症 例

細胞診で多発を推定しえた甲状腺髄様癌

山形大学医学部第2病理学教室¹⁾, 山形済生病院検査部²⁾

加藤 哲子¹⁾ 殿岡 幸一²⁾ 遠藤 泰志¹⁾ 本山 悌一¹⁾

捺印細胞診の所見から多発を推定しえた甲状腺髄様癌の1例を報告する。症例は64歳、女性。甲状腺左葉の腫瘍を偶然発見され、超音波検査でさらに右葉にも小結節が認められた。髄様癌の臨床診断のもとに甲状腺全摘術が施行され、術中、両病巣から捺印細胞診が行われた。左病巣では豊かな胞体を有する多角形細胞が疎結合性の細胞集塊として認められたのに対し、右病巣ではN/C比の高い小型の類円形細胞が強い結合性を示す細胞集塊として認められた。病理学的にもそれぞれ上記のような細胞形態を示す腫瘍細胞が、左病巣ではアミロイド沈着を伴いながら胞巣状～索状に増生していたのに対して、右病巣ではシート状に密に増生しており、両者で大きな違いがみられた。また両病巣とも周囲にC細胞過形成巣を伴っていた。

最終的にはクロナリティー解析および遺伝学的検索の結果から両葉の病巣は多中心性発生と結論したが、細胞診の段階からすでにその顕著な細胞像の違いより多発を推定しえた症例であった。同一臓器に複数の病巣が存在するような場合、転移か多中心性発生かの相互関係の推定においても、細胞診はスクリーニングとして有用であると考えられた。

Key words : Medullary carcinoma—Imprint cytology—Thyroid—Multiple endocrine neoplasia—Case report

I. はじめに

甲状腺髄様癌は、その発生様式から散発性および家族性の2種類に大別される¹⁾。後者は多発性内分泌腺腫症 Multiple endocrine neoplasia (MEN) 2型の基

Multiple medullary carcinomas of the thyroid—Benefit of cytology for estimation of their multicentricity—

Noriko KATO¹⁾, M.D., Kouichi TONOOKA²⁾, C.T., I.A.C., Yasushi ENDOH¹⁾, M.D., Teiichi MOTOYAMA¹⁾, M.D., F.I.A.C.

¹⁾Department of Pathology, Yamagata University School of Medicine

²⁾Division of Clinical Laboratory, Yamagata Saisei Hospital

論文別刷請求先 〒990-9585 山形市飯田西2の2の2 山形大学医学部第2病理学教室 加藤哲子

平成11年8月9日受付

平成11年10月15日受理

本病変の1つとして、あるいは家族性甲状腺髄様癌 Familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) として発生する²⁾。家族性に発生する髄様癌は散発性のものとは異なり、通常、多中心性、両側性に発生し、また高率にC細胞過形成巣を伴う。

今回、私たちは、両側性に病巣が形成された髄様癌の症例を経験した。病理組織所見、クロナリティー解析および遺伝学的検索の結果から、最終的にはMEN 2型に発生した多中心性病変であるという結論に達したが、術中得られた捺印細胞診の所見からもすでに多発を推定しえたので報告する。

II. 症 例

症 例：64歳、女性

主 訴：甲状腺腫瘍

既往歴: 特記すべきことなし

家族歴: 特記すべきことなし

現病歴: 乳癌検診時, 偶然, 甲状腺左葉に 2 cm 大の石様硬の腫瘤を触知された. 超音波検査では左葉に加え右葉にも約 3 mm の小結節が認められた. 血清学的にカルシトニン値が 1400 pg/ml (基準値 < 110 pg/ml), CEA 29 ng/ml (基準値 < 5 ng/ml) と高値であり, また左葉の腫瘤に対して行われた穿刺吸引細胞診でも髄様癌が疑われたことから, 甲状腺全摘術および副甲状腺合併切除, リンパ節廓清術が施行された.

術後検索: 病巣が両葉に分かれて存在していたことから家族性発生の可能性も疑い, 末梢白血球 DNA を用いて遺伝子検索を行ったところ, ret 遺伝子エクソン 11 のコドン 630 に TGC から TAC への点突然変異 (システイン → チロシン) が確認された. 合併切

除された副甲状腺には過形成性変化や腫瘍性変化は認められず, 副腎褐色細胞腫の合併を疑わせる所見も現時点では画像上も血清学的にも認められていない. なお, 家族歴も再度確認されたが, 特記すべきことはなかった.

