原 著

乳腺硬癌および小葉癌の細胞学的研究

東京都がん検診センター細胞診¹⁾, 同 乳房科²⁾, 岐阜大学医学部第1病理³⁾
 藤井 雅彦¹⁾ 石井 保吉¹⁾ 後藤 昭子¹⁾ 張堂 康司¹⁾
 佐久間市朗¹⁾ 長尾 緑¹⁾ 萩原 勁²⁾ 加藤 一夫³⁾

硬癌ならびに小葉癌における細胞学的特徴を明確にすることを目的に、狭義の硬癌 15 例、混合型硬癌 20 例、浸潤性小葉癌 3 例、および対照として良性腫瘍 20 例（線維腺腫 5 例、乳管内乳頭腫 15 例）の捺印細胞標本を用いて、核長径の計測、核小体所見の比較、核 DNA 量の測定を行った。

1. 核長径の平均値は狭義の硬癌で 9.7μ 、混合型硬癌で 10.0μ 、小葉癌で 9.0μ 、良性腫瘍で 9.4μ であった。 15μ 以上の大型核は良性腫瘍や小葉癌ではほとんどみられなかったが、硬癌、特に混合型硬癌でいくらか目立つ傾向にあった。

2. 2.5μ 以上ないし 5 個以上の核小体を有する細胞の出現率はそれぞれ、狭義の硬癌で 0.8, 0.1%, 混合型硬癌で 1.0, 0.2%, 小葉癌で 0.1, 0.03%, 良性腫瘍では 0.3, 0.1% であった。

3. 核 DNA 量については、混合型硬癌ではモードの 4 倍体方向への移動, polyploid, aneuploid の細胞増加を示す症例が多数を占めた。狭義の硬癌ではそのような症例が減少し、小葉癌ではむしろ分散傾向に乏しく、4 倍体を越える細胞もわずかで、良性例と類似したヒストグラムを呈した。

Key words : Breast—Cytology—Scirrhous carcinoma—Lobular carcinoma

I. はじめに

乳腺の穿刺細胞診において、硬癌は採取細胞量に乏しく、細胞も比較的小型のことが多いため、診断の難しいことが少なくない⁶⁻⁸⁾。特に硬癌のなかでも、乳頭腺管癌や充実腺管癌など、ほかの組織型の混入しない狭義の硬

癌は細胞異型に乏しいため、同じく小型で異型の少ない特殊型の小葉癌と同様、誤陰性を生じやすくなる¹²⁾。そこでわれわれは硬癌における細胞学的特徴をより明瞭にすることを目的に、塗抹細胞標本を用いて核径、核 DNA 量、核小体の性状などを中心に細胞像の検索を行った。また、少数例ではあるが小葉癌についても同様の検索を加えたのであわせて報告する。

II. 研究材料および方法

東京都がん検診センター乳房科において過去 5 年間に乳腺腫瘍の生検時に捺印細胞診の行われた症例のうち、狭義の硬癌 15 例、乳頭腺管癌あるいは充実腺管癌に由来する硬癌（混合型硬癌）20 例、および浸潤性小葉癌 3 例の計 38 例を対象とした。また、乳腺良性腫瘍 20 例（線維腺腫 5 例、乳管内乳頭腫 15 例）を対照として用いた。

生検材料の捺印細胞標本を型のごとくパピニコロウ染色し、腫瘍細胞の形態学的観察、核長径の計測、ならびに核小体の性状を検討した。核長径の計測はマイクロメーターを用いて行い、各症例 200 個の腫瘍細胞についてそ

Cytologic studies of scirrhous carcinoma and lobular carcinoma of the breast

Masahiko FUJII¹⁾, M.D., M.I.A.C., Yasuyoshi ISHII¹⁾, C.T., I.A.C., Akiko GOTO¹⁾, C.T., Koji CHYODO¹⁾, C.T., Ichiro SAKUMA¹⁾, C.T., I.A.C., Midori NAGAO¹⁾, C.T., I.A.C., Kei HAGIWARA²⁾, M.D., Kazuo KATO³⁾, M.D., M.I.A.C.

