症 例

Von Recklinghausen 病の neurofibroma に併発した
malignant schwannoma の細胞学的検討

船橋市立医療センター検査科¹⁾, 同 整形外科²⁾, 日本大学松戸歯学部³⁾,
千葉大学医学部付属病院検査部細胞診⁴⁾

加藤 拓¹⁾ 高橋 久雄¹⁾ 遠藤富士乗²⁾ 松本 敬³⁾
山本 浩嗣³⁾ 武田 敏⁴⁾

46 歳, 男性で Von Recklinghausen 病 (neurofibromatosis) 患者の大腿部に発生した malignant schwannoma の 1 例を経験した。多発する neurofibroma の細胞像は, ① 線維性の細胞質を持ち, クロマチンが淡く紡錘形の核を持つ細胞と, ② その細胞よりわずかに小さくクロマチンが濃く短紡錘形から類円形核を持つ細胞の 2 種類が認められた。Malignant schwannoma の細胞像は束状から枝分れ状の配列や, 所により粘液様物質を背景に集合性にみられる部分から散在性へと移行を示す細胞などがみられた。個々の細胞は多彩な形態を示した。組織標本での免疫組織化学的検索において S-100 蛋白は neurofibroma の ② の細胞に, malignant schwannoma においては粗な配列を示す部分の細胞に多く認められた。S-100 α は malignant schwannoma において陽性細胞が増加し, 逆に S-100 β は減少する傾向にあった。また MBP, NSE は malignant schwannoma において強くみられた。電顕的に malignant schwannoma は多彩な形態を示す Schwann 由来細胞と多数の fibroblast および少数の perineurial 細胞より構成されていた。

これら両腫瘍は Schwann 由来細胞, fibroblast および perineurial 細胞よりなると示唆されたが悪性化した方がいい, これらの細胞形態および性質は大きな変化を示した。

Key words : Von Recklinghausen's disease—Cytology—Neurofibroma—Malignant schwannoma

I. はじめに

A cytological study on the neurofibroma and malignant Schwannoma of Von Recklinghausen's disease

Taku KATO¹⁾, C.T., I.A.C., Hisao TAKAHASHI¹⁾, C.T., Fujio ENDO²⁾, M.D., Takashi MATSUMOTO³⁾, C.T., I.A.C., Hirotsugu YAMAMOTO³⁾, D.D.S., Bin TAKEDA⁴⁾, M.D., F.I.A.C.,

¹⁾Division of Pathology, Clinical Laboratory, ²⁾Department of Orthopedic Surgery, Funabashi Municipal Medical Center

³⁾Nihon University School of Dentistry at Matsudo

⁴⁾Central Laboratory of Cytology, Chiba University Hospital School of Medicine

論文別刷請求先 ☎ 273 船橋市金杉 1 の 21 の 1 船橋市立医療センター検査科 加藤 拓

平成 2 年 8 月 15 日受付

平成 3 年 2 月 22 日受理

Friedrich Daniel Von Recklinghausen が 1882 年に多発性神経線維腫症 (neurofibromatosis) をドイツの雑誌に記載して以来¹⁾, この疾患は Von Recklinghausen 病と呼ばれることが多い。この神経線維腫症は皮膚および神経に多発し, 特有の色素斑 (café au lait spot) を有する常染色体性優性遺伝とされており, またこの疾患の 3~5% の頻度で悪性変化を合併し, その中では神経原性悪性腫瘍が最も多い。

今回われわれは Von Recklinghausen 病に合併した malignant schwannoma の 1 例を経験した。多発する

neurofibroma とそれを基盤として悪性化したと考えられる malignant schwannoma, 両腫瘍の細胞像, 組織像, 免疫組織化学的所見および電顕像について報告する.

II. 症 例

患 者: 46 歳, 男性

主 訴: 右大腿部腫瘍

既往歴: 出生時より全身に粟粒大から大豆大腫瘍があり, その腫瘍は café au lait 斑を示し, von Recklinghausen 病と診断されていた.

