原 著

ヒト気管支上皮における組織修復過程の細胞学的検討

東北大学抗酸菌病研究所外科¹⁾, 国保若柳病院外科²⁾, 仙台厚生病院外科細胞診室³⁾

斎藤 泰紀¹⁾ 薄田 勝男¹⁾ 菅間 敬治¹⁾ 佐川 元保¹⁾
 佐藤 雅美¹⁾ 太田伸一郎¹⁾ 永元 則義¹⁾ 今井 督¹⁾
 須田 秀一¹⁾ 橋本 邦久¹⁾ 仲田 祐¹⁾ 佐藤 博俊²⁾
 関口 礼子³⁾ 高橋 昌子³⁾

気管支鏡下に粘膜をブラシで擦過したのち、日をあらため再度擦過して得た標本上に出現した異型細胞の所見を検討した。これらは気管支上皮の機械的傷害に起因する組織修復細胞と考えられ、ときには悪性細胞との慎重な鑑別を要した。擦過後の細胞所見は経時的に変化した。1日目に観察する機会はなかったが、2日目には核分裂像が散見され、異型高度で平面的な細胞集塊が多数出現した。核は大型で類円形、クロマチンは増量し、核小体は巨大かつ不整形で数個あった。細胞質は好塩基性で扁平に拡がり小空胞状であった。3日目は、2日目とほぼ同様な所見であったが、核分裂像はなかった。4、5日目は、異型細胞の数が少なくなり、異型も軽度であった。線毛のみられない円柱上皮細胞が多数あり、一部に杯細胞や扁平上皮化生細胞への分化を示す細胞集団が混在した。7日目はほぼ正常な所見に復した。これらの所見は、上皮の傷害後、早期に細胞の分裂と、それに伴う活発な代謝があり、未分化な異型に富む上皮となり、その後正常な上皮に分化し再編成されていくことを示すと考えられた。ほかに、気道の慢性刺激によると考えられる類似の異型細胞が出現した症例があり、臨床上注意が必要と考えられた。

Key words : Bronchus—Cytology—Repair—Epithelium—Injury

は じ め に

気管支上皮に対するさまざまな傷害後の組織修復過程

Cytological studies of tissue repair in the human lower respiratory tract

Yasuki SAITO¹⁾, M.D., Katsuo USUDA¹⁾, M.D., Keiji KANMA¹⁾, M.D., Motoyasu SAGAWA¹⁾, M.D., Shinichiro OTA¹⁾, M.D., Noriyoshi NAGAMOTO¹⁾, M.D., Tadashi IMAI¹⁾, M.D., Hideichi SUDA¹⁾, M.D., Kunihisa HASHIMOTO¹⁾, M.D., Tasuku NAKADA¹⁾, M.D., Hirotohi SATO²⁾, M.D., Reiko SEKIGUCHI³⁾, C.T., I.A.C., Masako TAKAHASHI³⁾, C.T., J.S.C.

¹⁾ Dept. of Surgery, Research Institute for Chest Diseases and Cancer, Tohoku Univ. Sendai, Japan

²⁾ Dept. of Surgery, Wakayanagi Hosp.

³⁾ Dept. of Cytopathology, Sendai Kosei Hosp.

論文別刷請求先 ☎980 仙台市星陵町4の1 東北大学抗酸菌病研究所外科 斎藤泰紀

昭和59年8月29日受付

昭和59年11月2日受理

に関する臨床細胞学的検討は、十分には行われていない。

著者らは、肺癌の診断のために繰り返して気管支鏡下に擦過細胞診を施行した症例から、良性の異型細胞が出現することをしばしば経験した。これらの異型細胞は、ときにはきわめて異型高度で、悪性腫瘍との鑑別に困惑することがある。一方、ときには軽度な杯細胞の増生や、扁平上皮化生により修飾された、正常に近い円柱上皮細胞にすぎないこともある。