¹⁾Division of Cytology, Tokyo Metropolitan Cancer Detection Center

²⁾Division of Breast Service, Tokyo Metropolitan Cancer Detection Center

³⁾1st Department of Pathology, Gifu University School of Medicine

論文別刷請求先 101 東京都千代田区神田駿河台 2 の 5 東京都がん検診センター細胞診 藤井雅彦

昭和 62 年 9 月 12 日受付

昭和 63 年 2 月 26 日受理

図1 症例3 (狭義の硬癌) の病理組織像 (H-E 染色, $\times 200$) 図3 症例8 (狭義の硬癌) の病理組織像 (H-E 染色, $\times 200$) 図2 症例3 の捺印細胞像 (Pap. 染色, $\times 600$) 図4 症例8 の捺印細胞像 (Pap. 染色, $\times 600$)

の分布と平均値を算出した。核小体所見については、乳癌細胞の判定項目としてしばしば取り上げられている 2.5μ 以上あるいは5個以上の核小体を有する細胞に着目し、各例1,000個の腫瘍細胞中に占めるこれらの出現頻度を比較した。以上の検索ののち、標本を2N塩酸・70%アルコールで15分間脱色し、核DNA量測定用にフォイルゲン染色を施行した。DNA定量はオリンパス定量顕微鏡BHQを用い、546nmの波長にて各例200個の腫瘍細胞について行った。その際対照として、同一標本中のリンパ球を20個測定し、その平均値を2倍体(2C)としてヒストグラムを作製した⁵⁾。

なお、混合型硬癌については腫瘍組織のほぼ3/4以上を硬癌の像が占めて、乳頭腺管癌や充実腺癌の占める面積が少ない症例のみを選び、また測定に際しては、小集塊ないし索状配列を示す細胞のみを選択し、乳頭状またはシート状の大集塊は除外して計測を行った。

III. 成 績

狭義の硬癌(図1~4)15例、混合型硬癌(図5~8)20例、および浸潤性小葉癌(図9, 10)3例の平均核径、核

図5 症例20 (乳頭腺管癌由来の硬癌) の病理組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

小体所見、核DNA量の分布を表1に示した。また、以上の所見について、組織型ごとに平均値を求め、各組織型および対照群との間で有意差の有無を検討した(表2)。

1. 核径分布

核長径の最小値は対照群も含めて症例による差がそれほどみられず、 $6\sim 8\mu$ の大きさを示した。最大値は症例によって変動がみられ、狭義の硬癌では 14μ 以下の症

図 6 症例 20 の捺印細胞像 (Pap. 染色, $\times 600$)

図 9 症例 37 (浸潤性小葉癌) の病理組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

図 7 症例 26 (充実腺管癌由来の硬癌) の病理組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

図 10 症例 37 の捺印細胞像 (Pap. 染色, $\times 600$)

図 8 症例 26 の捺印細胞像 (Pap. 染色, $\times 600$)

例が 8 例, 15μ 5 例, $16, 17\mu$ の最大値を示すものが各 1 例であった。混合型硬癌では最大値が 14μ 以下のものが 11 例, 15μ 4 例, 16μ 2 例で, 残り 3 例では 18μ 大の核が認められた。浸潤性小葉癌は 1 例が 12μ , 2 例が 13μ の最大値を示した。良性腫瘍は 3 例に 15μ 大の核がみられたが, 残り 17 例は $12\sim 14\mu$ の間に最大値を有した。

核長径の平均値を症例ごとに表すと, 狭義の硬癌では

最高 10.3μ から最小 8.7μ の平均値を示す症例までがみられ, 15 例の平均核径は 9.7μ であった。混合型硬癌では平均値の最高が 11.2μ , 最小が 9.0μ で, 20 例の平均は 10.0μ であった。浸潤性小葉癌では 2 例が 9.1μ , 1 例が 8.9μ で, 3 例全体では 9.0μ であった。一方, 対照とした良性腫瘍 20 例については, 最高が 9.9μ , 最小が 8.8μ で, 全体では 9.4μ の平均値を示した。