現病歴: 昭和 59 年 8 月頃, 右大腿部に小鶏卵大腫瘍として触知していたが, 徐々に増大したため某大学整形外科を受診, 悪性変化と考え当医療センター整形外科を紹介. 昭和 60 年 2 月入院時に腫瘍はフットボール大になっていた. 穿刺吸引細胞診および生検にて malignant schwannoma と診断. 右骨盤半載術と右腕部腫瘍摘出術を施行した.

III. 細胞診所見

右腕部腫瘍捺印細胞像: 背景にはわずかに粘液様物質を認め, 腫瘍細胞は比較的小さく線維性の細胞質を持ちクロマチンが淡く紡錘形の核を有する細胞とその細胞よりわずかに小さくクロマチンが濃く短紡錘形から類円形の核をもつ細胞の 2 種類がみられ, ともに異型は認められなかった(写真 1). またときに腺上皮細胞もみられた. Alcian-blue 染色にて背景に認められた粘液様物質は弱陽性を示し, PAS 染色では陰性であった. このことよりこの物質は酸性粘液多糖類が示唆

写真 1 右腕部腫瘍細胞像 (Pap., ×1000)

クロマチンが淡く紡錘形核の細胞 (矢印) とそれよりやや小さくクロマチンの濃い短紡錘形核の細胞をみる

され, さらにヒアルロニダーゼ処理で消化されヒアルロン酸であることが証明された.

右大腿部腫瘍穿刺吸引細胞像: 腫瘍細胞は束状を形成し, 緩やかに枝分かれ状の配列や交錯を示す所見を認めた(写真 2). また所により粘液様物質を背景に腫瘍細胞は集合性にみられる部分から散在性へと移行がみられた. 集合性にみられる部分の細胞は比較的整った紡錘形細胞からなり, 散在性の部分は核の大小不同が強く, 多核細胞, 巨細胞などの出現が多い傾向にあった(写真 3). 個々の腫瘍細胞は類円形, 紡錘形細胞から多核細胞と多彩で, またクロマチンの粗大顆粒状を示すもの, 核小体の明瞭なものなどを認め, 核分裂像も比較的多かった. PAS 染色では核異型の強い多核細胞, 巨細胞などに特に顆粒状からびまん性に陽性を示し, グリコーゲン顆粒の存在が示唆された. May-Giemsa 染色で背景の粘液様物質は赤紫色を呈しメタクロマジーを示し, Alcian-blue 染色で陽性を示した. この物質は neurofibroma 同様ヒアルロニダーゼで消

写真 2 右大腿部腫瘍細胞像 (Pap., ×400)
腫瘍細胞は束状から枝分かれ状の配列を示す

写真 3 右大腿部腫瘍細胞像 (Pap., ×400)
腫瘍細胞は集合性から散在性へと移行を示す

表1 本症例における neurofibroma と malignant schwannoma の細胞像の比較

	neurofibroma	malignant schwannoma
背景	比較的きれい	粘液性, 壊死性
細胞採取量	少ない	多い
腫瘍細胞形	線維状, 紡錘形, 腺細胞	紡錘形, 類円形, 多核形
大きさ (μ)	10~20	10~60
核形	紡錘形, 類円形	紡錘形, 類円形, 巨大核
大きさ (μ)	6~12	7~22
核小体	1個で小さく目立たない	1個から数個で明瞭
核分裂像	—	++
PAS 染色	背景 — 腫瘍細胞 —	背景 ± 腫瘍細胞 +
Alcian blue 染色	背景 ± 腫瘍細胞 ±	背景 + 腫瘍細胞 +

写真4 右腕部腫瘍組織像 (H-E, ×200)

腫瘍は紡錘形細胞で構成され、一部で汗腺や小血管をみる

写真5 右大腿部腫瘍組織像 (H-E, ×200)