III. 細胞診所見

左葉病変の穿刺吸引細胞診および捺印細胞診では, 腫瘍細胞は散在性もしくは特定の構造を示さない疎結合性細胞集塊として認められた. 腫瘍細胞は多角形から類円形で, 長径 40~50 μm の比較的豊かな胞体を有していた. やや偏在して存在する核は円形で軽度の大小不同を示し, 顆粒状のクロマチンを有していた (Photo. 1). 核内細胞質封入体は確認されなかった.

Photo. 1 Imprint cytology from the tumor of the left lobe. Tumor cells formed loosely adhesive clusters. They had a polygonal and granular cytoplasm and round-shaped nucleus (Pap. stain, $\times 100$)

Photo. 2 Imprint cytology from the tumor of the right lobe. Tumor cells formed densely adhesive clusters. They were oval or spindle-shaped with scant cytoplasm. Many of the nuclei were hyperchromatic (Pap. stain, $\times 100$)

Table 1 Cytologic and histological findings

	Tumor of the left lobe	Tumor of the right lobe
Cytologic findings		
Cell size	40~50 μm	15 μm , approximately
Cell morphology	Polygonal, round	Oval, spindle
N/C ratio*	Medium	High
Nuclear morphology	Round	Oval, spindle
Nuclear pleomorphism	Absent	Present
Increased chromatin	Absent	Present
Cell adhesion	Loose	Dense
Histological findings		
Architecture	Trabecular, alveolar	Sheet-like
Amyloid deposition	Present	Absent

*N/C ratio : Nucleus/cytoplasm ratio

背景にはライトグリーンに染まる無構造物質が少量認められた。一方、右葉病変の捺印細胞診では、比較的強い結合性を示す細胞集塊が多数認められ、腫瘍細胞は類円形ないし紡錘形で大きさが $15\mu\text{m}$ 前後と小さく、高いN/C比を示し核クロマチン量の増加も目立った (Photo. 2) (Table. 1)。

IV. 病理所見

左葉に $20\times 14\times 8\text{ mm}$ 、右葉に $4\times 4\times 3\text{ mm}$ の充実性腫瘍が認められた。腫瘍断面はいずれも黄褐色調を

Photo. 3 Cut surface of the totally resected thyroid. Tumors both in left and right lobe showed a well-demarcated border. The tumor of the left lobe was associated with focal calcification

Photo. 4 Histology of the tumor of the left lobe. Polygonal or round tumor cells showed trabecular or nest-like proliferation. Amorphous material was deposited in the extracellular space (H-E, $\times 20$)

呈し、周囲との境界は比較的明瞭であった (Photo. 3)。左葉の腫瘍内部には間質成分と思われる白色部分がまだらに存在し、内部および辺縁には部分的に石灰沈着を伴っていた。右葉の腫瘍は一様に黄褐色調であった。

組織学的に、いずれの病変も腫瘍細胞の髄様増生という点では共通していたが、その構成細胞および組織構築には両者で大きな違いがみられた。すなわち、左葉の腫瘍では比較的胞体の豊かな多角形もしくは類円形細胞が胞巣状、索状に増生しており、細胞間には無構造物質の沈着を伴っていた (Photo. 4)。後者はCongo red染色で橙色に染まり、偏光顕微鏡による観察で緑色偏光を示すことからアミロイドと確認された。粗大な石灰沈着や線維化巣も認められた。一方、右葉の病変は小型の類円形ないし紡錘形細胞がシート状に増生しており、クロマチン増量や多形性を示す核をもつものも散見された (Photo. 5) (Table. 1)。こちらにはアミロイド沈着は認められなかった。なお、左葉、右葉いずれの腫瘍もその周辺に、多角形細胞が濾胞構造を取りまくように、あるいは小結節状に増生する多発性C細胞過形成巣を伴っていた (Photo. 6)。全割標本の検索では上記以外に髄様癌の病巣は認められなかった。

免疫組織化学的に、左葉、右葉いずれの腫瘍においても、大部分の腫瘍細胞はカルシトニン、Carcino-embryonic antigen (CEA)、Gastrin-related peptide (GRP) の各マーカーが陽性であった。また、

Photo. 5 Histology of the tumor of the right lobe. Oval or spindle-shaped tumor cells showed sheet-like proliferation. Some of them had a hyperchromatic or pleomorphic nucleus (H-E, $\times 20$)

Photo. 6 C-cell hyperplasia. Polygonal cells proliferated around the follicles in a focal nodular pattern (H-E, ×10)

Photo. 7 Clonal analysis using the polymerase chain reaction method. DNA obtained from both the tumors of the left and right lobes showed monoclonality, but the two tumors were of different clonal origin (UD, undigested)

C細胞過形成巣においてもこれらのマーカーがいずれも陽性であった (Table 2).