かかる症例の擦過細胞所見を検討したところ、出現した異型細胞は、擦過すなわち気管支上皮の機械的な傷害後の、組織修復機転に関与する細胞であり、またその所見は傷害後の経過時間により変化することを明らかにしたので報告する。

対象と方法

繰り返し擦過細胞診を施行した症例の多くは、喀痰細胞診陽性で胸部レ線写真無所見の肺癌例であった。気管支鏡を施行したが、腫瘍の局在部位同定に難渋し、さまざまな部位を繰り返して擦過した。それらのうち、代表的な所見を呈した3例を対象とした。3例とも50歳以上の喫煙指数600以上の男性で、最終的には切除標本により腫瘍の局在部位を確認し得、いずれも扁平上皮癌であった。

局在部位同定操作は、すでに報告したごとくで²⁰⁾、気管支鏡下に擦過用ブラシで気管支粘膜を擦過し、スライドグラスに塗抹したのち、ただちに95%エタノールにより固定した。パパニコロー染色と、一部にPAS染色を併用して鏡検した。腫瘍の局在した部位は検討の対象外として、同時に施行した生検所見とも比較し検討した。

ほかに59歳の男性で、肺結核性空洞にアスペルギルス症を合併した症例の、初回の気管支擦過標本中出现した、類似の所見を呈する異型細胞についても検討した。

結 果

各標本の細胞所見を検討したところ、症例および擦過部位にかかわらず、前回擦過からの経過時間により所見が異なった。したがって以下、擦過後の経過時間に従って細胞所見を記載した。なお、初回擦過時の標本は、いずれの症例も、線毛円柱上皮細胞を主体とした正常な所見であった。

擦過後2日目(図1, 2)

標本上には多数の異型細胞が出現した。孤立性の細胞はまれで、平面的でシート状の、一部重積性を伴う細胞集塊が主体であった。配列は不規則で、集塊の辺縁は不整であった。

細胞は大型で平面的かつ柔軟に拡がり、細胞境界は不明瞭であった。細胞質は好塩基性に染色され、角化およびケラチン顆粒は認めず、微小な空胞が多数あり、繊細なレース状ないし小空胞状であった。

核はやや大型で、長径約15 μ 、大小不同は軽度で、核形不整なく、類円形であった。一部に核分裂像が散見された。核内クロマチンは中等度に増量し、やや粗な顆粒状で均一に、一部は凝集して分布していた。核小体はきわめて特徴的で、巨大かつ不整形で、好塩基性に染色さ

図1 気管支擦過後2日目の再擦過標本。核分裂像が散見される(Pap.染色, $\times 400$)

図2 気管支擦過後2日目の再擦過標本。大型の類円形核と、巨大な核小体がみられ、細胞質は小空胞状(Pap.染色, $\times 1,000$)

図3 気管支擦過後3日目の再擦過標本。核の大小不同を伴う異型細胞の平面的な細胞集塊(Pap.染色, $\times 400$)

れ、1個ないし数個あった。

擦過後3日目(図3, 4)

2日目同様多数の異型細胞が、主としてシート状で、一部重積性を伴う、不規則な辺縁を有する細胞集塊として出現した。細胞の境界は不明瞭で、平面的に拡がり、一部は細長く塗抹されていたが、2日目のものほど柔軟

図 4 気管支擦過後 3 日目の再擦過標本. 著明な不整形の核小体が特徴的 (Pap. 染色, $\times 1,000$)

図 6 気管支擦過後 5 日目の再擦過標本. 2, 3 日目の異型細胞と比較して異型は軽度 (Pap. 染色, $\times 400$)

図 5 気管支擦過後 4 日目の再擦過標本. 線毛のみられない円柱上皮細胞, 杯細胞, および扁平上皮細胞への分化が窺われる細胞集団 (Pap. 染色, $\times 400$)

図 7 気管支擦過後 5 日目の生検標本. さまざまな方向への分化を示す上皮組織 (H-E 染色, $\times 200$)

