症 例

腔原発悪性黒色腫 4 例の細胞像

札幌医科大学産婦人科学教室

竹原 正輝 伊東 英樹 早川 修 水内 英充
佐藤賢一郎 宿田 孝弘 工藤 隆一 橋本 正淑

われわれは当教室で経験した 4 例の腔原発悪性黒色腫（以下、悪性黒色腫）に関して、細胞診、組織診の観察を施行し検討した。細胞診は Papanicolaou 染色後、200 倍、400 倍にて観察し、その特徴に関して検討した。また、最近経験した症例に関しては、組織の特殊染色の他に剝離細胞における光顕（LM）—走査電顕（SEM）—透過電顕（TEM）同一資料連続観察を施行した。観察結果は以下のとおりである。

- 1) 核内空胞は見当たらなかった。また細胞相互封入、組織球細胞質内のメラニン顆粒の存在は 1 例のみであった。
- 2) 細胞配列は大部分、散在性であったが、一部グループ形成を認めたがその結合性は疎であった。
- 3) 核縁は切れ込みを持ち、いわゆる馬蹄型を呈することが多かった。
- 4) 細胞計測の結果、平均細胞長径は 16.5μ 、平均短径は 12.8μ であり、小型で卵円形から紡錘形の細胞であった。
- 5) 剝離細胞における LM-SEM-TEM 同一資料連続観察にて、メラノソームが確認され、その直径は $0.2\sim 0.3\mu$ であった。

以上の結果より、われわれはメラニン顆粒の存在しない症例に対しては細胞診上、小型で卵円形から紡錘形を示す細胞で、その細胞配列が肉腫と上皮系悪性腫瘍の中間に位置するような場合、諸家が提示した特徴を参考にし、その存在を疑うべきと考える。さらに今回、われわれが施行した剝離細胞における LM-SEM-TEM 同一資料連続観察は生検を必要とせず、メラノソームの確認ができ、非常に有効な診断法と考える。

Key words : Vagina—Electron microscopy—Malignant melanoma—Cytology—Histology

Cytologic findings of primary malignant melanoma of the vagina

Masaki TAKAHARA, M.D., Eiki ITO, M.D., Osamu HAYAKAWA, M.D., Hidemitsu MIZUUCHI, M.D., Kenichiro SATO, M.D., Takahiro SHUKUTA, M.D., Ryuichi KUDO, M.D., Masayoshi HASHIMOTO, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical college

論文別刷請求先 ☎ 060 札幌市中央区南 1 条西 16 丁目 札幌医科大学産婦人科 竹原正輝

平成 2 年 3 月 17 日受付

平成 2 年 8 月 24 日受理

I. 緒 言

皮膚科領域における悪性黒色腫は、近年、増加傾向にあるが、婦人科領域、特に腔に生ずる悪性黒色腫は、文献上の報告は増加したが頻度としてはまだまれな疾患の一つである。腔原発悪性黒色腫（以下、悪性黒色腫）の予後は非常に悪く、その原因として、初診時すでに病気の進行している点があげられる。今回、われ

われは当教室の水内ら³⁾が報告した2症例に加え、さらに、2症例の悪性黒色腫を経験した。最近経験した症例に関して特殊染色、さらに剥離細胞における光顕(LM)―走査電顕(SEM)―透過電顕(TEM)同一資料連続観察を施行した。

今回、4症例に関する細胞診上の検討をし、その結果と文献上の報告との比較検討を行ったので報告する。

II. 方 法

細胞診は木製スパーテルにより採取し、Papanicolaou染色を施行した。細胞診標本を用いて各症例ごとに腫瘍細胞のスメア上の分布状態をみるために、まず200倍にスメア全体を観察した。次に400倍で細胞径、核径、核小体に関し、細胞数200個にて計測した。摘出腫瘍組織に関してHematoxylin-Eosin(H-E)染色を施行した。この他に症例4に関してはPapanicolaou染色と同時に剥離細胞におけるLM-SEM-TEM同一資料連続観察を施行した。この剥離細胞におけるLM-SEM-TEM同一資料連続観察は当教室伊東ら¹⁾の方法に従って施行した。また、組織標本にてH-E染色の他にメラニン顆粒を同定するためにMasson-Zimmermann染色、およびベルリン青染色を施行した。さらに電顕包埋を行いTEM観察も施行した。