腫瘍は波状配列を示し、その中に核の大小不同および核分裂像をみる

化されヒアルロン酸であることが証明された (表1)。

IV. 組織所見

右腕部腫瘍組織像：腫瘍の大きさは約2 cmで真皮内に現局しており被膜は認められなかった。腫瘍細胞は小型の短紡錘形から類円形細胞と線維で構成されていた。また腫瘍内には一部で汗腺や小血管などを取り込んでいた (写真4)。以上の所見より neurofibroma と診断した。

右大腿部腫瘍組織像：腫瘍細胞は密に集簇する部位と粗に散在する部位の粗密複合構造が強くみられた。また細胞は束を作り波状にうねりながら走っており、核分裂像ならびに壊死像も認められた (写真5)。以上の所見にこの腫瘍が von Recklinghausen 病患者の大腿部から発生したことを考え合わせ malignant schwannoma と診断した。

V. 免疫組織化学的所見

両腫瘍のホルマリン固定、パラフィン包埋後の標本に各一次抗体を用い peroxidase anti peroxidase (PAP 法) を施行した。使用した一次抗体は S-100 protein (S-100), S-100 alpha protein (S-100 α), S-100 beta protein (S-100 β), neuron specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP), neurofilament protein (NFP), epithelial membrane antigen (EMA) の計7種類である。

S-100 は neurofibroma において多くの腫瘍細胞の細胞質および核にその局在を認めた。陽性細胞はクロマチンが濃く短紡錘形から類円形核の細胞にみられ、クロマチンが淡く紡錘形核の細胞は陰性であった (写真6)。Malignant schwannoma においては特に細胞が密な部分 (dense area) で比較的少数の円形から紡

写真 6 Neurofibroma (S-100 蛋白, $\times 400$)
短紡錘形から類円形核の細胞に陽性を示す

写真 7 Malignant schwannoma (S-100 蛋白, $\times 200$)
粗な部分に陽性細胞が多い

錘形細胞にみられた。粗な部分 (loose area) では多くの細胞, 特に多核細胞および巨細胞に認められた (写真 7)。S-100 α では malignant schwannoma において増加し, 逆に S-100 β は減少する傾向にあった。NSE は neurofibroma で僅かに認められるのみであったのに対し, 悪性化するにしたがい S-100 α 同様, 特に粗な部分に多く陽性細胞を認める傾向にあった。MBP は malignant schwannoma において少数の小型円形から紡錘形細胞に陽性を認めた。NFP, EMA は両腫瘍共にわずかに陽性細胞を認めるのみであった (表 2)。

VI. 電顕所見

Malignant schwannoma の電顕像では Schwann 由来細胞と多数の fibroblast および少数の perineurial 細胞の 3 種類が観察された。

Schwann 由来細胞は不整形核を有し, ヘテロクロマ

表 2 免疫組織化学的検討

	neurofibroma	malignant schwannoma	
		dense area	loose area
S-100	++	+	++
S-100 α	+	+	++
S-100 β	++	-	+
NSE	$\pm$	+	++
MBP	$\pm$	+	+
NFP	$\pm$	$\pm$	$\pm$
EMA	$\pm$	$\pm$	$\pm$

チンに富み, 1~2 個の円形から不整形の明瞭な核小体を有していた。細胞質内には多数の細線維が棚状に, 一部では層状に配列を示し, ミトコンドリア, グリコーゲンなども観察された。細胞周囲には明瞭な基底板もみられ, 部分的には intercellular junction も散見された (写真 8)。

Fibroblast は楕円形から不整形核を持ち, ヘテロクロマチンを有し, 1~2 個の明瞭な核小体も認められた。細胞質には粗面小胞体の発達が著しく, ミトコンドリアなどの小器官もみられた。基底板はみられなかった。 (写真 9)。

