

実践的細胞診断ワークショップ 1

乳腺細胞診断ことはじめ

ハンドアウト

目 次

	ページ
1. 当院における乳腺のベッドサイド穿刺吸引細胞診標本作製の実際 兵庫医科大学病院病理部 糸山雅子 (CT) 山本格士 (CT) 伊藤敬 (MD) 廣田誠一 (MD)	2
2. 病理専門医として押さえておきたい乳腺疾患の細胞病理学的特徴 ー伝統的な所見から最近の知見まで 山梨大学医学部 人体病理学講座 ¹⁾ 、山梨大学医学部附属病院 病理部 ²⁾ 川崎朋範 (MD) ¹⁾ 、弓納持勉 (CT) ²⁾ 、石井喜雄 (CT) ²⁾ 、中澤久美子 (CT) ²⁾ 、 加藤良平 (MD) ^{1,2)}	5
3. 乳腺細胞診断ことはじめ(主に特殊型に関して) 川崎医科大学病院病理学2 小塚祐司	19
4. 細胞診検体を用いた免疫細胞化学と FISH・CISH 法応用に関する留意点 東海大学医学部 基盤診療学系 病理診断学 唐 小燕 (MD)、熊木伸枝 (MD)、伊藤 仁 (CT)、梅村しのぶ (MD)	27

兵庫医科大学病院病理部

○糸山雅子 (CT) 山本格士 (CT) 伊藤敬 (MD) 廣田誠一 (MD)

はじめに

穿刺吸引細胞診は、低侵襲的、低コストの検査であり、治療の方向性を決定する上で極めて重要な位置を占める。2008年版乳癌診療ガイドラインでは「穿刺吸引細胞診は乳房疾患の良悪性の判定方法として勧められる」とされている。しかしその欠点として、非浸潤癌と浸潤癌の鑑別が困難であることや、偽陰性例、診断不能なサンプルしか採取されない症例の存在についての指摘がある。乳腺腫瘍の診断における超音波検査やマンモグラフィなどの画像診断の進歩とともに、早期の小さい腫瘍や非触知病変に対する穿刺吸引細胞診は、治療方針決定に影響するため、その欠点をいかに補うかが課題となっている。

穿刺のベッドサイドに細胞検査士が出向き、検体処理のサポートを行うベッドサイド細胞診は、採取された細胞の標本作製途上の変性を最小限に抑えることが可能であり、さらに採取したその場で細胞量を顕微鏡で確認することにより検体不適正の減少に極めて有用である。ただし出向くことが難しい小人数の検査室の場合は病理医や臨床医の協力が必要で、また細胞採取から固定までの技術は迅速性が要求される。そこで今回簡便でかつ、できるだけ多くの細胞を回収して変性の少ない標本作製する方法の検討を行った。また、エコーガイド下での針生検（以下CNB）、バコラ生検およびマンモトーム生検の際に採取された組織の捺印細胞診をベッドサイドで行うことで、診断の向上につながることを期待され、当院で行っている方法についても紹介したい。

1 当院におけるベッドサイド細胞診

当院では、平成18年7月より乳腺・内分泌外科における穿刺吸引細胞診の検体採取に際し、外来のベッドサイドに病理部の技師が同席することとした。現在では、乳腺・内分泌外科外来での乳腺・甲状腺・リンパ節等の穿刺吸引細胞診（以下FN A）標本、CNB、バコラ生検採取時の捺印標本、超音波センターでのエコーガイド下マンモトーム生検の捺印標本の作製を週2回行っている。また本年9月より耳鼻咽喉科外来でのFN Aにおいてもベッドサイド細胞診を週2回実施している。その目的は

