特 集

上皮型悪性中皮腫と反応性中皮の胸・腹水剥離細胞像の比較

——両者の鑑別に有用な細胞所見の検討——

河原 邦光 永野 輝明 大山 重勝 浅井 浩次
野邊八重子 細野 芳美

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター病理診断科

上皮型悪性中皮腫 (EMM) は胸水剥離細胞診にて反応性中皮 (RM) との鑑別に難渋することが多い。今回両者の細胞像を比較検討し鑑別に有効な細胞所見を報告する。

対象は EMM の胸水細胞診標本 15 例と多数の RM を含む細胞診陰性の胸・腹水標本 17 例。細胞配列、胞体の厚み、核の大小不同、核の大きさ、核数、核形、核縁、クロマチン、核小体数、細胞診断、推定病理診断、核分裂像、細胞相接像、胞体内空胞を比較検討した。

細胞配列は、EMM は集塊が、RM は孤立が優位であった。核の大小不同は、EMM は 2 倍以上 4 倍未満、RM は 2 倍未満が最も多かった。核の大きさはいずれもリンパ球核の 2~4 倍が最多だが EMM は 5~6 倍の細胞が存在した。核数は、2 核以上の細胞が EMM の 2 割、RM の 1 割を占めた。核小体数はいずれも 1~2 個が最も多く RM では 0 個が 2 割を占めた。核分裂像は EMM 症例の 27%、RM 症例の 6% に存在した。胞体内空胞は EMM 症例の 67%、RM 症例の 12% において 20% 以上の細胞に認められた。

両者の鑑別には、細胞配列、胞体内空胞が有用で、核の大小不同、核の大きさ、核数、核小体数、核分裂像を併用することが望ましい。

Key words : Reactive mesothelia, Epithelial malignant mesothelioma, Effusion fluid, Exfoliative cytology

I. 緒 言

体腔液の剥離細胞診では、上皮型悪性中皮腫 (epithelial malignant mesothelioma, 以下 EMM) と反応性中皮 (reactive mesothelia, 以下 RM) の鑑別に難渋することが多い^{1~6)}。

Cytological differential diagnosis of reactive mesothelia and epithelial malignant mesothelioma in effusion fluid

Kunimitsu KAWAHARA, M. D., M. I. A. C., Teruaki NAGANO, M. D., Shigekatsu OHYAMA, C. T., Koji ASAI, C. T., Yaeko NOBE, C. T., Yoshimi HOSONO, C. T.

Department of Pathology, Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases

論文別刷請求先 〒583-8588 大阪府羽曳野市はびきの 3 の 7 の 1
大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター病理診断科 河原邦光

平成 20 年 9 月 12 日受付

平成 21 年 3 月 31 日受理

しかし、EMM と RM の細胞像を、光学顕微鏡下で、通常の細胞診標本を用いて、細胞所見から比較し検討した報告は少ない⁷⁾。今回は、胸膜原発の EMM 症例ならびに RM を多く含む細胞診陰性の体腔液症例 (RM 症例) の比較検討を行い、EMM と RM の鑑別に有意な細胞所見について検討した。なお、本稿は第 46 回日本臨床細胞学会秋期大会のワークショップ 8 (細胞診はどこまで中皮腫に迫れるか) の河原の発表“胸膜悪性中皮腫上皮型と反応性中皮の胸水細胞像の比較—病理組織像をふまえた検討—”に基づいているが、病理組織像との相関の結果については本稿では割愛した。

II. 対象と方法

1. 対 象

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター病理診断科に

Table 1 Cytomorphological findings in 15 epithelioid malignant mesothelioma (EMM) cases

Case	Cell arrangement			Cytoplasm thickness		Nucleus														
						Size variability	Size	Number		Shape		Nm irregularity		Chromatin pattern			Nucleoli			
	solitary	sheet (%)	clump	thin	thick	-, +, + +, + + +	Comparison with ly (times)	1	2-	(%)	oval	irreg	reg	irreg	reti	gran (%)	cond	0	1-2	3-
1	20	80	0		○	+ +	4-6	70	30	○		○			70	30	0	0	80	20
2	10	20	70		○	+ +	3-5	80	20	○		○			80	20	0	0	90	10
3	10	20	70	○		+ +	3-4	90	10		○		○		80	20	0	10	80	10
4	0	0	10		○	+ +	3-4	90	10	○		○			70	30	0	0	90	10
5	10	80	10		○	+ +	3-5	80	20	○	○	○			80	20	0	0	70	30
6	20	20	60		○	+ + +	2-5	80	20	○		○			90	10	0	10	80	10
7	10	20	70		○	+ +	2-4	90	10	○		○			90	10	0	0	100	0
8	20	70	10		○	+ + +	3-5	70	30	○		○			90	10	0	0	80	20
9	10	30	60		○	+ +	2-4	90	10	○	○	○			90	10	0	0	80	20
10	20	70	10		○	+ +	2-4	90	10	○		○			90	10	0	0	90	10
11	20	70	10		○	+ +	3-5	90	10	○		○			80	20	0	0	60	40
12	0	10	90	○	○	+	2-3	90	10	○	○	○	○		90	10	0	10	90	0
13	20	20	60		○	+ + +	3-6	70	30	○		○			60	40	0	0	70	30
14	0	10	90		○	+	2-4	80	20	○	○	○			90	10	0	0	90	10
15	0	50	50		○	+ +	2-4	100	0	○		○			90	10	0	0	100	0

