原 著

肺腺癌細胞の悪性度

——腺癌細胞の細胞形態と手術予後——

大阪府立成人病センター細胞診断科¹⁾, 呼吸器科²⁾, 病理³⁾南雲サチ子¹⁾ 宝来 威²⁾ 松田 実²⁾ 建石 竜平³⁾

肺腺癌の手術予後を予測する目的で, 細胞診での腺癌細胞の形態学的特徴と, 手術予後との関連について検討した。

原発性肺腺癌の治癒切除例で, 2年以内の遠隔転移による再発死亡例8例(早期再発群)と, 5年以上の長期生存例10例(予後良好群)について, 術前に直接病巣採取により得られた腺癌細胞の形態を観察した。

早期再発群には, 核が大きく, 類円形で, N/C大, クロマチンは顆粒状で核内に密に均等分布し, 核小体は大きく数個認める腺癌細胞が多く出現した。他方, 予後良好群では, 核は小さく, N/C小, 核はおれまがり状を呈し, クロマチンは疎で不均等に分布し, 核小体は1個で小さい腺癌細胞が出現した。

早期再発群に多く出現した細胞を悪性度の高い腺癌細胞, 予後良好群に多く出現した細胞を悪性度の低い腺癌細胞とした。これらの細胞の出現率から, 85例の腺癌症例について悪性度判定を行い予後を予測したところ, 手術切除成績, 術後生存率は, 悪性度段階と相関した。

Key words : Lung — Cytology — Adenocarcinoma — Chromatin — Post-operative prognosis

緒 言

肺癌のなかでも, 腺癌は長年にわたって緩徐に増大するものから, 極めて早く遠隔転移を起こすものまで, その臨床経過は多彩である。小型の孤立性陰影として早期

発見され, 治癒切除がなされた症例のなかにも, 術後早い時期に遠隔転移による再発で死亡する予後の悪い腺癌症例に遭遇することがある。

1970年, 日本癌学会合同シンポジウムで肺癌の悪性度について討議され, 腺癌については病理組織学的な立場から異型度(CAT, SAT), および浸潤度(INF)等が手術予後と密接な関係があること, 電顕的な観察から細胞間結合の強弱が転移と関連することなどが明らかにされた^{2,10)}。

筆者らは, 細胞診で肺癌(腺癌)と診断された時に, その細胞形態から予後を推測し, 手術の適応や治療の選択が可能か否かに興味をもち, 細胞診で得られた腺癌細胞と手術予後との関連についての検討を行ってきた^{4,8)}。その後も多くの症例での検討を重ね, 腺癌の細胞形態が手術予後とある程度関連する成績を得たので報告する。

Cytologic characteristics of adenocarcinoma of the lung in relation to post-operative prognosis

Sachiko NAGUMO, C.T., I.A.C.

Department of Clinical Cytology

Takeshi HORAI, M.D.

Department of clinical Oncology and Research for Lung Cancer

Minoru MATSUDA, M.D., M.I.A.C.

Department of Internal Medicine

Ryuhei TATEISHI, M.D.

