原 著

血管肉腫：4例の細胞学的検討

国立国際医療センター検査部病理¹⁾，東京大学医学部病理学教室²⁾林 亮¹⁾ 中野 嘉子¹⁾ 小川 勝¹⁾ 佐々木直志¹⁾
柿島 裕樹¹⁾ 石田 剛^{1,2)} 岡 輝明²⁾

組織学的に血管肉腫と診断された4症例について細胞学的検討を行った。症例は43歳から79歳にわたり，男性3例，女性1例，原発部位は頭頸部皮膚と心臓がそれぞれ2例であった。基本的細胞所見として，ライトグリーン淡染性の紡錘形ないし多稜形の細胞が，出血や炎症性背景の中に散在性，あるいは中規模集塊を形成して観察された。腫瘍細胞の核は偏在傾向を示し，ときに多核の腫瘍細胞も認められた。核のクロマチンは顆粒状を呈し，核小体が1～数個認められた。2列に並ぶ配列をとる腫瘍細胞や，細胞質内にhaloを伴う赤血球様物質を容れた腫瘍細胞が観察された。免疫組織化学およびレクチン化学的には，腫瘍細胞は第Ⅷ因子関連抗原 (FⅧRA)，ビメンチン，Q-Bend-10，Ulex europeaus agglutinin I (UEA-I) 陽性であった。

血管肉腫は，その組織構築に病理学的診断根拠をおいているため，細胞学的診断は困難な場合が多い。しかし，腫瘍細胞が2列に並ぶ配列や，腫瘍細胞質内のhaloを伴う赤血球様物質の存在は血管肉腫を示唆する細胞学的特徴と判断された。さらにFⅧRA，Q-Bend-10，UEA Iなど血管内皮マーカーの免疫組織化学的，レクチン化学的検索を併用することにより，さらに正確な推定診断が可能であると考えられた。

Key words : Soft tissue neoplasm—Hemangiosarcoma—Cytology—Immunohistochemistry

I. はじめに

血管肉腫 (hemangiosarcoma) は，頭頸部皮膚や

大腿部などの軟部組織に好発する比較的まれな悪性腫瘍である。組織学的には，完全ないし不完全な血管腔の形成を特徴とし，これを未熟な異型内皮細胞が被覆する。また血管形成に乏しい低分化な部分では，紡錘形細胞肉腫や未分化癌と区別できない組織像を呈する¹⁾。

細胞学的に，血管肉腫細胞の細胞質は紡錘形，線維状，類円形，あるいはおたまじゃくし様など多彩で，核は大小不同があり，多核細胞も認められる²⁻⁶⁾。腫瘍細胞の出現様式は，孤立散在性，あるいは上皮様結合を示す小規模集塊であり^{2,4,5,7,8)}，ときに血管腔様構造も認められるとされている^{5,6,9)}。また細胞質内に赤血球の封入像や食食像も観察される^{2,4-9)}。このように血管肉腫の細胞所見はきわめて多彩であり，診断根拠になる特徴的な細胞像には欠かされている。こ

Hemangiosarcoma : Cytological study of four cases

Ryo HAYASHI¹⁾, C.T., J.S.C., Yoshiko NAKANO¹⁾, C.T., I. A.C., Masaru OGAWA¹⁾, C.T., I.A.C., Naoshi SASAKI¹⁾, C.T., J.S.C., Hiroki KAKISHIMA¹⁾, C.T., I.A.C., Tsuyoshi ISHIDA^{1,2)}, M.D., Teruaki OKA²⁾, M.D.

¹⁾Pathology Division, Clinical Laboratories, International Medical Center of Japan

²⁾Department of Pathology, Faculty of Medicine, University of Tokyo

論文別刷請求先 ☎ 162 東京都新宿区戸山1の21の1 国立国際医療センター検査部病理 林 亮

平成6年5月23日受付

平成6年9月9日受理

のため血管肉腫の細胞学的推定診断は難かしいとされている^{2,5-7)}。今回われわれは血管肉腫の4剖検例においてその細胞学的検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

II. 症 例

症例1: 78歳, 女性

原発部位: 右額部皮膚

現病歴: 昭和63年3月, 右額部に出血斑様の皮疹が出現し, 同年7月, 国立病院医療センター皮膚科を受診した。生検の結果, 血管肉腫と診断され入院となった。同年9月, 胸水貯留し胸水中に悪性細胞が確認された。同年12月, 腫瘍浸潤による胸水貯留, さらに気胸を併発し, 呼吸不全により死亡した。

