〈特集〉 細胞診へのフィードバックを目ざす新しい手法

客観的核異型度評価による甲状腺乳頭癌
リンパ節転移予測

千葉大学医学部第1外科

長嶋 健 鈴木 正人 押田 正規 橋本 秀行
矢形 寛 中島 伸之

甲状腺乳頭癌の術前細胞診検体を用いて核異型度の客観的評価を行い、組織学的リンパ節転移との関連性につき検討した。

対象は1987年6月から1994年12月までに当科において手術を施行した初発甲状腺乳頭癌症例のうち頸部リンパ節郭清を併施した89例、および1995年の症例24例である。術前細胞診にて採取された細胞核を画像解析し、平均核面積・周囲長・円形度・針状比、および大小不同性の客観的指標として核面積変異係数(NACV)を算出した。また従来の形態学的因子である核溝・核内細胞質封入体の出現率を求めた。

リンパ節転移の有無別にみると、NACVにおいて最も有意な差がみられ($P<0.0001$)、リンパ節転移個数との間にも相関を認めた。リンパ節再発例はすべてNACVが高値であった。NACVのカットオフ値を22%と定め、1995年の症例を用いてprospectiveに検討すると、NACV高値群と低値群ではリンパ節転移において有意な差を認めた($p<0.001$)。

甲状腺乳頭癌における術前客観的核異型度評価はリンパ節転移予測の指標となり、術式決定の一助となると考えられた。

Key words : Thyroid—Morphometry—Aspiration cytology—Papillary carcinoma—Metastasis

I. はじめに

甲状腺乳頭癌は予後の比較的良好な疾患であるが、

Preoperative cytological morphometry in papillary thyroid cancer : A useful approach for predicting lymph node metastases

Takeshi NAGASHIMA, M. D., Masato SUZUKI, M. D., Masaki OSHIDA, M. D., Hideyuki HASHIMOTO, M. D., Hiroshi YAGATA, M. D., Nobuyuki NAKAJIMA, M. D.

The First Department of Surgery, Chiba University School of Medicine

論文別刷請求先 〒260 千葉市中央区亥鼻1の8の1 千葉大学医学部第1外科 長嶋 健

平成8年7月16日受付

平成8年9月6日受理

リンパ節転移の頻度は高く、30~70%と報告されている¹⁾。甲状腺乳頭癌の外科的治療を行う際には、原発巣を含めた甲状腺切除に加え頸部リンパ節郭清を併施するのが一般的であるが、各種画像診断法によっても術前にリンパ節の質的診断を正確に行うことはしばしば困難であるため、その郭清範囲は施設間で差があるのが現状である。一方、甲状腺分化癌の細胞異型は軽微であり、客観的核異型度についての報告は少ない。

今回われわれは、術前細胞診検体を用いて甲状腺乳頭癌の術前客観的核異型度評価を行い、組織学的リンパ節転移との関係について検討したので報告する。

II. 対象と方法

1987年6月から1994年12月までに千葉大学第1外科において手術を施行した初発甲状腺乳頭癌症例のうち、頸部リンパ節郭清を併施した89例を対象とした。また、prospective studyには1995年の甲状腺乳頭癌手術症例24例を用いた。

術前の細胞検体採取は千葉大1外科式吸引ピストルを用いた穿刺吸引法で行い、得られた細胞像を光学顕微鏡よりCCDカメラを通してコンピューターに取り込み、画像解析(MAC SCOPE;三谷社)を用いて1症例あたり100個以上の細胞核について客観的核異型度の計測を行った。核の大きさの指標として平均核面積および周囲長を、核形態の指標としては円形度(4π 核面積/(周囲長)²)および針状比(絶対最大長/対角比)を求めた。さらに大小不同性の指標として核面積変異係数(Coefficient of Variation of Nuclear Area;以下NACV)を次式に従って算出した。

$$NACV = \text{核面積標準偏差} / \text{平均核面積} \times 100 (\%)$$

また、甲状腺乳頭癌に特徴的とされる核内細胞質封入体および核溝の細胞100個あたりの出現率を求めた。これらの測定には術前細胞診Papanicolaou染色標本を用いた。

以上の方法によって得られた各計測値と組織学的リンパ節転移との相関について統計学的検討を行った。また細胞診検体より得られた計測値が組織を十分反映しているかを検討するため、組織H-E染色標本においても腫瘍最大断面の部分を用いて同様の計測を行い、両者間の相関につき検討した。

