〈特 集〉 各種臓器の悪性腫瘍治療効果判定と細胞診

穿刺吸引細胞診を用いた乳癌および転移性肝癌に対する
癌化学療法効果判定の試み

鳥取大学医学部第1外科

広岡 保明 浜副 隆一 塩田 摂成 大谷 真二
小林 誠人 貝原 信明

穿刺吸引細胞診を用いて乳癌および転移性肝癌の治療効果判定を試み、その有用性を検討した。

動注化学療法あるいは局所温熱療法併用下に動注化学療法が施行された乳癌3例、転移性肝癌14例（大腸癌：10例、胃癌：4例）を対象として、穿刺吸引細胞診の手法を用いて癌細胞を採取し、治療後における癌細胞の変性度（degeneration index：DI）と腫瘍縮小率より判定した奏効度および患者生存期間とを対比検討した。

治療後の癌細胞には、核の腫大・膨化、巨細胞・多核巨細胞化、核クロマチンの粗造化など、核の変化が主に認められた。治療後のDIの変化と奏効度とはよく一致し、DIの変化が+5点以上の症例は全例 partial response (PR) 群であった。大腸癌肝転移症例の治療後のDIの変化と治療後生存期間との間には有意 ($P<0.001$) な相関関係を認めた。

以上より、乳癌および転移性肝癌における治療後のDIの変化は、局所治療効果の判定ならびに予後予測因子として有用であることが示唆され、穿刺吸引細胞診を用いた本法は治療効果判定法として有効であると考えられた。

Key words : Breast cancer—Metastatic liver cancer—Aspiration cytology—Therapeutic effect

I. はじめに

本邦における癌化学療法の治療効果判定法としては、日本癌治療学会の固形がん化学療法直接効果判定基準¹⁾（以下、日癌治判定基準と略す）が現在広く一

般に用いられている。海外においてはWHOの評価法²⁾があるが、いくつかの問題点があるため、Moertelら³⁾により治療効果判定の誤差をなくすための検討が行われており、わが国のような基準作成が好ましいと指摘されている⁴⁾。このように日癌治判定基準は国際的にも通用し、他施設の成績と比較でき、誰にでも、どの施設でも判定が可能である⁵⁾という合理的な判定基準であるが、実際の臨床で応用した場合、腫瘍の体積が算出できる例では面積より体積で治療効果を判定したほうが誤差が少ない³⁾、組織学的判定基準がなく腫瘍の内部構造の変化（中心壊死など）が奏効度に反映されない、あるいは奏効度が予後を完全には反映していない⁵⁾など、種々の問題点が指摘されている。われわれはこれらの問題点を解決し、臨床で応用しやすい治療効果判定法を確立するため、乳癌および

Cytological evaluation of chemotherapeutic effects on breast cancer and metastatic liver cancer

Yasuaki HIROOKA, M.D., Ryuichi HAMAZOE, M.D., Setsujyo SHIOTA, M.D., Shinji OHTANI, M.D., Makoto KOBAYASHI, M.D., Nobuaki KAIBARA, M.D.

First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Tottori University

論文別刷請求先 ☎ 683 鳥取県米子市西町36 鳥取大学医学部第1外科 広岡保明

平成6年10月3日受付

平成7年4月28日受理

転移性肝癌に対して治療前後における腫瘍内部の変化を細胞レベルで捉えた治療効果判定を試み、その有用性につき検討したので報告する。

II. 対象および方法

1. 対象

表1に示すごとく、体表病巣としては局所温熱療法併用内胸動脈内化学療法（以下、内胸動注と略す）が施行された原発性乳癌3例を対象とした。体深部病巣としては転移性肝癌14例（原発巣：大腸癌10例、胃癌4例）を対象とした。転移性肝癌は全例肝両葉に多数散在性に転移を認めるH3^{6,7)}症例で、原発巣の大部分は高分化型の腺癌であった。転移性肝癌14例中8例に肝動脈内化学療法（以下、肝動注と略す）が施行され、6例に局所温熱療法併用肝動注が施行された。乳癌病巣は治療後に姑息的に切除され、大腸癌お

