症 例

脊索腫の免疫細胞化学的検討

大阪医科大学中央検査部病理

森川 政夫 中原 栄子 中塚 裕之 石崎 幸恵
 日下部 正 水岡 靖子 坂本 洋子 黒川 彰夫
 稲井 真弥

仙骨部で発生した8歳、男性および尾骨部に発生した40歳、女性の脊索腫2例の捺印細胞で、その腫瘍細胞を形態学的に分類し、免疫細胞化学的に検討した。

いずれの脊索腫も腫瘍細胞は physalipherous cell, stellate cell およびその移行像を示す intermediate cell の3種類の細胞で構成されていた。免疫細胞化学的な検索で上皮性を示すマーカーである EMA, cytokeratin, keratin および非上皮性を示すマーカーである S-100 蛋白, NSE, vimentin はいずれの腫瘍細胞でも陽性を示した。CEA は stellate cell, intermediate cell で陽性を示した。

脊索腫を構成する腫瘍細胞には、それぞれの細胞形態に差が認められるが、免疫細胞化学的な染色の結果、これらは同一細胞由来であることが示唆された。また脊索腫の腫瘍細胞は上皮性、非上皮性の両方の性格を有しているため、その細胞診断に際し免疫化学的な検索が有用と考えられた。

Key words : Sacrococcyx—Imprint cytology Immunocytochemistry—Chordoma

I. はじめに

脊索腫は胎生期脊索の遺残に由来する腫瘍と考えられ頭蓋底部および仙骨・尾骨部に好発する比較的にまれな腫瘍で、その細胞形態に関する検討はかなり詳細になされているが、免疫化学的な検索は必ずしも十分とはいえない。

今回われわれは仙骨部および尾骨部に発生した脊索腫2例の捺印細胞を用い、免疫化学的に検索を加え、その診断的意義について検討したので報告する。

II. 症 例

症 例 1 : 8歳, 男性.

主 訴 : 仙骨部の腫脹および圧痛.

現病歴 : 昭和60年12月, 鉄棒から転落し仙骨部を強打したが, 同部の痛みは約1週間で軽快した. 昭和61年9月, 再び仙骨部の自発痛および腫脹を自覚するようになり近医を受診したところ仙骨部の腫瘤を指摘され, 本学整形外科を受診した. 昭和61年10月, 腫瘤の摘出術が施行された. 腫瘤は灰白色で硬度は軟, 5×5×8 cm 大で, 境界は不明瞭で脊柱管内にも浸潤していた. 剖面はゼリー状で, 一部に出血を伴っていた. 組織診断は脊索腫であり, 2ヵ月後, 左肺下葉に転移を認めた.

症 例 2 : 40歳, 女性.

主 訴 : 尾骨部の圧痛.

現病歴 : 昭和61年12月ころより尾骨部痛を自覚していたが症状が軽減しないため, 昭和62年9月に近医でCT, シンチなどの検査を受け, 仙骨部の腫瘍が疑われ, 本学整形外科を受診した. 昭和63年2月, 尾仙骨部の腫

Cytological and immunocytochemical study of chordoma
 Masao MORIKAWA, C.T., I.A.C., Eiko NAKAHARA, C.T.,
 I.A.C., Hiroyuki NAKATSUKA, C.T., I.A.C., Sachie ISHI-
 ZAKI, C.T., I.A.C., Tadashi KUSAKABE, C.T., I.A.C.,
 Yasuko MIZUOKA, C.T., I.A.C., Yoko SAKAMOTO, C.T.,
 I.A.C., Akio KUROKAWA, M.D., Shinya INAI, M.D.
 Central Laboratory Osaka Medical College
 論文別刷請求先 ☎569 高槻市大学町2の7 大阪医科大学付
 属病院中央検査部病理 森川政夫

瘤摘出術を施行した。腫瘍は仙骨部下端前方に鶏卵大の大きさで、周囲との癒着もなく容易に剝離し、灰白色不均一で硬度は軟、断面はゼリー状であった。組織診断は脊索腫であった。

III. 材料および方法

手術時摘出された2症例の腫瘍を材料とし、細胞学的には捺印細胞標本をエーテル・アルコール等量混合液による湿固定およびメタノール乾燥固定を行い、パパニコロウ染色、ギムザ染色を施し観察した。また組織学的には捺印細胞標本を作製した摘出材料を10%ホルマリン固定、パラフィン包埋後、3, 4 μ に薄切しH-E染色、PAS染色、ジアスターゼ消化試験、アルシアン青染色を施し観察した。捺印細胞の免疫化学的な染色には間接法、ABC法を用いて染色した。一次抗体はDAKO社のEMA, CEA, cytokeratin, keratin, S-100蛋白, NSE, vimentin, desmin, NF (neurofilament), LC (leucocyte common, antigen), lysozymeに対する抗体を使用し、二次抗体はHRP標識抗家兔IgGブタ抗体、Vectastain社のABC kitを使用した。発色はDABを用いて観察した。また組織切片でも同様の抗体を用い観察した。電顕的には、2.5%グルタルアルデヒド・オスミウム二重固定後、エポン包埋を行い、酢酸ウラン・酢酸鉛の二重染色を施し観察した。