な様相は呈さなかった。

細胞質は、2 日目と類似して小空胞状で、好塩基性に染色されたが、PAS では細胞質内に陽性顆粒をほとんど認めなかった。

核は大型で、長径 15μ 以上のものもあり、大小不同がやや目立ったが、核形不整はなく類円形であった。核内クロマチンはやや増量し、粗顆粒状で、凝集する傾向があった。核小体は、2 日目同様巨大で、不整形のものが数個あった。

擦過後 4, 5 日目 (図 5, 6, 7)

標本上に出現する異型細胞は少数となり、異型の程度も軽度で正常に近い円柱上皮細胞の集塊が主体を占めた。

異型細胞は細胞集塊として出現し、一部は 2, 3 日目にみられたものと類似し、平面的で不規則な配列であった (図 6)。しかし、細胞、核ともに 2, 3 日目に比較して小型となり、異型は軽度であった。すなわち、核の緊満な性状は失われて、正常の円柱上皮細胞のそれに近い大きさとなり、長円形ないし軽い不整形を呈した。核内

クロマチンの増量は軽度で、核小体は目立たず、小型で不整形のものが数個あった。

一方、正常に近い線毛の不明瞭な円柱上皮細胞、あるいは杯細胞への分化を示す細胞、また扁平上皮への分化を示唆する細胞などの小集団が混在し、ときには移行像を伴って出現した (図 5)。

同時に採取した生検標本においては (図 7)、線毛を持たない円柱上皮細胞の部分、杯細胞に類似した細胞の増生した部分、角化を伴わない扁平な上皮細胞が重層した部分などがみられ、さまざまな方向への分化が窺われた。

擦過後 7 日目 (図 8)

異型細胞はほとんどなく、線毛を有する円柱上皮細胞が主体であった。まれに杯細胞や扁平上皮化生細胞の小集団が 4, 5 日目よりさらに分化した形で出現した。

初回の擦過時に類似の異型細胞が出現した症例 (図 9, 10)

標本上には、多数の白血球とともに、異型細胞が不規則で主として平面的配列を呈する集塊を形成して出現し

図8 気管支擦過後7日目の再擦過標本。異型軽度な扁平上皮化生細胞が一部にみられた。細胞間橋を伴っている (Pap. 染色, $\times 400$)

図9 肺結核性空洞にアスペルギルス症を伴った症例の初回気管支擦過標本。2, 3日目の異型細胞と類似するが、細胞質はやや重厚に染色され、扁平上皮化生への分化を伴う (Pap. 染色, $\times 400$)

図10 図9の異型細胞と同時に採取された生検標本。軽度な扁平上皮化生と、間質の炎症性細胞浸潤を伴っている (H-E 染色, $\times 100$)

た。核は大型かつ類円形で、類円形の大きな核小体を、主として1個、ときに数個有していた。細胞質はやや重厚で好塩基性に染色され、細胞境界は比較的明瞭であった (図9)。

生検標本では (図10)、角化を伴わない扁平上皮化生

で間質には著明な小円形細胞浸潤がみられた。上述の、擦過後2, 3日目に出現した異型細胞ときわめて類似するものの、扁平上皮化生細胞への分化をより多く有する所見であった。

考 察

臨床細胞学的に組織修復細胞が大きくとりあげられたのは、子宮頸部における細胞診の領域からであり¹⁹⁾、種々の検討がなされている^{1,4)}。すなわち、核小体をはじめとした特徴的な所見、悪性細胞との鑑別の重要性、細胞の分裂と活発な蛋白合成があること、上皮細胞由来であり所見の違いから細分類しうること、などが明らかにされた。

一方、気管支上皮における組織修復過程の臨床細胞学的検討は Johnston ら¹¹⁾により、一部触れられている。すなわち、核の大きさとしの多様化、核小体の大型化を主徴とした、結合性の強い単層の細胞集塊を記載し、悪性細胞と誤らぬよう注意を促している。また、原因として、病原菌や外的刺激とともに、気管支擦過との関係も疑っている。

