症 例

子宮体部横紋筋肉腫の剥離細胞像と
核 DNA 量の測定

千葉大学医学部産科婦人科教室

竜 良方 久保田浩一 岩崎 秀昭 森川 真一
河西十九三 武田 敏 高見沢裕吉

子宮体部横紋筋肉腫の1症例についてその臨床経過, 細胞診所見, 各種特殊染色を用いた病理組織学的所見, および組織レベルの細胞核 DNA 量の測定を行い比較検討した。

1) 本症例は術前に細胞診, 組織診によって肉腫と診断し, 術後, 摘出物の検索によって中胚葉性混合腫瘍のうち, 横紋筋肉腫成分のみからなるきわめてまれな症例と確認された。

2) 細胞診では壊死性背景のなかに, 大小不同の著しく, 核膜の著明な紡錘型から卵円形の非上皮性悪性腫瘍由来の細胞を強く示唆する悪性細胞が認められた。

3) H-E 染色では横紋筋肉腫細胞と横紋筋芽細胞とみられる2種類の細胞を認めた。またVG, MA, PAS 染色などの特殊染色より, 横紋を有する細胞, PAS 陽性細胞などが確認できた。

4) 組織レベルの DNA 定量では, 2倍体から12倍体に及ぶ, 漸減性の大きなモードがヒストグラム上に認められ, DNA 量からも, 横紋筋肉腫細胞の多形性が裏付けられた。

Key words : Uterus—Rhabdomyosarcoma—Morphology—DNA contents—Impulse-cytophotometry

I. はじめに

子宮肉腫は比較的まれな疾患である。臨床的にはきわめて悪性で, 予後も不良なことが多い。発生学的にはあらゆる間葉由来の組織成分より発生し, 組織学的にも多彩な形態をとるために, 種々の分類がなされている^{1,9,12,22}。子宮横紋筋肉腫は, 中胚葉性混合腫瘍 (mixed mesodermal tumor 以下 M.M.D.T.) の1型と考えられる場

合²¹⁾と, 横紋筋肉腫とする場合¹⁷⁾があり, 統一されていない。中胚葉性混合腫瘍は上皮系成分 (癌腫) と間葉系成分 (肉腫) の混在増殖する腫瘍で Virchow³¹⁾ によって初めて報告された。以来 carcinosarcoma^{2,5,17,20)}, mixed mesodermal tumor^{3-5,14,16,20,22,24,27)} など種々の命名法がみられるが, 一般には, homologous な sarcomatous element と carcinomatous element とから成るものを carcinosarcoma と呼び heterologous な sarcomatous element を含むものを mixed mesodermal tumor と呼んでいる。

最近, わたくしどもが経験した子宮体部原発横紋筋肉腫について, その臨床経過, 細胞診所見, 組織所見を検討し, 特に組織標本は各種の特殊染色を行い, 鑑別に供した。また, Impulse Cytophotometer II 型 (以下 ICP II 型) を用いて組織レベルの細胞核 DNA の定量を行い, 本肉腫細胞の生物学的性質についても検討したので以下報告する。

Cytological Findings of Rhabdomyosarcoma of the Uterine Corpus with Impulse-Cytophotometric Studies of DNA Contents

Yoshikata RYU, M.D., Koichi KUBOTA, M.D., Hideaki IWASAKI, M.D., Shinichi MORIKAWA, M.D., Tokuzo KASAI, M.D., Bin TAKEDA, M.D., F.I.A.C., Hiroyoshi TAKAMIZAWA, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Chiba University, School of Medicine

Reprint request ㊟280 千葉市安鼻1の8の1 千葉大学医学部産科婦人科教室

昭和55年12月25日受付

II. 研究症例

1. 症例

患者：岩○ま○, 67歳, 2回経妊2回経産。

月経歴：初潮17歳, 閉経47歳。

既往歴：16歳頃より気管支喘息にて通院治療。

家族歴：特記すべきことなし。

主訴：(1)不正性器出血, (2)下腹部腫瘍。

現病歴：昭和55年5月初旬より, 上記症状出現し, 某婦人科受診, 下腹部腫瘍の診断, 同年6月17日, 紹介にて, 千葉大学産婦人科初診, 子宮腫瘍の診断下に入院。