IV. 結 果

捺印細胞所見：腫瘍細胞は散在性から上皮様の集団を形成しながら出現していた。また背景には赤血球および粘液様基質がみられた。これらの腫瘍細胞は大きく次の3種類の細胞に分類することができた。

1) Physalipherous cell

腫瘍細胞は大型で豊富な細胞質を有し、その細胞質内には泡状または印環型の大小の空胞がみられた。N/C比は小、核は小型で偏在し、クロマチンは濃縮、2核または多核を示し核内空胞を有していた。細胞質はPAS染色で陽性を示したが、空胞は染色されないものが多かった。しかし一部の空胞はアルシアン青染色で陽性を示した(写真1, 2)。

2) Stellate cell

腫瘍細胞は小型で類円形から多稜形の細胞質を有し、好塩基性で辺縁明瞭、細胞質内の空胞はみられなかった。N/C比は大、核は類円形、中心性でクロマチンは細顆粒状を示し、核小体は1~数個みられ、核分裂像も散見された。PAS染色は陽性を示し、PAS陽性顆粒はジアスターゼで消化された。アルシアン青染色は陰性であった(写真3)。

3) Intermediate cell

腫瘍細胞はphysalipherous cellとstellate cellとの移行像を示し、細胞質は小型または大型で好塩基性を呈し、少数の小型空胞がみられた。N/C比は小~大とさまざま、核も中心~偏在性と多様であった。PAS染色は陽性を示し、ジアスターゼで消化された(写真4)。症例1では細胞異型の強いstellate cell, intermediate cellが多くみられ、典型的なphysalipherous cellは少なかった。症例2ではphysalipherous cellが大集団で出現しており、背景にはアルシアン青染色に好染する粘液様基質が多くみられた。以上の細胞所見は表1のごとくであった。

組織所見：腫瘍細胞は線維性結合組織で境され、索状または充実性に増殖しており、症例1では小型の類円または紡錘形のstellate cellが密な増殖を示し、核分裂像や少数の多核細胞を伴っていた(写真9)。また症例2

表1 脊索腫の細胞所見 (Pap. 染色)

細胞形態	Physalipherous cell		Intermediate cell		Stellate cell	
細胞質	大型 泡状	多稜形 空胞	小～大 好塩基性	多稜形 小型空胞	小型 好塩基性	類円形
N/C 比	小		小～大		大	
核 位置	偏 在		中心～偏在		中 心	
形	類円形 空胞		類円形		円 形	
核網	細顆粒～濃染		細顆粒		細顆粒	
核小体	(－)		一～十		十	
核分裂像	－		－		十	
出現形式	出血像，粘液様基質の中に散在性～上皮様集団として出現					

表 2 免疫化学的所見 (捺印細胞)

	P C	I C	S C
CEA	—	+	+
EMA	+	+	+
Cytokeratin	+	+	+
Keratin	+	+	+
S-100	+	+	+
NSE	+	+	+
Vimentin	+	++	++
Desmin	—	—	—
NF	—	—	—
LC	—	—	—
Lysozyme	—	—	—
PAS	空胞 (—)	+	+
ジアスターゼ消化	+	+	+
アルシアン青	空胞 (+)	—	—

PC : Physalipherous cell IC : Intermediate cell
SC : Stellate cell

では大型で多数の空胞をもった physalipherous cell が主体を占めており, PAS 染色陽性, ジアスターゼで消化され, 細胞質内に糖原を認めた. また細胞質内に好酸性に染まる硝子滴も散見された. なお基質は粘液腫状でアルシアン青染色で陽性であった (写真 10).

電顕所見: 腫瘍細胞は大型で多数の空胞をもった細胞, 小型で類円形, 明瞭な核小体をもった細胞, またこれらの移行像を示す細胞から成り, 胞体内には microfilament, 粗面小胞体, microvilli, desmosome (写真 11), がみられ, 他の部位では少量の glycogen 顆粒, pinocytosis が認められた.

捺印細胞の免疫化学的所見: 上皮性のマーカーである EMA, cytokeratin, keratin は, すべての腫瘍細胞で陽性の所見を示した. しかし CEA に関しては stellate cell, intermediate cell で陽性を示したが, physalipherous cell では染色されなかった (写真 5, 6). 次に非上皮性マーカーについては, S-100 蛋白, NSE, vimentin は大部分の腫瘍細胞で陽性の所見を示した (写真 7, 8). なおこれらの抗原物質は細胞質内で陽性であったが, 細胞質内の空胞では認められなかった (表 2).

