原 著

病変の深達度別にみた気管支原発早期扁平上皮癌 および境界病変の擦過細胞像の検討

東北大学抗酸菌病研究所外科¹⁾, 静岡県立中央病院呼吸器外科²⁾

佐藤 雅美¹⁾ 斎藤 泰紀¹⁾ 永元 則義¹⁾ 遠藤 千頭¹⁾
薄田 勝男¹⁾ 高橋 里美¹⁾ 菅間 敬治¹⁾ 佐川 元保¹⁾
太田伸一郎²⁾ 藤村 重文¹⁾

上皮内癌を含む胸部X線無所見気管支原発早期扁平上皮癌例および境界病変例を対象として、その擦過細胞像を病変の深達度別に検討し、以下の結論を得た。

- 1) 擦過細胞像の検討では、病変の深達度が増すにつれて、核形不整の程度、核面積、核小体数、出現する異型細胞数、解離係数などが増加していた。
- 2) 個々の細胞異型からは浸潤が平滑筋層を越えると進行癌と同等となっていた。
- 3) 細胞の配列の乱れは浸潤が軟骨を越えた場合著明で、胸部X線無所見肺癌では壊死性背景はまれであった。
- 4) これらを総合し、擦過細胞像から、胸部X線無所見肺癌の各病変の深達度を推定することがある程度可能であることが示唆された。今後、手術術式を含めた治療法の選択に際して有用な情報を提供するものと考えられた。

Key words : Lung—Early squamous cell carcinoma—Brushing cytology—Detecting of cancer invasion

I. はじめに

喀痰細胞診^{5,6)}が大規模に集団検診に導入され、今

A quantitative study of bronchial brush cytology of bronchogenic early squamous cell carcinoma and dysplasia

Masami SATO¹⁾, M.D., Yasuki SAITO¹⁾, M.D., Noriyoshi NAGAMOTO¹⁾, M.D., Chiaki ENDO¹⁾, M.D., Katsuo USUDA¹⁾, M.D., Satomi TAKAHASHI¹⁾, M.D., Keiji KANMA¹⁾, M.D., Motoyasu SAGAWA¹⁾, M.D., Shin'ichiro OHTA²⁾, M.D., Shigefumi FUJIMURA¹⁾, M.D.

¹⁾Department of Surgery, The Research Institute for Chest Diseases and Cancer, Tohoku University

²⁾Department of Thoracic Surgery, Shizuoka Prefectural Central Hospital

論文別刷請求先 ☎ 980 仙台市青葉区星陵町4の1 東北大学抗酸菌病研究所外科部門 佐藤雅美

平成4年4月25日受付

平成4年9月4日受理

日では治癒可能な早期肺癌が多数発見されるようになってきている。一方、気管支原発早期扁平上皮癌の治療法決定に、病変の深達度を推定することが重要な因子として要求されつつある。しかし、現時点では細胞診による病変の深達度推定は系統的にはなされていない。著者は深達度推定の基礎とするため、気管支原発早期扁平上皮癌と境界病変の擦過細胞像を病変の深達度別に比較検討したので、その結果を報告する。

II. 対象と方法

擦過細胞像は、総計56病変の胸部X線無所見肺癌例と28病変の境界病変例さらに対比として、胸部X線所見を有する扁平上皮癌例23例の総計107病変で検討した。肺癌例はすべて切除により病変の深達度が確認された症例で、なおかつ気管支鏡の可視範囲内に