初診時所見：子宮は超小児頭大で硬度やや軟, 移動性にやや乏しく, 付属器には異常を認めず。子宮腔部にはビランはなく, 子宮頸部は拡大し, 外子宮口より手拳大の暗赤色壊死状組織が突出していた。擦過細胞診(papanicolaou染色)では非上皮性悪性腫瘍細胞を認め, 病理組織所見では間質細胞の不規則な増殖, 核の大小不同, 多核, 過染性などの異型性を認め, 子宮体部肉腫と診断された。

入院時所見：体格小, 身長141cm, 体重37kg, 栄養やや不良で過去数ヵ月で体重2kg減少, 脈拍102, 血圧130/84, 胸郭漏斗状, 呼吸音, 心音に異常なし。

<一般血液> RBC 487×10^4 , Hb 13.8g/dl, Ht 43%, WBC 13,200。

<血液化学> GOT 64, GPT 28, LDH 499, Al-p 91, TP 6.4g/dl, Alb 3.7g/dl, クレアチニン 0.8mg/dl, 尿酸 3.0mg/dl, BUN II, 総コレステロール 189mg/dl。

<血清反応> CRP (2+), ASLO (-), Wa-r (-), HB-AG (-)。

<一般尿> 尿蛋白(+), 尿糖(-)。

<呼吸機能> 肺活量 900ml, 1秒率 66.7%。

<ECG, Chest-XP> 特に異常を認めず。

手術時所見：同年6月26日, 子宮体部肉腫の診断のもとに, 腹式子宮全摘出術, ならびに両側付属器摘出術を施行した。子宮全重量430gであった。開腹時, 癒着, 腹水は認めず, 子宮は前傾前屈, 超手拳大で硬度やや軟, 両側付属器には異常なく, 子宮, 膀胱, 腸管の表面は灰白色苔状の附着物を認めた。S状結腸の漿膜面には粟粒大の隆起物を認め, 一部切除し, 組織検査するも異常なし, 術後経過は順調で退院, 現在に至る。

2. 細胞診, 組織診

細胞標本は子宮腔部壊死物質より擦過スミアと摘出標本からのタッチスミアを採取, papanicolaou染色を施し

て鏡検した。組織標本は摘出標本を10%ホルマリンで24時間固定後, 亜連切し, ヘマトキシリンエオジン(以下H-E)染色のほか, Van-Gieson(以下VG), Heidenhain Mallory azan(以下MA), PAS染色などの特殊染色を施し, 病理組織学的検討を行った。

3. 核DNA量の測定

手術摘出標本より, 子宮体部腫瘍実質を採取し, 50%エタノールに固定。固定後, 眼科用鉗で細切。さらに, 高速ブレンダーで1分間mincingし, 液状検体とした。次にストレプトリジン0で37°C15分間インキュベーションし, 細胞の分離をはかる。生食で洗浄, 0.1%ペプシン溶液(0.2% HCl水溶液)10mlを加え, 37°C15分間インキュベーションし, 裸核処理を施す。洗浄後0.1% RNase 0.2mlを加え, 37°C30分間インキュベーションし, 核小体中などのdouble strand RNAを処理する。生食で洗浄後ethidium bromide 10mlを加え, 室温, 暗所に30分以上放置し, 蛍光染色を施す。最後に40μナイロンメッシュを通し, ICPII型(西独Phywe社製)で核DNA量の測定を行う。ヒストグラム(図11)上の横軸はDNAの蛍光測光量によって120channelに分けられており, 縦軸は細胞数を表している。測定にあたっては, あらかじめセットされた細胞数の87%に1つのchannelでも達すると測定が自動的に停止し, 測定した細胞総数とともにヒストグラムが描かれるようにプログラムされている。また, DNA量が2Cとわかっている正常人リンパ球を用いて20channelが2Cになるようにフォトマルの電圧を調節している。

III. 結 果

1. 細胞診所見

a) 子宮腔部擦過細胞像

炎症性細胞, 赤血球を混じた壊死性の背景のなかに, 孤立散在性に, 多形性の異型細胞を認める。N/C比は増大し, 核径10~40μで大小不同が著しく, 核膜は明瞭で, 濃染性の核染色質を有し, 1~2個の核小体を認める。細胞質は少なく, ライトグリーンに染まり, 辺縁は不明瞭なものが多い(図1)。

b) タッチスミアの細胞像

擦過スミアより背景はきれいで, 本来の肉腫細胞の特徴を強く示す卵円形, あるいは, 紡錘形の異型細胞が孤立散在性に認められる(図2)。N/C比は増大し, ライトグリーンに染まる細胞質がわずかに存在する。核染色質は微細顆粒状で透視できるものから(図3), 粗大凝集状を呈するもの(図4), インディアンインク状のものまで

