〈特集〉 乳腺穿刺吸引細胞診における組織像推定の意義と問題点

穿刺細胞診における乳腺小葉癌と硬癌の鑑別

長野県がん検診・救急センター検査部

町田 智恵 渡辺 達男 土屋 眞一

目的：近年増加している乳房温存療法の可否に、大きな影響を及ぼすとされる小葉癌について、その細胞学的特徴と硬癌との鑑別点を検討した。

方法：浸潤性小葉癌 (ILC) 18 例、狭義の硬癌 (PSC) 23 例の計 41 例を対象に、1. 細胞配列、2. 核形および核の配列、3. 明調・暗調細胞、4. 核クロマチン分布、5. 細胞特性 (GCDFP-15; gross cystic disease fluid protein-15) の 5 項目について、細胞像を中心に組織、免疫組織化学および微細形態学的に比較検討した。

結果：1. 細胞配列は線状配列に特徴がみられ、ILC は細胞質辺縁が丸みを帯び、数珠状形態を呈することが多く、PSC は細胞質辺縁が直線状であった。2. 核形および核の配列は ILC は円形～楕円形、核間距離はほぼ均等であったが、PSC は圧排され不整形、縦並び状を呈していた。3. 明調・暗調細胞に関しては ILC の細胞質の染色性がほぼ明調、均一であるのに対し、PSC では明調・暗調を示す細胞が混在していた。4. 核クロマチン分布は ILC は正染色質が、PSC では異染色質がその主体を占めていた。5. GCDFP-15 の免疫染色では、ILC で 40.0%、PSC では 20.0% で、特に ILC の variant type が高い陽性率を示した。

結論：組織学的類似性の高い ILC と PSC の細胞学的鑑別点として、上記の 5 項目でほぼ目的が達成できると思われた。

Key words : Breast—Aspiration cytology—Invasive lobular carcinoma—Differential diagnosis

I. はじめに

乳腺小葉癌は同側多発性、対側発生という臨床病理学的特徴を有しており¹⁾、術前に行われる細胞診断は乳房温存術^{2,3)}の適応と絡んで非常に重要である。一方、小葉癌の大部分を占める浸潤性小葉癌 (invasive

lobular carcinoma; ILC)⁴⁾と、浸潤性乳管癌の一亜型である硬癌、特に狭義の硬癌 (pure scirrhous carcinoma; PSC)⁵⁾は、組織・細胞学的類似性が高く、両型の鑑別に苦慮する症例が少なくない。今回、われわれは穿刺吸引細胞像を中心に、ILC と PSC の細胞学的鑑別点について、組織学的、免疫組織学および微細形態学的所見も加えて比較検討を行った。

II. 症例および方法

症例は、当センターで 1995 年～1999 年の 5 年間に診断された原発性乳癌 719 例である。そのうち判定可能な細胞が得られた穿刺吸引細胞診症例で、病理組織診断が確定している ILC: 18 例、PSC: 23 例の計 41 例を用いた。

Cytological diagnostic criteria for differentiating invasive lobular carcinoma from scirrhous carcinoma of the breast
Chie MACHIDA, C.T., I.A.C., Tatsuo WATANABE, C.T., J.S.C., Shin-ichi TSUCHIYA, M.D.