Department of Pathology

The Center for Adult Diseases, Osaka

論文別刷請求先 ☎537 大阪市東成区中道1丁目3の3 大阪府立成人病センター細胞診断科

昭和58年3月7日受付

表 1 対象症例

症 例 年 齢, 性			Stage*	組 織 亜 型	予 後	喀 痰 細 胞 診	材料の採取法
早期再発群	1	Z. F. 61, M	I	Papillary	18ヵ月死亡	(-)	Brushing
	2	K. S. 63, M	I	Papillary	11ヵ月死亡	不 検	Brushing
	3	T. T. 57, M	I	Papillary	9ヵ月死亡	不 検	Aspiration
	4	K. M. 45, F	II	Tubular	5ヵ月死亡	不 検	Brushing
	5	M. Y. 46, M	II	Tubular	15ヵ月死亡	不 検	Aspiration
	6	Y. Y. 58, F	II	Tubular	11ヵ月死亡	(+)	Brushing
	7	A. T. 58, F	I	Tubular	13ヵ月死亡	不 検	Brushing
	8	M. S. 56, M	I	Tubular	8ヵ月死亡	不 検	Aspiration
予後良好群	9	H. M. 46, M	II	Tubular	5 年 生 存	不 検	Brushing
	10	M. S. 41, F	I	Papillary	5 年 生 存	不 検	Brushing
	11	K. T. 42, F	I	Papillary	5 年 生 存	(+)	Brushing
	12	U. G. 56, M	I	Papillary	5 年 生 存	不 検	Brushing
	13	K. U. 68, M	I	Papillary	5 年 生 存	不 検	Aspiration
	14	T. F. 52, M	II	Tubular	5 年 生 存	(-)	Aspiration
	15	T. N. 60, M	II	Tubular	5 年 生 存	不 検	Brushing
	16	M. T. 54, F	I	Papillary	5 年 生 存	不 検	Aspiration
	17	K. H. 56, F	I	Tubular	5 年 生 存	不 検	Aspiration
	18	F. M. 49, F	II	Papillary	5 年 生 存	不 検	Brushing

*Pathological TNMによるStage分類 (UICC)

研究材料, 方法

大阪府立成人病センターで、昭和51年末までに切除された原発性肺腺癌(62例)のうち、臨床病期がI・II期で治癒切除が行われ、その病理組織像が高分化腺癌(Papillary typeおよびTubular type)である症例のうち、2年以内に遠隔転移により再発死亡したもの(早期再発群)と、5年以上再発の徴候なく生存中のもの(予後良好群)を選んだ。これらの症例のうち、術前の腫瘍直接採取法(病巣擦過法あるいは経皮的肺穿刺法)による細胞診で、腺癌細胞が豊富に得られ、細胞標本の再観察が可能な症例、早期再発群8例、予後良好群10例を対象とした(表1)。TNM分類に基づくStage分類、組織亜型、材料採取法等両群で差異はない。

また、昭和55年末までに切除された肺腺癌については、病理組織での分化度、手術術式(治癒切除、準治癒切除、非治癒切除)を問わず細胞標本の観察が可能であった85例(対象症例18例を含む)についても細胞形態を観察し、手術予後との検討を行った。特に昭和52年以後の症例についてはprospectiveに手術予後の予測を

行った。

病巣擦過法あるいは経皮的肺穿刺法で得られた材料は、塗抹後、型のごとくアルコール・エーテル等量液で固定し、パパニコロウ染色を行った。それぞれの標本について1症例200個の腺癌細胞について、細胞質、核の大きさ、核形、クロマチンおよび核小体について観察した。またmicrometerを用いて、それぞれの腺癌細胞の細胞の大きさ、核、核小体の長径および短径を計測した。

成 績

I. 腺癌の手術予後と腺癌細胞の所見

1) 細胞質、細胞配列と手術予後

腫瘍直接採取法で得られた腺癌細胞の細胞質は、大部分類円形でライトグリーンに淡染し、小空胞状を呈した。なかには重厚味をもって染色されるもの、粘液空胞があるものも観察されたが、早期再発群、予後良好群で差はなかった。

細胞の配列については、予後良好群に結合性の強い大集団を認める傾向がみられたが、材料採取法の違い(病巣擦過法と肺穿刺法)による影響も大きく、特徴的では

図1 腺癌細胞の大きさ(核径)と手術予後

なかった。

2) 核の大きさ, 核の大小不同, 核細胞質比(N/C)と手術予後

腺癌細胞の核の大きさを長径×短径の面積でもとめ, 個々の症例についてその平均値と標準偏差を図1に示す。核の大きさの平均値は, 早期再発群で $11.27 \mu \times 11.27 \mu$, 予後良好群では $9.90 \mu \times 9.90 \mu$ であった。また個々の症例での核の大きさの平均値が $11 \mu \times 11 \mu$ 以上の症例は, 早期再発群では6例であったが, 予後良好群では1例であった。一方 $9 \mu \times 9 \mu$ 以下の症例は早期再発群にはなく, 予後良好群には2例にみられた。核の大きさは早期再発群で大きい傾向にあった。

