

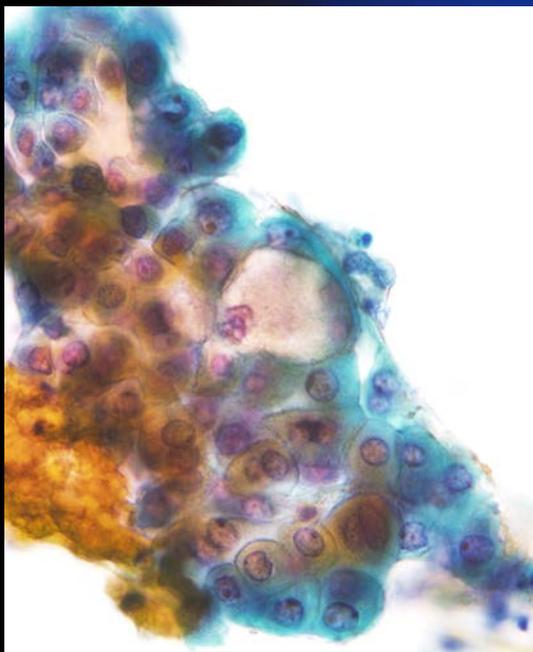
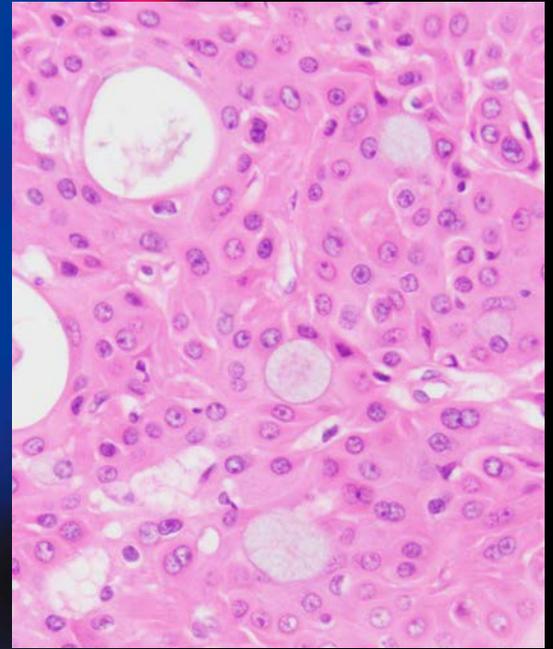
ONLINE ISSN 1882-7233  
PRINT ISSN 0387-1193

日臨細胞誌  
J.Jpn.Soc.Clin.Cytol.

第59卷 第5号 令和2年9月

# 日本臨床細胞学会雑誌

THE JOURNAL  
OF THE JAPANESE  
SOCIETY OF CLINICAL  
CYTOLOGY



公益社団法人  
日本臨床細胞学会

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

Vol.59 No. **5**  
Sept. 2020



目 次

巻頭言.....森井 英一

〈原 著〉

細胞保存液「セルバース」を使用した血性検体での LBC 標本作製の試み  
.....愛媛県立医療技術大学保健科学部臨床検査学科生体情報学講座 則松 良明・他 (209)

〈症 例〉

気管支内腔に発生し術前細胞診断に苦慮した肺低悪性度粘表皮癌の 1 例  
.....日本医科大学武蔵小杉病院病理診断科 前本 直子・他 (217)

子宮頸部に扁平上皮病変と腺系病変が共存した子宮頸部上皮性腫瘍の 3 例  
.....自衛隊中央病院産婦人科 坂元 崇洋・他 (224)

筋上皮癌を癌腫成分とする多形腺腫由来癌の 1 例  
.....近畿大学病院病院病理部 立花 幸・他 (230)

腎部嚢胞内容液の細胞診を契機として肺癌と診断された 1 例  
.....西脇市立西脇病院病理診断科 掘井 吉人・他 (237)

胸膜に発生した類上皮血管内皮腫の 1 例  
.....産業医科大学医学部第 1 病理学 津田陽二郎・他 (243)

〈短 報〉

マイクロチューブを利用した細胞浮遊状態での免疫細胞化学染色法の検討  
.....兵庫医科大学病院病院病理部 石田 誠実・他 (248)

肝転移巣で混合腺神経内分泌癌が示唆された膵腫瘍の 1 例  
.....金沢大学附属病院病理診断科・病理部 下田 翼・他 (251)

投稿規定.....(253)

編集委員会.....(260)

＊

〈表紙写真〉

肺低悪性度粘表皮癌

(左：パパニコロウ染色, 右：H-E 染色) (前本 直子・他, 左：Photo. 2e, 219 頁, 右：Photo. 4c, 220 頁)

## CONTENTS

Editorial.....Eiichi Morii

### **Original Article**

Trial of an LBC processing method of a bloody sample using CelVerse™ as the cell preservative solution  
Yoshiaki Norimatsu, et al. (Dept. of Med. Technology, Faculty of Health Sci., Ehime Pref. Univ. of Health Sci.,  
Ehime) .....(209)

### **Clinical Articles**

A case of mucoepidermoid carcinoma of the lung arising in a bronchial lumen that was difficult to  
diagnose by preoperative cytological examination  
Naoko Maemoto, et al. (Dept. of Diag. Path., Nippon Med. School Musashi-Kosugi Hosp., Kanagawa) .....(217)

Three cases of coexisting glandular and squamous lesions of the uterine cervix  
Takahiro Sakamoto, et al. (Dept. of Obst. and Gynecol., Self Defense Forces Central Hosp., Tokyo) .....(224)

A case of myoepithelial carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland  
Sachi Tachibana, et al. (Div. of Hosp. Path., Kindai Univ. Hosp., Osaka) .....(230)

A case of lung cancer diagnosed by cytological examination of a fluid specimen obtained from a lesion on the buttock  
Yoshihito Horii, et al. (Dept. of Diag. Path., Nishiwaki Municipal Hosp., Hyogo) .....(237)

A case of pleural epithelioid hemangioendothelioma  
Yojiro Tsuda, et al. (Dept. of Path. and Oncology, School of Med., Univ. of Occupational and  
Environmental Health, Japan, Fukuoka) .....(243)

### **Brief Notes**

Investigation of immunocytochemical staining method in cell suspension state using microtube  
Masanori Ishida, et al. (Dept. of Surg. Path., Hyogo College of Med. Hosp., Hyogo) .....(248)

A case of pancreatic mixed adenoneuroendocrine carcinoma and liver metastasis  
Tsubasa Shimoda, et al. (Dept. of Path., Kanazawa Univ. Hosp., Ishikawa) .....(251)

Notice to contributors.....(253)

### **Cover Photo**

Mucoepidermoid carcinoma of the lung  
(Left : Pap. stain, Right : H-E stain) (Naoko Maemoto, et al., Left : Photo. 2e, p219, Right : Photo. 4c, p220)



## 巻頭言

Eiichi Morii

# 森井英一

大阪大学大学院医学系研究科病態病理学・病理診断科

### ▶ コロナ新時代の中で、日々の学術活動を振り返る



新型コロナウイルス感染症の拡大に伴い、これまで当たり前に行っていたものが、全く行えない状況になっている。大学では講義はリモートで行うことになり、これまで講義室で学生さんに向かって語りかけながら行っていたことが、自分の部屋でコンピューターの向こうの学生さんに語りかけることとなってしまった。半端ない違和感を持ちながら講義をする毎日であるが、それと同時に、いきなり慣れないソフトを使いこなさないといけなくなかった。私が所属する大学では、これまでも遠隔講義システムというものは存在していたが、そんな使いにくいものは一部のマニア以外は誰も使用しておらず、大学の担当サポートデスクもつい半年ほど前までは閑古鳥が鳴いていた。せっかく作ったシステムなので、いかに教員に幅広く使ってもらおうかということが昨年までの全学の教育関連の会議で何度も議題となっており、稼働率が悪いわりにはシステムの維持だけで多額の予算がすぎこまれていることから、なんと非効率的な運営の仕方がされているのだらうと思っていた。もっとみんなが利用することに予算をつけて、不要不急なことはやめ、効率的に物事を進めていかないと組織としてダメになってしまうのではないかと、などと会議に出ては思っていた。ところが、いきなり講義は遠隔講義のみしか認められなくなり、これまでお荷物(?)だと思われていた遠隔講義システムが一躍脚光を浴びることとなった。

ほぼすべての教員が、これまで最低の稼働率だったシステムにアクセスし、閑古鳥が鳴いていたサポートデスクにアプローチした。事前にわかっていたら対策もできただろうが、今回の新型コロナウイルスに伴う遠隔講義の必須化はいきなりであった。大学としてのサポート体制もとれない状態のまま、これまでの何百倍ものシステム稼働と、ひっきりなしのサポートデスクへの教員からの問い合わせとなった。そうなるとう当然のことだが、システムはパンク状態になり、問い合わせてもいつまでも回答が得られない状況となってしまった。もともと稼働率の悪いシステムであり、担当部署の人員もほとんどいないため、当然と言えば当然である。ところが、このミゼラブルな状況は急速に改善し、新学期の最初こそ多くのつまずきはあったものの、数週間経てば比較的スムーズに遠隔講義を行うことができるようになった。少ない人員ながら担当部署が不眠不休でシステムの不具合に対する改善を最善のスピードで行ってくれたこと、問い合わせの多い質問に対する回答を



次々とメールで送ってくれたことなど、改善の要因は多々ある。いずれにせよ、今回の一連の流れから得られた教訓は、まず、不要不急と思っていることは状況次第で変わり、稼働させざるを得ないことがあるということ、そして稼働させる時には、最短最速、最高の効率を目指さないといけないということである。

翻って、日々自分が行っている学術活動はどうだろうか。何気ない地道な積み重ねが研究を行う時には大切だと口では言っているが、どうしても論文作製につながりやすい効率重視のプロジェクトを頭の中で考えて走らせてしまっている傾向にあると反省することが多い。不要不急の実験はできるだけやらない方向に動いてしまいがちである。何をするにしても研究費が必要であるため、限られた予算で研究活動を行う時には仕方のないことだと自分で自分を納得させている。しかし、論文作製につながりやすいということは、ある程度結果も見えている研究内容ということでもある。どこに予測不能の面白い結果がころがっているかわからないのが研究である。不要不急と思っている実験こそ、予測できない結果につながることも多かろう。大半のことは本当に不要不急な実験なのだろうが、中にはやってみて、いきなり面白い結果につながり、不要不急ではなくなることもあるだろう。そして、それが面白いということがわかった時には、それこそ効率重視の実験計画を立てて進めないといけないのだろう。コロナ新時代になり、遠隔授業の準備に追われながら、ふと自らの学術活動を振り返って反省しきりの毎日である。

## 原 著

細胞保存液「セルバース」を使用した血性検体での  
LBC 標本作製の試み

則松 良明<sup>1)</sup> 二村 梓<sup>2)</sup> 川西なみ紀<sup>3)</sup> 黒川 哲司<sup>4)</sup>  
平井 康夫<sup>5,6)</sup>

愛媛県立医療技術大学保健科学部臨床検査学科生体情報学講座<sup>1)</sup>, 慶應義塾大学病院臨床検査技術室病理診断科<sup>2)</sup>,  
JR 広島病院診療部臨床検査科<sup>3)</sup>, 福井大学医学部産科婦人科<sup>4)</sup>, 獨協医科大学産婦人科学教室<sup>5)</sup>,  
PCL ジャパン病理・細胞診センター<sup>6)</sup>

目的：細胞保存液セルバース™ (セルバ：メタノール 40.5%) での子宮内膜 LBC 標本作製手順策定のための予備検討として、血性検体における種々の条件下での血液成分塗抹状態や細胞塗抹量を比較した。

方法：口腔内扁平上皮細胞を用い、血液とともにセルバに添加後、室温または冷蔵にて、一定時間（最長 72 時間）保存した。その後、種々の処理を施した BD シュアパス—LBC 標本での塗抹細胞数や背景所見を比較した。

成績：セルバ—血液添加において、①室温と冷蔵保存で、前者の塗抹細胞数は後者よりも非常に有意に低値を示した。その結果から、②室温保存で分離剤での密度勾配処理を試み、保存 3 時間以内なら、セルバ—血液添加なしの細胞数に対する割合は約 6 割を保持したが、時間経過とともに減少し、特に保存 24 時間以降では 1 割程度と顕著な減少を認めた。その結果から、③室温保存でセルバよりもアルコール濃度が低い（約 23%）BD 社の婦人科検体用細胞保存液を溶血剤として処理後、分離剤処理を試みたところ、保存 72 時間においても、血液添加なしでの細胞数の 5 割台を維持し、検討②よりも細胞数は著しく改善した。

結論：セルバでの血性検体における細胞塗抹は、室温保存での溶血剤・分離剤処理がベターな方法であることが明らかになった。

**Key words** : CelVerse™ as cell preservative solution, Bloody sample, LBC processing method

Trial of an LBC processing method of a bloody sample using CelVerse™ as the cell preservative solution

Yoshiaki NORIMATSU<sup>1)</sup>, C. T., C. F. I. A. C., Azusa NIMURA<sup>2)</sup>, C. T., I. A. C., Namiki KAWANISHI<sup>3)</sup>, C. T., C. M. I. A. C., Tetsuji KUROKAWA<sup>4)</sup>, M. D., M. I. A. C., Yasuo HIRAI<sup>5,6)</sup>, M. D., M. I. A. C.

<sup>1)</sup>Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Ehime Prefectural University of Health Sciences

<sup>2)</sup>Division of Diagnostic Pathology, Laboratory Medicine, Keio University Hospital

<sup>3)</sup>Department of Laboratory Medicine, JR Hiroshima Hospital

<sup>4)</sup>Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui

<sup>5)</sup>Department Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Dokkyo Medical University

<sup>6)</sup>PCL Japan Pathology and Cytology Center, PCL Inc., BML group  
論文別刷請求先 〒791-2101 愛媛県伊予郡砥部町高尾田 543 愛媛県立医療技術大学保健科学部臨床検査学科生体情報学講座 則松良明

令和元年12月19日受付

令和2年1月28日受理

## I. はじめに

シスメックス社は子宮頸癌スクリーニング検査の細胞診診断支援としての活用を目的とし、フローサイトメトリーを用いた細胞分析技術を原理とする自動化システムである「剥離細胞分析装置 LC-1000」を開発した<sup>1)</sup>。これはアルコールベースの細胞保存液（セルバース<sup>TM</sup>、シスメックス社、神戸）中の剥離細胞より、細胞の DNA 量の分布から細胞増殖能を反映した独自の指標である Cell Proliferation Index を算出する医療機器である。Nakamura ら<sup>2)</sup>は、子宮頸部剥離細胞を用いた LC-1000 での解析を実施し、その細胞増殖動態に基づく指標において子宮頸部上皮内腫瘍と癌の質的評価が可能であり、子宮頸癌診断の支援に有用なツールであると報告した。

子宮内膜細胞診検体では、その多くが出血性であることが実情であるため、血液成分や炎症細胞などの目的細胞へのマスキング、ホルモン異常などによる癌細胞との鑑別が困難な異型細胞の出現など<sup>3)</sup>が、判定におけるスクリーニングエラーを発生させ問題となっている。さらに、陽性と判断するための補助的なマーカーが確立していないこともあり、細胞診（形態学）とは異なる視点での診断支援情報を提供できる可能性がある LC-1000 でのアプローチによる検査法の開発が求められている。公益社団法人日本産婦人科医学会ではその有用性に関する多施設共同試験を開始する予定である。その研究の副次的評価項目として、LC-1000 測定後の残余検体から作製した liquid-based cytology (LBC) 標本の判定結果を最終組織診と比較することで、その精度を算出し、セルバース<sup>TM</sup>（セルバ）が子宮内膜 LBC 保存液としての実用性の可否を評価することが挙げられている。

しかしながら、本研究に使用する細胞保存液であるセルバの主成分はメタノール 40.5% である。われわれの先行研究の結果から、このアルコール濃度では、赤血球の溶血作用が弱く、血液成分由来などのタンパク質の凝集が起これり、それらがスライドガラスに塗抹される。その結果、判定に十分量の子宮内膜細胞が得られない可能性が推測された<sup>4-10)</sup>。

したがって、本研究では細胞診判定に適正な子宮内膜細胞量を得るための LBC 標本作製手順の策定における予備検討として、血性検体における種々の細胞保存条件や処理条件下での赤血球や血液成分のスライドガラスへの塗抹状態や目的とする細胞の塗抹量を明らかにすることを目的とした。

## II. 方 法

検討 1：血液添加での細胞保存液と保存温度の違いによる細胞数および背景所見

細胞数の計数には個々の細胞が塗抹されるため、その細胞量の計数が容易な口腔内の頬の扁平上皮細胞を用いた。自己の口腔内（頬）を歯ブラシで適度に擦過し、RPMI-1640 培地（富士フィルム和光純薬社、東京）5 ml にて洗浄し、600 g、5 分間遠心後、RPMI を 1 ml 残して上清を廃棄し、扁平上皮細胞沈渣を得た。それを 30  $\mu$ l ずつ、細胞保存液であるセルバと BD サイトリッチ<sup>TM</sup>レッド（Red：日本ベクトン・ディッキンソン社、東京）各 10 ml にそれぞれ加え、次に血液（自己血）100  $\mu$ l を添加後、よく攪拌した。それから一定時間（1 時間、3 時間、6 時間、24 時間、48 時間、72 時間）、室温と冷蔵（4℃）にて静置した。それぞれの時間経過後、各細胞保存液は BD シュアパス法にて標本作製を行った。

その方法は BD サイトリッチ<sup>TM</sup>標本作製手順/非婦人科材料用手法（<http://www.bdj.co.jp/cytology/support/hkdqj2000008d9jg.html>）に準じ、

- ①各細胞保存液を 600 g、10 分間の遠心後、上清をデカントし、細胞沈渣を得た。
- ②得られた細胞沈渣に精製水 10 ml を添加・攪拌し、600 g、10 分間の再遠心後、上清をデカントし、細胞沈渣を得た。
- ③細胞沈渣に精製水 1 ml を混和して作製した細胞浮遊液 500  $\mu$ l をスライドガラス上の専用チャンバー内に分注し、標本を 2 枚、作製した。
- ④塗抹標本は 95% エタノールでただちに固定後、パバニコロウ染色を実施した。

検討 2：血液添加セルバ一室温保存における分離剤処理での細胞数および背景所見

セルバ 10 ml に検討 1 と同様にして得た扁平上皮細胞沈渣 30  $\mu$ l と血液 100  $\mu$ l を添加・攪拌後、検討 1 と同様の時間、室温にて静置した。それぞれの時間経過後、BD<sup>TM</sup>分離剤（分離剤、日本ベクトン・ディッキンソン社、東京）による密度勾配遠心処理を行い、BD シュアパス法にて標本作製を行った。

分離剤での標本作製手順は、BD シュアパス<sup>TM</sup>標本作製手順/婦人科材料用手法（<http://www.bdj.co.jp/cytology/support/hkdqj2000008fedh.html>）に準じ、

- ①分離剤 5 ml にセルバ 10 ml を重層し、200 g、2 分間の遠心後、上清 10 ml を除去した。
- ②600 g、10 分間の遠心後、上清をデカントし、細胞沈渣

を得た。

以降の処理は検討1の標本作製手順③, ④と同様である。また、血液無添加のものを対照とし、その標本作製手順は、検討1に準じた。

検討3：血液添加セルバ一室温保存における溶血剤・分離剤処理での細胞数および背景所見

扁平上皮細胞沈渣は検討2と同様の処理がなされ、室温にて静置した。それぞれの時間経過後、婦人科検体用細胞保存液であるBD シュアパス™バイアル (Gyne, 日本ベクトン・ディッキンソン社, 東京) での溶血処理後、分離剤処理し、BD シュアパス法にて標本作製を行った。溶血処理の標本作製手順であるが、

①セルバ細胞保存液を600g, 10分間の遠心後、上清をデカントし、細胞沈渣を得た。

②得られた細胞沈渣にGyne 10mlを添加・攪拌し、10分間、静置した。

以降の処理は検討2の分離剤での標本作製手順と同様である。また、血液無添加のものを対照とし、その標本作製手順は、検討1に準じた。

検討項目

1. 標本の背景所見：各条件で2枚作製したうちの1枚の標本において、Ghost 赤血球 (G赤：細胞の輪郭のみを認めるもの)、血液残渣 (残渣：血小板などの血液成分が凝集したもの) の有無を確認した。

2. 細胞数の計数：各条件で2枚作製したうちの1枚の標本において、標本中の対物40倍での5視野を任意に選択し、それぞれの細胞数を計数し、平均±SD値を算出した。

統計学的有意差の検討は、「R」統計ソフトウェア (バージョン3.6.1, URL: <http://www.r-project.org/index.html>, © The R Foundation, Austria) を使用し、Steel-Dwass test により分析した。p値が0.05未満を統計的に有意とみなした。

本研究は愛媛県立医療技術大学の研究倫理審査委員会の審査・承認を得ている (令和元年10月4日, No. 19-008)。

### III. 結 果

検討1：血液添加での細胞保存液と保存温度の違いによる細胞数および背景所見 (Table 1, Photo. 1)

セルバにおける室温および冷蔵保存の細胞数は、全静置時間において、Redの室温および冷蔵保存よりも有意に低値であった。また、セルバ室温保存における細胞数は、セルバ冷蔵保存よりも、有意に低値であった。セルバ室温保存細胞数のRed室温保存細胞数に対する割合を算出したところ、静置3時間までは1割台であったが、それ以降は激

減した。セルバ冷蔵保存細胞数/Red冷蔵保存細胞数では、静置24時間までは4割から5割台を維持し、それ以降は3割台であった。背景所見について、セルバ室温保存での静置3時間まではG赤のみであったが、それ以降は残渣も認められ、残渣は時間経過とともに前の静置時間よりも多く観察された。セルバ冷蔵保存はすべての静置時間でG赤のみが認められた。Redにおける室温および冷蔵保存の背景は、全静置時間で清明であった。

検討2：血液添加セルバ一室温保存における分離剤処理での細胞数および背景所見 (Table 2, Photo. 2)

分離剤処理での細胞数は、血液添加なしと比較して全静置時間で有意に低値であり、時間経過とともに減少した。特に24時間以降、細胞数の顕著な減少を認めた。血液添加なしでの細胞数に対する割合は、静置3時間までは6割台であったが、24時間以降は1割台に激減した。背景所見について、静置1時間では清明であった。静置3時間ではG赤のみが、静置6時間以降は残渣も認められ、残渣は時間経過とともに前の静置時間よりも多く観察された。

検討3：血液添加セルバ一室温保存における溶血剤・分離剤処理での細胞数および背景所見 (Table 3, Photo. 3)

溶血剤・分離剤処理での細胞数は、血液添加なしと比較して全静置時間で有意に低値であった。血液添加なしでの細胞数に対する割合は、すべての静置時間で5割台を維持した。背景所見について、静置1時間および3時間ではG赤のみが認められたが、静置6時間以降は残渣もみられた。静置24時間においてG赤および残渣は、前の静置時間よりも多く観察された。

## IV. 考 察

検討1 (Table 1) において、血液添加セルバの細胞数は、保存温度にかかわらず、いずれの静置時間においてもRedよりも有意に低値であった。特に、セルバ室温保存の細胞数は全静置時間を通して、Red室温保存での細胞数の約1割からそれ未満と非常に少数であった。一方、セルバ冷蔵保存細胞数/Red冷蔵保存細胞数は、静置24時間までは4割から5割台を維持した。このことは、セルバ冷蔵保存標本では全静置時間、G赤のみの塗抹であったが、セルバ室温保存では静置6時間以降、G赤とともに残渣を認め、残渣は時間経過とともに前の静置時間よりも多く塗抹された結果、非常に少数の細胞塗抹につながったと考えられた (Photo. 1)。

われわれは上述の結果について、細胞保存液のアルコール濃度の違い、そして保存温度の違いが反映されたものと考えた。アルコールの固定機序は、タンパク質の水分がア

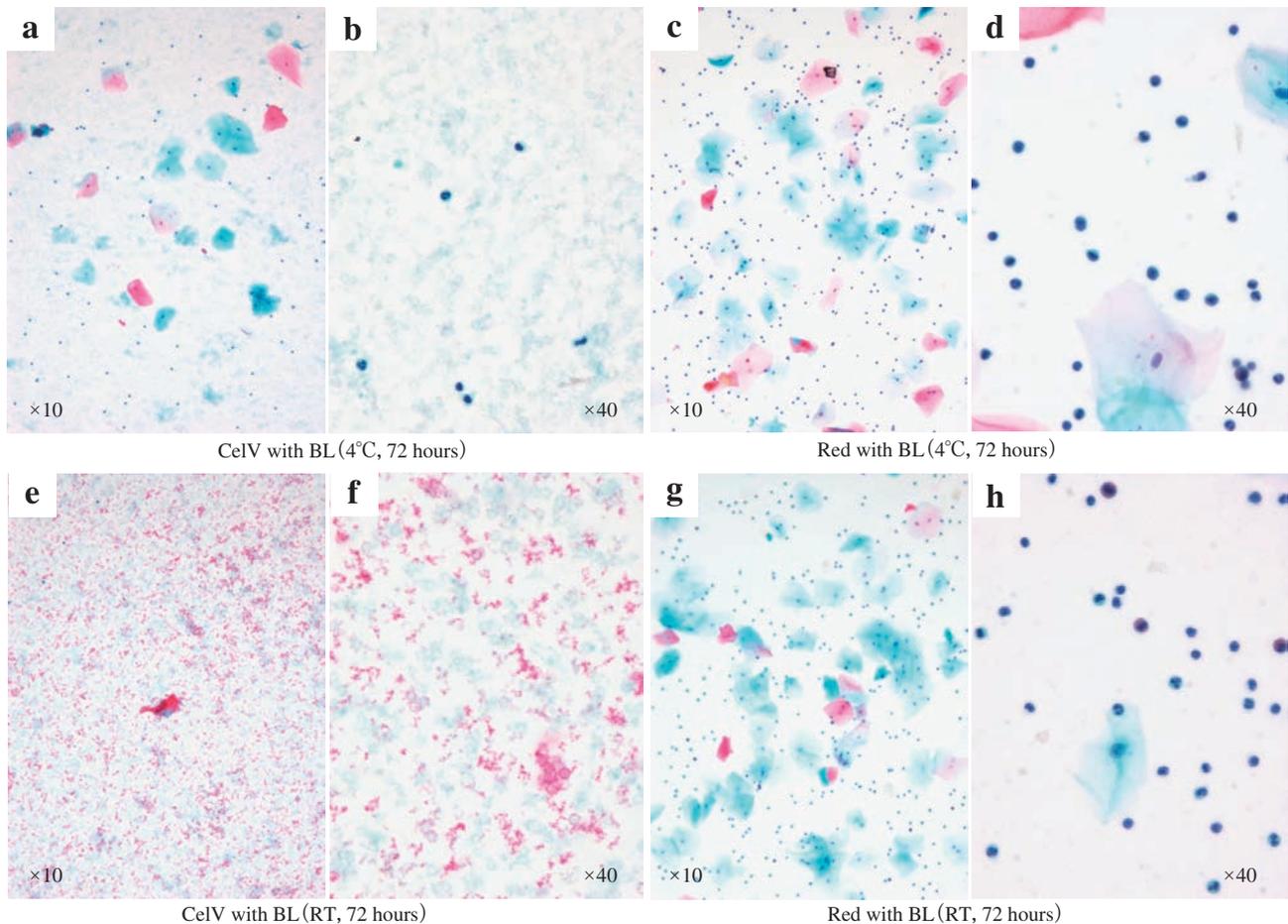
**Table 1** Changes in the cell number with time according to the cell preservative solution used and storage temperature

	1 hour	3 hours	6 hours	24 hours	48 hours	72 hours
RED-RT	52.0 ± 13.1 <sup>a,b</sup>	48.6 ± 7.7 <sup>a,b</sup>	44.2 ± 4.8 <sup>a,b</sup>	46.0 ± 8.9 <sup>a,b</sup>	47.8 ± 1.8 <sup>a,b</sup>	51.0 ± 10.9 <sup>a,b</sup>
CeIV-RT	5.4 ± 1.1 (10.4%)	5.4 ± 2.7 (11.1%)	2.8 ± 1.8 (6.3%)	2.4 ± 1.5 (5.2%)	1.6 ± 0.9 (3.3%)	0.6 ± 0.9 (1.2%)
RED-4°C	49.0 ± 8.5 <sup>a,b</sup>	45.0 ± 11.1 <sup>a,b</sup>	43.8 ± 2.9 <sup>a,b</sup>	51.0 ± 9.5 <sup>a,b</sup>	52.4 ± 8.0 <sup>a,b</sup>	52.8 ± 10.4 <sup>a,b</sup>
CeIV-4°C	21.2 ± 8.7 <sup>a</sup> [43.3%]	20.0 ± 4.9 <sup>a</sup> [44.4%]	23.8 ± 5.1 <sup>a</sup> [54.3%]	26.2 ± 5.9 <sup>a</sup> [51.4%]	19.6 ± 8.4 <sup>a</sup> [37.4%]	17.4 ± 7.6 <sup>a</sup> [33.0%]

a : Significant difference in comparison with CeIV-RT, b : Significant difference in comparison with CeIV-4°C, Steel-Dwass test ( $p < 0.05$ )

(%) : Cell number in CeIV-RT/RED-RT, [%] : Cell number in CeIV-4°C/RED-4°C

[RED : CytoRich™ Red ; CeIV : CeIVerse™ ; RT : Room temperature ; 4°C : Cold storage]

**Photo. 1** 72 hours after in investigation 1

At 4°C, the CN in CeIV with BL (a) was 33.0% of the CN in Red with BL (c), being significantly lower. At RT, the CN in CeIV (e) was 1.2% of that in Red (g), being markedly lower. The sample processed in Red had a clear background at both 4°C (d) and RT (h). On the other hand, the sample processed in CeIV at 4°C showed only ghost red blood cells (G-RBC) in the background (b), and that processed in CeIV at RT showed not only G-RBC, but also aggregation of blood components (Aggre-blood) (f) [Pap. staining, a, c, e, g : ×10, b, d, f, h : ×40].