Division of Pathology, Nagano Prefectural Cancer Detection Center

論文別刷請求先 〒390-0802 松本市旭 2 の 11 の 30 長野県がん検診・救急センター検査部 町田智恵

平成 13 年 1 月 15 日受付

平成 13 年 4 月 27 日受理

Table 1 Cytological findings for ILC¹⁾ and PSC²⁾

		ILC (18 cases)	PSC (23 cases)
Cell number	many (300 or more)	44.5% (8/18)	39.1% (9/23)
	medium (100–299)	22.2% (4/18)	39.1% (9/23)
	few (99 or less)	33.3% (6/18)	21.8% (5/23)
Cell cluster	large (50 or more)	33.3% (6/18)	26.1% (6/23)
	small (49 or less)	66.7% (12/18)	73.9% (17/23)
Cellular arrangement	single file	33.3% (6/18)	52.2% (12/23)
	(rosary-like appearance)	(+)	(–)
	solitary, scattered	100.0% (18/18)	91.3% (21/23)
Nuclei	shape	round (or cleaved)	irregular
	nuclear membrane	thin	irregular
	chromatin	fine	coarse
	nuclear position	center-maldistribution	maldistribution
Cytoplasm	shape	round	triangular
	clear and dark cells	clear	mixed
	GCDFP-15	40.0%	20.0%

¹⁾ILC : invasive lobular carcinoma, ²⁾PSC : pure scirrhous carcinoma

方法は、特に以下の5項目にしばり検討した。1. 細胞配列, 2. 核形および核の配列, 3. 明調・暗調細胞, 4. 核クロマチンの分布, 5. 細胞特性 (特に GCDFP-15; gross cystic disease fluid protein-15) について Table 1 に示す細胞像を中心に観察し、さらに組織学および一部の症例を用いて微細形態学的にも比較検討を行った。なお、3. の明調・暗調細胞の存在については、手術材料で正常と思われた乳腺組織と、同部を擦過した細胞診材料を用いて観察した。また、5. の細胞特性については GCDFP-15 (Signet 社) を用い、細胞診の Papanicolaou 染色標本を脱色後、組織標本とともに LsAB 法にて免疫染色を行った。微細形態学的には新鮮組織材料を 2.5% グルタルアルデヒド液で固定後、型のごとくエポキシ樹脂包埋、薄切、電子染色を行い、透過型電子顕微鏡で観察した。

III. 結 果

1. 細胞配列

ILC, PSC の細胞出現パターンは重積状の集塊や、線状・索状および孤立散在性配列が認められたが、以下は主に線状・索状、孤立散在性配列について言及する。

1) 浸潤性小葉癌 (ILC)

線状・索状配列を示す細胞集塊は 61.1% (11/18

例) に認められた。これらは数個の細胞から構成されていることが多く、核間距離はほぼ均等であった。細胞境界はやや不明瞭で、個々の細胞の結合性はゆるい傾向にあった。細胞質の輪郭は丸みを帯び、いわゆる数珠状の形態 (rosary-like appearance) を示していた (Photo. 1 a, b)。

孤立散在性配列は全症例に認められた。おのおのの細胞質は比較的狭小で、N/C 比は高度～中程度であったが (Photo. 1 c), なかには胞体の比較的豊富な N/C 比の低い細胞もみられた。

2) 狭義の硬癌 (PSC)

線状・索状配列を示す細胞集塊は 52.2% (12/23 例) に認められた。本集塊は 1 列に並ぶか、2～3 層の細胞から構成されていることが多く、核間距離も不均等・密であった。細胞境界は比較的明瞭で、木目込み状の相互圧排像が観察され、間質面に接する細胞辺縁は、直線状になる傾向が強かった (Photo. 2 a, b)。

孤立散在性配列はほぼ全例の 91.3% (21/23 例) に認められた。個々の細胞の大きさは一定せず、大小不同のみられる症例が多かった。また、細胞質の一端が鋭角な三角形様の細胞や (Photo. 2 c), 核の偏在・突出したものが多く認められた。N/C 比は高く、細胞質が変性した裸核状の細胞も多くみられた。

Photo. 1 ILC have round cytoplasm and a rosary-like structure. The nuclei of tumor cells are round (a : H-E, $\times 40$, b : Pap, $\times 40$). Nuclei of several ILC cells appear lobulated (c : Pap, $\times 40$).

Photo. 2 Cellular surfaces are straight ($\uparrow$) and tumor cells are compressed with irregular shape and vertical arrangement (a : H-E, $\times 100$, b : Pap, $\times 100$). Solitary tumor cells show triangular cytoplasm (c : Pap, $\times 40$).