合併切除された副甲状腺はその大きさは最大のものでも6mmで、組織学的にも過形成性ならびに腫瘍性変化は認められなかった。

V. クロナリティー解析結果

左葉、右葉それぞれの腫瘍について、X染色体のメチル化およびX染色体上 Human androgen receptor (HUMARA) geneの多型を利用したクロナリティー解析³⁾を行った。パラフィン包埋切片から抽出した両

Table 2 Immunohistochemical profiles of proliferating cells of bilateral tumors and hyperplastic lesions

Marker*	Tumor in the left lobe	Tumor in the right lobe	Hyperplastic lesions
Calcitonin	++	+	+
CEA	+	+	+
GRP	+	+	+

* CEA: Carcinoembryonic antigen, GRP: Gastrin-related peptide

**More than 80% of the proliferating cells were positive for each antigen

腫瘍のDNAを制限酵素で処理後、HUMARA領域をPCR法で増幅し、8%ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動を行った。

両葉いずれの病変においても、検出されたバンドは1本で、モノクロナリティーを示していたが、そのバンドは両者の間で異なっていた (Photo. 7)。

VI. 考 察

甲状腺髄様癌 (Medullary thyroid carcinoma, 以下MTC) は、約70%が散発性に、約30%が家族性に発生する¹⁾。家族性のMTCは、多発性内分泌腺腫症 multiple endocrine neoplasia (MEN) の2型の基本病変として知られている。MEN 2型は、2A型、2B型、家族性甲状腺髄様癌 familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) に細分類され、さらに家族性疑診例が「その他のMEN 2型」として含まれている²⁾。これらの原因遺伝子は、すでに癌遺伝子として同定されていた受容体型チロシンキナーゼ活性を有するret遺伝子であり^{4,5)}、変異様式と2A、2B、FMTCなどの表現型とはある程度の関連が認められている^{2,6,7)}。

散発性と家族性の重要な違いは、散発性は一般に単発であるのに対して、家族性は両側性、多中心性発生であることである^{1,6)}。さらに家族性ではMTCの周辺に高頻度でC細胞過形成巣を伴う。本症例では両側性に病巣が形成され、それらの周囲にはC細胞過形成巣が散在していた。両腫瘍はMTCであるということについては同じであるが、その組織像にはかなりの差異が認められ、クロナリティー解析では両者のクローンが異なることが示された。さらに遺伝子的にもMEN 2型に相当するret遺伝子のgerm line mutationが確認されたことから、両側のMTC病変は甲

状腺内転移によるものではなく多中心性発生によるものと結論した。本症例で確認された *ret* 遺伝子のエクソン 11, コドン 630 の胚細胞性変異は MEN 2 A と FMTC でこれまで見い出されている^{2,6,7)}。本例では副甲状腺病変や副腎褐色細胞腫は認められていない。しかし、前者の合併率は MEN 2 A では 20% 以下と比較的低く⁹⁾、一方、後者は約半数例に合併する⁹⁾ものの MTC に遅れて発症することが多く、その間隔はおよそ 9 年とされる⁸⁾。したがって本症例が MEN 2 A なのか FMTC なのかを現時点において判断することはできず、今後は特に副腎褐色細胞腫の発症に十分な注意をはらいながら長期的に経過をみていく必要がある。

本症例では、術前の超音波検査で左葉以外に右葉にも小結節があることが確認されており、多中心性発生の可能性と腺内転移の可能性の両方が疑われていた。切除検体の病理組織はいずれも髄様癌であったが、その細胞および組織形態が両者で著しく異なっていたことが多中心性発生の可能性、ひいては家族性発生の可能性をより積極的に考える出発点となった。その後の全割標本の検索で、新たな MTC 病巣こそみつからなかったものの、両葉の腫瘍周辺に通常の HE レベルで十分に認識できる C 細胞過形成性巣が多数認められ、それらは CEA に対する免疫染色でも髄様癌と同様の強陽性像を示した。Perry らのいういわゆる腫瘍性過形成に相当する病変であり¹⁰⁾、これが存在することは背景に遺伝的素因があることを強く示唆する。

