技術講座

病理検査をより良く利用するために

第五回 診断可能な病変の採取法：診断精度向上のために臨床現場でできること

三井一鬼¹⁾ 日本獣医がん学会 病理部会委員

はじめに

病理検査に関する技術講座も今回で最終回である。今回は、「納得のゆく診断がつく標本をいかにして採取するか」、また、「患者の病態を正確に把握するために、病理診断医に対して臨床医からどんな働きかけが可能・必要か」について、いくつかの具体例を交えながら述べてみたい。

1, 診断のつく標本の採取

標本の具体的な採取法や注意点に関しては、本技術講座の第一回（難波裕之氏担当）において既に詳説されているので、参照されたい。スタンプ、針生検、FNA、液体塗抹、ツルーカット生検、パンチ生検（皮膚病変、腫瘍）、内視鏡生検、部分切除生検、全切除といった、日常多用される様々な手技が網羅されている。

「診断のつく標本」とは何か、を説明するのは案外難しい。病理検査に供される標本の多くは、診断、あるいは、確たる診断に至らないまでも鑑別診断や考える病態についての情報をもたらしてくれる。おそらく、「診断のつかない例」について述べたほうが反面教師的に参考になると思われる。本誌はがん学会誌であるが、腫瘍に限らず、いくつか例を挙げてみる。なお、筆者が日常担当しているのはホルマリン固定組織の検査のため、本稿において細胞診に関する言及が少ないことをご容赦いただきたい。

1-1, 腫瘍のツルーカット生検標本

体表、粘膜、体腔内臓器に生ずる腫瘍状病変は、できるだけ事前に針生検やツルーカット生検を行ない、後の治療方針の決定や外科的摘出時のマージン設定に必要な情報（腫瘍なのか否かの判定、腫瘍であれば良悪の判別など）を得ることが望ましい。

ツルーカット生検は採取される組織の量が針生検に比べて多いため好まれるが、診断医にとっての頭痛のタネは、組織の挫滅である。これは、組織が採取される際に内針・外管がこすれあうために必然的に生じるが、採取される細胞の種類や性状（圧力によってつぶれやすい細胞と耐える細胞がある）にも左右されるようである。リンパ組織の場合、挫滅が顕著なことが多い（図1）。たかが挫滅と思われるかもしれないが、人の眼をつりあげたり鼻を押し上げたりするとたちまち別人のように見えるのと同じで、炎症反応として浸潤しているマクロファージが腫瘍細胞に見えたり、円形細胞が紡錘形細胞に見えたりと、診断の精度を著しく下げることになる。

ツルーカット生検では、病変の本質とはあまり関係ない組織（腫瘍周囲の正常組織、腫瘍内の壊死組織など）がたまたま採取されることもある。採取された組織の全てがこのようなものであれば、正確な診断をつけることが困難となる。

腫瘍の種類によっては、組織学的悪性度（いわゆるグレード）分類を行なうことが求められている。代表例として、犬の皮膚肥満細胞腫や犬の軟部組織肉腫がある。ツルーカット生検標本においては腫瘍の全体を観察するわけではないため、完全な悪性度分類が困難な場合が多い。したがって、ツルーカット生検は、病変の種類によっては確定的な診断を下せるかもしれないが、スクリーニング検査の範疇を出ないこともあるかもしれない、ということを理解しておく必要がある。

1) アイデックスラボラトリーズ株式会社 〒181-8608東京都三鷹市北野3-3-7 TEL：0422-71-0880 FAX：0422-71-0881
メールアドレス：ikki-mitsui@idexx.com

図1. リンパ節のツルーカット生検標本。組織挫滅が顕著であり、診断的情報に乏しい。

図2. リンパ節のツルーカット生検標本。組織挫滅がほとんどなく、リンパ腫の診断が可能である。

診断精度向上のためのヒント：

- ① 複数の標本を採取する（可能な限り5個以上）。
- ② 必然的に細胞を傷つける手技であることを意識し、採取時はもちろん、その後の標本の取り扱いも繊細に行なう（図2）。
- ③ 必要に応じて、採取組織のスタンプ標本をその場で作成し、目的とする細胞が採取されているか確認する。

1-2, 骨生検標本

骨の腫瘍やレントゲン検査で検出された骨融解病変の精査のために、骨生検が行なわれることが多いように思われる（骨髄の生検は別として）。最悪のシナリオとして骨肉腫を考えることが多いが、諸検査で骨肉腫が疑われるにもかかわらず、病理検査でなかなか骨肉腫と断定されずにやきもきする、といった経験をお持ちの方も多いのではないだろうか。

