原 著

細胞診による早期胆嚢癌の術中診断について

名古屋掖済会病院中検病理

佐竹 立成 今井 律子 夏目 園子
新福 正人 平野 みえ

1. 良性病変として手術切除された 184 例の胆嚢のうち早期癌 3 例を含む 4 例の胆嚢癌が発見された。このうち 3 例には術中迅速スタンプ標本が作製され、いずれも腫瘍細胞が認められた。この方法は術中での、早期を含めた胆嚢癌の発見のために有力な方法と考えられる。

2. 胆汁細胞診よりスタンプ標本の方が確実に上皮細胞が採取され、スクリーニングを含めた細胞診断がより容易に行えると思われる。

3. 肉眼的にほとんど異常を認めない胆嚢でも細胞診標本中に癌細胞が認められた場合は、切除断端や胆嚢壁の迅速組織標本を作製する必要がある。癌の進展度や深達度を調べ、適切な外科的処置を行う必要があるからである。

Key words : Gallbladder—Bile and Stamp cytology—Early cancer—Intraoperative diagnosis

I. はじめに

従来術前診断が非常に困難であった胆嚢癌も、近年の画像診断法をはじめとする診断法の開発、改良により、以前に比較してはるかに容易に診断されるようになった。進行癌はいうまでもなく、いわゆる早期癌の診断も可能になってきており、多数の報告がなされている。しかし隆起を示さず平坦に発育する病変についての診断は、現状では非常に困難であり、今後の重要な研究課題になっている^{6,9,11)}。われわれは術前診断の困難なこのような病変を、細胞診で術中に診断する試みを重ねてきたので報告する。

II. 対象と方法

対象は 1986 年から 1988 年までの約 2 年間に当院外科で胆嚢摘出術を受けた 184 例で男 77 例、女 107 例、平均年齢は 54.5 歳である。これらの臨床診断名は表 1 に示す。これらの症例の、術中に採取された胆汁および胆嚢粘膜を用いて細胞診標本を作製した。胆汁は開腹後胆嚢を注射針で穿刺し、2 ないし 3 回生食で洗滌後吸引されたもので、切除された胆嚢と同じく手術室からただちに病理検査室に送られた。胆汁は 1500 回転 5 分間遠沈後沈渣を用いて標本を作製、胆嚢はその粘膜を胆嚢底部

表 1 対 象

臨床診断名	症例数
胆 石 症	173
無 石 胆 嚢 炎	2
Adenomyomatosis	7
胆 管 拡張 症	2
計	184

(男 77 名, 女 107 名)

Intraoperative cytological diagnosis of early gallbladder cancer

Tatsunari SATAKE, M.D., Ritsuko IMAI, C.T., I.A.C.,
Sonoko NATSUME, C.T., I.A.C., Masato SHINFUKU, C.T.,
I.A.C., Mie HIRANO, C.T., I.A.C.,

Department of Clinical Pathology, Nagoya Ekisaikai Hospital

論文別刷請求先 ☎ 454 名古屋市市中川区松年町 4 の 66 名古屋掖済会病院中検病理 佐竹立成

昭和 63 年 6 月 30 日受付

昭和 63 年 8 月 26 日受理

表 2

方法	迅速 Pap. 染色法	
迅速 Pap. 染色	1. 95% Alcohol 固定	5 min.
通常 Pap. 染色	2. Harris hematoxylin	10 sec.
May-Giemsa 染色	3. 温水色出し	
	4. OG 6	5 sec.
	5. EA 50	1 min.
	6. 脱水, 透徹, 封入	

表 3 組織分類

組織分類	症例数 (%)
正 常	149 (81.0)
上皮異形成 (軽 度)	31 (16.8)
(中等度)	28
(高 度)	2
早 期 癌	1
進 行 癌	3 (1.6)
計	1 (0.6)
	184

