原 著

肝細胞癌の細胞形態学的検討

大分医科大学付属病院検査部病理¹⁾, 長崎大学医学部第1病理²⁾, 同 付属病院検査部病理³⁾林田 蓉子¹⁾ 横山 繁生¹⁾ 松尾 武²⁾ 穴見 正信³⁾

肝細胞癌を細胞異型度により grade I~IV に分類し, 各 grade の細胞学的特徴について検討した. Grade I の細胞は異型性に乏しく単調な細胞像を呈するが, 良性異型細胞と比較すると結合性が強く, 索状ないしはシート状の大型集団で出現していた. 細胞は大型多角形で, 好酸性顆粒状の豊富な細胞質を有し, 核は円形で軽度増大し, 核小体も腫大していた. ときに胆汁色素や脂肪滴などがみられ, 核内細胞質封入体が目立つ症例があった. Grade II では腫瘍細胞の出現はさらに多くなり, 好酸性顆粒状の細胞質, 核・核小体の腫大, クロマチンの増加, N/C 比の増大が著しく, ときに球状硝子体もみられ, 典型的な肝細胞癌の像を呈した. Grade III では細胞の結合性は比較的疎となり, N/C 比の増大や多核巨細胞の出現など異型性・多形性は最も著明であるが, 肝細胞としての特徴は減少していた. Grade IV の細胞は結合性のある細胞集団として出現し, 細胞質に乏しい N/C 比の高い小型細胞で, 肝細胞の特徴は全く消失していた. 以上のような各 grade の細胞像の特徴に加え, 肝細胞癌にときに出現する特殊型細胞についても検討した.

Key words : Liver—Cytology—Hepatocellular carcinoma

I. はじめに

肝臓の細胞診は細胞採取が困難なために一部の施設で行われているに過ぎなかったが, 画像診断法の進歩に伴って細胞採取法も改良され, 近年の肝細胞癌 (以下 HCC) の増加とも相まって, 肝穿刺細胞診が次第に普及してきた.

われわれは, 1970 年頃から肝細胞診に取り組み, 原発性肝癌の細胞像⁶⁾や肝硬変に出現する異型細胞と

HCC との鑑別³⁾, 異型性に乏しい HCC の細胞像⁴⁾, HCC の細胞所見と α -フェトプロテインとの関係⁷⁾などについてすでに学会などで報告してきた. 本論文では, さらに症例を追加して, 細胞像を詳細に検討し, HCC の細胞異型度分類とそれに対する細胞学的特徴について検討を加え, 若干の知見を得たので報告する.

II. 対象と方法

1970 年から 1988 年までの約 18 年間に行われた肝細胞診は 267 症例で, 組織学的確診が得られた悪性腫瘍は 134 例であった. 悪性腫瘍 134 例は HCC 62 例・胆管細胞癌 13 例・肝芽腫 2 例・転移浸潤性腫瘍 57 例で, 今回は HCC 62 例を対象とした. 62 例の HCC を細胞採取法別にみると, 穿刺吸引細胞診が 29 例, 生検および摘出標本の捺印細胞診 28 例, 剖検材料からの穿刺ないしは捺印細胞診 5 例で, いずれも重複例はない. なお, 摘出標本は腫瘍部から小切片を採取し, 捺印標本と同部の組織標本を作製した. 染色は通常パ

Cytological study of hepatocellular carcinoma

Yohko HAYASHIDA¹⁾, C.T., I.A.C., Shigeo YOKOYAMA¹⁾, M.D., Takeshi MATSUO²⁾, M.D., Masanobu ANAMI³⁾, C.T., I.A.C.¹⁾Division of Pathology, Central Laboratory, Oita Medical College Hospital²⁾First Department of Pathology, Nagasaki University School of Medicine³⁾Central Laboratory, Nagasaki University Hospital

論文別刷請求先 ☎ 879-56 大分県大分郡狭間町医大ケ丘 1 の 1506 大分医科大学付属病院検査部病理 林田 蓉子

平成元年 8 月 1 日受付

平成 2 年 1 月 26 日受理

表 1 Edmondson & Steiner に準拠した細胞異型度分類
(原発性肝癌取り扱い規約より)

分化度	分化型		未分化型	
腫瘍細胞の性状/Grading	I 型	II 型	III 型	IV 型
細胞形質の好酸性顆粒性	明瞭	→	不明瞭	
細胞形質の好酸性顆粒の量	豊富	→	少・貧	
核の大きさの異常と過染性の程度	軽度	→	著明	
核/細胞形質	小	→	大	
細胞の接着性	卅	卅	+	(±)~ -
胆汁産生機能	+	+	+~-	(±)~ -
腫瘍細胞の配列	索状	索状 偽腺管状	充実型	髓様
巨細胞の出現	-	+	卅	(±)~ -