III. 結 果

1. 症例1～3の細胞、組織学的所見

1) 症例1

細胞診所見(写真1)：細胞配列は大部分、散在性であり一部集塊状であった。比較的背景はきれいであった。細胞質はライトグリーンに染色され細胞形は卵円形～紡錘形であった。メラニン色素を含む細胞はきわめて少なかった。N/Cは高く、核は円形～楕円形であり大小不同が著明であった。核は偏在し、核縁の肥厚は認めなかったが辺縁の不整をしばしば認め馬蹄型をとることが多かった。クロマチンは細顆粒状で多くの場合1個の核小体を認めた。核内空胞、組織球、細胞相互封入は認めなかった。

2) 症例2

細胞診所見(写真2)：細胞配列は散在性であり、出血性、炎症性背景をとまっていた。細胞質はライトグリーンに染色され、大部分が卵円形の細胞であった。

メラニン顆粒を含む細胞を多数認めた。メラニン顆粒は大～小顆粒状であった。N/Cは高く、核は楕円形で大小不同を認め、偏在傾向にあった。核縁の肥厚はないが辺縁不整を認めた。クロマチンは顆粒状で核内空胞は認めなかった。核小体は0～1個のことが多かった。組織球、多核細胞、相互封入のいずれをも認めた。

組織診所見(写真3)：写真全面に腫瘍細胞を認め、中央には著明にメラニン顆粒を有する細胞を認めた。

3) 症例3

細胞診所見(写真4)：細胞配列は大部分、散在性であり、出血性背景をとまっていた。細胞質はライトグリーンに染色され、大部分が卵円形の細胞であった。メラニン色素を有する細胞は少なかった。N/Cは高く、核は楕円形で大小不同を認め偏在傾向にあった。核縁の肥厚は認めなかったが、辺縁の不整を認めた。核小体は0～1個であった。核内空胞、組織球、細胞相互封入は認めなかったが多核細胞は認めた。

組織診所見(写真5)：鼠径リンパ節の生検組織標本であるが、写真中央に腫瘍細胞集団を認める。

2. 症例4の細胞、組織および電顕学的所見

細胞診所見(写真6)：細胞配列は大部分、散在性であり、背景はきれいであった。細胞質はライトグリーンに染色され、卵円形～紡錘形であった。N/Cは高く、核は卵円形～楕円形であり、大小不同をとまない偏在傾向であった。核縁は症例1～3と同様に肥厚はなかったが馬蹄形を呈する辺縁不整を多数認めた。クロマチンは顆粒状で核小体は0～1個であった。核内空胞、組織球、相互封入のいずれをも認めなかった。

組織診所見(写真7)：転移巣である子宮頸部の手術摘出標本である。肉眼的にamelanoticであった腫瘍組織のH-E染色標本である。全面に腫瘍細胞を認めるが、メラニン顆粒の存在は認めなかった。Masson-Zimmermann染色にてメラニン顆粒の存在は認められなかった。また、ベルリン青染色は陰性であった。

組織電顕所見(写真8)：転移巣における肉眼的にamelanoticであった腫瘍部位のTEM像である。各段階のメラノソームが観察されるがメラノソームⅣの数は少なかった。また、メラノソームの直径は大多数が約0.2～0.3 μ であった。

剥離細胞におけるLM-SEM-TEM同一資料連続観察(写真9～14)：写真9はPapanicolaou染色による腔スメアである。腫瘍細胞の小集団が認められ周囲に少数の赤血球を認めた。写真10は矢印1のSEM像である。輪状の細胞表面上にほぼ均一な顆粒を多数認め

写真 8 転移巣の TEM 像。各段階のメラノソームが観察されるが、メラノソームⅣは少なかった

写真 9 剥離細胞における LM-SEM-TEM 同一資料連続観察における LM 像 (×640)