○predominance, + less than 2 times, ++ from 2 to less than 4 times, +++ 4 times or more, ly : lymphocyte nuclei, irreg ; irregular, reg : regular, Nm : nuclear membrane, reti : reticular, gran ; granular, cond ; condense, Cytodiagnosis : All positive but case 15, which was suspicious.

において、1975～2007年の32年間に病理組織学的に胸膜原発のEMMと診断された患者のうち胸水剥離細胞診にて疑陽性・陽性とされた胸水細胞診15例（Table 1）と、2006年4月～2007年6月の15ヵ月間での多数のRMを含む胸・腹水細胞診陰性症例（RM症例）17例（胸水14例、腹水3例）（Table 2）の計32例。いずれの体腔液に対しても、採取後にヘパリンが添加され、細胞診検査室に提出され、2,000rpm、5分間遠心分離後にスライドグラスに塗抹され、95%エタノール溶液に固定後に、パパニコロウ染色が施行されている。EMM15例の細胞診断の詳細は、陽性14例、疑陽性1例。性別は男性13人、女性2人。年齢49～82歳（平均65.4歳）。今回は、病理組織像、免疫組織化学、組織化学において明らかにEMMと確定できた症例のみを選択した。RM17例は、細胞診断は全例が陰性で、採取部位は胸水が14例、腹水が3例。性別は男性が11人、女性が6人。年齢は50～88歳（平均63.9歳）。原因疾患は、肺悪性腫瘍が10例（原発性肺癌8例、転移性肺癌2例）、非腫瘍性疾患7例（肺結核4例、慢性関節リウマチ1例、腎不全1例、不明1例）から構成されていた。

2. 方法

EMMならびにRMの胸・腹水中の剥離細胞像を、A. 細胞性状：1. 細胞配列（対象細胞の孤立、平面、集塊のそれぞれの比率）、2. 胞体の厚み（“厚”：厚い、“薄”：薄い）、B. 核性状：1. 核の大小不同（－：大小なし、＋：

2倍未満、++：2倍以上4倍未満、+++：4倍以上）、2. 核の大きさ（リンパ球核との比）、3. 核数（核1個、核2個以上の細胞の比率）、4. 核形（円形、不整形）、5. 核縁（整、不整）、6. クロマチン（細網状、細顆粒状、濃縮状の細胞の比率）、7. 核小体数（0個、1～2個、3個以上の細胞の比率）、C. 診断：1. 細胞診断（陰性、疑陽性、陽性）、2. 推定病理診断、D. ワークショップでは未発表の他の項目：1. 核分裂像、2. 細胞相接像、3. 胞体内空胞、について検討した。これらの細胞像の検討において、4名の細胞検査士と1名の細胞診専門医の計5名が、独立して細胞標本の全視野を光学顕微鏡下に同一の判定シートを用いて観察し判定を行った。その後、5人の判定結果を、細胞性状、核性状などの項目ごとに平均を数値化した。さらに優位（predominance）を○とした。

A1の細胞配列においては、“孤立”とは腫瘍細胞が1個ずつ“孤立”して認められる細胞配列を意味し、2個の腫瘍細胞が接する場合も含めた。“平面”（Photo. 1a）は、3個以上の腫瘍細胞がお互いに重なることなく、“平面”的に配列・結合する場合と定義した。“集塊”（Photo. 1b）は、3個以上の腫瘍細胞が、2層以上に重なって“集塊”状に結合する場合とした。さらにA1では、腫瘍細胞の3割以上を占める細胞配列を主配列と定義した。B1の核の大小不同では、EMMではEMM細胞間、RMではRM細胞間で、核の大きさの大小を調べた。B7の核小体数においては、光

Table 2 Cytomorphological findings in 17 reactive mesothelial proliferation (RM) cases