症例2: 58歳, 男性

原発部位: 右心房

現病歴: 平成元年1月, 全身倦怠感, 不整脈を主訴に他院を受診し軽度の心拡大を指摘された。同年3月, 心窩部から頸部にわたる疼痛, 悪心, 嘔吐が出現し, 全身倦怠感, 食欲不振も増強したため当院を受診した。胸部単純レントゲン上心陰影の拡大を, また心電図上でST上昇を認め, 心膜炎の疑いにて入院となった。心嚢穿刺にて, 血性心嚢液が得られ, その細胞診にて異型細胞が多数認められた。同年4月, 心膜切開術が施行され, 組織学的に血管肉腫と診断された。同年5月, 腫瘍の全身転移および播種性血管内凝固症候群のため死亡した。

症例3: 79歳, 男性

原発部位: 左前頭部皮膚

現病歴: 昭和52年, 左前頭部に出血斑様の皮疹が出現した。昭和60年10月, 当院にて生検が施行され, 血管肉腫と診断された。同年11月, 頭部皮膚腫瘍切除術が行われたが, 昭和61年, 前頭部に再発が認められ, 昭和62年7月には, 腫瘍は左顎下部にまで広がった。同年8月, 左耳下腺部腫瘍切除, 同年11月, 前頭部皮下腫瘍切除を行うも, 平成元年8月, 腫瘍の局所再発および全身転移のため死亡した。

症例4: 43歳, 男性

原発部位: 右心房

現病歴: 平成3年5月, 感冒様症状が出現し, 次第に悪化した。同年12月, 患者は咳と発熱のため他院に入院し右心房腫瘍と右心房冠動脈瘻の診断にて手術が行われた。腫瘍の組織学的検索にて血管肉腫と診断

表 1 症例および検索材料

症例	年齢	性別	原発部位	細胞診検索材料
1	78	女	右額部皮膚	胸水 剖検時腫瘍捺印 (皮膚)
2	58	男	右心房	心嚢液 剖検時腫瘍捺印 (心, 肝)
3	79	男	左前頭部皮膚	手術時腫瘍捺印 (耳下腺) 剖検時腫瘍捺印 (皮膚)
4	43	男	右心房	剖検時胸水 剖検時腫瘍捺印 (心, 肝, 肺)

された。画像上, 肺および肝臓に転移が認められたため, 平成4年1月, 当院に入院した。化学療法が施行されたが, 同年3月, 全身衰弱のため死亡した。

III. 材料と方法

材料: 細胞学的検索には, 穿刺時および剖検時に得られた体腔液, および腫瘍捺印標本を用いた (表1)。

方法: 細胞標本に対してパパニコロー染色, ライトギムザ染色, PAS染色, アルシアンブルー染色 (pH 2.5) およびベルリンブルー染色をそれぞれ行った。症例4ではビメンチン (Nichirei, 原液), 第VIII因子関連抗原 (FVIII RA; DAKO, 200倍希釈), Q-Bend-10 (NOVOCASTRA, 50倍希釈), ケラチン (KL-1; Immunotech, 100倍希釈), 上皮膜抗原 (EMA; DAKO, 100倍希釈), デスミン (Clone 9; ICN, 20倍希釈), S-100タンパク (DAKO, 400倍希釈), Ulex europeus agglutinin I (UEA-I; コスモバイオ, 100倍希釈) に対する各抗体を用いて, avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) 法にて免疫染色を行った。なお UEA-I の染色は直接法にて行った。

全例のホルマリン固定, パラフィン包埋組織切片を用いて, hematoxylin-eosin (H-E) 染色標本を新たに作成し組織学的に観察するとともに, これらの腫瘍組織から得られた捺印標本と組織標本とを比較し, 細胞学的所見を再検討した。また上記抗体を用いた免疫染色も同様に行った。

IV. 結 果

1. 細胞所見

4例とも基本的にはほぼ同様の細胞所見を示した。

表2 血管肉腫の免疫組織化学的結果のまとめ

	症例1	症例2	症例3	症例4
F VIII RA	+	-	+	+(+)
Q-Bend-10	+	+	+	+(+)
ビメンチン	+	+	+	+(+)
ケラチン (KL-1)	-	-	-	-(-)
EMA	-	-	-	-(-)
デスミン	-	-	-	-(-)
S-100 タンパク	-	-	-	-(-)
UEA-1	ND	ND	ND	ND(+)