V. 考 察

脊索腫は胎生期の脊索組織の遺残に由来する腫瘍と考えられ, 1857 年に Virchow が最初に報告, 1858 年に Müller が初めて Chordoma と命名し, 本邦においては 1923 年に太田⁹⁾が初めて報告した.

発生部位は 1) 頭蓋底斜台部, 2) 咽頭後壁, 3) 歯状突

起, 4) 尾仙骨部で, 欧米では尾仙骨部発生が多く, 本邦では長田⁵⁾によると頭蓋底部 41%, 尾仙骨部 38%, 脊柱 21% と頭蓋底部発生が多いとされている. 自験例ではいずれも尾仙骨部にみられた.

性・年齢別頻度では男性に多く発生する傾向があり, 年齢的には 50~60 歳代と高齢者に好発するとされている. 文献的には本邦で最年少の症例は 7 歳の男子で, 上咽頭の脊索腫例⁶⁾が報告されているが, 自験例はそれに次ぐ若年者の脊索腫である.

脊索腫の細胞学的特徴についての報告では^{2,10,13,14,16)}, 1) 粘液性背景, 2) シート状配列を示す上皮様細胞集団, 3) 細胞質のグリコーゲン顆粒, 4) 細胞は多形性で, 細胞質に空胞を有する physalipherous cell の存在, 5) 細胞は小型で類円形の核と小型の核小体を有する stellate cell の存在などがあげられている. 自験例においても 1)~5) のいずれの項目についても同様の細胞所見を示していた.

また腫瘍構成細胞の細胞形態について, 大肺¹¹⁾, 中田⁶⁾は大型で細胞質内外に多数の空胞をもつ physalipherous cell と空胞の目立たない stellate cell に分け, さらにこの両者の間には移行像を示す細胞がみられ, それを intermediate cell と報告している. 自験例でもこのような形態を示す腫瘍細胞がみられ, physalipherous cell, intermediate cell, stellate cell の 3 種類に分類することができた. しかしこれらの腫瘍構成細胞の由来については Gessaga¹⁾によると本質的に同一と考えられ stellate cell が cisternal dilation と internal secretion の過程を経て physalipherous cell になると報告している. また Murad⁴⁾は核分裂像が stellate cell に多く観察されることから, これを physalipherous cell の幼若な細胞であると報告している. 自験例においても stellate cell の多く観察された症例 1 では核分裂像がみられた.

Zeitlin¹⁷⁾は一般に脊索腫はその発育段階によって 3 つの細胞学的特徴が認められると報告している. 1) 非空胞性多形性上皮細胞の段階, 2) 著明な空胞形成の段階, 3) 細胞間に豊富な粘液性基質形成 (空胞体期) の 3 段階で, 3) は完成した脊索腫の組織にみられ, 比較的悪性度が低いといわれている. 自験例でも, 症例 1 は非空胞性多形性細胞である stellate cell, intermediate cell が多く, それらの細胞は異型も強く, 早期に肺への転移を示した. 症例 2 では粘液性基質形成と著明な空胞形成細胞である physalipherous cell を認め, それらの細胞は異型も少なく, 成熟傾向を示す脊索腫であった.

免疫組織化学的な染色で脊索腫の腫瘍細胞は上皮性の EMA, CEA, cytokeratin, keratin, 非上皮性の S-100 蛋

白, NSE, vimentin が陽性所見を示すと報告されている^{3,7,12,15,16}。

自験例の捺印細胞の免疫化学的な染色でも EMA, cytokeratin, keratin はすべての腫瘍細胞が陽性を示した。CEA は stellate cell, intermediate cell で陽性を示したが, physalipherous cell では染色されなかった。つぎに S-100 蛋白, NSE, vimentin も陽性の所見を示した。Desmin, NF, LC, lysozyme は染色されなかった。

今回捺印細胞の免疫化学的な染色法により検討した腫瘍関連抗原は stellate cell, intermediate cell では細胞質内全体に陽性の所見を示した。しかしこれらの抗原は physalipherous cell の細胞質内の空胞では染色されず, 細胞質の周辺部が陽性の所見を示した。このことから3種類の腫瘍を構成する細胞は, 抗原の局在にはそれぞれの間に差がみられるが, 抗原の有無については3種類の腫瘍細胞の間には, 差がみられないことより同一の細胞由来であることが示唆された。

脊索腫と鑑別を要する疾患として軟骨腫, 脂肪肉腫, 転移性の腺癌などがあるが, 脊索腫は上皮性, 非上皮性のいずれの抗体でも染色される特徴的な免疫化学的な所見を示すことより, これらの染色を用いれば鑑別は容易になるものと考えられた。

本論文の要旨は, 昭和63年5月, 第29回日本臨床細胞学会総会(東京)において発表した。

Summary

Imprint smears were obtained from two chordomas which developed in the sacrum of an 8-year-old male and in the coccyx of a 40-year-old female. Chordoma cells were examined morphologically and immunocytochemically.