- ①的確・迅速な塗抹、固定操作
- ②細胞診に必要な細胞量の採取の確認
- ③採取部位の確認および臨床症状の情報収集

である。とくに検体採取時の的確な判断により「判定不能」、および検体の不備による「鑑別困難」を減らしていく努力を行っている。臨床側からは、その場での診断を希望される場合もあるが、細胞検査士の短時間でのスクリーニングによる負荷が大きいこと、細胞検査士の力量に差があること、陽性症例や偽陽性、鑑別困難な場合にダブルチェックやコンサルテーションが行う時間がないこと、外来での作業スペースが狭いため患者さんに報告内容が確定する前に伝わってしまう可能性があることなどから行っていない。しかし、毎週行われる乳腺カンファレンスで細胞像を提示し、放射線技師、超音波検査士、臨床医、病理医とともに各症例の検討に加わっている。

2 手 技

①塗抹：瞬時の判断と速やかな噴出・捺印

FNA標本は多くの場合、細胞採取量が少量であり、判定不能で結果報告されることもしばしばである。剥離防止にシランコーティングスライドを用いるのはもちろんのこと、スライドガラス上に噴出された検体量を見て、作製枚数、処理方法を判断しなければならない。また、針内を洗浄した液や注射器の針基部に残る穿刺物の回収は有意義である。

さらにCNB、バコラ生検、マンモトーム生検の捺印標本も、目的とする採取部位の確認に有用である。

・ 穿刺針からの噴出

- (1) 注射器から穿刺針をはずし、空気を入れる。
- (2) 穿刺針を立てるようにして、スライドガラス上に噴き出す。
- (3) 噴出量が多い場合はスライドガラスを合わせて軽く圧迫し、速やかに固定液に入れる（2～数枚作製する）。少ない場合は、そのまま固定液に入れる。しかし、しばしば針先に残っている場合があるので針先を少しこすりつけてから固定することも有効である。

・ 針基部の叩き出し

- (1) 穿刺針をシリンジから注意深く外す。
- (2) 硬めの台の上にスライドガラスを置き、少し強めに針基部を叩きつける。
- (3) そのまま速やかに固定する。

・ 穿刺針内の洗浄液

- (1) スライドガラス上に噴出したのち、生食、ポストサンプラー（喀痰保存液）、液状処理細胞診の細胞保存液を用いて穿刺針内を洗浄する。
- (2) 試験管内に洗浄液を移し、遠心後必要枚数を作製して染色を行う。

・ 注射針の針基部の洗浄

- (1) 穿刺針をシリンジから外し、あらかじめ液状処理細胞診（以下LBC）用の細胞保存液を入れた試験管に針基部が下になるように入れ、よく混和する。（液量は針基部がつかう程度でよい）
- (2) そのまま 1500 回転 5 分遠心する。
- (3) 針を取り除き、それぞれのLBCで指定された方法によりスライドガラスに塗布する。

・ CNB、バコラ生検、マンモトーム生検採取時の捺印標本

- (1) 採取された組織片をスライドガラス上で数回転がす。
- (2) 組織片が小さく柔らかいため、挫滅しないように注意しながら捺印し、速やかに固定する。

②固定：すみやかで適切な固定

いずれの固定法を選択する場合でも、細胞採取後の速やかな操作は必須である。

- ・ 純アルコール（揮発によるアルコール臭や転倒防止のために蓋つきの容器が望ましい）

- ・スプレー固定（なるべく飛び散らないものを選択）
- ・乾燥固定（細胞が剥離しにくく、症例によってギムザ染色，再水和法によるパパニコロウ染色が可能）
- ・迅速染色法（ディフクイック・ヘマカラー等）に含まれる固定液

③染色

ベッドサイドでの業務を細胞採取量の確認にとどめる場合はヘマトキシリンによる核染色で十分であるが，狭くて薄暗い処置室での操作の場合，また採取量が少量で噴出した場所が分かりにくくなった場合など，ある程度細胞質や背景が染色されていた方が顕微鏡下で探しやすい．そこでパパニコロウ染色の色調にほぼ近い Shorr 染色，ギムザ染色を迅速化したディフクイック，ヘマカラー，サイトクイック等を行った．これにより経験の少ない細胞検査士でも焦ることなく容易に細胞量の把握ができ，再採取の必要の有無を臨床医に返答することができた．また，細胞質や背景の状況などが見えることから，ある程度その場での良悪が想定可能となり，診断に必要な免疫染色や特殊染色を考慮して作製枚数や再度の穿刺依頼など，その後の速やかな確定診断を目指すことができると考える．