Case	Cell arrangement			Cytoplasm thickness		Nucleus														
						Size variability		Size		Number		Shape		Nm irregularity		Chromatin pattern			Nucleoli	
	solitary	sheet (%)	clump	thin	thick	-, +, ++, +++	Comparison with ly (times)	1	2-	oval	irreg	reg	irreg	reti	gran (%)	cond	0	1-2 (%)	3-	
1	70	30	0		○	+	2-3	90	10	○		○		90	10	0	30	50	20	
2	80	20	0		○	+	2-3	90	10	○		○		90	10	0	10	80	10	
3	70	30	0		○	+	3-4	90	10	○		○		100	0	0	10	80	10	
4	80	20	0		○	+	3-4	90	10	○		○		90	10	0	10	70	20	
5	80	20	0		○	+	2-3	90	10	○		○		90	10	0	20	70	10	
6	70	30	0		○	+	2-4	100	0	○		○		90	10	0	20	80	0	
7	100	0	0		○	+	3-4	100	0	○		○		100	0	0	20	80	0	
8	90	10	0		○	+	2-4	100	0	○		○		100	0	0	30	60	10	
9	90	10	0		○	++	2-4	90	10	○		○		90	10	0	30	70	0	
10	80	20	0		○	++	2-4	90	10	○		○		80	20	0	20	80	20	
11	80	20	0		○	+	2-4	90	10	○		○		80	20	0	10	90	0	
12	90	10	0		○	++	3-4	80	20	○		○		90	10	0	10	70	20	
13	90	10	0		○	+	3-5	90	10	○		○		100	0	0	0	80	20	
14	90	10	0		○	++	3-5	90	10	○		○		80	20	0	10	60	30	
15	60	40	0		○	+	2-4	100	0	○	○	○		100	0	0	0	80	20	
16	90	10	0		○	+	2-3	90	10	○		○		90	10	0	10	90	0	
17	70	30	0		○	++	2-4	80	20	○		○		90	10	0	10	80	10	

Specimens in cases 2, 15, and 17 contain ascites and remnants pleural effusion.

Notation is the same as in Table 1.

Cytodiagnosis : All negative

学顕微鏡下に明らかな核小体を認めない細胞を核小体 0 個の細胞と定義した。C1 の細胞診断, C2 の推定病理診断は EMM 症例のみを検討した。D3 の胞体内空胞は, 20% 以上の EMM ならびに RM 細胞に明らかな胞体内空胞の存在する症例をそれぞれ陽性と判定した。

III. 結 果

A. 細胞性状

1. 細胞配列

EMM15 例の細胞配列 (Table 3) のうち, 孤立, 平面, 集塊の 3 細胞配列がすべて揃っている症例は 15 例中 10 例 (67%) を占めた。主配列 (3 割以上を占める細胞配列) から評価すると, “平面+集塊” (平面と集塊がいずれも細胞配列の 3 割以上) のパターンが 15 例中 2 例 (13%), “平面のみ” (平面のみが細胞配列の 3 割以上) が 5 例 (33%), “集塊のみ” (集塊のみが細胞配列の 3 割以上) が 8 例 (53%) であり, 主配列では “集塊のみ” が最も多かった。

RM17 例 (Table 4) においては, 集塊の出現した症例が皆無のため, 孤立, 平面, 集塊の 3 細胞配列がすべて揃った症例はなかった。主配列は, “孤立のみ” が 17 例中 12 例 (71%), “孤立+平面” が 17 例中 5 例 (29%) で “孤

立のみ” が最も多かった。

2. 胞体の厚み (Table 5)

EMM15 例中 13 例 (87%) の EMM 細胞は “厚” (Photo. 2a) が優位であった。1 例は “薄” (Photo. 2b) が主体の症例であった。1 例では, “厚” と “薄” が混在した。RM17 例は全例が “厚” であった。

B. 核性状

1. 核の大小不同

EMM15 例 (Table 6) において, 核の大小不同は + から +++ までの範囲に分布し, ++ が 15 例中 10 例 (67%) で最も多かった。RM17 例では, + と ++ のみに分布し, + が 17 例中 12 例 (71%) で最も多かった。

2. 核の大きさ (Table 7)

EMM15 例の核の大きさは, リンパ球核の 2 倍以上 3 倍未満 (2~3 倍) から 4~6 倍の大きさまで分布し, 15 例中 5 例 (33%) が 2~4 倍を示し, 4 例 (27%) が 3~5 倍。RM17 例では 17 例中 7 例 (41%) が 2~4 倍で, 2~5 倍, 4~6 倍の症例はなかった。

3. 核数

EMM15 例 (Table 1) において, EMM 細胞の有する核数の平均値は, 核数 1 個の細胞の割合は 8 割, 核数 2 個以上の細胞は 2 割を示した (Photo. 3)。RM17 例 (Table 2) に

Photo. 1 a) Sheets of EMM cells (EMM, case 1) (Pap. staining, $\times 20$).
b) Spherical cell clumps in EMM appearing three-dimensional (EMM, case 7) (Pap. staining, $\times 40$).