註) -, ±, +, 卅, 卅 はいずれも程度を示す

矢印はそれぞれの方向への性状の変化を示す

パニコロー (以下 Pap) およびギムザ, PAS 染色を行い, 必要に応じて粘液, 脂肪, 鉄, 胆汁色素に対する特殊染色を行った。

組織分類は本邦の原発性肝癌取り扱い規約⁹⁾に従って, 索状型・偽腺管型・充実型・硬化型に分類し(複数の型が混在する場合は優勢像を採用), 組織学的細胞異型度分類も同規約に記載されている Edmondson & Steiner に準拠した分類(表 1)に従い, 細胞の性状・機能・配列などにより grade (以下 Gr) I, II, III, IV に分類した。細胞診における細胞異型度分類は, 表 1 の性状項目のうち細胞診で認識できる“細胞形質の好酸性顆粒性”, “細胞形質の好酸性顆粒の量”, “核の大きさの異常と過染性の程度”, “核/細胞形質”, “巨細胞の出現”に着目し, かつ組織学的細胞異型度分類に一致させるべく, 以下のように定義した。

Gr I: 好酸性顆粒状の豊富な細胞質を有し, N/C 比は正常肝細胞と大差ない, Gr II: 好酸性顆粒状細胞質を有すが, 核・N/C 比は増大し, クロマチンに富む, Gr III: 好酸性顆粒状の細胞質は目立たなくなり, 核および N/C 比の増大とクロマチンの増加が著しく, 多核巨細胞が多数出現する, Gr IV: 細胞質に乏しく, その好酸性顆粒性は全く消失し, N/C 比の増加が著明, Gr I・II を分化型, Gr III・IV を低分化型(表 1 では未分化型)とする。

本定義に従って, HCC 62 例を細胞学的に Gr 分類し, 各 Gr の細胞計測および細胞学的特徴について検討を行った。なお, 複数の Gr が同一標本内に存在する場合(複数型)は, 最も単一の Gr を示す部分を検討の対象とした。また, 本定義に該当しない特殊な性状を有す淡明細胞や多形性細胞・紡錘形細胞は特殊型

として検討を加えた。細胞計測および統計処理は, カールツァイス IBAS II を用いて, 細胞・核・核小体の面積・長径・短径および N/C 比を測定したが, 各 Gr のものを 5 症例以上選び, 1 Gr につき 200 個以上の細胞を計測した。症例の選択はできるだけ単一 Gr からなるもの(単一型)を選んだが, 症例が少ない Gr に関しては前述のように複数型症例の標本中で最も単一型に近い部分を対象とした。ただし, Gr IV は 2 例しか計測していない。多核細胞は核径や N/C 比の計測が困難であり, また特殊型細胞は症例数が少ないため計測上除外した。

III. 成 績

HCC 62 例の細胞診断は 60 例が陽性, 2 例が疑陽性で, 疑陽性例 2 例は組織学的には Gr I の分化型 HCC であった。また細胞学的に多数の異型細胞が出現しているが HCC 由来と同定できず, 分類不能癌とされたものが 2 例あった。疑陽性例および分類不能癌を細胞形態から, それぞれ Gr I および III とすると, 細胞学的に 62 例は表 2 のように Gr 分類された。単一型は 36 例で, 多くは穿刺吸引標本であった。一方, 複数の Gr または特殊型細胞が混在し, 多彩な細胞像を呈する複数型が 26 例あった。Gr 別にみると, Gr I—12 例(単一型 2 例), Gr II—59 例(単一型 34 例), Gr III—9 例(単一型なし), Gr IV—2 例(単一型なし)であった。特殊型細胞が単独で出現した例はなかったが, 淡明細胞が 9 例, 多形性細胞が 2 例, 紡錘形細胞が 1 例にみられた。組織像と細胞診所見を対比した場合, 捺印標本では両者は比較的良好一致したが,

表2 細胞診断上のGrade分類と症例数

細胞学的Grade分類	症例数
G-I	2
G-II	34
G-I + II	8
G-II + III	7
G-II + III + IV	1
G-II + 淡明細胞	7
G-I + 多形性細胞	1
G-II + 多形性細胞 + 淡明細胞	1
G-I + II + III + IV + 淡明細胞 + 紡錘形細胞	1
合計	62

穿刺吸引標本では複数型HCCの場合その一部からしか標本採取がなされないため、不一致例もまれならずみられた。

以下、各Grおよび特殊型細胞の細胞学的特徴・出現態度について述べるが、正常肝細胞と各Grの腫瘍細胞の計測値を表3に、細胞像の特徴を表4にまとめた。

1. HCC-Gr Iの細胞像

Gr I細胞は表3に示すように平均面積 $340.3\mu^2$ 、平均長径 26.9μ 、平均短径 19.9μ の大型多角形細胞で、結合性が強くシート状ないしは索状の平面的な大型集団としてみられた。細胞質は豊富で好酸性顆粒状を呈してライトグリーンやエオジンに濃染し、グリコーゲンやときに胆汁色素・空胞状脂肪滴が認められた。

表3 原発性肝細胞癌の細胞計測 (平均値±標準偏差)