これらより得られた結果をふまえて、1995年の24

例を用い、prospectiveに検討した。

有意差検定にはStudent's *t* testおよびカイ二乗検定を、二群間の相関にはleast square linear regressionを用い、危険率5%未満を有意差ありと判定した。

III. 結 果

1987年6月より1994年12月までの症例は89例で、男性9例、女性80例、年齢17~78歳(平均50.8歳)、腫瘤径0.5~8.0cm(平均2.5cm)であった。すべての症例において術前に腫瘤の穿刺吸引細胞診を行い、頸部リンパ節郭清とともに甲状腺全摘術を11例に、亜全摘を38例、葉切除を40例に施行した²⁾。このうち組織学的リンパ節転移陽性は55例、転移陰性は34例で、両群間の背景因子に統計学的有意差を認めなかった。

リンパ節転移の有無別にみると、針状比はリンパ節転移陰性群 1.18 ± 0.04 に対し陽性群 1.22 ± 0.11 、NACVは陰性群 17.92 ± 4.13 、陽性群 24.54 ± 4.97 であり、陽性群において有意に高値であった($P < 0.05$, $P < 0.0001$)。設定した他の計測項目では統計学的有意差が認められなかった(図1)。細胞診検体と組織検体との相関では、平均核面積、周囲長、NACV、核溝および核内細胞質封入体出現率において両者間に正の相関を認めた(図2)。

したがってリンパ節転移と相関し、組織検体も十分に反映していたNACVを用いさらに検討を加えた。リンパ節転移個数はNACV値と正の相関を示し、NACVが大きくなるほど転移個数も増す傾向がみられた(図3)。NACVの平均値22%をカットオフ値とし、それ以上をNACV高値群、未満を低値群とす

図1 客観的核異型度とリンパ節転移

図2 細胞診・組織検体間における核異型度の相関

図3 NACV とリンパ節転移個数

ると、両者間に有意な差を認めた ($P<0.0001$)。術後平均観察期間は3年5ヵ月(6ヵ月～8年6ヵ月)で、以上の症例中、リンパ節再発は3例に認められたが、いずれもNACV高値群であった(写真1, 2)。

1995年の症例24例のうちNACV高値群は7例、低値群は17例で、両群間の年齢、性別、腫瘍径に有意差はなく、全例に葉切除以上の甲状腺切除とD2a以上の頸部リンパ節郭清²⁾を施行した。このうち組織学的リンパ節転移は11例に認められ、NACV値の高低とリンパ節転移有無との関係をprospectiveに検討すると、術前NACV高値群7例はすべて組織学的リンパ節転移陽性であり、NACV低値群においては17例中4例にリンパ節転移が認められた ($P<0.001$)。

写真1 組織学的リンパ節転移陰性例, NACV=15.19% (Pap. 染色, ×40)

写真2 組織学的リンパ節転移陽性例, NACV=24.70%, 術後2年6ヵ月リンパ節再発を認めた (Pap. 染色, ×40)

これより算出した Sensitivity は 63.6%, Specificity 100%, Accuracy 83.3%であった。

IV. 考 察

近年甲状腺癌の検診も次第に普及し、当科においても腫瘍の比較的小さな甲状腺癌の外科的治療を行う機会は増加している。甲状腺乳頭癌のリンパ節転移は腫瘍の大小に依存しないことが多いが、早期発見例に対しても画一的な頸部リンパ節郭清を行うことは疑問の残るところである。超音波検査をはじめとする各種画像診断法の進歩により頸部リンパ節の描出能は向上しているが、質的診断に関してはいまだ十分とはいえない。一方、細胞診上の核異型度は観察者の主観によるところが大きく、客観的な核異型度評価は一般的になされていないのが現状である。著者らは、細胞診上の核異型度はその腫瘍の悪性度を反映しているであろうという観点から、甲状腺乳頭癌において術前に得られる細胞診検体を用いて客観的な核異型度評価を行い、組織学的リンパ節転移との関係につき検討した。