病変が存在し、さらに、その所見を内視鏡的に把握でき、その結果、病変からの細胞採取が確実に行い得た症例とした。深達度別にみた検討病変数は、上皮内癌 14 病変、粘膜固有層内浸潤 9 病変、平滑筋層外浸潤 13 病変、軟骨外浸潤 10 病変、気管支壁外浸潤 10 病変であった。なお、ここでいう境界病変とは、癌を診断する過程で癌を疑うが癌とは特定できない上皮内病変とし、組織学的定義は WHO のそれに準じた¹²⁾。気管支原発扁平上皮癌の深達度は、抗研外科永元の方法により、気管支を各 2 mm のブロックとして切り出す連続ブロック法で行った³⁾。深達度は永元の分類³⁾により以下の 5 群、すなわち、上皮内癌、粘膜固有層内浸潤、平滑筋層外浸潤（軟骨を越えない）、軟骨外浸潤（気管支外膜を越えない）、気管支壁外浸潤に分類した。擦過細胞像の検討項目は、① スライドグラス 1 枚あたりに単個で出現する異型細胞数、② 単個で出現する異型細胞の染色性（オレンジ G 好性細胞の比率）、③ スライドグラス 1 枚あたりに結合性をもって出現するシート状異型細胞集団数、④ シート状に出現する異型細胞集団の染色性（オレンジ G 好性に染色される細胞集団の比率）、⑤ 細胞分散の程度ないし結合性の指標⁷⁾として、出現した単個の異型細胞数および 2 個以上の異型細胞からなる細胞集団数の和を異型細胞の総数で除した値、⑥ 主としてライトグリーン好性に染色され比較的深層由来と考えられる異型細胞集団を構成する細胞の核面積、⑦ 同細胞の核形不整の程度、および ⑧ 同細胞の核 1 個あたりの核小体数である。⑥、⑦、⑧ は原則として 1 症例につき 50 個以上の細胞を計測し、その平均を個々の症例の計測値とした。⑥、⑦ は対物油浸レンズ 100 倍で撮影したカラースライドをもとに、ライツ社製図形解析装置によった。

各深達度間の統計学的解析は医療用統計プログラム“STAX”¹⁾を用い、有意水準は 5% に設定した。対比群を含め、各深達度別の 7 群間について、おのおの統計処理を行った（その検定結果を図表に記入すると、きわめて複雑となるため有意なものは本文中に記載した。）なお深達度別に結果を記載するにあたり、早期浸潤癌とは粘膜固有層内浸潤、平滑筋層外浸潤、軟骨外浸潤を一括して表すものとし、これに上皮内癌を加えたものを気管支壁内限局癌とした。胸部 X 線無所見肺癌とはこれに気管支壁外浸潤をふくむ群として記載した。

III. 結 果

1. スライドグラス 1 枚あたりに単個で出現する異型細胞数（表 1）。

孤立性に出現する異型細胞数は、境界病変で平均 15.0 個、上皮内癌で 60.1 個、粘膜固有層内浸潤 116.2 個、平滑筋層外浸潤 784.9 個、軟骨外浸潤 455.2 個、気管支壁外浸潤 540.4 個、X 線有所見肺癌 4397 個であった。平滑筋層外浸潤と軟骨外浸潤および気管支壁外浸潤、軟骨外浸潤と気管支壁外浸潤の間に有意差はなかったが、これらを除くと浸潤の程度が深くなるにつれ有意に異型細胞数が増加していた。

2. 単個で出現する異型細胞の染色性（オレンジ G 好性細胞の比率）。

孤立性に出現する異型細胞の染色性の比率は（表 1）、病変の深達度別には特定の傾向はみられなかった。

3. スライドグラス 1 枚あたりに結合性をもって出現するシート状異型細胞集団数（表 1）。

シート状の異型細胞集団数は、境界病変で平均 4.94、上皮内癌で 9.23、早期浸潤癌および壁外浸潤癌で 59.6~129.2、X 線有所見肺癌で 224.9 であった。早期浸潤癌および壁外浸潤癌の各深達度間に、および気管支壁外浸潤と X 線有所見肺癌との間に有意差はみられなかったが、これを除くと浸潤の程度が増すにつれ有意にシート状の細胞集団数が増加していた。

4. シート状に出現する細胞集団の染色性（オレンジ G 好性に染色される細胞集団の比率）。

これらを表 1 に示す。好酸性に染色される細胞集団の比率には一定の傾向はみられなかった。

5. 細胞分散の程度ないし結合性の指標として、出現した単個の異型細胞数および 2 個以上の異型細胞からなる細胞集団数の和を異型細胞の総数で除した値、解離係数（表 1）。