細胞所見/分類	正常肝細胞	肝細胞癌			
		G-I	G-II	G-III	G-IV
細胞 面積 μ^2	285.6±47.5	340.3±139.6	262.8±85.1	283.4±141.4	96.6±39.7
最大	395.7	964.1	512.8	1236.1	179.7
最小	202.4	200.7	99.8	77.7	34.1
長径 μ	22.2±2.2	26.9±5.8	21.6±3.5	23.1±5.7	14.6±4.1
最大	26.1	47.6	31.0	48.3	26.4
最小	18.5	20.7	14.2	11.2	10.4
短径 μ	17.4±1.7	19.9±3.9	16.1±2.9	16.1±4.1	9.2±2.0
最大	21.6	35.8	24.5	33.7	13.9
最小	15.1	15.7	8.1	7.9	5.7
核 面積 μ^2	37.2±4.8	65.0±23.6	59.8±14.1	109.1±59.8	41.2±13.3
最大	47.1	130.0	100.0	530.5	83.3
最小	29.4	40.7	27.2	22.3	12.1
長径 μ	7.3±0.5	9.9±1.7	9.7±1.2	13.5±3.2	8.7±1.5
最大	9.1	15.8	14.6	27.4	15.6
最小	6.5	6.4	6.7	6.3	4.5
短径 μ	6.6±0.4	8.3±1.4	8.1±1.0	10.1±2.8	6.2±1.2
最大	7.2	13.3	10.6	24.8	9.0
最小	5.8	5.4	5.0	4.6	3.2
核小体面積 μ^2	2.8±0.6	6.9±3.3	6.0±1.6	6.0±2.7	(2.8)
最大	3.3	16.6	12.7	16.6	
最小	1.1	2.1	3.5	2.4	
長径 μ	1.9±0.4	3.4±0.7	3.2±0.4	3.3±0.7	(2.5)
最大	2.5	6.1	4.5	5.9	
最小	1.3	1.8	2.3	1.9	
短径 μ	1.4±0.2	2.6±0.6	2.5±0.3	2.4±0.5	(1.5)
最大	2.0	4.4	3.9	4.2	
最小	1.0	1.4	1.7	1.1	
N/C比(%)	13.3±2.4	20.3±5.7	24.5±7.0	39.1±10.9	44.7±18.9
最大	19.2	40.7	55.2	82.6	75.0
最小	9.2	10.9	13.5	18.7	25.2

表 4 原発性肝細胞癌の特徴

細胞所見/分類	正常肝細胞	肝細胞癌			
		G-I	G-II	G-III	G-IV
細胞結合	(+)	(+)	(+)	(±)	(+)
細胞質, 好酸性顆粒状	(+)	(+)	(+)	(±)	(-)
空胞形成	(+)	(±)	(+)	(+)	(±)
球状硝子体	(-)	(-)	(+)	(±)	(-)
マロリー小体	(-)	(-)	(±)	(+)	(-)
胆汁産生	(+)	(+)	(+)	(±)	(-)
核, クロマチンの増加性状	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	細顆粒状 顆粒状	細顆粒・ 顆粒・網状	細～粗 顆粒・網状	微細～粗 顆粒状	細～粗顆粒 網状
核小体出現率	約 20%	約 40%	約 80%	約 60%	約 20%
核小体数(大きさ)	1 個(小)	1 個(大)	1 個(大)	1～数個(大)	不明瞭(小)
核縁肥厚	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
核内細胞質封入体	(±)	(+)	(+)	(+)	(+)
核分裂像	(-)	(-)	(±)	(+)	(±)
多核巨細胞	(-)	(-)	(±)	(+)	(-)
背景, 裸核細胞	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
壊死細胞	(-)	(±)	(+)	(+)	(±)

註: -, ±, +, #, ## はいずれも程度を示す

細胞境界は明瞭であるが、まれに融解状の細胞質もみられた。ヘモジデリン・リポフスチン・球状硝子体・マロリー小体は認め得なかった。核は円形・中心性で、平均面積 $65.0 \mu^2$ 、平均長径 9.9μ 、平均短径 8.3μ と軽度増大し、まれに核縁の肥厚や核形の不整がみられたが、大小不同も少なくほぼ均一であった。クロマチンは増加し、微細なユークロマチン像を呈する細胞も混在していたが、粗凝集や不均等分布が認められた。核分裂像はなく、正常細胞に比べて 2 核細胞は非常にまれであった。また核内細胞質封入体が多数みられる症例があった。核小体は計測した細胞の約 40% に単個認められ、あまり著明ではないが、平均面積 $6.9 \mu^2$ 、平均長径 3.4μ 、平均短径 2.6μ と腫大していた。N/C 比は 20.3% と 4 Gr 中最も小さかった。背景には裸核細胞・胆管細胞はみられず、壊死細胞もきわめてまれであった。全般的に Gr I では、異型性・多形性に乏しい単調な細胞像を呈し、一見正常肝細胞に類似しているが、正常肝細胞に比べると、細胞成分が豊富で結合性の強い大型集団として出現し、2 核細胞がはるかに少なく、軽度であるがクロマチンの増加や粗凝集・不均等分布がみられた (写真 1 a)。また実測値でも細胞・核・核小体の大きさや N/C 比はすべて正常細胞を上回っていた。特殊な Gr I・HCC として 1 例に、核偏在性で細胞質に好酸性顆粒が充満した膨大細胞腫様の細胞がみられた (写真 1 b)。自験

