症 例

喀痰中に腫瘍細胞が出現した悪性胸膜中皮腫の1例

——同一腫瘍細胞の光顕的および電顕的観察を中心に——

大阪府済生会中津病院検査技術科病理¹⁾、阪大微生物病研究会臨床検査部病理細胞診²⁾

中村 純子¹⁾ 大原真由美¹⁾ 田中ふさよ¹⁾ 池谷 武彦¹⁾

萩本美都子¹⁾ 松田 実²⁾

われわれは喀痰中に腫瘍細胞が認められた悪性中皮腫の1例を経験した。パパニコロウ染色標本に見出された喀痰中の腫瘍細胞を電顕にて観察し、悪性中皮腫細胞であることを確診し得た。症例は、67歳のアスベスト曝露歴のある男性で、職場検診にて胸部異常陰影を指摘されて平成6年7月入院し、胸水貯留が認められ胸水細胞診にて悪性中皮腫が疑われた。治療により軽快退院したが翌年3月悪化して再入院し、この時喀痰細胞診にて腫瘍細胞が、平面的で結合性の疎な集団として発見された。腫瘍細胞はライトグリーン好性の重厚で豊富な細胞質と、円形で中心性の核を有し、明瞭な核小体が1ないし2個認められた。電顕にて腫瘍細胞を観察した結果、細胞膜表面の長いmicrovilliと核周囲の中間径線維が認められ、悪性中皮腫細胞と確診された。死亡時の胸膜穿刺生検から作成された標本では、線維性結合織中に腫瘍細胞の蜂巣状増殖が認められ、腫瘍細胞はアルシアン青およびコロイド鉄染色陽性で、ヒアルロニダーゼにより消化された。このような所見および免疫組織化学的所見から、病理組織学的にも悪性中皮腫と診断された。

Key words : Malignant mesothelioma cells——Sputum cytology——Ultrastructural study
——Case report

I. はじめに

胸膜悪性中皮腫では、腫瘍細胞は胸膜表面にびまん性に広がり、肺を覆うように発育し、肺実質内へも浸

潤するといわれている。しかし、腫瘍細胞が気管支や細気管支の表面まで達することは少なく、喀痰細胞診で悪性中皮腫細胞が認められたという報告はまれであり、このような症例はきわめて少ないと考えられる。

今回われわれは、喀痰中に胸膜悪性中皮腫の細胞が認められた1症例を経験し、喀痰中の腫瘍細胞を電顕的に観察することにより、その細胞が悪性中皮腫細胞であることを確認した。われわれの知る限り、喀痰中に出現した腫瘍細胞を電顕で観察したという報告はみられない。

本論文では、喀痰中に出現した悪性中皮腫細胞について、光顕および電顕による形態学的特徴、胸水中に出現した悪性中皮腫細胞との形態学的差異および、電顕で観察された悪性中皮腫細胞と腺癌細胞を比較した成績について報告する。

Appearance of malignant mesothelioma cells in sputum—A case report—

Junko NAKAMURA¹⁾, C.T., I.A.C., Mayumi OOHARA¹⁾, C.T., I.A.C., Fusayo TANAKA¹⁾, C.T., I.A.C., Takehiko IKEYA¹⁾, C.T., I.A.C., Mitsuko HAGIMOTO¹⁾, C.T., I.A.C., Minoru MATSUDA²⁾, M.D., F.I.A.C.

¹⁾Division of Pathology, Clinical Laboratory, Saiseikai Nakatsu Hospital, Osaka

²⁾Clinical Pathology Laboratory, Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University

論文別刷請求先 ☎ 530-0012 大阪市北区芝田2丁目10の39 大阪府済生会中津病院検査技術科病理 中村純子

平成9年9月11日受付

平成10年3月6日受理

II. 症 例

症 例：67 歳，男性

主 訴：階段上昇時の息切れ

既往歴：軽度の高血圧症を指摘されていた

職業歴：建築業，アスベスト曝露 20 年以上

喫煙歴：1 日 40 本，40 年間

現病歴：平成 6 年 5 月頃より階段上昇時に息切れを感じていたところ，丁度職場検診があり，胸部異常陰影を指摘されて当院を紹介された．この時の胸部 X 線像では，右肺中野の限局性びまん性陰影と，少量の胸水の貯留が認められた．同年 7 月，検査および治療を目的として入院したが，この時の胸部 X 線像では，胸水は著明に増量し，わずかに右肺上野に明るい部分を認めるのみであった．同年 8 月に施行された胸部 CT では，胸膜の著明な肥厚と，右中下葉間胸膜およびこれと連なる肺門部に，腫瘤陰影が認められた．