F VIII RA: 第VIII因子関連抗原, EMA: 上皮膜抗原, UEA-I: Ulex europeus agglutinin I, +: 陽性, -: 陰性, ND: 検索せず

() 内は捺印標本による免疫細胞化学的結果

出血や炎症性滲出物を背景として、腫瘍細胞が孤立散在性や中規模集塊で出現していた。腫瘍細胞の細胞質はライトグリーン淡染性で比較的薄く、紡錘形ないし線維状、多稜形、類円形、あるいはおたまじゃくし様など多彩な形態を呈していた(写真1)。核は偏在傾向を示し、クロマチンは顆粒状で核小体は1個から数個認められた。症例2および4では、腫瘍細胞が2列に並ぶ配列がしばしば観察された(写真2, 3)。細胞質内に halo を伴う赤血球様物質を容れた腫瘍細胞が、少数ながら全例において観察された(写真3, 4)。楕円形で異型の強い細胞も散見され、ときに多核の腫瘍細胞も認められた。体腔液塗抹標本でも捺印標本とほぼ同様の細胞像が認められたが、体腔液中では類円型の細胞が比較的多く観察された(写真5)。また症例1の胸水では、奇怪な形の異型巨細胞も観察された。腫瘍細胞の細胞質はアルシアンブルーおよびPAS染色陰性であった。また、PAS染色陽性の樹枝状構造が腫瘍細胞集塊中に認められ、この構造周囲に腫瘍細胞が絡み付いている所見が得られ、特徴的な構造とみなされたがこの所見は1例のみであった。ベルリンブルー陽性のヘモジデリン顆粒を貪食したマクロファージが存在する腫瘍細胞集塊も散在していた。

2. 組織所見

組織学的には、類円形ないし紡錘形腫瘍細胞が不規則に吻合する血管腔を形成して増生していた(写真6)。血管腔の形成に乏しく、腫瘍細胞が充実性に増生する部分も観察された(写真7)。皮膚原発の症例においては、腫瘍細胞は真皮と皮下組織内に境界不明瞭に増生し、膠原線維束間に分け入るように浸潤していた。転移巣においてもほぼ同様の組織像が認められた。組織学的には血管肉腫と診断された。

3. 免疫組織化学的所見

ビメンチン, Q-Bend-10 は全例に, F VIII RA は4例中3例で陽性を示した。ケラチン, EMA, デスミン, S-100 タンパクは全例陰性であった。また、症例4の捺印標本では、ビメンチン, Q-Bend-10, F VIII RA, UEA-I が腫瘍細胞に陽性で(写真8a, b), その他のマーカーは陰性であった(表2)。

V. 考 察

血管肉腫の細胞所見として、出血性背景に腫瘍細胞が、孤立散在性ないし小規模集塊やシート状集塊、あるいは毛細血管様構造、腺管様構造、ロゼット様構造を示して出現することが報告されている^{2,4-9)}。また腫瘍細胞の細胞質はライトグリーン淡染性で、その形態は紡錘形ないし線維状、多稜形やおたまじゃくし様などと多彩であり、胞体に赤血球の封入像や貪食、空胞形成が認められることがあると報告されている²⁻⁹⁾。核は類円形で比較的大きく、偏在傾向を示し、核膜は均等に肥厚しており、クロマチンは顆粒状でその量は比較的少なく、核小体は明瞭で大きい。また未分化な細胞では強い異型を示す核も認められる²⁻⁸⁾。これらの従来から指摘されていた細胞学的所見は、自験例においてもほぼ同様に観察された。

今回の検討では、上記の細胞学的所見に加え、集塊中に2列に並ぶ配列をとる腫瘍細胞が観察された。これは血管肉腫の組織レベルでの血管腔形成が、細胞像に反映していると考えられ、血管肉腫の細胞診断上有用な所見であると考えられた。また細胞質内に halo を伴う赤血球様物質を容れた腫瘍細胞が認められた。これは、通常の赤血球貪食像と若干異なっており、その真の成因は不明であるが、標本作製上のアーチファクトとは考えにくい。細胞レベルでの血管腔形成を反映している可能性もあり、細胞診断上重要な所見であると考えられ、今後さらに症例を重ね検討する必要があると思われる。