た、写真 11 は TEM 像であるが輪状部分に黒染されたメラノソームⅣまたメラノソームⅢが確認され、組織電顕所見と同様にその直径は大多数 $0.2 \sim 0.3 \mu$ でほぼ均一な大きさであった。写真 12 は同部位の TEM 像の拡大である。写真 13 は矢印 2 の SEM 高倍像であるが腫瘍細胞が接しているがその結合は疎であった。腫

写真 10 写真 9 の矢印 1 の SEM 像。輪状の細胞表面にほぼ均一な顆粒を認める

写真 11 写真 9 の矢印 1 の TEM 像である。ほぼ均一な顆粒はメラノソームであった

写真12 写真11の拡大像である

写真13 写真9の矢印2のSEM高倍像である。写真10でみられた顆粒は少数しか認められなかった

写真14 写真9の矢印2のTEMである。メラノソームが確認された。矢印3はメラノソームが集団をなしており、autophagosomeと思われた

瘍表面には写真10で認められたような顆粒は少数しか認められなかった。写真14は同部位辺縁部のTEM像であるが淡黒色～黒色のメラノソームⅢ～Ⅳが認められた。また、矢印3はメラノソームが集団となって腫瘍細胞質内に存在しており autophagosome と思われた。

3. 4症例の臨床、細胞診上のまとめ

表1は4症例の年齢、妊娠、月経歴、主症状、腫瘍細胞の観察所見をまとめたものである。

4. 4症例の腫瘍細胞の計測結果

表2は各症例の腫瘍細胞の長径、短径、核の長径および核小体径の計測結果である。

IV. 考 察

山田ら⁸⁾は悪性黒色腫の細胞診上の診断基準を報告しているが、われわれが経験した4症例との相違点は、①核内空胞の存在は見当たらなかった、②菲薄、円滑な核膜は認められたが、むしろ核縁は切れ込みを持

(1)

表 1

(2)

症例	年齢	Para	月経	主訴	集合形態	背景	染色	細胞性	細胞形	メラニン色素含有細胞数	N/C比	症例	形、大きさ	位置	核縁	クロマチン	核内空胞	核小体	組織球	多核細胞	相互封入
1	72	9(9)	51歳	閉経	不正出血	大部分散在性～一部、集塊状(結合性は疎)	出血背景	性腺	light green	やや卵円形～紡錘形(特に細胞質の多いもの)	きわめて少	大	1	円形～楕円形 大小不同(+)	偏在傾向	肥	厚(-) 辺縁不整(+)	細顆粒状(凝集+)	なし	+	なし
2	65	6(6)	65歳	閉経	不正出血	散在性	出血背景	性腺	light green	大部分卵円形	多い	大	2	楕円形 大小不同(+)	偏在傾向	肥	厚(-) 辺縁不整(+)	顆粒状	なし	+	あり
3	56	3(4)	41歳	閉経	不正出血	散在性	出血背景	性腺	light green	大部分卵円形	少ない	大	3	楕円形 大小不同(+)	偏在傾向	肥	厚(-) 辺縁不整(+)	顆粒状	なし	+	なし
4	50	2(2)	不整	不正出血	散在性	散在性	出血背景	性腺	light green	卵円形～紡錘形	少ない	大	4	楕円形 大小不同(+)	偏在傾向	肥	厚(-) 辺縁不整(+)	細顆粒状(凝集+)	なし	±	なし

ち馬蹄型を呈する細胞がしばしば認められた、③ 細胞相互封入は4症例中1例のみにしか確認できなかった。また、増淵ら²⁾も悪性黒色腫の細胞診上の診断基準を報告しているが、彼らとの相違点として、① N/Cはむしろ高かった、② グループ形成はないとしているがわれわれの症例では大部分散在性であるがグループ形成を認めた。しかし、その結合性は疎であった、③ 組織球細胞質内のメラニン顆粒の存在は1例のみであった、④ 核内空胞は認めなかった、の4点であった。核内空胞は Sagebiel⁵⁾ の電顕上の観察により細胞質内の核内への陥入によってできたものとの報告が一般的となっている。Woyke⁶⁾ は核内空胞の存在は認めているが悪性黒色腫に特徴的なものではないとしている。本邦の文献上、核内空胞の存在はしばしば認められ、比較的特徴的な所見とされている。

