症 例

原発性悪性心膜中皮腫の1例

自治医科大学病理学教室¹⁾, 自治医科大学胸部外科²⁾, 獨協医科大学循環器内科³⁾小林 誠一¹⁾ 三浦 弘資¹⁾ 川井 俊郎¹⁾ 兼子 耕¹⁾久保野幸子¹⁾ 芳賀 美子¹⁾ 羽石恵理子¹⁾ 木村 壮介²⁾竹田 幸一³⁾

48歳女性の心膜に発生した原発性悪性中皮腫を経験したので, 捺印細胞所見, 組織化学, 免疫組織化学および電顕的検索を行った。捺印細胞診では, 上皮様細胞と非上皮様細胞が混在し, 軽度の重積性および敷石状配列を示していた。上皮様細胞は類円形で, 比較的豊富なレース状の胞体を有し, 核は中央に位置していた。核径は7~11 μ で軽度の大小不同を示し, 核縁は平滑, クロマチン増量は軽度で細顆粒状を呈し均等に分布し, 核小体は小型であった。非上皮様細胞は紡錘形で, 核の長径は10~16 μ であり, クロマチン増量は中等度で細ないし粗顆粒状を呈し, 核小体は不明瞭であった。組織学的には, 腫瘍の大部分は乳頭状および管腔形成性に増殖していた。さらに, 類円形・多稜形および紡錘形の細胞が充実性敷石状に配列していたが, 線維肉腫様の像は認められなかった。腫瘍細胞はヒアルロン酸産生能を有していた。PAS染色は一部で弱陽性を示し diastase で消化され, mucicarmine 染色は陰性であった。ケラチン染色は捺印細胞ではいずれも陽性だが, パラフィン包埋切片では非上皮様細胞の大半が陰性を示した。電顕的には, 多数の微絨毛, tonofibril, tonofilament, desmosome, basal lamina などが存在した。

Key words : Pericardium—Cytology—Mesothelioma—Keratin protein

I. 緒 言

中皮腫は中皮細胞を発生母地とする腫瘍であり, 胸膜・腹膜発生例に比べ心膜原発の中皮腫は極めてまれであ

る。本邦ではこれまで文献上23例の報告をみるにすぎず, 細胞診断学的所見についての報告は少ない^{7,9)}。今回われわれは悪性心膜中皮腫の1症例を経験したので, 捺印細胞所見, 病理組織学的所見に加え免疫組織化学的検索結果を報告する。

II. 症 例

患者: 48歳, 女性。

主 訴: 下腿浮腫, 労作時息切れ。

既往歴, 家族歴: 特記すべきことなし。

職業歴: 豆腐製造販売業。アスベスト粉塵の吸入歴なし。

現病歴: 昭和58年7月下旬, 両下肢の浮腫, 労作時息切れ, 上下腹部圧迫感が出現したが, 利尿剤にて症状は改善した。8月中旬, 獨協医大循環器内科を受診し心嚢水貯留を指摘され, 9月上旬精査目的にて入院した。

入院時現症および検査所見: 心音は微弱で, 心雑音,

A case report of primary malignant mesothelioma of the pericardium

Seiichi KOBAYASHI¹⁾, M.D., Hiroshi MIURA¹⁾, M.D., Toshiro KAWAI¹⁾, M.D., Kou KANEKO²⁾, M.D., Sachiko KUBONO³⁾, C.T., I.A.C., Yoshiko HAGA³⁾, C.T., I.A.C., Eriko HANEISHI³⁾, C.T., I.A.C., Sosuke KIMURA³⁾, M.D., Kouichi TAKEDA³⁾, M.D.