$12\sim 14\mu$ の核長径を有する細胞の出現頻度は狭義の硬癌全体では 7.7%, 混合型硬癌 10.6%, 浸潤性小葉癌 1.5%, 良性腫瘍 5.2% であった。また, 悪性腫瘍の判定基準の 1 つとして用いられている 15μ 以上の大型核の出現率は, 狭義の硬癌 0.5%, 混合型硬癌 1.0%, 浸潤性小葉癌 0%, 良性腫瘍 0.1% であり, 硬癌, 特に混合型硬癌にいくらか目立つ傾向がみられた。

2. 核小体所見

各症例 1,000 個の腫瘍細胞について検討したところ, 2.5μ 以上の核小体がみられる細胞の出現例数および組織型全体としての出現率はそれぞれ, 狭義の硬癌で 15 例中 7 例, 0.8%, 混合型硬癌 20 例中 6 例, 1.0%, 浸潤性小葉癌 3 例中 1 例, 0.1%, 良性腫瘍 20 例中 7 例, 0.3

表1 各症例の平均核径, 核小体所見, 核 DNA 量分布

組織型	症例	年齢	核長径		核小体		核 DNA 量			
			平均値	15 μ 以上	2.5 μ 以上	5個以上	モード	1.5~2.5C	3~4.5C	5C以上
硬癌 (狭義)	1	25歳	9.5 μ	0 %	2.7%	0.5%	2.5C	57.0%	41.0%	2.0%
	2	35	9.6	0	0.2	0	2.5	50.5	47.5	2.0
	3	42	9.1	0	0	0	3	24.5	68.5	7.0
	4	42	10.1	1.5	1.8	0	2.5	47.5	40.0	12.5
	5	43	9.9	0	0	0	2.5	68.0	27.0	5.0
	6	44	8.7	0	2.4	0.5	2.5	18.5	67.5	14.0
	7	46	9.3	0	0	0	2.5	20.0	58.0	22.0
	8	46	9.8	1.0	0	0	2.5	33.5	57.5	9.0
	9	47	10.2	0.5	3.2	0.3	3	47.0	44.5	8.5
	10	48	10.0	1.5	0	0	3.5	49.0	47.0	4.0
	11	48	10.3	1.0	0	0	2.5	29.5	60.5	10.0
	12	49	9.8	0.5	0.2	0.2	2.5	57.5	40.5	2.0
	13	52	10.1	1.0	1.8	0.3	2.5	24.0	50.0	26.0
	14	59	10.0	0	0	0.3	3	64.5	33.5	2.0
	15	60	8.8	0	0	0	2.5	46.5	48.0	5.5
硬癌 (乳頭腺管癌由来)	16	27歳	9.0 μ	0 %	0 %	0 %	3.5C	9.0%	77.5%	13.5%
	17	37	10.1	0.5	0.1	0	3	28.0	54.5	17.5
	18	41	10.5	1.0	8.4	0.6	3.5	17.0	72.5	10.5
	19	42	11.2	6.0	5.1	0.1	4	8.0	59.0	33.0
	20	42	10.8	2.5	0	0	3	25.0	60.5	14.5
	21	43	9.6	0.5	0	0	3.5	8.0	76.0	16.0
	22	45	9.8	0	0	0	2.5	69.0	28.5	2.5
	23	48	9.7	1.0	2.5	0.5	2.5	50.5	41.0	8.5
	24	53	9.7	0	0	0	3	38.5	59.5	2.0
	25	57	10.0	0	0	0.3	3	15.0	73.5	11.5
硬癌 (充実腺管癌由来)	26	32歳	10.0 μ	1.0%	0 %	0 %	3 C	21.0%	62.5%	16.5%
	27	39	9.2	0	0.3	0	3	20.5	66.5	13.0
	28	42	10.4	0	0	0	2.5	72.0	26.5	1.5
	29	42	10.3	0	0	0	2.5	45.5	50.5	4.0
	30	43	9.8	0	0	1.3	3	38.0	57.0	5.0
	31	46	9.6	0	0	1.1	4	6.0	74.0	20.0
	32	48	9.6	0	0	0	3	27.5	65.5	7.0
	33	53	9.3	0	0	0	3.5	17.0	78.5	4.5
	34	55	10.9	4.5	0	0	3.5	7.0	65.0	28.0
	35	73	10.5	2.5	2.5	0.6	3.5	12.0	67.0	21.0
浸潤性 小葉癌	36	43歳	8.9 μ	0 %	0.4%	0 %	2.5C	66.0%	32.5%	1.5%
	37	47	9.1	0	0	0.1	2.5	64.5	35.0	0.5
	38	49	9.1	0	0	0	2.5	54.0	44.5	1.5

