 原 著

肺大細胞神経内分泌癌の細胞像

国立がんセンター東病院臨床検査部¹⁾, 国立がんセンター中央病院呼吸器科²⁾

国立がんセンター東病院呼吸器外科³⁾, 国立がんセンター研究所支所臨床腫瘍病理部⁴⁾

岩崎 聖二¹⁾ 川村 公彦¹⁾ 小林 幸弘¹⁾ 松本 武夫¹⁾

児玉 哲郎²⁾ 永井 完治³⁾ 鹿股 直樹⁴⁾ 長谷部孝裕⁴⁾

横瀬 智之⁴⁾ 落合 淳志⁴⁾

目的: 肺大細胞神経内分泌癌 (Large cell neuroendocrine carcinoma 以下 LCNEC) の細胞学的特徴を見出すことを目的に細胞像の検討を行ったので報告する。

方法: LCNEC と診断された 24 例の腫瘍捺印標本を用いて検討を行った。

結果: 背景は壊死性で腫瘍細胞は結合性が弱く、孤立性および集塊を形成していた。孤立性の腫瘍細胞は裸核状を呈する変性細胞であった。集塊は重積が軽度で比較的平面的であった。ロゼット様配列を多くの症例に認めた。細胞質は淡明で、核は小型から中型で中等度の大小不同を認めた。核形は類円形から楕円形で長楕円形の核も認め、核縁は薄く円滑であった。クロマチンは細顆粒状で比較的均等に分布し、比較的明瞭な核小体を認めた。核分裂像を示唆する所見が得られたが、細胞診標本中の壊死や変性細胞の核との鑑別は困難であった。

結論: 組織学的に LCNEC と鑑別を要する腫瘍は非定型カルチノイド、小細胞癌などの神経内分泌腫瘍や低分化非小細胞癌などが挙げられるが、細胞学的にも同様と考えられる。今後の課題として他の神経内分泌腫瘍や低分化癌との鑑別や擦過、喀痰における細胞学的検討が必要と思われる。

Key words: Lung—Imprint specimen—Large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC)
—Neuroendocrine tumor—Cytology

Cytologic findings in large cell neuroendocrine carcinoma of the lung

Seiji IWASAKI¹⁾, C.T., I.A.C., Kimihiko KAWAMURA¹⁾, C.T., I.A.C., Yukihiro KOBAYASHI¹⁾, C.T., I.A.C., Takeo MATSUMOTO¹⁾, C.T., I.A.C., Tetsuro KODAMA²⁾, M.D., Kanji NAGAI³⁾, M.D., Naoki KANOMATA⁴⁾, M.D., Takahiro HASEBE³⁾, M.D., Tomoyuki YOKOSE⁴⁾, M.D., Atsushi OCHIAI⁴⁾, M.D.

¹⁾Clinical Laboratory Division, National Cancer Center Hospital East

²⁾Division of Respiratory Oncology, National Cancer Center Hospital

³⁾Division of Thoracic Oncology, National Cancer Center Hospital East

⁴⁾Pathology Division, National Cancer Center Research Institute East

論文別刷請求先 〒277-8577 柏市柏の葉6の5の1 国立がんセンター研究所支所臨床腫瘍病理部 落合淳志

平成13年3月2日受付

平成13年4月27日受理

I. はじめに

肺大細胞神経内分泌癌 (Large cell neuroendocrine carcinoma 以下 LCNEC) は、1991 年 Travis らにより提唱¹⁾され、1999 年 WHO の Histological Typing of Lung and Pleural Tumours²⁾ で新しい概念として加えられた腫瘍である。LCNEC は神経内分泌腫瘍としての形態的特徴をもつ高悪性度癌であり、免疫組織学的あるいは電顕的に神経内分泌細胞の形質を示す癌¹⁾である。LCNEC の光顕所見として次のような特徴^{1,3-6)}が挙げられる。充実性の腫瘍胞巣を形成し、壊死を認める。細胞配列は索状、ロゼット形成、胞巣辺縁部では柵状の配列を呈する。B 細胞は大型多角形で N/C 比がやや高く、細胞質は細顆粒状で好酸性、ク

ロマチンは粗で、しばしば核小体を明瞭に認める。核分裂像は高倍 10 視野で 11 個以上認める。しかし細胞診断上の詳細な検討の報告は少なく、その細胞像は明らかではない。そこで今回、その細胞学的特徴を見出すことを目的に、腫瘍捺印標本を用いて細胞像の検討を行ったので報告する。

