〈特集〉 術中迅速細胞診

簡便 H-E 染色標本を用いた術中迅速細胞診

——乳腺疾患における有用性の検討——

川崎医科大学病理学教室

森谷 卓也 広川 満良 清水 道生 真鍋 俊明

乳腺疾患の術中迅速診断 575 例について、凍結切片と併用し利用した簡便 H-E 染色塗抹細胞診標本の再検討を行った。主病変の良悪性の判定を行った 444 例では、塗抹細胞診単独の正診率は 96.4% で、凍結切片の 97.1% と差はなかった。また、両者をあわせて診断したところ正診率は 99.5% に上昇した。癌のリンパ節転移の有無、乳房温存手術時の温存乳房内の癌遺残の有無の判定では、塗抹細胞診による正診率はそれぞれ 98.4%、95.6% で、いずれも凍結切片での正診率と有意差はなく、誤陽性例もみられなかった。塗抹細胞診の利点は、組織の広い範囲から多量の細胞採取が可能なことで、凍結切片の作製が困難な検体にも有効な手段である。また、H-E 染色を用いることは凍結切片との対応が容易であった。本法は凍結切片と同等の診断精度が期待できることより、補助手段というよりも独立した診断方法として用いることができる可能性を有している。ただ、細胞診のみでは診断しにくい病変も存在することから、診断精度の向上のためにさらに工夫が必要であろう。

Key words : Breast——Cytology——Frozen section——Intraoperative consultation——
Hematoxylin-Eosin staining

I. 緒 言

術中迅速診断は、手術中に腫瘍の良悪性の判定や癌の広がりなどの判定などを行うことにより、治療方針を決定するきわめて重要な診断手技である。通常は凍結切片標本のみを用いて診断がなされるが、ホルマリン固定・パラフィン包埋による永久標本と比較すると診断の精度は劣っている¹⁾。そこで、これを補う目的で、われわれは提出組織片から簡便 H-E 染色を施した塗

抹標本を作製し、迅速診断に利用している。細胞診標本では、凍結切片では把握しにくい細胞像の観察ができ、両者の併用により診断率の向上が期待される。さらに、多くの場合は細胞診単独でも診断が可能で、凍結切片の補助的手段以上の価値があると考えられる²⁾。

今回、特に乳腺疾患について、この迅速細胞診の有用性について再検討を行った。

II. 材料および方法

川崎医科大学附属病院病院病理部で、1985 年から 1993 年までの 9 年間に行われた乳腺疾患の術中迅速診断のうち、診断に用いた凍結切片標本、および簡便 H-E 染色を行った塗抹細胞診標本（捺印または擦過）の両者の再検討が可能な 575 例を検索の対象とした。簡便 H-E 染色は、日常の病理組織診断に用いている

Intraoperative cytology with rapid hematoxylin-eosin staining—Its significance in breast diseases—

Takuya MORIYA, M.D., Mitsuyoshi HIROKAWA, M.D.,
Michio SHIMIZU, M.D., Toshiaki MANABE, M.D.

Department of Pathology, Kawasaki Medical School

論文別刷請求先 ☎ 701-01 岡山県倉敷市松島 577 川崎医科大学病理学教室 森谷卓也

平成 6 年 8 月 3 日受付

平成 6 年 10 月 28 日受理

染色液を利用し、具体的には中川らの方法⁹⁾に準じた。このうち主病変の良悪性の判定を行った症例が444例であった。最終診断で悪性腫瘍と診断されたものは259例で、組織型は乳頭腺管癌58例、充実腺管癌74例、硬癌91例、非浸潤性乳管癌10例、他の組織型25例であった。良性疾患は185例で、具体的には線維腺腫74例、乳腺症88例、乳管内乳頭腫5例、その他18例であった。

また、癌の広がり判定として、乳癌のリンパ節転移の有無の判定318例、乳房温存手術における温存乳房内の癌遺残の有無の判定（部分切除後、さらに断端として追加切除された小組織片内の癌遺残の有無）68例についても再検討した。

判定は良性、悪性または判定保留のいずれかとした。診断は凍結切片標本と塗抹細胞診標本をべつべつに観察し、永久標本の最終診断との一致率について検討した。主病変の良悪性の診断については、両者を同時に観察して判定した結果についても、永久標本との一致率の検討、実際に術中に報告された診断との対比を行った。