表2 各組織型の平均核径, 核小体所見, 核 DNA 量分布

組織型	症例数	核長径			核小体		核 DNA 量		
		平均 (μ)	12~14 μ 出現率(%)	15 μ 以上 出現率(%)	2.5 μ 以上 出現率(%)	5個以上 出現率(%)	1.5~2.5C 出現率(%)	3~4.5C 出現率(%)	5C以上 出現率(%)
硬癌 (狭義)	15	9.66 $\pm 0.49^*$	7.70 ± 6.09	0.47 ± 0.58	0.82 ± 1.19	0.14 ± 0.19	42.50 ± 16.33	48.73 ± 11.88	8.77 $\pm 7.31^{c, d)}$
硬癌 (混合型)	20	10.00 $\pm 0.57^{a, b)}$	10.63 ± 9.13	0.98 ± 1.67	0.95 ± 2.19	0.23 ± 0.39	26.73 ± 19.83	60.77 ± 14.84	12.50 $\pm 8.65^{d, e)}$
浸潤性 小葉癌	3	9.04 ± 0.09	1.50 ± 0.50	0 ± 0	0.13 ± 0.23	0.03 ± 0.06	61.50 ± 6.54	37.33 ± 6.33	1.17 ± 0.58
良性腫瘍	20	9.40 ± 0.28	5.15 ± 2.92	0.08 ± 0.18	0.33 ± 0.54	0.08 ± 0.25	74.02 ± 7.16	24.50 ± 5.99	1.48 ± 1.93

*平均値 $\pm$ 標準偏差^{a)}小葉癌に対して有意差 ($p < 0.025$, t-test), ^{b)}良性腫瘍に対して有意差 ($p < 0.001$, t-test),^{c)}小葉癌に対して有意差 ($p < 0.05$, t-test), ^{d)}良性腫瘍に対して有意差 ($p < 0.001$, t-test),^{e)}小葉癌に対して有意差 ($p < 0.01$, t-test)

%であった。

同じく、5個以上の核小体を有する細胞の出現例数ならびに組織型全体としての出現率はそれぞれ、狭義の硬癌で15例中6例、0.1%、混合型硬癌20例中7例、0.2%、浸潤性小葉癌3例中1例、0.03%、および良性腫瘍20例中3例、0.1%であった。

3. 核 DNA 量ヒストグラム

狭義の硬癌では2.5Cないし3Cにピークがみられ、若干分散する傾向を示した。混合型硬癌では2.5Cにピークをもつものから4Cにピークのあるものまでがみられ、多くは8Cあたりにまで広がる幅広い分布を呈した。浸潤性小葉癌は3例ともに2.5Cにピークを有し、分散傾向は硬癌に比べて目立たなかった。対照とした良性腫瘍では2Cから2.5Cにピークを有し、分散傾向は小葉癌と同様わずかであった。

2倍体域に分布する核DNA量を有する細胞は、狭義の硬癌では最高68.0%、最小18.5%、平均42.5%、混合型硬癌では最高72.0%、最小6.0%、平均26.7%、浸潤性小葉癌では最高66.0%、最小54.0%、平均61.5%、良性腫瘍では最高86.0%、最小59.5%、平均74.0%であった。また、4倍体域を越える核DNA量を示す細胞は対照群の4例を除いて検索例全例にみられたが、その出現頻度は狭義の硬癌では最高26.0%、最小2.0%、平均8.8%、混合型硬癌では最高33.0%、最小1.5%、平均12.5%、浸潤性小葉癌では最高1.5%、最小0.5%、平均1.2%、良性腫瘍では最高7.5%、最小0%、平均1.5%であった。