ここで問題となる点は、組織修復機転に起因すると考えられる異型細胞の一見多様で複雑な所見を規定するさまざまな要素であるが、臨床細胞学的にはいまだ十分には論じられていない。これらを羅列すれば、第一に、組織に対する傷害の質と程度。第二に、傷害後の修復機転の経時的变化に伴う細胞所見の変化。第三に宿主の状態、とりわけ傷害部の既存病変による細胞所見の修飾、などである。

著者らの得た知見をあらためて整理すると、第一に、気管支上皮の傷害は擦過用ブラシにより機械的なほぼ一定の力を加えて行われた点、第二に、擦過からの期間が異なる標本を時間的経過に従って再検討した結果経時的变化をみる事ができた点で、単純化された状況下での観察を期せずして可能ならしめたことがわかる。

気管、気管支上皮の修復機転は機械的傷害の程度、とりわけ深達度により異なることが動物実験では知られている^{2,5,9,17,18,21)}。著者らの気管支擦過ブラシによる機械的傷害の程度は軽度と考えられ、従来の擦過細胞所見およびその直後の生検所見から推定すると、傷害される部位は気管支上皮に局限しており、円柱上皮細胞の剝離が主体で、基底細胞の剝離は部分的なものにとどまっていると考えられる。

擦過後の経過日数によって細胞所見が異なることはすでに述べた。すなわち、擦過後2日目および3日目に

は、異型高度な細胞による集塊が主としてシート状の平面的配列で多数出現した。核は類円形で大きく、顆粒状のクロマチンは増量し、核小体は巨大かつ不整形で複数個存在した。2日目の標本中には核分裂像も散見された。2日目以前の観察は行っていないが、3日目以後には核分裂像を認めなかった。細胞質は豊富で扁平かつ不整形で、好塩基性に染色され、微小空胞が多数あった。

核小体は、リボゾーム RNA およびリボゾーム合成の場として、細胞質における蛋白合成と密接に関係している³⁾。したがって以上の所見を総合すると、3日目までに、気管支上皮細胞の分裂と、それに伴う細胞内の活発な代謝が、一斉に行われるものと考えられる。

2, 3日目の異型細胞は、正常な線毛円柱上皮細胞、杯細胞および基底細胞のいずれに類似するともいえない、いわゆる未熟な形態であり、PAS 染色でも細胞質はほとんど陰性であった。また、角化を示唆する所見はなく、扁平上皮細胞への明らかな分化も示さなかった。

またこの時期(2, 3日目)の異型細胞は、悪性細胞、すなわち低分化扁平上皮癌、低分化腺癌、大細胞癌などとの鑑別が問題となる。鑑別点としては、結合性が強い点、核および核小体が目立つわりには核形の不整やクロマチンの増量が目立たない点、きわめて異型な上皮細胞と正常な円柱上皮細胞との移行的な細胞像がときにみられる点などがあげられる。著明な核小体を見出した場合には、組織修復細胞の可能性を想起することが重要である。

4, 5日目には、2, 3日目にみられたような異型細胞は少なく、異型も軽度で、円柱上皮細胞との移行的所見を呈す細胞がしばしばみられた。この時期には、もはや未熟、未分化な様相はなく、正常な線毛円柱上皮細胞へ、ときには杯細胞や扁平上皮化生細胞へと分化し、上皮が再編成されていく過程と考えられる。

7日目には、円柱上皮細胞は明らかに線毛を有し、ほぼ正常と変わらない所見を呈した。まれに、扁平上皮化生細胞や杯細胞の小集団を認めた。

著者らは、このような経験に基づき、同一部位を繰り返し擦過する必要がある場合は、少なくとも1週間の間隔をおくことが望ましいと考えている。

擦過による場合のみならず、慢性炎症による気道刺激に伴い、類似の異型細胞が出現した症例があり、注意すべきである。臨床的には、組織に対する傷害とその修復は、錯綜した機転であると考えられ、慢性炎症と並行した変化であったり、結果として萎縮、増生、化生などの変化を残す可能性も指摘されている¹⁰⁾。