境界病変は上皮内癌、粘膜固有層内浸潤とは有意差がなかったが、平滑筋層外浸潤、軟骨外浸潤、気管支壁外浸潤、X 線有所見肺癌と比較すると有意に結合性が強く、また X 線有所見肺癌は検討した他の群に比較し有意に結合性が低下していた。

6. 主としてライトグリーン好性に染色され、比較的深層由来と考えられる細胞集団を構成する細胞の核面積（図 1）。

上記の細胞の核面積は、境界病変で 52.4 ± 3.0

表1 擦過細胞所見の検討結果*1

	境界病変	上皮内癌	粘膜固有層内浸潤	平滑筋層外浸潤	軟骨外浸潤	気管支壁外浸潤	X線有所見肺癌
単個細胞数/スライド	15.0 (4.42)	60.1 (34.9)	116.2 (30.0)	784.9 (346.9)	455.2 (192.9)	540.4 (173.4)	4,397.0 (1,593.2)
好酸性細胞の比率 %	67.7 (7.4)	70.1 (8.8)	57.7 (10.9)	86.6 (3.0)	87.3 (3.2)	77.2 (7.5)	61.6 (7.5)
細胞集団数/スライド	4.94 (0.72)	9.23 (1.90)	59.6 (19.78)	129.2 (48.24)	85.4 (21.4)	128.6 (35.5)	224.9 (47.9)
好酸性細胞集団の比率 %	18.2 (5.9)	27.9 (11.6)	30.3 (12.7)	52.1 (5.7)	39.3 (8.5)	39.3 (8.5)	28.0 (6.7)
解離係数*2	0.185 (0.049)	0.249 (0.070)	0.244 (0.099)	0.279 (0.047)	0.273 (0.068)	0.262 (0.058)	0.549 (0.051)
核小体数*3 個/核	0.84 (0.11)	1.06 (0.17)	1.14 (0.18)	1.16 (0.10)	1.43 (0.14)	1.62 (0.11)	1.94 (0.11)

*1 上段に平均値, 下段 () 内に S.E. を示す

*2 解離係数 = 単個細胞数 + 細胞集団数 / 総細胞数

*3 核小体数はライトグリーン好性の細胞集団での計測値を示す

図1 核面積と壁深達度

μm^2 , 上皮内癌で $49.7 \pm 3.5 \mu\text{m}^2$, 早期浸潤癌および壁外浸潤癌で平均 $58.1 \sim 65.8 \mu\text{m}^2$, X線有所見肺癌で $62.4 \pm 3.1 \mu\text{m}^2$ であった。境界病変は早期浸潤癌および壁外浸潤癌と, 上皮内癌は早期浸潤癌および壁外浸潤癌との間に有意差を認めた。境界病変と上皮内癌, 早期浸潤癌および壁外浸潤癌の各群との間に有意差はみられなかった。

7. 主としてライトグリーン好性に染色され, 比較的深層由来と考えられる細胞集団を構成する細胞の核形不整の程度 (図2)。

核形不整の程度は, 境界病変で平均 0.815, 上皮内癌で 0.819, 粘膜固有層内浸潤で 0.786, 平滑筋層外

浸潤 0.737, 軟骨外浸潤 0.720, 気管支壁外浸潤 0.720, X線有所見肺癌 0.703 と, 病変が進行するにつれて核形の不整の程度が増す傾向にあった。統計学的には, 境界病変, 上皮内癌, 粘膜固有層内浸潤の各群間, および平滑筋層外浸潤, 軟骨外浸潤, 気管支壁外浸潤の各群間, X線有所見肺癌と軟骨外浸潤, X線有所見肺癌と気管支壁外浸潤の間には有意差はみられなかった。しかし, 平滑筋層外浸潤より浸潤の程度が進行している各群と境界病変, 上皮内癌, 粘膜固有層内浸潤との間には有意差がみられた。