図1 子宮腔部擦過細胞 (Pap. 染色, ×200)

図2 摘出子宮タッチスミアの細胞 (Pap. 染色, ×200)

図3 核膜が明瞭で、微細顆粒状の核染色質を有する2核細胞 (Pap. 染色, ×400)

図4 粗大凝集状の核染色質を有する細胞群 (Pap. 染色, ×400)

図5 著明な核小体を有する分葉核細胞 (Pap. 染色, ×1,000)

図6 線維状の肉腫細胞 (Pap. 染色, ×200)

認め、核膜は明瞭であるが肥厚はない(図3)。また、2核細胞を中心とした分葉核、あるいは、多核細胞が多くみられ(図5)、1~10 μ にわたる大小不同の著しい核小体を数個有する細胞も多く認められる。ごく少数ではあるが、線維状の細胞で、核が一端に存在し、細胞膜をつき破って突出しているかのような細胞もみられたが、横

紋や細胞質顆粒は認められなかった(図6)。

2. 病理組織所見

手術摘出標本(図7)の肉眼的所見では、腫瘍は子宮体の底部より発生し、外側は漿膜直下まで達し、内側は子宮腔内に充満し、さらに、一部は頸管より腔腔へ突出していた。腫瘍表面は凹凸不整で脆弱、暗赤褐色を呈

図 7 手術摘出子宮

図 8 子宮体腫瘍組織像 (H-E 染色, $\times 100$) 図 9 一部の細胞には横紋を認める (H-E, $\times 200$) 図 10 一部の細胞質は PAS 陽性を示す (PAS 染色, $\times 100$) 図 11 子宮原発横紋筋肉腫のヒストグラム
3 倍体 (30 channel) をピークとし
た漸減性のモードを形成する。

し、中心部は黄白色を呈した。

光顕では腫瘍組織と正常組織とは明瞭に境されており、腫瘍細胞は円形、あるいは、紡錘形で、大小不同が著しく、細胞質が少量の細胞と、エオジン好性の細胞質

を比較的豊富に伴った 2 種の細胞が認められた (図 8)。

核膜は明瞭、核小体は肥大し、mitosis も認められ、巨核、多核細胞など、多形性、多彩性に富む。また、一部の細胞質には H-E 染色で横紋が認められた (図 9)。VG 染色では核は暗褐色、細胞質は黄色、MA 染色では核、核小体は鮮紅色、細胞質は橙赤色に染色されたが、それぞれの染色で赤色、青色に染まる膠原線維は腫瘍周辺に認められたにすぎなかった。PAS 染色では一部に PAS 陽性の細胞を認めた (図 10)。以上の結果から、病理組織学的には子宮体部横紋筋肉腫と診断した。

3. 核 DNA 量の測定

図 11 は今回の横紋筋肉腫細胞のヒストグラムであるが、3 倍体 (30 channel) に大きなピークを有し、12 倍体にまで達する漸減性の大きなモードを形成した。測定細胞総数は 36,725 個を数え、4 倍体 (40 channel) までが全測定細胞数の 50% 以上を占め、4 倍体 (40 channel) から 6 倍体 (60 channel) までが全測定細胞数の 25% 強を占めていた。

