症 例

免疫細胞化学的検索を併用した穿刺吸引細胞診が診断に
有効であった乳腺原発悪性リンパ腫の2例

雪の聖母会聖マリア病院病理部細胞診

塚本 孝久	大田 喜孝	伊藤 園江	中野 祐子
大田 桂子	榎田 明美	伊藤 裕司	中村 康寛

乳腺細胞診において、免疫細胞化学的検索が診断に有用であった乳腺原発悪性リンパ腫2例を経験したので報告する。症例1は78歳女性、症例2は44歳女性で、いずれも乳房腫瘍を主訴に外科を受診。2症例の穿刺吸引細胞診における腫瘍細胞は好中球と同大か、それよりやや大きく、結合性を欠き、核は円形～楕円形でN/Cが高く、一部にcleavedな形状を認めた。May-Giemsa染色では好塩基性の細胞質と微細な核クロマチン構築を認めた。以上の細胞所見より悪性リンパ腫を強く疑ったが、低分化腺癌などの鑑別が必要と考えられ、免疫細胞化学的染色(LCA, L26, UCHL-1)を行った。材料は症例1は穿刺吸引細胞診に使用した注射筒の洗浄液塗抹標本にて、症例2では穿刺吸引塗抹乾燥標本と脱Papanicolaou標本を用いて行った。結果は腫瘍細胞に一致して細胞表面に症例1ではLCAとL26に、症例2ではLCAに陽性像を認め、穿刺吸引細胞診の時点で悪性リンパ腫を積極的に推定することができた。組織生検では症例1は非ホジキン悪性リンパ腫、びまん性、大細胞型、症例2は非ホジキン悪性リンパ腫、びまん性(部分的に濾胞性)、中細胞型と診断され、いずれの症例にも化学療法が施行された。

Key words: Breast — Malignant lymphoma — Needle aspiration cytology — Immunocytochemistry — Case report

I. はじめに

乳腺原発の悪性リンパ腫は比較的にまれな乳腺腫瘍で

ある。乳腺腫瘍全体からみればその発生頻度は0.5%以下とされている¹⁾。今回われわれは、術前の乳腺穿刺吸引細胞診に免疫細胞化学的検索を併用することで積極的な推定が可能であった乳腺原発悪性リンパ腫の2例を経験した。今回、乳腺原発悪性リンパ腫の診断における免疫細胞化学の有用性を中心に細胞像、組織像と若干の文献的考察を加えて報告する。

II. 症 例

症例1: 78歳、女性。平成7年3月右乳房腫瘍を主訴に外科を受診。腫瘍はC、D領域に可動性良好で皮膚の発赤を伴った6×6cmの大きさとして触知。乳房エコーにて充実性腫瘍像を呈し、辺縁平滑、内部不均一で低エコーレベルの腫瘍影と右腋窩リンパ節の

Two cases of malignant lymphoma in the breast—Usefulness of needle aspiration cytology with immunocytochemistry for its diagnosis—

Takahisa TSUKAMOTO, C.T., I.A.C., Yositaka OHTA, C.T., I.A.C., Sonoe ITOH, C.T., I.A.C., Yuko NAKANO, C.T., I.A.C., Keiko OHTA, C.T., I.A.C., Akemi UMEDA, C.T., I.A.C., Yuji ITOH, M.D., Yasuhiro NAKAMURA, M.D.

Department of Cytology and Pathology, St. Mary's Hospital

論文印刷請求先 ☎ 830 久留米市津福本町422 雪の聖母会聖マリア病院病理部細胞診 塚本孝久

平成9年2月6日受付

平成9年6月13日受理

腫脹を認めた。乳腺腫瘍の穿刺吸引細胞診を施行し、悪性リンパ腫を疑ったため、穿刺した注射針、注射筒の洗浄液塗抹標本での免疫細胞染色を施行した。同年3月下旬、組織診断を目的とした針組織生検が施行された。

症例 2: 44歳, 女性。平成7年12月右乳房腫瘍を主訴に外科を受診。腫瘍はD領域に3×2cmの大きさで境界明瞭, 可動性良好の腫瘍を触知した。乳房エコーにて境界明瞭な分葉状腫瘍像で内部不均一, 低エコーの腫瘍影と右腋窩リンパ節の腫脹を認めた。乳腺腫瘍の穿刺吸引細胞診にて悪性リンパ腫を疑い, 穿刺吸引時の塗抹乾燥標本および脱 Papanicolaou 染色標本にて免疫細胞染色を施行した。平成8年1月組織診断を兼ねた exisional biopsy が行われた。