を含むようにして、擦過せず直接スタンプし、迅速 Papanicolaou (Pap. と略す) 染色 (表 2)、通常 Pap. 染色、May-Giemsa 染色を、一部の胆汁には PAS 染色を施して検鏡した。胆汁の標本のみ作製された症例は、63 例、胆汁とスタンプ標本の両方およびスタンプ標本のみ作製された症例はそれぞれ 108 および 13 例となった。迅速および通常 Pap. 染色を用いて、その中に認められる腺上皮細胞の数を 30 個以下、31 から 100 個、101 個以上に分けそれぞれ比較した。また、それぞれの標本中に認められた腺上皮細胞を陰性、偽陽性、陽性に分類した。陰性はほとんど異型のみられないもの、陽性は癌細胞と診断できるもの、偽陽性は異型があるが癌とはいえないものとした。胆嚢は肉眼写真撮影後板にはりつけ、10%ホルマリンで固定した。固定後の胆嚢は再び写真撮影をした後、底部から頸部にかけて中央を 1 本と、その両側を中央から少し離して 1 本ずつ切り出した。癌の認められた標本は胆嚢を全割して組織標本作製した。組織学的診断は粘膜上皮にほとんど異型のみられないものを正常、癌とはいえないが異型のあるものをその程度により軽度、中等度、高度異形成に分類した¹³⁾。癌は早期癌と進行癌に分け、早期癌の定義は渡辺らのそれに従った¹²⁾。

表 4

組織診断・症例数	細胞診断, 症例数
正 常 94	疑 診 17
軽度異形成 23	疑 診 10
中等度異形成 1	疑 診 1
早 期 癌 2	陽 性 2
進 行 癌 1	陽 性 1
121	31

表 5 上皮異形成、癌における異型細胞の剝離状況

症 例		胆 汁		スタンプ	
		迅速	通常	迅速	通常
上皮異形成	1. 60 歳, ♀, 中等度	+	+		
	2. 68 歳, ♀, 中等度	+ 少	+ 小	+	+
	3. 65 歳, ♀, 高 度	+	+		
早 期 癌	4. 64 歳, ♀	-	-		
	5. 71 歳, ♂	-	-	+	+
	6. 57 歳, ♀			+	+
進 行 癌	7. 75 歳, ♀			+	+

III. 結 果

1. 組織分類について

184 症例の組織分類は表 3 に示す。癌は 4 例 (2.2%) にみられ 3 例 (1.6%) が上皮内癌であった。

2. 組織分類と細胞分類との比較

スタンプ標本が作製された 121 例について組織診断と細胞診断とを比較した結果が表 4 である。組織では正常 (異常な上皮を認めない) とされた 94 例のうち 17 例が細胞診断では疑診 (軽度異形成に相当する) とされた。また軽度異形成とされた 23 例のうち、細胞診で疑診とされたのは 10 例にすぎず、残りは陰性とされた。中等度異形成、早期癌、進行癌とされたそれぞれ 1, 2, 1 例は、細胞診でもこれに相当する異型細胞が認められた。

3. 中等度以上の上皮異形成および癌における異型上皮細胞の剝離状況

中等度以上の上皮異形成および癌の症例は全部で 7 例あった。この 7 例について病変部の細胞が標本中に認められたか否かを、胆汁およびスタンプ標本の迅速、通常 Pap. 標本で検討した結果が表 5 である。

図 1～3 はそれぞれ症例 1 の胆汁による迅速、通常

図1 胆汁, 迅速標本. 類円形で核小体のやや目立つ腺細胞集団をみる. 核縁の不正や核の大小不同はほとんどみられない (Pap.染色, $\times 1000$)

図2 胆汁, 通常標本. 図1と同様な細胞集塊をみる (Pap.染色, $\times 1000$)

図3 腺上皮細胞は細胞, 核ともにやや腫大し乳頭状の増生を示しているが, 細胞異型はそれほど強くない (H-E染色, $\times 200$)