IV. 考 案

純粋な子宮原発横紋筋肉腫はきわめてまれであり、発生学的にも heterologous な element から成ることから、わたくしどもも中胚葉性混合腫瘍の1型という説²¹⁾をとっている。また、中胚葉性混合腫瘍はきわめて悪性な疾患であり、全子宮悪性腫瘍の2~3.5%を占めるにすぎない¹⁵⁾。子宮肉腫全体に対する頻度は報告者によって異なるが、一般に平滑筋肉腫より少なく、Chuang⁵⁾によれば、全子宮肉腫の41.5%がM.M.D.T.であり、Bartsich²⁾によれば25.6%となっている。好発年齢についてはほとんどの症例が40歳以上であり、平均年齢は50歳~55歳とするものが多い^{3,32)}。好発部位については年齢とともに子宮頸部から子宮体の底部に移行する傾向があり、若年者の場合、子宮頸部に多く発生し、いわゆるブドウ状肉腫として好んで小児の子宮頸部に好発する²¹⁾。Irradiationと本症発生との因果関係について Speert, Peightal²³⁾らは発癌性ありとしており、Bartsich²⁾らは21例中8例(37%)にirradiationの既往を認めている。Palmer, Spratt¹⁸⁾らは、さらにcancerocidal dosageよりもlow dosageのほうが、発癌作用が強いと報告している。一方、三谷¹⁵⁾、Sternberg²⁴⁾らは症例中にirradiationの既往を認めておらず、わたくしどもの症例もirradiationの既往はなかった。

本疾患の予後はきわめて不良であり、Bartsich²⁾によれば77%は2年以内に死亡し、Marcella¹⁴⁾は文献報告234例のうち、5年生存率は6.4%と述べている。Chuang⁵⁾は部位別の5年生存率について、体部に限局したもの30%、子宮を越えて広がったもの0%としており、また治療法別5年生存率では子宮全摘と付属器摘除が最良の21%を示し、radiationや化学療法はほとんど効果がないと述べている。

組織型と予後の関係については、上皮系成分として、良性の腺組織を伴う場合の方が、腺癌を伴う場合より、良好とされている²¹⁾。Norris¹⁶⁾らは31例のM.M.D.T.の統計から、軟骨や横紋筋が存在しないことが良い予後につながるとしている。また、Krupp¹¹⁾らはhomologousなM.M.D.T.がheterologousなM.M.D.T.より予後が良いとしている。

細胞診によって肉腫が診断されるのは一般にまれであるが、子宮内膜間質に発生する本腫瘍では子宮腔内に増殖発育するため、剝離されやすく、細胞診断する機会も多い。しかし、種々の組織形態をとり、分化度の違いもあるため、上皮系腫瘍との鑑別も困難なことが多い。山

田²⁹⁾は、非上皮性悪性細胞の一般的特徴として、(1)上皮性細胞配列を認めず、孤立散在性である。(2)細胞質は上皮性細胞に比べ、好塩基性が著しい。(3)核膜の肥厚が少ない。(4)核染色質は細顆粒状のことが多い。(5)特異な形態の多核細胞を認める。(6)上皮性悪性腫瘍に比し、その形態が種類によりきわめて異なり、細胞の型は母細胞に類似するとしている。

本症例では細胞診上、孤立散在性に、円形、あるいは紡錘形の悪性細胞を認め、核径は10~40 μ で大小不同が著しく、分葉核、多核も多く、核染色質は微細顆粒状から、粗大凝集状を呈するものまであり、ときにインディアナインク状に濃染性の細胞も認めた。核膜の肥厚は少ないが、核小体はその数と大きさの増大を認める。細胞質はライトグリーンに染まるが、横紋やSymmonds²⁶⁾がいうような好酸性細胞質顆粒は認めていない。

従来、横紋筋肉腫は組織型によって多形性型、胎児性型、胞巣状型に大別され、胎児性型の亜型として、ブドウ状型(botryoid type)があるとされている^{6,7,10,13,25)}。多形性型の典型例では、ときに横紋を証明できる細長い線維状の横紋筋肉腫細胞と、円形で強くエオジンに染まる顆粒が細胞質に充満し、大きな核小体を伴った偏在核を有する横紋筋芽細胞とが混在する組織像を示す。胎児性では、小型円形ないし、紡錘状細胞の単純な細胞像をとる。本症例の組織学的検索では、多形性型の組織像をとっており、多核でときに横紋を証明する細胞質をもつ細胞と、円形で強くエオジン好性の細胞質をもつ筋芽細胞がみられた。横紋の存在意義については診断上、重要とする報告^{28,30)}もあれば、重要性については触れていない報告もある¹⁹⁾。VG, MA染色では内膜間質細胞肉腫にみられるような腫瘍細胞個々を取り囲むような線維状構造物は認められなかった。また、一部の細胞質はPAS染色陽性を示した。これは横紋筋肉腫細胞に特異的な反応ではないが、平滑筋肉腫細胞との鑑別には有用である。