ルコールに置換・除去(脱水)されると、分子内結合(疎水結合、水素結合ほか)をしていた官能基が分子間相互で親和してタンパク質が凝固することである<sup>11)</sup>。吉澤ら<sup>12)</sup>は、アルコールによるタンパク質の沈殿(凝集)作用において、アルコール濃度の増加につれて、タンパク質の構造

変化(変性状態)が起こった結果、親水性残基よりも疎水性残基の露出が多くなる。また、水溶液の誘電率が低下し、タンパク質の静電反発力が増大する。それらの相互作用の結果、タンパク質の溶解度が減少して、溶液中で分散していたタンパク質分子が多数集合し、沈殿(凝集)が起こる

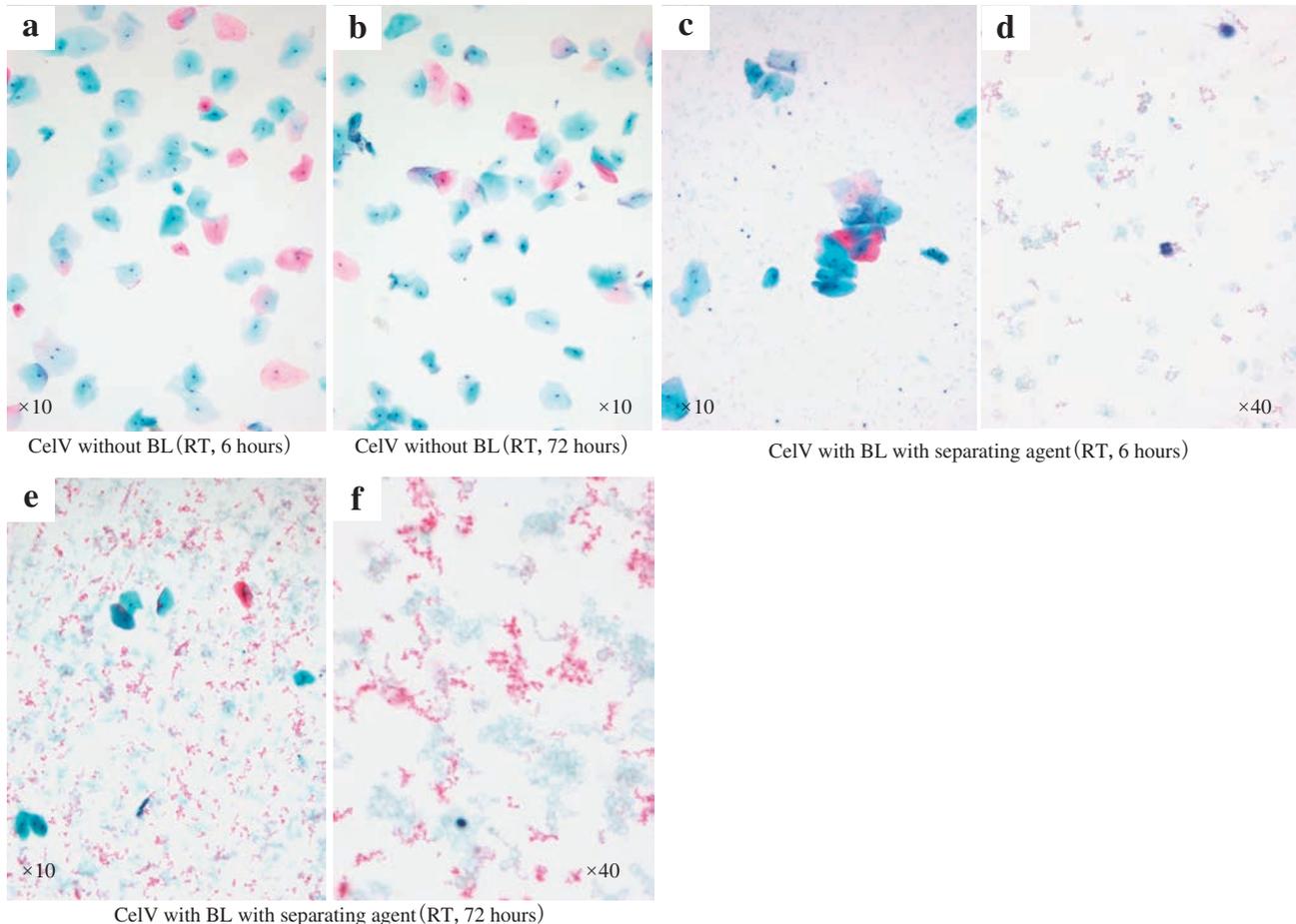
**Table 2** Cell number according to the use of separating agent for processing at RT

	1 hour	3 hours	6 hours	24 hours	48 hours	72 hours
CeIV without BL	42.2 ± 6.1 <sup>a</sup>	44.0 ± 6.2 <sup>a</sup>	41.8 ± 4.6 <sup>a</sup>	42.6 ± 3.1 <sup>a</sup>	45.0 ± 3.6 <sup>a</sup>	44.0 ± 5.8 <sup>a</sup>
CeIV with BL processed with separating agent	27.4 ± 4.2 (64.9%)	27.6 ± 3.4 (62.7%)	17.6 ± 3.5 (42.1%)	8.2 ± 2.2 (19.2%)	7.0 ± 2.8 (15.6%)	6.8 ± 3.2 (15.5%)

a : Significant difference in comparison with processing using separating agent, Steel-Dwass test ( $p < 0.05$ )

(%) : Cell number in CeIV with BL after processing with separating agent / Cell number in CeIV without BL

[CeIV : CeIVerse™ ; RT : Room temperature ; with BL : with bloody sample ; without BL : without bloody sample]

**Photo. 2** 6 hours and 72 hours after in investigation 2

After 6 hours at RT, the CN in CeIV with BL using separating agent (c) was 42.1% of the CN in CeIV without BL (a), being significantly lower. The CN in CeIV with BL with separating agent decreased sharply after 72 hours (e) to 15.5% of the CN in CeIV without BL (b). After 6 hours in CeIV with BL with separating agent, both G-RBC and Aggre-blood were recognized in the background (d), increasing further until 72 hours after (f) [Pap. staining, a, b, c, e : ×10, d, f : ×40].

と述べている。上述のことは、セルバのアルコール濃度は約40%であり、約33%のRed（イソプロパノール23.3%、メタノール10%）よりも高濃度であるため、セルバのほうがRedよりも血液成分の凝集が起りやすいことを示唆している。

また、保存温度の差による血液成分の凝集の違いについて、佐崎<sup>13)</sup>は、タンパク質の分子表面が疎水性の場合、そ

の疎水的部分は水分子が水素結合でつながった結晶状多面体の籠（クラスレート）の中に閉じ込められているため溶解状態であり、温度上昇により水の分子運動が活発になれば、クラスレート構造が破壊され、溶解度は減少すると述べている。このことは、アルコール作用によるタンパク質の構造変化で疎水性残基の露出が多くなる<sup>12)</sup>ことと合わせて考えた場合、室温保存よりも冷蔵保存のほうが、タンパ

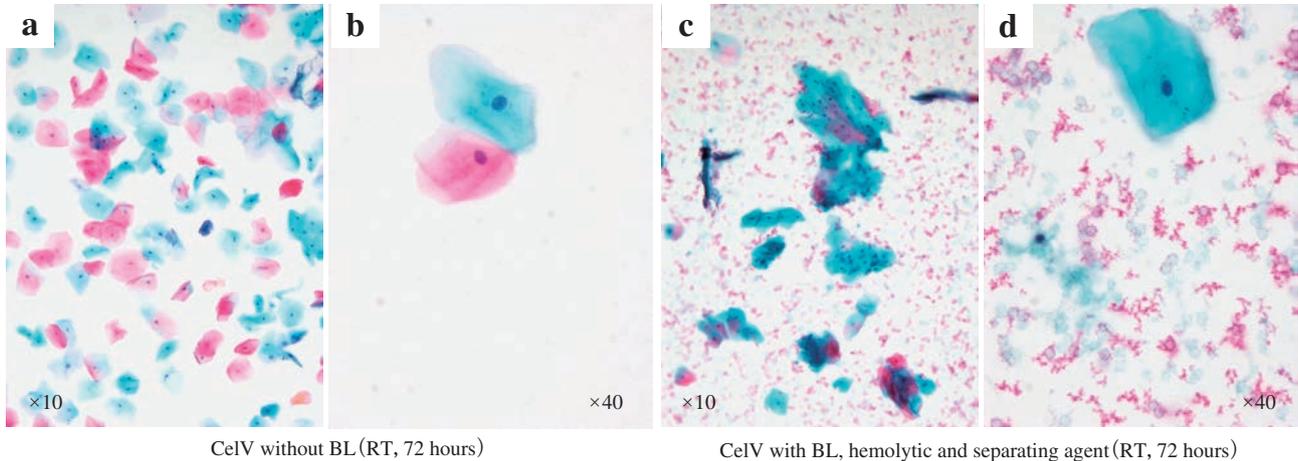
**Table 3** Cell number in samples with BL processed with hemolytic and separating agent at RT

	1 hour	3 hours	6 hours	24 hours	48 hours	72 hours
CelV without BL	86.0 ± 12.1 <sup>a</sup>	86.4 ± 11.1 <sup>a</sup>	85.6 ± 9.0 <sup>a</sup>	85.4 ± 4.7 <sup>a</sup>	85.4 ± 3.0 <sup>a</sup>	85.6 ± 4.0 <sup>a</sup>
CelV with BL processed with hemolytic and separating agent	49.0 ± 13.7 (57.0%)	48.8 ± 10.9 (56.5%)	47.3 ± 5.5 (55.3%)	45.1 ± 4.8 (52.8%)	44.2 ± 10.8 (51.2%)	44.8 ± 11.7 (52.3%)

a : Significant difference in comparison to processing hemolytic and separating agent, Steel-Dwss test ( $p < 0.05$ )

(%) : Cell number by processing of hemolytic and separating agent with BL/Cell number of without BL

[CelV : CelVerse™ ; RT : Room temperature ; with BL : with bloody sample ; without BL : without bloody sample]

**Photo. 3** 72 hours after in investigation 3

After 72 hours at RT, the CN in the CelV with BL that processed by hemolytic and separating agent (c) was significantly lower than that in CelV without BL (a). The background in the former (d) showed both G-RBC and Aggre-blood as compared to that in the latter (b), and yet the CN in the former accounted for about 50% of that in the latter [Pap. staining, a, c : ×10, b, d : ×40].

ク質（血液成分）の凝集が起こりづらくなることを示唆している。加藤<sup>14</sup>もタンパク質の安定性や溶解性に影響する要因の一つとして温度を挙げており、実験において、不溶性の沈殿を出さないためにも、一般的に目的とするタンパク質の安定性が明らかでない場合には、低温（氷冷あるいは4℃）で扱うのが普通であると述べている。しかしながら、Redは保存温度にかかわらず、静置72時間でも血液成分の凝集を認めず、背景が清明であった。その結果、Redの細胞数はほぼ一定値を保持した。この理由として、Redにはホルムアルデヒドが0.4%含まれており、そのホルムアルデヒドによるメチレン架橋が血液成分（タンパク質）に反応し、凝集を阻害することが著者らの先行研究<sup>7,8</sup>により明らかにされている。以上のことより、セルバでの血性検体における細胞塗抹は、室温保存よりも冷蔵保存が優位であることが明らかになった。

しかしながら、実際の業務において、婦人科外来は多忙であり、細胞保存液を冷蔵することは困難な場合の方が多いと思われる。そのため、細胞保存液の室温保存における血液成分の塗抹に対する影響を少しでも減弱するために、

分離剤を使用した密度勾配遠心処理を試みることにした。Sweeneyら<sup>15</sup>は、細胞が保存された Gyne バイアル (20 ml) に、血液を 50  $\mu$ l から段階的に添加し、分離剤処理での BD シュアパス標本作製したところ、1000  $\mu$ l の過剰な血液添加でも、細胞が十分量塗抹され、背景清明であったと報告した。著者らの先行研究<sup>16</sup>)でも、高度の血性検体での直接塗抹標本における細胞観察は困難であったが、分離剤処理での BD シュアパス標本ではそれらが除去され、十分量の観察対象細胞が均一に出現していた。

検討 2 (Table 2) において、血液添加セルバ一室温保存・分離剤処理による細胞数は、血液添加なしと比較して、全静置時間で有意に低値であった。血液添加なしに対する細胞数の割合は、静置 3 時間までは約 6 割の細胞数を保持したが、時間経過とともに減少、特に静置 24 時間以降では 1 割程度と顕著な減少を認めた。このことは、室温保存・分離剤処理標本において、静置 6 時間以降は G 赤とともに残渣を認め、残渣は時間経過とともに前の静置時間よりも多く標本に塗抹された結果、24 時間以降での細胞数の顕著な減少につながったと考えられた (Photo. 2)。以上のことよ

り、セルバでの血性検体における細胞塗抹は、室温保存の場合、3時間以内なら、分離剤処理も有用な方法であることが明らかになった。

検討1と2の結果より、血液添加セルバについて、室温保存での溶血剤および分離剤処理を試みた。LBC法の一つとしてThinPrep®法(ホロジックジャパン社, 東京)があるが、その細胞保存液であるPreservCyt®(Preserv)はアルコール成分(メタノール約50%)がセルバよりも高濃度である。血性検体において、細胞塗抹が不適正の場合、標本の再作製法として、アルコール成分が低濃度(メタノール約25%)のCytoLyt®(CyL)液に氷酢酸を添加したものを溶血剤として使用することを推奨している<sup>5)</sup>。その手順はPreserv中の細胞溶液を遠心後、得られた細胞沈渣に対し、氷酢酸添加CyL液を加え、混和・遠心後、得られた細胞沈渣を再度、Preservで固定し、標本を作製するというものである。しかしながら、それらは氷酢酸の影響で扁平上皮細胞や頸管円柱上皮細胞の形態に悪影響を与えることが報告されている<sup>17,18)</sup>。そのことより、われわれはCyL液と同程度のアルコール濃度であるGyne(約23%;エタノール21.7%,メタノール1.2%)に注目し、溶血剤としての使用を試みた。なお、細胞変性の可能性がある氷酢酸は添加しなかった。

検討3(Table 3)の結果、血液添加セルバ—室温保存・溶血剤・分離剤処理による細胞数は、血液添加なしと比較して、すべての静置時間で有意に低値であったものの、血液添加なしでの細胞数に対する割合で、全静置時間で5割台を維持した。背景において、静置6時間以降、G赤とともに残渣を認めたものの(Photo. 3)、検討2での血液添加セルバ—室温保存・分離剤処理と比較して塗抹細胞数が著しく改善したことより、Gyneは溶血剤として機能したと考えた。以上のことより、セルバでの血性検体における細胞塗抹は、室温保存条件下での溶血剤・分離剤処理がベターな方法であることが明らかになった。

## V. 結 語

本検討はLC-1000での多施設共同試験における子宮内膜LBC標本作製手順の作成のための予備検討であり、子宮内膜細胞を用いていない。検討に用いた扁平上皮細胞は個々に塗抹されるが、子宮内膜細胞は細胞集塊を形成する。そのため、扁平上皮1細胞と子宮内膜1細胞集塊ではその重さも含め、塗抹条件が異なる。したがって、最終的なプロトコル決定のためには、子宮内膜細胞を用いた室温保存条件下での溶血剤・分離剤処理での細胞塗抹を試みる必要がある。

著者らは開示すべき利益相反状態はありません。

## Abstract

**Objective** : We tried liquid-based cytology (LBC) processing of a bloody sample (BL) using CelVerse™ (CelV : alcoholic level-40.5%) as the cell preservative solution (Cell-Preserv).

**Study Design** : After the samples of intraoral squamous cells and blood were added to CelV, the samples were preserved at room temperature (RT) or in cold storage (4°C) for equivalent time intervals (longest-72 hours). Then, after hemolytic processing of the LBC specimen, the cell number (CN) and background findings were examined.

**Results** : (1) In the CelV with BL, the CN at the RT was significantly lower than that at the 4°C. (2) Based on result (1), density gradient processing with a separating agent at RT was attempted; the CN within 3 hours accounted for about 60% of the CN in CelV without BL, decreasing steadily thereafter with time. (3) Based on result (2), SurePath™ vial as Cell-Preserv was tried as the hemolytic agent, because the alcohol level of this agent was low (23%) in comparison to that of CelV. The CN after 72 hours accounted for about 50% of the CN in CelV without BL, with marked improvement of the CN in comparison with result (2).

**Conclusion** : Processing of using hemolytic and separating agent was the better method for BL in CelV.

## 文 献

- 1) 山崎龍王, 阿部滋樹, 森崎博実, 赤股直子, 黒須博之, 海老龍一郎・ほか. フローサイトメトリーを用いた細胞解析技術と子宮頸癌検査への応用. *Cytometry Research* 2018 ; 28 : 31-39.
- 2) Nakamura, M., Ueda, M., Iwata, T., Kiguchi, K., Mikami, Y., Kakuma, T., et al. A Clinical Trial to Verify the Efficiency of the LC-1000 Exfoliative Cell Analyzer as a New Method of Cervical Cancer Screening. *Acta Cytol* 2019 ; 63 : 391-400.
- 3) 則松良明. 無排卵性周期に伴う機能性出血の細胞像 —特にendometrial glandular and stromal breakdownの細胞像について—. *日臨細胞会誌* 2012 ; 51 : 93-104.
- 4) 則松良明, 坂本真吾, 大崎博之, 尾崎 聡, 横山俊朗, 清水恵子・ほか. 子宮体癌での液状化検体細胞診3方法における細胞像の比較. *医学検査* 2013 ; 62 : 383-390.
- 5) 則松良明, 香川昭博, 大崎博之, 坂東史郎. ThinPrep法®でのCytoLyt液®による溶血処理法の検討. *医学検査* 2013 ; 62 : 597-602.
- 6) 則松良明, 尾崎翔子, 喜田有紀, 山本真喜, 大崎博之, 坂東史郎. LBCにおけるThinPrep®法およびSurePath™法での細胞固定保存液の検討. *愛媛臨検技会誌* 2014 ; 33 : 39-46.
- 7) 川西なみ紀, 則松良明, 大崎博之, 坂東史郎, 升野博志, 田城孝雄. BD液状化検体細胞診用保存液における血液の影響に関する基礎的検討. *医学検査* 2015 ; 64 : 475-482.

- 8) 則松良明, 川西なみ紀, 大崎博之. BD 液状化検体細胞診用保存液におけるホルムアルデヒド濃度の差における凝集蛋白の比較. 愛媛臨検技会誌 2016 ; 35 : 103-107.
  - 9) 則松良明, 林 聖子, 高田真未, 中川健司, 中橋徳文. 子宮内膜細胞診における従来法と TACAS™法での細胞所見の比較検討. 医学検査 2017 ; 66 : 217-224.
  - 10) 香川昭博, 則松良明, 寺本典弘, 前田智治. 7種の臨床材料を使用した液状化検体細胞診3方法における細胞所見の比較. 医学検査 2017 ; 66 : 60-67.
  - 11) Pearse, A. G. E. The chemistry and practice of fixation. Histochemistry, Theoretical and Applied. 4th ed. Edinburgh : Churchill Livingstone ; 1985. 122-123.
  - 12) 吉澤俊祐, 白木賢太郎. タンパク質の凝集剤としての塩・有機溶媒・高分子. 生物工学会誌 2015 ; 93 : 260-263.
  - 13) 佐崎 元. 溶液からの結晶成長 構造と形のデザイン. 佐藤清隆, 編. シリーズ: 結晶成長のダイナミクス 6 巻. 東京: 共立出版; 2002. 141-155.
  - 14) 加藤広介. 2 タンパク質の性質は? 1 章 タンパク質の性質を知る. 永田恭介, 奥脇 暢, 編. 目的別で選べるタンパク質発現プロトコール 発現系の選択から精製までの原理と操作. 東京: 羊土社; 2010. 16-25.
  - 15) Sweeney, B, J., Haq, Z., Happel, J. F., Weinstein, B., Schneider, D. Comparison of the effectiveness of two liquid-based Papanicolaou systems in the handling of adverse limiting factors, such as excessive blood. Cancer 2006 ; 108 : 27-31.
  - 16) Norimatsu, Y., Kouda, H., Kobayashi, T. K., Moriya, T., Yanoh, K., Tsukayama, C., et al. Utility of thin-layer preparations in the endometrial cytology ; evaluation of benign endometrial lesions. Ann Diagn Pathol 2008 ; 12 : 103-111.
  - 17) Dalton, P., MacDonald, S., Boerner, S. Acetic acid recovery of gynecologic liquid-based samples of apparent low squamous cellularity. Acta Cytol 2006 ; 50 : 136-140.
  - 18) Cohen, D., Shorie, J., Biscotti, C. Glacial acetic acid treatment and atypical endocervical glandular cells : An analysis of 92 cases. Am J Clin Pathol 2010 ; 133 : 799-801.
-

## 症 例

## 気管支内腔に発生し術前細胞診断に苦慮した 肺低悪性度粘表皮癌の1例

前本 直子<sup>1)</sup> 許田 典男<sup>1)</sup> 牧野 隆浩<sup>1)</sup> 岡本 淳一<sup>2)</sup>  
窪倉 浩俊<sup>2)</sup> 大橋 隆治<sup>1)</sup> 内藤 善哉<sup>3)</sup>

日本医科大学武蔵小杉病院病理診断科<sup>1)</sup>, 同 呼吸器外科<sup>2)</sup>, 日本医科大学統御機構診断病理学<sup>3)</sup>

**背景:** 肺粘表皮癌はまれな腫瘍であり, 粘膜下腫瘍様の形態をとることから気管支擦過細胞診での組織型推定がしばしば困難となる. 気管支擦過および洗浄検体にて術前細胞診断に苦慮した肺低悪性度粘表皮癌の1例を経験したので報告する.

**症例:** 40歳代, 女性. 検診にて胸部異常陰影を指摘され当院を受診し, 胸部CTにて左下葉気管支内に境界明瞭な結節を認めた. 気管支擦過・洗浄細胞診では, 核がほぼ中心性で異型の弱い多形細胞と, ごくわずかではあるが核偏在性で細胞質に多量の粘液を含んだ泡沫状の細胞を認めた. しかしいずれも異型に乏しく, 細胞量も少なかったため, 組織型推定は困難であった. 最終的に生検および手術検体で肺低悪性度粘表皮癌と診断された.

**結論:** 下気道発生の粘表皮癌の細胞診断においては気管支擦過細胞診に比べ, 穿刺吸引細胞診での検体採取が有用とされているが, 異型の弱さや採取されてきた細胞の各成分の割合, 細胞量によっては診断が困難となることがある. 細胞の採取方法にとらわれず, 特徴的な細胞像を理解し, 臨床像, 画像所見や腫瘍の発生部位から粘表皮癌の可能性を念頭に置くことが肝要である.

**Key words :** Mucoepidermoid carcinoma, Salivary gland-type tumor, Bronchial brushing cytology, Case report

### I. はじめに

粘表皮癌は粘液産生細胞, 扁平上皮様細胞, 中間細胞が種々の割合で混在して増生する腫瘍である. 唾液腺領域では, 悪性腫瘍全体の30%と高頻度に認められるが<sup>1)</sup>, 下気道での発生は0.1~0.2%とまれである<sup>2~5)</sup>. 特に低悪性度のものは細胞異型が弱いことが多く, 良悪性も含め診断に苦慮することがある. また, 下気道発生の粘表皮癌は表層を非腫瘍性の気道粘膜で被覆されていることが多く, 粘膜下腫瘍様の形態をとり術前診断がしばしば困難となる<sup>6,7)</sup>. 臨床的に良性腫瘍が疑われ, 気管支擦過および洗浄検体にて術前細胞診断に苦慮した肺低悪性度粘表皮癌の1例を経験したので報告する.

A case of mucoepidermoid carcinoma of the lung arising in a bronchial lumen that was difficult to diagnose by preoperative cytological examination

Naoko MAEMOTO<sup>1)</sup>, C. T., I. A. C., Norio MOTODA<sup>1)</sup>, M. D., Takahiro MAKINO<sup>1)</sup>, C. T., I. A. C., Junichi OKAMOTO<sup>2)</sup>, M. D., Hiroto KUBOKURA<sup>2)</sup>, M. D., Ryuji OHASHI<sup>1)</sup>, M. D., Zenya NAITO<sup>3)</sup>, M. D.

<sup>1)</sup>Department of Diagnostic Pathology, <sup>2)</sup>Department of Thoracic Surgery, Nippon Medical School Musashi-Kosugi Hospital

<sup>3)</sup>Department of Integrated Diagnostic Pathology, Nippon Medical School

論文別刷請求先 〒211-8533 川崎市中原区小杉町1の396 日本医科大学武蔵小杉病院病理診断科 許田典男

令和元年9月6日受付

令和元年9月25日受理

## II. 症 例

患 者：40歳代，女性。

主 訴：咳嗽，喀痰。

喫煙歴：なし。

現病歴：検診にて胸部異常陰影を指摘され，前医より当院呼吸器内科へ紹介受診となった。胸部 CT 検査において左下葉気管支 B9+B10 内に 17 mm 大の低吸収域を有する境界明瞭な結節 (Photo. 1) が認められた。石灰化は認めないものの，内部に脂肪濃度を有する成分が認められ，非典型ではあったが過誤腫が疑われた。気管支擦過・洗浄細胞診および経気管支肺生検が行われ，その後，左肺下葉切除術が施行された。

## III. 細胞学的所見

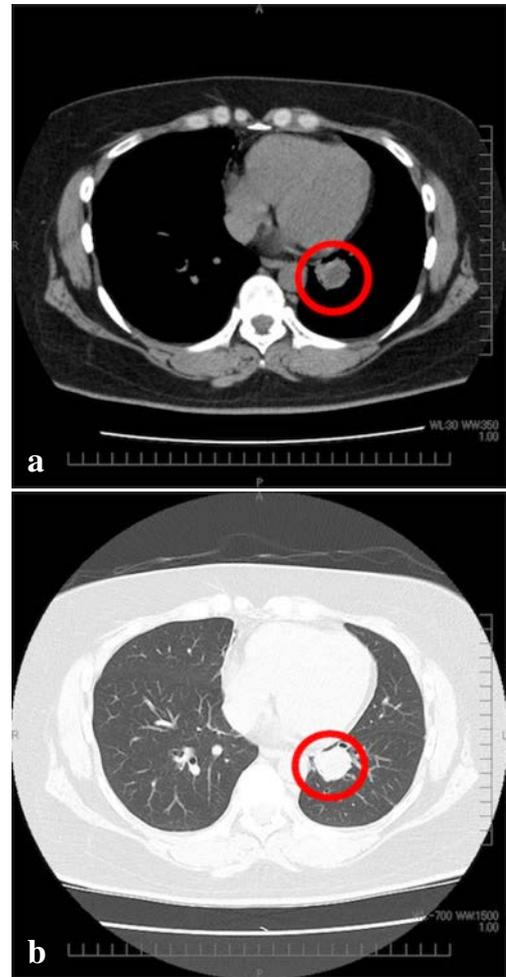
気管支擦過および洗浄細胞診所見：血性背景に，腫瘍細胞が平面的集塊，不規則配列・重積集塊，孤立散在性に出現していた (Photo. 2a-c)。軽度の大小不同を示す円形～類円形で中心性の核をもち，クロマチンは細顆粒状で明瞭な核小体がみられた。また，細胞質は豊富かつおおむね好酸性でやや厚みがあり，多稜形の形態を示す細胞であった (Photo. 2d)。これらに加え，細胞質に多量の粘液を含む泡沫状の細胞もごくわずかではあるが混在してみられた (Photo. 2e, f)。いずれの細胞も核異型は軽度で，壊死や核分裂像はみられなかった。変性的ではあるが，一部にオレンジ G 好性を示す核濃縮状の細胞 (Photo. 2g) も観察された。非角化型扁平上皮癌や腺扁平上皮癌が鑑別に挙がったものの組織型推定にいたらず，細胞異型も弱いことから悪性の疑いとして報告した。

## IV. 病理学的所見

肉眼所見：気管支内腔を埋めるような 21 mm 大の腫瘍形成を認め，白色の充実部とともに血腫を入れた嚢胞部がみられた (Photo. 3)。

組織所見：手術材料では，嚢胞形成や圧排され狭小化した気管支と気管支内を充満するような腫瘍の増生がみられ，気管支粘膜は一部びらんを伴い腫瘍が露出していた (Photo. 4a, b)。

生検材料・手術材料のいずれにおいても，好酸性の豊富な細胞質をもち，核小体が明瞭で類円形核を示した扁平上皮様細胞が胞巣状に増生しており，これらに混在する形で粘液産生性の異型細胞が小型腺管を形成していた。また，



**Photo. 1** Chest CT showing a well-defined nodule measuring 17 mm in diameter, with a central low density, in the left lower bronchus (B9+B10) (a : mediastinal window setting, b : lung window setting).