核の大小不同を核の面積の標準偏差として表した。早期再発群の標準偏差は $\pm 54.63 (\pm 21.39 \sim \pm 115.98)$, 予後良好群では $\pm 38.99 (\pm 14.87 \sim \pm 63.80)$ と早期再発群で大きく, したがって核の大小不同は, 早期再発群で著明であった。

核細胞質比(N/C)については, 核および細胞質の面積比で求めた。N/Cの平均値が1/2より大きい症例は, 早期再発群6例(75%), 予後良好群5例(50%)で, 早期再発群に大きい傾向がみられた。

3) クロマチンパターン, 核形と手術予後

腺癌細胞のクロマチンパターンを, (I) 顆粒状のクロマチンが核内に密に均等分布し, 核が暗くみえるもの,

(II) 顆粒状のクロマチンが均等に分布するが, 密度が疎で核が明るくみえるもの, (III) 顆粒状あるいは網状のクロマチンが不均等に分布し, 密度が疎のもの, (IV) 粗大顆粒状のクロマチンが疎に分布するもの, の4型に大別した。それぞれのクロマチンパターンについて, 各症例での出現率を図2に示す。早期再発群では(I)のクロマチンパターンの出現率が最も高く(平均46.9%), 予後良好群には(III)のクロマチンパターン(平均45.0%)が多く出現した。

核の形を類円形, おれまがり状(nuclear folding)および多辺不整形に分けた。早期再発群では類円形47.5%, おれまがり状44.6%, 多辺不整形7.9%で, 予後良好群ではおれまがり状49.0%, 類円形40.8%, 多辺不整形10.2%であった。核の形はクロマチンパターンとの関連を示し, 顆粒状で密に均等分布するクロマチン(I)は, 類円形の核を示すことが多く, 一方, 顆粒状あるいは網状で不均等, 疎に分布するクロマチン(III)では, 核形はくびれを有するおれまがり状を呈するものが多かった。

4) 核小体と手術予後

核小体を直径 2μ 未満の小型のもの, 2μ 以上で大きな核小体1個を認めるもの, 2μ 以上で数個の大きな核小体を認めるものについて検討を行った(表2)。径 2μ 未満の小さい核小体は予後良好群に多く出現し, 早期再発群には径 2μ 以上の大きな核小体が数個散在するものが多く出現した。

II. 腺癌細胞の悪性度

腺癌細胞の細胞像と手術予後の関係から, 早期再発群に多く出現した細胞を悪性度の高い腺癌細胞, 予後良好群に多く出現した細胞を悪性度の低い腺癌細胞とした(表3)。すなわち, 悪性度の高い腺癌細胞は核が大きく, N/C大, 核は類円形で核縁円滑, クロマチンは顆粒状で核内に密に均等に分布し, 核は暗くみえる。また核小体は大きく, 数個認められる(写真1, 2)。他方, 悪性度の低い腺癌細胞は, 核が小さく, したがってN/C小, 核にはおれまがりが見られ, クロマチンは疎で不均等に分布し, 核小体は1個で小さい(写真3, 4)。

III. 腺癌症例の悪性度と手術成績

腺癌細胞の悪性度を基準にして, 昭和55年末までに切除した全腺癌例のうち, 細胞診標本での腺癌細胞の観察可能な症例85例について, それぞれの症例の悪性度判定を行った。特に昭和52年度以後の症例44例については, 細胞診での診断時に prospective に悪性度の判定を行った。すなわち, 悪性度の高い腺癌細胞の出現頻度の高い症例を“malignancy-high”, 悪性度の低い