IV. 考 案

硬癌は間質への硬性浸潤を主体とする乳癌の一組織型であり、その頻度は乳癌のなかで最も高く、半数近くを占めている^{11,13)}。予後は乳頭腺癌など、ほかの組織型に比較して悪く、10年生存率は50~60%と報告されている^{1,10)}。また、硬癌はその成り立ちから、乳管内癌巣部分がきわめて少なく、間質浸潤の高度な狭義の硬癌と、乳頭腺癌ないしは充実腺癌由来で、びまん性の間質浸潤が面積的に優位を占める混合型硬癌との2つに区別できる⁹⁾。前者は癌細胞が個々ばらばらに、あるいは索状、線状となって間質に浸潤しており、腺腔形成はほとんど認められないのに対し、後者の間質浸潤部では腺腔形成を示す小集塊がみられることが多い。発生部位との関係については、狭義の硬癌の方が混合型に比べてより末梢の乳管発生が漠然と想像されるが、明らかな証拠はない¹³⁾。

一方、浸潤性小葉癌は小葉内の細乳管発生と考えられる特殊な癌で、小型で極性のない癌細胞が小葉および小乳管を埋めるとともに、小葉周辺部ならびに間質に孤立性あるいは整然と1列に並んで浸潤しており、塊状の癌巣や腺腔形成はみられない⁹⁾。頻度はわが国の報告では全乳癌の1~3%にすぎないが、欧米では10%近くを占めている^{2,11)}。

このような間質へのびまん性浸潤を主体とする癌例においては、十分な細胞量を採取できないことが多く、したがって穿刺細胞診において誤陰性が生じやすくなる⁶⁻⁸⁾。加えて、硬癌や小葉癌では細胞や核が小型で、比較的均一な形態を呈する症例が多いことも、細胞診の成績においてこれらの陽性率が乳癌全体よりも劣る要因となっていると思われる^{4,7,8,15)}。

今回の検索においても、核径、核小体所見に関して、小葉癌、硬癌ともに良性例と比べてそれほど差のない症例が多くみられた。特に小葉癌では3例全体の平均核径は良性例よりも低値を示し、15 μ 以上の大型核も認めなかった。また、硬癌においては特に狭義の硬癌で異型の軽度な症例が目立ち、なかには細胞診上小葉癌との鑑別の難しい症例も少なくなかった。逆に混合型硬癌では平均核径の増加や15 μ 以上の大型核の増加を伴う症例が多くみられた。したがって、硬癌については土屋ら¹⁶⁾が述べているように、狭義と混合型の2つにわけて、予後ならびに細胞形態を検討してみる必要があると思われる。

一方、核DNA量についても同様で、小葉癌、狭義の硬癌、混合型硬癌となるにつれて、モードの高2倍体さらには4倍体への移動、平坦化、幅広い分散、4倍体を越える細胞核の増加などの傾向がみられた。すなわち、混合型硬癌では、polyploid, aneuploidの細胞増加といった悪性例に特徴的なパターンを呈する症例が多数を占めたのに対し、狭義の硬癌ではそのような症例が減少し、小葉癌ではむしろ分散傾向に乏しく、4倍体を越える核もわずかで、良性例ときわめて類似したヒストグラムを呈した。しかし、このような症例においても、S-G₂期に相当すると考えられる高2倍体から4倍体に属する細胞数が増加していたことは細胞回転、細胞動態を考えるうえで興味深く、今後flow cytometryによる検索が有意義であろうと思われる³⁾。

以上のごとく、浸潤性小葉癌や狭義の硬癌においては、核径、核小体所見、核DNA量のいずれを取っても、良性例との違いが目立たず、細胞診において良悪の判定に苦慮する症例が多い。したがって、このような症例では、これまでも述べられているように、個々の細胞の核の大

きさや核小体のみにとらわれることなく、細胞の散在傾向や重積性など細胞配列についての観察が不可欠であろう^{12,14,15)}。すなわち、核が小型で比較的均一であっても、不規則な重積性や糸状配列を示す小集団が目立つ場合は、悪性の可能性を考えてより詳細な検討を加えることが重要と思われる。

本論文の要旨は、第28回日本臨床細胞学会総会(大阪)において発表した。

なお、この研究の一部は東京都がん検診センターの研究費によった。

Summary

Nuclear sizes, nuclear DNA contents and nucleolar features were analyzed in imprint smears taken from 15 pure scirrhous carcinomas, 20 combined scirrhous carcinomas, 3 invasive lobular carcinomas and 20 benign lesions of the breast in order to elucidate the cytologic characteristics of these carcinomas.