細胞質が乏しく中間的な性質のものが混在して出現していた。いずれの成分も核異型は軽度で N/C 比は低かった。また，核分裂像は乏しく多形性もみられなかった (Photo. 4c)。

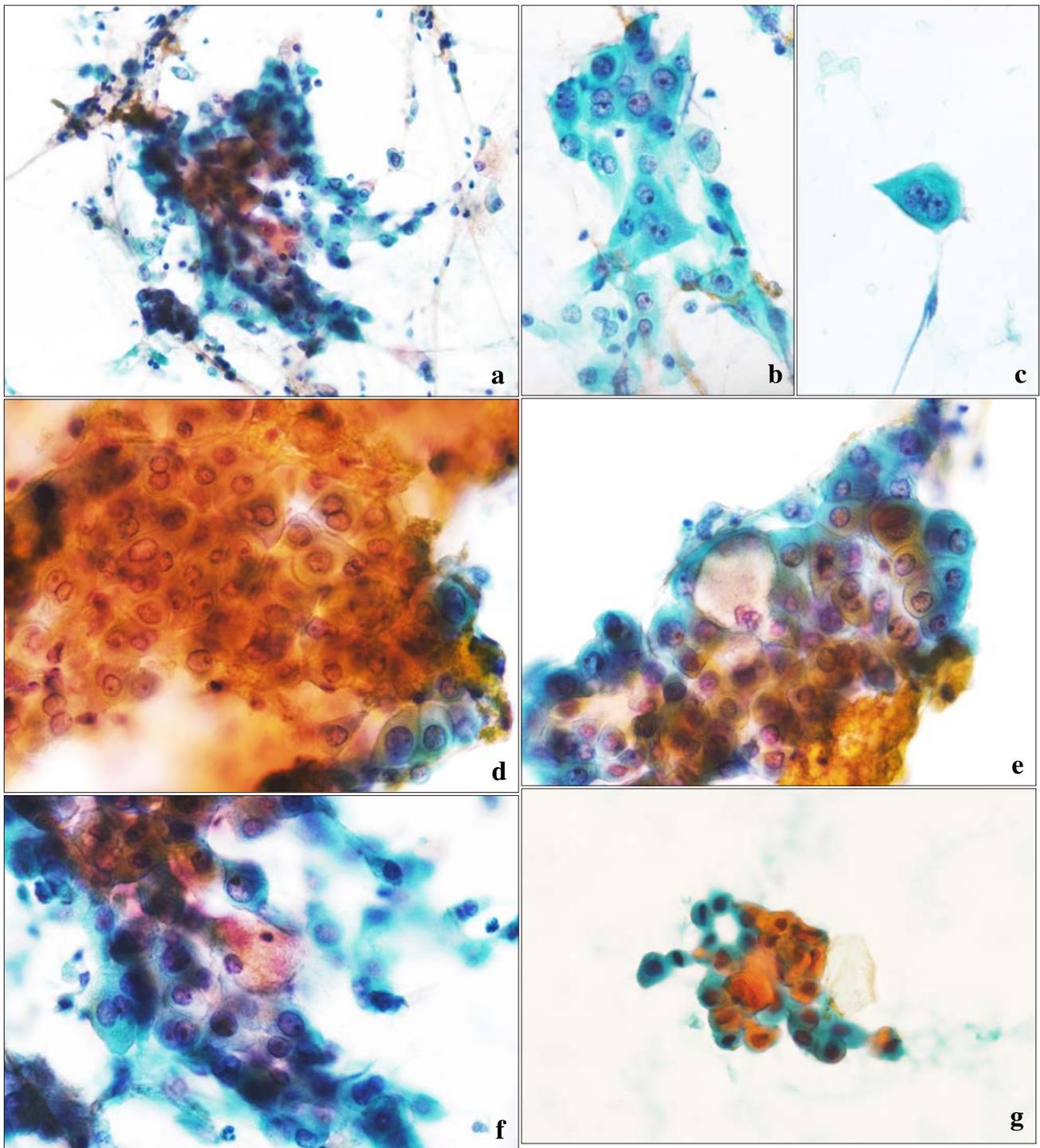
特殊染色所見：Alcian Blue-PAS 染色や Mucicarmin 染色が陽性を示し粘液が証明された (Photo. 5a)。

免疫組織化学所見：CK5/6, p40, p63, CK7 に陽性を示し，TTF-1, NapsinA, CK20,  $\alpha$ -SMA は陰性であった (Photo. 5b-d)。

これらの所見より，低悪性度の粘表皮癌と診断された。

## V. 考 察

下気道発生粘表皮癌 mucoepidermoid carcinoma は，1952 年に Smetana らにより気管支腺由来の bronchial ade-



**Photo. 2** Bronchial brushing and washing cytology.

Atypical cells seen in irregular stratified clusters (a), sheet-like clusters (b), or scattered as individual cells (c). The cells showed centrally placed round nuclei with prominent nucleoli and abundant eosinophilic cytoplasm (d). A few vacuolated cells with mucin (e, f) and pyknotic cells well stained with orange-G (g) were also observed (Pap. staining, a :  $\times 20$ , b-g :  $\times 40$ ).

nomaとしてはじめて報告された<sup>8)</sup>。現行のWHO分類および肺癌取扱い規約では、唾液腺型腫瘍 salivary gland-type tumor に分類され、悪性腫瘍の一つとされている<sup>2,3)</sup>。発生頻度は全肺癌に占める割合の0.1~0.2%とまれな腫瘍であ

り<sup>5)</sup>、30~40歳代に好発し、性差はない。また、喫煙との関連はないとされる<sup>9)</sup>。粘表皮癌の大部分は主気管支から区域気管支の間の中枢気管支に発生し、気管支内腔にポリープ状に増殖するため気管支閉塞が生じやすく、咳嗽、

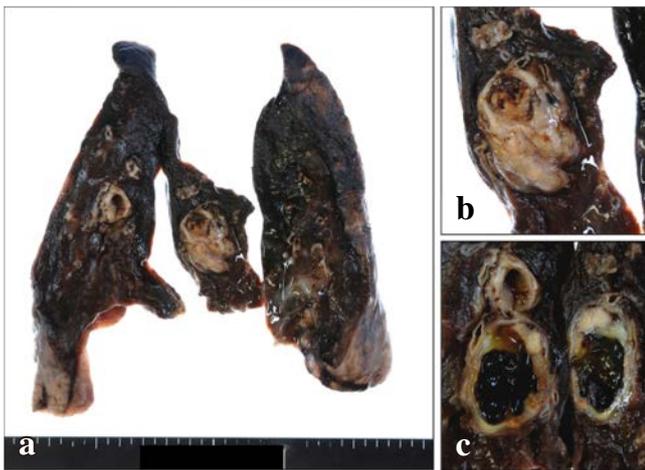
血痰，喘鳴，呼吸困難といった症状が出やすいが，ときに無症状の場合もある。

粘表皮癌は低悪性度と高悪性度の2段階に分類されているが，低悪性度なものが多くを占める。低悪性度のリンパ節転移は5%未満と低く，予後は良好であるが，高悪性度では浸潤や転移をきたし，非小細胞癌と同等の予後とされる。低悪性度粘表皮癌は肉眼的に境界明瞭な柔らかい腫瘍であり，断面は粘液様断面や嚢胞形成を呈することが多

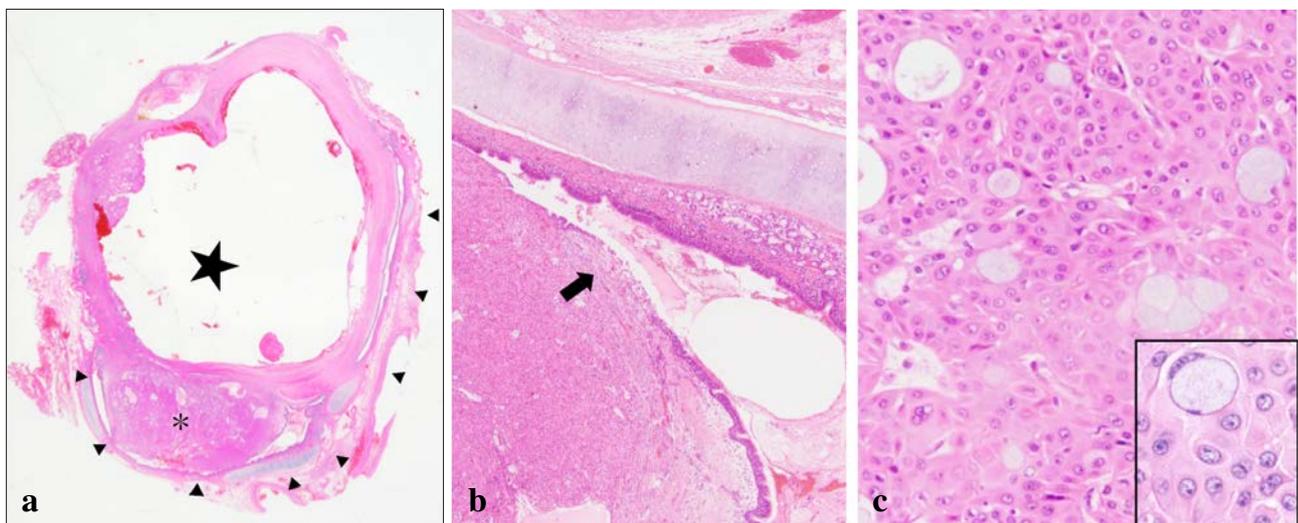
い<sup>9)</sup>。唾液腺の粘表皮癌同様 *CRTC1-MAML2* 融合遺伝子が高頻度にみられるとされる<sup>2)</sup>。

粘表皮癌の特徴的所見は，粘液産生細胞，扁平上皮様細胞および中間細胞が混在してみられることである<sup>2-4)</sup>。粘液産生細胞は偏在核と泡沫状の細胞質を有する。扁平上皮様細胞は中心性核とライトグリーン好性の多角形で厚みのある細胞質を有する。中間細胞は細胞境界が明瞭で扁平上皮様細胞よりも小型で，類円形を呈する。低悪性度粘表皮癌では扁平上皮様細胞成分が少なく，粘液産生細胞あるいは中間細胞が主体を占め，腫瘍を構成する各細胞成分は異型に乏しく，核分裂像を欠いているのが特徴である<sup>1)</sup>。本例では腫瘍細胞の一部に不規則配列・重積性を伴った細胞集塊が出現していた。腫瘍細胞はやや厚みのある細胞質をもった核中心性の細胞が主体をなし，少量ではあるがオレンジG好性を示す核濃縮状の細胞がみられた。画像所見でも中枢領域に腫瘍が発生していたこともあり，非角化型扁平上皮癌を鑑別に考えたが，本例は非喫煙者の中年女性と典型的な扁平上皮癌のプロフィールからかけ離れていたことや，扁平上皮癌としては細胞異型が弱いことから組織型推定にいたらず，悪性の疑いとして推定組織型は非小細胞癌にとどめた。全体に採取された細胞量が少量で粘表皮癌に特徴的な3種類の細胞として認識できず，特に粘液産生細胞の出現はごく少数であったため，非腫瘍性の気管支の杯細胞との鑑別が困難であったことが粘表皮癌の診断にいたらなかった一因と考えられた。

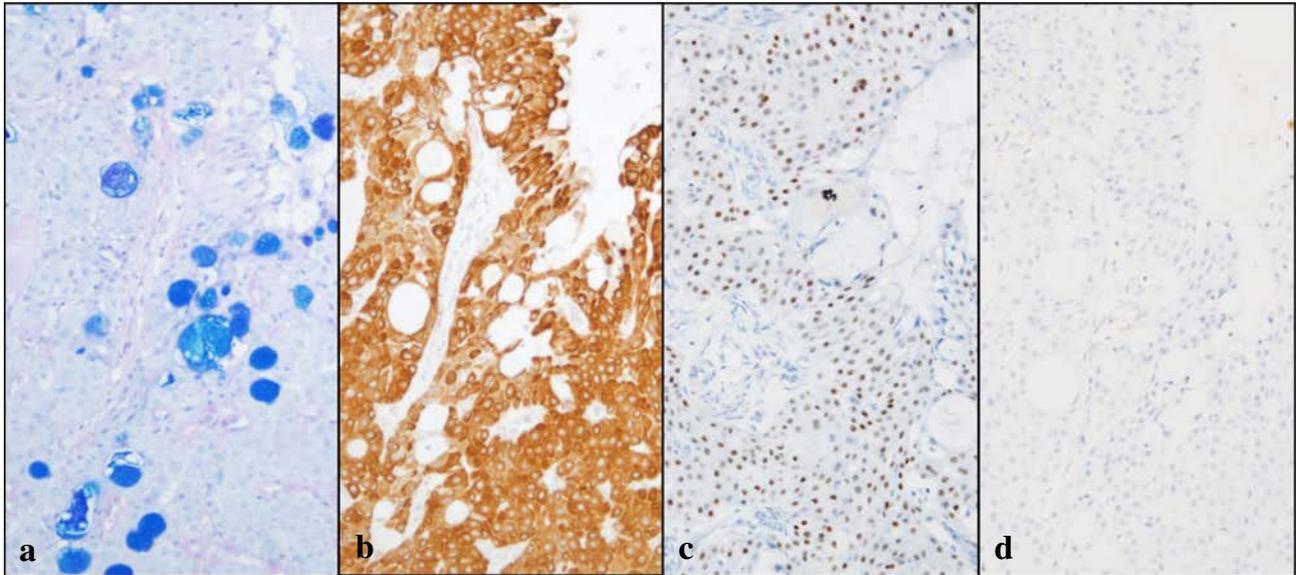
低悪性度粘表皮癌との鑑別診断は多岐にわたり，採取さ



**Photo. 3** Macroscopic findings of the resected specimen. The tumor appeared to have occupied a bronchial lumen (a). The cut section showed a whitish solid component (b) and a cystic component with a hematoma (c).



**Photo. 4** Histological findings. The tumor with the solid (asterisk) and cystic component (star) was found to compress the bronchus (arrowheads) (a), focally bulging into the bronchial lumen, with erosion (arrow) (b). The tumor cells showed eosinophilic cytoplasm and round to oval nuclei with prominent nucleoli (c). A mucin-rich cell was observed (inset) (HE staining, a : loupe image, b :  $\times 4$ , c :  $\times 10$ , inset :  $\times 40$ ).



**Photo. 5** Special staining and immunohistochemical analysis.

The tumor cells were partly positive for alcian blue staining (a). The majority of the tumor cells were positive for CK5/6 (b) and p63 (c), and negative for TTF-1 (d) (a-d :  $\times 10$ ).

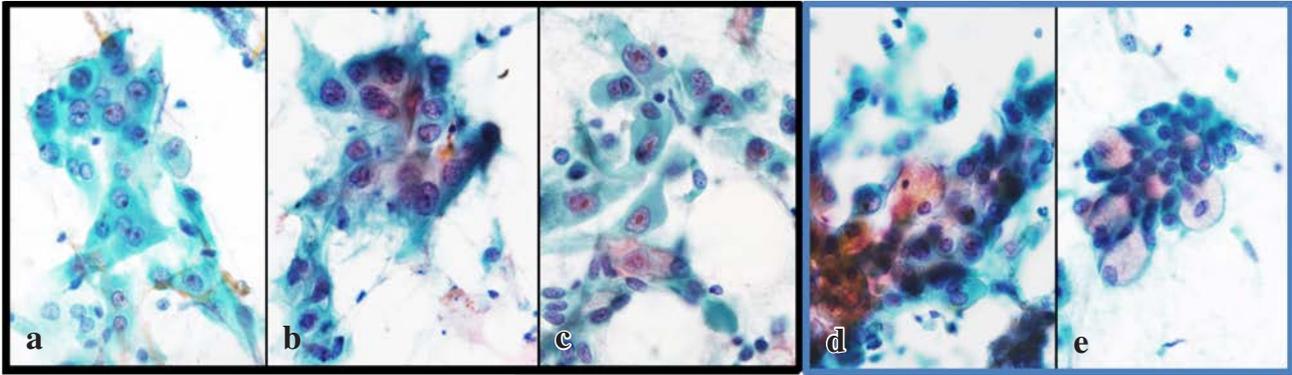
れてきた腫瘍の各成分の割合に伴い変わってくると考えられる。扁平上皮様細胞と粘液産生細胞が主体の場合は腺扁平上皮癌との鑑別 (Photo. 6a, b), 扁平上皮様細胞あるいは中間細胞が多くみられた場合は非角化型扁平上皮癌との鑑別, 粘液産生細胞が多くみられた場合には粘液産生性腺癌との鑑別を要する。

これらは、腫瘍細胞が十分量採取されていれば、一般的には低異型度粘表皮癌より異型が強く、核分裂像や周囲に壊死物質を見出せば比較的鑑別は容易であると考えられるが、高悪性度粘表皮癌との鑑別は容易ではない。一方、異型に乏しい低悪性度粘表皮癌では、正常気管支混合腺 (Photo. 6d, e) や反応性の良性異型細胞との鑑別 (Photo. 6a, c) が問題になることがある<sup>7)</sup>。先にも述べたように、本例は粘液産生細胞が非常に少なく、これを腫瘍細胞と認識できなかった。また、部分的にみると反応性の良性異型細胞との鑑別に悩むような細胞が出現していた。

低悪性度粘表皮癌は病変の表層を非腫瘍性の気道粘膜で被覆されていることが多く粘膜下腫瘍様の形態をとることから、通常は喀痰や直接擦過法では出現率が低く、穿刺吸引細胞診での検体採取が有用とされている。Saglietti らの review によると、過去に下気道発生の粘表皮癌と診断された23例のうち、擦過細胞診・洗浄細胞診で悪性と診断されたものは10例 (低異型度4例, 高異型度5例, 不明1例) のうち4例のみで、うち3例は高異型度粘表皮癌であり、低異型度粘表皮癌の1例も組織型までは推定できなかった<sup>10)</sup>。一方、穿刺吸引細胞診で悪性と診断されたものは18

例中12例で、そのうち7例では粘表皮癌の推定がなされており、肺粘表皮癌の診断においては穿刺吸引細胞診の有用性を指摘している。本例では生検の後に擦過・洗浄細胞診が施行されており、生検の結果腫瘍が露出しびらんを形成したことが擦過・洗浄細胞診で腫瘍細胞が採取された一因の可能性はある。

臨床的には気管支内の境界明瞭な結節性病変として本例のような粘表皮癌や腺様嚢胞癌, 上皮筋上皮癌といった唾液腺型腫瘍のほか、過誤腫やカルチノイドなどが挙げられ、それらとの鑑別に苦慮した報告もみられる<sup>11,12)</sup>。腺様嚢胞癌の細胞像としては、小型で類円形の核をもつ腫瘍細胞が粘液様物質 (粘液球・硝子球) を取り囲むように立体的な集塊を形成して出現する像が特徴的とされ、診断価値が高い。上皮筋上皮癌の細胞像は、淡明あるいは裸核状の筋上皮細胞と N/C 比の高い導管上皮細胞の二層性を示しながら管状あるいは乳頭状に出現するとされる。しかし上皮筋上皮癌でも硝子球の出現がみられることがあり、これら二者の間での鑑別には苦慮することがあるが、腺様嚢胞癌, 上皮筋上皮癌とも粘表皮癌で出現する3種類の細胞は認められないことから、これらとの鑑別は比較的容易と考えられる<sup>13)</sup>。過誤腫は軟骨細胞や粘液腫様の軟骨基質の出現が特徴的であり、細胞が十分採取されていれば鑑別は容易である。カルチノイドは類円形の核で salt and pepper 状のクロマチンを有し、顆粒状の細胞質をもつ細胞が平面的に出現するとされ、こちらも細胞学的な鑑別は比較的容易と考えられる。



**Photo. 6** Differential diagnosis of cytology.

The squamous component of our MEC case (a : same as Photo. 2b) resembled adenosquamous carcinoma (b) and reactive atypical alveolar cells (c). The intermediate and mucin-producing cell components of our MEC case (d) resembled normal bronchial gland cells (e) (Pap. staining,  $\times 40$ ).

## VI. 結 語

気管支擦過および洗浄検体にて術前細胞診断に苦慮した肺低悪性度粘表皮癌の1例を経験した。採取された細胞量の少なさに加え異型の弱さや細胞形態の多彩性、経験不足などから診断に苦慮した。しかし、振り返ってみると臨床像や画像所見は比較的典型的なものであったと考えられ、本例のように気管内腔に突出した腫瘍では、粘表皮癌を含めた唾液腺型腫瘍の可能性を念頭において丁寧に鏡検することで、組織型の推定までいたること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60回日本臨床細胞学会総会春期大会（2019年6月、東京）で発表した。

## Abstract

**Background** : Mucoepidermoid carcinoma (MEC) of the lung is a rare pulmonary neoplasm and sometimes, when it manifests as a sub-mucosal endobronchial tumor, preoperative cytological diagnosis could be difficult. Herein, we report a case of MEC arising from the lung that was difficult to diagnose by bronchial brushing and washing cytology.

**Case** : A 40-year-old woman visited our hospital with an abnormal opacity on the chest X-ray, that had been detected during a medical checkup. Chest CT revealed a well-defined nodule in the left lower bronchus. Bronchial brushing and washing cytology showed polygonal cells with centrally placed round nuclei, along with tiny foamy cells with cytoplasmic mucin and eccentrically placed nuclei, but no definitive diagnosis of malignancy could be made because of the mild atypia and

low cellularity. Eventually, the tumor was diagnosed as a low-grade MEC of the lung by transbronchial biopsy and histopathological examination of the resected specimen.

**Conclusion** : Cytological diagnosis of low-grade MEC of the lung is sometimes difficult, particularly by bronchial brushing and washing cytology alone. However, the unique cytological characteristics taken into consideration with the clinical and radiological findings may allow a correct diagnosis of low-grade MEC to be made preoperatively.

## 文 献

- 1) 森永正二郎, 高田 隆, 長尾俊孝, 編. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部腫瘍 I. 東京: 文光堂; 2015. 23-31.
- 2) Ishikawa, Y., Alvarez-Fernandez, E., Aubry, M. C., Dacic, S., Nicholson, A. G. Salivary gland-type tumours, Mucoepidermoid carcinoma. In : Travis, W. D., Brambilla, E., Burke A. P., Marx, A., Nicholson, A. G., eds. WHO Classification of Tumours of Lung, Pleura, Thymus and Heart. 4th edition. Lyon : IARC Press ; 2015. 99-100.
- 3) 日本肺癌学会, 編. 肺癌取扱い規約, 改訂第8版. 東京: 金原出版; 2017.
- 4) 前島亜希子. 肺の唾液腺型腫瘍. 病理と臨2010 ; 28 : 170-173.
- 5) Molina, J. R., Aubry, M. C., Lewis, J. E., Wampfler, J. A., Williams, B. A., Midthun, D. E., et al. Primary salivary gland-type lung cancer : spectrum of clinical presentation, histopathologic and prognostic factors. Cancer 2007 ; 110 : 2253-2259.
- 6) Segletes, L. A., Steffee, C. H., Geisinger, K. R. Cytology of primary pulmonary mucoepidermoid and adenoid cystic carcinoma. A report of case. Acta Cytologica 1999 ; 43 : 1091-1097.
- 7) 公益社団法人日本臨床細胞学会, 編. 細胞診ガイドライン4 呼吸器・胸腺・体腔液・リンパ節. 東京: 金原出版; 2015. 50-51.
- 8) Smetana, H. F., Iverson, L., Swann, L. L. Bronchogenic carcinoma : An analysis of 100 autopsy cases. The Military Surgeon

- 1952 ; 111 : 335-351.
- 9) 深山正久, 野口雅之, 松野吉弘, 編. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 肺癌, 第 2 版. 東京: 文光堂; 2014. 133-136.
- 10) Saglietti, C., Volante, M., La Rosa, S., Letovanec, I., Pusztasari, M., Gatti, G., et al. Cytology of primary salivary gland-type tumors of the lower respiratory tract : report of 15 cases and review of the literature. *Frontiers in Medicine* : 2017 ; doi : 10.3389/fmed.2017.00043.
- 11) 赤羽智子, 国村利明, 九島巳樹, 大西 司, 永井智子, 荒川明子・ほか. 石灰化を認めた肺粘表皮癌の 1 例. *日臨細胞会誌* 2001 ; 40 : 476-481.
- 12) 榊谷大輝, 中野 淳, 後藤正司, 中島 尊, 岡本 卓, 劉 大革・ほか. 肺過誤腫と鑑別を要した末梢発生の粘表皮癌の 1 例. *日呼外会誌* 2004 ; 18 : 83-86.
- 13) 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. 東京: 金原出版; 2015. 101-104.
-

## 症 例

子宮頸部に扁平上皮病変と腺系病変が共存した  
子宮頸部上皮性腫瘍の3例

坂元 崇洋<sup>1)</sup> 加藤 雅史<sup>1)</sup> 加藤 顕人<sup>1)</sup> 吉永 洋輔<sup>1)</sup>  
 猛尾 弘照<sup>2)</sup> 高野 政志<sup>3)</sup>

自衛隊中央病院産婦人科<sup>1)</sup>, 同 病理診断科<sup>2)</sup>, 防衛医科大学校病院産婦人科<sup>3)</sup>

**背景**：子宮頸部腺癌は子宮頸癌の約20%を占めるとされるが、子宮頸管内および深部子宮頸管腺に病巣が点在するため、細胞診での偽陰性が問題となる。今回われわれは子宮頸部に扁平上皮病変と腺系病変が共存した3例を経験したので文献考察を加えて報告する。

**症例**：症例1. 38歳, 1妊1経. 妊娠時の陰部細胞診がHSILであり妊娠中は保存的に経過観察し, 産後の細胞診再検でもHSILが持続したため, コルポスコピー下生検を実施したところCIN3と診断. 円錐切除術後の組織診はAISとCIN3との共存であった. 症例2. 51歳, 2妊2経. 過多月経で受診時の細胞診でAISの判定. 円錐切除術後の組織診はAISとCIN1との共存であった. 症例3. 43歳, 2妊2経. 検診HSILで紹介受診. 当院で再検した細胞診ではASC-HとAGC-NOSの判定. コルポスコピー下生検の結果はCIN3の診断. 円錐切除術での組織診断はCIN3とadenocarcinoma IA2期との共存であった.

**結論**：子宮頸部腺系病変は円錐切除術後に初めて診断されることも多く, 術前に診断することは困難である. 細胞診で腺系病変が存在しなくてもほかの検査で腺系病変を疑う場合には, 腺系病変のみならず扁平上皮病変と腺系病変との共存も念頭におき精査し, HPV検査も腺系病変の存在を疑う一助となる可能性がある.

**Key words** : Cervical intraepithelial neoplasia, Adenocarcinoma *in situ*, Coexisting of squamous and glandular abnormalities, Cytology, Case report

## I. はじめに

Three cases of coexisting glandular and squamous lesions of the uterine cervix

Takahiro SAKAMOTO<sup>1)</sup>, M. D., Masafumi KATO<sup>1)</sup>, M. D., Kento KATO<sup>1)</sup>, M. D., Yousuke YOSHINAGA<sup>1)</sup>, M. D., Hiroaki TAKEO<sup>2)</sup>, M. D., Masashi TAKANO<sup>3)</sup>, M. D.

<sup>1)</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, <sup>2)</sup>Department of Diagnostic Pathology, Self Defense Forces Central Hospital

<sup>3)</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, National Defense Medical College Hospital

論文別刷請求先 〒359-8513 埼玉県所沢市並木3の2 防衛医科大学校病院産婦人科 坂元崇洋

令和元年9月6日受付

令和元年9月29日受理

性交渉開始年齢の若年化や晩婚・晩産化, 子宮がん検診の受検率の低迷および子宮頸癌ワクチン接種の差し控えなどを背景として, 20~30歳代の子宮頸癌は近年増加傾向にある. 子宮頸部腺癌は子宮頸癌の約20%を占めるとされるが, 子宮頸管内および深部子宮頸管腺に病巣が点在するため, 細胞診での偽陰性が問題となる. また一般に子宮頸部腺系病変の24~75%に扁平上皮病変が共存していることが知られている<sup>1)</sup>.