II. 材料および方法

1992 年 7 月から 2000 年 7 月までに国立がんセンター東病院において切除され、LCNEC と診断された肺癌症例は 39 例で、このうち腫瘍捺印細胞診を施行した 24 例を対象とした。年齢は 42～80 歳で中央値は 66 歳であった。性別は男性 21 例、女性 3 例であった。病変部位は左上葉 7 例、左下葉 2 例、右上葉 9 例、右中葉 1 例、右下葉 4 例であった。腫瘍最大径は 1.4～7.5 cm、中央値は 3.0 cm であった。病理病期は I A 期 9 例、I B 期 8 例、II A 期 1 例、II B 期 1 例、III A 期 4 例であった。残る 1 例は 69 歳男性例

(症例 21) であり原発部位自然退縮例⁷⁾で転移部の右肺門部中下葉間リンパ節を材料とした。病理病期は II 期であった (Table 1)。腫瘍捺印後 95% エタノールにて固定、Papanicolaou 染色標本を作成した。組織学的特徴を考慮し、細胞出現様式、細胞質および核所見について検討を行った。

III. 結 果

1. 病理組織学的所見

腫瘍は充実性の胞巣を形成し、その中心部分に壊死を認めた (Photo. 1 a)。細胞配列は索状やロゼット形成 (Photo. 1 b)、胞巣辺縁部では柵状の配列を呈していた。核分裂像 (Photo. 1 c) は中拡大においても明瞭に認められ、核分裂指数は高倍 10 視野あたり 15～106 個で中央値は 40 個であった。細胞は大型多角形で N/C 比がやや高く、細胞質は細顆粒状で好酸性を示し、核は類円形から楕円形でクロマチン構造は粗で、しばしば核小体を明瞭に認めた (Photo. 1 d)。

Table 1 Clinicopathological findings in 24 cases

Case	Age (years)	Sex	Primary site	Tumor size (cm)	Mitotic index	Lymph node metastasis	pStage	Combined with
1	45	M	ltU	2.6	35	—	I A	Adenocarcinoma
2	71	M	ltU	2.2	40	—	I A	
3	72	M	ltU	3.0	50	—	I A	
4	66	M	ltU	3.0	41	—	I B	
5	63	M	ltU	4.3	20	—	I B	
6	57	M	ltU	3.3	86	—	I B	
7	63	M	ltU	4.2	25	+	III A	
8	64	M	ltL	7.5	26	—	I B	
9	56	M	ltL	6.0	27	+	II B	
10	72	M	rtU	2.7	21	—	I A	
11	72	M	rtU	2.2	50	—	I A	
12	67	M	rtU	3.2	44	—	I B	
13	52	M	rtU	4.2	63	—	I B	
14	66	M	rtU	4.3	106	—	I B	
15	67	M	rtU	2.2	33	—	III A	
16	42	M	rtM	2.1	56	—	I A	
17	69	M	rtL	2.5	40	—	I A	
18	61	M	rtL	1.4	47	—	I A	
19	80	M	rtL	2.4	15	—	I A	
20	66	M	rtL	3.0	39	+	III A	
21	69	M	rtLN	4.0	25	+	II	
22	75	F	rtU	4.0	28	—	I B	
23	48	F	rtU	1.8	46	+	II A	
24	47	F	rtU	4.5	20	+	III A	

M, man; F, woman; ltU, left upper lobe; ltL, left lower lobe; rtU, right upper lobe; rtM, right middle lobe; rtL, right lower lobe; rtLN, right lymph node; pStage, pathological stage

Photo. 1 a : Tumor nests with central necrosis, which accompanied a prominent organoid pattern, basal palisading and rosette formation. b : Rosette formation. c : Some tumor cells showed mitosis (arrows). d : Tumor cells have round or oval nuclei with coarse chromatin and prominent nucleoli. (a-d : Case 17) (H.E., a : $\times 10$, b : $\times 20$, c : $\times 20$, d : $\times 40$).