メラニン顆粒の存在は細胞診断学上、悪性黒色腫の診断をほぼ確定的にするものである。悪性黒色腫の初発症状は、多くが不正性器出血であり、細胞診上、出血性背景をとまうことがある。このためメラニン顆粒の他にヘモジデリン顆粒の存在も考慮すべきであり、その鑑別を必要とすることがある。田中ら⁷⁾ は鉄染色(ペルリン青染色)を施行し一般染色において褐色を呈した顆粒の中にヘモジデリン顆粒が存在したことを指摘している。メラニン顆粒とヘモジデリン顆粒は一般的に Papanicolaou 染色での鑑別は可能であると思われるが、識別困難な症例に関しては鉄染色、メラニン色素に関する特殊染色の施行が必要である。われわれは症例4に関して特殊染色の他に電顕上の観察検討の結果、細胞診上、認められたメラニン顆粒はほぼ均一な大きさのメラノソームであり、直径0.2～0.3 μ であった。ヘモジデリン顆粒の大きさは電顕的には不定であり、ほぼ均一な値をとるメラニン顆粒とは明らかに異なっている。

今回われわれの経験した4症例は Papanicolaou 染色でメラニン顆粒の存在により悪性黒色腫を疑うことができた。しかし、症例によっては非常にメラニン顆粒が少なく、その存在を見落とす可能性があった。山田ら⁸⁾ は肉眼的に着色した部位よりの擦過スミアにおいてもメラニン顆粒を含んだ異型細胞の存在が少ない場合があることを指摘している。今回われわれの症例の検討結果より amelanotic melanoma のようにメラニン顆粒の存在をまったく認めない症例に対して悪性黒色腫を疑う所見としては細胞の大きさとその細胞配列および核型があげられる。細胞診観察上、一見する

表2 腫瘍細胞の各種計測結果

症例	細胞				核			最大核小体径 (μm)
	最大径 (μm)	最小径 (μm)	長径 平均(μm)	短径 平均(μm)	最大径 (μm)	最小径 (μm)	長径 平均(μm)	
1	37.5	7.5	20.9	13.5	20.0	7.5	11.7	2.5
2	37.5	5.0	13.0	10.3	15.0	5.0	8.7	2.5
3	25.0	5.0	16.4	14.4	17.5	7.5	10.4	2.5
4	32.0	5.0	15.6	13.1	20.0	7.5	11.3	2.5
平均	30.6	5.6	16.5	12.8	18.1	6.9	10.5	2.5

と一般的に非常に小型の細胞が目だつ。われわれが4症例に関して各200個の細胞について計測した結果、平均細胞長径16.5 μ 、平均短径12.8 μ であった。また、大部分の細胞は卵円形～紡錘形であり核小体が目だつことが多かった。この場合さらに多核細胞や核の大小不同が著明な腫瘍細胞が混在していると、一見肉腫症例の細胞診所見と類似して観察され、肉腫との鑑別が必要となる。しかしながら肉腫の細胞診上、その細胞配列は大部分、散在性であり、たとえ集塊状になってもせいぜい数カ所であるのが一般的である。悪性黒色腫の細胞配列は多くは散在性であるが、一部集塊状を形成する部分もしばしば認められる。しかし、その結合性は比較的確であり、上皮性腫瘍細胞集団の結合性とも明らかに異なる。したがって悪性黒色腫の細胞配列は肉腫と上皮性腫瘍の中間型にあたると考えられ、肉腫、上皮性腫瘍との鑑別点の一つとして重要であると考えられる。また、われわれが経験した4症例において核縁の不整、とりわけ馬蹄型を呈することが多く、増殖率が核縁の不整をあげていることと同様に診断の補助になるものと思われた。細胞診上、上記所見以外にも諸家が述べている核内空胞、多核細胞、細胞相互封入の存在も診断の補助に有効であろう。