III. 結 果

表1に診断手技別の診断精度を、表2には正診できなかった症例の内訳を示した。まず、凍結切片標本単独での再検討では、悪性腫瘍259例中254例、良性病変185例中177例が正診されていた。癌と診断する鋭敏度は98.1%、特異性は95.7%、全体の正診率は97.1%であった。凍結切片単独で正診にいたらなかった症例は13例あり、具体的には非浸潤性乳管癌10例中3例、上皮成分の過形成の強い線維腺腫3例、乳管内乳頭腫5例中2例、程度の強い乳管過形成3例などであった。

塗抹細胞診のみによる判定では、悪性腫瘍259例中

正診が249例、判定保留が5例、誤判定が5例、良性病変185例中では正診が179例、判定保留3例、誤判定が3例存在した。塗抹細胞診単独で癌と診断する鋭敏度は96.1%、特異性は96.8%で、正診率は96.4%であった。塗抹細胞診単独で正診できなかった症例は16例あり、粘液癌6例中2例、乳頭腺管癌で細胞異型の乏しいもの2例、硬癌で塗抹された細胞量が少ないもの5例、線維腺腫3例などであった。

凍結切片と塗抹細胞診標本を同時に観察し診断したもので、境界悪性葉状腫瘍と高度の乳管過形成を伴う乳腺症の2例が判定保留とされた以外はすべて正診にいたることができた（正診率99.5%）。ただし、この結果は今回改めて標本を見直したもので、実際に手術時に報告された診断では正診率は95.0%にとどまっていた。

癌のリンパ節転移の有無の検索では、検討した318例中67例において、永久標本に転移を認めた。このうち塗抹細胞診で診断できたのは62例で、鋭敏度は92.5%であった。転移のない251例は全例が転移なしと診断された（特異性100%）。塗抹細胞診単独での正診率は98.4%であった。凍結切片単独では、正診率98.7%、鋭敏度94.0%、特異性100%で、塗抹細胞診とほぼ同様の結果であった。永久標本で癌転移が存在したのに転移なしと判定されたものは、塗抹細胞診、凍結切片ともに標本中に癌細胞が採取されていない症例で、サンプリング・エラーによる偽陰性例であった。

また、乳房温存療法における温存乳房内の癌遺残の有無の判定では、68例中永久標本に癌の遺残を認めたのは6例であった。しかし、塗抹細胞診で遺残ありとしたのは3例のみで、鋭敏度は50%にとどまった。凍結切片は5例で癌遺残と診断され、鋭敏度は

表2 乳腺疾患主病変の迅速診断：正診できなかった症例の組織像

	悪性疾患	良性疾患
凍結切片のみ	非浸潤性乳管癌(3)	線維腺腫(3)
	硬 癌(1)	乳管内乳頭腫(2)
	境界悪性葉状腫瘍(1)**	乳管過形成(3)*
塗抹細胞診のみ	乳頭腺管癌(2)	線維腺腫(3)
	硬 癌(5)	授乳期腺腫(1)
	粘 液 癌(2)	乳管過形成(1)*
	境界悪性葉状腫瘍(1)**	硬化性腺症(1)

誤判定および判定保留を含む

() 内は症例数、*：1例が同じ症例、**：同一症例

表1 乳腺疾患主病変の迅速診断：診断手技別の正診率

	悪性症例	良性症例	合計
塗抹細胞診単独	249/259 (96.1%)	179/185 (96.8%)	428/444 (96.4%)
凍結切片単独	254/259 (98.1%)	177/185 (95.7%)	431/444 (97.1%)
塗抹細胞診 +凍結切片	258/259 (99.6%)	184/185 (99.5%)	442/444 (99.5%)
報告時の診断	249/259 (96.1%)	173/185 (93.5%)	422/444 (95.0%)

83.3%だった。両手技ともに誤陽性例はなく、特異性は100%であった。正診率は塗抹細胞診95.6%, 凍結切片は98.5%となった。

IV. 考 察

術中迅速診断においては、病理医は限られた時間内に正確な診断を行うことが要求される。診断の精度をあげるためには、病理医の診断能力の向上、よりよい凍結切片を作製する工夫が必要である。他の手段として、通常の凍結切片に加え塗抹細胞診標本作製し、両者を併用して診断を行うことも有用といわれている^{4,5)}。