肉腫細胞の染色体数に関する報告はいくつかあるが⁸⁾、組織レベルでの核DNAパターンについての報告はきわめて少ない。今回の横紋筋肉腫細胞のDNAとヒストグラムでは、3倍体域にピークを持ち、12倍体にまで及ぶ漸減性のモードを形成しており、DNA量からも多形性が裏付けられた。

性細胞以外の人正常細胞の染色体数は46本(2倍体)で、正常のcell cycleにおいてはDNA量は2倍体から4倍体の間で変化しており、それに対し、癌や肉腫では2倍体の他に高倍体、すなわち、染色体数が46本以上の細胞が存在し、それが分裂増殖することによって、よ

り高倍体の細胞が形成される。また、癌細胞や肉腫細胞の継代培養の実験⁹⁾で立証されているように、分裂過程における metaphase plate の染色体数は、2 倍体域や、4 倍体域が中心となっており、これらの細胞が分裂増殖を営んでいると考えられる。今回のヒストグラム上でも、実際に分裂増殖にたずさわっている細胞は8 倍体までの細胞の一部であり、それ以外の細胞は分葉核、多核といった分裂増殖過程からはみ出した細胞であり、肉腫としての形質を遺伝学的に伝えていく細胞ではなく、死滅すべき細胞と考えることができよう。

V. 結 語

子宮体部横紋筋肉腫の1 症例について、臨床経過、細胞診所見、病理組織学的所見、および、組織レベルの細胞核 DNA 量の測定を行った。本症例は術前に細胞診、組織診によって、肉腫と診断し、術後、摘出物の検索により子宮体部横紋筋肉腫と確認された。細胞診では非上皮性悪性腫瘍由来を強く示唆する細胞が認められた。組織検査では、特殊染色により、横紋を有する細胞、PAS 陽性細胞などが確認された。また、組織レベルの DNA 定量では、12 倍体にまで及ぶ、漸減性の大きなモードを認め、DNA 量からも横紋筋肉腫細胞の多形性が裏付けられた。

本研究にあたり、ご協力頂きました佐々木研究所附属杏雲堂病院婦人科、天神美夫博士、杉田道夫先生に深謝致します。

Summary

In a case of uterine rhabdomyosarcoma, clinical data and histological and cytological findings were comparatively studied, measuring nuclear DNA amount at histologically.

- (1) Diagnosis of rhabdomyosarcoma was established by preoperative cytology and histology. Histological studies of postoperative specimen revealed rare findings of mesenchymal mixed tumor, consisting of only rhabdomyosarcomatous tissue.
- (2) Smear preparation indicated polymorphic malignant cells suggesting neoplasia of non-epithelial origin.
- (3) Combination with special stainings such as V.G, M.A, PAS, etc. permitted confirming the above-mentioned diagnosis.
- (4) DNA' determination by cytophotometry showed

wide range of DNA amount from diploidy (2C) to 12C, reflecting polymorphism of this cellular character.