8. 主としてライトグリーン好性に染色され, 比較的深層由来と考えられる細胞集団を構成する細胞の核

図2 核形の不整度と壁深達度

写真1 境界病変の擦過細胞像 (対物40倍)

1個あたりの核小体数 (表1)。

深達度が増すにつれ増加する傾向がみられた。境界病変では上皮内癌、粘膜固有層内浸潤とは差がなく、平滑筋層外浸潤より浸潤が著明な各群と有意差がみられた。上皮内癌、粘膜固有層内浸潤、平滑筋層外浸潤では、気管支壁外浸潤、X線有所見肺癌と有意差がみられ、軟骨外浸潤、気管支壁外浸潤では、X線有所見

肺癌と有意差がみられた。

代表的な細胞像の呈示

写真は同一症例にみられた細胞像4箇所を対物40倍で撮影したものである。

① 境界病変 (写真1)。写真1は主としてライトグリーン好性の細胞集団が得られた症例の対物40倍の擦過像である。強固な結合性を有し、かつ、その細

写真2 上皮内癌の擦過細胞像 (対物40倍)

写真3 上皮内癌の擦過細胞像 (対物40倍)

胞集団のなかに深層から表層に向かう配列と層構造をみいだせる。しかし、配列に乱れはない。また、核は小型で類円形、クロマチンの増量は軽度である。

② 上皮内癌 (写真2, 3)。写真2は主としてライトグリーンに染色される細胞集団が得られた症例である。細胞、核ともに小型で、軽度の大小不同がみられる。強い結合性がみられるが、辺縁はやや不整となっている。採取された細胞集団のなかには、深層から表層に向かう層構造を示唆するものがあるが、異型細胞は全層にわたっており、また、特に配列の乱れがみら

れる。写真3は別の上皮内癌例の擦過細胞像である。得られた異型細胞は写真に示したもののみである。平面的な配列をし、細胞の異型は軽度である。異型細胞数が少ないこと、平面的な配列を主体としていること、細胞の異型が軽度なことなどから上皮内癌と推定した。

③ 平滑筋層外浸潤 (写真4)。浸潤が平滑筋層外に及ぶ症例では個々の細胞異型はきわめて高度となり、癌であることそのものの診断は容易である。軟骨外浸潤、気管支壁外浸潤との差異は定量的には明らか

写真 4 平滑筋層外浸潤例の擦過細胞像 (対物 40 倍)

ではないが、著しい配列の乱れや、不整形の核がみられない場合には平滑筋層外浸潤に留どまることが多い。

IV. 考 察

近年、胸部X線無所見肺癌が多数発見されている。胸部X線無所見肺癌では重喫煙歴を有するため、心肺機能の低下や多中心性発生⁸⁾などがしばしばみられ、治療上の制約となっている。このような症例で病変がきわめて早期の場合には、区域切除術やレーザー治療が有効となりうる。その一方で、胸部X線無所見肺癌といえども浸潤が気管支平滑筋層外におよぶ症例ではリンパ節転移がありえ、区域切除術やレーザー治療の対象外となる。また、浸潤が気管支軟骨を越える場合にはレーザー光が及ばずレーザー治療の適応とはならない。このような症例で手術不能の場合には放射線療法の併用も考慮しなければならない。このように、胸部X線無所見肺癌の治療法決定に、病変の深達度推定がきわめて重要な因子として要求されるようになってきている。この点に関する内視鏡所見の提案⁴⁾がなされているが、気管支鏡所見のみから深達度の推定が可能か否かは未だ十分には検討されていない。同様に、生検や細胞診断による深達度推定の可能性についても系統的に検討されていない。そこで、本研究では、擦過細胞像の検討による深達度推定の可能性を検討する目的で retrospective に病変の深達度別に擦過細胞像