III. 細胞形態学的, 免疫細胞化学的所見

症例 1: 穿刺吸引時の Papanicolaou 染色では採取細胞量は豊富で, 腫瘍細胞は比較的小形で円形～楕円形の核を有し, 孤在性に認められた。腫瘍細胞の N/C 比は高く, 核には緊満感があり, 一部には核構を認めた。細胞質は核の一片に舌状にみられ, 核クロマチン構築は細顆粒状で不均等分布し, 核小体は比較的明瞭で1～数個認められた (写真1)。また May-Giemsa 染色での腫瘍細胞の細胞質は好塩基性を示し, 核クロマチン構築は微細であった (写真2)。以上の細胞所見より悪性リンパ腫を疑ったが, 硬癌・浸潤性小葉癌との鑑別が必要と考え, 免疫細胞化学的検索を実施した。穿刺吸引細胞診に使用した注射針・注射筒を細胞培養液 (RPMI-1640) で洗浄し, サイトスピンド細胞塗抹標本を作製した。一次抗体には LCA (Lip-

show 社) および B cell マーカーである L26, T cell マーカーである UCHL-1 (いずれも DAKO 社) を用い, AEC を発色剤とした ABC 法で免疫染色を行った。その結果, LCA と L26 において腫瘍細胞に一致して細胞表面に明瞭な陽性像を認めた (写真3)。以上の所見より B 細胞型悪性リンパ腫と推定した。

症例 2: 穿刺吸引時の Papanicolaou 染色では採取細胞量は豊富で, 小型ながらも大小不同のみられる類円形細胞が結合性を欠き認められた。腫瘍細胞は細胞質に乏しく, ほとんどが裸核状を示し, 核にくびれや切れ込みをもつ細胞を多数認めた。核クロマチン構築は細顆粒状で一部にクロモセーターを認め, 1～数個の小型核小体を認めた (写真4)。May-Giemsa 染色においても腫瘍細胞は大小不同があり, きわめて N/C 比が高く微細な核クロマチン構築を認めた (写真5)。穿刺吸引塗抹乾燥標本および脱 Papanicolaou

写真2 症例1: 穿刺吸引細胞像。細胞質は好塩基性で核クロマチン構築は微細で柔らかい (Giemsa 染色, ×100)

写真1 症例1: 穿刺吸引細胞像。腫瘍細胞は円形～類円形で孤在性に認められた (Pap. 染色, ×100)

写真3 症例1: 洗浄液標本を用いた免疫染色。腫瘍細胞の細胞膜に一致し陽性像を認めた (抗 L26 染色, ×40)

写真 4 症例 2: 穿刺吸引細胞像。大小不同の強い円形ないし楕円形の腫瘍細胞が孤在性に出現し、ほとんどが裸核状でcleavedな核の形状を認めた (Pap. 染色, $\times 100$)

写真 5 症例 2: 穿刺吸引細胞像, 腫瘍細胞は孤在性に多数出現し裸核様で, 核クロマチン構築は微細で柔らかい (Giemsa 染色, $\times 100$)

写真 6 症例 2: 穿刺吸引乾燥塗抹標本を用いた免疫染色。腫瘍細胞の細胞膜に沿って陽性像を認めた (抗 LCA 染色, $\times 40$)

写真 7 症例 1: 病理組織像。核クロマチン染色性に富み大型の核を有する裸核状の異型細胞がびまん性増殖を示す (H・E 染色, $\times 20$)

標本を用いて、症例 1 と同様に免疫染色を行った。その結果、LCA のみにおいて腫瘍細胞の細胞表面に強い陽性像が認められた (写真 6)。以上の所見を総合し、悪性リンパ腫を推定した。