¹⁾ Dept. of Pathology, Jichi Medical School²⁾ Dept. of Thoracic Surgery, Jichi Medical School³⁾ Dept. of Medicine, Division of Hypertension and Cardioresenal Disease, Dokkyo University School of Medicine

論文別刷請求先 ☎329-04 栃木県河内郡南河内町 大字 薬師寺 3311 の1 自治医科大学病理学教室 小林誠一

昭和60年2月1日受付

昭和60年8月8日受理

写真 1 心基部 CT Scan 像。腫瘍 (T) が肺動脈 (P) 左後方に存在する。A : 大動脈

pericardial knock sound などはなく、ほかに理学的異常所見なし。胸部 X 線写真で心胸廓比 55%，左第 II 弓突出を、心電図で low voltage，T 波の平低化を、心音図で small heart sound を認めた。

入院後経過：心嚢水が多量貯留しているため、利尿剤を投与しその原因の精査を開始した。心嚢水は血性で、比重 1.037，Rivalta 反応陽性，ヒアルロン酸値は 508 $\mu\text{g/ml}$ と高値を示した。各種ウイルス抗体，細菌は陰性であった。心嚢水細胞診ではリンパ球・組織球が多数認められたが，中皮細胞の出現は少数で異型性に乏しいため反応性中皮細胞と診断された。急速に心嚢水の再貯留がみられ，前回よりもさらに強い血性色を呈していたので悪性腫瘍の心転移が考えられ，原発巣の検索を行った。Ga シンチ， $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 心膜腔シンチ，心 CT，心エコーなどにより，心基部（写真 1）および心尖部に腫瘍が確認された。他臓器に原発巣と考えられる病巣が存在せず，ヒアルロン酸が高値であることから心膜中皮腫と診断され，手術目的にて 11 月自治医大胸部外科に転院した。

手術所見：心基部には約 $4.5 \times 3 \text{ cm}$ 大，もろく易出血性の腫瘍が肺動脈の左後方から左房左前面に達し，また線維性に肥厚した心包膜にも及んでいた。左房後面には小結節状の腫瘍が多数存在した。心尖部では左室側壁から後壁にかけて径 3 cm 大の腫瘍が存在した。腫瘍結節が多数で肺動脈との癒着が強いため，腫瘍の部分切除および開窓術が施行された。なお，術後 13 カ月の現在，腫瘍は局所にて増大傾向を示すも遠隔転移は認められていない。

III. 病理学的所見

腫瘍の捺印細胞診用試料には，アルコール固定後 Papanicolaou (Pap.) 染色を施行した。顕微鏡用試料はホ

写真 2 捺印細胞診。上皮様細胞が敷石状および重積性配列を示す (Pap. 染色， $\times 570$)

ルマリン固定後，Hematoxylin-Eosin (H-E)，Colloidal iron，Alcian blue，Periodic Acid Schiff (PAS)，Mucicarmine 染色を施し，Colloidal iron と Alcian blue 染色については hyaluronidase 消化試験を，PAS 染色については diastase 消化試験を併用した。免疫組織化学的検索には DAKO 社製の Anti-Human Keratin (rabbit) を使用し，細胞診ではアルコール固定標本に，顕微鏡用ではパラフィン包埋切片に酵素抗体 PAP 法を用いた。透過型顕微鏡観察には常法どおり固定・包埋後，酢酸ウラン，クエン酸鉛重染色を行い観察した。

1) 細胞診所見

腫瘍の捺印細胞診では，上皮様形態および非上皮様形態を示す 2 種類の腫瘍細胞が観察された。上皮様形態を示す細胞は敷石状に配列し，また軽度の重積性がみられた（写真 2）。腫瘍細胞の胞体は比較的豊富で類円形を呈し，核はほぼ中央に位置していた。胞体はライトグリーンに淡染し，レース状で，多くは境界明瞭であった。核は円形ないし類円形で，軽度の大小不同を示し核径は $7 \sim 11 \mu$ であった。核縁は平滑で核膜が軽度肥厚していた。クロマチン増量は軽度で細顆粒状を呈し均等に分布していた。 $1.5 \sim 2 \mu$ 大の小型核小体が 1 ないし 2 個みられた（写真 3）。一方，非上皮様形態を示す細胞は長楕円形ないし紡錘形の胞体と核からなり，結合性は乏しい。核の長径は $10 \sim 16 \mu$ であり，クロマチン増量は中等度で，核小体は不明瞭であった。ほかの所見は上皮様細胞と同様であった（写真 4）。