胸水が採取され，腫瘍マーカーの測定と細胞診が施行された．腫瘍マーカーは，CA 19-9 は 2947 U/ml. と合わせて高値を示し，CEA は 64.0 ng/ml.，NSE は 90.0 ng/ml.，SLX は 164.5 U/ml.といずれも高値であったが，SCC は正常範囲内であった．胸水細胞診にて悪性中皮腫細胞が認められたため，シスプラチンおよびアドリマイシンによる全身化学療法と，チューブドレナージによる胸水排液後，胸膜癒着を目的としてアドリマイシンと OK-432 の胸腔内注入が繰り返された．これにより胸水の軽度減少と症状の改善がみられたため，同年 11 月退院された．

平成 7 年 3 月症状悪化のため再入院され，この時喀痰中に腫瘍細胞が認められ，後述するごとく悪性中皮腫細胞と診断された．同時に行われた胸膜生検では，悪性中皮腫を疑うが低分化腺癌も否定しえずと診断され，確定診断には至らなかった．症状が安定し，再び退院されたが，同年 7 月呼吸困難と全身衰弱が進んだため，3 回目の入院をし，同年 8 月永眠された．解剖は許可されず，胸膜の穿刺生検のみが許可されたので，生検材料による病理学および電顕的検索が行われた．

III. 細胞所見

喀痰中に出現した腫瘍細胞は，平面的で結合性の疎な集団を形成していた（写真 1）．腫瘍細胞は円ないし類円形で，比較的大型の細胞が多く，細胞質は豊富で厚みを有し，その辺縁は明瞭であり，大型の細胞では辺縁に microvilli が認められた（写真 2）．核は円形で細胞のほぼ中心に位置し，2 核細胞も認められた．核形不整はなく，核縁は比較的均一で，クロマチンは顆粒状で増量し，明瞭な核小体が 1 ないし 2 個認められた．

胸水中の腫瘍細胞は，粘液性の背景の中に乳頭状の集団を形成するか，孤立散在性に出現していた（写真 3）．腫瘍細胞は円ないし類円形で，大小不同が認められた．細胞質は豊富で，やや厚いものと泡沫状のものがみられ，辺縁はやや不明瞭であった．核，核小体は，喀痰中の腫瘍細胞と同様の所見を示した．

喀痰と胸水に出現した腫瘍細胞を比較した結果，喀

写真 1 喀痰中に出現した悪性中皮腫細胞．腫瘍細胞は平面的で結合性の疎な集団を形成している．細胞質は豊富で厚みを有し，核は円形で中心性のものが多い（Pap. 染色，×40）

写真 2 写真 1 の下 2 個の細胞の拡大．大きい腫瘍細胞の辺縁には，microvilli が認められる（Pap. 染色，×100）

写真3 胸水中に出現した悪性中皮腫細胞。乳頭状の集団を形成している (Pap. 染色, $\times 40$)

痰中の腫瘍細胞は、平面的で疎な結合を示していたのに対し、胸水中の腫瘍細胞は集団を形成するか、孤立散在性に出現していたが、個々の細胞については、細胞質の性状にやや違いが認められたもののほぼ同一所見であった。以上の所見および後述する腫瘍細胞の電顕所見より、喀痰中に出現した細胞は胸水中の細胞と同じく、悪性中皮腫細胞であろうと診断された。

IV. 病理組織所見

死亡後の胸膜穿刺生検標本では、結合織中に腫瘍細胞の蜂巢状構造が認められ、腫瘍細胞は大型で、円形ないし多辺形の豊富な細胞質を有し、核の大小不同や核形不整など、比較的強い核異形が認められた (写真4)。