The mean size of the longest axis of nuclei was $9.7\ \mu\text{m}$ in pure scirrhous carcinomas, $10.0\ \mu\text{m}$ in combined scirrhous carcinomas, $9.0\ \mu\text{m}$ in lobular carcinomas and $9.4\ \mu\text{m}$ in benign cases. Larger nuclei than $15\ \mu\text{m}$ in axis were observed in many cases of scirrhous carcinoma, whereas they were hardly observed in lobular carcinomas and benign lesions.

Appearance rates of a cell with larger nucleoli than $2.5\ \mu\text{m}$ in diameter and appearance rates of a cell with more nucleoli than 5 were 0.8% and 0.1% in pure scirrhous carcinomas, 1.0% and 0.2% in combined scirrhous carcinomas, 0.1% and 0.03% in lobular carcinomas, 0.3% and 0.1% in benign lesions, respectively.

Microspectrophotometric analysis of nuclear DNA contents showed that benign cases and lobular carcinomas had histograms of nuclear DNA contents with diploid and hyperdiploid as a mode and a small population spike of tetraploid. Similar DNA patterns were also observed in some pure scirrhous carcinomas, while in most combined scirrhous carcinomas the histograms were flat with the stem line deviated toward a large amount and increased incidence of polyploid and aneuploid nuclei.

文 献

- 1) 穴沢貞夫・他：乳癌の間質浸潤と予後，癌の臨床，24：813～820，1978.
- 2) Fechner, R.E. : Infiltrating lobular carcinoma without lobular carcinoma in situ, Cancer, 29 : 1539～1545, 1972.
- 3) 井上勝一・他：ヒト癌細胞の核 DNA の測定—顕微分光測光法と Flow cytometry の比較を中心として—，日臨細胞誌，21 : 1～7, 1982.
- 4) Kline, T.S., et al. : Fine-needle aspiration of the breast : Diagnoses and pitfalls. A review of 3,545 cases, Cancer, 44 : 1458～1464, 1979.
- 5) 小中千守：乳腺腫瘍細胞の核 DNA 定量による診断学的研究，日臨細胞誌，18 : 127～139, 1979.
- 6) Kreuzer, G. and Zajicek, J. : Cytologic diagnosis of mammary tumors from aspiration biopsy smears. III. Studies on 200 carcinomas with false negative or doubtful cytologic reports, Acta Cytol., 16 : 249～252, 1972.
- 7) 工藤浩史・他：乳腺疾患における穿刺吸引細胞診—特に確診困難例を中心に—日臨細胞誌，22 : 753～760, 1983.
- 8) 松田 実・他：乳腺腫瘍の診断における穿刺細胞診の評価，癌の臨床，29 : 793～802, 1983.
- 9) 乳癌研究会編：臨床・病理，乳癌取扱規約，第7版，pp. 21～58，金原出版，東京，1984.
- 10) 坂元吾偉・他：乳癌の組織型と生存率，癌の臨床，18 : 453～460, 1972.
- 11) 坂元吾偉・他：日米乳癌の臨床病理学的比較研究，癌の臨床，25 : 161～170, 1979.
- 12) 新沢陽英・他：乳癌細胞の形態学的特徴に関する研究，日臨細胞誌，17 : 297～300, 1978.
- 13) 菅野晴夫，坂元吾偉：早期乳癌の病理，早期乳癌・臨床と病理，pp. 213～262，中山書店，東京，1976.
- 14) 鈴木真喜子・他：乳腺小葉癌の細胞像，日臨細胞誌，21 : 72～75, 1982.
- 15) 武田鉄太郎・他：乳腺の穿刺吸引塗抹細胞所見に関する検討—組織学的分類を基礎として—，癌の臨床，21 : 822～829, 1975.
- 16) 土屋真一・他：ヒト乳腺硬癌の微細形態学的特徴—硬癌の細胞像と予後について—，癌の臨床，29 : 297～302, 1983.