図2 腺癌細胞のクロマチンの出現頻度と手術予後

表2 腺癌細胞の核小体と手術予後

	核小体		
	2μ以下	2.5μ以上

早期再発群	24.1%	18.1%	57.9%
予後良好群	50.5%	15.7%	33.8%

表3 腺癌細胞の悪性度

	悪性度の高い 腺癌細胞	悪性度の低い 腺癌細胞
核の大きさ	核が大でかつ N/C大	核が小 N/C小
核形	類円・円滑	不整・おれまがり
核クロマチン	密・濃い・均等	疎・薄い・不均等
核小体	数ヶ・散在	単個・類円、小

腺癌細胞の出現頻度の高い症例を“malignancy-low”とし、どちらも判定できない症例は“moderate”（写真5）とした。

腺癌85例のうち“malignancy-high”例32例，“moderate”例26例，“malignancy-low”例27例となったが、これらの各群での切除成績での治癒切除率は“malignancy-high”群34.4%，“moderate”群53.8%，“malignancy-low”群63.0%となり、悪性度の高いほど治癒切除率が悪かった。

また、これらの悪性度分類による各群での手術予後の

生存曲線を、全症例について図3、とくに治癒切除例について図4に示す。全症例についての5年生存率は“malignancy-high”群20%，“moderate”群43%，“malignancy-low”群68%であり、腺癌細胞の悪性度は、手術予後と相関した。また、治癒切除となった症例での5年生存率は62%であるが、治癒切除群での悪性度別の生存曲線も（図4）悪性度段階と相関した。“malignancy-high”群のなかで5年生存を得た症例が1例あったが、

図3 腺癌症例の悪性度と手術予後（全腺癌例）（数字は症例数，〔 〕は生存者数，% は生存率）

この症例は“malignancy-high”（写真6）と判定されたために、術後に定期的な化学療法をくり返し行った症例であった。

考 案

肺腺癌において、手術前に細胞診での細胞像から、悪性度を判定し、手術予後を推測する目的で、腺癌細胞の形態学的特徴を検討した。腺癌のなかには早期発見と考えられるにもかかわらず、遠隔転移により再発死亡する予後の悪い症例があり、予後を推測することは臨床上意義深いものと考えられる。鈴木ら⁹は、胸部X線上の腺癌の陰影の解析から、腫瘍影の大きさを訂正することにより、腺癌の予後を推測している。

筆者らは、治癒切除が可能であった比較的早期の高分化腺癌を対象として、主に遠隔転移による再発について、細胞学的な立場での腺癌細胞の悪性度分類を行い、手術予後の推測を試みた。すなわち、細胞形態については、早期再発群では核が大きく、類円形で、したがってN/Cも大であり、予後良好群では核が比較的小さく、N/Cは小で、核形はくびれ状を呈することが多い。クロマチンについては、早期再発群では、細顆粒状で核内に密に均等に分布するものが多く、予後良好群では、顆粒状のクロマチンが疎に不均等に分布するものの出現頻度が高かった。細顆粒状で密に分布するクロマチンは、DNAをはじめ核内物質が充満しているため、大きくて類円形で緊満した核形を有しているが、疎で不均等のクロマチンは、DNAをはじめ核内物質が希薄なため、固定、染色の人工的な操作の段階で核がしばみ、おれまがり状のくびれを呈すると考えられる。核小体は、早期再発群では大きくて多発し、すなわち、RNAが豊富で細胞の分裂、増殖が盛んであると考えられる。したがって、早期再発

図4 腺癌症例（治癒切除例）の悪性度と手術予後（数字は症例数，〔 〕は生存者数，% は5年生存率）

群に多く出現する細胞は、DNA、RNAの含量が多く、代謝活性の高い細胞と考えられ、悪性度が高いと推測される。

腺癌細胞のDNA量と手術予後を検討した小松ら⁷の成績によれば、DNA量の高い細胞を有する腺癌では、手術予後が悪く、また、Blöndal¹¹は扁平上皮癌の予後がDNAと相関することを明らかにしている。したがって、DNAを反映する核クロマチンを中心とする腺癌細胞の形態の差異は、腺癌の予後の推測を可能にするものと考えられる。