今回検討した4症例では、腫瘍細胞の出現様式や細胞形態からでも癌腫との鑑別は比較的容易であった。組織学的には、血管肉腫は転移性腺癌と鑑別を要することがあり、このような場合、細胞診が鑑別診断上有用であると考えられた。一方、紡錘形ないし線維状の細胞が出現する肉腫、たとえば平滑筋肉腫や悪性線維性組織球腫などと血管肉腫との細胞像のみからの鑑別は実際には困難なことも多いと考えられるため、上記

の細胞学的特徴を見出すとともに臨床情報の十分な把握が血管肉腫を積極的に推定するためには必要不可欠と考えられた。

山田ら⁹⁾は、組織学的に悪性血管内皮腫、カポシ肉腫、悪性血管周皮腫と診断された症例を総括して血管肉腫として細胞所見を報告している。そして、細胞学的にこれら腫瘍の腫瘍細胞は、内皮細胞由来の異型細胞（内皮細胞型）と紡錘状ないし線維状の異型細胞（血管周皮細胞型）に大別されるとしている。しかし、悪性血管内皮腫（今回われわれの検討した血管肉腫に相当）、カポシ肉腫、および悪性血管周皮腫はそれぞれ別の疾患単位とされており、これらを一括して細胞所見を論じることはできず、それぞれの疾患を比較しながら各疾患ごとに細胞所見を再検討する必要があると考えられた。山田らの報告している紡錘状ないし線維状の異型細胞が多く出現した腫瘍は悪性血管周皮腫の症例と考えられるが、今回われわれの検討した血管肉腫においても、紡錘形ないし線維状の腫瘍細胞が目立ち、必ずしも悪性血管周皮腫の特徴とは思われなかった。このことは血管肉腫（悪性血管内皮腫）においても組織学的にしばしば紡錘形細胞肉腫像を呈する部分があることと矛盾しないと考えられた。

光学顕微鏡の細胞レベルでその特徴的分化像がとらえられる非上皮性悪性腫瘍、たとえば横紋筋肉腫細胞の横紋や悪性黒色腫のメラニン顆粒などとは異なり、血管内皮細胞には電子顕微鏡的に Weibel-Palade 小体という特徴的構造物があるものの、光学顕微鏡的にみることで、このような特徴的構造物がない。このような細胞レベルでの分化像の欠如が、血管肉腫をはじめ、細胞学的特徴に乏しい種々の非上皮性悪性腫瘍の細胞診断を困難にしている 1 つの大きな要因と考えられる。今後組織像との対比を含めさらに検討すべき課題と考えられた。

免疫組織化学的に、腫瘍細胞は血管内皮細胞のマーカーとされている F VIII RA に 4 例中 3 例で陽性であった。また別の血管内皮細胞マーカーである Q-Bend-10¹⁰⁾、およびビメンチンは全例で陽性であった。ケラチン、デスミン、EMA、S-100 タンパクは全例で陰性であった。F VIII RA は特異性の高いマーカーとされており、陽性であれば血管内皮系の腫瘍であると考えられる。一方、Q-Bend-10 はほかの軟部腫瘍でも陽性を示すことがあるが、従来のマーカーとほぼ同様に血管内皮系腫瘍での陽性率は高いとされている¹⁰⁾。また、自験例において全例陽性を示したことからもほ

かのマーカーと併用することにより、血管肉腫の診断上有用なマーカーと考えられた。ビメンチンは特異性に乏しくほかの間葉組織や低分化な癌においてもしばしば陽性となることが知られており、ビメンチン陽性であることのみから血管肉腫と診断することはできないが、ビメンチンが陰性であった場合には血管肉腫である可能性は考えにくく、その意味で有用なマーカーであると考えられた。症例 4 の捺印標本を用いた免疫細胞化学的検索では、腫瘍細胞は F VIII RA、Q-Bend-10、ビメンチンに陽性で、ケラチン、デスミン、EMA、S-100 タンパクは陰性であった。また、レクチン化学的検索では、UEA-I が陽性を示し、血管肉腫を支持する結果が得られた。一般に穿刺吸引細胞診では、組織標本と違い、通常は免疫細胞化学的検索を行うほどの十分量の細胞診標本が得られないことも多いが、細胞が十分採取されれば、これらのマーカー検索を積極的に行い、より正確な推定診断をする必要があると考えられた。

本論文の要旨は第 33 回日本臨床細胞学会総会（於福岡）にて発表した。

Summary

A cytological study of four cases of hemangiosarcoma of the craniofacial skin and heart was performed.