ヘマトキシリンによる核染色のみの場合も Shorr 染色を行った場合も，細胞量を確認後純アルコールに入れて検査室に戻り，再度パパニコロウ染色を行う．ただし，アルコールに戻した場合に細胞が剥離することが多く，操作を丁寧に行わなければならない．ディフクイック，ヘマカラー，サイトクイックの場合は，固定の際に乾燥せずに速やかに固定液（サイトクイックの場合はA液）に入れることがポイントである．それぞれの固定が湿固定となるため，パパニコロウ染色に慣れた細胞検査士には非常に見やすい標本となる．また，細胞量を確認後アルコールに入れて検査室に戻ることになるが，アルコールに入れることで色素が脱色され，再度パパニコロウ染色を行っても色素が被ることなく，スクリーニングに遜色のない標本が作製可能である．また，ヘマトキシリンによる核染のみでアルコールに戻すものに比べて細胞の脱落が少ないのも利点である．

おわりに

ベッドサイドへ技師が赴いて検体作製にあたることは，検体採取時の速やかな作業により変性の少ない標本が期待でき，検体不適正や再検査の依頼の減少に役立つものである．これは患者さんの負担軽減となる．細胞検査士にとっても，臨床情報の取得につながり，また適正な標本作製によるスクリーニングのストレス軽減に繋がるものと考えられる．

しかし，当院のように人員の比較的多い施設でも，外来に 1 名派遣することはかなりの業務負担となる．また，細胞検査士の経験の差によるバラツキを減らす努力もなさなければならない．細胞検査士の負担を減らすつもりが，過重労働になることのないような各施設にあった工夫をすることが重要である．その場合の一案として，細胞検査士がベッドサイドに行くのではなく，臨床医に的確な細胞採取に関する注意事項を実技を交えて伝達し，臨床医が穿刺針の洗浄液を行ったり，針基部を細胞保存液につけてもらって，それを提出してもらえば診断可能な細胞採取を負担なくできるのではないかと考える．

病理専門医として押さえておきたい乳腺疾患の細胞病理学的特徴

—伝統的な所見から最近の知見まで

川崎朋範 (MD)¹⁾、弓納持勉 (CT)²⁾、石井喜雄 (CT)²⁾、中澤久美子 (CT)²⁾、加藤良平 (MD)^{1,2)}

山梨大学医学部 人体病理学講座¹⁾
山梨大学医学部附属病院 病理部²⁾

はじめに

乳腺は、病理診断における最も難しい分野の一つである。この理由として、病変が極めて多彩であることや、病理総論的な異型性の概念が診断にときどき通用しないことがあげられる。さらに、近年では新しい免疫組織化学的手法や分子病理学的な解析に基づき、乳腺疾患の診断・治療は日進月歩で変わりゆく現状にある。それゆえ、乳腺の細胞診を学ぶにあたり、多様な乳腺疾患の組織病理学的特徴 (伝統的な所見から最近の知見まで) を正しく理解することが必須であることは言うまでもない。本稿では、乳管内乳頭腫、非浸潤性乳管癌、線維腺腫、粘液癌、管状癌について、病理専門医として知っておくべき各疾患の臨床病理像、細胞学的特徴および鑑別疾患について実践的に解説を行う。

1. 乳管内乳頭腫 (Intraductal papilloma, IDP)

乳管内乳頭腫 (intraductal papilloma, IDP) は、良性の上皮性腫瘍であり、線維血管性コアを軸に乳管上皮細胞と筋上皮細胞が二層をなして乳頭状に増殖する病理像を特徴とする^{1,2)}。乳管が嚢胞状に拡張したものは、嚢胞内乳頭腫 (intracystic papilloma) と呼称されている。IDP は中枢型 (孤立性) と末梢型 (多発性) に分類され、頻度としては前者が多い¹⁾。中枢型において癌を合併することは極めてまれであるが、末梢型ではときどきみられうる^{3,4)}。

