原 著

尿路上皮癌細胞異型度 1 からなる平坦病変の頻度と細胞像

今井 律子¹⁾ 夏目 園子²⁾ 大池 里枝²⁾ 田中 瑞穂²⁾
氏平 伸子²⁾ 佐竹 立成²⁾

東海市民病院中央臨床検査科¹⁾, 名古屋掖済会病院病理部²⁾

Key words : Urothelial cells—Urinary cytology—Flat lesion—Dysplasia—Urothelial carcinoma Grade 1 cell

目的 : ①尿路上皮癌細胞異型度 (C-G) 1 の細胞が平坦に発育する病変 (G1 平坦病変) の尿路上皮癌に合併する頻度, ②自然尿細胞診標本中に G1 平坦病変由来の細胞が出現する頻度と細胞像, ③G1 平坦病変の Cytokeratin 20 (CK20) 陽性頻度と陽性所見を検討した。

対象 : ①膀胱尿路上皮癌 47 例の生検組織標本 (HE 標本), ②G1 平坦病変が確認された 18 例の術前自然尿細胞診標本 (Pap. 標本), ③G1 平坦病変 43 切片, 尿路上皮内癌 (CIS と略す) 44 切片。

方法 : ①H. E. 標本の顕微鏡的観察, ②Pap. 標本の顕微鏡的観察, ③CK20 モノクローナル抗体 (DAKO 社) を用いた免疫染色標本の顕微鏡的観察。

成績 : ①G1 平坦病変の合併頻度は 57%であった。②G1 平坦病変由来の細胞が出現する頻度は 61%であった。細胞の出現数は平均 19 個と少なく, 細胞は核の長径 9 μ m 以下と小型であった。③G1 平坦病変の CK20 陽性率は 56%で CIS と同様な染色形態を示した。

結論 : G1 平坦病変に由来する細胞は主病変を切除しても, 標本中に出現する可能性がある。G1 平坦病変は膀胱癌取り扱い規約¹⁾や WHO 分類²⁾の尿路上皮異形成 (dysplasia) に相当する病変と考えられる。

I. はじめに

膀胱癌取り扱い規約¹⁾によると, 尿路上皮癌細胞異型度 (C-G と略す) 1 の細胞が乳頭状に増生する病変は尿路上皮癌 (urothelial carcinoma) 異型度 1 (G1) と規定されているが, C-G1 細胞が平坦に発育した病変 (G1 平坦病変と略

す) については必ずしも明確に規定されていない。今回, 私たちは以下の調査をしたので報告する。①尿路上皮癌組織学的異型度 1, 2, 3 (各 G1, 2, 3 と略す) に G1 平坦病変の合併する頻度, ②自然尿細胞診標本中に G1 平坦病変由来の細胞が出現する頻度とその細胞像, ③尿路上皮に由来する細胞が平坦に発育する病変 (尿路上皮平坦病変と略す) と正常尿路上皮における Cytokeratin 20 (CK20 と略す) の免疫組織染色所見。

II. 対 象

1. G1 平坦病変の合併頻度

2002 年 1 月~2004 年 5 月の間に名古屋掖済会病院で膀胱の尿路上皮癌と診断された 47 例の生検組織標本を用いた。組織学異型度は G1 が 19 例, G2 が 20 例, G3 が 8 例である。男性 39 例, 女性 8 例で, 主病変切除と同時に全例主病変周囲の膀胱粘膜の無作為生検 (ランダム生検と略す) が施

Flat lesions composed of urothelial carcinoma cells grade 1—Frequency and cytological features of urinary smears—

Ritsuko IMAI¹⁾, C.T., I.A.C., Sonoko NATSUME²⁾, C.T., I.A.C., Rie OIKE²⁾, C.T., Mizuho TANAKA²⁾, C.T., Nobuko UJIHIRA²⁾, M.D., Tatsunari SATAKE²⁾, M.D.