Table 2 Cytologic features of LCNEC (n=24)

Necrotic background	23/24 (96)
Singly dispersed cells with naked nuclei	19/24 (79)
Crush artifact	9/24 (38)
Rosette-like formation	20/24 (83)
Tubular formation	8/24 (33)
Oval nuclei	13/24 (54)
Smooth nuclear membrane	22/24 (92)
Fine granular chromatin	22/24 (92)
Prominent nucleoli	22/24 (92)
	(%)

2. 細胞学的所見 (Table 2)

1) 全体像と背景

腫瘍細胞は結合性が弱く、散在あるいは集塊を形成していた。背景は壊死性で、うち23例(96%)は著明であった(Photo. 2 a)。壊死物質が存在しなかった症例は1例に過ぎなかった。細胞変性像である核線は9例(38%)に認めた。

2) 孤立性細胞

孤立性の腫瘍細胞は19例(79%)に認めた。腫瘍細胞はばらばらに出現し背景の壊死物質と混在してい

た。多くは裸核状を呈する変性細胞であった(Photo. 2 b)。

3) 細胞集塊

腫瘍細胞の集塊は重積が軽度で比較的平面的であった。神経内分泌腫瘍の組織学的特徴の一つであるロゼット構造を模倣する細胞配列(以下ロゼット様配列)を20例(83%)に認めた。ロゼット様配列(Photo. 3 a)は腫瘍細胞が円を描くように放射状に配列し、その中心部分は明るく抜けたように見え、細胞の重なりが軽度な場合は組織像を想像できる形態を呈していた。一方、細胞の重なりが強い場合は管状(Photo. 3 b)を呈し、放射状の配列は明らかではなかったが、顕微鏡の焦点を調節することで観察可能であった。また組織学的に著明である腫瘍胞巣辺縁の柵状配列は捺印標本上、明らかなものは認めなかった。

4) 細胞質および核所見 (Photo. 4 a, b)

腫瘍細胞のN/C比は高く、細胞質は淡明であった。孤立性裸核状細胞には細胞質をほとんど認めなかった。核は小型から中型(リンパ球の2~4倍程度)で核の大小不同は中等度であった。核形は類円形から楕円形で13例(54%)に長楕円形核の混在を認めた。

Photo. 2 a : Dyscohesive cells and cluster formation of tumor cells in the necrotic background (Case 14). b : Singly dispersed cells with naked nuclei (Case 11) (Papanicolaou stain, a : $\times 20$, b : $\times 20$).

核縁は薄く、比較的円滑であった。クロマチンは細顆粒状から顆粒状を呈し、比較的均等に分布していた。核小体は小型で1個程度であったが、比較的明瞭に多くの症例で認められた。

5) 核分裂像 (Photo. 4 c)

すべての症例で濃縮状、凝集状を呈する核を認め、組織標本中に認める核分裂像と類似する所見が得られたが、細胞標本中の壊死や変性細胞の核との鑑別は困難であった。核分裂後期を示すような分裂像はほとんど認めなかった。

IV. 考 察

LCNEC は Travis らの提唱以来¹⁾、組織学的な再検討⁶⁾および臨床病理学的検討^{3,6,8,9)}も報告されるようになってきたが、細胞標本を用いての細胞学的検討は少なく、本邦では症例報告^{10,11)}にとどまっている。

今回、光顕的な組織学的特徴が最も反映されやす

Photo. 3 a : Rosette-like formation (Case 21). b : Tubular formation (Case 17) (Papanicolaou stain, a : $\times 40$, b : $\times 40$).

く、対象となる細胞を十分確保できる腫瘍捺印標本を用いて細胞像の検討を行った。その結果、組織学的特徴を反映する細胞所見および細胞標本上に特徴的な所見が認められた。背景は強い壊死性を示し、腫瘍細胞は孤立性および集塊を形成して認められた。壊死は胞巣中心部にみられる組織学的特徴の一つであり、細胞診上、組織像を反映している重要な所見と考えられる。次に多くの症例で認められた孤立性の腫瘍細胞は壊死物質と混在し、多くは裸核状で変性所見を示し、核縁を引く細胞も認められた。清久ら¹⁰⁾も核縁が目立ったと報告している。本来、細胞診断を行う上で変性細胞による判定は望ましくないが、診断の副所見として価値のある細胞所見と思われる。細胞集塊は軽度の重積を示し平面的な配列を呈し、多くの症例で細胞のロゼット様配列が認められた。本邦の報告例^{10,11)}においてもロゼット様配列が認められており、組織学的にもロゼット形成は LCNEC の特徴的な所見として解釈されている。細胞診の成書¹²⁾ではロゼット状(様)という用語は細胞が放射状に配列して、バラの花の形に似た像を形成する状態と解説されている。今回われわ

Photo. 4 a: Tumor cells having round nuclei with thin and smooth contour, fine granular chromatin, and a prominent nucleolus (Case 18). b: Nuclear tumor cells are round or oval (Case 24). c: Mitotic nucleus (Case 3) (Papanicolaou stain, a: $\times 100$, b: $\times 100$).