Pap. 標本および組織像である。

図4～6は症例4の, 胆汁を用いた通常標本 (PAS染色) の細胞像, 組織像および癌と上皮異形成の分布図を示す。この症例は Pap. および Giemsa 染色標本中

図4 胆汁, 通常標本. 核形および核縁の不正があり, N/C比がきわめて大きい細胞をみる (PAS染色, $\times 1000$)

図5 核異型のつよい腺上皮細胞が, 乳頭状の増生を示している (H-E染色, $\times 200$)

図6 上皮異形成, 上皮内癌分布図 64歳, 女

は腫瘍細胞が全く認められなかった。

図7～10はそれぞれ症例5の, 迅速スタンプ, 通常スタンプ標本中に細胞像と組織像および癌と上皮異形成の分布図を示す。腺癌の上皮は, 既存の腺管を置換するよ

図 7 迅速スタンプ標本 N/C 比の大きい腺上皮細胞が重積して認められる (Pap. 染色, $\times 1000$)

図 8 通常スタンプ標本. 図7と同様な細胞だが核小体が顕著に認められる (Pap. 染色, $\times 1000$)

図 9 良く分化した腺管構造を示すが部分的には核異型が強く、重積も認められる (H-E 染色, $\times 200$)

うに浸潤し、粘膜内にとどまっていた。

図 11~13 は症例 6 の迅速スタンプ、通常スタンプ標本中の細胞像と組織像を示す。この症例は胆嚢管、総胆管に浸潤癌が存在したが、胆嚢底部にはこれと連続せず広汎に癌があり、これは上皮内癌であった。スタンプは後者の部位でなされており、上皮内癌の症例とした。

■ 上皮異形成

□ 上皮内癌

図 10 上皮異形成、上皮内癌分布図 71 歳, 男

図 11 迅速スタンプ標本. N/C 比大、核小体の顕著な腺上皮細胞が重積して認められる。核間距離が不正である (Pap. 染色, $\times 1000$)

図 12 通常スタンプ標本. 図 11 と同様な細胞像を示す (Pap. 染色, $\times 1000$)

胆汁標本では、異型細胞が認められても少数のことがあり、ときには症例4や5のごとく全く認められない症例もあった。これに比し、スタンプ標本では実施された4例とも組織所見に相当する異型細胞が認められた。なお症例3では、大部分の粘膜が中等度異形成上皮で、ごく一部分に高度異形成があり、細胞診では高度異形成に相当する細胞は認められなかったが、中等度異形成に相当する細胞は認められたので(+)とした。

4. 一標本中の上皮細胞数の比較

一標本中に認められる腺上皮細胞の数を数え、胆汁およびスタンプ標本の迅速, 通常 Pap. 染色および Giemsa 染色標本例を検討した結果が表6である。表のごとく、スタンプ標本では胆汁標本に比較して細胞数が多いが、それぞれの迅速と通常標本を比較するとほとんどその差は認められない。30個以下しかみられなかった症例についてさらに詳しく細胞数を検討すると(表7), 胆汁標本の Pap. 染色では全く細胞が認められなかった症例が迅速で12例, 通常で14例認められ、これは検体不良とされた。同一症例の標本を Giemsa 染色でも検鏡したが、細胞数については Pap. 染色標本との差はみられなかった。

IV. 考 察

胆嚢の早期癌とは、粘膜内にとどまる癌に限るのか、筋層までの浸潤を示すものも含めるのかという点で、その定義についてはいまだ見解の一致をみてはいないようであるが、渡辺らの報告によると早期癌46例中39例、76.3%が隆起を形成しない表面型の病変であったとしている¹²⁾。画像診断法を用いてもこれらの病変の診断率はきわめて低く、早期癌の診断率を高めるためには、これらの病変をどのように発見していくかが今後の重要な課題といわれている。そこで鬼島らは術中10%ホルマリン固定による肉眼診断を推奨しており、診断率の向上を得ているが、それでも表面型の癌は68.2% (22例中15例)で隆起型の81.8% (11例中9例)に比して低い⁵⁾。