今回われわれは子宮頸部に扁平上皮病変と腺系病変とが共存した3例を経験したので文献考察を加えて報告する.

## II. 症 例

### 症例 1

患 者：38歳, 1妊1経.

既往歴：特記事項なし.

現病歴：第1子妊娠時の膣部細胞診が high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) であり, コルポスコピー下生検の結果は cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade 2であったため, 妊娠中は保存的に経過観察とした. 産後の細胞診再検でも HSIL が持続したため, 再度コルポスコピー下生検を実施し CIN3 と診断した. その際に, 腺系病変を疑う所見はなかった.

Human papillomavirus (HPV) 型別検査の結果は 45 型, 51 型, 52 型が陽性であった. その後子宮頸部円錐切除術を実施し, 組織診は adenocarcinoma *in situ* (AIS) と CIN3 が共存し, 両組織とも切除断端陽性であった. 患者は挙児希望があったが再発や病巣残存の可能性を説明したところ, 根治術を希望されたため, 単純子宮全摘術および両側卵管切除術を施行した. 摘出検体に残存病変は検出されなかった.

### 症例 2

患 者：51歳, 2妊2経.

既往歴：特記事項なし.

現病歴：過多月経で受診し, 細胞診で AIS との判定であった. その後, コルポスコピー検査は施行せず, 子宮頸部円錐切除術を施行した. 組織診は AIS と CIN1 が共存しており切除断端は陰性であった. 患者へ skip lesion の残存の可能性を説明したところ, 根治術を希望されたため, 単純子宮全摘術および両側付属器切除術を施行した. 摘出検体に AIS の残存はなく CIN1 が残存していた.

### 症例 3

患 者：43歳, 2妊2経.

既往歴：特記事項なし.

現病歴：検診 HSIL で紹介受診され, 当院での再検では atypical squamous cells, cannot exclude HSIL (ASC-H) と atypical glandular cells, not otherwise specified (AGC-NOS) との判定であった. コルポスコピー下生検の結果は CIN3 であった. その際に腺系病変を疑う所見はなかった.

子宮頸部円錐切除術を施行したところ, CIN3 と adenocarcinoma が共存していた. 子宮頸部腺癌の広がりには 5 mm, 深さ 4 mm であり, CT, MRI による画像所見と併せて臨床進行期は IA2 期であったため, 準広汎子宮全摘術, 両側卵管切除術および骨盤リンパ節郭清術を施行した. 最終病理診断は子宮頸部腺癌と CIN3 の共存であった. 円錐

切除術での検体と合わせて病変の広がりには 8 mm, 深さは 4 mm であり傍子宮結合織浸潤や脈管侵襲はなく, 膣断端への腫瘍細胞の露出もなく骨盤リンパ節転移は陰性であった. 以上より手術進行期は IB1 期であるも, 再発低リスク群と判断され, 後療法は施行せず経過観察中である.

## III. 細胞学的所見

症例 1：表層型上皮細胞の中に傍基底型細胞由来の N/C 比が増加しクロマチンが増量した核形不整を示す異型細胞が観察され HSIL の像と考えられた (Photo. 1a).

症例 2：一部不規則な重積を示す柵状, 刷毛状の小集塊がみられ, 核は類円形から楕円形でありクロマチンの増量を認めるも核縁不整や核小体は目立たず, AIS の像と考えられた (Photo. 1b).

症例 3：傍基底型細胞由来の N/C 比が増加しクロマチンが増量した核縁不整の異型細胞が出現し HSIL の像 (Photo. 1c) がみられるとともに, 高円柱状の異型細胞が花冠状に配列し核腫大および核の大小不同を認め, 核縁不整や核小体は目立たない AGC の像 (Photo. 1d) もみられた.

## IV. 組織学的所見

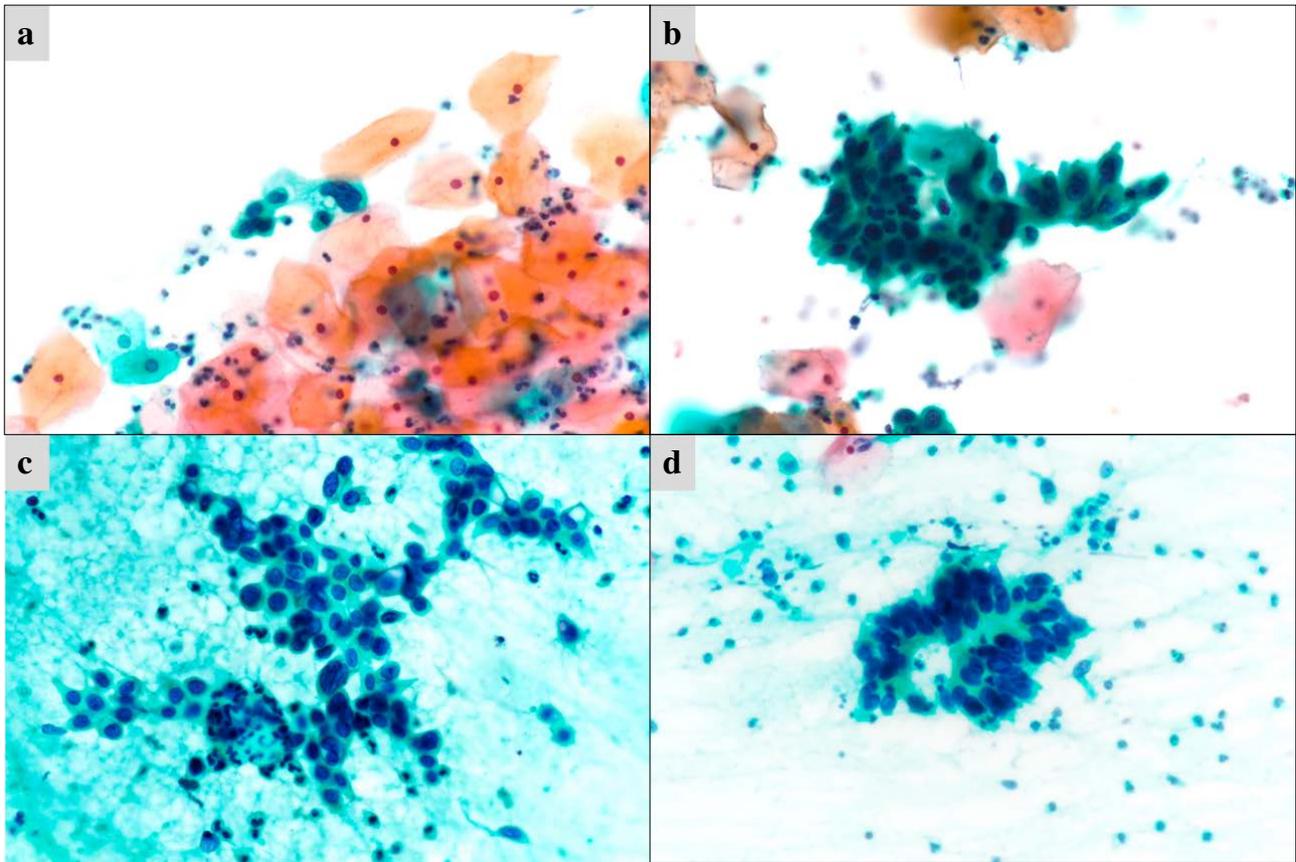
症例 1：核腫大のある異型細胞が上皮全層を置換, 増殖しており CIN3 の組織像 (Photo. 2a) がみられるとともに, 核腫大の目立つ異型腺管の増生を認め AIS の組織像 (Photo. 2b) がみられた.

症例 2：重層扁平上皮には表層近傍にいたる koilocytotic changes とともに, ごく軽度ながら基底層近傍の核腫大と極性の乱れがみられ, low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)/CIN1 に相当する像 (Photo. 2c) がみられるとともに, 核小体明瞭でクロマチンが増量し, N/C 比が増大した高円柱状の異型細胞が不規則腺管状に増殖する AIS の組織像 (Photo. 2d) がみられた.

症例 3：クロマチンが増量し, N/C 比の増大した異型扁平上皮細胞が上皮全層を置換, 増殖する CIN3 の組織像 (Photo. 2e) がみられるとともに, クロマチンの増量した腫大核を有する円柱状腫瘍細胞が, 胞体内粘液に富む杯細胞を混じて, 上皮置換性増殖や間質浸潤を示していた. 免疫組織化学的に腫瘍細胞にはびまん性に p16 陽性像が認められた. 腸型粘液性癌に相当すると考えられた (Photo. 2f, g).

## V. 考 察

今回われわれは子宮頸部に扁平上皮病変と腺系病変が共



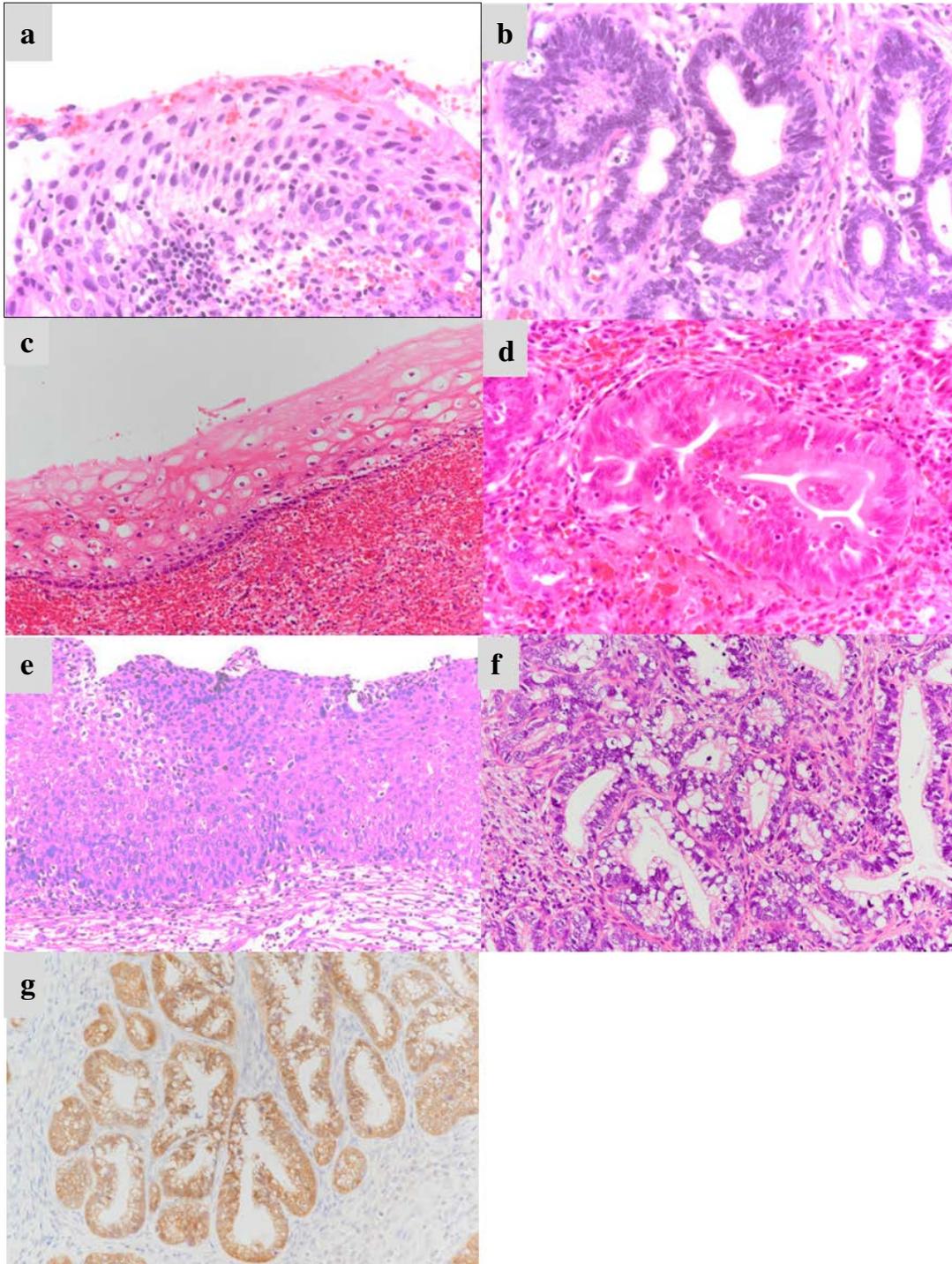
**Photo. 1** Cytological findings. a : Case 1 Atypical squamous cells with dense nuclear chromatin (Pap. staining, ×40). b : Case 2 Atypical glandular cells are present in clusters (Pap. staining, ×40). c : Case 3 Atypical squamous cells are present in clusters (Pap. staining, ×40). d : Case 3 Atypical glandular cells with dense nuclear chromatin (Pap. staining, ×40).

存した子宮頸部上皮性腫瘍の3例を経験した。子宮頸部腺系病変は円錐切除術後に初めて診断されることも多く、細胞診などによる術前診断は困難な場合が多い。HPV型別検査を併用することで腺系病変を念頭におくことや、扁平上皮病変中に腺系病変が混在していないかなどを精査する姿勢が肝要である。

円錐切除術による診断後は3例とも経過観察とはせず、根治術を行った。なおHPV型別検査は症例1で行っており18型の検出はなかったものの、HPV45型が検出された。HPV45型は扁平上皮病変より、腺系病変に多く検出されるとの報告もある<sup>2)</sup>。よってHPV検査を併用することで、細胞診の経過観察期間を検討するほか、共存した腺系病変の検出に有用である可能性がある。

一般に子宮頸部腺癌は子宮頸癌の約20%を占めるとされ、子宮頸部腺系病変の24~75%に扁平上皮病変が共存しているといわれている<sup>1)</sup>。子宮頸部の腺癌は扁平上皮癌と比較して化学療法や放射線療法に抵抗性を示し予後不良のため<sup>3)</sup>、子宮頸部の腺型病変を早期発見することは重要であり、細胞診が担う役割は大きい。

他方、細胞診検査において、扁平上皮病変と腺系病変とを同時に検出する頻度は0.06%との報告もあり<sup>4)</sup>、きわめてまれであるのが現状である。さらに同報告によれば、細胞診で腺系病変と扁平上皮系異型を同時に検出した際の生検診断の組織型の分布をみると、51.7%はCINのみ、38.2%は正常組織、3.9%がAIS、3.9%がAISとCINとの合併、1.3%が子宮頸部腺癌、1%が子宮内膜癌であり<sup>4)</sup>、細胞診での腺系病変の正診率は10%程度であることがわかる。とりわけ扁平上皮病変と腺系病変の共存の正診率は3.9%にとどまっている。細胞診で腺系病変が疑われた3007例を対象に組織診断との整合を比較検討した報告では、CIN1が15.1%、CIN2/3が5.6%、AISが1.3%、子宮頸部腺癌が0.6%、複雑型子宮内膜増殖症が1.2%、子宮内膜癌が5.5%である一方、70.5%は病変なしであった<sup>5)</sup>とする報告もある。組織診断でAISとHSIL (CIN2-3) が共存した場合と組織型がAISのみの場合における細胞診の正診率はおのおの47.2%と75.2%で、共存例での細胞診の正診率は下がる傾向があるとする報告もあり<sup>6)</sup>、細胞診の時点から扁平上皮病変と腺系病変の共存を正確に予測することは容易では



**Photo. 2** Histological findings. a : Case 1 Atypical squamous cells with hyperchromatic nuclei occupying the full thickness of the epithelium. The lesion was classified as CIN3 (H. E. staining,  $\times 40$ ). b : Case 1 Biopsy showing atypical glands with hyperchromatic nuclei and structural atypia (H. E. staining,  $\times 40$ ). c : Case 2 Koilocytotic changes extending near the surface level and mild parabasal atypia of the squamous epithelium. The lesion was classified as LSIL/CIN1 (H. E. staining,  $\times 40$ ). d : Case 2 Biopsy showing atypical glands with hyperchromatic nuclei and structural atypia (H. E. staining,  $\times 40$ ). e : Case 3 Atypical squamous cells with hyperchromatic nuclei occupying the full thickness of the epithelium. The epithelial cell polarity and stratification are lost. The lesion was labeled as CIN3 (H. E. staining,  $\times 20$ ). f, g : Case 3 Adenocarcinoma showing features of mucinous carcinoma, intestinal type. Cancer cells showing positive immunohistochemical staining for p16 (f : H. E. staining,  $\times 40$ ; g : positive immunohistochemical staining for p16,  $\times 20$ ).

**Table 1** Literature reviews of Papanicolaou smears for the detection of adenocarcinoma *in situ*

Author	Year	histological AIS (n)	suspected AIS by cytology (n)	PPV (%)
Niu S. et al.	2019	72	6	8.33
Kondo E. et al.	2015	65	16	24.6
Umezawa T. et al.	2015	74	33	44.6
Zardo L. M. et al.	2009	60	17	28.3
van Aspert-van Erp, A. J. et al.	2004	210	104	49.5

AIS, adenocarcinoma *in situ* ; n, number ; PPV, positive predictive value

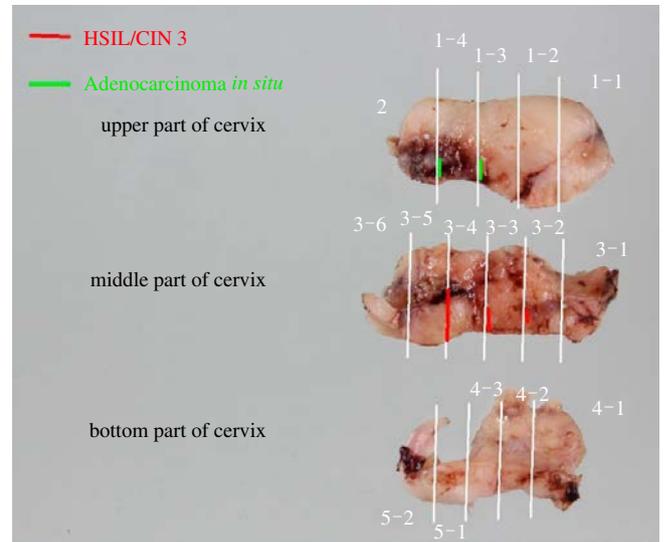
ない。

Umezawa らは細胞診で AIS を疑う要点として①N/C 比が増加し、核クロマチンが増量した異型細胞が密集し重積性のある集塊を形成していること、②同集塊中に核分裂像が確認できること、③多形性を伴う腺系病変にもかかわらず壊死性背景を欠いていること、④AISの大半は usual type の細胞所見をとるが、AISの細胞所見には subtype があり、頻度はまれではあるが intestinal type や endometrioid type もあり、それらはしばしば共存するのでそれらの違いを認識しておくことも重要としている<sup>7)</sup>。この AIS の正診率を検討した報告は散見されるものの、いずれも陽性的中率は 50%を下回っている<sup>6-10)</sup> (Table 1)。

細胞診で腺系病変が疑われた場合には組織診断をすることが重要であるが、過大評価 (組織診で病変なし)、過少評価 (扁平上皮病変の共存) のいずれにもなる可能性があり、取り扱いには十分な配慮が必要である。治療や予後の観点からすると腺系病変を見逃さないことが重要であるため、過大評価の可能性はあっても細胞診で腺系病変が検出された際には、積極的に組織診断をすることが勧められる。

今回のわれわれの経験した 3 例は、過去の扁平上皮病変と腺系病変との共存例を検出する頻度が低いという報告<sup>4)</sup>、さらに術前細胞診と術後推定組織診断の一致率が低いという報告<sup>6)</sup>を支持するような結果となった。

HPV は扁平上皮癌のみならず腺癌にも関連する可能性が示唆されている。AIS では HPV16 型と HPV18 型がおのおの 49%、52%検出されるとの報告<sup>11)</sup>や、HPV18 型に関しては扁平上皮系病変より腺系病変に検出される頻度が高いとの報告<sup>2)</sup>もある。細胞診で腺系病変細胞が検出された際に HPV 型別検査を組み合わせることで、その後の腺系病変が疑われる症例の経過観察における方針決定の一助になる可能性がある。また細胞診と HPV 型別検査との併用を行い、乖離が生じた場合、すなわち腺系病変に関連のある HPV 型陽性かつ細胞診陰性例と腺系病変に関連のある HPV 型陰性かつ細胞診陽性例とを最終組織診断で比較検討した場合、AIS や浸潤腺癌においては有意に腺系病変に関連する HPV 型陽性の方が高感度であるとの報告もあ



**Photo. 3** Case 1 : Lesion distribution of CIN3 and AIS in conization biopsy.

る<sup>12)</sup>。細胞診陰性でも腺系病変に関連する HPV 型が陽性である場合は慎重な管理が必要であることを示唆している。

今回の症例 1 について組織診断で腺系病変の共存と HPV45 型が確認されており、HPV45 型が扁平上皮病変よりも腺系病変により多く検出されるとの報告<sup>2)</sup>を支持する結果となった。

今回われわれが経験した症例の中で、扁平上皮内癌と腺癌との合併を細胞診の段階で疑いえたのは 3 例中 1 例 (症例 3) のみであり、残りの症例 1, 2 では合併を疑うことはできず、術前診断はそれぞれ CIN1 および AIS であった。細胞診で共存例を疑うことが困難な理由は、共存例の頻度がそもそも少なく<sup>4)</sup>疑うこと自体が難しいことや、共存する腺系病変の正診率が Table 1 に示すように高くはないことが原因であると考えられる。今回の症例 1 はコルポスコピー下生検でも腺癌と判明せず、円錐切除術で初めて腺癌との合併が指摘できた。共存例が細胞診で検出できなかった理由は、子宮頸部の円錐切除病変を組織型別にマーキングすると、扁平上皮病変と比較して腺癌病変の面積は少なかった。そのため、細胞診で検出されなかったと考えられる

(Photo. 3). 以上より, 共存例が疑うことが難しい原因としては, 頻度や共存する腺系病変自体が一般的に正診率が低いことに加えて, 今回経験した症例を通じて病変の面積も関係している可能性があると考えられる. また症例3についてはUmezawaらが述べている *intestinal type* でみられる細胞所見は確認できなかったため, 細胞所見から組織型まで推定することは困難であったと考える<sup>7)</sup>.

今回われわれは子宮頸部に扁平上皮病変と腺系病変が共存した子宮頸部上皮性腫瘍の3例を経験した. 子宮頸部腺系病変は円錐切除術後に初めて診断されることも多く, 細胞診などによる術前診断は困難な場合が多い. 加えて細胞診で腺系病変が存在しなくてもHPV型別検査で腺系病変を疑う場合には, 腺系病変の存在のみならず, 扁平上皮系の病変と腺系病変との共存も念頭におき精査することが必要である.

筆者らは, 開示すべき利益相反状態はない.

本論文の要旨は第33回関東臨床細胞学会学術集会(2019年9月)において発表した.

## Abstract

**Background** : Adenocarcinoma of the uterine cervix currently accounts for approximately 20% of all cervical cancers, and its incidence has been increasing, particularly in young women. In general, diagnosis is more difficult when glandular and squamous components coexist than when either lesion exists alone.

**Cases** : Case 1 is a 38-year-old woman, in whom the findings on cervical Papanicolaou (PAP) smears were categorized as high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL). Histological diagnosis after conization revealed coexistence of adenocarcinoma *in situ* (AIS) and cervical intraepithelial neoplasia 3 (CIN3). Case 2 is a 51-year-old woman, in whom the findings on cervical PAP smears were suggestive of AIS. Histological diagnosis after conization showed coexistence of AIS and CIN1. Case 3 is a 43-year-old woman, in whom the findings on cervical PAP smears were reported as "atypical squamous cells, cannot exclude HSIL (ASC-H) and atypical glandular cells, not otherwise specified." Histological diagnosis after conization revealed coexistence of stage IA2 microinvasive adenocarcinoma and CIN3. Definitive surgery was performed in all three patients after the conization.

**Conclusion** : We report the clinicopathological characteristics of three cases of synchronous squamous and glandular lesions that were treated by definitive surgery. However, it is difficult to detect coexisting glandular and squamous lesions of the uterine cervix, and when glandular abnormality is suspected from cytology or HPV typing test, closer investigation is warranted to determine possible coexistence of glandular and squamous lesions.

## 文 献

- 1) Wright, T. C., Ronnett, B. M., Kurman, R. J. Precancerous lesions of the cervix. In : Kurman, R. J., eds. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 6th ed. New York : Springer : 2011, 225-232.
- 2) Clifford, G., Franceschi, S. Members of the human papillomavirus type 18 family (alpha-7 species) share a common association with adenocarcinoma of the cervix. *Int J Cancer* 2008 ; 122 : 1684-1685.
- 3) Huang, Y. T., Wang, C. C., Tsai, C. S., Lai, C. H., Chang, T. C., Chou, H. H., et al. Clinical behaviors and outcomes for adenocarcinoma or adenosquamous carcinoma of cervix treated by radical hysterectomy and adjuvant radiotherapy or chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012 ; 84 (2) : 420-427.
- 4) Khor, L. Y., Abdul-Karim, F. W., Bruening, A. E., Weber Noffsinger, D. K., Booth, C. N. Papanicolaou tests with coexisting squamous and glandular abnormalities. *Cancer Cytopathol* 2014 ; 122 (8) : 620-626.
- 5) Pradhan, D., Li, Z., Ocque, R., Patadji, S., Zhao, C. Clinical significance of atypical glandular cells in Pap tests : An analysis of more than 3000 cases at a large academic women's center. *Cancer Cytopathol* 2016 ; 124 (8) : 589-595.
- 6) van Aspert-van Erp, A. J., Smedts, F. M., Vooijs, G. P. Severe cervical glandular cell lesions and severe cervical combined lesions : predictive value of the papanicolaou smear. *Cancer* 2004 ; 102 (4) : 210-217.
- 7) Umezawa, T., Umemori, M., Horiguchi, A., Nomura, K., Takahashi, H., Yamada, K., et al. Cytological variations and typical diagnostic features of endocervical adenocarcinoma in situ : A retrospective study of 74 cases. *Cytojournal* 2015 ; 12 : 8.
- 8) 近藤英司, 高橋顕雅, 宇佐美知香, 山本阿紀子, 野村秀高, 的田真紀・ほか : 上皮内腺癌 (AIS) 65 例の術前細胞診の検討. *日臨細胞会誌* 2015 ; 54 (2) : 114-118.
- 9) Niu, S., Molberg, K., Thibodeaux, J., Rivera-Colon, G., Hinson, S., Zheng, W., et al. Challenges in the Pap diagnosis of endocervical adenocarcinoma in situ. *Cytopathol* 2019 ; 8 (3) : 141-148.
- 10) Zardo, L. M., Thuler, L. C., Zeferino, L. C., Horta, N. M., Fonseca Rde, C. Performance of the cytologic examination for the diagnosis of endocervical adenocarcinoma in situ : cytologic-histologic correlation in 60 cases. *Acta Cytol* 2009 ; 53 (5) : 558-564.
- 11) Guan, P., Clifford, G. M., Franceschi, S. Human papillomavirus types in glandular lesions of the cervix : a meta-analysis of published studies. *Int J Cancer* 2013 ; 132 : 248-250.
- 12) Katki, H. A., Kinney, W. K., Fetterman, B., Lorey, T., Poitras, N. E., Cheung, L., et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology : a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol* 2011 ; 12 (7) : 663-672.

