histological and radiologic correlation. Cancer 2001 ; 93 : 40-51.
- 9) 平沢 浩, 須藤健助, 伊藤裕子, 舟橋正範, 黒田 誠, 溝口良順・ほか. 脊索腫2例の細胞像. J Jpn Soc Clin Cytol 1995 ; 34 : 716-721.
- 10) 酒田美香, 大橋隆治, 北川泰之, 許田典男, 度會泰彦, 内藤善哉. 術前細胞診で典型像を欠き診断に苦慮した脊索腫の1例. J Jpn Soc Clin Cytol 2019 ; 58 : 29-34.

短 報

胸水乾燥塗抹標本中に HHV-8 DNA の存在を確認しえた
原発性滲出液リンパ腫の 1 例

内田 浩紀 花見 恭太 山崎 一人

帝京大学ちば総合医療センター病院病理部

I. はじめに

大量胸水にて発症し、胸水乾燥塗抹標本を用いた Polymerase chain reaction (PCR) 法にてヒトヘルペスウイルス 8 型 (human herpesvirus-8 : HHV-8) 遺伝子を確認しえた原発性滲出液リンパ腫 (primary effusion lymphoma : PEL) の 1 例を報告する。

II. 症 例

患者は 80 歳代、男性で、多量の左胸水を認めたため、精査加療目的に入院された。採取された胸水の細胞診および分子生物学的検索により悪性リンパ腫と診断した。画像診断では全身にリンパ節腫脹や腫瘤を認めず、胸水中の腫瘍細胞より HHV-8 由来のタンパク・遺伝子を確認したため、PEL と診断した。全身衰弱のため化学療法の導入にいたらず、入院第 14 日に永眠された。

III. 細胞学的所見

Papanicolaou 染色では N/C 比の高い centroblast 様の細胞が孤在性にみられ、腫大した類円形核は複数の核小体を有し、クロマチンの増量と核縁の肥厚を認めた (Photo. 1a)。Giemsa 染色では弱塩基性狭小細胞質や粗網状核クロマチンを有する異型細胞が認められ、悪性リンパ腫を強く疑った。

IV. 免疫細胞化学

胸水の残沈査よりホルマリン重層法を用いてセルブロットを作成し免疫化学染色を施行した。異型細胞は CD20, CD79a, MUM1 に陽性、Bcl-6 には陰性であった。抗 HHV-8 LANA (latency-associated nuclear antigen) 抗体 (Leica 社, 50 倍希釈) を用いた免疫染色では約 70% の異型細胞が陽性を示したが、乾燥塗抹標本を用いた同染色では陽性細胞を認めなかった (Photo. 1b, Table 1)。

V. 分子病理学的検索

胸水セルブロット標本 4 枚 (4 μ m 厚) と未染色の乾燥塗抹標本 1 枚 (−80℃にて 2 週間経過) よりそれぞれ Proteinase-SDS 法にて DNA を抽出した。BIOMED-2 法による IgH 遺伝子再構成の検索では、いずれにも FR2B-JH 領域に 250 bp の遺伝子増幅が確認され、単クローン性の B 細胞増殖が証明された¹⁾ (Photo. 2a)。また、いずれにも PCR 法にて 234 bp の HHV-8 ORF26 遺伝子の増幅が確認され HHV-8 遺伝子の存在が証明された²⁾ (Photo. 2b)。

VI. 考 察

現行の WHO のリンパ腫分類では HHV-8 の証明が PEL 診断の必要条件である³⁾。HHV-8 の検出にはセルブロットを用いた抗 HHV-8 LANA 抗体の免疫染色が最適であるが、過固定の検体や変性の著しい検体には適さない。相川らは 6 例の PEL の Papanicolaou 染色細胞診標本から細胞転写法を用いて免疫化学的に HHV-8 の検出を試みたが、陽性例は 1 例のみであったと報告している⁴⁾。

一方、PEL の腫瘍細胞は 1 細胞あたり 40~80 コピーの HHV-8 遺伝子が存在するため、PCR を用いた核酸検査は少量の検体でも HHV-8 の検出が可能なが多く、HHV-8 関連腫瘍の診断確定に有用とされている⁵⁾。本例においても乾

A case of primary effusion lymphoma with the presence of human herpesvirus-8 DNA in a pleural effusion smear

Hiroki UCHIDA, C. T., I. A. C., Kyoto HANAMI, C. T., I. A. C., Kazuto YAMAZAKI, M. D.