における RM 細胞の有する核数の平均値は、核数 1 個の細胞の割合は 9 割、核数 2 個以上は 1 割であった。

4. 核形 (Table 8)

EMM15 例のうち 10 例 (67%) の EMM 細胞の核形は主に卵円形で、1 例は主に不整核からなり、4 例では卵円形核と不整核が混在した。RM17 例のうち 16 例 (94%) の核は卵円形で、1 例 (6%) では卵円形核と不整核が混在した。不整核が優位な症例はなかった。

5. 核縁 (Table 9)

EMM15 例のうち 13 例 (87%) の EMM 細胞の核縁は整が優位で、1 例 (7%) は核縁不整の細胞が優位で、1 例 (7%) では整・不整のいずれの細胞も明らかであった。RM17 例全例において RM 細胞の核縁は整で、核縁不整の RM 細胞は認められなかった。

6. クロマチン

各 EMM 症例で出現した全 EMM 細胞を、クロマチンの出現パターン (細網状、細顆粒状、濃縮状) を用いて分類し、その細胞数の比率を Table 1 に示した。これらを平均すると、細網状クロマチンを有する EMM 細胞の割合が 8 割、顆粒状クロマチンは 2 割、濃縮クロマチンは 0 割 (Photo. 4) を占めた。RM17 例 (Table 2) における平均は、細網状クロマチンは 9 割、顆粒状クロマチンは 1 割、濃縮クロマチンは 0 割であった。

7. 核小体数

EMM15 例 (Table 1, Photo. 5) における EMM 細胞の核

Table 3 Cell arrangement percentage in 15 EMM cases

Cell arrangement	Case														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Solitary	20	10	10	0	10	20	10	20	10	20	20	0	20	0	0
Sheet (%)	80	20	20	0	80	20	20	70	30	70	70	10	20	10	50
Clump	0	70	70	100	10	60	70	10	60	10	10	90	60	90	50

Cell arrangements of EMM consisted predominantly of cell clumps.

Percentage, exceeding 30% are shaded.

Table 4 Cell arrangement percentages in 17 RM cases

Cell arrangement	Case																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Solitary	70	80	70	80	80	70	100	90	90	80	80	90	90	90	60	90	70
Sheet (%)	30	20	30	20	20	30	0	10	10	20	20	10	10	10	40	10	30
Clump	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Cell arrangements of RM consisted predominantly of solitary cells.

Percentage, exceeding 30% are shaded.

Table 5 Cytoplasmic thickness

	EMM (n = 15) (%)	RM (n = 17) (%)
Thick	13 (87)	17 (100)
Thin	1 (7)	0 (0)
Both	1 (7)	0 (0)

Cytoplasm in most EMM and RM was dense.
2 EMM cases showed thin, pale cytoplasm.

Photo. 2 a) EMM cells having abundant cytoplasm with a clear periphery and denser perinuclear area (EMM, case 1) (Pap. staining, ×40).
b) EMM cells having thin cytoplasm (EMM, case 3) (Pap. staining, ×20).

Table 8 Nuclear shape

	EMM (n = 15) (%)	RM (n = 17) (%)
Oval	10 (67)	16 (94)
Irregular	1 (7)	0 (0)
Both	4 (27)	1 (6)

Nuclear shape in most cases was oval and regular, although 5 in EMM and 1 in RM were irregular.

Table 6 Nuclear size variability

	–	+	++	+++
(%)		(-2 times)	(2-4 times)	(4 times-)
EMM (n = 15)	0 (0)	2 (13)	10 (67)	3 (20)
RM (n = 17)	0 (0)	12 (71)	5 (30)	0 (0)

Nuclear size variability in EMM was larger and showed a wide range rather than RM. 67% of EMM was ++ and 71% of RM was + (shaded).

Table 7 Nuclear size compared to lymphocyte nuclei

Times	EMM (n = 15) (%)	RM (n = 17) (%)
2-3	1 (7)	4 (24)
2-4	5 (33)	7 (41)
2-5	1 (7)	0 (0)
3-4	2 (13)	4 (24)
3-5	4 (27)	2 (12)
4-6	1 (7)	0 (0)

Nuclear size in EMM was larger and showed a wider range rather than RM. EMM nuclei, 5 or more times those of lymphocytes were seen in 6 cases (41%) (shaded).

Photo. 3 Not uncommon bi- and multinucleation (EMM, case 5) (Pap. staining, ×40).

Table 9 Nuclear membrane irregularities

	EMM (n = 15) (%)	RM (n = 17) (%)
Regular	13 (87)	17 (100)
Irregular	1 (7)	0 (0)
Both	1 (7)	0 (0)

The nuclear membrane of most cases was regular.
Only 2 showed irregularities.

Photo. 4 EMM cell clump showing fine predominant granular chromatin pattern (EMM, case 8) (Pap. staining, ×40).