免疫組織化学的には，ケラチン染色は上皮様および非上皮様細胞の胞体に陽性所見を示したが，上皮様細胞でより強い反応性を示した（写真 5-A，B）。

2) 病理組織学的所見

腫瘍の大部分は乳頭状および管腔形成性に増殖しており，一部に充実性敷石状配列がみられた。乳頭状・管腔

写真3 上皮様細胞の強拡張像 (Pap. 染色, ×880)

写真6 腫瘍組織像 (H-E 染色). Tubulopapillary patternを示す

写真4 捺印細胞診. 非上皮様細胞が疎な結合性をもって配列している (Pap. 染色, ×880)

写真7 紡錘形細胞が敷石状に配列している (H-E 染色)

写真5 A: 上皮様細胞, B: 非上皮様細胞. 上皮様細胞でより強い染色性を示す (ケラチン染色, PAP 法, A: ×880, B: ×880)

写真8 腫瘍細胞はケラチン蛋白陽性を示す (ケラチン染色, PAP 法)

形成部では、円形ないし多稜形の細胞が一層性に配列し、間質は浮腫性で疎な結合組織と小血管からなっていた (写真6). 敷石状配列を示す腫瘍細胞は、比較的豊富な淡好酸性胞体を有し、小型～中等度大の円形ないし類円形核がほぼ中央に位置していた。これらの細胞には胞体内小空胞および細胞間隙が存在した。また、敷石状配列

部では上記細胞のみならず長楕円形ないし紡錘形核からなる細胞も存在し、胞体内小空胞および細胞間隙を有し、類円形細胞との混在移行を認めた (写真7). 核分裂像は少数であった。管腔内には H-E 染色で淡青色の分泌物貯留がみられた。なお、腫瘍細胞は線維性に肥厚した心包膜に浸潤していたが、最外層には露出していなかった。

写真 9 腫瘍電顕像. 多数の微絨毛, 微細顆粒状物質 (Gr) が存在する ($\times 6,400$)

写真 10 豊富な tonofilament と desmosome, basal lamina (矢印) が存在する ($\times 19,000$)

腫瘍細胞および分泌物は Colloidal iron, Alcian blue 染色陽性で, hyaluronidase 処理にて染色性が減弱ないし消失した. PAS 染色はごく一部の細胞のみが弱陽性を示し, diastase 処理にて染色性が消失した. Mucicarmine 染色は陰性であった. ケラチン染色は, 上皮様細胞では強陽性部から弱陽性部まで存在し染色性に差異が

みられた. 乳頭状配列および管腔を形成する細胞は強陽性を示す傾向があったが (写真 8), 敷石状配列をなす細胞は弱陽性を示す傾向がみられた. 非上皮様紡錘形細胞の大部分はケラチン染色陰性であった.

3) 電顕所見

上皮様および非上皮様細胞とも隣接細胞間には des-

mosome が、間質との間には基板が存在した。光顕上認められた胞体内小空胞および細胞間隙は、電顕的には細胞間隙腔に相当し、さらに細胞間隙腔は大小の管腔に連続する部が認められた。核は類円形から長橢円形までの形態を示し、核膜は平滑であった。細胞質には糸粒体、粗面小胞体、リボゾーム、Golgi 装置などが存在し、グリコーゲン顆粒は少数散在性であった。また、豊富な tonofibril, tonofilament が不規則に走行し、desmosome と連続性を示す部が認められた。管腔面や細胞間隙腔には約 1,500 nm までの細長い微絨毛が多数存在していた(写真9, 10)。管腔面には微細顆粒状物質が存在し、そのなかに微絨毛が埋没している像もみられた(写真9)。