を検討した。

その結果では、核形不整の程度、核面積などの個々の異型細胞の形態からは、総じて浸潤が平滑筋層を越えた場合には進行癌と明瞭な差異は認めにくくなっていた。一方、異型細胞数、異型細胞集団数、解離係数などの標本上における異型細胞の出現様式を深達度別に検討すると、これらは病変の深達度が増すにつれ増大していた。また、細胞の結合の程度を表す解離係数を比較すると、病変が早期のものほど結合性が強い傾向がみられた。特に、境界病変には結合性の強いものが多く、一方、上皮内癌になると結合性がやや低下し、細胞集団の辺縁が乱れ、全体の配列にも乱れが生じてくる特徴がみられた。同様の配列の乱れは組織像についてもみられることであり、擦過細胞所見にも病変の組織構築が反映されていると考えられる。なお、判定に際しては通常の細胞診判定と異なり癌および非癌の判定に留まらず深達度を推定すべく標本全体をみることが肝要である。特に留意すべき点としては、異型細胞数、細胞異型の程度、ライトグリーン好性に染色される癌細胞集団とその配列の乱れであることを強調しておきたい。

これらの所見を総合することにより擦過像から胸部X線無所見肺癌の各病変の深達度を推定することがある程度可能であることが示唆された。擦過細胞像の検討による prospective な深達度推定の検討は現在試行中であるが、良好な成績を得つつある。詳細は別の機会に発表予定であるが、今後手術術式の選択などに際

して有用な情報を提供しようと思われた。

著者らは本論文とは別に喀痰細胞診による病変の深達度推定の可能性についても検討した⁹⁾が、喀痰細胞診のみにより病変の深達度を推定することは不可能であった。これは一般に、喀痰細胞診は自然に剝離脱落してくる細胞を判定するため、変性などの影響を受けやすく（病変の存在診断には非常に有用である反面）、このことが病変の深達度推定を困難にする要因と思われた。一方、擦過細胞診では病変を直接擦過するため、細胞が変性する以前に固定可能で、かつ時には組織構築を反映する細胞集団が採取されることがある。したがって、擦過細胞診は喀痰細胞診と比較し、よりの確に深達度を反映し、ひいては深達度推定を行い得る可能性があると考えられる。これら呼吸器における検査法を婦人科領域での検査法と比較すると、喀痰細胞診は後腔円蓋に自然に貯留した分泌物を検鏡する *pool smear*¹¹⁾ に、擦過細胞診は頸部細胞診に類似する。頸部細胞診では、上皮内癌の推定がすでに日常臨床で行われており、同様に呼吸器における気管支擦過細胞診による病変の深達度推定の可能性を示唆するものと考えられる。ただし、擦過細胞診で採取される細胞には気管支内の貯留液中の細胞も同時に含まれる。これらの細胞像は喀痰細胞像と類似し、かつその深達度推定には前述のような限界があるため、今回の検討では特に結合性を有する細胞集団として出現する異型細胞に注目した。なお、擦過細胞像の検討にあたっては、病変が気管支鏡で確認でき、生検を施行する以前に採取された標本とした。これは、病変が気管支鏡で確認できない場合や、生検後のため血液成分が大部分を占める標本では十分な細胞採取が不可能なためである。婦人科においても、頸部の細胞採取は内診を含む、すべての腔内操作に先立って行うべき^{2,13)}とされている。同様に呼吸器においても細胞採取の手順は重要であろう。特に、病変の微細な症例では、この点に留意する必要がある。Tao¹⁰⁾ は、上皮内癌の擦過細胞像の所見のひとつとして、結合性のある異型細胞集団がみられないと述べている。これは、著者らの経験では、細胞採取法が不十分なときにみられる所見であり、その細胞は気管支内貯留液中に存在する自然に剝離した細胞である。したがって、Tao は、自然に剝離した、いわば“喀痰所見”を“擦過所見”として誤って述べている可能性があると思われる。