Photo. 5 All EMM cells had single or multiple nucleoli (EMM, case 10) (Pap. staining, ×40).

Photo. 6 EMM cells cytologically mimicking adenocarcinoma (EMM, case 4) (Pap. staining, ×20).

Photo. 7 Common borders of multiple, mutually attached EMM cells were flatly opposed and often showed a "window" or gap between two cells (EMM, case 1) (Pap. staining, ×40).

小体数の平均値は、核小体 0 個の EMM 細胞は 0 割、1～2 個は 8 割、3 個以上は 2 割を占めた。RM17 例 (Table 2) における RM 細胞の核小体数の平均値は、核小体 0 個は 2 割、1～2 個は 7 割、3 個以上は 1 割であった。

C. 診断

1. 細胞診断 (Table1)

EMM15 例中 14 例 (93%) が陽性、1 例 (7%) は採取細胞が乏しく疑陽性であった。

2. 推定病理診断

EMM15 例中 13 例 (87%) を EMM と診断。EMM の診断に至らなかった 2 例のうち 1 例は上述の細胞数が乏しい症例であった。他の 1 例は核形・核縁不整の偏在核を有する細胞が多数認められ腺癌を否定できない症例であった (Photo. 6)。

D. ワークショップでは未発表の他の項目

1. 核分裂像

EMM では、15 例中 4 例 (27%) に核分裂像が認められた。RM では 17 例中 1 例 (6%) に存在した。

2. 細胞相接像

EMM では 15 例全例に細胞相接像が存在した (Photo. 7)。細胞相接像は、15 例中 10 例 (67%) において、1000 個の EMM 細胞あたり 1 個以上かつ 100 個の EMM 細胞あたり 1 個未満 (1/1000～1/100) の頻度で出現した。5 例 (33%) では 1/100～1/10 の頻度で出現した。RM においても 17 例全例に細胞相接像が存在した。RM17 例中 10 例 (59%) では 1/1000～1/100 の頻度で出現し、7 例 (41%) で 1/100～1/10 の頻度で出現した。

Photo. 8 EMM cells show perinuclear and total cytoplasmic vacuolization (EMM, case 13) (Pap. staining, $\times 40$).

3. 胞体内空胞

EMM15 例中 10 例 (67%) ならびに RM17 例中 2 例 (12%) において胞体内空胞が陽性であった (Photo. 8).

IV. 考 察

非腫瘍性反応性中皮細胞 (RM) は, さまざまな病態下で出現し, きわめて軽度の異型を示す症例から高度の異型を示す症例を含み, 悪性中皮腫との鑑別がしばしば困難である^{1~6)}. しかし, EMM と RM の細胞像を, 光学顕微鏡下で, 通常の細胞診標本を用いて, 細胞所見から比較検討した報告は少ない⁷⁾. 今回, さまざまな慢性疾患下に発生した多数の RM を含む細胞判定陰性の体腔液症例と, 病理組織学的に EMM と診断されかつ細胞判定疑陽性以上の体腔液症例の細胞像を比較検討し, 両者の差異について検討した.

A. 細胞性状

1. 細胞配列

EMM では, 体腔液中に多数の腫瘍細胞が出現し, 3 次元構造で波状の凹凸の辺縁を示す球状細胞塊が多量に形成される⁸⁾. 87.2% の腫瘍細胞が morula を形成する⁷⁾ という報告もある. また, 多くの症例において, 上記細胞塊を含む大組織片と孤立性細胞が同時に出現し⁹⁾, かかる細胞塊の性状は, 球状集塊・乳頭状集塊などの大型集塊や比較的小型の平面的な小型集塊であることが報告されている¹⁰⁾.

一方, RM 細胞の 96.3% は, 孤立性あるいはシート状に出現するが^{7,11)}, 3 次元構造を示すことはきわめてまれであり¹²⁾, 9% 程度の症例に結合の弱い細胞凝集や細胞集塊, ロゼット, 腺房様構造などを認めるのみである²⁾.

今回は“孤立”, “平面”, “集塊”の 3 細胞配列を検討し

た. われわれの結果では, EMM 症例では, 全細胞配列が揃っているのは 67% の症例で, 主配列では, “集塊のみ”が 53% と最多で, 細胞配列では集塊が高度に出現することが示唆された. これは上述の諸家の報告と一致する. RM 症例については, EMM 症例とは異なり, 全症例において集塊が乏しかった. 主配列で, “孤立のみ”が 76% を占め, “孤立+平面”が 24% であった. これは, RM 細胞が多くの症例で孤立性に出現し, RM 細胞同士が接することがあっても集塊形成にはほとんど至らないことを示しており, 諸家の報告とも合致した.