以上の所見より、腫瘍の大部分は上皮様配列を示し、一部に紡錘形細胞が混在していたがこれらの細胞も上皮様性格を有し、また腫瘍がびまん性浸潤性であることから上皮型悪性心膜中皮腫と診断された。

IV. 考 案

胸膜・腹膜中皮腫とアスベストとの間には高い相関性があるが、心膜中皮腫はアスベストと無関係であるとされており¹⁴⁾、本例でもアスベスト粉塵吸入歴はない。しかし、アスベストに起因した心膜発生例の報告も2例あり^{4,9)}、その発生機序は不明ながらもアスベストは腫瘍発生のうえで重要であり、今後も十分に検討していく必要がある。

原発性心膜中皮腫はまれである。欧米では約120例強の報告があり、本邦では清水ら¹³⁾の集計した21例のほかに Kobayashi ら¹⁰⁾、岩ら⁸⁾の報告をみるにすぎない。心臓・心膜腫瘍は原発性よりも転移性のものが多く、原発性心膜中皮腫の診断は慎重になされねばならず、Andersen ら¹⁾は4項目の診断基準を設定した。すなわち、1) 腫瘍は心膜に局限し壁側心膜を穿通しない、2) 転移があってもリンパ節のみ、3) 他臓器に原発性腫瘍が存在しない、4) 死亡例では完全な剖検が行われていることの4点である。しかし、近年、種々の検索方法の発達に伴い中皮腫の病理組織診断の困難さは軽減されつつあり、また臨床的に腫瘍の局在が十分に把握されている症例では必ずしも Andersen ら¹⁾の基準に合致しなくても原発性と考えてよいと思われる。

心膜中皮腫の組織像を Dawe ら⁵⁾は、上皮型、線維型、混合型の3型に分類し、線維型が最も多いと報告しているが、本邦では本例のように上皮型が多く線維型が少ない点¹³⁾は興味深い。

細胞診で中皮腫細胞と判定することは容易でなく、特

に反応性中皮細胞および腺癌細胞との鑑別が困難である。従来の報告では、中皮腫細胞の特徴的所見として、1) 細胞間結合が密でマリモ状配列をとり、2) 核は細胞の中央に位置し、3) 細胞質は粘液空胞を欠き微細空胞状で blister 様突出を有し、4) N/C は大きくなく、5) 核小体は小さい、などがあげられており^{7,8)}、また刷子縁の存在が腺癌細胞との鑑別に有用であるとされている¹⁰⁾。本例の捺印細胞では、上皮様および非上皮様形態を示す2種類の細胞が観察された点が特徴的である。上皮様細胞は敷石状および重積性の配列をなしているがマリモ状の集塊はみられず(これは捺印細胞と腔水中遊離細胞との差異による可能性がある)、細胞異型に乏しく、胞体はレース状であり、クロマチン増量は軽度で凝集はなく、核小体も小型であった点は、腺癌細胞との鑑別よりはむしろ反応性中皮細胞との鑑別が問題となる。しかし、反応性中皮細胞は細胞質がより豊富でライトグリーンに濃染し、多数の細胞が重積することが少ない点である程度鑑別可能である。中皮細胞は種々の疾患、病的・刺激状態において線維芽細胞様細胞の反応形態をとるとの報告がある⁶⁾。また、Koss¹¹⁾は腹水中に紡錘形中皮細胞の出現を強皮症の症例において記載しているが、われわれは紡錘形の形態を呈した反応性中皮細胞の腔水中への出現を経験していない。細胞診的に中皮腫と診断するには、上皮様細胞あるいは非上皮様細胞単独では困難であり、両者を確認して初めて診断可能となりうると思われる。