The age of the patients ranged from 43 to 79 years. Three were males, and one was female.

Cytologically, the tumor cells were scattered and/or formed medium-sized clusters. Spindle-shaped and polygonal atypical cells were identified against a hemorrhagic and/or inflammatory background. The nucleus of the tumor cells was eccentrically located. The chromatin pattern was granular, and the nucleoli were prominent. Multinucleated tumor cells were occasionally observed. The two-cell-thick parallel arrangement of the tumor cells was observed in two of our four cases. In all of the cases, intracytoplasmic erythrocyte-like inclusions with halos were seen in the tumor cells. Immunohistochemically, the tumor cells were positive for Factor VIII-related antigen, Q-Bend-10, vimentin, and Ulex europeus agglutinin I.

Hemangiosarcomas are usually diagnosed on the basis of their histological structure, such as vascular-channel formation. Thus, cytological diagnosis may be difficult in many cases. The two-cell-thick parallel arrangement of the tumor cells and intracytoplasmic erythrocyte-like inclusions,

however, appeared to be pathognomonic cytological findings of hemangiosarcoma. Immunohistochemical studies using endothelial markers are also useful in differential diagnosis cytologically.

文 献

- 1) 石川栄世：血管肉腫，飯島宗一・他編，現代病理学大系，第20巻 軟部腫瘍，pp. 214~222，中山書店，東京，1992.
- 2) Abele, J.S., Miller, T. : Cytology of well-differentiated and poorly differentiated hemangiosarcoma in fine needle aspirates, *Acta Cytol.*, 26 : 341~348, 1982.
- 3) Masin, M., Masin, F. : Cytology of angiosarcoma of the breast : A case report, *Acta Cytol.*, 22 : 162~164, 1978.
- 4) Nguyen, G-K, McHattie, J.D., Jeannot, A. : Cytomorphologic aspects of hepatic angiosarcoma, *Acta Cytol.*, 26 : 527~531, 1982.
- 5) 杉江茂幸・他：血管肉腫の2例，*日臨細胞誌*，30 : 564~570, 1991.
- 6) 山田 喬・他：血管肉腫の細胞診—11例の分析—，*日臨細胞誌*，22 : 202~208, 1983.
- 7) Gaba, A.R., Fine, G., Raju, U.B. : Malignant angioendothelioma : Cytologic, histologic and ultrastructural findings, *Acta Cytol.*, 27 : 76~80, 1983.
- 8) Jayaram, G. : Cytology of hemangioendothelioma, *Acta Cytol.*, 28 : 153~156, 1984.
- 9) Jayaram, G., Kapoor, R., Saha, M.M. : Hemangioendothelioma : Cytologic appearances in two cases presenting with multiple soft tissue and bone lesions, *Acta Cytol.*, 31 : 497~501, 1987.
- 10) Ramani, P., Bradley, N.J., Fletcher, C.D.M. : QBEnd/10, a new monoclonal antibody to endothelium : assessment of its diagnostic utility in paraffin sections, *Histopathology*, 17 : 237~242, 1990.

写真説明

写真 1 炎症性滲出物を背景におたまじゃくし様など多彩な形態を示す腫瘍細胞 (Pap. 染色, $\times 40$)

写真 2 2列に並ぶ配列を示す腫瘍細胞 (Pap. 染色, $\times 40$)

写真 3 細胞集塊中に，赤血球様物質を容れた腫瘍細胞が認められ (矢頭)，また下方では，紡錘形異型細胞が2列に並ぶ配列をとっている (Pap. 染色, $\times 40$)

写真 4 Haloを伴う赤血球様物質を容れた腫瘍細胞 (Pap. 染色, $\times 100$)

写真 5 胸水中に観察された類円型腫瘍細胞集団 (Pap. 染色, $\times 40$)

写真 6 組織学的所見。腫瘍は不規則に吻合する血管腔を形成して増生している (H-E 染色, $\times 20$)

写真 7 組織学的所見。腫瘍は充実性に増殖し，血管腔の形成は，この部分ではほとんど認められない (H-E 染色, $\times 40$)

写真 8 a : Q-Bend-10 陽性所見 (ABC 法, $\times 40$)
b : F VIII RA 陽性所見 (ABC 法, $\times 40$)

写真 1

写真 2

写真 3

写真 4

写真 5

写真 6

写真 7

写真 8