2. 核形および核の配列

1) 浸潤性小葉癌 (ILC)

核形は緊満感のある円形～楕円形のものが主体を占めたが (Photo. 1 a, b), なかには深い切れ込みを持つ, 分葉状 (lobulated) あるいは脳回状 (convoluted) 構造に類似したものも観察された (Photo. 1 c). 大きさは, 小型の核が多く, 大小不同も少なく比較的均一であった。

2) 狭義の硬癌 (PSC)

核は基本的には楕円形を呈していた。しかし, 切れ込みなど異型も強く, 核が圧排され, 不整形・縦並び状を示す傾向も認められた (Photo. 2 a, b). 大きさはさまざまで, 大小不同のみられる症例が多くみられた。

次の3, 4項については, 電子顕微鏡による微細形態学的所見を中心に記述する。また, 3項は正常の乳

Photo. 3 Electron density of cytoplasm is mostly clear and homogenous and the chromatin pattern is fine (EM, $\times 2500$).

Photo. 4 Most tumor cells show clear, homogenous cytoplasm (a: H-E, $\times 40$, b: Pap, $\times 100$).

管上皮細胞との関連性についても言及する。

3. 明調・暗調細胞

1) 浸潤性小葉癌 (ILC)

微細形態学的には、細胞質の電子密度はほぼ均一であり、明調の細胞で構成されている症例が多かった (Photo. 3)。細胞像、組織像も同様で、細胞質の染色性はほぼ一定していた (Photo. 4 a, b)。

2) 狭義の硬癌 (PSC)

個々の腫瘍細胞は、細胞質の電子密度が異なり、いわゆる明調と暗調の2種類の細胞が観察された

(Photo. 5)。細胞および組織像に関しても、明調と暗調に相当する細胞の混在が認められた (Photo. 6 a, b)。

3) 正常乳管上皮細胞

正常の小葉を構成する腺上皮細胞 (末梢終末乳管上皮細胞) は、電子密度がほぼ一定していた (Photo. 7 a)。小葉間乳管を含む大乳管の腺上皮細胞は、おのの細胞によって電子密度に差のある明調と暗調の細胞が認められた (Photo. 7 b)。細胞・組織像も微細形態の特徴を裏付ける結果が得られた (Photo. 8 a, b)。

4. 核クロマチン分布

1) 浸潤性小葉癌 (ILC)

クロマチンの本態は微細形態学的には正染色質で (Photo. 3)、核膜にクロマチンの凝集は認められず、核内にほぼ均等分布していた。細胞像においても、核膜の肥厚は目立たず平滑で、クロマチンはほぼすべての腫瘍細胞に微細均一な分布を示していた (Photo. 9 a)。

2) 狭義の硬癌 (PSC)

クロマチンは微細形態学的には、核膜や核内に粗な凝集を呈する異染色質がその主体を占めていた (Photo. 5)。細胞像では、核縁に肥厚がみられ、クロマチンは比較的微細なものも認められたが、大部分は

Photo. 5 PSC cytoplasmic electron density is clear (↑) and dark. Chromatin shows a coarse granular pattern (EM, ×3500).

Photo. 6 Cytoplasm appears clear (↑) and dark (a: H-E, ×40, b: Pap, ×100).

粗大顆粒状であった (Photo. 9 b).

5. 細胞特性 (GCDFP-15)

1) 浸潤性小葉癌 (ILC)

ILC では細胞質内に GCDFP-15 が強陽性 (40.0%) を示した。なお、小葉癌には古典型 (Classical type) に加えて variant type^{6,7)} (Table 2) が報告されて来ているが、陽性例の大部分 (83.3%) がこ

の variant type に認められた (Photo. 10 a, b).