## 症 例

## 筋上皮癌を癌腫成分とする多形腺腫由来癌の 1 例

立花 幸<sup>1)</sup> 木村 雅友<sup>2)</sup> 田中 千琴<sup>1)</sup> 前西 修<sup>2)</sup>  
 水野 瑤子<sup>1)</sup> 植田 清文<sup>1)</sup> 白石 直樹<sup>1)</sup> 京田 明子<sup>1)</sup>  
 上杉 忠雄<sup>1)</sup> 佐藤 隆夫<sup>1,2)</sup>

近畿大学病院病院病理部<sup>1)</sup>, 同 病理診断科<sup>2)</sup>

背景：多形腺腫由来癌は、先行して存在する多形腺腫が悪性化したものである。癌腫の組織型は多様だが、大半は唾液腺導管癌が筋上皮癌である。細胞診で多形腺腫由来癌の悪性・良性の両成分を認めることは少ないが、今回両成分を細胞診標本に認めた多形腺腫由来筋上皮癌の 1 例を経験したので報告する。

症例：90 歳代、女性。13 年前から右側口蓋の粘膜下腫瘍を指摘されており、臨床的に良性とされ経過観察を受けていたが、7 ヶ月前から急速に増大してきたため、治療方針決定のため穿刺吸引細胞診を施行した。細胞所見は大型異型細胞が結合性の弱い集塊で出現しており、癌腫と考えられたが組織型は確定できなかった。摘出標本の組織診では、腫大した不整形核を有する多辺形の腫瘍細胞が胞巣状に増殖しており、免疫染色結果と合わせて筋上皮癌と考えられた。加えて腫瘍組織内に多形腺腫成分が確認され、多形腺腫由来筋上皮癌と診断された。組織診後の細胞診標本再検討で多形腺腫成分が確認された。

結論：長い経過を示す唾液腺腫瘍が急速に増大した症例では、多形腺腫由来癌の可能性を疑い、多形腺腫と癌腫の両成分が出現しうることを念頭に、細胞診標本を観察すべきである。

**Key words** : Oral palate, Fine-needle aspiration cytology, Carcinoma ex pleomorphic adenoma, Myoepithelial carcinoma

## I. はじめに

多形腺腫由来癌は、先行して存在する多形腺腫が悪性転化した癌腫である<sup>1-4)</sup>。癌腫成分の組織型は多様であるが、唾液腺導管癌が最も多く、次いで多いのが筋上皮癌であり

全体の 35% を占める<sup>1)</sup>。多形腺腫由来癌の確定診断には、多形腺腫と癌腫の両成分を確認することが重要である。しかし、術前の穿刺吸引細胞診で両成分が採取されるのはまれと言われている<sup>1,5-7)</sup>。今回われわれは、口蓋に発生した多形腺腫由来癌の術前穿刺吸引細胞診で多形腺腫と癌腫の両成分を確認できた症例を経験したので報告する。

## II. 症 例

患 者：90 歳代、女性。

主 訴：右側口蓋腫瘍、鼻出血。

既往歴：心筋梗塞。

現病歴：13 年前に右側口蓋の境界明瞭な粘膜下腫瘍を指摘され、臨床的に良性腫瘍の診断のもと経過観察されていた。7 ヶ月前に鼻出血を主訴に来院しその際の CT では腫瘍が右側口蓋から鼻腔にかけて広がっており、腫瘍体積は 13 年前のものと比較すると 200% 以上に増大していた。

A case of myoepithelial carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland

Sachi TACHIBANA<sup>1)</sup>, C. T., J. S. C., Masatomo KIMURA<sup>2)</sup>, M. D., Chikoto TANAKA<sup>1)</sup>, C. T., I. A. C., Osamu MAENISHI<sup>2)</sup>, M. D., Yoko MIZUNO<sup>1)</sup>, C. T., J. S. C., Kiyofumi UEDA<sup>1)</sup>, C. T., J. S. C., Naoki SHIRAISHI<sup>1)</sup>, C. T., J. S. C., Akiko KYODA<sup>1)</sup>, C. T., J. S. C., Tadao UESUGI<sup>1)</sup>, C. T., I. A. C., Takao SATOU<sup>1,2)</sup>, M. D.

<sup>1)</sup>Division of Hospital Pathology, <sup>2)</sup>Department of Diagnostic Pathology, Kindai University Hospital

論文刷請求先 〒 589-8511 大阪府大阪狭山市大野東 377 の 2 近畿大学病院病理診断科 木村雅友

令和元年 10 月 8 日受付

令和元年 10 月 15 日受理

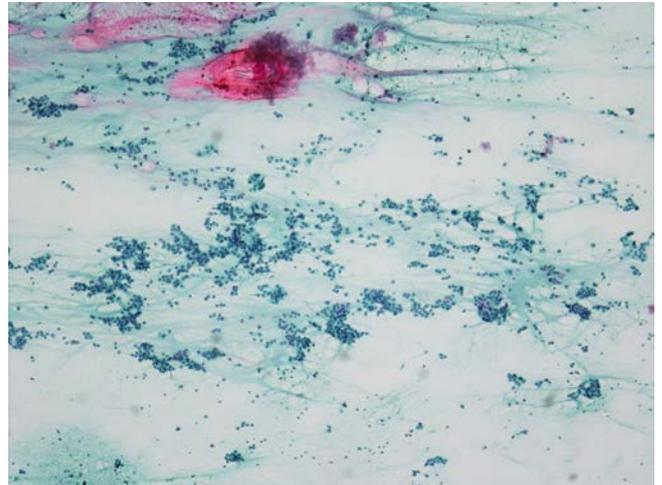


**Photo. 1** MRI T2-weighted image. This image shows a tumor (arrow) in the palate, visualized as an uneven high signal intensity. The tumor is relatively well-demarcated, with evidence of invasion of the surrounding tissue.

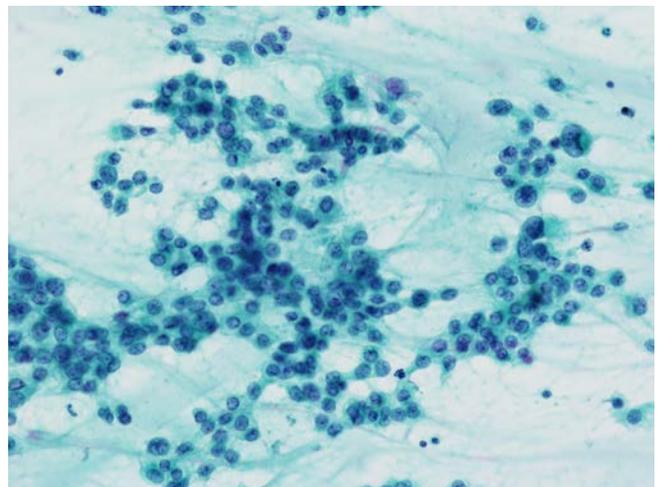
MRIでは境界明瞭な膨隆性発育を示す多結節腫瘍が認められ、T1強調画像では脳実質同等の信号を示し、T2強調画像では不均一な高信号であった(Photo. 1)。画像上、多形腺腫のほか、多形腺癌や腺様嚢胞癌等の悪性腫瘍が疑われたが、患者がそれ以上の精査を希望しなかったため経過観察となった。その7ヵ月後、多量の鼻汁と持続的な鼻出血が出現し始めたため再度受診した。今後の対応方針を決定するために腫瘍の穿刺吸引細胞診が施行された。細胞診で悪性細胞が認められ、患者が外科的切除を希望したため、上顎部分切除術が施行された。なお、MRIで腫瘍の直径は7ヵ月前に47mmであったが、手術が行われる直前には68mmに増大していた。

### III. 口蓋腫瘍穿刺吸引細胞診

粘液性背景に異型細胞が孤立散在性あるいはやや結合性の弱い大小の不整形な集塊で出現していた(Photo. 2)。異型細胞の細胞境界は不明瞭で、ライトグリーンに淡染する中等大の細胞質を有し、核には大小不同があり、核形不整が高度で核溝も認められた(Photo. 3)。核クロマチンは細顆粒状で、単個あるいは数個の核小体が目立っていた。以上から、術前の細胞診では癌腫と考えられたが、組織型は確定できなかった。手術標本の病理組織診断後に細胞診標

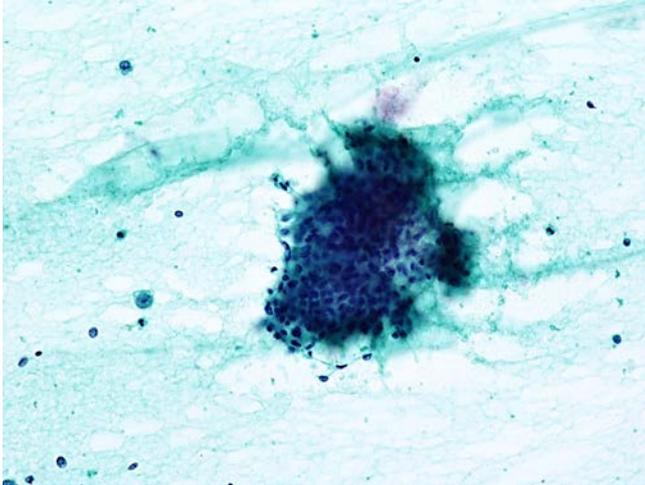


**Photo. 2** Findings of fine-needle aspiration cytology of the myoepithelial carcinoma. Numerous isolated cells and irregularly-shaped large discohesive clusters are seen in a mucinous background (Papanicolaou staining,  $\times 4$ ).

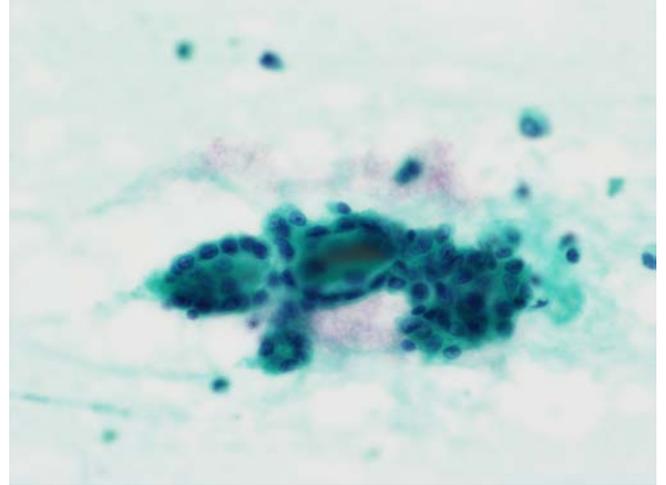


**Photo. 3** High-power view findings of fine-needle aspiration cytology of the myoepithelial carcinoma. Rather discohesive clusters of atypical cells with plump cytoplasm are seen. The cell boundaries in the clusters are unclear. The nuclei are of varying sizes. The nuclear morphology is also irregular, e. g., nuclear grooves are seen. The nuclear chromatin is fine granular, and the nucleoli are prominent (Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).

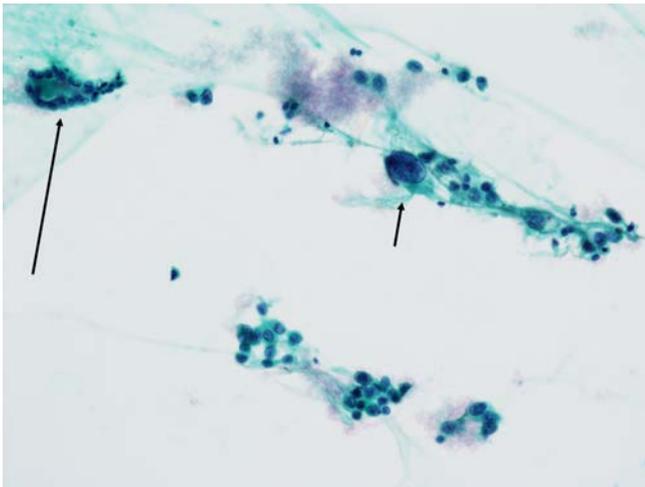
本を再検討した結果、数ヵ所で上記の異型細胞とは異なる均一な類円形核を有する小型細胞の集塊が認められた(Photo. 4)。また、同様の小型細胞がライトグリーン好性あるいはオレンジG好性の分泌物を容れた腺管構造を形成していた(Photo. 5)。小型細胞には核形不整や核クロマチンの増量はみられなかった。これらは多形腺腫の細胞と推測された。また、数ヵ所で癌腫と多形腺腫の両方の細胞が



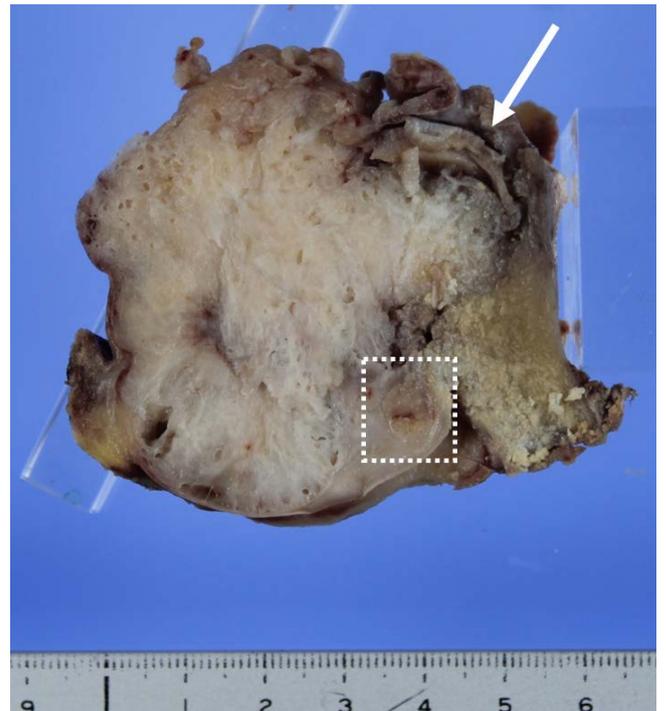
**Photo. 4** Cytological findings of the pleomorphic adenoma. A large cohesive cluster with papillary configuration composed of small regularly-shaped cells is seen (Papanicolaou staining,  $\times 20$ ).



**Photo. 5** Cytological findings of the pleomorphic adenoma. Epithelial cells arranged in tubules containing light green-philic secretion (Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).



**Photo. 6** Fine needle aspiration cytology showing both the pleomorphic adenoma and myoepithelial carcinoma components. Small cells with uniform circular nuclei surrounding the light green-philic secretion (long arrow), consistent with the features of pleomorphic adenoma. There are also small clusters of atypical cells, consistent with the features of carcinoma. Some of the carcinoma cells have rather large nuclei with conspicuous nucleoli. A nucleus of a carcinoma cell is quite large with a conspicuous nucleolus (short arrow) (Papanicolaou staining,  $\times 20$ ).



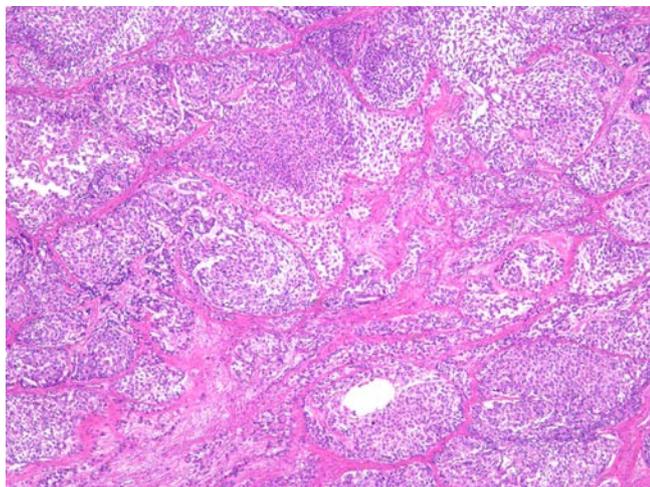
**Photo. 7** Macroscopic view of the sagittal cut surface of the resected tumor. The lower surface is the palatal mucosa. Teeth in the lower right corner have been picked out at the pathology laboratory. The arrow shows the upper turbinate. The tumor is solid and white in color, and shows irregular invasion of the surrounding tissue. The PA component is seen as a light brown nodule (square).

近接して認められた (Photo. 6).

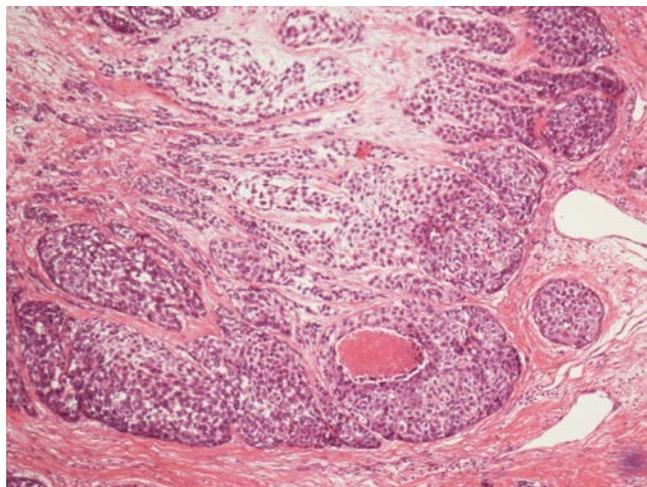
#### IV. 切除検体の病理組織学的所見

肉眼的には口腔面に露出せず口蓋粘膜下に広がり、鼻腔

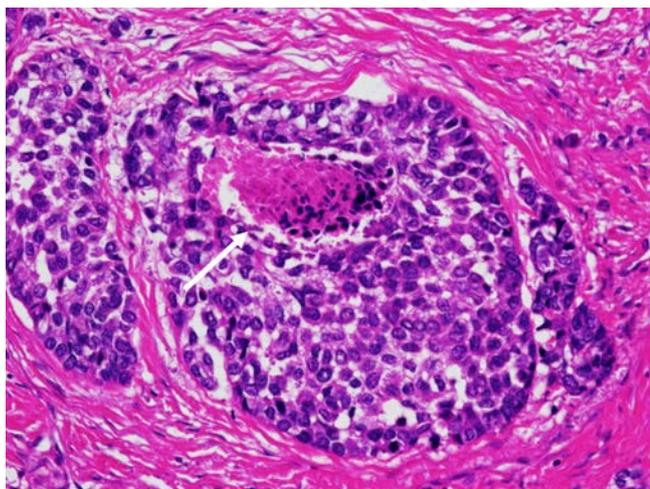
や上顎洞に達する被膜のない約  $5 \times 6$  cm 大の腫瘍であった。断面は大部分が白色調充実性であったが、前下方の一部にはこれとは異なる淡褐色調の結節がみられた (Photo.



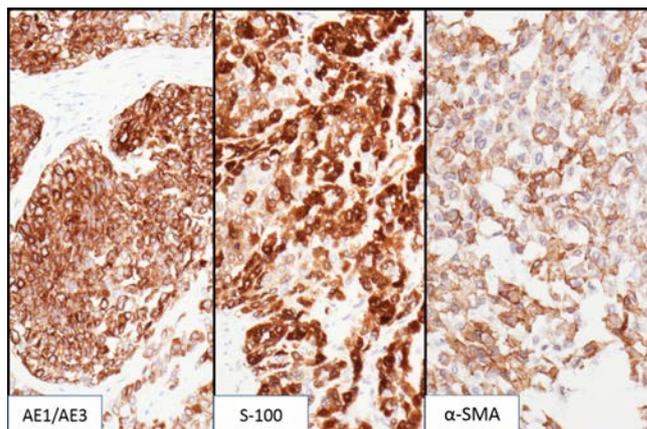
**Photo. 8** Histologic findings of the myoepithelial carcinoma. Nodular tumor nests of various sizes are seen, with septal hyalinized connective tissue (Hematoxylin and Eosin staining,  $\times 4$ ).



**Photo. 9** Histologic findings of the myoepithelial carcinoma. Carcinoma cells are arranged in solid sheets or in a trabecular pattern within myxomatous and hyalinized stroma (Hematoxylin and Eosin staining,  $\times 10$ ).



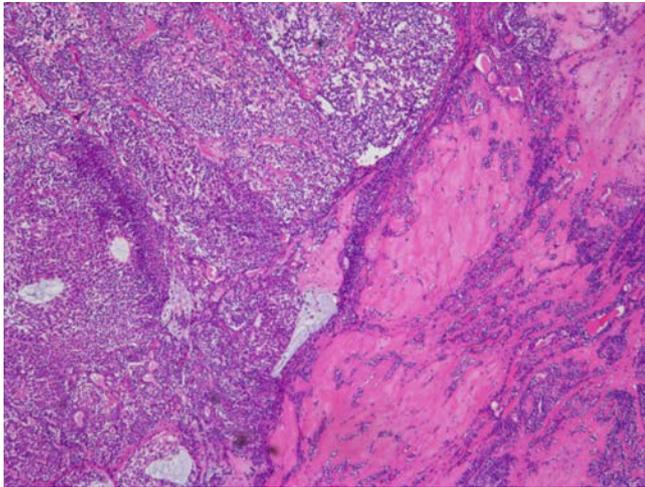
**Photo. 10** Necrotic part of the myoepithelial carcinoma. The carcinoma cells are polyhedral and have large irregular round nuclei and plump eosinophilic cytoplasm. The nuclear chromatin is coarse, and the nucleoli are small. Necrosis is seen in the center of a tumor nest (arrow) (Hematoxylin and Eosin staining,  $\times 20$ ).



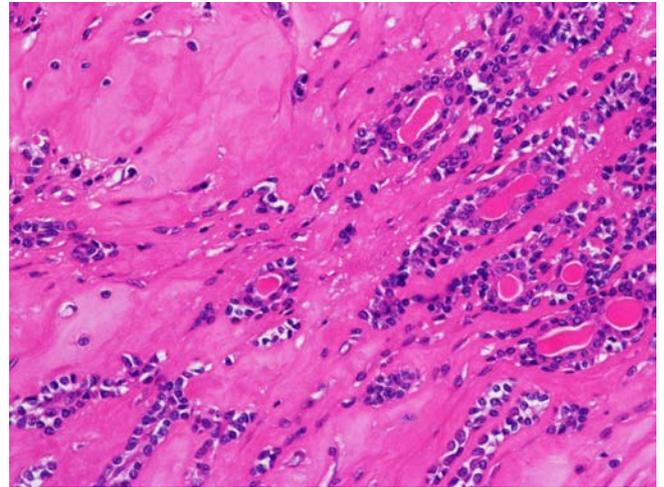
**Photo. 11** Immunohistochemistry. The tumor cells are positive for AE1/AE3, S-100, and  $\alpha$ -SMA ( $\times 20$ ).

7). 組織学的に白色調の部分では、腫瘍細胞が充実胞巣状や索状のパターンを示して増殖し、粘液腫様基質を背景にした部分や硝子化した間質の部分も認められた (Photo. 8, 9). 腫瘍は小型核小体をもつ濃染腫大した不整円形核と好酸性細胞質を有する多角形細胞で構成されていた (Photo. 10). 核分裂像は多いところで6個/10HPF認められた。また、一部の腫瘍巣では中心に壊死が認められた。以上からこの部分は癌腫と考えられた。免疫組織化学では、AE1/AE3, vimentin,  $\alpha$ -SMA, S-100, calponin, HHF35 が陽性、

p63, GFAP が陰性を示した (Photo. 11)。Ki67 陽性率は辺縁部の hot spot で約 20%であった。HE 像と免疫染色の結果からこの癌腫は類上皮細胞型の筋上皮癌であると考えられた。また、核の腫大や大小不同が認められ、少数ではあるが壊死巣があり、骨破壊もみられることから高悪性度であると考えられた。一方、淡褐色調の結節では分泌物を含む大小の腺管構造が認められ、腺管上皮は二相性を示し、腺管を構成する細胞には異型がみられなかった。また部分的に間質の硝子化があり、軟骨成分も認められた。以上から淡褐色結節は多形腺腫であると考えられた (Photo. 12, 13)。多形腺腫の成分が混在することから筋上皮癌を癌腫成分とした多形腺腫由来癌と診断された。



**Photo. 12** Mixed area of carcinoma and pleomorphic adenoma. Carcinoma components are invading (left half of Photo.) the PA components (right half of Photo.). The stroma of the adenoma is hyalinized, and many ducts are found to contain secretions (Hematoxylin and Eosin staining,  $\times 4$ ).



**Photo. 13** Histologic findings of pleomorphic adenoma. Ducts of the PA are composed of biphasic cells. Neither the inner ductal cells nor the outer myoepithelial cells show any atypia (Hematoxylin and Eosin staining,  $\times 40$ ).

## V. 考 察

多形腺腫由来癌は、先行して存在する多形腺腫内あるいは再発多形腺腫内に生じた癌種である<sup>1)</sup>。本腫瘍は全唾液腺腫瘍の3.6%を占め、全悪性唾液腺腫瘍の12%を占める<sup>1)</sup>。好発年齢は50～60歳代にあり、性別では男性より女性にやや優位と報告されている<sup>1)</sup>。発生部位は耳下腺が70%と最も多く、次いで小唾液腺（特に口蓋）、顎下腺、舌下腺の順に好発する<sup>1-4)</sup>。臨床的に多形腺腫由来癌は、長期間経過した多形腺腫内で急速に増大することが多く、しばしば疼痛や顔面神経麻痺などの症状を伴う<sup>1,3)</sup>。5年未満経過の多形腺腫では多形腺腫由来癌の発生率が1.6%、15年以上経過の場合は9.5%と報告されている<sup>3,4)</sup>。本例も13年経過した後に急速に増大し、典型的な経過であったと考えられる。

多形腺腫由来癌は肉眼的に薄い被膜に覆われた比較的境界明瞭な腫瘍だが、被包は不完全で64%の症例では被膜外へ進展している<sup>1,2)</sup>。浸潤性により非浸潤型、微小浸潤型、広範浸潤型に分類され、本例は広い範囲に浸潤しており広範浸潤型と考えられる<sup>1,4)</sup>。腫瘍断面では、癌種成分と多形腺腫成分は性状や色調の異なる領域として観察されることがあり<sup>4)</sup>、本例でも癌種成分は白色調を示し、多形腺腫成分は淡褐色調の結節として確認された。多形腺腫由来癌では多形腺腫成分と癌種成分が混在して認められるが、一般に癌種成分が優勢である<sup>3)</sup>。多形腺腫成分に関しては組織

学的に証明するのが困難である場合が多い。その理由として、長期経過した多形腺腫が悪性化した場合、多形腺腫の細胞成分は脱落し、間質が線維化や硝子化、あるいは石灰化してしまっている症例が多いためと考えられる<sup>1,2)</sup>。本例では組織診で硝子化間質が広がっていたが、腺腫を構成する成分は保たれており、容易に多形腺腫成分を確認できた。

組織学的に、筋上皮癌は充実性、胞巣状あるいは索状に増殖し全体として分葉状の膨張性発育を示す<sup>4)</sup>。筋上皮癌の腫瘍細胞は類上皮細胞型、類形質細胞型、紡錘細胞型、明細胞型の4型に分類されるが、複数の型が混在した症例もある<sup>4)</sup>。本例は類上皮細胞型が主体と考えられた。筋上皮癌と鑑別すべき悪性腫瘍として上皮筋上皮癌、多形腺癌、および多形腺腫由来癌の癌腫の中で最多の唾液腺導管癌などが挙げられる<sup>2,4)</sup>。上皮筋上皮癌の細胞像は腺管上皮細胞成分と淡明筋上皮細胞成分の二相性を示し、筋上皮癌の単相性とは異なる<sup>2,4)</sup>。多形腺癌では腫瘍細胞が樹枝状や乳頭状構造を示し、細胞が一様で核異型に乏しい<sup>4)</sup>。唾液腺導管癌では、壊死性背景に重積性を示すあるいはシート状の大型細胞集塊や孤立散在性の腫瘍細胞が認められる<sup>2-4)</sup>。乳頭状・管状・篩状構造が認められる場合は筋上皮癌との鑑別は容易だが、充実性の場合には鑑別困難となる可能性がある。ただ、腫大核小体を有する大型類円形核とライトグリーン好性顆粒状の豊富な細胞質を持つ大型多辺形細胞は唾液腺導管癌に特徴的で、異型の強い筋上皮癌との鑑別に際して有用な所見である。

本例では組織診で類上皮細胞型筋上皮癌と診断されたが、組織標本で観察された癌細胞の特徴は、小型核小体を有する濃染腫大した不整円形核と豊富な淡好酸性細胞質を

有する多角形細胞であった。この組織標本での特徴をふまえて後方視的に細胞像をみた場合、核小体が目立つ不整類円形核とライトグリーンに淡染する豊富な細胞質を有する多角形細胞は、類上皮細胞型筋上皮癌の細胞学的特徴ととらえてよいのではないかと考えられる。なお、筋上皮癌が紡錘細胞型の場合は肉腫やメラノーマとの鑑別が必要となってくる<sup>2,4)</sup>。

多形腺腫由来癌を腫瘍摘出術前に穿刺吸引細胞診で診断しえた症例は少ない<sup>8~11)</sup>。確実な診断のためには多形腺腫成分と癌腫成分の両方が採取され、かつ両者が細胞診標本上で認識されなければならない。しかし穿刺吸引細胞診では、多形腺腫成分あるいは癌腫成分のいずれかのみしか採取されないことが多い<sup>5~7)</sup>。また、多形腺腫成分が硝子化している症例もあり、その場合は穿刺吸引細胞診で多形腺腫成分は採取されがたく、癌腫成分のみが採取される<sup>7)</sup>。本例の細胞診では両者が採取されていたが多形腺腫成分が少量であったため多数の癌細胞の存在により多形腺腫成分が目立たなくなり、多形腺腫成分を認識するのが困難であった。しかし、組織診断の後に詳細に再検討した際には多形腺腫成分を検出することができた。なお、本例では残念ながら行ってないが、Giemsa染色で異染性を示す間質性粘液や軟骨成分が確認されれば多形腺腫の存在を示唆できることから、多形腺腫由来癌の検出率向上のためにGiemsa染色の併用が望まれる<sup>4,8)</sup>。

一方、癌細胞の異型が弱い症例では標本上の細胞がすべて多形腺腫成分と認識され、単に多形腺腫と診断される危険性がある<sup>6,12,13)</sup>。Klijanienkoらは穿刺吸引細胞診を行った26例中10例では癌細胞が低異型であったため、多形腺腫成分と誤認していたと述べている<sup>13)</sup>。この他、多形腺腫由来癌の癌成分が小さく腺腫部分の割合が大きい場合は、穿刺吸引により多形腺腫成分のみが採取されてくる可能性が高い。いずれにしろ、多形腺腫および癌腫の両成分が採取されるためには複数部位からの穿刺吸引が勧められている。Heintzら<sup>10)</sup>は複数回の穿刺を行ったところ、1回目の穿刺吸引細胞診では多形腺腫成分のみしか採取されなかったが、2回目以降の穿刺で癌腫成分を検出できたと述べている。したがって、経過観察されていた既存の唾液腺腫瘍が急速に増大してきたという臨床的に多形腺腫由来癌を疑うような経過の場合には、癌成分を見落とさないために複数部位からの穿刺が勧められる<sup>12)</sup>。そして多形腺腫と癌腫の両成分が出現しうることを念頭に、細胞診標本を観察すべきである。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

謝辞 稿を終えるにあたり、組織診断ならびに細胞診断について

御教授いただきました大阪国際がんセンター病理・細胞診断科の原田博史先生に感謝いたします。

臨床所見について御教授いただきました当院耳鼻咽喉科の北野睦三先生に感謝いたします。

## Abstract

**Background** : Carcinoma ex pleomorphic adenoma (CXPA) is a malignancy developing from primary pleomorphic adenoma (PA). It is rare to see both benign and malignant components of CXPA in cytology specimens. We report a case of myoepithelial carcinoma ex pleomorphic adenoma, in which both benign and malignant components were detected in the cytology specimens.