例 Gr I は組織学的にはすべて複数型であったが、穿刺細胞診標本内には単一型として出現したものが 2 例あり、ともに異型性に乏しく、結合性も比較的疎で、肝硬変症の細胞とはっきり鑑別できず、疑陽性と診断された (写真 1 c)。他の症例は複数型で細胞診断自体は比較的容易であった。

2. HCC-Gr II の細胞像

Gr II 細胞には Gr I 細胞程度的大型細胞からなるものと、比較的小型細胞からなるものがあり、平均値でみると細胞面積 $262.8 \mu^2$ 、長径 21.6μ 、短径 16.1μ と Gr I 細胞に比べると小型で、類円形を呈していた。細胞成分は Gr I よりさらに豊富で、単調な細胞像を呈してはいるが N/C 比は 24.5% と高く、核増大やクロマチンの増加が著しい。細胞の結合性は強く、シート状ないしは索状の大型集団で出現し、まれに重積性や腺管様またはロゼット様配列がみられたが、孤立散在性の細胞も混在していた。細胞質の多くは好酸性顆粒状であるが、Gr I の細胞に比べて淡染し、大小の空胞形成や融解状の細胞が多くなり、グリコーゲンや脂肪滴、ときに胆汁色素や好酸性に染まる球状硝子体 (globular hyaline body) が認められた (写真 2 a, b)。核は円形で中心性または偏在し、平均面積 $59.8 \mu^2$ 、平均長径 9.7μ 、平均短径 8.1μ と Gr I 細胞の核よりも平均値でやや小型で大小不同や多様性には乏しいが、核縁の肥厚や不整、クロマチン

写真1 肝細胞癌 Gr I の細胞および組織像

- 1a: 核増大やクロマチンの増加は軽度で、異型性に乏しい単調な細胞像、強い細胞結合と核内細胞質封入体（矢印）が目立つ（Pap. 染色, $\times 1,000$ ）
 1b: 好酸性顆粒が充満した豊富な細胞質と大型核小体を有す膨大細胞様の Gr I 細胞（Pap. 染色, $\times 1,000$ ）
 1c: 細胞・核の大小不同があり、細胞結合は疎で2核細胞も混在し、肝硬変症由来の異型細胞に類似しているが、クロマチンの不均等分布は Gr I 細胞と同様である（Pap. 染色, $\times 1,000$ ）
 1d: 好酸性顆粒状の豊富な細胞質を有す異型性に乏しい Cr I の組織像（H-E 染色, $\times 200$ ）

の増加や不均等分布が著しく、高度異型性を示した。エオジン好性の単個の腫大した核小体は特徴的で、計測した細胞の約80%に認められた。核内細胞質封入体の増加も目立ち、壊死細胞や裸核細胞は混在していたが、多核巨細胞や核分裂像はきわめてまれで、細胞集団内および辺縁にはしばしば小型紡錘形の血管内皮細胞が認められた（写真2c）。以上のように Gr II 細胞は、肝細胞由来の悪性腫瘍であることが認識できる典型的な細胞像を呈し、判定は比較的容易であったが、しばしば他 Gr の細胞や特殊型細胞が混在したり、ときに肝硬変由来の良性異型細胞が混在する症例があった。

3. HCC-Gr III の細胞像

Gr III 細胞は平均面積 $283.4 \mu^2$ 、平均長径 23.1μ 、平均短径 16.1μ と Gr II 細胞よりやや大きい程度であるが（多核巨細胞を計測から除外してあるため）、最大値と最小値の差が著明で多様性が目立った。細胞の結合性は Gr I・II に比べて疎で、小集団ないしは孤立散在性に出現していた。Gr III 細胞は肝細胞としての特徴は減少しているが、異型性・多形性が最も高度

で、多数の多核巨細胞の混在が特徴的であった（写真3a）。細胞質の好酸性顆粒は不明瞭となり、空胞状や融解状を呈すものが多かった。胆汁産生はほとんどみられず、グリコーゲンも減少していたが、1例にマロリー小体が認められた。核は中心性あるいは偏在し、平均面積 $109.1 \mu^2$ 、平均長径 13.5μ 、平均短径 10.1μ と4 Gr 中最大で、しかも大小不同・核形不整・核縁の不均等肥厚が目立った。クロマチンは著増し、微細ないしは粗顆粒状・網状など種々のパターンを取り、不均等分布が著しかった（写真3b）。ユークロマチンに富む比較的明るい核を有する細胞もみられ、このような細胞では核縁の肥厚も少なく、大型核小体が目立った。核小体は計測した細胞の約60%にみられ、単個の巨大核小体を認めるものや、不整形の核小体が数個存在するものがあつた（写真3c）。また、核内細胞質封入体や核内変性空胞も多数認められた。N/C比は39.1%と Gr II 細胞よりさらに増大していた。核分裂像は4 Gr 中で最も多く、裸核細胞や変性・壊死細胞も多数認められ、著明な腫瘍性背景を示していた。自験例の Gr III 細胞は他 Gr の細胞や特殊型細胞