細胞診で胆嚢癌を発見する試みは胆汁を用いて行われており、腹腔鏡や超音波検査法下で胆嚢を穿刺する方法¹⁰⁾、胆嚢摘出術中に得られた胆汁を用いる方法^{2,7)}などが報告されている。しかし手術中に胆汁標本や胆嚢粘膜スタンプ標本を用いて迅速細胞診を行った成績はみられない。今回の検討では、早期癌2例と進行癌1例の迅速スタンプ標本中にいずれも腫瘍細胞が認められた。早期癌の1例では腫瘍細胞は胆汁中には認められず、スタンプ標本で認められている。標本中の剝離細胞が多く、変

図13 異型腺上皮細胞は、細い間質を伴い乳頭状の増生を示している。間質がほとんどみられない部分もある。(H-E 染色, ×200)

表6 一標本中の上皮細胞数

表7 上皮細胞数30個以下の症例について Pap. 染色と Giemsa 染色の比較

標 本	症例数 染色	一標本中の上皮細胞数		
		0	少数	31 ↑
迅速胆汁	31 Pap.	12	19	0
	Giemsa	10	17	4
通常胆汁	25 Pap.	14	11	0
	Giemsa	10	12	3
迅速スタンプ	2 Pap.		2	0
	Giemsa		1	1
通常スタンプ	1 Pap.		1	
	Giemsa		1	

性も少ない点でスタンプ標本の方がスクリーニングを含めた細胞診断がより容易であることから、今後はスタンプ標本のみでもよいと思うが、スタンプされる範囲が限られるという欠点もあるので、肉眼的に異常のある場合はその部分を含めて、異常のない場合でも部位を変えて標本を作る必要があろう。粘膜面の広い胆嚢では全面ス

タンプするには無理があるので、底部を含めて2枚位の標本作製すればよいと思う。なお今回の検索ではPap. 染色もGiemsa 染色も標本中の上皮細胞数にほとんど差はみられなかったもので、どちらの染色標本を用いても良いと思う。また、通常Pap. 染色標本の方が迅速標本より優れた染色結果が得られることはいたしかたないが、今回の方法で作製された迅速標本では、診断のために十分な染色性が得られている。

今回のわれわれの調査では、対象とした胆嚢184個のうち、上皮異形成31例、16.8%、上皮内癌3例、1.6%、浸潤癌1例、0.6%であった。Albores-Saavedraは200個の胆嚢のうちatypical hyperplasia 13.5%、carcinoma in situ 3.5%としており¹⁾、武藤は良性胆嚢疾患と診断された614例のうち10例、1.6%に早期癌(粘膜内癌)を認めている⁸⁾。これらの組織学的に診断された病変が、細胞診断と一致するか否かについてAlonso-DeRuizらは、374個の摘出手術を受けた胆嚢の胆汁を用いて検討しているが、有効検体は250個(67%)で、浸潤癌7例、上皮内癌6例、上皮異形成28例がそれぞれ細胞診断されたとしている²⁾。このうち浸潤癌7例(100%)、上皮内癌(浸潤癌を含む)4例(66%)、上皮異形成7例(25%)が組織学的に確認されており、上皮異形成の一致率が低い。われわれの成績でも軽度異形成では一致率が低かったが、これは軽度異形成の診断が、細胞診、組織診ともにややあいまいにならざるを得ないためと思われる。細胞の胆汁中における変性や全例に組織の連続切片を作製することができず、細胞と組織との対応が不十分であることも要因となろう。