2) 狭義の硬癌 (PSC)

PSC では細胞質に 20.0% が強い陽性を示した。

IV. 考 察

近年、乳癌手術の主体は quadrantectomy などに代表される乳房温存術に移行しつつあるが^{2,3)}、小葉癌の乳房内多中心性発生という臨床病理学的特徴を考えると、この組織型を有する乳癌の温存手術施行には十分な留意が必要である。したがって、術前に行われる穿刺細胞診での、小葉癌の組織型推定は非常に重要な診断ファクターであるといえる⁸⁾。

今回は、組織学的類似性の高い ILC と PSC を中心に細胞学的鑑別点として、ポイントを次の 5 項目にしばり、比較検討した⁹⁾。

第 1 点の細胞配列では、線状・索状の配列と孤立散在性の細胞出現パターンに¹⁰⁾、ILC と PSC にそれぞれ異なる特徴が認められた。線状に配列した ILC は、個々の細胞の結合性がゆるく、数個の丸みを帯びた細胞が、いわゆる数珠状の形態 (rosary-like appear-

Photo. 7 Normal mammary epithelial cytoplasm of the terminal duct (lobule) are clear and homogenous (a : EM, $\times 2000$). Normal mammary epithelial cells of large ducts show clear cytoplasm ($\uparrow$) and are dark (b : EM, $\times 2000$).

Photo. 8 Normal mammary epithelial cytoplasm of the terminal duct (lobule) are clear and homogenous (a : Pap, $\times 40$). Normal mammary epithelial cells of large ducts are clear ($\uparrow$) and dark (b : Pap, $\times 40$).

Photo. 9 The ILC chromatin pattern is fine and uniform (a : Pap, $\times 100$). PSC is coarsely granular (b : Pap, $\times 100$).

ance) を示していた。孤立散在性配列は単一な形態、すなわち類円形や楕円形を示し、大きさも比較的均一であった。これらの細胞パターンの出現は、ILC が比較的疎な間質結合組織が介在する小葉に由来するため、後述する PSC の細胞と異なり、周囲からの圧迫を受けることが少ないためと理解される。

一方、PSC の線状・索状配列を示す細胞は、核間距離は不均等・密で、木目込み状に観察され、間質面に接する細胞辺縁は、直線状になる傾向が強く、孤立散在性配列は、細胞個々の大きさが一定せず、大小不同を示す傾向が強かった。また、細胞質の一端が鋭角な三角形様の細胞や、核の偏在・突出したものが多く認められた。組織学的に、PSC を取りまく間質結合組織は器質化～硬化を呈することが多いが、そこに存在

Table 2 Criteria for separating invasive lobular carcinoma into subgroups

Type	Pattern	Cell type
1. Classical	Single file, targetoid periparenchymal distribution, diffuse multifocal invasion	Small, noncohesive, regular with regular, round, or oval nuclei
2. Solid variant	Sheet-like pattern or irregularly shaped nests of cells	
3. Alveolar variant	Globular aggregates of 20 or more cells	
4. Mixes group or Pleomorphic pattern or atypical group	Mixture of above patterns Diffuse infiltration, often with irregular, small clumps of cells	
		Cohesive with nuclear pleomorphism

(modified from Page et al. 1987)

Photo. 10 Positive finding of ILC cytoplasm (GCDFP-15)
(a : Histology, ×20, b : Cytology, ×40).

する腫瘍細胞 (PSC) も周囲間質の影響を受け、上記のような形態を呈してくるものと思われる^{11,12)}。

第2点の核形および核の配列は、基本的には第1点の細胞配列と同様、周囲間質結合組織の状態を考えると理解しやすい。ILCの核は周囲からの圧迫を受けることが少ないため、大きさの均一な緊満感のある円形～楕円形のものが多く認められてくると考えられる。なお、成書にはILCの核は円形～楕円形が主体を占めるとの記載⁹⁾が多いが、症例のなかには深い切れ込みや、脳回状構造を示す核も観察されたことから¹⁰⁾、その一部には著しい核形不整が存在することも念頭におく必要がある。