骨病変の診断確定に時間がかかることには様々な要因があるだろうが、「仮骨に関する理解と骨生検の手技」が、迅速で的確な診断のための秘訣と思われる。骨肉腫は、獣医腫瘍学の成書に正直に書かれているように、病理診断医を悩ます腫瘍の一つである。この理由は、破壊された骨の周辺に「仮骨（骨再生の土台となる、未熟な網状骨。図3参照）」が増殖するため、盛り上がっているから腫瘍と思って採取した組織が実は仮骨組織ということがあるからである。仮骨は、未熟な形態の骨芽細胞によって構成されており、硝子軟骨を含むこともある（骨肉腫にも同様の所見が見られることがしばしばある（図4））。このように、仮骨と骨肉腫の鑑別は決して容易ではない。

治療法や予後が正反対に変わりがねないため特に慎重を要する骨の病変の評価であるが、標本採取に当たっては以下の点を意識することが望まれる。

診断精度向上のためのヒント：

- ① 複数の標本を採取する（最低5個）。動物の大きさによっては生検が悪影響（微小な骨折等）を及ぼす懸念があるが、確定診断を得ることの利益と比較し、ケースバイケースで判断する。
- ② レントゲン写真と実際の病変を見比べて、病変の盛り上がりの頂点から標本を採取することを心がける。生検針を十分深く刺入し、病変の中央部まで到達させることも重要である。

図3. 骨の針生検標本。仮骨組織の一部。幼若な骨芽細胞が多数認められるが、異型性や分裂像は明白ではない。骨梁（赤い島状構造）は、幼若な骨芽細胞や破骨細胞によって取り囲まれている。

図4. 骨の針生検標本。骨肉腫。増殖細胞に異型性が明らかであり、骨梁を腫瘍細胞が直接覆っている。

1-3, 消化管内視鏡生検標本

飼い主や獣医師の意識（時代の流れ）は、浸襲性の少ない検査を好む方向へ着実に動いている。内視鏡検査はその有力な手段の一つで、消化管や鼻腔等、普段覗くことのできない部位の検査に威力を発揮する。

プレパラート上の消化管内視鏡生検標本はせいぜい数ミリメートルの大きさで、ツルカット生検標本と同じく挫滅が生じていることが多い(図5)。粘膜組織が元々脆弱であることも背景にあると思われる。このようなごく小さな標本から、病理診断医が読み取ることを期待されている変化は、以下に示すように実に多岐にわたる（参考: Journal of Comparative Pathology 2008, Vol. 138, S1-S43）。

- ・ 絨毛短縮（小腸）
- ・ 陰窩拡張（小腸）
- ・ 粘膜線維化
- ・ 上皮におけるリンパ球浸潤の程度
- ・ 病原体の有無や種類
- ・ 上皮傷害
- ・ 乳び管拡張（小腸）
- ・ 固有層の炎症細胞浸潤の種類と程度
- ・ 粘膜リンパ濾胞の過形成の有無
- ・ 腫瘍の有無や種類

消化管は長く、粘膜の総面積は広い。病理組織検査を徹底的にしようと思い、プローブが入る範囲で、例えば3cm 間隔で網羅的に組織を採取することは、不可能ではないかもしれないが現実的ではない。したがって、内視鏡で見える所見を頼りに、「代表的な」組織を採取してくることになる。ここにまず、内視鏡による病理組織検査の制約がある。

また、内視鏡で採取することができる組織の深度にも限りがあり、粘膜、粘膜筋板、そしてせいぜい粘膜下組織までである。粘膜下組織や平滑筋層に主病変を形成する、リンパ管拡張症の際の脂質肉芽腫や消化管間質腫瘍(GIST)などの腫瘍は、内視鏡では観察することも病変を採取することもできない。病変の性質によっては、開腹による切除や楔生検が選択されるべきである。

小腸の評価項目に含まれる絨毛の長さの観察は、しばしば悩みのタネとなる。この観察のためには、粘膜表層から深層まで、正しい方向性（オリエンテーション）でプレパラートに載っている必要がある（図6）。しかし、元々絨毛の頂上部のみが採取された標本であったり、ホルマリン固定の際にオリエンテーションが不明となった状態のまま組織標本が作成された場合は、絨毛の長さを判定することが困難となる。

これらの事実を考慮すると、消化管内視鏡生検標本の病理組織検査がいかに診断医泣かせであるか、お分かりいただけるであろう。しかし、浸襲性の少ない検査を有効に活用するためには、検査に携わる者が多少工夫しなければならない。対策として、いくつか考えられる。