早期再発群に多く出現した代表的な腺癌細胞を悪性度の高い腺癌細胞、予後良好群に多く出現した腺癌細胞を悪性度の低い腺癌細胞として、これらの悪性度を基に、細胞の出現頻度から、それぞれの腺癌症例について、症例の悪性度を判定した。特に昭和52年度以後の症例については、直接採取法の細胞診で腺癌と診断するごとにprospectiveに、その症例の悪性度の分類を試みた。この悪性度分類と、実際の手術成績を比較すると“malignancy-low”群での治癒切除率が高く、また生存曲線も悪性度の段階と相関した。すなわち、悪性度の高い細胞が多く出現する症例では、治癒切除になることが少なく、また、治癒切除となってもすでにmicrometastasisを起こしており、遠隔転移により再発死亡することが多いと考えられる。

岡田¹⁰は、腺癌の電顕像から、細胞間結合の強弱が悪性度を支配していると報告している。筆者らも、標本上の腺癌細胞の集団の性状について検討を行ったが、擦過法と穿刺法の方法採取の差異により、出現する細胞集団にも差異を認め、細胞間結合についての明確な所見は得られなかった。しかし、予後良好群では、大集団が多く出現する傾向があったので、材料採取法を揃えて検討する必要があると考えられる。

腺癌では病理組織学的な組織型分類について予後と

の検討がなされている^{3,6)}。筆者らの細胞学的な悪性度は必ずしも病理学的な組織型や分化度と一致せず、高分化腺癌のなかにも悪性度の高い症例があったり、低分化腺癌にも悪性度が低く、実際に予後の良かった症例もあった。細胞診での悪性度は、病理組織と異なり、手術前に予後の推測ができ、術後の補助療法についての示唆を与えることができる。

ここに記載した症例については、術後にそれぞれ免疫・化学療法による補助療法を受けているが、特に“malignancy-high”と予測された症例には、術後に定期的な強力な化学療法をくり返し行っているが、その中の1例で5年生存を得た。腺癌における化学療法の成績は一般によくないとされている。また、すでに報告した小細胞癌の化学療法に関するクロマチン^{5,12)}と、今回検討した腺癌手術症例の予後にかかわるクロマチンとは、その形態は必ずしも一致するものではないので、腺癌のクロマチンから化学療法の効果の予測はむずかしい。しかし、本稿での検討とともに、今後さらに化学療法の効果とクロマチンの分析を加えることにより、術後の補助療法への示唆が得られ、腺癌の手術成績の向上が期待できると考えられる。

結 語

肺腺癌症例について、手術予後と腺癌細胞の形態学的特徴を検討し、以下の結論を得た。

1. 早期再発群に出現する悪性度の高い腺癌細胞は、核が大きく、N/Cが大、核形は類円形で核縁は円滑、クロマチンは顆粒状で核内に均等密に分布し、核小体は大きく数個認められる。
2. 予後良好群に出現する悪性度の低い腺癌細胞は、核が小さく、N/Cは小、核にはおれまがりがみられ、クロマチンは疎で不均等に分布し、核小体は1個で小さい。
3. これらの悪性度基準による prospective な予後の予測を行った腺癌症例の実際の切除成績、手術予後は、悪性度の段階とよく一致した。

本研究は厚生省がん助成金(56指-1)によった。

Summary

Among adenocarcinoma patients detected early to have small solitary lesions on chest films, quite a few died of recurrence in distant sites in a short time after the cura-

tive resection. It would be interesting if certain cytologic characteristics of adenocarcinoma could be correlated with post-operative prognosis.

Cellular features of adenocarcinoma obtained directly from tumors by TV-brushing method or needle aspiration were compared between the early recurrence group and the long survival group. The patients in these groups were stage I or II and were proved histologically well differentiated adenocarcinoma.