IV. 病理組織学的, 免疫組織化学的所見

症例 1: 針生検による組織は構造を欠く類円形異型細胞のびまん性増殖からなる腫瘍で、核の大きさは内皮細胞の核よりやや大きく、部分的に明瞭な核小体を有する細胞がみられた。病理組織診断は非ホジキン悪性リンパ腫, びまん性, 大細胞型 (LSG 分類) であった (写真 7)。免疫組織化学的には上皮性マーカーの cytokeratin (Becton Dickinson 社)・EMA (Lipshaw 社) には陰性で LCA, L 26 で細胞質に陽性像を示した。また表面免疫グロブリン kappa light

chain と IgG (いずれも DAKO 社) に強い陽性像を示した。

症例 2: exisional biopsy の組織像は N/C 比が高く核クロマチン染色性に富む芽球様細胞が、多くはびまん性 (部分的に濾胞性) に増殖を示し、腫瘍内には島状に腺管上皮の lymphoepitheloid pattern もみられた。核の大きさは内皮細胞の核と同程度で核分裂像も多数みられ、部分的に周囲脂肪組織への浸潤像を認めた。病理組織診断は非ホジキン悪性リンパ腫, びまん性 (部分的に濾胞性), 中細胞型 (LSG 分類) であった (写真 8)。腫瘍組織の免疫組織化学として cytokeratin, vimentin, LCA, L 26, UCHL-1 および表面免疫グロブリン κ , λ , IgG, IgA, IgM について検索したがいずれにおいても明らかな陽性像を見出すことができなかった。なお症例 1, 症例 2 とともに表在リンパ節ならびに多臓器の詳細な検索が行われたが乳

写真 8 症例 2: 病理組織像。N/C が高く核クロマチン染色性に富む芽球様細胞がびまん性に増生を示し、一部に lymphoepithelial lesion がみられた (H・E 染色, $\times 20$)

腺以外に腫瘍形成の所見は認められず、双方とも乳腺原発悪性リンパ腫と診断された。

V. 臨床経過

症例 1: 乳房切断術は行わず、平成 7 年 3 月 21 日より化学療法 (VRPA 療法) を 3 クール行った。その後 6 日目頃より主病巣の縮小がみられ、同年 5 月 19 日より放射線療法 (総量 48.6 Gy) を開始した。6 月 2 日両下肢の痛みが出現し、髄液細胞診にて悪性リンパ腫の髄膜浸潤を確認した。MTX・Ara-C の髄注にて症状改善したが、6 月 21 日骨髓穿刺にて異型細胞を認め、再度 VRPA 療法を 1 クール行った。12 月 18 日より発熱が続き敗血症および肺炎を併発し、抗生物質を投与するも効果なく、全身状態きわめて悪化しており、呼吸不全により 1 月 15 日永眠となった。

症例 2: 平成 8 年 1 月 10 日、exisional biopsy を行い、1 月 20 日より CHOP 療法 3 クールを行った。その後退院し、以後外来通院にてさらに CHOP 療法 3 クール行った。1 年経過した現在、再発を認めず経過観察中である。

VI. 考 察

乳腺原発の悪性リンパ腫はまれな腫瘍であり、乳腺原発の全悪性腫瘍からみれば、その発生頻度は 0.04 ~ 0.53% と報告されている¹⁾。

Wiseman²⁾ による乳腺原発の悪性リンパ腫の定義は、(1) 乳腺組織と共存していること、(2) 全身リンパ

増殖性病変または先行するリンパ腫がないこと、(3) 乳腺が原発部位であることが臨床的に確かめられていることで、さらに原発乳腺と同側の腋窩リンパ節への同時または引き続いての進展があってもよいとされている。自験例は 2 症例ともにこれらの条件をすべて満たしており、乳腺原発の悪性リンパ腫と考えられる。

乳腺原発悪性リンパ腫はリンパ節原発の悪性リンパ腫に比較し、臓器浸潤を生じやすいことや、予後の悪い組織型 (びまん性大細胞型) のリンパ腫が多いことが指摘されている。また他の乳腺悪性腫瘍に比較し、両側に発症する頻度が高く、腫瘍の急速な発育増大が特徴であるため、予後不良と考えられている³⁾。しかしながら悪性リンパ腫はその発生部位を問わず化学療法に高い感受性を示すことが知られており、さらに近年の技術的進歩とあいまって悪性リンパ腫に対する化学療法は今や不可欠の治療法とされている。乳腺の悪性リンパ腫においても例外ではなく、現在では外科的治療よりも化学療法を推奨する報告を多く認める^{4,5)}。重要なことは、いかに臨床病期の早期に本症を診断し得るかが良好な予後を期待しうる最大の因子であり、この点において穿刺吸引細胞診に免疫細胞化学的検索を併用し、細胞の origin について積極的検索を行うことは有用な手段と考える。