Perineurial 細胞は類円形核を有し, オイクロマチンを持ち, 1~2 個の核小体を伴っていた。細胞辺縁部には突起がみられ, 細胞質内にはミトコンドリア, 粗面小胞体, 細線維などもみられ, 一部の細胞辺縁には少数の小空胞も散見された。細胞周囲には断片的に基底板も観察された (写真 10)。

VII. 考 察

Von Recklinghausen 病は母斑病としては最も発症頻度が高く, 10 万人に対し 40 から 50 人といわれる¹²⁾。その café au lait 斑は普通 neurofibroma に先だって幼児期より多発してみられ, neurofibroma の発症年齢の平均は 15.1 歳であるとされる¹³⁾。通常この腫瘍は加齢とともに増加する。随伴症として神経鞘腫 (neurilemmoma), 脳腫瘍 (meningioma⁹⁾, glioma), 骨の変形や奇形などが挙げられ, これらは神経外胚葉系の異常に起因するとされている。さらに合併する悪性変化は神経原性腫瘍が最も多く, その代表として悪性神経鞘腫 (malignant schwannoma) があげられる。この腫瘍は別名神経肉腫 (neurogenic sarcoma), 神経線維肉腫 (neurofibrosarcoma), malignant peripheral nerve sheath tumor などと呼ばれ, 多くは 20 か

写真 8 Schwann 由来細胞の電顕像

N: 核 mf: 細線維 Mt: ミトコンドリア Gly: グリコーゲン RER: 粗面小胞体 ▲: 基板
↑: Intercellular junction

写真 9 Fibroblast の電顕像

N: 核 RER: 粗面小胞体

ら 50 歳台に起こり, 自験例のように von Recklinghausen 病を合併する症例ではやや若年に傾き, 男性に多いとされる。また発生は主要神経幹より起こり, 通常深在性であるが von Recklinghausen 病患者では既

存の neurofibroma の中にできることが多い¹⁴⁾。組織型としては自験例のように紡錘形細胞に富み, しばしば粘液腫様の形態を示す通常型の他に, 特殊型として腫瘍中に横紋筋肉腫の像を示す悪性 Triton 腫瘍

写真 10 Perineurial 細胞の電顕像

N: 核 CP: 細胞質突起 ↑: 小空胞 ▲: 基底板

(malignant triton tumor)⁸⁾, 分化した腺構造を認める腺型悪性 Schwann 腫 (glandular malignant schwannoma), 上皮様形態をとり癌腫や黒色腫に類似の像を示す悪性類上皮型 Schwann 腫 (malignant epithelioid schwannoma) などがある。

Neurofibroma の構成細胞は近年の電顕的検索により, 神経鞘細胞 (Schwann cell), 神経内線維芽細胞 (fibroblast) そして神経周囲細胞 (perineurial cell) の 3 種類の細胞よりなることが知られてきた^{10,15)}。この腫瘍における Schwann 細胞は S-100 に陽性を示すが, fibroblast や perineurial 細胞には証明されないとされる⁷⁾。われわれの免疫組織化学的な検討ではクロマチンが濃く, 短紡錘形から類円形核の腫瘍細胞に特に局在を認めた。陰性を示したもう一方の腫瘍細胞であるクロマチンが淡く紡錘形核の細胞にはおそらく fibroblast と perineurial 細胞が含まれているものと思われた。Malignant schwannoma になると S-100 は密な結合を示す部分では少数の小円形から紡錘形細胞に, 粗な結合を示す部分では多くの腫瘍細胞, 特に多核細胞および巨細胞にその局在をみることができた。これらがおそらく Schwann 由来の細胞であろうと思われる。また陰性を示す細胞は腫瘍の部位によりその局在が異なるが, 即 Schwann 由来細胞以外の細胞とは限らず, この悪性腫瘍においては低分化な細胞は陰性を示すことが多いとされている¹¹⁾。S-100 蛋白は 2