写真 2 肝細胞癌 Gr II の細胞および組織像

- 2 a : 核・核小体の腫大や N/C 比の増加が著明な Cr II 細胞, 胆汁産生 (矢印) も認められる (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 2 b : 顆粒状・小空胞状の豊富な細胞質を有す Gr II 細胞, ライトグリーンに染色された球状硝子体 (矢印) が認められる (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 2 c : 比較的小型細胞からなる重積性を示す細胞集団で, 辺縁には短紡錘形の血管内皮細胞 (矢印) が認められる (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 2 d : 索状型 Gr II の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

写真 3 肝細胞癌 Gr III の細胞および組織像

- 3 a : N/C 比の増加, クロマチンの増加と粗凝集が著しく, 細胞質は空胞状・融解状を呈して, 多核巨細胞が出現している (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 3 b : 細胞・核の大小不同やクロマチン不均等分布が著しい (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 3 c : 細胞は大型で, 核形の不整や核小体の増加が著明 (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 3 d : 異型性・多形性が著しく, 多数の多核細胞が充実性に増殖した Gr III の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

写真4 肝細胞癌 Gr IV の細胞および組織像

- 4 a : 細胞質に乏しい小型細胞で、核は濃染しているが核小体は不明瞭で肝細胞癌の特徴はみられない (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 4 b : 小型類円形核はクロマチンが増加し、粗顆粒状を呈す。細胞結合は強く、ロゼット様構造が認められる (Pap. 染色, $\times 1,000$)
- 4 c : Gr IV 細胞 (左側) と Gr II 細胞 (右側) が混在してみられる (Pap. 染色, $\times 400$)
- 4 d : N/C 比の高い小型細胞が充実性の増殖を示す Gr IV の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

と混在しており、多彩な細胞像を呈していた。異型が高度なため陽性診断自体は容易であったが、肝細胞としての特徴が減少しているため分化型細胞の混在が少ない場合、転移性未分化癌との鑑別がむずかしかった。

4. HCC-Gr IV の細胞像

Gr IV 細胞は表3に示すように、4 Gr 中最も小型で最も N/C 比の高い細胞であった。小型類円形の核は多様性には乏しいが、核縁の不整やクロマチンの増加が著明であった。クロマチンは細ないしは粗顆粒状で、一部に微細なユークロマチンもみられ、不均等分布を示した。HCC に特徴的な大型核小体はみられず、小型不整形の核小体が計測した細胞の約 20% に認められたが、数も少なく不明瞭であった (写真 4 a)。細胞質は乏しく不鮮明で、ときにグリコーゲンや脂肪は証明されたが、好酸性顆粒や胆汁色素など肝細胞としての特徴は全く認められなかった。細胞成分は豊富で結合性が強く集塊をなし、重積した部分やロゼット様配列もみられた (写真 4 b)。裸核細胞は多数出現していたが、壊死細胞や多核細胞はほとんど認められず、核分裂像もまれであった。自験例 2 例は組織学的

にも細胞学的にも複数型で、Gr II・III 細胞と混在していたので HCC と細胞診断できたが (写真 4 c)、Gr IV 細胞のみ採取された場合には、胆管細胞癌や転移性腺癌などの腺癌細胞との鑑別が必要と考えられた。

5. 特殊型細胞の細胞像

1) 淡明細胞

淡明細胞は結合性の強い細胞集団として出現し、核は偏在して N/C 比は小さいが、著明な核小体や不規則なクロマチンは Gr I ないしは II 細胞と同様の悪性所見を示していた。最も特徴的な所見は細胞質内の大型空胞の存在で、一部の核周辺部には好酸性顆粒も認められた (写真 5 a)。これら空胞の多くはグリコーゲンを含んでいたが、一部に脂肪空胞や無染色性の変性空胞も認められた。淡明細胞は Gr II と混在する症例が多かったが、Gr I や III の中にもみられ、腎の明細胞癌や N/C 比が比較的高いものでは印環細胞癌に類似していた。

2) 多形性細胞

多形性細胞は結合性に乏しく孤立散在性に出現し、裸核細胞も多数存在した。Gr III 細胞と同様に異型性・多形性が高度であるが、細胞・核・核小体はより

写真 5 淡明細胞（肝細胞癌特殊型）の細胞および組織像

5 a : 小型核は中心性または偏在し、豊富な細胞質は空胞状・融解状を呈し、結合性は強い (Pap. 染色, $\times 1,000$)

5 b : 淡明細胞よりなる肝細胞癌の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

写真 6 多形性細胞（肝細胞癌特殊型）の細胞および組織像

6 a : 核・核小体の腫大、クロマチンの増加など異型性・多形性が著しい多核巨細胞。細胞質は顆粒状を呈し、マロリー小体が認められる (Pap. 染色, $\times 1,000$)

6 b : 高度異型性・多形性を示す多核巨細胞内に多数のマロリー小体が目立つ多形性型肝細胞癌の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