In both chordomas, there were three kinds of tumor cells: physalipherous, stellate, and intermediate cells. With respect to their immunocytochemical characteristics, all three types contained EMA, cytokeratin and keratin, markers indicating epithelial cell origin. Moreover, they all were positive for S-100 protein, NSE and vimentin, markers indicating non-epithelial cell origin. Stellate cells and intermediate cells were CEA-positive, but physalipherous cells were not.

These results indicate that the three kinds of tumor cells composing chordomas may be of the same lineage, although they are morphologically different.

Furthermore, it was thought that immunocytochemical evaluation was useful in the cytological diagnosis of chordoma, because chordoma cells have characteristics of both epithelial cells and non-epithelial cells.

文 献

- Gessaga, E.C., et al.: Ultrastructure of a sacrococcygeal chordoma, *Acta. Neuropath.*, 25: 27~35, 1973.
- 入江康司・他: 針生検吸引細胞診で確診し得た尾仙骨部脊索腫の一例, *日臨細胞誌*, 24: 754~759, 1985.
- Jonathan, R.S.: Demonstration of cytokeratins and an epithelial membrane antigen in chordomas and human fetal notochord, *Am. J. surg. pathol.*, 9: 791~796, 1985.
- Murad, T.M., et al.: Ultrastructure of a chordoma, *Cancer*, 25: 1204~1215, 1970.
- 長田栄一・他: 仙・尾部脊索腫について—自験2例と本邦報告66例の観察—, *外科*, 43: 765~769, 1981.
- 中田和義: 脊索腫の組織化学と微細構造, *整・災外*, 29: 1669~1675, 1986.
- Nakamura, Y., et al.: S 100 protein in human chordoma and human and rabbit notochord, *Arch. pathol. lab. med.*, 107: 118~120, 1983.
- 太田文彦・他: 自覚症状を欠いた脊索腫の1例, *耳鼻咽喉科*, 57: 526, 1964.
- 太田義一: 悪性脊索腫(chordoma)の一例, *癌*, 17: 573~599, 1923.
- 奥山隆三・他: 頭蓋底脊索腫の細胞形態, *日臨細胞誌*, 25: 722~725, 1986.
- 大舘祐治・他: 脊索腫の微細構造, *癌の臨床*, 28: 186~190, 1982.
- Pascual, A.: Chordoma: an immunohistologic study, *Human pathol.*, 17: 744~747, 1986.
- Rene rone: Anaplastic sacrococcygeal chordoma, *Acta cytol.*, 30: 183~188, 1986.
- Steven, A.C.: Diagnosis of cervical chordoma by fine needle aspiration biopsy, *Acta cytol.*, 31: 765~768, 1987.
- Sponden, J.E.: Chondroid chordoma: case report and literature review, *Ann. Otol.*, 89: 279~284, 1980.
- 田中健次・他: 上部後縦隔より発生した脊索腫の一例, *日臨細胞誌*, 27: 553~557, 1988.
- Zeitlin, H., et al.: Intracranial chordoma, *Arch. Neurol. and Psychiat.*, 45: 984~991, 1941.

写真 1 脊索腫の捺印細胞像：泡沫状の細胞質を示す physaliphorous cells (Pap. 染色, $\times 1,000$)

写真 2 脊索腫の捺印細胞像：泡沫状～印環型の大小の空胞を有した physaliphorous cells (Pap. 染色, $\times 1,000$)

写真 3 脊索腫の捺印細胞像：小型で著明な核小体が認められる stellate cells (Pap. 染色, $\times 1,000$)

写真 4 脊索腫の捺印細胞像：physaliphorous cells と stellate cells の移行像を示す intermediate cells (Pap. 染色, $\times 1,000$)

写真 5 捺印細胞における EMA 陽性像 (免疫染色, ABC 法, $\times 1,000$)

写真 6 捺印細胞における CEA 陽性像 (免疫染色, 間接法, $\times 1,000$)

写真 7 捺印細胞における NSE 陽性像 (免疫染色, 間接法, $\times 1,000$)

写真 8 捺印細胞における vimentin 陽性像 (免疫染色, ABC 法, $\times 1,000$)

写真 9 脊索腫の組織像 : stellate cells が密に増殖している. 症例 1 (H-E 染色, $\times 200$)

写真 10 脊索腫の組織像 : 大小の空胞を有した physaliphorous cells の増殖. 症例 2 (H-E 染色, $\times 200$)

写真 11 脊索腫の電顕像 : 胞体内に (左) microvilli, (右) desmosome, microfilament, 粗面小胞体を認める (左 : $\times 4,400$, 右 : $\times 8,800$)