病変の深達度推定の手段としては擦過細胞診のほか生検組織診があるが、以下のような場合には深達度

推定に限界がある。① 気管支内腔に大きく突出するものや浸潤が高度で気管支壁内構造が破壊されているものなどでは、癌組織そのものを捕らえても、深達度推定に必要な構築物を採取できず、深達度推定が不可能である。② 病変をすべて連続的に採取できないことから病変の最深部位を生検しえていない可能性がある。③ 気管支鏡無所見例が存在し、したがって生検必要部位が特定できない。

これに対して擦過細胞診ではその細胞像を検討することにより、病変の深達度が増すにつれて、細胞異型が増しており、深達度推定の情報を得ることができる。加えて、擦過細胞診では、喀痰細胞診では得られない深層の細胞が採取可能であり、さらに配列の乱れに注目することにより組織構築を推定することも可能である。また、得られる細胞数からは、病変がきわめて微小なのか、広がりが大きいのかのおおよその見当がつき、これは病変の広がりを示す情報となりうる。さらに生検で採取不可能な部位からの細胞採取も可能である。最終的な病変の深達度推定は気管支鏡所見、生検所見、CT 所見、擦過細胞所見を総合して行うべきであろうが、擦過細胞診の特徴を生かして、細胞診断学的知見を得ることは深達度推定のために臨床上有益な情報の一助となりうると思われる。今後さらに *prospective* に検討を進める予定である。

Summary

Abnormal cells in brush specimens of *in situ* and early invasive squamous cell carcinomas were studied quantitatively and were compared with both borderline cases and frankly invasive squamous cell carcinomas with abnormal roentgenogram. In brush specimens, increasing depth of invasion resulted in larger nuclear areas, more irregular nuclear shape, more nucleoli and looser connections between atypical cells.

The results indicate that in brush specimens *in situ* carcinoma, early invasive carcinoma, frankly invasive carcinoma and borderline lesions are quantitatively distinguishable from one another.

文 献

- 1) 開原成充：マイコンによる医療統計処理，中山書店，東京，1983。
- 2) 栗原繰寿：上皮内癌とその細胞像，産婦人科シリーズ

- 31 臨床細胞診, pp 110~115, 南江堂, 東京, 1982.
- 3) 永元則義・他: 胸部X線無所見肺癌の肺切除40例についての癌の発生部位と気管支壁深達度, 肺癌, 26: 609~615, 1986.
- 4) 日本肺癌学会気管支鏡所見分類委員会: 内視鏡的早期肺癌の判定規準(案), 肺癌取り扱い規約(改定第3版), p 64, 金原出版, 東京, 1987.
- 5) Saccomanno G., et al.: Concentration of carcinoma or atypical cells in sputum. *Acta Cytol.*, 7: 305~310, 1963.
- 6) 斎藤泰紀・他: サコマノ氏集細胞法の抗研式変法, 気管支学, 4: 289~290, 1982.
- 7) 斎藤泰紀: 肺癌細胞の解離性の数量的解析, 抗酸菌病研究所雑誌, 34: 1~15, 1982.
- 8) 佐藤雅美・他: 胸部X線無所見肺癌例に対する気管支全支擦過法の検討, 気管支学, 11: 215~222, 1989.
- 9) 佐藤雅美・他: 病変の深達度別にみた気管支原発早期扁平上皮癌および境界病変の喀痰細胞像の検討, 日臨細胞誌, 掲載予定 1992.
- 10) Tao, L.C., et al.: Cytologic diagnosis of radiographically occult squamous cell carcinoma of the lung, *Cancer*, 50: 1580~1586, 1982.
- 11) 手島研作: 婦人科細胞診における細胞採取法とそのコツ, 産婦人科MOOK 22, pp 19~26, 金原出版, 東京, 1982.
- 12) World Health Organization: *Histological Typing of Lung Tumors*, 2, World Health Organization, Geneva, 1981.
- 13) 矢嶋 聡: 子宮癌検診と細胞診, 産婦人科MOOK 22, pp 187~193, 金原出版, 東京, 1982.
-