The cells which appeared more often in the early recurrence group were regarded as “malignancy-high” cells. The cells which appeared more often in the long survival group were regarded as “malignancy-low” cells. A “malignancy-high” cell was characterized by a large nucleus and increased nuclear cytoplasmic ratio. The nucleus was round in shape and had a smooth border. Chromatin was tightly compact and evenly distributed. There were several large nucleoli. A “malignancy-low” cell was characterized by a small nucleus and slight increased nuclear cytoplasmic ratio. The nuclear border was folded. Chromatin was sparse and unevenly distributed. The nucleus was solitary and small in size.

All the adenocarcinoma patients who had had resections were classified into three categories of “malignancy-high”, “moderate”, and “malignancy-low” according to the appearance rate of cancer cells. The survival curves of the three groups show a good correlation between the cytology of malignancy and the length of the patients survival.

Cytologic characteristics may be an indicator to predict the post-operative prognosis of adenocarcinoma of the lung.

文 献

- 1) Blöndal, T. and Bengtsson, A.: Nuclear DNA measurements in squamous cell carcinoma of the lung: a guide for prognostic evaluation, *Anticancer Res.*, 1: 79~86, 1981.
- 2) 服部正次: 肺癌細胞の分化度と悪性度, 日本癌学会合同シンポジウム記録: 115~118, 1970.
- 3) 服部正次・他: 肺腺癌の組織型分類および分化度別にみた術後成績, 肺癌, 19: 361~370, 1979.
- 4) 宝来 威, 南雲サチ子, 竹永昭雄, 土井 修, 建石竜平: 肺腺癌の細胞像と予後, 肺癌, 15: 245, 1975.
- 5) Horai, T., Sone, H., Takenaga, A., Ikegami, H., Matsuda, M. and Hattori, S.: Cytologic characteristics of oat-cell carcinoma of the lung in relation to the effect of chemotherapy, *Cancer*, 47: 22~26,

1981.

- 6) 君塚五郎, 林 豊: 肺癌の病理組織学的研究—ことに悪性度との関連について, 肺癌, 19: 167~176, 1979.
 - 7) 小松彦太郎・他: 私信, 肺癌投稿中.
 - 8) 南雲サチ子, 村井映子, 宝来 威, 竹永昭雄, 松田 実: 肺腺癌細胞の所見と予後, 日臨細胞誌, 14: 83, 1975.
 - 9) 西脇 裕, 鈴木 明, 難波煌治, 塩谷寿美江, 照井頌二, 石川七郎: 腺癌の予後に影響を及ぼす因子に関する検討—訂正腫瘍径から見た分化型腺癌の予後について, 肺癌, 15: 244, 1975.
 - 10) 岡田慶夫: 組織型別にみた肺癌の悪性度, 日本癌学会合同シンポジウム記録: 125~132, 1970.
 - 11) 鈴木 明, 下里幸雄, 西脇 裕, 難波煌治, 砂倉瑞良, 児玉哲雄: 肺癌のX線診断の進歩, 特に小細胞性未分化癌と腺癌のX線像について, 診断と治療, 65: 1427~1436, 1977.
 - 12) 曾根啓子, 宝来 威: 肺小細胞癌の細胞像と化学療法の効果, 日臨細胞誌, 20: 23~29, 1981.
-

写真 1, 2

早期再発群に多く出現した腺癌細胞，核は類円形で顆粒状のクロマチンが核内に密に均等分布し，核小体も著明に認める（1：症例 5，2：症例 8，Pap. 染色， $\times 1,000$ ）

写真 3, 4

予後良好群に多く出現した腺癌細胞，核はおれまがり状で顆粒状のクロマチンが疎で不均等分布し，小さい核小体を 1 個認める（3：症例 14，4：症例 11，Pap. 染色， $\times 1,000$ ）

写真 5 悪性度判定 “moderate” とした腺癌細胞（Pap. 染色， $\times 1,000$ ）

写真 6 悪性度判定 “malignancy-high” とした腺癌細胞であるが，定期的な化学療法を行い 5 年生存を得た症例（Pap. 染色， $\times 1,000$ ）