アルシアン青およびコロイド鉄染色では、腫瘍細胞および間質が陽性で、この物質はヒアルロニダーゼにて消化された。また少数の腫瘍細胞にPAS染色が陽性であった。

免疫染色では、腫瘍細胞はEMA、ケラチンおよびビメンチン (いずれも DAKO 製) が陽性で、CEA (LIP 製)、CA 125 (CIS 製) は陰性であった。

病理組織所見、特殊染色および免疫染色所見から、胸膜腫瘍は悪性中皮腫と診断された。

V. 電顕所見

喀痰中に出現した細胞が、悪性中皮腫細胞であることを確認するために、パパニコロウ染色標本により光顕的観察を行ったあと、標本の裏側より目的とする細胞に印をつけ、その細胞の電顕的観察を行った。

写真4 胸膜穿刺で得られた組織像。円形ないし多辺形の腫瘍細胞が、蜂巢状構造を形成している (H-E 染色, $\times 20$)

パパニコロウ染色標本のカバーガラスをキシロール液中にてはずし、脱アルコール後磷酸緩衝液に浸し、親水化後 0.2% タンニン酸加 2.5% グルタルアルデヒド (pH 7.2, 0.1 mol 磷酸緩衝液) に 4°C で 60 分間固定した。ついで緩衝液で 30 分間 3 回洗浄し、1% オスミウム酸にて 30 分再固定後、さらに緩衝液で 10 分間 3 回洗浄し、2% ウラン水溶液にて 5 分間染色した後、再び緩衝液で 5 分間 2 回洗浄し、アルコール系列により脱水後、ゼラチンカプセルを使用してエポキシ樹脂で倒立包埋した。光顕と同一部位を薄切後、目的とする細胞を電顕にて観察した。

写真2の下側の細胞を電顕で観察したものが写真5である。喀痰中に出現した腫瘍細胞であるために、著明な細胞変性がみられるが、細胞膜表面に長い microvilli が全周性に密在していた。Warhol ら¹⁾の報告に準じ、写真5bに示された最も長い microvilli 5本を選び、電顕写真上の長さを測定して平均値を測定した結果 $1.5\mu\text{m}$ であった。

肺癌症例で、喀痰中に出現した典型的と思われる腺癌細胞の電顕標本を、同様の方法で作成して観察した結果、腺癌細胞の microvilli の長さの平均値は $0.7\mu\text{m}$ であり、本症例の腫瘍細胞の microvilli の平均値は腺癌細胞のそれに比し約2倍の長さであった。また、microvilli の分布は本症例の腫瘍細胞の方が密であった。このような所見および、細胞質に中間径 filament と思われる繊維が認められたことから、本症例の喀痰中に出現した細胞は悪性中皮腫細胞であると確診された。

死亡後の胸膜穿刺材料についても、電顕標本が作成されたが、細胞診材料で観察されたと同様に、細胞膜

写真 5 写真 2 の下側の細胞の電顕像。a : パパニコロウ染色標本から作成したため、細胞変性が著明である。細胞膜周囲に microvilli が認められる、b : microvilli の拡大、長さの測定に用いた

表面に microvilli が密在し、intracytoplasmic lumina にも多数認められた (写真 6)。microvilli の最長は $3.3\mu\text{m}$ であり、Warhol¹⁾の示す LDR (長さ と直径の比) は 16.8 であった。また、中間径線維がよく発達しており、核の周囲を取り囲むように認められた。

VI. 考 察

悪性胸膜中皮腫細胞が喀痰中に出現することはきわめてまれと考えられる。和田ら²⁾は、1974 年より 1983 年までの 10 年間に、本邦で報告された中皮腫 36 例を集めているが、喀痰中に腫瘍細胞が認められたのは自験例 1 例のみであったと報告している。

以後、Whitaker³⁾の 5 例、Nakajima⁴⁾の 1 例、松熊ら⁵⁾の 2 例および阿部ら⁶⁾の 1 例 (胸膜限局性悪性線維性腫瘍と報告) の報告があるが、中皮腫細胞が喀痰中に出現する機序について、Nakajima⁴⁾