よび胃癌原発巣は化学療法開始前に姑息的切除がなされた。内胸動注にはadriamycin (ADM) 10 mgおよび5-fluorouracil (5-FU) 250 mgを用いて毎週1回の局所温熱療法施行時に動注し、原則として2ヵ月間治療した。肝動注にはcis-platinum (CDDP) 25~30 mgおよび5-FU 250 mgを用いて毎週1回動注し、原則として2ヵ月間治療した。局所温熱療法併用肝動注症例は上記肝動注時に局所温熱療法を併用した。局所温熱療法にはradiofrequency (RF) 誘電加温装置 (Thermotron RF-8: 山本ビニター社製) を用いた。

癌細胞は、治療前および治療開始2ヵ月後にそれぞれの病巣より穿刺吸引細胞にて採取された。すなわち、乳癌病巣においては腫瘍辺縁の表層より約5 mmの部位より穿刺吸引し、肝転移巣においてはエコー上腫瘍中心部を避けて、腫瘍辺縁部よりエコーガイド下にPTC針(22ゲージ)を用いて穿刺吸引した。

表1 対象症例

No.	年齢	病巣 (原発巣)	原発巣の 組織型	肝転移 度	化学療法	抗癌剤	治療後 中心壊死	奏効 度	細胞変性度			治療後生存 期間(月)
									治療前	治療後	変化	
1	47	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	PR	0	8	+8	32
2	64	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	PR	1	7	+6	20
3	53	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	+	NC	0	4	+4	22
4	70	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	NC	1	2	+1	9
5	58	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	PD	6	7	+1	9
6	49	転移性肝癌 (胃癌)	中分化型 管状腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	PR	1	6	+5	16
7	70	転移性肝癌 (胃癌)	中分化型 管状腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	NC	1	1	0	3
8	71	転移性肝癌 (胃癌)	乳頭腺癌	H3	動注	CDDP+5FU	—	PD	2	2	0	5
9	61	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注+RF	CDDP+5FU	—	NC	2	4	+2	7
10	75	転移性肝癌 (大腸癌)	中分化腺癌	H3	動注+RF	CDDP+5FU	+	NC	4	7	+3	12
11	76	転移性肝癌 (大腸癌)	中分化腺癌	H3	動注+RF	CDDP+5FU	+	NC	2	5	+3	18
12	60	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注+RF	CDDP+5FU	—	NC	7	8	+1	14
13	58	転移性肝癌 (大腸癌)	高分化腺癌	H3	動注+RF	CDDP+5FU	—	NC	8	8	0	4
14	78	転移性肝癌 (胃癌)	乳頭腺癌	H3	動注+RF	CDDP+5FU	—	NC	2	2	0	9
15	57	乳癌	乳頭腺管癌	H0	動注+RF	ADM+5FU		PR	1	8	+7	28
16	79	乳癌	充実腺管癌	H0	動注+RF	ADM+5FU		NC	4	6	+2	17
17	44	乳癌	乳頭腺管癌	H0	動注+RF	ADM+5FU		NC	2	5	+3	16

H0: 肝転移を認めない, H3: 肝両葉に多数散在性に転移を認める, 動注: 動脈内化学療法, RF: 局所温熱療法, CDDP: cis-platinum, 5FU: 5-fluorouracil, ADM: adriamycin, PR: partial response, NC: no change, PD: progressive disease

表 2 細胞変性度 (DI) 採点基準

	クラスター 形成能低下	染色性 低下	胞体変化 (空胞, 裸核)	核の変化 (空胞, 粗造)	多核巨細胞 巨細胞化	癌細胞数に対する 壊死物質増加
不 変	0	0	0	0	0	0
軽 度	1	1	1	1	1	1
中 等 度	2	2	2	2	2	2
高 度	3	3	3	3	3	3