写真 7 紡錘形細胞（肝細胞癌特殊型）の細胞および組織像

7 a : 大型紡錘形細胞の核は楕円形・中心性で、クロマチンは不均等分布を示し、核小体は不明瞭。結合性のある小集団で出現している (Pap. 染色, $\times 1,000$)

7 b : 肉腫様の紡錘形細胞よりなる肝細胞癌の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

巨大で、奇怪な細胞もみられ、核分裂像も多い方であった。細胞質は豊富で好酸性顆粒状や小空胞状を呈していたが、ときに細胞の取り込み像もみられ、1例で多数のマロリー小体が認められた (写真 6 a)。核は大小不同が著しく、巨大な多核・分葉核もみられ、微細なユークロマチンが充満して明るい核内構造を呈するものと粗顆粒状を呈するものが混在していた。核小体は正常肝細胞の核より大型のものがあり、両染色で

周囲には明量がみられ、一見ウイルス感染細胞の好酸性核内封入体に類似していた。多形性細胞は 62 例中 2 例にみられ、それぞれ Gr I および II と混在していた。

3) 紡錘形細胞

紡錘形細胞は大型で、結合性を示す小集団で出現していた。細胞質は豊富で小空胞状を呈し、細胞境界は比較的明瞭であった。中心性の楕円形核には大小不同

がみられ、核縁の肥厚も認められたが、核小体は不明瞭であった。クロマチンは顆粒状で粗凝集もみられ、不均等に分布していた(写真7a)。紡錘形細胞はGr I-IVおよび淡明細胞が混在する1例にのみみられたが、HCCとの類似性や移行性はなく、肉腫細胞に類似していた。

IV. 考 按

本邦においては、HCCの病理学的記載は原発性肝癌取り扱い規約⁹⁾に従って行われ、組織学的細胞異型度も同規約のEdmondson & Steinerに準拠した分類(Gr I-IV)で行われている。われわれは、組織学的細胞異型度分類を細胞診で用いるべく、前述のようにGr I~IVを定義したが、HCCでは同一腫瘍内に複数のGrや特殊型細胞が混在していることが多く、ごく一部の細胞しか採取できない細胞診のGr分類と大きな切除標本による組織学的Gr分類とは必ずしも一致しなかった。一般には穿刺吸引細胞診では単一Grの細胞像を呈することが多く、一方捺印標本では比較的多彩な細胞像がみられGr分類がむずかしい症例もあった。細胞診Gr分類別にみて、62症例中に出現した各Grの細胞はGr II-59例、Gr I-12例、Gr III-9例、Gr IV-2例の順で、Gr II細胞はほとんどの症例に出現していた。

各Grの細胞出現態度に関しては、分化型(Gr I・II)細胞では良性肝細胞よりも結合性が強いいため、シート状ないしは索状の平面的大型集団として出現し、まれに重積性や腺管様配列・ロゼット様配列もみられたが、腺癌にみるような異常重積は認められなかった。またGr IV細胞は一般に結合性が弱いと考えられているが^{2,8)}、自験例2例はいずれも強い結合性を示した。一方Gr III細胞や多形性細胞は結合性が弱く、孤立散在性に出現していた。

腫瘍細胞の大きさ・形状や異型性・多形性はGrによって様々で、小型細胞から大型細胞までみられ、形状も多角形・類円形から不整形のものまで種々であった。Gr Iでは大型多角形を示す細胞が多いが、Gr IIIを除けばGrが高くなるに従って細胞は小型類円形を呈した。細胞面積・径の最大値はGr IIIに、最小値はGr IVにあり、Gr IIIでは多形性が著明で、Gr III以外では比較的単調な細胞像を呈しているのが特徴であった。斎藤ら¹¹⁾はGr II細胞がGr I細胞より大型であるとしているが、今回の検討ではGr II細胞はGr I細胞とほ

ぼ同等ないしは、むしろ小型細胞からなる症例が多かった。

HCCの特徴とされている大型多角形細胞、豊富な好酸性顆粒状細胞質、一個の腫大した核小体、胆汁産生、グリコーゲンなどは分化型HCCの細胞所見によく一致していたが、低分化型HCC(Gr III・IV)ではこれらの特徴は減少ないしは全く消失し、細胞質は空胞状・融解状を呈するものが多かった。細胞質の好酸性顆粒はミトコンドリアとされ、ライトグリーンあるいはエオジンに濃染する。胆汁産生は肝癌のなかではHCCに特徴的で、Aliら¹⁾はHCCの48%の症例に、Pedioら¹⁰⁾は23%に認めたとしているが、自験例では62例中17例(26%)のごく一部に認められるに過ぎなかった。胆汁色素は細胞質内では小顆粒状に、細胞外では小球状物として認められ、Pap染色で黄緑色に、ギムザ染色では藍黒色に染色される。細胞質内の顆粒状のものはPap染色では不明瞭で、ギムザ染色が有効であった。一方、良性肝細胞にしばしばみられるヘモジデリンやリポフスチンは、HCCには全く認められなかった。