Department of Pathology, Teikyo University Chiba Medical Center
論文別刷請求先 〒 299-0111 千葉県市原市姉崎 3426 の 3 帝京大学
ちば総合医療センター病院病理部 内田浩紀

令和元年 10 月 3 日受付

令和 2 年 2 月 3 日受理

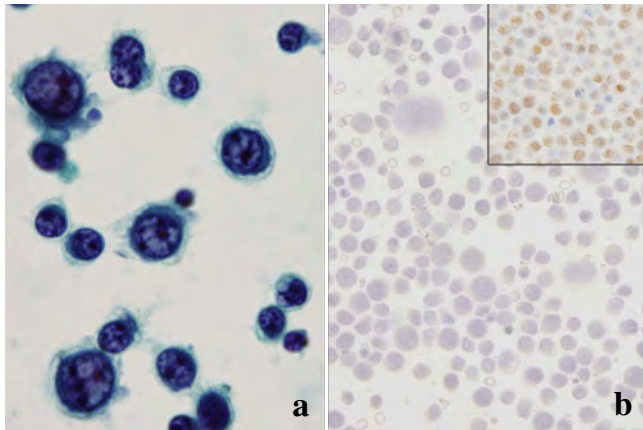


Photo. 1 Cytological and immunocytochemical findings of primary effusion lymphoma. a : Centroblast-like lymphoma cells. Most of the cells are large and show a high nuclear-cytoplasmic ratio. The nuclei are irregular with one or more prominent nucleoli (Pap. staining, $\times 40$). b : Immunocytochemistry shows that the lymphoma cells in cell-block preparation demonstrate human herpesvirus-8 latency-associated nuclear antigen (HHV-8 LANA) expression (inset), but lymphoma cells in the dry smear are negative ($\times 20$).

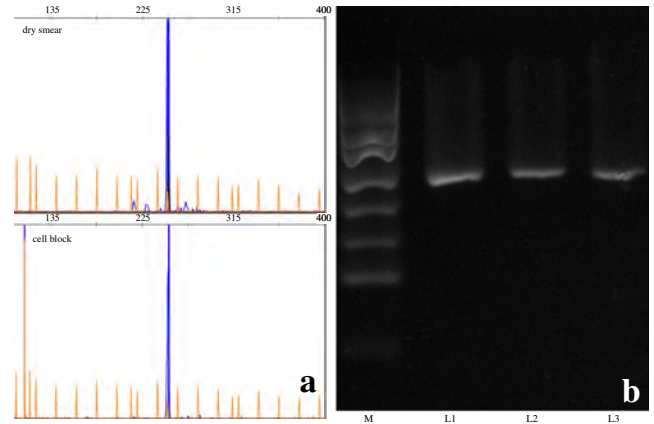


Photo. 2 Molecular analysis with PCR using a dry smear and cell block. a : Analysis of the gene arrangement of the IgH gene. FR2B-JH primer-based PCR (BIOMED-2 protocol) using DNA extracted from the pleural effusion shows amplified DNA (250 bp in size). Upper : dry smear. Lower : cell block. b : Detection of the HHV-8 DNA in the pleural effusion. The HHV-8 (ORF26) targeted PCR products are 234 bp in size. M : length marker pUC19 DNA, digested by Hpa II. L1 : dry smear. L2 : cell block. L3 : positive control (Kaposi's sarcoma).