れが捉えたロゼット様配列は、細胞の重なりがごく弱い配列と重なりが強い配列の2種類であった。重なりが弱い配列は成書による解説と矛盾しないと思われる。しかし重なりの強い配列は集塊中心が明るく抜けたように見え、管状を呈していた。一見、放射状の配列は明らかではなかったが、顕微鏡の焦点を調整して観察することで放射状の配列を認めることができた。しかしこのような立体的に重なりあった放射状の配列

をロゼット様とするか、管状とするかは表現の仕方や用語の使用方法の問題であり、今後、適切な表現や用語の確立が望まれる。今回、われわれがロゼット様もしくは管状と表現した細胞配列はLCNECの細胞学的特徴の一つと考えられる。次に細胞形態の特徴をまとめると、細胞質は淡明で、核は小型から中型で中等度の大小不同を認めた。核形は類円形から楕円形で長楕円形の核も認め、核縁は薄く円滑であった。クロマチンは細顆粒状から顆粒状で比較的均等に分布し、核小体は小型だが比較的明瞭に認めた。細胞質所見、核小体の存在などは組織所見と一致している。核形、核縁についての組織学的所見は、文献にほとんど記載がないが、楕円形核の出現や薄く円滑な核縁は多くの症例に認められ、細胞学的特徴の一つと考える。本邦の報告例^{10,11)}では核縁の形態については記載がなかったが、核形は類円形、楕円形、卵円形、短紡錘形と報告され、若干異なった表現も認めるが、ほぼ一致した所見と思われる。クロマチン形態は組織学的に粗と表現されている。われわれの検討では粗なクロマチンを有する核も存在したが、多く症例で細顆粒状と表現された。徳永¹¹⁾は顆粒状とし、清久¹⁰⁾は繊細あるいは粗顆粒状と報告しており、われわれの結果と概ね一致していると思われる。核分裂像は組織学的に多く認め、核分裂指数は高倍10視野で11個以上とされ、非定型カルチノイドとの鑑別点として重要な所見⁸⁾と考えられている。しかし細胞標本中の核分裂像は周囲の壊死細胞や変性細胞の核形態と類似しており鑑別は困難であった。組織学的にも壊死や炎症細胞浸潤の目立つ部分では核分裂指数の計測は避けるべき¹³⁾とある。そこで核分裂指数は細胞増殖力の指標として重要であることから、細胞学的な新たな基準を設けることが必要と考えられる。

今回はLCNECの細胞学的特徴を見出すことを目的に細胞像の検討を行った。組織学的にLCNECと鑑別を要する腫瘍は非定型カルチノイド、小細胞癌などの神経内分泌腫瘍や低分化非小細胞癌などが挙げられる。現在、LCNECを病理学的に鑑別することの臨床的意義は確立されておらず、今後の検討で明らかになってくるとと思われる。いくつかの報告では小細胞癌同様、腺癌や扁平上皮癌などの非小細胞癌に比べ予後は不良である^{3,6,8,9)}とされており、治療前の生検および細胞診材料による鑑別診断は治療の選択において重要と考えられる。細胞診の有用性については捺印標本で核線像を認めたことから、細胞は変性しやすいこと

が示唆され、組織標本においても細胞の挫滅による診断の困難な症例が存在すると思われる。しかし細胞標本では全体にわたって診断に支障をきたす変性に陥ることはまれであり、本研究においてもそのような症例は認められなかった。細胞標本による診断が組織診断の補助として重要視される可能性は高いと思われる。捺印細胞標本における LCNEC の特徴的な所見として、特に強い壊死性背景、ロゼット様配列、細顆粒状クロマチン、核小体の存在が挙げられるが、これらの所見が実際の臨床材料である擦過、喀痰において確診を得るために特徴的な所見であるか、また他の神経内分泌腫瘍や低分化腺癌、低分化扁平上皮癌、大細胞癌との鑑別のために有効な所見であるかを検討することが重要と考えられ、今後の課題としたい。

稿を終えるにあたり、ご協力をいただきました当院呼吸器科の中原理恵先生、西脇 裕先生に深謝いたします。

本論文の要旨は第 39 回日本臨床細胞学会秋期大会（2000 年、大宮）にて発表した。

Abstract

Objective : We retrospectively studied the cytological characteristics of large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) of the lung, classified in the new WHO classification.

Study Design : We reviewed 24 specimens of LCNEC obtained by stamp preparation and stained by Papanicolaou's method.