写真 1 原発性乳癌症例. 上: 治療前, 下: 治療後に約 50% の腫瘍縮小が得られた

写真 2 原発性乳癌症例における治療前後の穿刺吸引細胞像. 上: 治療前, 下: 治療後には巨細胞・多核巨細胞化した変性の強い癌細胞を認める (Pap. 染色×400)

2. 細胞変性度 (degeneration index : DI) の算定

細胞変性度 (以下, DI と略す) は, 穿刺吸引細胞診で得られた癌細胞約 200 個を検鏡 (Papanicolaou 染色, 対物 40 倍) し, 変性のない腺癌細胞に対する形態上の変化を表 2 のごとく ① クラスター形成能の低下, ② 染色性の低下, ③ 胞体の変化 (空胞, 裸核など), ④ 核の変化 (空胞, クロマチンの凝集や粗造など), ⑤ 多核巨細胞・巨細胞化, ⑥ 癌細胞数に対する壊死物質量の増加, の 6 項目に分類し, それぞれの変化の程度を変化なし (0 点) ~ 変化高度 (3 点) とし, 合計した点数で表わした。

治療前後における DI の変化は, 治療後の癌細胞の

DI より治療前の癌細胞の DI を引いた点数で示した。

3. 腫瘍縮小率の算定

乳癌病巣に対する腫瘍縮小率は, 治療前後における触診上の腫瘍の長径と短径を計測して算出した。肝転移巣に対する腫瘍縮小率は治療前後における CT 上最大の肝転移巣の長径とそれに直角に交わる最大径を計測して算出した。治療による奏効度は, 日癌治判定基準¹⁾に従い腫瘍縮小率より CR, PR, NC, PD の 4 群に分類した。

4. 検討方法

治療前後における DI の変化と奏効度とを対比検討した。また, 大腸癌肝転移 10 例における治療前後の

DI の変化と治療後生存期間とを対比検討した。

III. 結 果

1. 治療前後における細胞像の変化

治療後に腫瘍が触診上約50.2%縮小し、奏効度PRと判定された原発性乳癌症例を写真1に示した。写真2に治療前後の細胞像を示したが、治療後著明な巨細胞・多核巨細胞化がおこり、治療前後におけるDIの変化は+7点であった。

治療後に中心壊死に陥った大腸癌肝転移症例のCT像を写真3に示した。本症例においては、中心壊死に陥ったにもかかわらず腫瘍自体の大きさの変化がほとんどないため、奏効度NCと判定されたが、細胞の変化は写真4に示したごとく、治療後には壊死物質の増加、核クロマチンの粗造化などの変化を生じ、治療前後におけるDIの変化は+3点であった。つまり、CT上は変化なしと判定されたものが、細胞診上は変化ありと判定された。

全症例における治療後の細胞像の変化としては、核の腫大・膨化、核クロマチンの粗造化、巨細胞・多核巨細胞化など、核の変化が主に認められた。

写真3 転移性肝癌のCT像。上: 治療前, 下: 治療後に広範な中心壊死を認めた

2. 治療前後におけるDIの変化と奏効度

乳癌における治療前後のDIの変化を図1に示した。治療前後のDIの変化は、NC群では+3点以下であったがPR群では+7点と大きかった。

肝動注が施行された転移性肝癌における治療前後の

写真4 転移性肝癌における治療前後の穿刺吸引細胞像。上: 治療前にはviabilityの高い癌細胞を認める, 下: 治療後には核の膨化, クロマチンの粗造化, 染色性の低下した癌細胞を認める (Pap. 染色×400)

図1 乳癌における治療前後のDIの変化

DI の変化を図 2 に示した。PR 群の治療前後における DI の変化はいずれも +5 点以上であるのに対して、NC 群、PD 群はすべて +4 点以下で奏効度が悪化するにつれ DI の変化は小さくなった。また、NC 群の中で、治療後に CT 上中心壊死を認めた大腸癌肝転移症例における DI の変化は +4 点で、中心壊死を認めなかった NC 群の DI の変化より大きく、それは PR 群に近似した。