PSCでは基本的には楕円形の核をみる³⁾が、不整形・縦並び状を示す傾向が認められ、これも周囲間質からの強い圧迫と腫瘍細胞の浸潤増殖性格の影響と思われる。

第3点の明調・暗調細胞に関しては¹³⁾、電顕像でも明瞭に観察された。すなわち、ILCの細胞質の電子

密度はほぼ均一な明調細胞で構成された症例が多いのに対し、PSCは細胞質が明調・暗調を示す細胞が混在していた。組織型によって細胞質が明調・暗調を呈する原因は正確には明らかでないが、個々の腫瘍細胞の小器官の量や質の違いによるものと考えられている。細胞、組織像でも、ILCは染色性がほぼ一定であり、PSCは明調と暗調に相当する細胞の混在が認められた。対照として正常の腺上皮細胞についても観察したが、正常の小葉を形成する腺上皮 (末梢終末乳管上皮細胞) では、電子密度、染色性が均一であり、小葉間乳管を含む大乳管の腺上皮細胞では、電子密度、染色性に差のある明調・暗調細胞の混在が認められることが多かった^{13,14)}。ILCの発生母地が正常の小葉を形成する腺上皮 (末梢終末乳管上皮細胞) 由来、PSCのそれが小葉以外の比較的太い乳管上皮由来であることを考えると、細胞診上、ILCでは染色性がほぼ一般的な細胞が、乳管癌の1つの亜型であるPSCでは明調・暗調細胞が混在している所見は首肯できる。また、この所見は両型の発生源を考慮するうえでも興味深い点であろう。

第4点の核クロマチン分布は、微細形態学的には、ILCのクロマチンは主に正染色質で構成されており、PSCのクロマチンは核膜や核内に凝集する異染色質がその主体を占める傾向にあった。細胞診では固定などの条件によって、クロマチンの凝集、拡散は容易に起こりうる現象であるため、同一の条件によって固定などがなされた細胞診標本という前提ではあるが、ILCの核クロマチンは繊細で、核縁の肥厚も乏しいのに対し、PSCの核クロマチンは粗顆粒状、核縁の肥厚などが認められた。これも微細形態学的に観察される正染色質、異染色質の所見がそれぞれの細胞像にも反映しているものと理解される。

第5点のGCDFP-15は、ILCでは40.0%が陽性、PSCでは20.0%が陽性で2倍の開きが認められた。Rosenら¹⁵⁾は、ILCの約33%にGCDFP-15が陽性となると報告しており、われわれの結果もほぼ同様であった。また、ILCはclassical typeが代表的であるが³⁾, variant type (solid, alveolar, mixed, pleomorphic type^{6,7)}, tubulolobular¹⁶⁾など)もそのsubtypeとして報告されてきている。GCDFP-15陽性を呈した83.3%がこのvariant typeであった。このtypeに、より一層陽性を呈してくる点も、Rosenらの報告と一致していた。なお今回は、ILCとPSCの症例が少なく傾向のみを捉えるに終ったが、今後のさらなる症例の蓄積により、統計学的処理が必要である。

以上より、前述の5点の所見が確認できれば、ILCとPSCの鑑別はおおむね可能と考えられる。しかし、まれではあるがILCのvariantの1つであるpleomorphic typeは¹⁷⁾, 大型で異型が非常に強い核と明瞭な核小体や、多辺形でライトグリーンにて顆粒状に好染する細胞を有しており、細胞像のみではPSCとの鑑別は困難であろう。また、しばしば小葉癌と硬癌両型が同一腫瘍内に認められる乳癌が存在するが、これは腫瘍の穿刺部位によっては両型が混じることがあり、観察にあたっては注意が必要である。

Abstract

Objective : Breast preservation therapy has become widespread and results depend largely on carcinoma histology. Such therapy is thus not suitable for invasive lobular carcinoma (ILC). We studied ILC and pure scirrhous carcinoma (PSC) to established cytological diagnostic criteria for their differential diagnosis.