さらによりいっそう明確に中皮腫細胞を同定するためには、組織化学的、免疫組織化学的および電顕的検索が重要である。正常中皮細胞および中皮腫細胞はヒアルロン酸を産生する性質があるので³⁾、ヒアルロン酸の証明は中皮腫の診断に欠かせぬものの1つである。本例では、Colloidal iron, Alcian blue 染色陽性で hyaluronidase 前処理にて染色性が減弱ないし消失し、本腫瘍細胞はヒアルロン酸産生能を有した。PAS 染色はごく一部の細胞のみであったが弱陽性を示し diastase で消化され、mucicarmine 染色陰性であったことは従来の報告と同様であった。しかし、Alcian blue 染色陰性例、diastase で消化されない PAS 陽性例および mucicarmine 陽性例もみいだされており²⁾、組織の固定法、染色手技の問題もさることながら中皮腫細胞の性格に多様性があることを示唆していると考えられる。

中皮腫の免疫組織化学的研究はこれまで少数である。Schlegel ら¹²⁾は、ホルマリン固定・パラフィン包埋切片におけるケラチン染色の免疫学的反応性は、中皮腫で強陽性、腺癌で陰性ないし弱陽性であり、ケラチン蛋白は両者を鑑別する有用な腫瘍マーカーとなりうることを報

告した。しかし、最近、Walts ら¹⁵⁾は、アルコール固定による細胞診標本では腺癌細胞でもケラチン染色が陽性を示すことを報告した。さらに、反応性中皮細胞・中皮腫細胞と腺癌細胞を区別するには 63 kdalton のケラチン蛋白のみが有用であるとした¹⁶⁾。本例では、上皮様細胞は細胞診・パラフィン包埋切片ともいづれも陽性を示し、非上皮様細胞は細胞診で陽性を示しながらパラフィン包埋切片では大半が陰性であった。このことは、Walts ら¹⁵⁾の指摘にあるように、固定包埋過程で抗原活性が消失したためと解釈される。

電顕的には、多数の細長い微絨毛, tonofibril, tonofilament, desmosome, basal lamina など中皮腫に特徴的な像が観察された。さらに、興味ある所見は管腔面に付着した微細顆粒状物質の存在であり、この物質は電顕組織化学的にコロイド鉄陽性物質であることが証明されている¹⁷⁾。

V. 結 語

まれな疾患とされる原発性心膜中皮腫を経験したので、その細胞像、組織像、組織化学的・免疫組織化学的および電顕的検索結果を報告した。近年、組織診で酵素抗体法が盛んに用いられるようになり、鑑別困難な細胞の同定・組織診断に有用である。本例にみられたように、細胞診においてはよりよく抗原性が保持されるという利点があるので、細胞診断のうえでもさらに応用されることが望まれる。

Summary

A case of primary malignant mesothelioma arising in the pericardium of a 48-year-old female is reported.

Two types of cells, epithelial and nonepithelial form, were detected in the imprinted smears of the tumor tissue. They were arranged in cell clusters and in sheet-like formation. Epithelial cells were composed of round-shaped cytoplasm and centrally located nuclei. Each nucleus had somewhat thickened nuclear rim, evenly scattered fine granular chromatin and 1 or 2 small nucleoli. Nonepithelial cells possessed long elliptical or spindle-shaped cytoplasm and nuclei with fine and coarse chromatin, but the nucleolus was not prominent. The cytoplasm of both cellular types were stained light-green with Papanicolaou stain and showed lace-like fashion. A great majority of these cells had well-defined cellular boundary.

Histologically, the tumor which was composed of cuboidal or polygonal cells in most areas revealed tubulopapillary pattern. Some areas comprising not only round or polygonal cells but also spindle cells assumed solid pavement-like arrangement. These cells were vacuolated and had intercellular spaces with formation of cleft-like or even glandular structures. No fibrosarcomatous pattern was seen.