¹⁾Department of Central Laboratory, Tokai Municipal Hospital

²⁾Department of Pathology, Nagoya Ekisaikai Hospital

論文別刷請求先 〒477-0033 愛知県東海市中之池 3 の 1 の 1 東海市民病院中央臨床検査科 今井律子

平成 18 年 2 月 13 日受付

平成 18 年 7 月 11 日受理

Table 1 Incidence of G1 flat lesions in random biopsies of bladders

Type of histological grade (G) of urothelial carcinoma	Number of cases	Number of cases with G1 flat lesions	Incidence in total cases (%)
G1	19	9	47
G2	20	15	75
G3	8	3	38
Total	47	27	57

行されている。ランダム生検の数は1例4～14個まで、平均8個である。

2. 自然尿細胞診標本中に G1 平坦病変由来の細胞が出現する頻度と細胞像

尿路上皮癌 47 例のうち G1 平坦病変の合併が膀胱のランダム生検によって確認された尿路上皮癌 G2 の 15 例と G3 の 3 例、計 18 例の術前自然尿細胞診標本（Papanicolaou 染色標本：Pap. 標本と略す）を用いた。

3. CK20 の免疫組織染色所見

尿路上皮癌 47 例の膀胱のランダム生検で得られた正常尿路上皮：71 切片、尿路上皮平坦病変として G1 平坦病変：43 切片、尿路上皮内に C-G2 細胞が平坦に発育する病変（尿路上皮平坦病変細胞異型度 2：CIS G2 と略す）：29 切片、尿路上皮内に C-G3 細胞が平坦に発育する病変（尿路上皮平坦病変細胞異型度 3：CIS G3 と略す）：15 切片を用いた。また、乳頭状発育を示した尿路上皮癌 G1：13 例、G2：13 例、G3：7 例を用いた。

III. 方 法

①対象とした尿路上皮癌 47 例の生検組織標本（H.E. 標本）を観察し、主病変周囲に存在する G1 平坦病変の出現頻度（出現症例数/対象症例数）を調査した。②尿路上皮癌 47 例のうち G1 平坦病変の合併が膀胱のランダム生検によって確認された尿路上皮癌 18 例の自然尿細胞診標本（Pap. 標本）を観察し、G1 平坦病変由来の細胞が Pap. 標本中に出現する頻度（出現症例数/対象症例数）と細胞像を調査した。細胞像として以下の a, b, c を調査した。a) 1 標本中の出現数、b) 核の長径（一標本中の対象とする細胞 4 個以上 20 個の核長径をマイクロメーター：オリンパス社 MicroWF10×で計測しその平均値を算出した）、c) 核所見：c-1) 核形不整、核溝³⁾ c-2) 核の立体不整⁴⁾ c-3) 核小体の出現頻度（出現症例数/対象症例数）。自然尿細胞診標本はサイトプレップ 21（武藤社）を用いて検体処理し、Pap. 染色を施して作製した。③対象としたおのおのの組織切片に対し、CK20 モノクローナル抗体（DAKO 社）を用いて免

Table 2 Incidence of G1 flat lesion cells in voided urine of urothelial carcinomas

Histological grade (G) of urothelial carcinoma	Number of cases	Number of cases with G1 flat lesion cells (+)	Incidence in total cases (%)
G2	15	9	60
G3	3	2	67
Total	18	11	61

疫染色（PAP 法）を施した。

IV. 結 果

1. G1 平坦病変の合併頻度（Table 1）

尿路上皮癌に G1 平坦病変の合併する頻度は尿路上皮癌 G1 では 19 例中 9 例 47%，G2 では 20 例中 15 例 75%，G3 では 8 例中 3 例 38% となり、全体としては尿路上皮癌 47 例中 27 例 57% の頻度となった（Photo. 1）。