乳腺悪性リンパ腫ではこれまでも組織診と免疫組織染色の併用が診断に有用であることが報告されている⁶⁾。しかし、自験例の症例 2 では細胞診標本のみが LCA 抗体に陽性像を示し、組織生検によるパラフィン切片ではマイクロウエーブ処理や蛋白分解酵素処理を行うも陽性像を認めることができなかった。これはホルマリン固定時のメチレン結合のため組織内エピトープの露出が十分でないことが原因として考えられる。細胞診標本での免疫染色が優れている点として、第 1 にパラフィン切片に比較して固定、包埋の過程でのエピトープの失活が非常に少ないこと、第 2 に陽性所見を細胞形態とともに観察できるため、標的とした細胞の免疫染色態度を知ることができる点である。凍結切片による免疫染色では、陽性を示す細胞がはたして標的とする細胞であるのか明確でないことが少なくない。第 3 に細胞診による免疫染色は、乾燥標本、湿固定標本、脱 Papanicolaou 標本など、あらゆる状態の標本に対応できる点である。自験例の症例 1 では、細胞吸引装置の洗浄液で細胞塗抹標本作製した。このように一度洗浄した細胞は背景の非特異物質が排除されるため、免疫染色にとって格好の材料となりう

る。また脱 Papanicolaou 標本についていえば、一度 Papanicolaou 染色を施し、封入した細胞上のエpitepは驚くほど良く保存されており、ある程度時間が経過した後でも良好な免疫染色結果を示すことが多い。また、市販の PAP PEN (大道産業社) を用いれば1枚の標本に複数の抗体を反応させることも可能である。しかし、スプレー固定は免疫染色に不適當と考えられ、われわれの検索では95%エタノール固定と比較し、明らかな染色性の低下を認めた。

乳腺穿刺吸引細胞診は組織生検に比較し、迅速・簡便に、かつ安全に実施できることから、現在乳腺腫瘍の診断には欠くことのできないものとなりつつある。穿刺吸引細胞診でとくに悪性リンパ腫を疑った場合、免疫細胞化学的検索を併用することにより、より迅速に確定診断への客観的なアプローチができるものと考ええる。

Summary

Two cases of malignant lymphoma in the breast are reported with an immunocytochemical study. The two patients, a 78-year-old woman (case 1) and a 44-year-old woman (case 2) were admitted to the hospital because of breast tumors. Aspiration cytology revealed tumor cells of a size similar to that of neutrophils, having round to oval nuclei and high N/C ratios and some them having cleaved nuclei. May-Giemsa staining showed basophilic cytoplasm and fine nuclear chromatin suggesting malignant lymphoma, but it was necessary to exclude poorly differentiated adenocarcinoma.

Immunocytochemical studies using various antibodies

(LCA, L-26, UCHL-1) were performed. In case 1 the antibodies were applied on the lavage smear with a syringe, and in case 2 on a dried aspiration smear after decoloration of Papanicolaou stain. Immunocytochemically, case 1 was immunoreactive with LCA and L 26, and case 2 was positive for LCA on the surface of the tumor cells. The results suggested malignant lymphoma. The histopathological diagnoses of the resected tumors were non-Hodgkin's lymphoma, diffuse and large cell type, in case 1 and non-Hodgkin's lymphoma, diffuse and medium-sized cell type, in case 2. The patients received chemotherapy.

文 献

- 1) Mambo, N.C., Cho, M.B., Burke, J.S. Primary malignant lymphomas of the breast. *Cancer*. 1977; 39: 2033~2040.
- 2) Wiseman, C., Liao, K.T. Primary lymphoma of the breast. *Cancer*. 1972; 29: 1705~1712.
- 3) Hugh, J.C., Jackson, F.I., Hanson, J., Poppema, S. Primary breast lymphoma. An immunohistologic study of 20 new cases. *Cancer*. 1990; 66: 2602~2611.
- 4) 松下啓二, 浦山弘明, 幕内雅敏, 沼田 稔. 乳腺原発悪性リンパ腫の1例. 一邦報告例の検討一. *日臨外医会誌* 1993; 54: 390~394.
- 5) 江浪博昭, 山森積雄, 古市信明, 笹岡邦乎. 粘膜関連リンパ組織由来と考えられた乳腺原発悪性リンパ腫の1治療例. *乳腺と臨床* 1994; 9: 493~497.
- 6) 岡田仁克, 中西功夫, 吉田 稔, 道券亮子, 谷本一夫. 乳腺原発悪性リンパ腫の1例. —パパニコロー染色脱色後の免疫細胞化学的検索—. *日臨細胞誌* 1990; 29: 439~444.