The tumor cells showed positive staining reaction for colloidal iron and alcian blue, but the reaction was reduced or disappeared by digestion with hyaluronidase. The staining with PAS was weakly positive in the minority of cells, but negative following diastase digestion. The staining with mucicarmine was negative. In cytology, keratin staining exhibited more strongly positive reaction in epithelial cells than nonepithelial cells. In paraffin sections, keratin staining in epithelial cells varied from strongly to weakly positive reaction. Nonepithelial cells, however, displayed negative reaction for keratin in most parts.

Ultrastructurally, the tumor cells were characterized by numerous microvilli, abundant tonofibrils and tonofilaments associated with desmosome, and the presence of basal lamina.

文 献

- 1) Andersen, J.A. and Hansen, B.F.: Primary pericardial mesothelioma, Dan. Med. Bull., 21 (5): 195~200, 1974.
- 2) Benjamin, C.J., Ritchie, A.C.: Histological staining for the diagnosis of mesothelioma, Am. J. Med. Technol., 48 (11): 905~908, 1982.
- 3) Castor, C.W. and Naylor, B.: Characteristics of normal and malignant human mesothelial cells studied *in vitro*, Lab. Invest., 20 (5): 437~443, 1969.
- 4) Churg, A., Warnock, M.L. and Bensch, K.G.: Malignant mesothelioma arising after direct application of asbestos and fiber glass to the pericardium, Am. Rev. Respir. Dis., 118: 419~424, 1978.
- 5) Dawe, C.J., Wood, D.A. and Mitchell, S.: Diffuse fibrous mesothelioma of the pericardium; Report of a case and review of the literature, Cancer, 6 (4): 794~808, 1953.
- 6) 海老原善郎, 福島範子, 朝隅容子: 中皮組織の病理形態学——体腔の剝離細胞所見との関連について——, 日臨細胞誌, 24(1): 1~12, 1985.
- 7) 伊藤秀克, 塩崎久弥, 松陰 宏: 悪性胸膜中皮腫の1症例, 日臨細胞誌, 22(3): 628~632, 1983.

- 8) 岩 信造, 由谷親夫, 増田一吉・他: 原発性心臓の膜悪性上皮腫の細胞診, 日臨細胞誌, 20(1): 123~128, 1981.
 - 9) Kahn, E.I., Rohl, A., Barrett, E.W., et al.: Primary pericardial mesothelioma following exposure to asbestos, *Environ. Res.*, 23: 270~281, 1980.
 - 10) Kobayashi, Y., Takeda, S., Yamamoto, T., et al.: Cytologic detection of malignant mesothelioma of the pericardium, *Acta Cytol.*, 22(5): 344~349, 1978.
 - 11) Koss, L.G.: *Diagnostic cytology and its histopathologic bases*, 3rd Ed., pp. 878~910, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, Toronto, 1979.
 - 12) Schlegel, R., Banks-Schlegel, S., McLeod, J.A., et al.: Immunoperoxidase localization of keratin in human neoplasms; A preliminary survey, *Am. J. Pathol.*, 101(1): 41~49, 1980.
 - 13) 清水宗悦, 露崎輝夫, 望月俊直・他: 原発性心臓上皮腫の1剖検例, 日内会誌, 72(1): 83~89, 1983.
 - 14) Sytman, A.L., MacAlpin, R.N.: Primary pericardial mesothelioma; Report of two cases and review of the literature, *Am. Heart J.*, 81(6): 760~769, 1971.
 - 15) Walts, A.E., Said, J.W. and Banks-Schlegel, S.: Keratin and carcinoembryonic antigen in exfoliated mesothelial and malignant cells; An immunoperoxidase study, *Am. J. Clin. Pathol.*, 80(5): 671~676, 1983.
 - 16) Walts, A.E., Said, J.W., Shintaku, I.P., et al.: Keratins of different molecular weight in exfoliated mesothelial and adenocarcinoma cells—An aid to cell identification, *Am. J. Clin. Pathol.*, 81(4): 442~446, 1984.
 - 17) Wang, N.S.: Electron microscopy in the diagnosis of pleural mesotheliomas, *Cancer*, 31(5): 1046~1054, 1973.
-