**Case** : A woman in her nineties presented to us with a submucosal mass on the right palate that she had had for 13 years. She had been followed up as a case of benign tumor. However, in the previous seven months, the mass had enlarged rapidly. Fine needle aspiration cytology was performed to determine the appropriate treatment strategy. Cytological examination revealed weakly cohesive clusters of large atypical cells, consistent with the features of carcinoma cells. Histologic examination of the resected tumor showed tumor nests composed of polygonal cells with enlarged irregular nuclei. Based on the histologic and immunostaining results, the tumor was diagnosed as a myoepithelial carcinoma. In addition, PA components were also identified in the tumor tissue, based on which we made the diagnosis of CXPA. A review of the cytological finding after the histological diagnosis revealed the PA components.

**Conclusion** : In a case with a clinical course suggestive of CXPA, cytological observation should be performed bearing in mind the possibility of finding both PA and carcinoma components.

## 文 献

- Williams, M. D., Ihrler, S., Seethala, R. Carcinoma ex pleomorphic adenoma. In : El-Naggar, A. K., Chan, J. K. C., Grandis, J. R., Takata, T., Sliotweg, P. J., eds. WHO Classification of Head and Neck Tumours. Lyon : IARC Press ; 2017. 176-177.
- 原田博史, 河原明彦. 多形腺腫由来癌. 原田博史, 河原明彦. 唾液腺腫瘍の組織診・細胞診 コンサルテーション症例に学ぶ実践的診断法. 東京 : メジカルビュー社 ; 2018. 230-244.
- 横山繁生. 多形腺腫由来癌. 日本唾液腺学会, 編. 唾液腺腫瘍アトラス. 東京 : 金原出版 ; 2007. 130-133.
- 山元英崇. 多形腺腫由来癌. 森永正二郎, 高田 隆, 長尾俊孝, 編. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部腫瘍 I 唾液腺腫瘍. 東京 : 文光堂 ; 2015. 95-100.
- Zajicek, J., Eneroth, C. M. Cytological diagnosis of salivary-gland carcinoma from aspiration biopsy smears. Acta Otolaryngol 1970 ; 69 (suppl) : 183-185.
- Jacobs, J. C. Low grade mucoepidermoid carcinoma ex pleomorphic adenoma. Acta Cytol 1993 ; 38 : 93-97.

- 7) Pitman, M. B. Mucoepidermoid carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland. *Acta Cytol* 1995 ; 39 : 604-606.
  - 8) Singh, K., Agarwal, C., Pujani, M., Verma, P., Chauhan, V. Carcinoma ex pleomorphic adenoma : A diagnostic challenge on cytology. *Diagn Cytopathol* 2017 ; 45 : 651-654.
  - 9) Pawani, A. V., Lujan, G., Ali, S. Z. Myoepithelial carcinoma arising in a pleomorphic adenoma of the parotid gland. *Acta Cytol* 2006 ; 50 : 93-96.
  - 10) Heintz, P. W., Schmidt, W. A., Pommier, R. F., Vetto, J. T., DiTomasso, J. P. Submandibular gland carcinoma ex pleomorphic adenoma : *Acta Cytol* 1998 ; 42 : 1431-1436.
  - 11) Geisinger, K. R., Reynolds, G. D., Vance, R. P., McGuirt, W. F. Adenoid cystic carcinoma arising in a pleomorphic adenoma of the parotid gland. *Acta Cytol* 1985 ; 29 : 522-526.
  - 12) Nigam, S., Kumar, N., Jain, S. Cytomorphologic spectrum of carcinoma ex pleomorphic adenoma. *Acta Cytol* 2004 ; 48 : 309-314.
  - 13) Klijanienko, J., El-Naggar, A. K., Vielh, P. Fine-needle sampling findings in 26 carcinoma ex pleomorphic adenomas. *Diagn Cytopathol* 1999 ; 21 : 163-166.
-

## 症 例

## 臀部嚢胞内容液の細胞診を契機として肺癌と診断された 1 例

掘井 吉人<sup>1)</sup> 藤原万記子<sup>1)</sup> 宮川 朋子<sup>1)</sup> 辰岡 浩樹<sup>2)</sup>  
松岡 宏樹<sup>3)</sup> 大西 隆仁<sup>1)</sup>

西脇市立西脇病院病理診断科<sup>1)</sup>, 同 呼吸器内科<sup>2)</sup>, 同 外科<sup>3)</sup>

背景：臀部嚢胞内容液の細胞診を契機に肺癌の発見にいたった症例を経験したので報告する。

症例：60 歳代，男性，肛門周囲に疼痛を伴う膿瘍を主訴として受診。細胞像は壊死性背景に大型核で核型不整，クロマチンの増量や核小体の目立つ異型細胞が多数みられ，多核の細胞も認められた。後に実施された組織診断では N/C 比の高い核型不整な異型細胞の集簇を認めた。免疫組織化学の結果，癌の転移が疑われたが，原発巣の推定にはいたらなかった。CT 検査の結果，肺に占拠性病変が発見され，気管支擦過細胞診を行った。結果は臀部腫瘍と類似した異型細胞がみられた。PET 検査では肺，肺内リンパ節，後腹膜，鼠径リンパ節に異常集積像を認め，肺癌の多発転移と診断された。追加で行った免疫組織化学の結果，肺非小細胞癌と診断された。

結論：臀部嚢胞内容液と気管支擦過材料の細胞像の比較や免疫組織化学を実施することで，原発巣の推定にいたった。治療方針決定を目的に実施された分子病理学診断では PD-L1 に高発現を示した。本患者にはペムブロリズマブが著効し，肺，臀部，リンパ節ともに腫瘍は縮小傾向にあり，経過は良好である。

**Key words** : Lung cancer, Buttock cyst, Cytology, Large cell carcinoma, PD-L1

## I. はじめに

非小細胞肺癌が肛門や肛門周囲に転移することはまれであり，予後は不良とされている<sup>1)</sup>。今回，われわれは臀部嚢胞内容液の細胞診を契機として肺癌が発見された症例を経験したので報告する。

A case of lung cancer diagnosed by cytological examination of a fluid specimen obtained from a lesion on the buttock

Yoshihito HORII<sup>1)</sup>, C. T., Makiko FUJIWARA<sup>1)</sup>, C. T., Tomoko MIYAGAWA<sup>1)</sup>, C. T., Hiroki TATSUOKA<sup>2)</sup>, M. D., Hiroki MATSUOKA<sup>3)</sup>, M. D., Takamasa OHNISHI<sup>1)</sup>, M. D.

<sup>1)</sup>Department of Diagnostic Pathology, <sup>2)</sup>Department of Respiratory Medicine, <sup>3)</sup>Department of Surgery, Nishiwaki Municipal Hospital  
論文刷請求先 〒 677-0043 兵庫県西脇市下戸田 652 の 1 西脇市立西脇病院病理診断科 大西隆仁

令和 2 年 1 月 22 日受付

令和 2 年 2 月 7 日受理

## II. 症 例

患 者：60 歳代，男性。

主 訴：臀部痛。

喫煙歴：20 本/日，40 年。

既往歴：頸部腫瘍摘出（30 歳代），痔瘻手術（40 歳代），陰嚢水腫手術（60 歳代）。

現病歴：臀部痛を主訴に来院。既往に痔瘻の手術歴があり，肛門周囲に疼痛と硬結を触れ，当初は痔瘻の再発と考えられた。腹部 CT では皮下 1 cm の臀部脂肪内に壁の肥厚した直径 7.5 cm の嚢胞性病変を認めた (Photo. 1)。画像上も肛門周囲膿瘍として矛盾しないため，来院日に局所麻酔後，切開排膿が実施された。嚢胞を切開し，ゾンデを挿入するも直腸との交通は認めなかった。内容液の性状は黄色混濁で，便臭は認めなかった。採取した嚢胞内容液は培養検査と同時に痔瘻癌除外を目的に細胞診検査に提出された。細胞診で悪性と判定された後，嚢胞内の壁から生検された。



**Photo. 1** Abdominal CT image.  
A cystic lesion with a thick wall is observed subcutaneously.

### III. 臀部嚢胞内容液の細胞学的所見

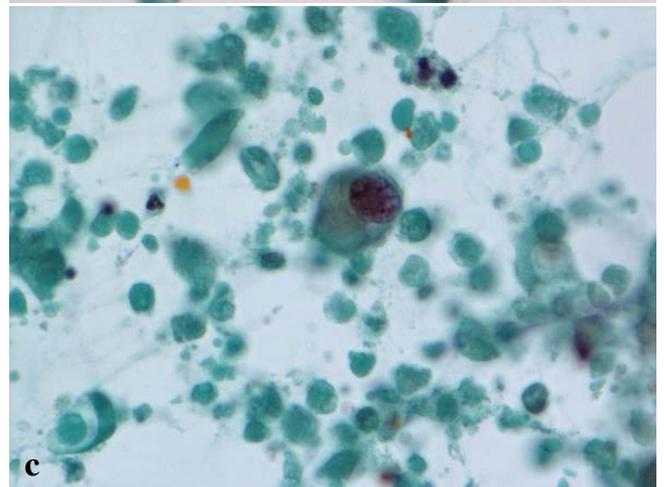
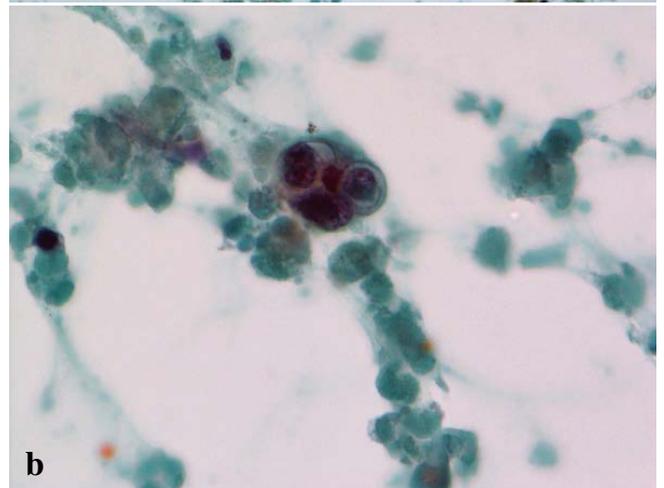
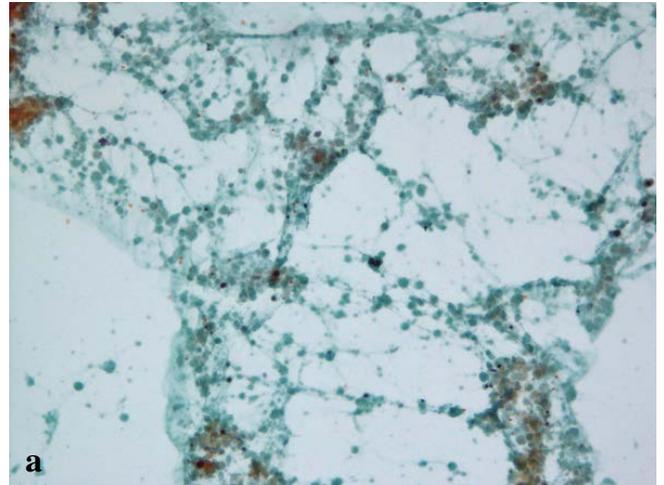
背景は壊死性で、核腫大や核の大小不同、核型不整な異型細胞を認めた。クロマチンは粗顆粒状に増量し、多核の細胞も認め、悪性を示唆する所見に富んでいたが、腺腔構造や角化細胞など、組織型を推定しうる情報は得られなかった (Photo. 2)。採取部位や多彩な細胞形態から、扁平上皮癌や肉腫を推定した。この時点では肺大細胞癌を推定することはできなかった。

### IV. 臀部腫瘍の病理学的所見 (Photo. 3)

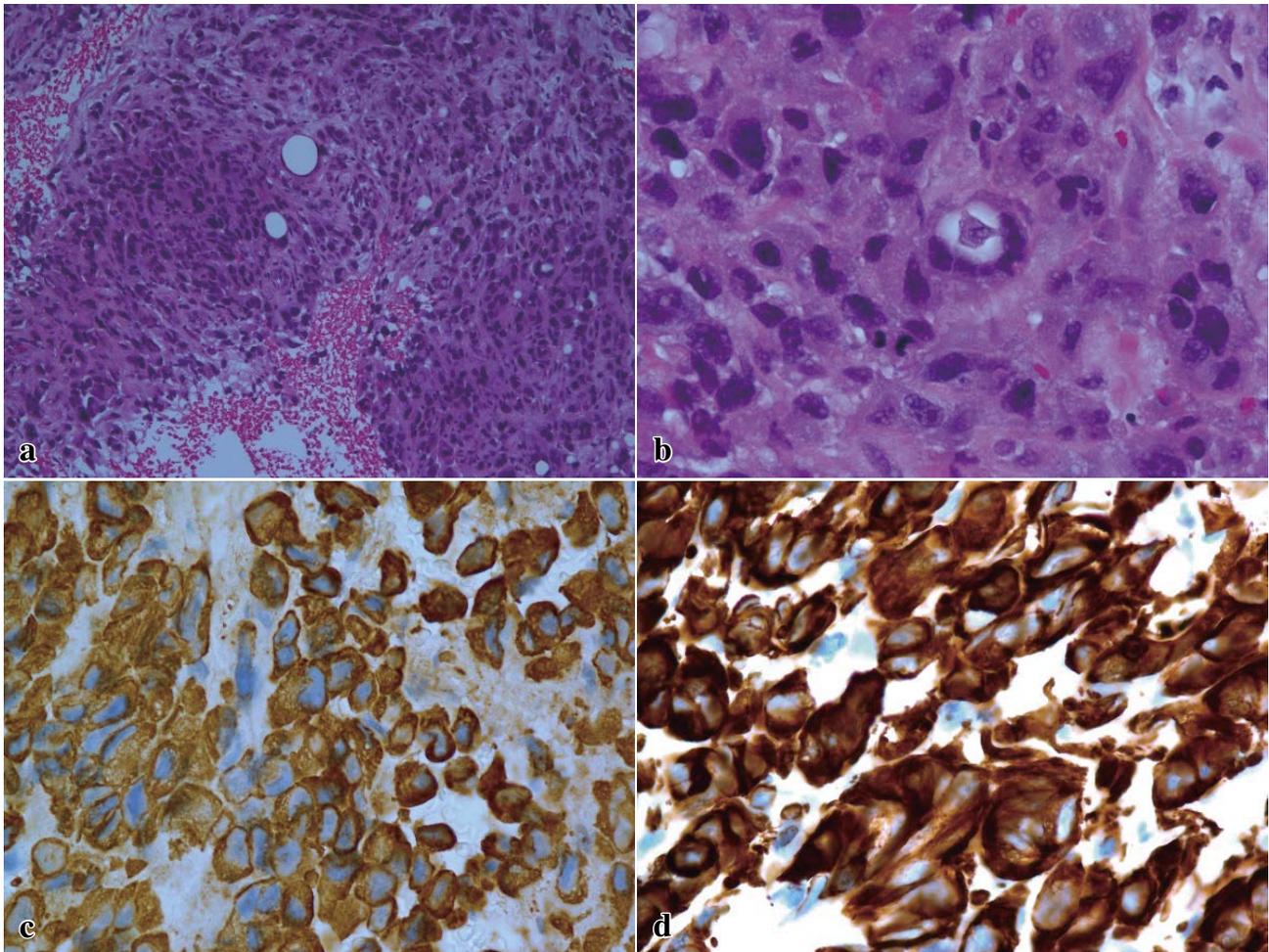
大部分は膿瘍や壊死組織であり、一部にN/C比が高く核型不整な異型細胞の集簇を認めた。免疫組織化学ではCK AE1/AE3 陽性、CK Cam5.2 陽性、CD68 陰性、CK5/6 陰性、p63 陰性、CK7 陽性、CK20 陰性、Chromogranin A 陰性、Synaptophysin 陰性、CD56 陰性、NSE 陰性であり、肺腺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、甲状腺癌、唾液腺癌、腎細胞癌等の可能性が考えられた。神経内分泌癌は否定的であった。

### V. 気管支擦過材料の細胞学的所見

原発巣の究明目的に全身検索を行ったところ、胸部CT検査で右肺上葉に腫瘍性病変を認めた (Photo. 4)。気管支鏡下生検が実施されたが、明らかな悪性細胞は採取されおらず、確定診断にはいたらなかった。気管支擦過材料の細胞診では、核型不整や核腫大、明瞭な核小体を有する異



**Photo. 2** Cytological findings of a fluid specimen obtained from a lesion on the buttock.  
Atypical cells with large prominent nucleoli, increased nuclear chromatin, and karyotypic irregularity are seen in a necrotic background (a : Papanicolaou staining,  $\times 10$ , b : Papanicolaou staining,  $\times 40$ , c : Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).



**Photo. 3** Histopathological findings of a fluid specimen obtained from a lesion on the buttock. Most are abscesses and necrotic tissue, but atypical cells with a high N/C ratio and karyotypic irregularities are seen. The tumor cells showed positive immunohistochemical staining for CK AE1/AE3 and CK7 (a : HE staining,  $\times 10$ , b : HE staining,  $\times 40$ , c : Immunohistochemical staining for CK AE1/AE3,  $\times 40$ , d : Immunohistochemical staining for CK7,  $\times 40$ ).

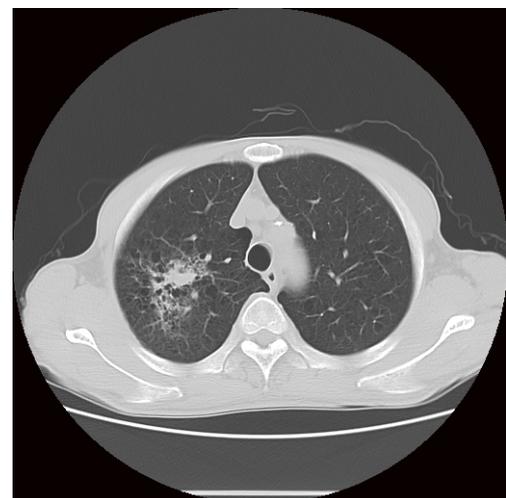
型細胞の小集塊を認めた。臀部嚢胞内容液中に認めた異型細胞と類似した細胞像であった。免疫細胞化学ではCK5/6陰性、p63陰性、Napsin A陰性、TTF-1陰性で扁平上皮癌や腺癌は否定的であった (Photo. 5)。

## VI. PET-CT (Photo. 6)

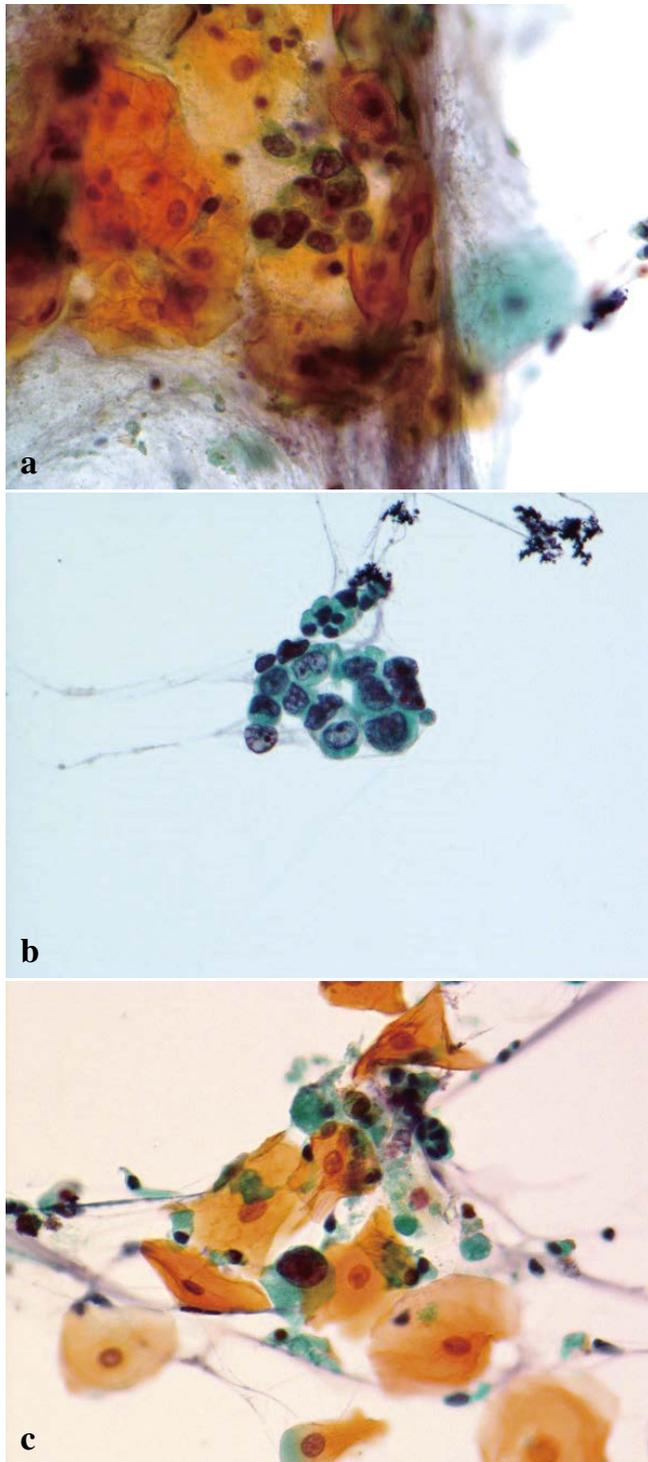
肛門左側周囲に腫瘤影と高集積像、右肺上葉の不整形腫瘤と右肺門部に高集積像を認めた。右腎臓下極の外側に高集積像があり、後腹膜転移が疑われた。左鼠径部に高集積像を認め、左鼠径部リンパ節への転移が疑われた。以上の結果から肺癌の多発転移と診断された。

## VII. 分子病理学診断

治療方針決定を目的に臀部嚢胞の手術材料を用いて分子



**Photo. 4** Chest CT image. A mass lesion is visualized in the upper lobe of the right lung.



**Photo. 5** Cytological findings of bronchial brushing cytology. Small clusters of atypical cells similar to the atypical cells found in a fluid specimen obtained from a lesion on the buttock are seen (a : Papanicolaou staining,  $\times 40$ , b : Papanicolaou staining,  $\times 40$ , c : Papanicolaou staining,  $\times 40$ ).

病理学診断が行われた。PD-L1は高発現(Tumor proportion score = 95%)であった(Photo. 7)。EGFR遺伝子変異は陰

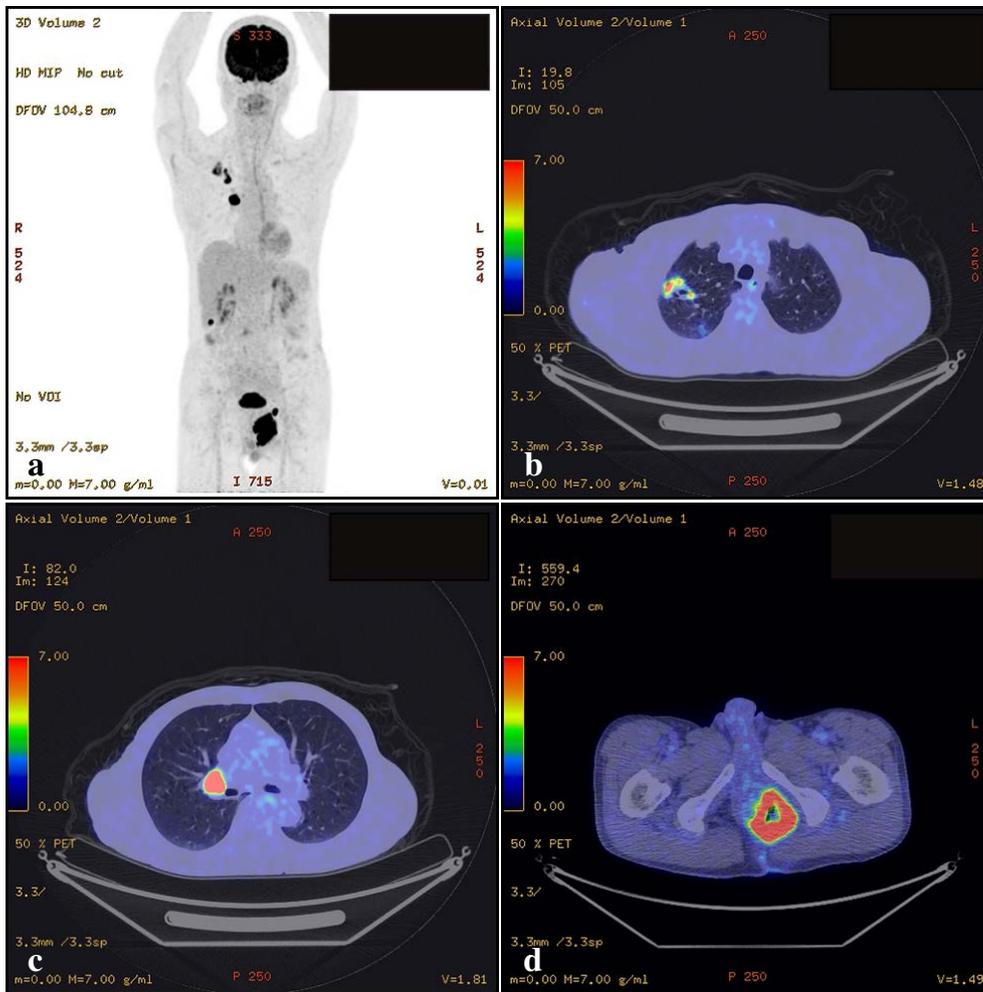
性、ALK融合遺伝子は陰性、ROS1融合遺伝子は陰性であった。ペムプロリズマブによる治療が開始された。

## VIII. 考 察

肺癌は臓器別にみた癌死亡者数が最も多く、転移しやすい部位としては脳、肝臓、肺、骨や副腎がある。今回の症例では、気管支鏡下生検の組織採取量が少なく、明らかな異型細胞を認めず、確定診断にはいたらなかったが、気管支擦過材料の細胞診断結果とPET-CTの結果から、肺癌の肛門周囲を含む多発転移と診断された。皮膚や消化器への転移は比較的まれであるといわれている<sup>2)</sup>。非小細胞肺癌が肛門や肛門周囲に転移することは検索しえた範囲で11例と極めてまれである<sup>1,2)</sup>。さらに臀部嚢胞内容液の細胞診を契機として肺癌の診断にいたったという報告例はない。肺癌が肛門周囲に転移した機序としてはPET-CTの結果を考慮すると、肺門リンパ節からリンパ管を介して逆行性に左鼠径リンパ節まで転移し、左肛門周囲に浸潤したことが考えられる<sup>1)</sup>。われわれが経験した症例では嚢胞内容液の培養検査では細菌や真菌は認めなかった。転移巣が増大し、血流量の低下による阻血によって内部が壊死に陥ったことで嚢胞を形成したことが考えられた<sup>3)</sup>。

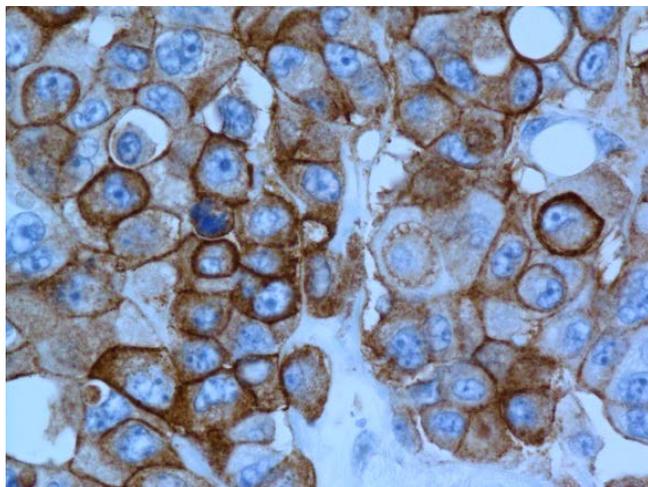
肺大細胞癌は、細胞診断学的にも、病理組織診断学的にも除外診断的性格を持っている。肺大細胞癌の細胞像は細胞間結合能が弱く、多形性に富む傾向を示しており、大型で明瞭な核小体を有する例が多いといわれている<sup>4)</sup>。臀部嚢胞内容液の細胞診断では腺腔構造、角化細胞や細胞間橋様構造は認めず、核が偏在した細胞や中心性の細胞を認め、組織型の分類にはいたらなかった<sup>5)</sup>。細胞間に結合性を有する細胞集塊を認めたことから上皮性腫瘍の可能性が示唆され、散在性に出現する細胞も多数認め、多形性に富む細胞像であり、核内には大型で明瞭な核小体を有する細胞もみられたため、大細胞癌の細胞学的特徴を有していたと考えられる。組織像はN/C比が高く、核型不整な異型細胞の小集簇が認められた。精査の結果、気管支擦過材料でも同様の細胞を認め、肺癌の転移と診断された。これらの細胞は免疫組織化学では上皮系マーカーであるCK AE1/AE3, CK Cam5.2に陽性を示し、CK5/6陰性、p63陰性から扁平上皮癌は否定的であり、Chromogranin A陰性、Synaptophysin陰性、CD56陰性、NSE陰性の結果から神経内分泌癌も否定された。

CK7陽性、CK20陰性の染色パターンから肺腺癌の可能性を考えたが、TTF-1陰性、NapsinA陰性であり、どの組織型にも分類できず、大型の異型細胞を認めたことから肺大細胞癌の転移を推測した<sup>6)</sup>。



**Photo. 6** PET-CT images.

Elevated uptake is seen in the mass lesion in the upper lobe of the right lung and in the subcutaneous lesion to the left of the anus. Elevated uptake is also seen in the lower pole of the right kidney and in the left inguinal lymph node (a-d : PET-CT images).