動物実験による、気管、気管支上皮の組織修復過程の

観察は少なくない^{2,5~10,12~15,17,18,21)}。動物種、および組織傷害の方法と程度は、やや異なるものの、その大綱には大差がない。

すなわち、これらを要約すると、最初の12時間以内には細胞分裂はなく、上皮脱落部には扁平化した上皮細胞が遊走して1層に被覆する。つづく24時間から48時間に細胞分裂があり、ひきつづき2, 3層ないしそれ以上に、角化のない上皮が重層する。4, 5日目には正常上皮に近く分化して線毛も形成され、7日目には正常になる。

著者らの観察した結果、ハムスターやラットを用いた動物実験によるものと内容的によく符合し、ヒトの気管支上皮における組織修復過程も類似したものであるとともに、観察された異型細胞の経時的変化は、機械的傷害に対する気管支上皮の普遍的な反応の結果であることを示唆している。

結 論

気管支鏡下に粘膜を擦過したのち、組織修復に関与すると思われる異型細胞が出現したので検討を加え、以下の結論を得た。

1) 擦過後2, 3日目には高度な異型を呈し、2日目には核分裂像が散見された。

2) これらの異型細胞は、巨大で不整形の核小体と、大型核、細胞の強い結合性と平面的配列が特徴的で、形態上明らかな分化を認めなかった。

3) 4, 5日目には、異型細胞は少なく異型も軽度で、正常な円柱上皮細胞に移行しつつある所見が主体で、一部に杯細胞や扁平上皮細胞への分化を示す部分がみられた。

4) 7日目には、ほぼ正常な所見であった。

5) 慢性炎症の刺激によると思われる組織修復細胞が、初回の擦過物中に見い出される症例があった。

6) 観察された異型細胞の経時的な一連の変化は、動物実験による報告とよく符合し、ヒト気管支上皮の修復機転も類似したものであると考えられた。

Summary

Bronchial brushing procedure for diagnosing pulmonary diseases resulted in cytomorphological changes in epithelial cells including mitotic figures.

Cytological studies revealed that the atypical cells derived from the reaction of the so-called tissue repair or regeneration of bronchial epithelium after mechanical

injury from the brushing procedure.

The findings of the tissue repair cells changed with passage of time after the brushing. On the second day after the initial brushing, atypical cells obtained from the re-brushing at the same site appeared in sheets with basophilic and finely vesicular cytoplasm, enlarged round or oval nucleus, nuclear hyperchromasia, one or more markedly enlarged nucleoli, and occasional mitotic figures. It was sometimes hard to differentiate these cells from malignant cells. On the third day, findings were similar to those observed on the second day except for absence of the mitotic figure. On the fourth and fifth days, atypical cells decreased both in number and abnormality. Non-ciliated columnar cells were frequently found and slight differentiation in the goblet cells and/or squamous metaplastic cells was sometimes present. On the seventh day, normal ciliated cells dominated.

These characteristic findings indicate that activated mitoses and increased cellular metabolism occurred at an early phase after mechanical injury, and the immature epithelial cells became fully differentiated cells within seven days.

Similar cytological findings were observed in the initial bronchial brushing specimen obtained from the case with chronic respiratory infection.