2. 胞体の厚み

EMM 細胞は, 胞体がライトグリーン好性で豊富であり, 核近傍の重厚感に富んだ同心円状層状パターンを示す厚い領域に加えて淡明であるが全周性の微絨毛の発達により不明瞭化を示す胞体辺縁が確認できる^{8,10)}. RM の胞体については, チアノーゼ様あるいは弱好酸性を示すとされ¹³⁾, 核近傍に重厚感を欠いた厚めの部分と, 胞体辺縁の淡明な部分からなり, 胞体辺縁は中皮腫細胞に比べて明瞭である^{10,13)}. これら報告は, EMM, RM のいずれにおいても, 重厚感の有無の差はあるものの, 胞体に厚みのある核近傍部分の存在を示している.

今回のわれわれの検討では, 胞体の厚みに関する評価は“厚”と“薄”の 2 項目のみであり, 上記の亀井らのいう重厚感の有無や同心円状の層状パターン等に相当する項目は設定しておらず, 今回のわれわれの基準は, 両者の的確な鑑別には不十分と思われた. ただし EMM 症例の 2 例に“薄”の EMM 細胞が出現したことは, 既報告例にはなく, 薄い胞体は悪性中皮腫を示唆する所見と考えた. 病理組織像では, “薄”の EMM 細胞が出現した症例がいずれも低分化型 EMM であった点も興味深い結果であった (データは未提示).

B. 核性状

1. 核の大小不同

EMM を核の大小不同の点から論じた報告はわれわれが調べた範囲内ではない. 一方 RM については, 亀井ら¹¹⁾が, 核の大小不同が乏しいことを報告している. 今回は核の長径の計測などは行っていないが, 核の大小不同の程度は, EMM が RM に比べて幅広く, また平均的な大小不同の程度は, EMM が 2~4 倍, RM が 2 倍までの症例が最多であり, 核の大小不同は鑑別に際して有効であった. また, 通常は EMM 細胞の大部分は中型だが, 乳頭状増殖を示す EMM では小型細胞が出現することが報告されている¹⁴⁾. 今回の検討においても, 細胞の大小不同が 4 倍以上の 3 例では, いずれにおいても病理組織像 (データは未提示) において乳頭状の腫瘍増殖巣が優位に認められた.

2. 核の大きさ

EMM の平均核面積は 139.8 ± 39.2 (in sq um), RM は 91.4 ± 21.9 (in squm) であり, EMM の核面積は RM より有意に大きいことが報告されている⁷⁾. さらに, RM 細胞の核は比較的大きく, 細胞長径の約 1/2 を占めるとされている¹³⁾. 今回の検討では, EMM の核の大きさは, リンパ球核の 2~3 倍から 4~6 倍まで分布していた. この中では 2~4 倍の症例が最多で, ついで 3~5 倍の症例が多かった. これに比べ, RM においては, EMM 同様に 2~4 倍が最多であったが, 2~5 倍, 4~6 倍はなく, 3~5 倍も 12% (2 例) で, リンパ球核の 5 倍以上の核は乏しかった. これらは, EMM では RM より大型の核を有する細胞が出現することを示唆し, 諸家の報告と合致した. また, 今回の検討では核・細胞質比 (N/C 比) は検討していないが, EMM においては大型核を有した細胞が多数出現し, それらは同時に細胞質の増大を伴っており, その結果悪性腫瘍であるにもかかわらず N/C 比は増加せず正常の中皮に近づくとする報告^{8,14)}がある. また, N/C 比が反応性中皮に比べて小さいという報告¹⁰⁾, さらに EMM・RM 間には有意差を認めないとする報告⁷⁾があり, N/C 比の細胞診断時の利用に際しては注意が必要であろう.

3. 核数

核数については, EMM では単核細胞の占める割合が 77.2%, 2 核細胞は 20.1%, 3 核細胞は 1.9%, 4 核以上の細胞は 0.8%, RM では単核細胞は 90.0%, 2 核細胞は 8.7%, 3 核細胞は 0.9%, 4 核以上の細胞は 0.4%と報告されている¹⁵⁾. われわれは, 核数 1 個 (単核細胞) と核数 2 個以上に分けて検討し, EMM では前者が 8 割, 後者が 2 割, RM では前者が 9 割, 後者が 1 割であったが, これらの結果は文献的な報告と合致している.

4. 核形

EMM は, 核形は類円形で, 核形不整は乏しいとされている¹⁰⁾, 核形不整が EMM 症例の 36% に存在するという報告もある¹⁶⁾. 今回の結果は, EMM 症例の 34% に不整形核が存在した. RM については, 核形不整がどの程度出現するかについての詳細な報告はわれわれの調べた範囲では認められないが, 今回は 6% 程度の症例において不整形核が出現した.

5. 核縁

EMM 細胞は繊細な核膜を有し¹⁴⁾, RM 細胞においても繊細で明瞭とされている^{2,6,13)}. 今回は, RM は全例が核縁整であったが, EMM においては 15 例中 2 例 (14%) で核縁不整がみられた. この 2 例の病理組織像 (データ未提示) は, いずれも低分化型 EMM であった点も特記すべき点であった.