宮内³⁾は乳癌の細胞診検体を用いた核異型度評価が組織学的リンパ節転移および術後遠隔成績との間に有意な相関を認めたと報告しており、術前に細胞診検体を用いて腫瘍のもつ悪性度を評価することは、甲状腺癌に限らず診療側に重要な情報をもたらすことに相違ない。われわれの検討のような核異型度計測のみならず、細胞診検体を用いたフローサイトメトリーによる DNA 解析⁴⁾や免疫染色による検討⁵⁾など、さまざまな細胞診上の手法が報告されている。しかしながら、実際の診療においてはコストや手技の複雑さなどが制約となることは事実上否めない。比較的簡便で再現性に富み、施設や特殊な設備を必要としない方法が最も望ましいと思われるが、今回われわれが用いた手法は通常細胞診断に用いる光学顕微鏡に加え CCD カメラと一般のパーソナルコンピューターがあれば測定可能で特殊な染色などを必要とせず、細胞 100 個の計測も短時間で済み、この観点からいえば十分にその範疇に入るものと考えられる。

甲状腺穿刺吸引細胞診は高い正診率を期待でき、甲状腺癌の多くの症例では組織型推定も十分可能である⁶⁾。特に甲状腺乳頭癌は WHO の組織分類⁷⁾においても診断基準が核所見となり、術前の細胞診断が重要性を増していることはいうまでもない。細胞診の役割としては第一に良悪性の鑑別が重要であり、次いで組

織型の判定が得られるのが望ましいことは周知のことであるが、甲状腺乳頭癌においては上記までの階段は十分達せられていると考えられ、直接診療に従事する医療者の立場からみると、従来の細胞診断以上のさらなる情報を期待するところである。

今回検討した客観的な核異型度の各パラメーターの中では、NACV において最もリンパ節転移との相関がみられた。さらに NACV はリンパ節転移の有無のみならず転移個数とも相関し、再発例のすべてが NACV 高値であった。また prospective な検討でも、対象症例が 24 例と少数であったにもかかわらず比較的良好な結果が得られた。Cady ら⁸⁾の報告に代表されるように甲状腺分化癌における最も重要な予後因子は年齢であるとされ、Mayo Clinic のグループ⁹⁾は年齢を加味した scoring system の有用性を強調している。リンパ節転移の有無は予後に影響しないということは、多くの報告において一致した見解ではあるが、外科治療におけるリンパ節郭清に関しては一定した基準が定まっていない。今後甲状腺乳頭癌の外科的治療に際し、客観的な核異型度 NACV が頸部郭清の必要性の有無あるいは郭清範囲について言及しうる可能性が十分にあると考えられる。たとえば、術前 NACV が低値であった症例は頸部郭清の省略や縮小が可能であろうし、反対に高値例は確実に郭清を行うとともに再発のハイリスク群として術後の経過観察を厳重に行うといった指標になるものと思われる。しかしながら、転移リンパ節の診断は各種画像診断とあわせて慎重に評価すべきであることはいうまでもなく、カットオフ値の設定を含め、今後さらに多くの症例を積み重ねて検討する必要がある。

今回設定した核異型度各計測項目中、核形態の指標として用いた円形度および針状比は組織検体との相関を認めなかった。これはわれわれが細胞診検体を作成する際、擦り合わせを行っているため、そのことが結果に影響した可能性も否定できない。また従来の形態学的因子である核内細胞質封入体および核溝は、電顕レベルの検討により核膜の陥入によって生ずると報告されており^{10,11)}、それらは核異型の反映とも考えられる。Francis ら¹²⁾は核溝出現率計測が甲状腺腫瘍の鑑別診断に有用であったと述べているが、リンパ節転移との関係においては核溝出現率、封入体出現率ともに相関は認められなかった。

甲状腺乳頭癌の組織学的な亜型として、腫瘍の全体あるいは一部分に充実性構造や索状構造を示すもの

は、転移率が高く予後が悪いとして Sakamoto¹³⁾は低分化癌の概念を提唱し、Tscholl ら¹⁴⁾はこの type を組織学的分化度から中分化型と分類している。また高齢者に多く、予後不良の亜型として Tall-cell variant^{15,16)}なども報告されているが、いずれも術後永久組織標本での分類であり、現時点でそれらの部分的な組織変化を術前に正確に判定し、なおかつその部分より細胞採取を確実に行うことはきわめて困難であるため、今回の検討では考慮しなかった。今後、これらの予後不良といわれる亜型まで術前に判定できる手法の確立が望まれる。

一般的に細胞診断にはいまだ検討を要する部分も少なからず存在し、ある程度の限界も認識する必要があると思われるが、今回報告した甲状腺乳頭癌に限らず、細胞診材料から治療方針に言及するほどの多くの情報が得られることを切望して止まない。

本稿の要旨は第37回日本臨床細胞学会総会シンポジウムにおいて発表した。

Summary

The present study was carried out to evaluate the lymph node status of papillary thyroid cancer with preoperative morphometric estimations of nuclear variations.