および松熊ら⁵⁾は、中皮腫細胞が肺泡壁に沿って肺実質内に浸潤し、肺泡腔内に遊離する所見を確認している。われわれの症例は、前述のごとく、CT にて右中下葉間の腫瘍陰影に連続して、右肺門部にも腫瘍が形成していたのを認めているが、肺門部の腫瘍は、比較的大い気管支を巻き込んでいることが考えられ、中皮腫が大い気管支壁に浸潤し、腫瘍細胞が気管支腔内に遊離したものと考えている。

われわれは、喀痰中に出現した細胞が悪性中皮腫細胞であることを確認するために、パパニコロウ染色標本で観察した細胞を電顕にて観察したが、同一細胞を光顕と電顕の両方で観察したという報告には未だ接していない。

細胞診標本では、われわれの症例の腫瘍細胞は、平面的で結合性の疎な集団を形成して出現していたが、結合性の強い集団と弱い集団がみられたという報告⁴⁾、乳頭状集団を形成していたという報告³⁾、囊胞状集団を形成していたという報告³⁾、散在性に出現し

写真 6 胸膜穿刺で得られた組織の電顕像。a：豊富な細胞質を有する腫瘍細胞，b：intracytoplasmic lumina の腔内に認められた microvilli の拡大，c：核周囲に認められた中間径線維の拡大

ていたという報告⁵⁾などがみられる。これは腫瘍の性格によるものであろうと考えている。

細胞形態は、本症例では円ないし類円形を示していたが、立方形または多角形⁴⁾、不整形ないし短紡錘形⁵⁾の細胞が認められたという報告もみられた。また細胞質に関しては、本症例は、厚みを有し、その辺縁は明瞭であったが、ライトグリーン淡染色⁵⁾あるいは細胞質境界不明瞭⁶⁾という報告もみられた。核や核小体の形態については、われわれの観察も文献の記載もほぼ一致していた。

悪性中皮腫細胞との鑑別がしばしば問題になるのは低分化腺癌細胞である。西山ら⁷⁾は、体腔液のパパニコロウ染色標本の観察から、細胞集塊の出現形態が、中皮腫ではシート状が多かったのに対して、腺癌ではシート状の他、まりも状の配列など多彩であり、多核細胞は中皮腫に高率にみられ、腫瘍細胞の細胞質は、中皮腫では厚いものが多く、腺癌では厚いものから薄いものまで混在し、核は、中皮腫では中心性、腺癌では偏在傾向にあり、核形不整は腺癌に高率にみられたと報告し、佐久間ら⁸⁾は、胸水にパパニコロウ染色標本に出現した悪性胸膜中皮腫細胞および低分化腺癌細胞

を、画像解析装置を用いて細胞計測を行い、中皮腫細胞は、(1) 核は円ないし類円形である。(2) 核が小さい。(3) 核は大小不同性に乏しい。(4) 細胞が小さい。(5) 多核細胞が比較的多いことを定量的に示した。

喀痰塗抹標本では、粘液染色や免疫染色の判定が困難であり、われわれはパパニコロウ染色標本にみられた腫瘍細胞を電顕にて観察し、中皮腫細胞であることを確認した。

喀痰のセルブロックを用いて電顕標本を作成した Nakajima ら⁴⁾も、われわれと同様、核周囲にみられた中間径線維と、多数の細長い湾曲した microvilli の存在を特徴的な所見として掲げている。われわれは細胞診標本にて、悪性中皮腫細胞と腺癌細胞の microvilli の長さを測定し、中皮腫細胞の microvilli の長さは、腺癌細胞のそれに比し約2倍の長さであり、中皮腫の組織では、前述の LDR は 16.8 であった。同じく組織を用いて電顕標本を作成した Warhol ら¹⁾は、10 例の悪性中皮腫細胞と 10 例の腺癌細胞の、LDR の平均値は前者は 11.9、後者は 5.28 で、両者の間に有意差が認められたとし、microvilli の長さと中間径線維の量が両者の鑑別に役立つ所見であると報