**Photo. 7** Results of molecular pathological diagnosis. The tumor cells showed strongly positive staining for PD-L1 in the cell membrane (Immunohistochemical staining for PD-L1, ×40).

今回、経験した症例は原発巣の究明に苦慮したが、臀部嚢胞内容液中の細胞診と気管支擦過細胞診との比較や免疫組織化学を実施することで究明にいたった。治療方針決定を目的に実施されたPD-L1発現解析の結果、高発現を示した。本患者に対し、ペムプロリズマブによる治療が開始され、リンパ節は正常サイズまで縮小し、肺腫瘍、臀部腫瘍とも縮小傾向で経過は良好である。

原発性肺癌は現在でも予後不良な疾患であるが、免疫チェックポイント阻害剤であるPD-1/PD-L1抗体の登場により、治療戦略に大きな変化が起きている。現在、日本で肺癌において使用可能な分子標的治療薬は、EGFR-TKI、ALK阻害薬、ROS1/TRK阻害剤、血管新生薬であるベバシズマブがあるが、近年、免疫チェックポイント阻害剤である抗PD-1抗体であるニボルマブとペムプロリズマブの2剤が承認された<sup>7,8)</sup>。

Miyazawaらの報告によれば, PD-L1発現の陽性率は非小細胞癌では腺癌で21%, 扁平上皮癌で44%, 大細胞癌で67%であり, 腺癌と比較して扁平上皮癌や大細胞癌で高く, 腺癌では腺房細胞増殖優位型腺癌(57%), 充実増殖優位型腺癌(54%)で高く, 男性, 喫煙者, 進行癌, 血管内浸潤, リンパ管浸潤陽性者で高いことが報告されている<sup>9)</sup>.

今回経験した症例は, 臀部嚢胞内容液の細胞診を契機に肺癌が発見され, 予後の改善につながった症例である. 膿瘍や痔瘻が疑われた場合でも生活習慣などの患者情報を考慮し, 悪性腫瘍の可能性を念頭において検査を実施することが必要であり, 悪性腫瘍であった際は全身検索, 免疫組織化学や遺伝子解析を早期に実施することが重要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.

### Abstract

**Background** : We report a case of lung cancer diagnosed by cytological examination of a fluid specimen collected from a lesion on the patient's buttock, with no detectable primary lesion.

**Case** : A man in his 60s presented with a painful abscess around the anal region. Cytological examination of a fluid specimen obtained from the abscess revealed atypical cells with large and irregularly shaped nuclei, increased nuclear chromatin, and conspicuous nucleoli in a necrotic background, and multinucleated cells. Although cancer metastasis was suspected from these findings, the primary lesion had not yet been identified. CT led to the discovery of a mass lesion in the lungs, and bronchial scraping cytology revealed atypical cells similar to those observed in the fluid from a lesion on the buttock. Based on immunohistochemistry, the lung lesion was diagnosed as a primary non-small cell lung cancer.

**Conclusion** : In our case, we diagnosed lung cancer based on cytological examination of a fluid specimen obtained from a lesion on the

buttock. We identified the primary lesion by CT imaging, comparison of the findings of cytological examination of a fluid specimen obtained from a lesion on the buttock, and immunohistochemical examination of bronchial brushing specimens. Molecular pathological examination of the lung tumor revealed a high expression level of PD-L1. This patient showed complete response to pembrolizumab treatment, which led to shrinkage of the tumors in the lung, buttock, and lymph nodes. Since then, the patient has had a good clinical course.

### 文 献

- 1) Al-Tarakji, M., Feilchenfeldt, J., Haidar, A., Szabados, L., Abdela-ziem, S., Sayed, A., et al. Rare occurrence of metastasis from lung cancer to the anus : case report and review of the literature. *World J Surg Oncol* 2016 ; 14 : 157.
- 2) Imai, H., Inafuku, K., Wakuda, K., Ono, A., Taira, T., Kenmotsu, H., et al. Perianal metastasis of non-small cell lung cancer. *Intern Med* 2014 ; 53 : 1149-1152.
- 3) 森本 健, 中谷守一, 木下博明. ほぼ全域に壊死をきたした甲状腺癌の1例. *日臨外医学会誌* 1990 ; 51 : 1937-1942.
- 4) 澤田勤也, 松村公人, 福岡誠吾, 池田栄雄, 平田哲士, 福重淑子, ほか. 肺大細胞癌の細胞形態学的検討—病理組織学的背景との関係—. *日臨細胞会誌* 1986 ; 25 : 32-36.
- 5) 西 国広. 基礎から学ぶ 細胞診のすすめ方 第3版. 東京 : 近代出版 ; 2014.
- 6) 深山正久, 猪狩 亨, 大橋健一, 金井弥栄, 羽賀博典. 病理と臨床 臨時増刊 Vol. 32 免疫組織化学 診断と治療選択の指針. 東京 : 文光堂 ; 2014.
- 7) 西川晋吾, 西尾誠人. 免疫療法 (PD-1, PD-L1 抗体) の現状に関して. *肺癌* 2017 ; 57 : 75-80.
- 8) 高橋和久. 肺癌の分子標的治療. *日本内科学会雑誌* 2016 ; 105 : 1840-1848.
- 9) Miyazawa, T., Marushima, H., Saji, H., Kojima, K., Hoshikawa, M., Takagi, M., et al. PD-L1 expression in non-small-cell lung cancer including various adenocarcinoma subtypes. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2019 ; 25 : 1-9.

## 症 例

## 胸膜に発生した類上皮血管内皮腫の1例

津田陽二郎<sup>1)</sup> 松山 篤二<sup>1)</sup> 竹中 賢<sup>2)</sup> 光田 成未<sup>3)</sup>  
 中島 悠貴<sup>3)</sup> 恒成 徳子<sup>3)</sup> 寺戸 信芳<sup>3)</sup> 久岡 正典<sup>1)</sup>

産業医科大学医学部第1病理学<sup>1)</sup>, 同 医学部第2外科学<sup>2)</sup>, 産業医科大学病院病理部<sup>3)</sup>

**背景:** 類上皮血管内皮腫 (epithelioid hemangioendothelioma : EHE) は肺, 肝, 骨・軟部組織に好発する悪性血管系腫瘍であり, 多くは *WWTR1-CAMTA1* 融合遺伝子を有する. 今回われわれは, 胸膜に発生した EHE を経験した.

**症例:** 62 歳, 男性. 右側の胸水貯留と全周性の胸膜肥厚があり, 臨床的に肺癌や悪性中皮腫が疑われたが, 生検の結果 EHE と診断された. 右胸膜肺全摘と心膜横隔膜合併切除が行われたが, 腫瘍の完全摘出は困難であった. 胸壁の残存腫瘍の増大や腹水の出現があり, 放射線・化学療法が行われたが, 術後3ヵ月で死亡した. 病理学的所見: 上皮様の腫瘍細胞が小胞巣状, 索状に増殖し, しばしば細胞質内空胞を認めた. パラフィン包埋腫瘍組織を用いた分子遺伝学的検索にて *WWTR1-CAMTA1* 融合遺伝子が検出された. 細胞所見: 淡い細胞質と偏在性の不整な核を有する円形ないし短紡錘形の異型細胞が出現していた. 少数の細胞に細胞質内空胞を認めた. 腹水セルブロックの免疫染色では, 血管内皮マーカーと CAMTA1 が陽性であった.

**結論:** 胸膜発生の EHE は腺癌や悪性中皮腫との鑑別が問題となるが, 上皮様に加え紡錘形の異型細胞の混在や細胞質内空胞の存在を認識し, 体腔液検体のセルブロックを用いた免疫染色を併用することで診断可能と考えられる.

**Key words :** Epithelioid hemangioendothelioma, Cytology, CAMTA1, Pleura, Cell block

## I. はじめに

類上皮血管内皮腫 (epithelioid hemangioendothelioma : EHE) は肺, 肝, 骨・軟部組織に好発する悪性血管系腫瘍

であるが, まれに胸膜に発生することがあり, その場合は非常に進行が早く, ほとんどの患者が1年以内に死にいたる<sup>1)</sup>. びまん性の胸膜肥厚を呈することが多く, 臨床的にしばしば肺癌や悪性中皮腫との鑑別が問題となる. 今回われわれは, 胸膜に発生した EHE を経験したので, 細胞像を中心に報告する.

A case of pleural epithelioid hemangioendothelioma  
 Yojiro TSUDA<sup>1)</sup>, M. D., Atsuji MATSUYAMA<sup>1)</sup>, M. D., Masaru TAKENAKA<sup>2)</sup>, M. D., Narumi MITSUDA<sup>3)</sup>, C. T., Yuki NAKASHIMA<sup>3)</sup>, C. T., Noriko TSUNENARI<sup>3)</sup>, C. T., Nobuyoshi TERADO<sup>3)</sup>, C. T., Masanori HISAOKA<sup>1)</sup>, M. D.

<sup>1)</sup>Department of Pathology and Oncology, School of Medicine, <sup>2)</sup>Second Department of Surgery, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Japan

<sup>3)</sup>Department of Surgical Pathology, University Hospital, University of Occupational and Environmental Health, Japan

論文別刷請求先 〒 807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘1の1 産業医科大学医学部第1病理学 松山篤二

令和2年2月27日受付

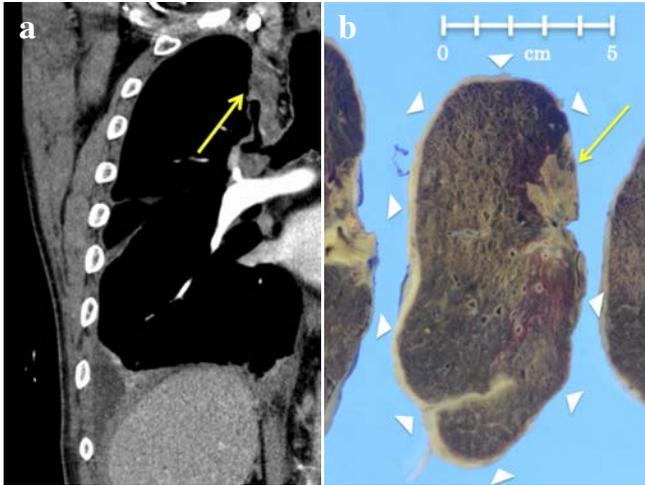
令和2年3月5日受理

## II. 症 例

年齢・性別: 62 歳, 男性.

既往歴: 高血圧, 脳動脈解離.

現病歴: 息切れを主訴に近医を受診し, 胸部単純 X 線で右胸水を指摘された. 胸部 CT で縦隔側に右肺上葉と接する 7 cm 大の腫瘤影と同側の胸水貯留, 全周性胸膜肥厚がみられ (Photo. 1a), positron emission tomography (PET)-CT では, 右肺の腫瘍部や右胸膜全体に集積亢進像を認めた. 放射線画像では, 肺癌とその胸膜播種あるいは



**Photo. 1** (a : Chest CT) Pleural tumor involving the right upper lobe and mediastinum (arrow), associated with right pleural effusion. (b : Gross appearance of the tumor) Diffusely thickened visceral pleura (arrowheads), and the tumor invading the right upper lobe (arrow).

悪性胸膜中皮腫が疑われた。右胸腔鏡下胸膜生検の結果、類上皮血管内皮腫と診断され、約2ヵ月後に開胸右胸膜肺全摘と心膜・横隔膜合併切除が行われた。

入院時検査所見：NSEが19.2 ng/mlと軽度上昇を示していたが、SCCやCYFRA, proGRP, SLXなどの他の腫瘍マーカーの上昇はみられなかった。

術後経過：胸壁に腫瘍の遺残があり、術後1ヵ月の胸腹部CTでは残存病変の増大に加え転移を疑わせる縦隔リンパ節の腫大、腹水の貯留を認めた。放射線治療やパゾパニブによる化学療法も行われたが、腫瘍性胸腹水のコントロールが困難となり、術後約3ヵ月で死亡された。なお病理解剖は行われなかった。

### III. 肉眼的, 病理組織学的, 分子遺伝学的所見

胸膜は黄白色調で壁側胸膜、臓側胸膜は癒着し全周性に肥厚していた (Photo. 1b)。組織学的には、線維性に肥厚した胸膜内に、多稜形から短紡錘形の腫瘍細胞が索状、小胞巣状に増殖しており、細胞質内空胞が散見され、同空胞内に赤血球を入れている細胞もみられた (Photo. 2a, b)。核異型の軽度な腫瘍細胞も小範囲にみられたが、大部分は高度の核異型を呈し、豊富な好酸性細胞質を有する細胞が多数認められ (Photo. 2c)、血管肉腫に類似する像もみられた。縦隔側に右肺上葉に及ぶ径7 cm大の境界不明瞭な腫瘤を形成し、腫瘍細胞が広範な壊死を伴い肥厚した肺胞壁を這うように増殖していたが、肺原発のEHEで通常みられる、肺胞腔内を充填するような粘液腫状ないし硝子様基

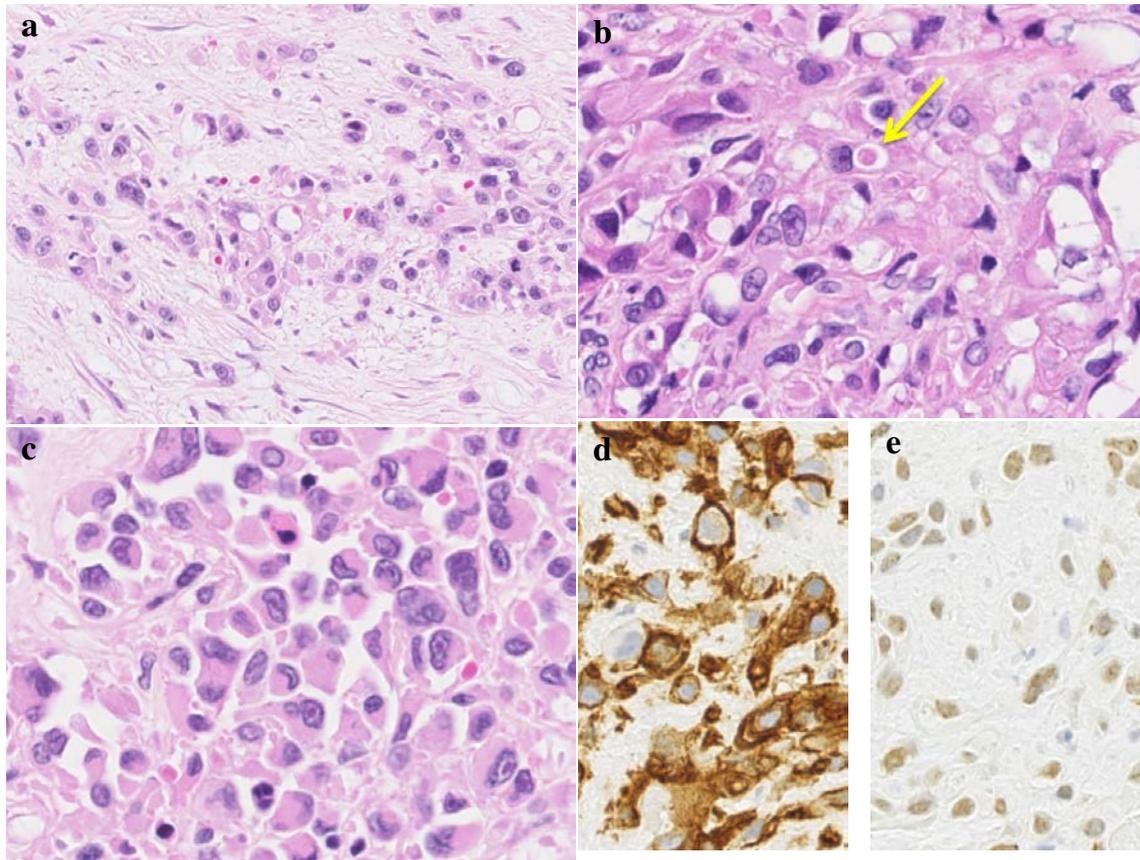
質を伴った充実性の増殖は認められなかった。核分裂像は強拡大10視野あたり1個未満であった。腫瘍細胞の浸潤は胸膜から肺実質、心膜、横隔膜、気管支壁、同側の肺門リンパ節に及んでいた。免疫組織化学的に、血管内皮マーカーであるCD31, CD34, ERG, FLI-1の発現が認められ (Photo. 2d)、上皮性マーカー (AE1/AE3, CAM5.2) も一部に陽性であったが、calretinin, TTF-1, Napsin Aは陰性であった。CAMTA1は腫瘍細胞の核内に陽性であった (Photo. 2e)。EHEに特異的な*WWTRI-CAMTA1*融合遺伝子産物を検出するため、パラフィン包埋腫瘍組織を用いてreverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)を行ったところ、*WWTRI*遺伝子 exon3と*CAMTA1*遺伝子 exon9の融合から成る転写産物が検出された (Fig. 1)。

### IV. 細胞学的所見

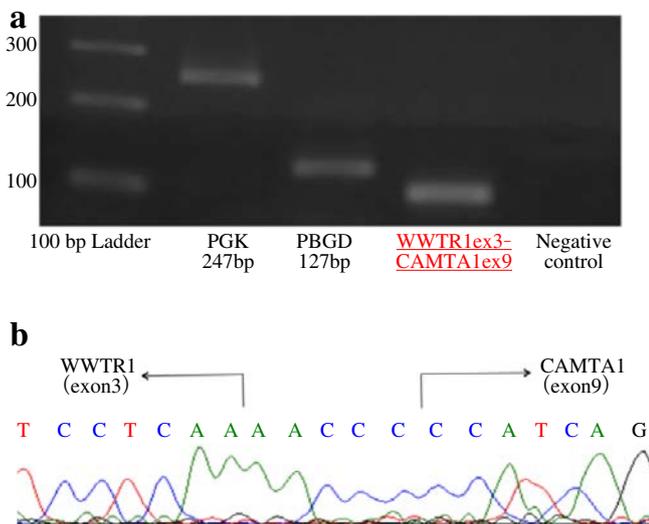
手術検体からの捺印細胞診標本と、術後に生じた腹水の細胞診ならびにセルブロック標本が作製された。いずれも円形ないし短紡錘形の腫瘍細胞が孤立散在性または結合性の弱い平面的な集塊で出現していた (Photo. 3a)。少数ながら細胞質内空胞を伴う腫瘍細胞も確認された (Photo. 3b)。腫瘍細胞の細胞質は淡く、核は偏在性で一部は突出し、細顆粒状のクロマチンと小型の核小体を入れていた。核皺などの核形不整が目立ち、二核または多核の腫瘍細胞も多数みられた。セルブロック標本を用いて免疫染色を行ったところ、CD31やERG, CAMTA1が陽性で、calretininとTTF-1は陰性であった (Photo. 4)。

### V. 考 察

胸膜に発生するEHEは胸水貯留やびまん性の胸膜肥厚を伴い広範に進展するため、肺癌の胸膜播種や悪性中皮腫との鑑別が問題となるが、EHEは細胞形態にそれらとは異なる特徴を有している。具体的には、①細胞集塊は小集塊状から孤立性であること、②腫瘍細胞は円形、多角形ないし紡錘形で、一部に突起様の構造をみるなどの多彩性がみられること、③細胞質は淡明で均質であること、④核は偏在性であり、クロマチンは微細顆粒状、小型の核小体を1~2個認めること、⑤細胞質内空胞を有すること、が挙げられ<sup>2-5)</sup>、本例でもそれらに一致した所見を認めた。また、切れ込みや核皺などの核形不整や二核または多核細胞の出現も報告されている<sup>2,5)</sup>。悪性中皮腫との鑑別には、結合性の強い集塊が出現しないことや核形不整が目立つこと、腺癌との鑑別には紡錘形細胞の出現や不整形の細胞にみられる細胞質内空胞が要点となる。Mentzelらは、組織学的に、



**Photo. 2** a, b : Tumor cells arranged in small nests or cords, occasionally containing intracytoplasmic vacuoles (arrow) (H. E. staining, a :  $\times 20$ , b :  $\times 40$ ). c : Tumor cells showing severe cellular atypia (H. E. staining,  $\times 40$ ). d, e : Immunohistochemically, the tumor cells showed positive staining for CD31 (d :  $\times 40$ ) and CAMTA1 (e :  $\times 40$ ).

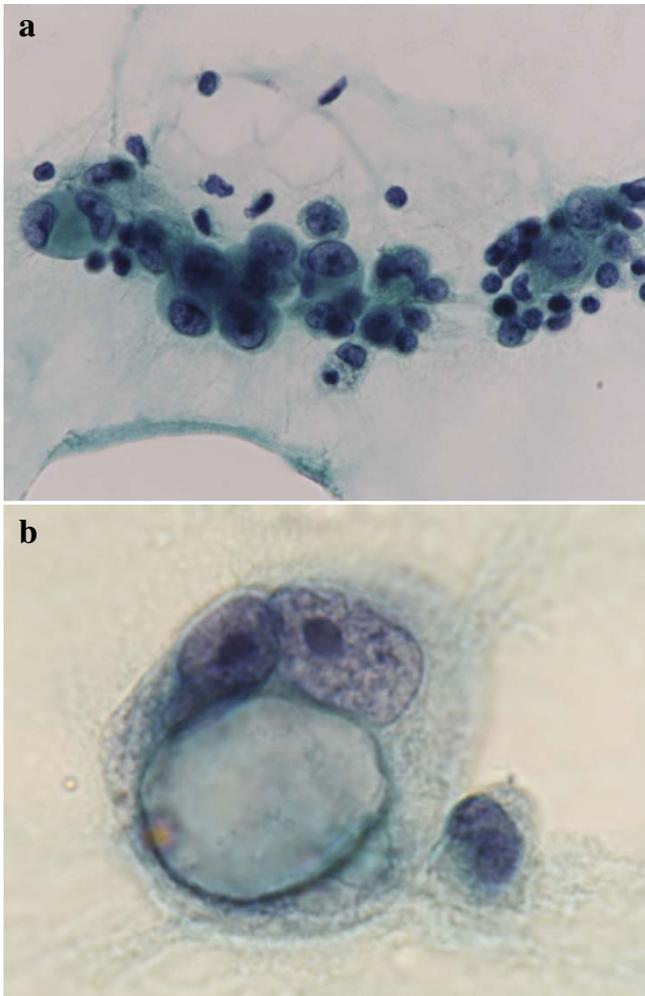


**Fig. 1** RT-PCR analysis for the *WWTR1-CAMTA1* fusion transcript using the formalin-fixed, paraffin-embedded tumor specimen. a : RT-PCR demonstrating a 101 bp-sized fusion transcript of *WWTR1-CAMTA1*, b : The PCR product with fusion between exon 3 of the *WWTR1* gene and exon 9 of the *CAMTA1* gene.

著明な核の異型性, 多数の紡錘形細胞, 強拡大 10 視野あたり 2 個以上の核分裂像, 血管肉腫に類似した像を予後不良因子として挙げている<sup>6)</sup>が, 本例ではそれらの特徴に加え, 二核または多核細胞が目立ったことから, 胸膜発生の EHE の中でも特に高悪性度のものと予測される。

EHE は免疫組織化学的に 25~40% の例がサイトケラチンなどの上皮性マーカーを発現する<sup>6,7)</sup>ため, 肺癌や悪性中皮腫と誤認される可能性があるが, 血管内皮マーカーに陽性となるため, それにより区別することが可能と思われる。しかし, 胸膜にはまれに血管肉腫も発生するため, 血管内皮マーカーのみでは確定診断が困難な場合がある。EHE は疾患特異的な融合遺伝子を有し, 約 90% の例に検出される *WWTR1-CAMTA1* 融合遺伝子<sup>8~11)</sup>, 血管形成を示す非定型例などの少数例に見出される *YAP-TFE3* 融合遺伝子<sup>12)</sup>が報告されている。

*WWTR1-CAMTA1* 融合遺伝子を有する EHE では, その融合遺伝子産物が CAMTA1 抗体を用いた免疫染色で検出可能なため, 確定診断に有用である<sup>13)</sup>。本例のように体腔液に腫瘍細胞が出現することもあるため, 体腔液から作成



**Photo. 3** a : Tumor cells arranged in loosely cohesive clusters. (Pap. staining,  $\times 40$ ). b : Intracytoplasmic vacuole in a tumor cell (Pap. staining,  $\times 100$ ).

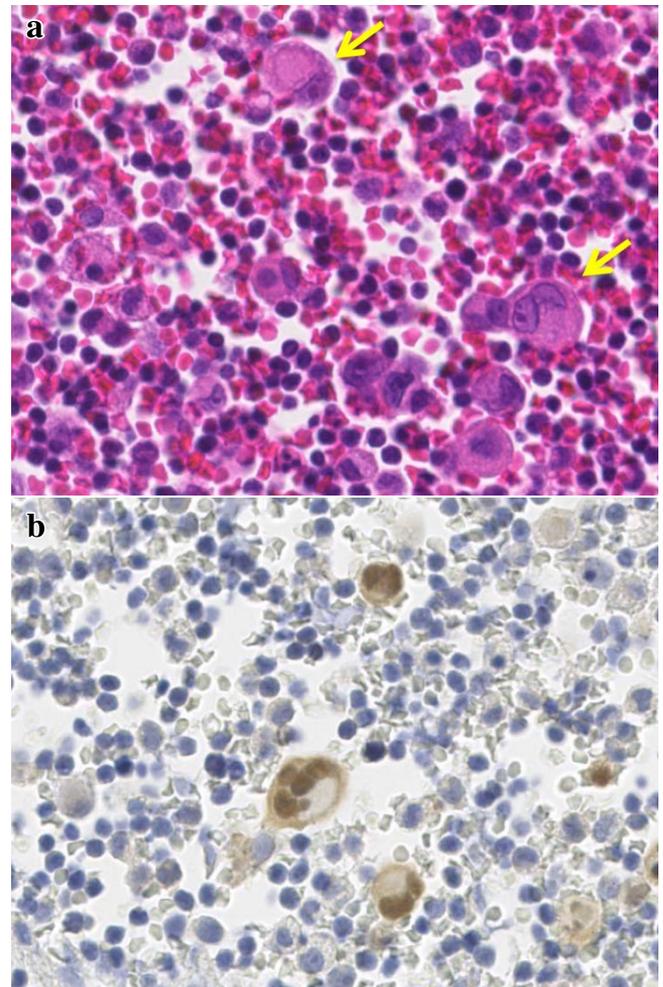
されたセルブロック標本を用いて、血管内皮マーカに加えて CAMTA1 の発現を検索することは、EHE の診断を支持する有力な方法であると思われる。

胸膜発生の EHE は他臓器に発生したものに比べ、非常に進行が早く予後が不良であり、本例でも局所進展の制御が困難となり術後 3 ヶ月で死亡の転帰をたどった。胸水貯留を伴うびまん性の胸膜肥厚を示す症例では EHE の可能性も考慮のうえ、体腔液検体を用いて検索を行い、すみやかに診断と治療を講じることが重要であると考えられる。

筆者らは、開示すべき利益相反状態はありません。

### Abstract

**Background** : Epithelioid hemangioendothelioma (EHE) is a malignant vascular neoplasm with a predilection for the lung, liver, bone and



**Photo. 4** Cell block specimen of ascites. a : Dispersed tumor cells with hyperchromatic and eccentric nuclei (arrows) (a : H. E. staining,  $\times 40$ ). Immunocytochemically, the tumor cells showed variable nuclear expression of CAMTA1 (b :  $\times 40$ ).

soft tissues, and harbors the specific *WWTR1-CAMTA1* fusion gene.