2. 自然尿細胞診標本中に G1 平坦病変由来の細胞が出現する頻度（Table 2）と細胞像

G1 平坦病変の合併が膀胱のランダム生検によって確認された尿路上皮癌 G2 の 15 例と G3 の 3 例で G1 平坦病変由来の細胞がその自然尿細胞診標本中に出現する頻度はおのおの順に 15 例中 9 例 60%，3 例中 2 例 67% であった。全体としては 18 例中 11 例 61% の出現頻度となった（Photo. 2）。自然尿細胞診標本中に認められた G1 平坦病変由来の細胞像は以下のとおりであった。a) 1 標本中の出現数は 4～41 個、平均 19 個であった。b) 核の長径は 7.0～8.3 μm 、平均 7.6 μm であった。c-1) 核形不整、核溝の出現頻度は 10/11, 91%，c-2) 核の立体不整 6/11, 55%（Photo. 3），c-3) 核小体 8/11, 73% であった。細胞は円ないし類円形で、核クロマチンは軽度に濃染し、孤在性あるいは 5～10 個の小集塊を形成して認められた。

3. CK20 の免疫組織（Table 3）

CK20 陽性頻度は、正常尿路上皮では 71 切片中 51 切片 72%，G1 平坦病変では 43 切片中 24 切片 56%，CIS G2 では 29 切片中 21 切片 72%，CIS G3 では 15 切片中 14 切片 93% であった。尿路上皮癌 G1 では 13 例中 5 例 38%，G2 では 13 例中 9 例 69%，G3 では 7 例中 4 例 57% であった。CK20 は正常尿路上皮では被蓋細胞のみに陽性を示し、被蓋細胞以外の細胞はすべて陰性であった。G1 平坦病変ではほとんどすべての細胞が陽性であった（Photo. 4a）。CIS G2, G3 でもほとんどすべての腫瘍細胞が陽性を示した（Photo. 4b）。乳頭状に発育する尿路上皮癌では G1, G2, G3 ともに一部の腫瘍細胞が陽性を示した（Photo. 5）。

Table 3 Immunoreactivity staining results for Cytokeratin 20

Type of specimens		Cytokeratin 20		Incidence of positive reaction (%)
		(+)	(-)	
Normal epithelium	(71) *	51	20	72
Flat lesions				
G1 flat lesions	(43) *	24	19	56
CIS-G2	(29) *	21	8	72
CIS-G3	(15) *	14	1	93
Papillary tumor of urothelial carcinoma (cases)				
G1	(13) **	5	8	38
G2	(13) **	9	4	69
G3	(7) **	4	3	57

() * : number of specimens (+) : positive
 () ** : number of cases (-) : negative

V. 考 察

今回の調査で、G1 平坦病変は、平均 57% の頻度で、通常の尿路上皮癌に合併することが証明された。また、そのうちの、平均 61% の症例では C-G1 の「異型細胞」が自然尿細胞診標本中に出現することが示された。このことは、経尿道的切除術 (TUR) で主病変を切除した後も自然尿中に G1 平坦病変由来の「異型細胞」を観察する可能性があることを意味している。これらの細胞は、小型であり、核異型も強くないので、通常の細胞判定では、疑陽性や Class III と判定されることが多いと思われる。この場合主病変が切除され、膀胱には隆起性病変がないのに細胞診断では疑陽性判定されることになるので臨床医からの疑問に答える必要が生じる場合もあろう。したがって、細胞診断報告書に、この可能性のあることを記載しておく必要もあると考えられる。尿路上皮癌 G1 に由来する細胞の特徴、特に核の大きさや核溝の存在頻度などに関する形態的特徴は、私たちがすでに発表してきた^{3,4)}。それによると、核は小型、長径の平均は $7.9 \mu\text{m}$ で、核溝の存在が 55% 以上あれば 89% の確率で診断可能との結果を得ている。また、未発表であるが、われわれの調査では、尿路上皮癌 G1 に由来する細胞の核クロマチンは、正常の尿路上皮細胞に比較して軽度濃染し、核小体はないか、小さい。今回の調査でも、核長径の平均は $7.6 \mu\text{m}$ と小さく、核形不整や核溝、核の立体不整³⁾の頻度とも乳頭状に発育した尿路上皮癌 G1 に由来する細胞と異なる所見は認められなかった。しかし、細胞診標本で尿路上皮癌 G1 に由来する細胞を確定診断することは困難であるので、確定診断せず、臨床的精査を促すことにとどめるのがよいと考えている。