告している。Bruns ら⁹⁾も、7 例の悪性中皮腫と 3 例の腺癌の電顕標本を作成し、1 例 18 ないし 60 個の microvilli の長さ と 幅の比を測定し、悪性中皮腫の平均は 11.44、腺癌の平均は 5.39 であり、両者の間に有意差がみられ、明らかに悪性中皮腫の microvilli が長いことを示している。このように、喀痰中に出現した細胞が中皮腫細胞であるか、腺癌細胞であるかの鑑別には、われわれが行ったように、電顕による観察が最も有用であろうと考えられる。

臨床的事項についてご教示いただいた、大阪府済生会中津病院、内科長谷川吉則先生および、病理組織学的所見についてご教示いただいた、同上田 恵先生に厚く感謝いたします。また、電顕標本を作成していただいた、大阪府立成人病センター研究所電顕室主査、竹村光一技師に対して厚くお礼申し上げます。

Summary

A case in which malignant mesothelioma cells appeared in the sputum is reported. The same mesothelioma cells were observed in cytologic smears stained by the Papanicolaou method and in ultrastructurally examined preparations. Cytologically, malignant cells formed loose clusters. Their cytoplasm was basophilic, dense and abundant. Their nuclei were round and centrally located. One or two prominent nucleoli were also observed. Ultrastructurally, malignant cells were characterized by the presence of numerous long microvilli from the cell surface and numerous intermediate filaments aggregated near the nuclei. So, malignant cells found in sputum assured the diagnosis as malignant mesothelioma cells. Histologic findings of pleural biopsy specimens showed a honey-comb-like arrangement of tumor cells surrounding a fibrous stroma. The tumor cells stained positive with Alcian blue and colloidal-iron and both were digested with hyaluronidase. By these findings and immunohisto-

chemical findings, pleural biopsy specimens were also histologically diagnosed as malignant mesothelioma.

文 献

- 1) Warhol, M.J., Hickey, W.F., Corson, J.M. Malignant mesothelioma. Ultrastructural distinction from adenocarcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 1982; 6: 307~314.
- 2) 和田洋巳, 千原幸司, 伊藤元彦, 乾 健二, 神頭 徹, カレッド レシャード・ほか. 本邦における胸膜中皮腫. *日胸* 1983; 42: 1020~1030.
- 3) Whitaker, D., Sterrett, G., Shinkin, K., Walter, M. Malignant mesothelioma cells in sputum. *Diagn. Cytopathol.* 1986; 2: 21~24.
- 4) Nakajima, M., Manabe, T., Yagi, S. Appearance of mesothelioma cells in sputum. A case report. *Acta Cytol.* 1992; 36: 731~736.
- 5) 松熊 晋, 秦 美暢, 安斎幹雄, 遠藤久子, 久良木隆繁, 相田真介・ほか. 喀痰中に腫瘍細胞が出現した胸膜悪性中皮腫の 2 例. *日臨細胞誌* 1995; 34: 461~465.
- 6) 阿部明美, 堀江 靖, 杉原千恵子, 永見光子, 安達博信, 井藤久雄・ほか. 喀痰中に腫瘍細胞が出現した胸膜限局性悪性繊維性腫瘍の 1 例. *日臨細胞誌* 1995; 34: 466~471.
- 7) 西山みどり, 山崎志津子, 高橋 剛, 吉田康雄, 岸田由起子, 薬丸一洋・ほか. 悪性中皮腫と肺腺癌の鑑別について—中皮腫と鑑別が問題となった腺癌の比較検討—. *日臨細胞誌* 1996; 35: 409~418.
- 8) 佐久間暢夫, 亀井敏昭, 渋谷秀美, 岡村 宏, 権藤俊一, 石原得博. 胸水中に出現する悪性中皮腫細胞と肺腺癌細胞の鑑別. 一画像解析装置を用いて—. *日臨細胞誌* 1996; 35: 93~98.
- 9) Bruns, T.R., Greenberg, D., Mace, M.L., Johnson, E. W. Ultrastructural diagnosis of epithelial malignant mesothelioma. *Cancer* 1985; 56: 2036~2040.