Morphometric analyses including the nuclear size, shape and the coefficient of variation of the nuclear area (NACV) of cancer cells were performed, using aspirated cytological materials obtained from patients with papillary cancer. The frequencies of observed intranuclear cytoplasmic inclusions and nuclear grooves per case were also counted. Among the quantitative parameters, NACV correlated most significantly with lymph nodal involvement ($p < 0.0001$). Furthermore, NACV correlated well with the number of metastatic lymph nodes, and high NACV values were noted in cases with recurrence. Prospective study revealed the efficiency of the NACV cut-off point to be 22%.

In conclusion, preoperative quantitative estimation of cytological features is a useful approach for predicting lymph node metastases in papillary thyroid cancers.

文 献

- 1) 加藤良平. 乳頭癌. 坂本穆彦編, 取扱い規約に沿った腫瘍鑑別診断アトラス. 甲状腺, 東京: 文光堂, 1991: 21~53.
- 2) 甲状腺外科検討会. 甲状腺癌取扱い規約, 第5版. 東

京: 金原出版, 1996.

- 3) 宮内 充. 術前穿刺吸引細胞診標本における乳癌細胞核異型度の客観的評価—核面積変異係数と病理組織学的所見および術後遠隔成績との関連について—. 日外会誌 1991; 92: 1642~1649.
- 4) 鈴木正人, 押田正規, 長嶋 健, 橋本秀行, 矢形 寛, 小野木淳・ほか. 細胞診検体による乳癌核 DNA 量測定. 乳癌の臨 1995; 10: 17~23.
- 5) 丸田淳子, 川本 均, 野口志郎, 山下裕人. 甲状腺疾患における癌遺伝子 c-erbB-2, c-myc の免疫組織・細胞学的検討. 日臨細胞誌 1995; 34: 1025~1029.
- 6) 坂本穆彦. 甲状腺穿刺吸引細胞診の現状と問題点. 日臨細胞誌 1993; 32: 1079~1085.
- 7) Hedinger, C. Histological typing of thyroid tumors, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin: WHO, 1988.
- 8) Cady, B., Sedgwick, C. E., Meissner, W. A., Wool, M. S., Salzman, F. A., Werber, J. Risk factor analysis in differentiated thyroid cancer. Cancer 1979; 43: 810~820.
- 9) Hay, I. D., Grant, C. S., Taylor, W. B., McConeahy, W. M. Ipsilateral lobectomy versus bilateral lobar resection in papillary thyroid carcinoma: A retrospective analysis of surgical outcome using a novel prognostic scoring system. Surgery 1987; 102: 1088~1095.
- 10) Gray, A., Doniach, L. Morphology of the nuclei in papillary carcinoma of the thyroid. Br. J. Cancer 1969; 23: 49~51.
- 11) Lindsay, S. Carcinoma of the thyroid gland: A clinical and pathologic study of 293 patients at the University of California Hospital. Illinois: Charles C Thomas, 1960.
- 12) Francis, I. M., Das, D. K., Sheikh, Z. A., Sharma, P. N., Gupta, S. K. Role of nuclear grooves in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: A quantitative assessment on fine needle aspiration smears. Acta Cyto 1995; 139: 409~415.
- 13) Sakamoto, A., Kasai, N., Sugino, H. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid: a clinicopathological entity for a high risk group of papillary and follicular carcinomas. Cancer 1983; 52: 1849~1855.
- 14) Tscholl, D. J., Hedinger, C. E. Papillary thyroid carcinomas. Morphology and prognosis. Virch Archiv 1982; 396: 19~39.
- 15) Johnson, T. L., Lloyd, R. V., Thompson, N. W. Prognostic implications of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. Am. J. Surg. Pathol. 1988; 12: 22~27.
- 16) Merino, M. J. Variant forms of thyroid carcinoma. An Intern Med. 1991; 115: 333~340.