図5. 十二指腸内視鏡生検標本。絨毛の断片が4個見られる。うち1個（最も右側のもの）には挫滅が重度で、診断的価値が減じている。分断化した標本では、絨毛の長さの判定は不可能である。

図6. 開腹によって採取された、十二指腸全層生検標本。粘膜の全体像。絨毛の評価は、このような標本で行なうのが理想的である。内視鏡検査においても、これに近い標本を採取することは可能である。

診断精度向上のためのヒント：

- ① 一つの解剖学的部位（例：胃底部、幽門部、十二指腸、等）のそれぞれから、複数（最低でも5個）の標本を採取する。
- ② 粘膜表面だけでなく、粘膜筋板まで確実に採取するよう心がける（多少の出血は覚悟して）。
- ③ 採取組織の底部を濾紙に付着させ、オリエンテーションを保存してホルマリン中で固定する。

1-4, 膀胱粘膜の腫瘍

画像検査で膀胱粘膜に腫瘍が検出される機会は少なくない。腫瘍の本質を見極めるための検査としては、非観血的（経尿道カテーテルや膀胱穿刺による吸引標本）あるいは観血的（膀胱の切除生検）な手法があるが、初期のスクリーニングの意味で非観血的検査が好まれるのは当然と思われる。粘膜より深い部位に形成される病変（平滑筋由来の腫瘍や膀胱憩室などを経験したことがある）は、観血的に採取した全層生検標本でなければ診断することができない。

膀胱の粘膜（移行上皮）は、慢性的な炎症や機械的刺激によって容易に腫瘤状・ポリープ状に増殖（過形成化）する（図7）。画像検査あるいは肉眼で、過形成と腫瘍とを区別することはほぼ不可能である。顕微鏡的な非腫瘍・腫瘍の鑑別には、上皮細胞そのものの形態学的特徴はもちろんだが、粘膜の基底膜や粘膜下組織の評価が重要な助けになることがしばしばある。もし炎症に付随した過形成であれば、上皮細胞の異型性は無いかせいぜい軽度で、粘膜の基底膜は平滑であり、粘膜下組織には炎症反応（炎症細胞浸潤、水腫、出血など）が明らかである（図8、9）。腫瘍性増殖であれば、異型性はたいへいの場合顕著で、基底膜は不整を呈し、炎症反応の程度は様々である（図10）。腫瘍であれば、腫瘍細胞の深部への浸潤や、脈管内浸潤が見られるかもしれない。

苦労して膀胱腫瘍から採取した標本に歯切れのよい診断がつかないことが多いのは、このような理由がある。診断精度を少しでも上げるための対策として、次のようなことが考えられる。

診断精度向上のためのヒント：

- ① エコーガイド下で、腫瘍そのものからなるべく複数の標本を採取する。採取組織は多いほど、また大きいほどよい。
- ② 細胞診用の塗抹標本と、病理組織検査用のホルマリン固定標本の双方を作成し、両検査を同時に実施することで診断精度が高まる可能性がある。

図7. ポリープ状膀胱炎標本のルーペ像。

図8. 図7の拡大像。移行上皮は著明に肥厚しているが、個々の細胞に異型性は認められず、基底膜は平滑である。増殖した移行上皮の下方への陥入 (Brunn's nest. 写真の下方の島状組織) が見られる。粘膜下組織において、炎症細胞浸潤や出血が認められる。この組織に腫瘍性変化は認められない。

図9. 膀胱腫瘍の経尿道カテーテル吸引標本。多数の移行上皮細胞が採取されているが、異型性は顕著ではなく、中央の細胞集塊において、細胞の極性 (配列の秩序) は保存されている。背景には多数の赤血球 (出血) や少数の炎症細胞 (炎症) が認められる。

図10. 膀胱腫瘍の経尿道カテーテル吸引標本。異型性の明らかな移行上皮細胞が多数採取されている。異型性は、細胞・核の大小不同、核膜の不整、大型の核小体、多核細胞、極性の消失によって示される。

以上、いくつかの例をお示ししたが、診断のつきにくい例のほとんどは、微小な生検標本である。診断精度の向上のためには、「なるべく多数の標本を最小限の損傷で採取する」という鉄則を守ることが一番の近道である。苦勞して得られた標本には相応の貴重な情報がつまっていると信じて、地道に (時には多少無理をしてでも) 標本採取に当たっていただけると幸いである。飼い主の手前、また麻酔リスクを減ずるために最小限の浸襲で済ませたいのはもっともなことだが、治療法の選択と予後判定という、臨床現場で最も重要な決定をする第一歩が、臨床医自らの生検に対する姿勢や手技に他ならないことを常に念頭においていただきたい。