しかし、ふりかえてみると、術中に得られていた捺印細胞診が左右病巣の細胞組織形態の違いを非常によく反映しており、それだけですでに多中心性発生を十分疑わしめるものであったということは特筆すべき点である。今回、右葉の病巣が小さいものであったために、左右の病巣それぞれからの細胞診は手術時にのみ行われたが、術前に複数の病巣から穿刺吸引細胞診が行われるような場合もあると思われる。そのような場合に、MTC という質的診断に加えて複数の病巣の相互関係の推定をしえるか否かは、その後の検査および治療方針に関わってくるだけでなく、切除された病理標本の検索方針にも影響してくるものと思われる。多臓器病変の合併や遺伝子異常の有無を調べるためには多岐にわたる検索が必要であり、それなりの時間とコストがかかるが、そのなかで細胞診は比較的簡便ながらも病巣どうしの相互関係も含めた多くの情報を提供しうる検査法であり、その有用性を改めて認識させら

れた。

Abstract

Background : Medullary carcinoma of the thyroid may occur sporadically or may be familial. Familial medullary carcinoma tends to be bilateral and multicentric.

Case : A 64-year-old woman had a solid tumor in the left lobe of the thyroid. Ultrasonographic examination also revealed a small nodule in the right lobe and total thyroidectomy was performed. Imprint cytology from these tumors demonstrated polygonal tumor cells in a loosely connected pattern in the left specimen. In contrast, oval tumor cells with a scant cytoplasm in a densely connected pattern were evident in the right specimen. Although each tumor had characteristic features of medullary carcinoma both histologically and immunohistochemically, there was a great difference in the histological patterns of the two. They were also associated with small nests of C-cell hyperplasia at the periphery. Clonal analysis indicated that these tumors were derived from different clones. Genetic analysis revealed that the patient had a germ-line mutation characteristic of multiple endocrine neoplasia (MEN) 2.

Conclusion : Histological and genetic findings indicated that these tumors were multicentric. However, the marked morphological difference observed in imprint cytology strongly suggested that they were of multicentric origin. Cytology may be a useful means to estimate whether multiple lesions are metastatic or multicentric.

文 献

- 1) Damjanov, I., Linder, J. Anderson's Pathology, 10 th ed., St. Louis : Mosby, 1996 : 1966~1970.
- 2) 山口 建, 塚田敏彦, 二見仁康, 高崎香代, 小原孝男, 宮内 昭. 多発性内分泌腫瘍症の病態と遺伝子診断. 病理と臨床 1997 ; 15 : 707~717.
- 3) Enomoto, T., Fujita, M., Inoue, M., Tanizawa, O., Nomura, T., Shroyer, K. R. Analysis of clonality by amplification of short tandem repeats : Carcinomas of the female reproductive tract. Diagn. Mol. Pathol. 1994 ; 3 : 292~297.
- 4) Mulligan, L. M., Kwok, J. B., Healey, C. S., Elsdon, M. J., Eng, C., Gardner, E., et al. Germ-line mutations of the RET protooncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 A. Nature 1993 ; 363 : 458~460.
- 5) Hofstra, R. M. W., Landsvater, R. M., Ceccherini, I., Stulp, R.P., Stelwagen, T., Luo, V., et al. A mutation

- in the RET protooncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2 B and sporadic medullary thyroid carcinoma, *Nature* 1994 ; 367 : 376~377.
- 6) 吉本勝彦. MEN の遺伝子診断と疫学. 臨床検査 1998 ; 42 : 751~757.
 - 7) Iihara, M., Yamashita, T., Okamoto, T., Kanbe, M., Yamazaki, K., Egawa, S., et al. A nationwide clinical survey of patients with multiple endocrine neoplasia type 2 and familial medullary thyroid carcinoma in Japan. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 1997 ; 27 : 128~134.
 - 8) 佐野 昭. MEN 関連病変の病理学的特徴. 病理と臨床 1997 ; 15 : 698~706.
 - 9) DeLellis, R. A. Biology of disease. Multiple endocrine neoplasia syndromes revisited. Clinical, morphologic and molecular features. *Lab invest* 1995 ; 72 : 494~505.
 - 10) Perry, A., Molberg, K., Albores - Saavedra, J. Physiologic versus neoplastic C-cell hyperplasia of the thyroid. Separation of distinct histologic and biologic entities. *Cancer* 1996 ; 77 : 750~756.
-