細胞質内の空胞形成に関して、Taoら¹²⁾は分化型HCCでは認めないとし、Aliら¹⁾はHCCの23%の症例に小型空胞を、46%に大型空胞を認めたとしている。自験例ではGrに関係なく全症例に大小空胞が認められ、分化型では比較的少ないが、低分化型や淡明細胞では著明であった。これらの空胞の多くは脂肪滴・グリコーゲンないしは無染色性の変性空胞であった。また、融解状の細胞質はGr II・IIIの中にしばしばみられ、良性肝疾患にはほとんどみられないことからHCCに特徴的と考えられた。

核は正常肝細胞のものに比べると明らかに増大し、N/C比の増加も認められた。分化型では核形の不整や大小不同は少なく、類円形であるが、低分化型では核形の不整や多様性がみられ、N/C比の増加も著しかった。核縁の肥厚に関する記載は少ないが、Edmondson²⁾や松尾ら⁶⁾が肝細胞癌の特徴として上げている。核縁の肥厚は細胞変性に伴ってみられることが多く、自験例では全例に核縁の肥厚を示す細胞が混在していた。クロマチンは微細・細ないしは粗顆粒状で、ユークロマチンも混在し、増加と不均等分布が目立った。多核細胞はGr IIIや多形性細胞に特徴的で、Gr I・IIではごくまれに2核細胞がみられる程度で、Gr IVでは全く認められなかった。核分裂像は分化型HCCにはほとんどみられず、低分化型ではときに認

められたが、他の一般癌腫に比べてきわめて少ない。

核小体は単個で大型のものが多くことが特徴であるが、Gr III細胞では不整形のものが数個認められたり、Gr IやII細胞の中にはあまり目立たない症例もあった。またGr IV細胞や紡錘形細胞では不明瞭であった。

HCCではしばしば核内細胞質封入体や核内空胞が認められるが、核内細胞質封入体が細胞質と同様の染色性を示し、辺縁が明瞭であるのに対して、変性空胞は無染色の明るい空胞で低分化型・多形性細胞、特に剖検例や肝動脈塞栓術が行われた症例の変性細胞の核内にみられた。Aliら¹¹⁾はHCCの71%の症例に核内細胞質封入体を認めたとしているが、自験例では数に多少の差はあったが全例に認められ、また肝硬変症などの良性肝疾患にも出現するが、多数の核内細胞質封入体の存在は甲状腺腫瘍と同様に肝疾患においても悪性を示唆する所見の一つと考えられた。

HCCにときにみられる細胞質内封入体である球状硝子体やマロリー小体は、細胞骨格構成蛋白の代謝異常による産物であると考えられており⁵⁾、Taoら¹²⁾はまれに球状硝子体を低分化HCCに認めたとしているが、自験例では6例のGr II細胞に認められ、周囲には明量を有し、Pap染色ではライトグリーンまたはエオジンに染色され、PAS染色では陽性ないしは陰性であった。症例数が少ない時期の報告では球状硝子体の存在はHB陽性例と一致すると述べたが³⁾、6例中HB陽性例は2例で相関を示すとはいえなかった。一方、不整形のマロリー小体はアルコール硝子体とも呼ばれ、従来アルコール性肝疾患に出現するといわれていたが、アルコール性肝疾患以外にも認められ、現在はアルコール性肝疾患に特異的なものではないと考えられている⁹⁾。HCCでは球状硝子体より高率に出現し⁵⁾、肝腫瘍ではHCCに特徴的で他腫瘍にはみられないとされている⁸⁾。自験例ではGr IIIの1例と多形性細胞の1例に認められ、両染色でPAS染色は陰性であった。

HCCの背景に出現する裸核細胞は他の癌腫に比べて多く、Pedioら¹⁰⁾は90%の症例に認めたとしている。自験例ではGr Iにはほとんど認められなかったが、他Grでは腫瘍細胞と同様の核所見を示す裸核細胞が多数混在していた。一般に背景の炎症性細胞は少なく、正常肝細胞や胆管上皮はほとんど認められないが、HCCはしばしば肝硬変症を合併しているため、肝硬変症由来の良性異型細胞が混在する症例があっ

た。Gr Iでは背景は比較的きれいであったが、Gr IIIや肝動脈塞栓術が行われた症例では多数の壊死細胞が出現し、著明な腫瘍性背景を呈していた。

以上よりHCCの細胞形態的特徴としては、大型核小体を有す好酸性顆粒状の大型細胞、胆汁産生に加え球状硝子体・マロリー小体や核内細胞質封入体の存在、融解状の細胞質を有す細胞や裸核細胞の混在などが上げられる。さらに肝硬変症などに出現する良性異型細胞と分化型HCCとの鑑別としては、HCCでは2核細胞に乏しく、より単調でかつ結合性の強い大型集団として出現することが指標となる。また低分化型HCCと転移性腫瘍との鑑別は前述のような所見を有す細胞を見い出すことが重要と考えられた。