Table 1 Results of the immunocytochemistry and PCR assays

Primary Abs	Suppliers	Clone	Dilution	Result	
CD45	Nichirei	PD7/26, 2B11	prediluted	+	
EMA	DAKO	E29	$\times 100$	-	
CD3	Roche	PS1	prediluted	-	
CD5	Nichirei	4C7	prediluted	-	
CD20	DAKO	L26	prediluted	+	
CD79a	DAKO	JCB117	$\times 100$	+	
CD30	DAKO	Ber-H2	$\times 40$	-	
CD10	Nichirei	56C6	prediluted	-	
Bcl-6	DAKO	PG-B6p	$\times 10$	-	
MUM1	DAKO	MUM1p	$\times 50$	+	
CD138	Nichirei	B-A38	prediluted	+	
EBER (ISH)	Roche		-	-	
				cell block	dry smear
HHV8 (immunostaining)	Leica	LNA-1 (HHV8 ORF73)	$\times 50$	+	-
HHV8 (PCR)				+	+
IgH rearrangement				VH (FR2)/JH	VH (FR1)/JH VH (FR2)/JH

乾燥塗抹標本は免疫染色には適さなかったが、核酸検査では IgH 遺伝子再構成と HHV-8 遺伝子の存在を証明しえた。このことから、 -80°C にて適切に保存された乾燥塗抹標本には潜伏性 HHV-8 遺伝子を検出する質・量の DNA が含まれると考えられた。セルブロック標本が作製できない状況でも、作製と保存が容易な胸水未染塗抹標本は核酸検査を必要とする PEL の診断確定に有用な材料になりうると考える。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

本論文の要旨は第 58 回日本臨床細胞学会総会（2017 年、大阪）にて発表した。

Abstract

We report herein on a case of primary effusion lymphoma (PEL). Smears of the pleural effusion demonstrated centroblast-like atypical lymphocytes. By applying the PCR process using extracted DNA from

dry smear of the pleural effusion, we could detect rearrangement of immunoglobulin heavy chain gene (FR2B-JH) and the presence of human herpesvirus-8 (HHV-8) DNA (ORF26). We consider that an effusion smear, even when dry, can be a useful material for detection of monoclonal gene rearrangement and the presence of the HHV-8 gene assessed with the PCR assay, which lead to an accurate diagnosis of PEL.

文 献

- 1) van Dongen, J. J., Langerak, A. W., Brüggemann, M., Evans, P. A., Hummel, M., Lavender, F. L., et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations : report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 2003 ; 17 : 2257-2317.
- 2) Speicher, D. J., Johnson, N. W. Detection of human herpesvirus 8 by quantitative polymerase chain reaction : development and standardization of methods. *BMC infection Dis* 2012 ; 12 : 210.
- 3) Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., et al., eds. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition. Lyon : IARC press ; 2008. 260-261.
- 4) 相川映美子, 河原明彦, 大久保文彦, 加留部謙之輔, 大島孝一. Primary effusion lymphoma 6 例の細胞学的検討. *日臨細胞会誌* 2008 ; 47 : 275-281.
- 5) 藤井雅寛, 樋口雅也, 福士雅也. ヒトヘルペスウイルス 8 型/カボジ肉腫関連ヘルペスウイルスと発ガン. *ウイルス* 2002 ; 52 : 281-285.

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			
(副委員長): 黒川 哲司	柳井 広之				
委員: 伊藤以知郎	河原 明彦	九島 巳樹	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			
幹事: 安倍 秀幸	谷口 智子	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	白田 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	草刈 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	園田顯三	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	棚田論
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	八重樫伸生	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
山田隆人	山田麻里沙	山田恭輔	山田鉄也	山田範幸	山元英崇
山本晃彦	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)

令和二年七月二十二日発行

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 〇〇一〇一〇一三三五四五