さて、術前検査の結果や胆嚢粘膜の肉眼所見、胆嚢スタンプなどの細胞診断で胆嚢癌と診断された場合、手術術式にかかわる問題として癌の深達度と進展度を定める必要がある^{3,4)}。進展度としては特に切除断端への腫瘍細胞の浸潤の有無を調べる必要があり、断端部の術中迅速組織標本作製し確認する。深達度では上皮内癌なのか上皮下組織への浸潤があるのかを、肉眼的にみて最も疑わしい部分の組織を採取し、組織学的に診断することになろう。このようにして癌の存在診断とともに、深達度、進展度を明らかにすることにより、再手術をできる限り防ぐ努力を払う必要がある。迅速細胞診は、そのための非常に重要な検査法になり得ると考えられる。

本論文の要旨は第27回日本臨床細胞学会総会(於東京)シンポジウムで報告した。

Summary

Bile and direct stamp smears of 184 gallbladders, which had been excised because of gallstones (173 cases), cholecystitis without gallstones (2 cases), adenomyomatosis (7 cases), and dilatation of the choledochus (2 cases), were made. The quick Papanicolaou staining method was used in order to screen for early gallbladder cancer during surgery, as this is difficult to diagnose preoperatively. Smears from 142 patients were considered adequate for cytologic analysis.

Histologically, 149 gallbladders were considered to show no atypical epithelium. Thirty-one showed dysplasia (slight 28, moderate 2, severe 1), three showed carcinoma *in situ* and one invasive cancer, respectively. In two cases of carcinoma *in situ*, bile smears did not contain cancer cells, but stamp smears did. The remaining case was not examined. In invasive cancer, cancer cells were found in stamp smears and no bile smear was made. Many more epithelial cells were observed in stamp smears than in bile. Accordingly, cytologic examinations using stamp smears are thought to be more useful than those using bile smears for the diagnosis of early gallbladder cancer.

When cancer cells were observed in quickly made stamp or bile smears from gallbladders showing no gross remarkable changes, a frozen tissue study of the gallbladder was necessary in order to examine both the depth and width of the tumorous lesion.

文 献

- 1) Albores-Saavedra, J., et al.: The precursor lesions of invasive gallbladder carcinoma; Hyperplasia, atypical hyperplasia and carcinoma in situ, *Cancer*, 45: 919~927, 1980.
- 2) Alonso-DeRuiz, P., et al.: Cytopathology of the precursor lesions of invasive carcinoma of the gallbladder, *Acta Cytol*, 26: 144~152, 1982.
- 3) 市川和男・他: 経皮経肝胆嚢鏡(PTCCS)に関する臨床的検討, *Gastroenterological Endoscopy*, 30: 915~925, 1988.
- 4) 乾 和郎・他: 新しい診断法による胆嚢癌の進展度診断, *胃と腸*, 22: 541~548, 1987.
- 5) 鬼島 宏・他: 胆嚢癌の臨床病理一とくに早期胆嚢癌について, *消化器外科*, 8: 403~411, 1985.
- 6) 小島国次・他: 摘除胆嚢500例の臨床病理学的研究, *癌の臨床*, 17: 799~805, 1971.
- 7) 武藤良弘・他: 胆嚢穿刺吸引細胞診, *日臨細胞誌*, 21:

- 50~56, 1982.
- 8) 武藤良弘・他：早期胆嚢癌—その形態について—, 癌の臨床, 26 : 1665~1671, 1980.
- 9) 竹本忠良：早期胆嚢癌の診断への歩みと現状, 胃と腸, 21 : 475~481, 1986.
- 10) 土屋幸治, 大藤正雄：超音波と細胞診による胆嚢小隆起性病変の診断, 胆と膵, 6 : 829~836, 1985.
- 11) 内村正幸・他：座談会, 早期胆嚢癌—その診断の進歩—, 胃と腸, 21 : 538~550, 1986.
- 12) 渡辺英伸・他：早期胆嚢癌の定義と病理形態学的特徴, 胃と腸, 21 : 483~495, 1986.
- 13) Yamagiwa, H. and Tomiyama, H. : Intestinal metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence of the gallbladder, Acta Pathol Jpn, 36 : 989~997, 1986.
-