**Case** : A 62-year-old male was referred to our hospital with pleural effusion and diffuse pleural thickening. Pleural biopsy revealed the diagnosis of EHE, and the patient was treated by extrapleural pneumonectomy. After the surgery, the residual tumor in the pleura enlarged and the patient also developed ascites. Post-operative chemo-radiotherapy proved ineffective, and the patient died 3 months after the surgery. **Histological findings** : The tumor was composed of proliferating epithelioid cells, that sometimes showed intracytoplasmic vacuoles, arranged in cords or small nests. The *WWTR1-CAMTA1* fusion transcript was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction using formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue. **Cytological findings** : The specimen showed epithelioid or spindle-shaped tumor cells having eccentric and irregular-shaped nuclei and pale-staining cytoplasm that sometimes contained intracytoplasmic vacuoles. Immunocytochemistry using a cell block specimen showed positive staining for endothelial

markers and CAMTA1 in the tumor cells.

**Conclusion** : The diagnosis of pleural EHE can be made in cytology specimens, and CAMTA1 immunocytochemistry using a cell block specimen is a useful diagnostic adjunct.

## 文 献

- 1) Crotty, E. J., McAdams, H. P., Erasmus, J. J., Sporn, T. A., Roggli, V. L. Epithelioid hemangioendothelioma of the pleura : clinical and radiologic features. *AJR Am J Roentgenol* 2000 ; 175 : 1545-1549.
- 2) 亀田夕貴, 新森栄一郎, 伊藤栄作, 根木真理子, 関根正喜, 中嶋 裕・ほか. 免疫細胞化学染色を用いた胸水細胞診で再発と診断可能であった類上皮血管内皮腫の1例. *日臨細胞会誌* 2015 ; 54 : 205-209.
- 3) 吉川敏雄, 政池コズエ, 柳井豊秀, 森内 昭, 谷村 晃, 川元博之. 肺の類上皮血管内皮腫の2例. *日臨細胞会誌* 1996 ; 35 : 232-236.
- 4) 佐々木健司, 桑田久子, 木村友紀, 末房 恵, 神田真規, 米原修治・ほか. 穿刺吸引細胞診において非小細胞癌との鑑別を要した肺の類上皮血管内皮腫の1例. *日臨細胞学会広島県支部会誌* 2000 : 37-41.
- 5) 中國恭美, 香田浩美, 梶谷博則, 小寺明美, 原田美香, 實平悦子・ほか. 胸水中に出現した胸膜型類上皮血管内皮腫の1例. *倉敷中央病院年報* 2010 ; 72 : 111-114.
- 6) Mentzel, T., Beham, A., Calonje, E., Katenkamp, D., Fletcher, C. D. M. Epithelioid hemangioendothelioma of skin and soft tissues : clinicopathologic and immunohistochemical study of 30 cases. *Am J Surg Pathol* 1997 ; 21 : 363-374.
- 7) Miettinen, M., Fetsch, J. F. Distribution of keratins in normal endothelial cells and a spectrum of vascular tumors : implications in tumor diagnosis. *Hum Pathol* 2000 ; 31 : 1062-1067.
- 8) Antonescu, C. R., Le Loarer, F., Mosquera, J. M., Sboner, A., Zhang, L., Chen, C. L., et al. Novel YAP1-TFE3 fusion defines a distinct subset of epithelioid hemangioendothelioma. *Genes Chromosomes Cancer* 2013 ; 52 : 775-784.
- 9) Anderson, T., Zhang, L., Hameed, M., Rusch, V., Travis, W. D., Antonescu, C. R. Thoracic, epithelioid malignant vascular tumors : a clinicopathologic study of 52 cases with emphasis on pathologic grading and molecular studies of WWTR1-CAMTA1 fusions. *Am J Surg Pathol* 2015 ; 39 : 132-139.
- 10) Errani, C., Zhang, L., Sung, Y. S., Hajdu, M., Singer, S., Maki, R. G., et al. A novel WWTR1-CAMTA1 gene fusion is a consistent abnormality in epithelioid hemangioendothelioma of different anatomic sites. *Genes Chromosomes Cancer* 2011 ; 50 : 644-653.
- 11) Patel, N. R., Salim, A. A., Sayeed, H., Sarabia, S. F., Hollingsworth, F., Warren, M., et al. Molecular characterization of epithelioid haemangioendotheliomas identifies novel WWTR1-CAMTA1 fusion variants. *Histopathology* 2015 ; 67 : 699-708.
- 12) Tanas, M. R., Sboner, A., Oliveira, A. M., Erickson-Johnson, M. R., Hespelt, J., Hanwright, P. J., et al. Identification of a disease-defining gene fusion in epithelioid hemangioendothelioma. *Sci Transl Med* 2011 ; 3 : 98ra82.
- 13) Shibuya, R., Matsuyama, A., Shiba, E., Harada, H., Yabuki, K., Hisaoka, M. CAMTA1 is a useful immunohistochemical marker for diagnosing epithelioid haemangioendothelioma. *Histopathology* 2015 ; 67 : 827-835.

## マイクロチューブを利用した細胞浮遊状態での 免疫細胞化学染色法の検討

石田 誠実 中西 昂弘 鳥居 良貴 廣田 誠一

兵庫医科大学病院病院病理部

### I. はじめに

電界攪拌染色装置を用いた免疫細胞化学染色（以下、免疫染色）では染色時間を短縮することが可能である<sup>1)</sup>。しかしながら、電界攪拌染色装置は高価であるため、今回われわれはこの装置を用いず、細胞をマイクロチューブ内に浮遊させた状態で抗原抗体反応と発色を施行し、その後スライドガラスに細胞を塗抹する安価で染色時間を短縮できる可能性のある方法（以下、浮遊法）を考案した。浮遊法とスライドガラスに塗抹した後に抗原抗体反応や発色を行う従来の方法（以下、従来法）における染色性の比較検討を行ったので報告する。

### II. 対象および使用試薬

対象は腹水細胞診にて低分化腺癌（胃癌）と診断された5例である。なお、陰性対照として肺腺癌2例を用いた。試薬はBond ポリマーシステム Refine キット (Leica Biosystems, Nussloch, Germany), BOND Wash Solution 10X Concentrate (Leica Biosystems) (以下、洗浄用試薬), BOND Epitope Retrieval Solution 1 (Leica Biosystems) (以下, ER1), Tris Buffered Saline with Tween 20 (Merck, Darmstadt, Germany) (以下, TBS-T), 抗 carcinoembryonic antigen (CEA) マウスモノクローナル抗体 (DakoCytomation, Glostrup, Denmark) を使用した。

### III. 方 法

BD サイトリッチレッド保存液(日本ベクトン株式会社, Tokyo, Japan) にて固定した液状細胞診検体を用いて、従来法と浮遊法でCEAの免疫染色を行った。基本的な染色手順はどちらも Table 1 のルーチンプロトコルおよび短縮プロトコルを用いた。

従来法では、細胞を塗抹した BD SurePath プレコートスライド (日本ベクトン株式会社) を用い、自動染色装置 BOND-III (Leica Biosystems) にて染色した。短縮プロトコルでは、抗原賦活、TBS-T 洗浄が省略され、ブロッキングは気泡発生による弊害を避けるために 3,3'-diaminobenzidine (DAB) 発色前ではなく一次抗体反応前で 1.5 分間反応させた。またその他すべての染色工程は 1 分間で反応させた。浮遊法の操作手順を以下に示す。

#### 1. 検体処理

BD サイトリッチレッド保存液にて固定した腹水細胞診検体 1 ml をマイクロチューブに移す。

#### 2. 洗浄 (Table 1 Routine protocol, procedure-1)

小型微量遠心機 (Merck) にてマイクロチューブを 0.5 分間遠心する。チューブ底壁面に沈渣が得られ (Photo. 1a), 注意して上清を除去する。沈渣に洗浄用試薬 1 ml を加え、ピペッティングにて十分に攪拌する。攪拌後、小型微量遠心機にて 0.5 分間遠心する。チューブ底壁面に沈渣が得られ (Photo. 1b), 注意して上清を除去する。

#### 3. 抗原賦活処理 (Table 1 Routine protocol, procedure-2)

沈渣に ER1 300  $\mu$ l を加え、ピペッティングにて十分に攪拌したうえで 98°C に設定したアルミブロック恒温槽 (株式会社サイニクス, Tokyo, Japan) にセットし、10 分間静置・反応させる。

Investigation of immunocytochemical staining method in cell suspension state using microtube

Masanori ISHIDA, C. T., I. A. C., Takahiro NAKANISHI, C. T., I. A. C., Yoshitaka TORII, C. T., I. A. C., Seiichi HIROTA, M. D.

Department of Surgical Pathology, Hyogo College of Medicine Hospital

論文刷請求先 〒 663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1 の 1 兵庫医科大学病院病院病理部 石田誠実

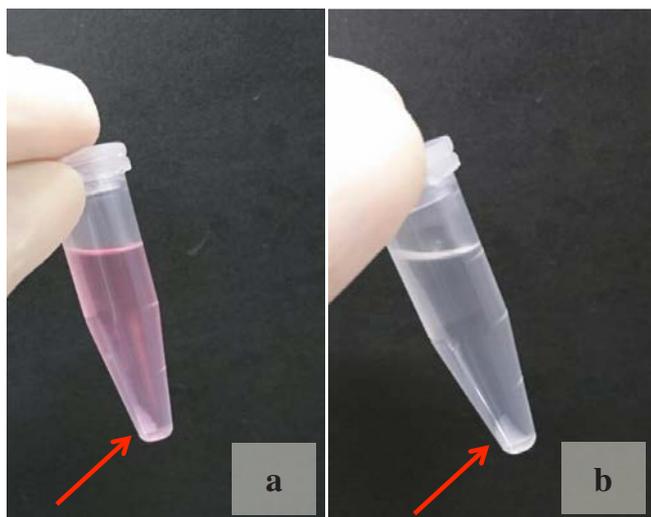
平成 31 年 1 月 22 日受付

令和 元年 7 月 21 日受理

**Table 1** Immunocytochemistry protocol for CEA

Routine protocol		Short protocol	
Procedure	Time*	Procedure	Time*
1 Rinse with wash solution three times		1 Rinse with wash solution three times	
2 Heat-induced epitope retrieval (98°C)	10	2 Peroxide block solution	1.5
3 Rinse with wash solution three times		3 Rinse with wash solution three times	
4 Anti-CEA antibody (100-fold dilution)	15	4 Anti-CEA antibody (100-fold dilution)	1
5 Rinse with wash solution three times		5 Rinse with wash solution three times	
6 Post primary solution	8	6 Post primary solution	1
7 Rinse with wash solution		7 Rinse with wash solution three times	
8 Tris-buffered saline with Tween 20	5	8 Polymer solution	1
9 Rinse with wash solution		9 Rinse with wash solution three times	
10 Polymer solution	8	10 Rinse with distilled water	
11 Rinse with wash solution		11 Diaminobenzidine peroxidase substrate solution	1
12 Tris-buffered saline with Tween 20	5	12 Rinse with distilled water twice	
13 Tris-buffered saline with Tween 20	5	13 Hematoxylin	1
14 Rinse with wash solution		14 Rinse with distilled water	1
15 Peroxide block solution	5		
16 Rinse with wash solution three times			
17 Rinse with distilled water			
18 Diaminobenzidine peroxidase substrate solution	5		
19 Rinse with distilled water twice			
20 Hematoxylin staining	1		
21 Rinse with distilled water	1		

\* time in minute



**Photo. 1** Sediment obtained by centrifugation for 30 seconds (arrow). a : After cytorich red fixation. b : After rinse with wash solution.

#### 4. 試薬との反応 (Table. 1 Routine protocol, procedure-3-18)

2. と同様の洗浄操作を行った後, 各工程に従って試薬 300  $\mu$ l を加え, ピペティングにて十分に攪拌したうえで指定の時間室温で静置・反応させる.

#### 5. 塗抹・核染色 (Table. 1 Routine protocol, procedure-19-21)

DAB 反応後の蒸留水洗浄で得られた沈渣に蒸留水 250  $\mu$ l を加え, 用手法にて BD SurePath プレコートスライドに塗抹する (10 分間静置). 塗抹後, そのままセトリングチャンバー (日本ベクトン株式会社) を利用してヘマトキシリン染色を行い, 脱水・透徹・封入操作を行う.

### IV. 結 果

ルーチンプロトコルでは, 5 例すべてにおいて従来法と同様に浮遊法でも CEA 陽性細胞を検出することができた (Photo. 2). 浮遊法によって細胞の大きさ, 核クロマチンの染色性に明らかな変化はみられなかった. また, 全工程に要した時間は, 浮遊法, 自動染色装置 BOND-III を利用した従来法ともに 90 分程度であった. 浮遊法における偽陽性の可能性を否定するために, 陰性対照の肺腺癌症例 2 例を用いて免疫染色したところ, 2 例ともに陰性の結果が得られた. 短縮プロトコルでは, 正常細胞の非特異反応や偽陰性を示す癌細胞などがみられ, どちらの方法でも良好とはいえない染色結果であったが, 大部分の癌細胞は従来法では弱陽性像を示したのに対し, 浮遊法ではルーチンプロトコルと同程度の陽性強度を示していた.

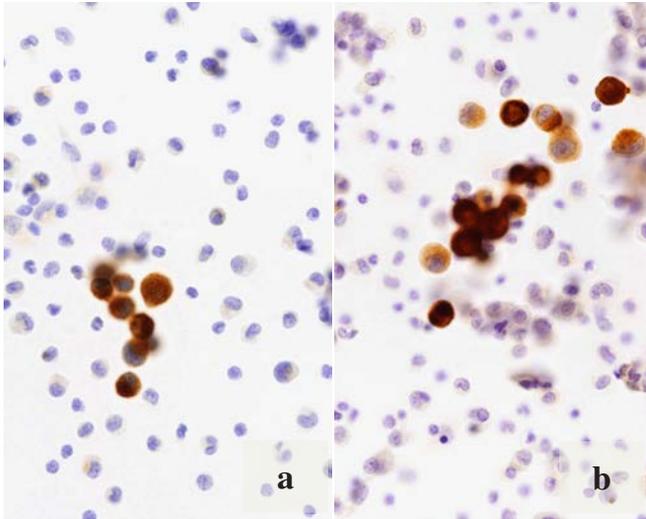


Photo. 2 Immunocytochemical findings (CEA, ×20). a : Conventional method. b : Floating method.

## V. 考 察

電界攪拌染色装置を利用した従来法の免疫染色では、溶液内粒子速度が増大し、抗原と抗体との接触頻度が増加することから、染色時間の短縮が可能であると報告されている<sup>1)</sup>。本検討においては浮遊法の時間短縮の可能性についての検討も含めたため、従来法はルーチンで使用している機械染めを施行し両者を比較した。浮遊法では、マイクロチューブ内で細胞と試薬の両方を攪拌できることから、電界攪拌技術を利用せずとも癌細胞は強い染色性を得られたと推察でき、自動染色機器を用いた従来法と同様な染色時間で強い染色性を確認できた。しかし短縮プロトコルでは非特異反応や偽陰性を示す癌細胞が出現するため、時間短

縮は推奨できない。この原因としては、ブロッキングおよび洗浄の不足、抗体濃度が不十分であることなどが推測される。

本浮遊法は現時点において免疫染色における安定性と迅速化への課題はあるが、LBC (liquid-based cytology) 残余検体をマイクロチューブ内に浮遊させた状態で免疫抗原抗体反応を確認できたため、フローサイトメトリーなど他の検査に応用できる可能性も示唆された。今後さらなる検討が必要である。

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(平成30年6月、北海道)で発表した。

## Abstract

In this study, we developed a new immunocytochemistry method, which is performed on floating cells. After antigen-antibody reaction and colorization carried out under the floating condition in a microtube, the cells are on a slide glass. This floating immunocytochemical method allows stronger colorization than the conventional immunocytochemical method. This cell floating method could also improve the immunostaining by shortening the staining time in comparison with the conventional method.

## 文 献

- 1) 中村竜太, 赤上陽一, 久住孝幸, 南谷佳弘, 加賀谷昌美, 南條 博. 電界非接触攪拌技術を用いた抗原抗体反応の迅速メカニズムの解明(第3報)~タンパク質の分子量の違いにおける抗体移動速度について~. 2015年度精密工学会秋季大会学術講演会講演論文集, JSPE 2015: 799-800.

## 短 報

## 肝転移巣で混合腺神経内分泌癌が示唆された膵腫瘍の1例

下田 翼 水口 敬司 中田 聡子 池田 博子

金沢大学附属病院病理診断科・病理部

## I. はじめに

混合腺神経内分泌癌 (mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC) は外分泌腫瘍成分と内分泌腫瘍成分の混合腫瘍で、2016年の膵癌取り扱い規約第7版に追加された<sup>1)</sup>。今回われわれは、肝転移巣でMANECが示唆された膵腫瘍の1例を経験したので報告する。

## II. 症 例

患者は59歳、女性。既往歴は特記事項なし。現病歴は腹部痛と膨満感、嘔気があり、前医受診。造影CTにて膵癌と診断され、精査加療目的で当院紹介となった。

## III. 細胞所見

膵穿刺吸引細胞診では、血性背景に多数の不規則重積集塊を認めた。集塊を構成する細胞は、ライトグリーン好性の比較的明瞭な細胞質を有していた。核は腫大し大小不同、核縁は軽度肥厚していた。クロマチンは粗顆粒状で、ごま塩状にみえる細胞も認め、神経内分泌腫瘍 (neuroendocrine tumor, NET) や腺癌が鑑別としてあげられた (Photo 1a)。

## IV. 病理組織所見

膵 endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration (EUS-FNA) の組織診では腫瘍細胞が充実性に増殖し、一部でロゼット状の配列を認めた。CEAは一部の細胞で陽性

を示した (Photo. 1b)。また、その他の免疫組織化学的解析では、腫瘍細胞は神経内分泌マーカーが陽性、Ki-67 index が13%でNET G2と診断された (Table 1)。血中ホルモンは、ガストリンのみ高値であったが、組織におけるガストリン抗体を用いた免疫染色では、少数の細胞が弱く陽性を示すのみであり、明らかな陽性像とはいえなかった。

遺伝子検査目的で採取された肝転移巣の生検では、硝子様間質を伴った胞巣状、管状、索状集塊を認めた。管状構造を示す部位では、PAS染色、消化PAS染色、Alucian blue染色が陽性を示した。また免疫組織化学的には、管状集塊は神経内分泌マーカー、CEAがともに陽性であった (Photo. 2)。胞巣状、索状集塊では神経内分泌マーカーが陽性でCEAは一部で弱陽性となり、CEAの染色性に違いがみられた。以上の結果より、腫瘍細胞がNETと腺癌の両方の性質を有していることから、MANECが示唆された。

## V. 考 察

MANECは一つの腫瘍細胞が内分泌と外分泌の両方の性質をもつ amphicrine type、腫瘍内に内分泌腫瘍細胞と外分泌腫瘍細胞が混在する mixed type、腫瘍の一端には内分泌腫瘍細胞のみが、反対側には外分泌腫瘍細胞のみがあり中心にはそれらが混在した collision type、一つの腫瘍内で内分泌腫瘍細胞と外分泌腫瘍細胞が明瞭な境界をもって分かれている solitary concomitant type、内分泌腫瘍と外分泌腫瘍が同時に重複して増殖している multiple concomitant type に分類される<sup>2)</sup>。その中でも amphicrine type はわれわれが検索しえた限りでは膵発生に限定すると6例のみで非常にまれな腫瘍である<sup>3)</sup>。

肝転移巣の組織診では腫瘍細胞は腺管構造を示し、粘液染色陽性の腺腔に一致して神経内分泌マーカーが陽性となった。これは一つの細胞が外分泌と内分泌の両方の性質をもっていることを示している。よって本例は amphicrine type の MANEC と考えた。通常、MANEC の診断にはそれぞれの成分が30%以上含まれるものとWHO分類で定めら

A case of pancreatic mixed adenoneuroendocrine carcinoma and liver metastasis

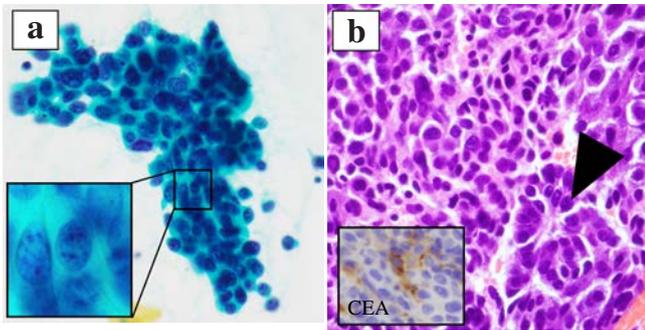
Tsubasa SHIMODA, C. T., J. S. C., Keishi MIZUGUCHI, C. T., I. A. C., Satoko NAKADA, M. D., F. I. A. C., Hiroko IKEDA, M. D., F. I. A. C.

Department of Pathology, Kanazawa University Hospital

論文別刷請求先 〒920-8641 石川県金沢市宝町13の1 金沢大学附属病院病理診断科・病理部 下田 翼

令和2年3月3日受付

令和2年3月9日受理



**Photo. 1** EUS-FNA specimens. a : Cytological findings. Loosely cohesive cells clusters are observed. The tumor cell nuclei are large and round, and contain coarsely granular chromatin. The cytoplasm is light green and the margin is clear (Papanicolaou staining,  $\times 40$ ). b : Histopathological findings. A rosette-like structure is observed (arrowhead) (HE staining,  $\times 40$ ). Some cells with CEA-positive staining of the cytoplasm are observed (small window,  $\times 40$ ).

れている。しかし本例のように amphicrine type の場合は、一つの細胞における外分泌と内分泌の性質を証明することで、MANEC の推定は可能と考えた。また膵腫瘍においても、明確な腺への分化は認められないものの、CEA が一部で陽性になるなど、腺への分化傾向が認められた。MANEC は通常の NET と比較して、悪性度が高い症例が多い<sup>4)</sup>。したがって、腺への分化傾向がみられた場合は、MANEC の可能性を考慮することが重要と思われた。

本例では、細胞所見が通常の NET や腺癌とは異なる印象であった。MANEC に特徴的な細胞像は見い出せなかったが、典型的な NET の細胞像と異なる症例では、MANEC の可能性にも留意する必要があると考えられた。

また本例は膵 EUS-FNA と肝転移巣での Ki-67 index が大きく異なっていた。肝転移巣の生検は化学療法後の腫瘍増大時に施行されたもので、薬剤抵抗性を獲得したより悪性度の高い腫瘍細胞が増殖したことが理由の一つと考えられた。

膵に発生する MANEC は通常型の膵腫瘍とは異なる進展、治療効果を呈する可能性があり、慎重な診断が求められる。そのため EUS-FNA で本例のように NET の細胞像が典型的でない場合は、併存腫瘍の可能性も念頭に置き注意深く観察する必要があると考えられた。

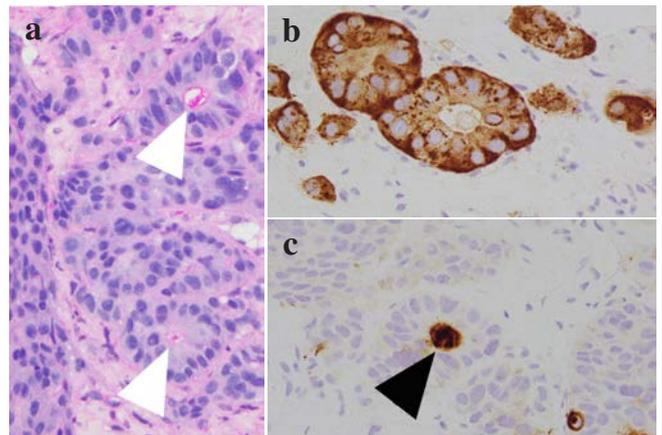
著者らは、本論文において開示すべき利益相反状態はありません。

### Abstract

We report the case of a 59-year-old woman with pancreatic mixed adenoneuroendocrine carcinoma (MANEC) and liver metastasis. The EUS-FNA smear was hypercellular with neoplastic cells scattered in

**Table 1** Comparison of the immunohistochemical findings of the pancreatic aspirate and liver specimens

	Pancreas (Primary)	Liver (Metastasis)
PAS	-	+
Alcian Blue	-	+
Chromogranin A	+	+
Synaptophysin	+	+
CD56	+	+
SSTR2	+	+
CEA	+ (focal)	+ (lumen)
Ki-67 index	13%	55%



**Photo. 2** Special staining and immunohistochemical staining of the liver biopsy specimens. a : PAS-positive mucin is observed in the lumen (arrowheads) ( $\times 40$ ). b : Chromogranin A-positive cells are observed ( $\times 40$ ). c : CEA-positive secretion is observed in the lumen of the chromogranin A-positive cells (arrowhead) ( $\times 40$ ).

loosely cohesive clusters. The tumor cells had large round nuclei, coarse granular chromatin and light green cytoplasm. Although the diagnosis was suspected as NET or adenocarcinoma, the lack of a definite pattern and unclear differentiation prevented a definitive cytological differential diagnosis. Histopathological examination of the liver biopsy specimen revealed that the tumor nests contained intraluminal mucin and immunohistochemistry revealed that the cells were positive for neuroendocrine markers. Thus, we finally made the histopathological diagnosis of MANEC.

### 文 献

- 1) 福村直樹. 膵癌取り扱い規約 7版. 東京: 金原出版; 2016. 72.
- 2) Chang, S. M., Yan, S. T., Wei, C. K., Lin, C. W., Tseng, C. E. Solitary concomitant endocrine tumor and ductal adenocarcinoma of pancreas. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2692-2697.
- 3) Ludmir, E. B., McCall, S. J., Cardona, D. M., Perkinson, K. R., Guy, C. D., Zhang, X., et al. Mixed adenoneuroendocrine carcinoma, amphicrine type, of the small bowel. *Am J Clin Pathol* 2016; 145: 703-709.
- 4) Ballas, K. D., Rafailidis, S. F., Demertzidis, C., Alatsakis, M. B., Pantzaki, A., Sakadamis, A. K. Mixed exocrine-endocrine tumor of the pancreas. *Journal of the Pancreas* 2005; 6: 449-454.

## 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/jscc/>

## 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,  $\mu\text{m}$ ,  $\text{cm}^2$ , 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](http://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項目は毎年の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,  $\mu\text{m}$ ,  $\text{cm}^2$ , 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 衝	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	草苧 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	澁田 秀美	澁谷 潔	澁谷 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
高瀬頼妃呼	高田恭臣	高野忠夫	高野浩邦	高野政志	高橋 顕雅
高橋芳久	高橋恵美子	鷹橋浩幸	高松 潔	田口雅子	田口健一
竹井裕二	武田麻衣子	竹原和宏	田尻 琢磨	橘 啓盛	楯 真一
田中京子	田中綾一	田中一朗	田中尚武	田中浩彦	棚田 諭
谷川輝美	谷口智子	谷山清己	田沼順一	田原紳一郎	玉手雅人
田丸淳一	千酌 潤	塚田ひとみ	辻村 亨	津田 均	土田 秀
筒井英光	角田 肇	寺井義人	寺田倫子	寺畑信太郎	寺本典弘
寺本瑞絵	土居正知	田路英作	徳田雄治	渡具知 克	徳永英樹
戸澤晃子	栃木直文	富永英一郎	豊田進司	鳥居貴代	内藤子来
内藤嘉紀	永井雄一郎	中泉明彦	中尾佳史	長阪一憲	長坂徹郎
中里宜正	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	秀島克巳	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	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	山田麻里沙	山田恭輔	山田鉄也	山田範幸	山元英崇
山本晃人	矢持淑子	横井豊治	横尾英明	横瀬智之	横山俊朗
吉岡治彦	吉田 勤	吉田浩一	吉野 潔	吉見直己	米田 操
米山剛一	梁 善光	和田直樹	渡部 洋	渡邊 純	渡辺寿美子
渡 邊 み か					

(50音順)





令和二年九月二十二日発行

編集兼  
発行人

公益社団法人  
日本臨床細胞学会  
代表者 矢納 研二

〒100-1062 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(五七七)四六八〇 振替〇〇一〇一〇一三三五四五