HCCの異型度分類は、細胞診でも細胞像や細胞の出現態度から分類可能であった。今後、異型度分類と臨床所見や予後との関係が明らかになれば、HCCの細胞診断にも異型度分類が必要になってくると考えられる。

V. 結 語

62例HCCを細胞学的に異型度分類し、その特徴を検討した。また特殊型細胞として、淡明細胞・多形性細胞・紡錘形細胞についても述べたが、特殊型は症例数が少なく、今後さらに検討が必要である。

稿を終えるにあたり、ご指導いただいた山辺 徹先生、赤司光弘先生、寺尾英夫先生、ご協力いただいた長浜純二技師、標本採取にご協力いただいた大分医科大学第1外科学教室の諸先生に深謝いたします。

本論文の要旨は第23回日本臨床細胞学会秋季大会、第28回日本臨床細胞学会総会、第29回日本臨床細胞学会総会において発表した。

Summary

Sixty-two cases of hepatocellular carcinoma examined cytologically (29 fine-needle aspirates, 28 touch preparations of biopsy or resected specimens, and 5 aspirates or touch preparations of autopsy specimens) were subclassified into four grades (G I-IV) using Edmondson's classification modified for cytodiagnosis and according to several specific types (clear cell, pleomorphic and spindle cell types). In this report cytomorphological characteristics of each grade and specific types of HCC were described.

In G-I HCC, tumor cells were more cohesive than in normal hepatocytes, and were present in sheet or trabecular patterns. They were large, polygonal and uniform with abundant granular eosinophilic cytoplasm. Nuclei with slightly enlarged nucleoli were round and centrally located, and the N/C ratio was slightly higher than that of normal hepatocytes. Cytologic specimens of G-II HCC contained a large number of tumor cells which were present singly or in large clusters. They had most typical features of HCC showing both evidence of hepatocytic origin and of distinct malignancy, that is, granular eosinophilic cytoplasm, enlarged nuclei with prominent nucleoli, and a high N/C ratio. In G-III HCC, evidence of hepatocytic origin was decreased, although malignancy was obvious. Tumor cells were pleomorphic, less cohesive and present singly or in small clusters. The most characteristic feature of this grade was the presence of mono or multinucleated giant cells with abundant cytoplasm and large irregularly shaped hyperchromatic nuclei containing a few prominent nucleoli. In G-IV HCC, evidence of hepatocytic origin was completely absent and tumor cells were cohesive, relatively small and uniform in size and shape. They had scanty cytoplasm and round hyperchromatic nuclei with indistinct nucleoli. The N/C ratio was the highest of the four grades.

Clear cells of specific type contained glycogen and/or lipid, and showed the same nuclear appearance as that of G-I or G-II HCC. They resembled tumor cells of renal cell carcinoma in appearance. In the pleomorphic type, although bizarre giant cells were observed, they were much more numerous and larger than those of G-III HCC. Tumor cells of the spindle cell type were large, and present in small clusters. They had vesicular cytoplasm with distinct cell borders and nuclei with indistinct nucleoli, resembling sarcomatous cells.

文 献

- 1) Ali, M.A., et al.: Morphologic spectrum of hepatocellular carcinoma in fine-needle aspiration biopsies, *Acta Cytol.*, 30: 294~302, 1986.
- 2) Edmondson, H.A.: Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts. *Atlas of Tumor Pathology, A.F.I.P.*, VII-25: 63~64, 1958.
- 3) 林田蓉子・他: 臓器別に見た細胞形態的類似所見とその由来について. 一消化器・肝胆臓を中心に, *日臨細胞誌*, 23: 721, 1984.
- 4) 林田蓉子・他: 異型性に乏しい肝細胞癌の細胞像の検討, *日臨細胞誌*, 26: 306, 1987.
- 5) 飯島宗一・他: 各腫瘍に見られる硝子滴-肝細胞癌-, *現代病理学体系 2 (B)*, pp. 103~106, 中山書店, 東京, 1988.
- 6) 松尾 武・他: 原発性肝癌の細胞診, *日臨細胞誌*, 20: 56~63, 1981.
- 7) 松尾 武・他: 肝細胞癌の細胞所見と α -フェトプロテイン-酵素抗体法の応用一, *日臨細胞誌*, 25: 464~470, 1986.
- 8) 日本肝癌研究会編: 原発性肝癌取り扱い規約 (第2版), 金原出版, 1987.
- 9) Norkin, S.A., et al.: Cytoplasmic hyaline inclusions in hepatoma, *Arch Path.*, 86: 25~32, 1968.
- 10) Pedio, G., et al.: Fine-needle aspiration of the liver. Significance of hepatocytic naked nuclei in the diagnosis of hepatocellular carcinoma, *Acta Cytol.*, 32: 437~442, 1988.
- 11) 斉藤美津子・他: 超音波エコー下の吸引細胞診による肝限局性疾患の診断. 78例の成績と細胞像の検討, *日臨細胞誌*, 25: 454~463, 1986.
- 12) Tao, L.C., et al.: Cytologic diagnosis of hepatocellular carcinoma by fine-needle aspiration biopsy, *Cancer*, 53: 547~552, 1984.