6. クロマチン

EMM 細胞においては, クロマチンは均一, 微細顆粒状

で, しばしば小凝集を起し¹⁴⁾, このような凝集ないし増量は 74% の症例で認められる¹⁵⁾と報告されている. RM 細胞においては, 繊細なクロマチン網が核全体に分布する^{2,13)}とされている. 今回は, RM は細網状クロマチン 9 割, 顆粒状クロマチン 1 割で既報告例と合致すると思われるが, EMM では細網状クロマチンが 8 割を占め, 微細顆粒状クロマチンが主体とする諸家の報告とは異なった. この結果については, 本ワークショップでは, 当センターにおける体腔液の採取から検体処理までの変性の影響が, EMM 症例において細網状クロマチンが優位であった理由であるとする見解が出されたが, この点については結論を得るには至っていない.

7. 核小体数

EMM 細胞の核小体数は小型で, 1~2 個で, まれに多発する^{8,10)}とされ, RM 細胞は, 微小な 1~2 個の核小体を有すると報告されている¹³⁾. 今回の結果は, EMM 症例では, 核小体 0 個の EMM 細胞は極少数で, 8 割の EMM 細胞が核小体 1~2 個を示し, 諸家の報告と合致した. RM 症例については, 核小体が 1~2 個の細胞が 7 割を占め, 2 割の細胞が核小体 0 個であった. RM におけるこれらの核小体 0 個の細胞 (核小体が明らかではない細胞) の存在は, EMM とは全く異なった点であった.

C. 診断 (EMM 症例)

1. 細胞診断

文献的には, 4 例の肉腫型を含む悪性中皮腫患者 75 人において, 細胞診断陽性が 75 人中 48 人 (64%), 疑陽性が 15 人 (20%) である⁹⁾という報告があり, さらに上皮型・二相型悪性中皮腫患者 36 人のうち, 陽性が 36 人中 26 人 (72%), 疑陽性が 36 人中 3 人 (8%) である¹⁵⁾という報告も認められる. 今回の対象は 15 人であり, 15 人中 14 人 (93%) が陽性で, 1 人 (7%) が疑陽性であった. 陽性率が疑陽性率を上回っている点は一致していたが, 今回の陽性率は明らかに高値であった. これは, 上述した報告に比べて対象患者数も圧倒的に少ないことや病理組織学的にも確認された EMM 症例のみを検討していること等の症例のバイアスの影響と考えられた.

2. 推定病理診断

悪性中皮腫と確定あるいは推定診断率は約 7 割とされている^{9,15)}. 今回のわれわれの結果は 15 人中 13 人 (87%) が EMM と診断できた. これについても, 前述の細胞診断同様に症例のバイアスの影響と考えている. EMM の判定が困難であった 2 例については, 1 例は採取細胞が極少量で, 他の 1 例は病理組織学的には低分化型 EMM で, 腺癌との鑑別のむずかしい偏在核, 核形不整, 核縁不整を示す細胞が認められた.

D. ワークショップでは未発表の他の項目

1. 核分裂像

文献では EMM39 例のうち, 30 例 (77%) にスライド 1 枚あたり 0~2 個, 7 例 (18%) に 3~4 個, 2 例 (5%) に 5 個以上が存在し, 異型核分裂像はまれである¹⁵⁾ことが報告されている. RM においては, 396 例中 8 例 (2%) で核分裂像が孤立性細胞内に存在したことが報告されている²⁾. 今回は, 核分裂像数の詳細までは明らかにしていないが, EMM, RM とも上記報告と矛盾しない結果であった.

2. 細胞相接像

2 個あるいはそれ以上の EMM¹²⁾ならびに RM 細胞¹⁵⁾が接する際には, それらの細胞境界はそれぞれ平坦化し, 2 細胞間に “windows”, “gap” が生じるとされている. 今回は EMM・RM 間に出現頻度に明らかな差はなく, 両者の鑑別には役立たなかった.

3. 胞体内空胞

文献的には, EMM の胞体内空胞は, 脂肪染色陽性, PAS 反応陰性である¹⁷⁾. また胞体内空胞は, EMM 細胞の 26.8%, RM 細胞の 10%の細胞に認められ, その局在は, EMM・RM のいずれにおいても胞体全体には及ばず, 核周囲領域に局在することが多いとされ, EMM と RM の鑑別に有用とされている⁷⁾. 今回は個々の症例あたりの胞体内空胞を有する細胞の詳細な比率や細胞内の局在については詳細には明らかにしていないが, 胞体内空胞の出現頻度には EMM・RM 間で差が認められた.