G1 平坦病変は組織学的に尿路上皮平坦病変の分類のなかでどこに位置するのか知っておくことは重要である。日本の膀胱癌取り扱い規約¹⁾では、平坦に発育する尿路上皮病変は、過形成 (hyperplasia)、異形成 (dysplasia)、上皮内癌 (carcinoma *in situ*) が含まれている。過形成の定義は明確であり、細胞異型度 3 の細胞の平坦病変を上皮内癌とすることも明らかである。しかし、異形成は、上皮に軽度～中等度の異型を伴う平坦な病変と記載されており、やや曖昧である。また、上皮内癌の上皮に細胞異型度 2 の細胞が含まれていることの記載はあるが、すべての細胞異型度 2 の細胞が含まれるか否かの記載はない。いずれにしても G1 平坦病変は尿路上皮異形成に含まれるものと考えられる。

WHO 分類⁵⁻⁷⁾でも異型細胞が平坦に発育する病変 (flat lesions with atypia) のなかに reactive atypia, atypia of uncertain significance, dysplasia, carcinoma *in situ* の記載がある。CIS は high-grade intraurothelial neoplasia であり、dysplasia は low-grade intraurothelial neoplasia としている。CIS は細分類せず、従来の “severe dysplasia” が含まれるとしている。Severe dysplasia を構成する細胞の異型度についての記載はないが G1 平坦病変は dysplasia に含まれているものと考えられる。しかし、一方では G1 平坦病変が、reactive atypia や atypia of uncertain significance ではないことの確認が必要である。Cheng ら⁸⁾は、現在のところ reactive atypia と atypia of uncertain significance との鑑別は困難で、atypia of uncertain significance のカテゴリーは将来の分類では削除されることが望まれると述べているが、その掲載された写真を観察すると、われわれの G1 平坦病変は、Photo. 2 に示すように、小型核異型細胞がほぼ全層に増生した病変で、細胞の密度も高く、分化の傾向がほとんどみられない点で、これらの病変とは鑑別可能と考えている。また、Epstein ら⁷⁾の掲載した atypia of uncertain significance の写真では、核や核小体が肥大しており、われわれの G1 平坦病変の小型で核小体の肥大しない細胞とはかなり異なっている。

Koss⁹⁾によると、尿路上皮が異型細胞で構成される平坦病変を intra-urothelial neoplasia (IUN) 1, 2, 3 に分類することを提案している。IUN 1 は mild dysplasia や atypical hyperplasia を、IUN 2 は moderate dysplasia や severe dysplasia を含み、IUN 3 は flat carcinoma *in situ* である。また、low grade IUN は IUN 1 であり、high grade IUN は IUN 2, 3 を含んでいる。

われわれは、G1 平坦病変は尿路上皮異形成とし、G2, 3 の平坦病変は尿路上皮内癌としている。C-G2 の細胞からなる浸潤癌を経験するからである。C-G3 の平坦病変を CIS とすることには異論はないと考えられるが、C-G2 の平坦病変のすべてあるいは一部を CIS とするか異形成とするかの

コンセンサスは得られていないように思える。

今回, CK20 の染色所見では G1 平坦病変は, C-G2, 3 平坦病変と同様の染色所見を示した。また, WHO 分類¹⁰⁾およびその他の論文^{11,12)}で示されている異形成の染色所見とも同じであった。したがって, われわれのいう G1 平坦病変は WHO 分類や日本の膀胱癌取り扱い規約で示されている異形成に含まれる病変であると考えられる。

本論文の要旨は第44回日本臨床細胞学会秋期大会(2005年11月奈良市)において報告した。

Abstract

Objective : We studied the frequency with which ① urothelial carcinomas were concomitant with flat lesions composed of grade 1 urothelial carcinoma cells (G1 flat lesions), ② cells derived from G1 flat lesions were recognized in urinary cytological smears and their cytological features, and ③ histological features of G1 flat lesions reacting positively to Cytokeratin 20 (CK-20).

Study Design : We observed ① histological preparations of 47 urothelial carcinomas of the urinary bladder, and ② urinary cytological smears from voided urine in 18 cases of G1 flat lesions and CK-20 immunohistochemical staining preparations of G1 flat lesions and urothelial carcinomas.