Results : Accompanying necrotic debris in the background, tumor cells were dyscohesive and singly dispersed or formed small clusters. In the area of single cell scatter, tumor cells were stripped and degenerative. Many showed rosette-like formations. Tumor cells had pale cytoplasm and a small to middle-sized nucleus that was round to oval, and sometimes slightly elongated, and whose margin was thin and smooth. Nuclear chromatin was finely granular and evenly distributed, and a nucleolus was prominent. In a few cases, we observed mitosis-like features but it was difficult to differentiate these from those of necrotic or degenerative cells.

Conclusion : LCNEC showed characteristic cytological features, but individual findings may also be observed in other neuroendocrine tumors such as atypical carcinoid or small-cell carcinoma. It is thus necessary to examine cytological characteristics of LCNEC in brush or sputum

specimens, and to compare them with other neuroendocrine tumors and poorly differentiated adenocarcinoma or squamous cell carcinoma.

文 献

- 1) Travis, W.D., Linnoila, R.I., Tsokos, M.G., Hitchcock, C.L., Cutler, G.B. Jr., Niemann, L., et al. Neuroendocrine tumors of the lung with proposed criteria for large-cell neuroendocrine carcinoma. An ultrastructural, immunohistochemical, and flow cytometric study of 35 cases. *Am. J. Surg. Pathol.* 1991 ; 15 : 529 ~ 553.
- 2) Travis, W.D., Colby, T.V., Corrin, B., Shimosato, Y., Brambilla, E. Histological typing of lung and pleural tumours. World Health Organization International Histological Classification of Tumours. Berlin : Springer, 1999.
- 3) Colby, T.V., Koss, M.N., Travis, W.D. Small cell carcinoma and large cell neuroendocrine carcinoma. Tumor of the lower respiratory tract. Atlas of Tumor Pathology, Third series. Fasc. 13, Washington D.C. AFIP, 1995 : 235 ~ 257.
- 4) Travis, W.D., Gal, A.A., Colby, T.V., Klimstra, D.S., Falk, R., Koss, M.N. Reproducibility of neuroendocrine lung tumor classification. *Hum Pathol.* 1998 ; 29 : 272 ~ 279.
- 5) 松野吉宏. 神経内分泌腫瘍—large cell neuroendocrine carcinoma を中心に一. 病理と臨床 1996 ; 14 : 161 ~ 165.
- 6) Jiang, S-X., Kameya, T., Shoji, M., Dobashi, Y., Shinada, J., Yoshimura, H. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. A histologic and immunohistochemical study of 22 cases. *Am. J. Surg. Pathol.* 1998 ; 22 : 526 ~ 537.
- 7) Kawasaki, H., Yoshida, J., Yokose, T., Suzuki, K., Nagai, K., Hojo, F., et al. Primary unknown cancer in pulmonary hilar lymph node with spontaneous transient regression : Report of a case. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 1998 ; 28 : 405 ~ 409.
- 8) Travis, W.D., Rush, W.R., Fieder, D.B., Falk, R., Fleming, M.V., Gal, A.A., et al. Survival analysis of 200 pulmonary neuroendocrine tumors with clarification of criteria for atypical carcinoid and its separation from typical carcinoid. *Am. J. Surg. Pathol.* 1998 ; 22 : 934 ~ 944.
- 9) Dresler, C.M., Ritter, J.H., Patterson, G.A., Ross, E., Bailey, M.S., Wick, M.R. Clinical-pathologic analysis of 40 patients with large cell neuroendocrine car-

- cinoma of the lung. Ann. Thorac. Surg. 1997 ; 63 : 180~185.
- 10) 清久泰司, 宮崎恵利子, 三谷美湖, 中山宏文, 弘井誠, 植田庄介・ほか. 肺の大細胞神経内分泌癌の 1 例. 日臨細胞誌 1998 ; 37 : 591~597.
- 11) 徳永祐一, 飛岡弘敏, 古村喜好, 三間秀子, 梅本 晃, 佐藤昌明・ほか. 肺の Large cell neuroendocrine carcinoma の 2 例. 日臨細胞誌 1999 ; 38 : 535~539.
- 12) 日本臨床細胞学会. 細胞診用語解説集. 医学書院, 1996 : 135.
- 13) 藤井丈士, 弘中 貢, 深山正久. 肺・胸腺に発生する神経内分泌腫瘍. 病理と臨床 1999 ; 17 : 1243~1252.
-