種類のポリペプチド成分 (α 鎖, β 鎖) よりなる二重体であり, α 鎖は分子量 10400 ダルトンで 93 個のアミノ酸からなり, β 鎖は分子量 10500 ダルトンで 91 個のアミノ酸より構成されている。組み合わせにより S-100 a0 ($\alpha\alpha$), S-100 a ($\alpha\beta$), S-100 b ($\beta\beta$) の 3 種類があり, 正常組織において α 鎖は心筋と骨格筋に, β 鎖は神経組織に多く分布する。正常 Schwann 細胞は β 鎖を持つとされているが腫瘍化し, 自験例のように悪性変化を示した場合には α 鎖へと変換するものと思われた。この変化におけるメカニズムはいまだ明確にされていない⁴⁾。

Malignant schwannoma の S-100 陽性細胞の中には MBP 陽性 (髄鞘または髄鞘関連物質をもつ) 細胞の存在を示唆した。しかし軸索の存在を示す NFP に関して陽性を示す細胞はほとんど認められなかった。NSE は正常 Schwann 細胞では陰性であるが悪性化に伴い陽性を示すことはすでに報告されている⁵⁾。正常 perineurial 細胞は S-100 陰性, EMA 陽性を示すとされるが¹⁾, 本検討では両腫瘍とも S-100 陰性部位に EMA 陽性を示す細胞はほとんどみられなかった。

各結合線維の染色より膠原線維および細網線維は neurofibroma 中に多量に存在しているが malignant schwannoma においてはさらに多く認められる。それに反映して酸性粘液多糖類 (ヒアルロン酸) も腫瘍中に多くみられた。これには fibroblast が多分に関与し

ているものと思われる。この細胞の増殖がさらに酸性粘多糖類の増加を介して、腫瘍の増大に影響を及ぼしているものと考えられた。

従来より malignant schwannoma の電顕像は cytoplasmic process の interdigitation および intercellular junction, 発達した basal lamina, 細胞内の lysosome, microfilament, mitochondria などの存在が特徴的であり, これらは Schwann 由来細胞であるとされてきた²⁾。さらに最近では perineurial 細胞および fibroblast の関与が多分にあると報告されており³⁾, むしろこれらの細胞の増減がこの腫瘍が多彩性を示す一因と思われた。自験例も多量のコラーゲンを背景に紡錘形の fibroblast, さらに basal lamina, intercellular junction, microfilament などの特徴をもつ Schwann 由来細胞を認め, そして不完全な basal lamina, pinocytotic vesicle の特徴をもつ perineurial 細胞を確認することができた。

正常末梢神経を構成する Schwann 細胞, fibroblast および perineurial 細胞は自験例の von Recklinghausen 病に併発した neurofibroma と malignant schwannoma においても関与していることが示唆された。これらの細胞は腫瘍化し, 悪性化するにしたがって性質が変化し, 機能異常をおこし, さらに個々の細胞増殖にまで影響を及ぼしているものと思われた。

VIII. 結 語

1) 46 歳, 男性で von Recklinghausen 病に併発した neurofibroma と malignant schwannoma の 1 例を細胞学的, 組織学的, 免疫組織化学的および電顕的に検索した。

2) neurofibroma 同様, malignant schwannoma においても Schwann 由来細胞, fibroblast, perineurial 細胞が関与していることが示唆された。その細胞の形態および性質は悪性化により変化し, 個々の細胞増殖に大きな影響を及ぼすものと思われた。

Summary

A case of malignant Schwannoma of the right thigh developed in Von Recklinghausen's disease (neurofibromatosis) in a 46-year-old male is presented. Cytological of the neurofibroma portion showed two cell patterns com-

posed of ① tumor cells with spindle nuclei containing fine chromatin in fibrous cytoplasm and ② tumor cells with ovoid or short spindle, hyperchromatic nuclei. Malignant Schwannoma portion was cytologically composed of spindle cells often in interlacing, partly loose and partly dense fasciculi. Nuclear pleomorphism was seen in some tumor cells.