文 献

- 1) Aaro, L.A., et al.: Sarcoma of the uterus, a clinical and pathologic study of 177 cases, *Am. J. Obstet Gynecol.*, 94: 101~109, 1966.
- 2) Bartsich, E.G., et al.: Carcinosarcoma of the uterus A 50-year review of 32 cases, *Obstet Gynec.*, 30: 518~523, 1967.
- 3) Boutsellis, J.G. and Ullery, J.C.: Sarcoma of the uterus, *Obstet Gynec.*, 20: 23~35, 1962.
- 4) Carter, E.R. and J.R. McDonald.: Uterine mesodermal mixed tumors, *Am. J. Obstet Gynec.*, 80: 368~373, 1960.
- 5) Chuang, J.T., et al.: Carcinosarcoma and mixed mesodermal tumor of the uterine corpus, *Am. J. Obstet Gynec.*, 35: 769~780, 1970.
- 6) Enzinger, F.M. and Shiraki, M.: Alveolar rhabdomyosarcoma, Analysis of 100 cases, *Cancer*, 24: 18~31, 1969.
- 7) Horn, R.C. and Enterline, H.J.: Rhabdomyosarcoma, A clinico-pathologic study and classification of 39 cases, *Cancer*, 11: 181~199, 1958.
- 8) 石渡千恵子・他: 子宮癌肉腫の細胞診と培養の試み—組織発生をめぐる考察—, *日臨細胞誌*, 19: 215~225, 1980.
- 9) Kempson, R.L. and Bari, W.: Uterine sarcomas classification diagnosis and prognosis, *Hum Pathol.*, 1: 331~349, 1970.
- 10) Keyhani, A. and Bookher, R.J.: Pleomorphic rhabdomyosarcoma, *Cancer*, 22: 956~967, 1968.
- 11) Krupp, P.J., et al.: Malignant mixed Mullerian neoplasms (mixed mesodermal tumors), *Am. J. Obstet Gynec.*, 81: 959~969, 1961.
- 12) Laberge, J.L.: Prognosis of uterine leiomyosarcomas based on histopathologic criteria, *Am. J. Obstet Gynec.*, 84: 1833~1837, 1962.
- 13) Mackenzie, A.R., et al.: Myosarcomas of the bladder and prostate, *Cancer*, 22: 833~844, 1968.
- 14) Marcella, L.C. and J.K. Cromer.: Mixed mesodermal tumors a report of 11 cases, *Am. J. Obstet Gynec.*, 77: 275~285, 1959.
- 15) 三谷 靖・他: 子宮肉腫について、産婦治療, 20: 361~368, 1970.
- 16) Norris, H.J., et al.: Mesenchymal tumors of the uterus 11 A clinicopathologic study of 31 mixed

- mesodermal tumors, *Obstet Gynec.*, 28 : 57~63, 1966.
- 17) Ober, W.B. : Carcinosarcoma of the endometrium, *Am. J. Obstet Gynec.*, 83 : 1534~1539, 1962.
- 18) Palmer, J.P. and Spratt, D.W. : Pelvic carcinoma following irradiation for benign gynecological diseases, *Am. J. Obstet Gynec.*, 72 : 497~505, 1956.
- 19) Parker, J.E. : Cytologic findings associated with primary uterine malignancies of mixed cell types (malignant mixed mullerian tumor), *Acta Cytol.*, 8 : 316~320, 1964.
- 20) Rubin, A. : The histogenesis of carcinosarcoma (mixed mesodermal tumor) of the uterus as revealed by tissue culture studies, *Am. J. Obstet Gynec.*, 77 : 269~274, 1959.
- 21) Sakamoto, A. and Sugano, H. : Mixed mesodermal tumor of the uterine body Relationship between histology.
- 22) Silverberg, S.G. : Leiomyosarcoma, *Obstet Gynec.*, 38 : 613~628, 1971.
- 23) Speert, H. and Peightal, T.C. : Malignant tumors of the uterine fundus subsequent to irradiation, *Am. J. Obstet Gynec.*, 57 : 261~273, 1949.
- 24) Sternberg, W.H., et al. : Malignant mixed mullerian tumor (mixed mesodermal tumor), *Cancer*, 7 : 704~724, 1954.
- 25) Stout, A.P. : Rhabdomyosarcoma of the skeletal muscles *Ann. Surgery*, 123 : 447~472, 1946.
- 26) Symmonds, R.E. and Dockerty, M.B. : Sarcoma and sarcoma like proliferations of the endometrial stroma, *Surg. Gynec. Obstet.*, 100 : 232~240, 1955.
- 27) Taylor, C.W. : Mesodermal mixed tumors of female genital tract, *J. Obstet Gynec. Brit. Emp.*, 65 : 177~188, 1958.
- 28) 天神美夫, 武田 敏・他 : 新婦人科細胞診断学, p. 160~169, 医学書院, 東京, 1977.
- 29) 山田 喬 : 剥離細胞診断学, p. 129, 文光堂, 東京, 1970.
- 30) 山田 喬・他 : 非上皮性悪性腫瘍の剥離細胞診断, 筋原性肉腫の剥離細胞像, *日臨細胞誌*, 12 : 77~83, 1973.
- 31) Virchow, R. : *Die Krankhaften Geschwuelste*, Vol. 2, 182, Berlin, August Hirschwald, 1864.
- 32) White, T.H., et al. : A 34-year clinical study of uterine sarcoma, including experience with chemotherapy *Obstet Gynec.*, 25 : 657~663, 1965.