われわれが日常行っている術中迅速診断の過程⁷⁾を図1に示す。病理部に検体が到着後、ただちに肉眼観察と切り出しを行い、組織片から捺印、または擦過による塗抹細胞診標本作製する。簡便 H-E 染色は、あらかじめ用意された染色セットを用いる。染色に要する時間は2~3分で、染色後ただちに病理医がスクリーニングと診断を行う。組織を直接観察し必要な部分から細胞を採取するので、スクリーニングにさほど時間はかからない。一方、これらの過程と同時進行で凍結切片の作製、簡便 H-E 染色を行う。細胞診標本観察中、あるいは観察後に凍結切片標本ができあがり、観察がなされる。最終的に細胞診と凍結切片の総合判断で報告を行うが、ほとんどの場合先に作製され

た細胞診標本のみで診断可能である。検体到着後、ひとつの標本を診断するのに要する時間は5~13分、平均8.2分で⁷⁾、細胞診のみの場合はその時間はさらに短縮される。

細胞診の迅速染色にはいくつかの方法があるが、われわれは以下の理由^{5,7)}により簡便 H-E 染色を採用している。すなわち、染色時間が2~3分と短く、迅速診断に適している。湿固定であることにより、細胞所見の判定基準もパパニコロー染色とほぼ同様と考えて差し支えない。さらに、H-E 染色は凍結切片と同一であるため、標本どうしの比較も行いやすい。以上に加えて、H-E 染色自身が病理医にとって最もなじみやすいことが最大の理由である。

塗抹細胞診の有用性⁷⁾については、第一に凍結切片を作製する部位から直接細胞を塗抹するため、凍結切片と同じ病変の細胞像を観察することが可能である。すなわち、凍結切片で組織構築を、塗抹細胞診標本で個々の細胞像を観察し、両者をあわせて判断すれば正診率の向上が期待できる。また、組織切片との対比ができることから、穿刺吸引細胞診標本を観察するためのトレーニングの機会にもなる。第二に、病変部を肉眼観察したのち、これより直接細胞を塗抹するため、診断のために適切で十分な細胞量を得ることが可能である。第三に、大きな組織片が提出され全体を凍結切片にできない場合にも、組織全体から捺印、または擦過による細胞診を行い検索できる。第四に、脂肪が多い組織、または石灰化の強い組織で凍結切片を作りにくい検体でも細胞診による検索は可能である。

実際に術中迅速細胞診の診断精度は非常に良好であった。主病変の良悪性判定については、われわれの検討では塗抹細胞診のみによる正診率は96.4%で、凍結切片標本のみでの正診率97.1%と差がなかった。同様の検討では、Esteban ら³⁾は diff-Quik 染色を用いた塗抹細胞診で87.5%, 凍結切片では92.1%, De Rosa ら⁴⁾は簡便 H-E 染色で塗抹細胞診95.3%, 凍結切片93.1%の正診率を得ている。いずれの報告でも、塗抹細胞診と凍結切片の正診率に有意差がないばかりか、De Rosa らの検討ではむしろ塗抹細胞診の方が優れていた。これらの結果から、塗抹細胞診は凍結切片標本観察のための補助手段としてのみでなく、独立した診断手段として用いることも可能と思われる。米国では実際に、基本的には凍結切片を作製せずに細胞診のみで迅速診断を行っている施設もある³⁾。

われわれの経験では、凍結切片では診断困難である

(ひとつの切片の診断に要する時間=5~13分, 平均8.2分)

図1 術中迅速診断の過程 (川崎医科大学病理)

が塗抹細胞診では比較的診断が容易であった病変として、非浸潤性乳管癌、乳管内乳頭腫、乳管過形成などがあげられる。乳管内に細胞増殖の強い病変であり、これらは凍結切片上の組織構築のみから良悪性の判定を行うことが困難な場合が多く、正しい診断のためには細胞診の併用がきわめて重要な意味を持つと考えられる。たとえば、乳管内乳頭腫は、凍結切片のみでは5例中3例しか正診にいたらなかったが、塗抹細胞診単独では全例良性の診断が可能であった。同様に、乳管過形成や非浸潤性乳管癌も、むしろ塗抹細胞診単独の方が正診率が良好と思われた。すなわちこれまで凍結切片による迅速診断は望ましくない⁸⁾とされてきた乳管内病変の診断にも、塗抹細胞診が役立つ点は特筆すべきと考えられた。