Immunohistochemical study showed strong positivity for S-100 protein in ② tumor cells of neurofibroma and in cells of loosely arranged portion of malignant Schwannoma. As to the subunits of the protein, S-100 α positive cells were predominant and S-100 β positive cells seemed to be decreased in malignant Schwannoma. Myelin basic protein and neuron-specific enolase were positively demonstrated only in occasional tumor cells of malignant Schwannoma.

Ultrastructurally malignant Schwannoma was composed of pleomorphic Schwannian origin cells, fibroblast cells, and few perineurial cells.

Both tumors suggested to compose of Schwannian origin cells, fibroblast cells, and perineurial cells, pleomorphism and character of these cells was transformed as malignant change.

文 献

- 1) Ariza, A., et al : Immunohistochemical detection of epithelial membrane antigen in normal perineurial cells and perineurioma, *Am. J. Surg. Pathol.*, 12 : 678 ~ 683, 1988.
- 2) Arpornchayanon, O., et al : Malignant peripheral nerve tumor : A clinicopathological and Electron Microscopic study, *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 14(1) : 57 ~ 74, 1984.
- 3) Erlandson, R.A., et al : Peripheral Nerve Sheath Tumors : An Electron Microscopic Study of 43 Cases. *Cancer*, 49 : 273 ~ 287, 1982.
- 4) Hayashi, K. et al : The distribution of alpha and beta subunits of S-100 protein in malignant schwannomas arising from neurofibromatosis of Von Recklinghausen's disease, *Virchows. Arch. A*, 411 : 515 ~ 521, 1987.
- 5) 広根孝衛・他 : 厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班. 昭和 59 年度研究報告書, p. 166. 1984.
- 6) 石川 治 : レックリングハウゼン病神経線維腫培養細胞の特性, *北関東医学*, 35(1) : 35 ~ 48. 1985.
- 7) Jacque, C.M., et al : GFA and S-100 protein levels as an index for malignancy in human gliomas and neuroinomas, *J. Natl. Cancer. Inst.*, 62 : 479 ~ 483, 1979.
- 8) 笠原正男・他 : 横紋筋肉腫を併発した悪性神経鞘腫

- “Triton tumor” の細胞学的, 組織学的所見について, 日臨細胞誌, 22(4): 871~880, 1983.
- 9) 衣笠松男・他: 神経線維腫症に合併した悪性髄膜腫の 1 例——その捺印細胞所見——, 日臨細胞誌, 25(3): 552~557, 1986.
- 10) Lazarus, S.S. and Trombetta, L.D.: Ultrastructural identification of a benign perineurial cell tumor, *Cancer*, 41: 1823~1829, 1978.
- 11) Nakajima, T., et al: An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissue, *Am. J. Surg. Pathol*, 1982.
- 12) 新村真人: Recklinghausen 病, 自験 150 例および本邦報告例について (1), 皮膚臨床, 15: 433~440, 1973.
- 13) 新村真人: Recklinghausen 病, 自験 150 例および本邦報告例について (1), 皮膚臨床, 15: 653~663, 1973.
- 14) 日本整形外科学会, 骨・軟部腫瘍委員会編: 整形外科病理. 悪性軟部腫瘍取扱い規約, p. 116~120, 金原出版, 1985.
- 15) 吉田 豊: 電頭腫瘍病理学 (小野江為則・編), p. 284~290, 南山堂, 1982.
- 16) Von Recklinghausen, F.D.: Über die multiplen Fibrome der Haut und der ihren Beziehung zu den multiplen Neuomen. Festschrift zur Feier des funfundzwanzigjährigen Bestehens des pathologischen Instituts zu Berlin, Berlin. A. Hirschwald, p. 1~16, 1822.
-