Results : G1 flat lesions were recognized in 57% of urothelial carcinomas. Cells from G1 flat lesions were small in nuclear size and few in number in urinary cytological smears and appeared in 61% of those from urothelial carcinomas with G1 flat lesions. Some 56% of G1 flat lesions reacted positive by to CK-20.

Conclusions : Cells derived from G1 flat lesions may appear in cytological smears even after main papillary tumors have been resected. G1 flat lesions are thought to correspond to urothelial dysplasia in the WHO classification of tumors of the urinary system.

文 献

- 1) 日本泌尿器学会, 日本病理学会, 編. 膀胱癌取り扱い規約. 東京: 金原出版, 2001.
- 2) Mostofi, F.K., Davis, C.J., Sesterhenn, I.A. Histological typing of urinary bladder tumours. International Histological Classification of Tumours (2nd ed.). WHO: Geneva, 1999.
- 3) 今井律子, 夏目園子, 橋本政子, 高木里枝, 深津俊明, 佐竹立成. 自然尿中の小型異型尿路上皮細胞の診断について. 日臨細胞誌 2004; 43: 99~103.
- 4) 今井律子, 夏目園子, 橋本政子, 高木里枝, 深津俊明, 佐竹立成. 尿路上皮細胞に認められる核溝について. 日臨細胞誌 2004; 43: 311~315.
- 5) 福島昭治, 鰐渕英機, 森村桂一郎, 栢田周桂. 膀胱癌. 病理と臨床 2000; 9: 888~896.
- 6) 松崎 理. 新 WHO 分類. Medical Technology 2004; 7: 680~683.
- 7) Epstein, J.I., Amin, M.B., Reuter, V.R., Mostofi, F.K. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional) neoplasms of the urinary bladder. Am J Surg Path 1998; 22: 1435~1448.
- 8) Cheng, L., Cheville, J.C., Neumann, R.M., Bostwick, D.G. Flat intraurothelial lesions of the urinary bladder. Cancer 2000; 88: 625~631.
- 9) Koss, L.G. Tumor of the urinary tract in urine and brushings. Koss, L.G. Koss's Diagnostic Cytology. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 777~846.
- 10) Eble, J.N., Sauter, G., Epstein, J.I.A. Pathology and genetics. Tumours of the Urinary system and Male Genital Organs World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARC Press, 2004: 89~157.
- 11) Harnden, P., Eardley, L., Joice, A.D., Sauthgate, J. Cytokeratin 20 as an objective marker of the bladder. Br J Urol 1996; 78: 870~875.
- 12) Desai, S., Lim, S.D., Jimenez, R.E., Chun, T., Keane, T.E., Mckenney, J.K., et al. Relationship of cytokeratin 20 and CD44 protein expression with WHO/ISUP Grade in pTa and pT1 papillary urothelial neoplasia. Mod Pathol 2002; 13: 1315~1323.

写真説明

- Photo. 1** G1 flat lesion (a) concomitant with urothelial carcinoma grade 1 (b) (a: H.E. staining, $\times 40$ b: H.E. staining, $\times 10$).
- Photo. 2** Cells (a) derived from G1 flat lesion (b) in urinary cytological smears. Nuclei are small and irregular with nuclear grooves (a: Pap. staining, $\times 100$ b: H.E. staining, $\times 40$).
- Photo. 3** Cells derived from G1 flat lesions in urinary cytological smears. Note clusters of small cells with round or oval nuclei. Nuclear shapes change from a to b (arrows) when the focus is changed (Pap. staining, $\times 100$).
- Photo. 4** CK-20 labeling extended through the full thickness of both G1 flat lesion (a) and urothelial carcinoma *in situ* (b) (Immunohistochemical staining, $\times 40$).
- Photo. 5** CK-20 immunoreactivity noted in part of papillary urothelial cell carcinoma (Immunohistochemical staining, $\times 20$).

Photo. 1

Photo. 4

Photo. 2

Photo. 5

Photo. 3