しかし、細胞診は必ずしも万能ではなく、反対に単独では診断しにくい病変も存在する。たとえば粘液癌は細胞異型が乏しいことから、背景の粘液基質が塗抹されていないと良性と考えがちである。乳頭腺癌で細胞異型が乏しい場合や、授乳期腺腫、乳管過形成、硬化性腺症など良性疾患で上皮の結合性が低下したり、細胞異型がみられる場合も診断が困難で、細胞所見を観察するうえで十分注意が必要であろう。

また、判定に際しては塗抹方法の影響も見逃すことはできない。線維腺腫のうち上皮成分の増殖が強いものでは、擦過細胞診のみで判定すると上皮の結合性が著しく低下し、癌と鑑別困難になる。逆に硬癌では、塗抹細胞量が少なく癌と判定できない症例も存在した。

細胞診で診断困難な症例については、凍結切片による組織構築像を同時に観察することができれば、診断を誤る可能性は低くなると思われる。われわれの検討結果でも、主病変の正診率は塗抹細胞診単独では96.1%であったが、凍結切片の併用により99.5%に上昇していた。ただ、実際の報告時の診断では、複数の病理医が診断にあたっていること、診断時間に制約があることから、今回の再検討より低い正診率（正診率95.0%）であった。

また、乳癌症例における癌の広がり判定では、リンパ節転移の有無の判定、および乳房温存手術における温存乳房内の癌遺残の有無の判定とともに、凍結切片とはほぼ同等の正診率を示していた。注目すべき点としては、誤陰性例はなく、特異性が100%であった。しかし鋭敏度の点では、凍結切片と比較するとリンパ節転移の判定ではわずかに、温存乳房の癌遺残の判定で

は著しく劣っていた。本来広範囲から細胞採取が可能なのは塗抹細胞診でこのような結果であったことは、塗抹方法の不備とも思われる。今後の検討課題としたい。

以上、簡便 H-E 染色塗抹細胞診標本では、単独でも凍結切片とほぼ同様の診断率をあげることが可能であることを明らかにした。日常の術中迅速診断においては、基本的に手間のかからない塗抹細胞診を主体に診断し、判定に苦慮する症例のみ凍結切片を作製する方法も有用かと思われる。そのためにも、今後さらに細胞診の診断精度をあげるさまざまな工夫が必要であろう。

Summary

We examined the usefulness of intraoperative cytologic examinations in breast diseases, especially by comparing diagnostic accuracy with that of frozen sections. Rapid hematoxylin-eosin staining was used because it reveals the cytological details of frozen sections. Among 444 main lesions, the total diagnostic accuracy of cytology was 96.1% and not significantly different from that of frozen sections (97.1%). If the two procedures were combined, diagnostic accuracy should increase to 99.5%. The accuracy of examinations for lymph node metastases and of partial mastectomy margins was 98.4% and 95.6%, respectively. These results are also similar to those of frozen section diagnosis. There were no false positives in these two cytologic examinations. These results suggest that intraoperative cytology can be used as an independent diagnostic procedure without frozen sections. However, we must determine what lesions are difficult to diagnose by cytology alone.

文 献

- 1) 坂元吾偉: Frozen section—その適応と限界, 外科, 31: 1242~1247, 1990.
- 2) 長村義之: 外科病理マニュアル, pp. 9~11, 文光堂, 東京, 1992.
- 3) Esteban, J.M., et al.: Intraoperative diagnosis of breast lesions. Comparison of cytologic with frozen section technics. Am. J. Clin. Pathol., 88: 681~688, 1987.
- 4) De Rosa, G., et al.: Intraoperative cytology in breast cancer diagnosis. Comparison between cytologic and frozen section technique, Diagn. Cytopathol., 9: 623

- ～631, 1993.
- 5) 真鍋俊明：外科病理学入門－パターン分類による診断へのアプローチ, pp. 175～197, 医学書院, 東京, 1986.
- 6) 中川定明・他：術中迅速組織標本の作り方, 検査と技術, 3: 88～91, 1975.
- 7) 真鍋俊明・他：乳腺病変の迅速組織診, 病理と臨床, 9: 458～460, 1991.
- 8) 坂元吾偉：乳腺病変の術中迅速組織診, 病理と臨床, 9: 455～456, 1991.
-