V. 結 語

EMM と RM の主な相違は, 細胞配列と胞体内空胞の出現頻度にあった. これらに, 核の大小不同の幅, 核の大きさ, 2 核以上の細胞の割合, 核小体数, 核分裂像を参考にして判定することが両者の鑑別には有効である.

Abstract

Due to the difficulty in differentiating between reactive mesothelia (RM) and epithelial malignant mesothelioma (EMM) in effusion cytology, we attempted to distinguish EMM from RM cytologically.

The 12 cytomorphological parameters we studied in 15 EMM and 17 RM cases were (1) cell arrangement, (2) cytoplasmic thickness, (3) nuclear size variability, (4) nuclear size, (5) number of nuclei, (6) nuclear shape, (7) nuclear irregularity, (8) chromatin pattern, (9) number of nucleoli, (10) mitotic figures, (11) cell-to-cell apposition, and (12) intracytoplasmic vacuoles.

Cell in EMM were predominantly arranged in clumps, showed a wide range of sizes, and frequently had multiple nuclei. Cells in RM alone had no apparent nucleolus and were typically solitary. In EMM, mitotic figures were seen more frequently, as were intracytoplasmic vacuoles.

In conclusion, cell arrangements and intracytoplasmic vacuoles were most useful for differential diagnoses, and nuclear size variability, nuclear size, number of nuclei, number of nucleoli, and mitotic figures were

highly useful.

文 献

- 1) Esteban, J. M., Yokota, S., Husain, S., Battifora, H. Immunocytochemical profile of benign and carcinomatous effusions. A practical approach to difficult diagnosis. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 698-705.
- 2) Luse, S. A., Reagan, J. W. A histocytological study of effusions. I. Effusions not associated with malignant tumors. *Cancer* 1954; 7: 1155-1166.
- 3) Monte, S. A., Ehya, H., Lang, W. R. Positive effusion cytology as the initial presentation of malignancy. *Acta Cytol* 1987; 31: 448-452.
- 4) Sears, D., Hajdu, S. I. The cytologic diagnosis of malignant neoplasms in pleural and peritoneal effusions. *Acta Cytol* 1987; 31: 85-97.
- 5) Lee, A., Baloch, Z. W., Yu, G., Gupta, P. K. Mesothelial hyperplasia with reactive atypia: diagnostic pitfalls and role of immunohistochemical studies-a case report. *Diagn Cytopathol* 2000; 22: 113-116.
- 6) Churg, A., Cagle, P. T., Roggli, V. L., eds. AFIP Atlas of Tumor Pathology. Tumors of Serosal Membranes. fourth series, fascicle 3. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 2006. 11-31.
- 7) Kwee, W. S., Veldhuizen, R. W., Alons, C. A., Morawetz, F., Boon, M. E. Quantitative and qualitative differences between benign and malignant mesothelial cells in pleural fluid. *Acta Cytol* 1982; 26: 401-406.
- 8) Koss, L. G., Melamed, M. R., eds. Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathological Bases. 5th ed., volume II. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 963-964.
- 9) Triol, J. H., Conston, A. S., Chandler, S. V. Malignant mesothelioma. Cytopathology of 75 cases seen in a New Jersey community hospital. *Acta Cytol* 1984; 28: 37-45.
- 10) 亀井敏昭, 岡村 宏, 洪田秀美, 佐久間暢夫, 村上知之. 悪性中皮腫の体腔液細胞診—中皮腫細胞の特徴と反応性中皮や腺癌との鑑別を主—。病理と臨床 22; 7: 2004.
- 11) 亀井敏昭, 佐久間暢夫. 中皮, 中皮腫と腺癌の鑑別. 臨床病理 1999; 47: 601-603.
- 12) Whitaker, D., Shilkin, K. B. Diagnosis of pleural malignant mesothelioma in life—a practical approach. *J Pathol* 1984; 143: 147-175.
- 13) Koss, L. G., Melamed, M. R., eds. Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathological Bases. 5th ed., volume II. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 922-931.
- 14) Klempman, S. The exfoliative cytology of diffuse pleural mesothelioma. *Cancer* 1962; 15: 691-704.
- 15) 佐久間暢夫, 亀井敏昭, 洪田秀美, 岡村 宏. 核数に注目した反応性中皮, 肺腺癌および悪性中皮腫の特徴. 日臨細胞誌 2002; 41: 145-149.
- 16) Sherman, M. E., Mark, E. J. Effusion cytology in the diagnosis of malignant epithelioid and biphasic pleural mesothelioma. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114: 845-851.
- 17) Boon, M. E., Veldhuizen, R. W., Ruinaard, C., Snieders, M. W., Kwee, W. S. Qualitative distinctive differences between the vacuoles of mesothelioma cells and of cells from metastatic carcinoma exfoliated in pleural fluid. *Acta Cytol* 1984; 28: 443-449.