2, 臨床医から病理医への働きかけ

さる2009年の秋、カリフォルニア州で開催された米国獣医病理学会の「外科生検ワークショップ」にて、講演者の Dr. Stromberg (オハイオ州立大学) が紹介した概念が印象的であった。すなわち、「Total patient evaluation (患者の包括的評価)」である。要は、臨床獣医師と病理診断医 (臨床病理医、解剖病理医) が密に連携し、可能な限り正確な診断をつけることで、獣医師、飼い主、検査機関／診断医、そしてなによりも動物自身が恩恵を受ける、という内容である。

このような話題が出る背景には、たとえ獣医先進国と呼ばれる米国であっても、病理がなかなか臨床家にとってとっつきにくい、なじみがたい分野であると認識されていることがある。また、米国の病理診断医の中には臨床家としてのキャリアを持つ者が少なくないが、臨床分野の日進月歩の発展についていくためには相当の努力を要するため、臨床現場で求められている情報をうまく提供できないことがあることを端的に示している。もちろん、臨床家と病理医が独立して専門性を追及することの重要性に異論はないであろう。しかし、診断にいたる過程で両者がコミュニケーションすることの利益は、確実にある。

2-1, 必要な情報の提供

病理医が正確な診断を導き出せるように、臨床家が配慮すべきことがある。質の高い複数の標本を採取し、正しく固定・処理し、破損なく検査施設に送付することの重要性については、一連の病理技術講座で既に述べた。次の段階として、依頼書を使って、下記の①～④に示した情報を病理医に是非伝えていただきたい。なぜならば、星の数ほどある疾患・診断の中から、最終的に確定診断あるいは数個の候補を導き出すためには、顕微鏡による検査のみでは限界があるからである。このような情報が診断に特に不可欠な疾患の例として、腫瘍病変、皮膚病変、肝疾患、骨髄病変が挙げられる。

- ① 病歴
- ② 臨床検査結果 (身体検査、血液、画像等)
- ③ 治療歴と治療に対する反応
- ④ 考えられる (除外してほしい) 鑑別診断

2-2, 外科切除マージンについて

腫瘍の外科的摘出症例であれば、病理組織検査の主要な目的は、「診断名を知る」、「予後情報を知る」、「切除の完全性を知る」、「脈管浸潤の有無を知る」ということではなからうか。とくに病変切除の完全性の評価 (マージンチェック) に関しては、術者の行なったことを病理医が見る、すなわち人対人の領域であるため、互いに神経を使う。マージンに関して病理医として述べたいことは多々あるが、紙面の都合から以下の項目に要約する。

- ・可能な限り、術前の細胞診で (暫定) 診断を得て、摘出マージン設定の参考とする (例: 犬の皮膚肥満細胞腫)。
- ・マージンの正確な評価のためには、切除組織の「全て」を病理検査に提出する。
- ・ホルマリン固定促進のための割は、診断上重要な部位 (腫瘍の底部等) には入れないこと。
- ・小さな病変 (直径3cm 以内) に、敢えて割を入れる必要はない。
- ・墨汁でマージンを塗ることは推奨される方法である (油性マジックはアルコールで消失するので不可)。色つきの外科用組織マーカーも有用である。
- ・特に検査してほしいマージンがあれば特定する (写真を使っても可)。
- ・依頼書の体裁に関わらず、マージンコメントの要／不要を病理医に明確に伝える。

■ おわりに

全5回にわたって、臨床の先生方に病理検査（臨床病理、解剖病理）をいかに適切かつ有効に使っていただくことができるかをテーマに稿を重ねてきた。言葉が足りず、混乱を招いてしまった箇所もあると思われる。ご不明な点があれば、ぜひ本シリーズの執筆者（難波、三井）や病理部会委員へご連絡いただきたい。日本獣医がん学会病理部会としては、臨床の現場と常にコミュニケーションをとり続け、日本の獣医がん診療を縁の下から力強く支える存在でありたいと願っている。

末尾になりましたが、本稿執筆の機会を与えていただいた山上哲史先生に、この場を借りて御礼申し上げます。

For better utilization of pathologic diagnostic procedures.

Lecture 5. Sampling of diagnosable specimen in clinical practice to increase diagnostic accuracy

Ikki Mitsui¹⁾

1) IDEXX Laboratories K.K., 3-3-7 Kitano, Mitaka, Tokyo181-8608, Japan
Telephone: 0422-71-0880 Facsimile: 0422-71-0881 Email address: ikki-mitsui@idexx.com