最終的には確定診断として組織の電顕によるメラノソームの存在の確認が必要であるが⁴⁾、このためには生検を必要とする。生検の際には他の特殊染色をも施行し、確定診断がつけば生検による腫瘍の増殖、浸潤を防ぐためにできるだけ早期の手術をすべきである。今回われわれが最後の症例に関して施行した剝離細胞においてのLM-SEM-TEM同一資料連続観察は生検によることなくメラノソームの確認がなされ、きわめてメラニン顆粒の少ない症例に関しては非常に有効な診断法と考える。

Summary

Primary malignant melanoma of the vagina occurred in 4 patients who were under our care. The cytological and histological findings in these lesions are described. Papanicolaou smears were studied at 200 and 400 magnifications. In the latest case, malignant melanoma cells were examined consecutively with a light microscope (LM), a scanning electron microscope (SEM), and a transmission electron microscope (TEM).

- 1) No intranuclear vacuolation was found in any case. Mutual inclusion and intrahistiocyttoplasmic melanin granules were demonstrated in only one case.
- 2) The cell arrangements were generally sporadic with occasional loose clusters.
- 3) The nuclei were horse-shoe shaped cells with irregular margins.
- 4) Cytometry revealed that the oval or spindle-shaped cells were small, 16.5 and 12.8 μ on average in the major and minor diameters, respectively.
- 5) TEM examination of the malignant melanoma cells demonstrated the presence of melanosomes having diameters of 0.2-0.3 μ .

From these findings, it was concluded that in the case of a tumor containing either oval or spindle-shaped cells which are small and arranged in such a way as to be intermediate between sarcoma and epithelial tumors, melanoma should be suspected even if no melanin granules are demonstrated. In addition, the LM-SEM-TEM technique used for exfoliative cytology seems to be a useful diagnostic method which can effectively demonstrate melanosomes in a place of a biopsy.

文 献

- 1) Eiki Ito, Ryuichi Kudo, Masayuki Miyoshi, et al.: Transmission and Scanning Electron Microscopic

- Study of the Same Cytologic Material, *Acta Cytol.*, 32 : 588~592, 1988.
- 2) 増淵一正, 藤井純一, 十蔵寺新・他: 腔原発と思われる悪性黒色腫の細胞学的検索, *日臨細胞誌*, 8 : 66~69, 1969.
 - 3) 水内英光, 渡辺亘, 伊東英樹・他: 腔原発悪性黒色腫の2例, *日臨細胞誌*, 20 : 559~566, 1981.
 - 4) 小野江為則編: 電顕腫瘍病理学, pp.257~267, 南山堂, 1982.
 - 5) Sagebiel, R.W., Gate, E.A. and Hill, L.C. : Cytologic detection of recurrent vaginal melanoma, *Acta Cytol.*, 22 : 353~357, 1978.
 - 6) Stanislaw Woyke, Wenancjusz Domagala, Bogadan Czerniak, et al. : Fine Needle Aspiration Cytology of Malignant Melanoma of Skin, *Acta Cytol.*, 24 : 529~538, 1980.
 - 7) 田中順一, 島田信男, 金田吉正・他: 腔に原発した悪性メラノーマの細胞病理学的考察, *産と婦*, 11 : 98~101, 1981.
 - 8) 山田 喬, 清野良民, 織部博史・他: 悪性黒色腫の剝離細胞診, *日臨細胞誌*, 2 : 94~99, 1963.
-

写真 1 結合性の弱い悪性腫瘍細胞集団を認めた。また一部の細胞に核縁の切れ込みを認めた。
(×680)

写真 5 鼠径リンパ節の中に悪性細胞が観察される。
(×340)

写真 2 メラニン顆粒を有する細胞を認めた。また多核細胞も認められた。
(×680)

写真 6 散在する悪性細胞を認めた。メラニン顆粒は非常に少なかった。
(×680)

写真 3 全面に腫瘍細胞を認め、さらにメラニン顆粒の存在もみられた。
(×340)

写真 7 転移巣であった子宮頸管内の腫瘍の手術摘出標本である。肉眼的、顕微鏡的に amelanotic であった。
(×340)

写真 4 悪性細胞が小集団を形成しており、メラニン顆粒を有する細胞、多核細胞が観察された。
(×680)