文 献

- 1) Bibbo, M., et al. : The cytologic diagnosis of tissue repair in the female genital tract, *Acta Cytol.*, 15 : 133~137, 1971.
- 2) Condon, W.B. : Regeneration of tracheal and bronchial epithelium, *J. Thorac. Surg.*, 11 : 333~346, 1942.
- 3) Faucett, D.W. : The cell, Second ed., p. 243~245, W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1981.
- 4) Geirsson, G., Patten, S.F., et al. : Epithelial repair and regeneration in the uterin cervix, I. Analysis of the cells, *Acta Cytol.*, 21 : 371~378, 1977.
- 5) Gordon, R.E. and Lane, B.P. : Regeneration of rat tracheal epithelium after mechanical injury, II. Restoration of surface integrity during the early hours after injury, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 113 : 799~807, 1976.
- 6) Gordon, R.E. and Lane, B.P. : Cytokinetics of rat tracheal epithelium stimulated by mechanical trauma, *Cell Tissue kinet.*, 10 : 171~181, 1977.
- 7) Gordon, R.E. and Lane, B.P. : Wound repair in rat tracheal epithelium, Division of G₁ and G₂-arrested cells following injury, *Lab. Invest.*, 42 : 616~621, 1980.
- 8) Gordon, R.E., Lane, B.P. and Marin, M. : Regeneration of rat tracheal epithelium, Changes in gap junctions during specific phases of the cell cycle, *Exp. Lung Res.*, 3 : 47~56, 1982.
- 9) Hilding, A.C., et al. : Regeneration of respiratory epithelium after minimal surface trauma, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 74 : 903~914, 1965.
- 10) Hilding, D.A., et al. : Ultrastructure of tracheal cilia and cells during regeneration, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 75 : 281~294, 1966.
- 11) Johnston, W.W. and Frable, W.J. : Diagnostic respiratory cytopathology, p. 24~35, Masson Publishing USA, 1979.
- 12) Keenan, K.P., McDowell, E.M., et al. : Regeneration of hamster tracheal epithelium after mechanical injury, I. Focal lesions: Quantitative morphologic study of cell proliferation, *Virchows Arch. [Cell Pathol]*, 41 : 193~214, 1982.
- 13) Keenan, K.P., McDowell, E.M., et al. : Regeneration of hamster tracheal epithelium after mechanical injury, II. Multifocal lesions: Stathmokinetic and autoradiographic studies of cell proliferation, *Virchows Arch. [Cell Pathol]*, 41 : 215~229, 1982.
- 14) Keenan, K.P., McDowell, E.M., et al. : Regeneration of hamster tracheal epithelium after mechanical injury, III. Large and small lesions: Comparative stathmokinetic and single pulse and continuous thymidine labeling autoradiographic studies, *Virchows Arch. [Cell Pathol]*, 41 : 231~252, 1982.
- 15) Keenan, K.P., McDowell, E.M., et al. : Regeneration of hamster tracheal epithelium after mechanical injury, IV. Histochemical, immunocytochemical and ultrastructural studies, *Virchows Arch. [Cell Pathol]*, 43 : 213~240, 1983.
- 16) Koss, L.G. : Diagnostic cytology and its histopathologic bases, Third ed, p. 61~64, J.B. Lippincott Comp., Philadelphia, 1979.
- 17) Lane, B.P. and Gordon, R. : Regeneration of rat tracheal epithelium after mechanical injury, I. The relationship between mitotic activity and cellular differentiation, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 145 : 1139~1144, 1974.
- 18) McDowell, E.M., et al. : The respiratory epithelium, VII. Epidermoid metaplasia of hamster tracheal epithelium during regeneration following mechanical injury, *J. Natl. Cancer Inst.*, 62 : 995~1008, 1979.
- 19) Reagan, J.W. and Patten, S.F. Jr. : The female

reproductive tract, In Manual for the atlas of cytology, p. 16, American Society of Clinical Pathologists, Chicago, 1967.

- 20) 斎藤泰紀・他：胸部レ線写真無所見肺癌例の気管支鏡検査

一所見と局在部位同定法一，気管支学，6：151～161，1983.

- 21) Wilhelm, D.L. : Regeneration of tracheal epithelium, J. Pathol. Bacteriol., 65 : 543～550, 1953.
-