局所温熱療法併用肝動注が施行された転移性肝癌における治療前後の DI の変化を図 3 に示した。局所温熱併用肝動注症例には PR 群、PD 群はなかった。NC 群の中で治療後に中心壊死を認めた症例の DI の変化は +3 点で、中心壊死を認めなかった NC 群の DI の変化 (0 点 ~ +2 点) より大きかった。

3. 治療前後における DI の変化と治療後生存期間

図 4 に大腸癌肝転移症例 (n=10) における治療前後の DI の変化と治療後生存曲線を示した。両者間には有意な ($P < 0.001$) 相関関係を認め、DI の変化が大きい症例ほど治療後生存期間が長かった。

IV. 考 察

日癌治判定基準¹⁾の問題点の 1 つに、組織学的判定基準が示されていないということがあげられる。また、組織学的判定基準が癌取り扱い規約に明示されている胃癌⁶⁾や大腸癌⁷⁾においても組織学的判定基準と奏効度との関係は明確ではない。今回われわれは、体表病巣のみならず、体深部病巣である転移性肝癌から

図 2 肝動注が施行された転移性肝癌における治療前後の DI の変化

図 3 局所温熱療法併用肝動注が施行された転移性肝癌における治療前後の DI の変化

図 4 転移性肝癌 (大腸癌原発) の治療前後における DI の変化と治療後生存期間

も、容易にかつ安全に腫瘍の辺縁から中心部まで細胞採取が可能である⁸⁾穿刺吸引細胞診の手法を用いて、治療前後における癌細胞の変性度 (DI) と奏効度との関係を検討した。その結果、体表病巣の乳癌ならびに体深部病巣の転移性肝癌において、DI の変化と奏効度とはよく一致した。さらに、CT のみでは判定が不十分であった転移性肝癌における中心壊死症例においても、局所治療効果の判定は可能であったことより、本法は組織学的判定基準にかわりうる治療効果判定法として、臨床に応用できるのではないかと考えられた。

細胞診を用いた癌治療効果判定法としては柴田ら⁹⁾や森脇ら¹⁰⁾によって提唱され、すでに臨床に应用されているものもあるが、それらは放射線照射による細胞学的治療効果判定基準であり、化学療法における細胞変化は放射線療法に比べて種々の変性段階の細胞が混在し、癌細胞陰性化に至るまでの経過が長く、効果のばらつきが大きく¹¹⁾かつ複雑であるため¹²⁾、前述の基準は化学療法による細胞学的効果判定法として活用されていないのが現状である¹³⁾。それに対してわれわれの試みた方法は、化学療法を施行した乳癌および転移性肝癌の局所治療効果判定法として有用であることが示唆されたことより、癌化学療法後の細胞学的効果判定基準としての活用が期待できるのではないかと考えられた。

治療効果を論ずるうえで重要なことの1つに、治療によって得られた効果が生存期間の延長に結び付くのが本来の姿ではないか、という考えがある。しかるに、癌患者の生存期間は治療のみならずその他種々の要因によって影響を受けるため⁴⁾、奏効度と延命とは必ずしも一致しない¹³⁾のが現状である。もし、局所治療効果の判定がそのまま予後予測因子となりうるならば、治療効果判定法として非常に有用であることは間違いないであろう。細胞像の変化と予後との関係を論じた研究は数多く報告されており、田嶋¹⁴⁾によれば、子宮頸癌患者の治療前の癌細胞の形態から70~80%の高頻度で予後が推定できたとしている。また、Graham¹⁵⁾も放射線照射による良性細胞の変化は予後推定の参考になると報告している。今回、われわれが試みた治療前後におけるDIの変化は点数となって表され、その点数が大きい大腸癌肝転移症例では予後も良好であった。

以上より、穿刺吸引細胞診を用いた本法は新たな治療効果判定法の1つになりうるものと考えられるが、

一方で本法の問題点も指摘されている。それは、体深部病巣では治療前後における同一部位からの確実な細胞採取は困難ではないかということである。その問題点に対してわれわれは、可能なかぎり腹部超音波画像上同一部位を確認し、比較的壊死の少ない腫瘍の辺縁を中心に細胞を採取することで克服できると考えている。

Summary

We evaluated the effects of chemotherapy for breast cancer and metastatic liver cancer using aspiration biopsy cytology.