Study Design : We studied 18 cases of ILC and 23 of PSC immunohistochemically and cytologically, analyzing cellular arrangement, nuclear figure and arrangement, nuclear chromatin distribution and frequency of clear and dark cells. We also used immunostaining for GCDFP-15.

Results : In ILC, carcinoma cells were evenly distributed, most having a round cytoplasmic edge, rosary-like appearance, and round or elliptical nuclei with homogeneously distributed chromatin. In PSC, carcinoma cells were vertically arranged, and had a linear cytoplasmic edge and compressed irregular nuclei with heterogeneously distributed chromatin. GCDFP-15 stained for 40% of ILC tumor cells and 20% of PSC. Variant ILC showed a higher reactivity for GCDFP-15.

Conclusion : ILC cells can be cytologically distinguished from PSC cells based on the criteria established in this study.

文 献

- 1) Page, D. L., Anderson, T. J. Diagnostic histopathology of the breast. New York : Churchill Livingstone, Edinburgh, 1987 : 174~184.
- 2) 泉 雄勝. 乳癌治療の変遷と展望. 乳癌の臨床 1992 ; 7 : 523~533.
- 3) Kasumi, F. President' Speech. Innovations and Research Progress of the Department of Breast Surgery, Cancer Institute Hospital, Tokyo, Japan. Breast Cancer 1998 ; 5 : 326~330.
- 4) 坂元吾偉編著. 取扱い規約に沿った腫瘍鑑別診断アトラス乳腺. 東京 : 文光堂, 1992 : 49~52.
- 5) 坂元吾偉編著. 取扱い規約に沿った腫瘍鑑別診断アトラス乳腺. 東京 : 文光堂, 1992 : 37~41.
- 6) Page, D. L., Anderson, T. J. Diagnostic histopathology of the breast. New York : Churchill Livingstone, Edinburgh, 1987 : 219~226.
- 7) Tavassoli, F. A. Pathology of the Breast. Norwalk : Appleton and Lange, 1992 : 307~314.
- 8) 土屋眞一. カラーアトラス乳腺細胞診. 土屋眞一監修, 東京 : 医療科学社, 2000.
- 9) 土屋眞一, 実原正明, 石井恵子, 町田智恵, 渡辺達男, 松山郁生・ほか. 乳腺浸潤性小葉癌の細胞学的特徴—特に硬癌との鑑別について—. 日臨細胞誌 1996 ; 35 : 385~392.
- 10) 渡辺達男, 土屋眞一, 町田智恵, 石井恵子, 寺井直樹, 小池綏男・ほか. 少数孤立散在パターンを示す小型乳癌細胞の細胞学的特徴—細胞形態と組織型との関係—. 日臨細胞誌 1996 ; 35 : 618~625.
- 11) 土屋眞一, 高橋洋子, 渡辺達男. 穿刺吸引細胞診—最近の進歩—, 乳腺. 臨床検査 1993 ; 37 : 32~38.
- 12) 土屋眞一, 渡辺達男. 腺癌細胞とその周辺, 乳腺. 武田鉄太郎編, 東京 : 武藤化学薬品 KK, 1995 : 52~60.
- 13) 土屋眞一, 松山郁生, 宮島道博, 丸山雄造, 小池綏男. 乳腺小葉癌と狭義の硬癌の関連性について—電顕および粘液組織化学を中心に—. 乳癌の臨床 1988 ; 2 : 587~595.
- 14) 土屋眞一. 病理組織診断における電子顕微鏡の有用性, 乳腺. 病理と臨床 1992 ; 10 : 297~305.
- 15) Rosen, P. P. Breast pathology. Philadelphia : Lippincott-Raven, 1997 : 545~565.
- 16) Elston, C. W., Ellis, I. O. The breast. Edinburgh : Churchill Livingstone, 1998 : 288~299.
- 17) 仲村 武, 今井宏樹, 渡辺睦子, 北村 創, 清水 哲. 乳腺 Pleomorphic lobular carcinoma の1例. 日臨細胞誌 1995 ; 34 : 58~62.