In 3 patients with breast cancer and 14 patients with liver metastases (10 from colorectal cancer and 4 from gastric cancer), cancer cells were obtained by the aspiration technique before and after treatment with intra-arterial infusion chemotherapy combined with local hyperthermotherapy. The degeneration indices (DI) of cancer cells were scored with predetermined criteria before and after treatment, and the correlation between changes in DI and the clinical response rate to treatment was investigated.

The morphological changes in cancer cells consisted mainly of nuclear changes such as enlarged or swollen nuclei, giant cell formation with multiple nuclei and rough nuclear chromatin. The change in DI showed a good correlation with the rate of clinical responsiveness to treatment, and all of the patients with a DI difference exceeding 5 points between pre- and post-treatment showed a partial response to chemotherapy. There was a significant correlation between the DI difference and the survival period in patients with liver metastases from colorectal cancer ($P < 0.001$).

These results suggest that the DI change in cancer cells obtained by aspiration biopsy cytology is a useful means of evaluating chemotherapeutic effects at the local level and may serve as a prognostic parameter in patients with liver metastases from colorectal cancer.

文 献

- 1) 日本癌治療学会. 固形がん化学療法直接効果判定基準. 日癌治療会誌 1986; 21: 931~941.
- 2) WHO. WHO handbook for reporting results of cancer treatment. WHO offset publication No. 48. Geneva: WHO, 1979.
- 3) Moertel, C.G., Hanley, J.A. The effect of measuring error on the results of therapeutic trials in advanced

- cancer. *Cancer* 1976 ; 38 : 388~394.
- 4) 賀古 真. 癌化学療法の問題点・肝臓. 癌と化療 1989 ; 16 : 307~310.
 - 5) 古江 尚. 癌化学療法効果判定の問題点. 癌と化療 1989 ; 16 : 297~301.
 - 6) 胃癌研究会編. 胃癌取り扱い規約. 第12版. 東京 : 金原出版, 1993 ; 136.
 - 7) 大腸癌研究会編. 大腸癌取り扱い規約. 第5版. 東京 : 金原出版, 1994 : 42.
 - 8) Hirooka, Y., Matsui, T., Kobayashi, Y., Kimura, A., Iitsuka, Y. Evaluation of aspiration biopsy cytology in disease of the liver, gallbladder and pancreas. *Yonago Acta Med.* 1987 ; 30 (suppl) : 95~104.
 - 9) 柴田偉雄, 坪井栄孝, 尾形利郎, 鈴木 明. 経時的細胞診による肺癌の放射線療法および化学療法の効果判定について. 癌の臨 1968 ; 14 : 310~323.
 - 10) 森脇昭介, 猪原照夫, 吉田岑雄. 子宮頸癌放射線治療効果の記号化. 癌の臨 1971 ; 17 : 704~706.
 - 11) 柴田偉雄. 子宮頸癌の治療と細胞診. 癌と化療 1982 ; 9 : 1704~1710.
 - 12) 松田 実, 宝来 威. 肺癌の治療と細胞診. 癌と化療 1982 ; 9 : 1695~1703.
 - 13) 中尾 功. 消化器癌化学療法の効果判定基準の問題点について. 癌と化療 1989 ; 16 : 302~306.
 - 14) 田嶋基男. 癌の治療と細胞診. 癌と化療 1982 ; 9 : 1688~1694.
 - 15) Graham, R.M. Effect of radiation on vaginal cells in cervical carcinoma. I description of cellular changes ; II prognostic significance. *Surg. Gynec. & Obst.* 1974 ; 84 : 153~166.
-