臨床的には、30-50歳代の女性に好発し、とくに中枢型で乳頭分泌の臨床症状を特徴とする¹⁾。超音波像は、拡張した乳管内ないし嚢胞内に、

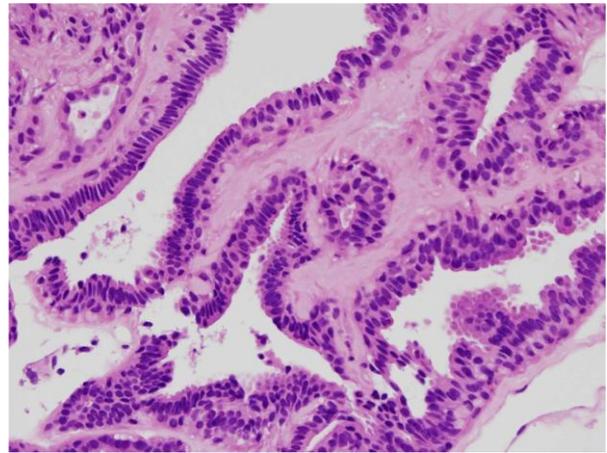


図1 乳管内乳頭腫の組織像

線維血管性間質を軸として、円柱状の乳管上皮細胞が筋上皮細胞との二層構造を示しながら増生している。

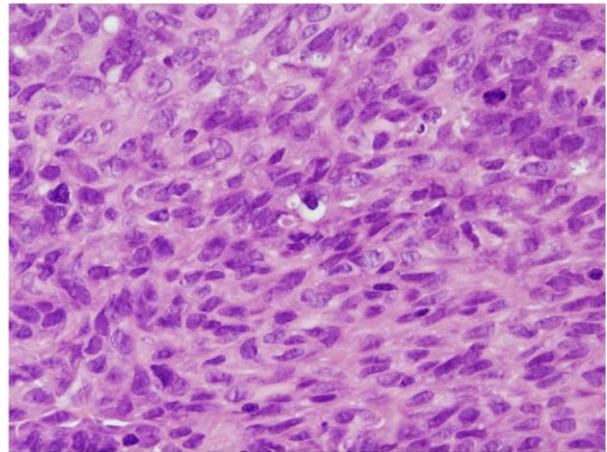


図2 乳頭腫内にみられる上皮過形成の組織像

乳管上皮細胞は多角形～紡錘形を呈し、核形の不整が認められる。核溝の所見も部分的にみられる。

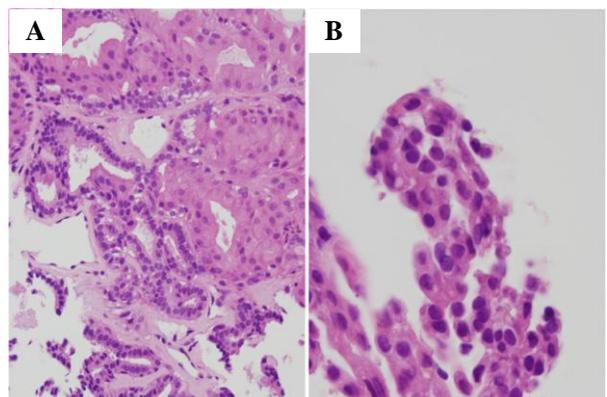


図3 乳管内乳頭腫の組織像

A) アポクリン化生 (写真上方) B) 扁平上皮様変化

立ち上がりの急峻な隆起性病変として描出される。

組織学的には、線維血管性コア部分に配列する乳管上皮細胞は円柱形ないし立方形を呈する(図1)。上皮過形成の所見をしばしば伴い(図2)、細胞極性の乱れた腺腔様構造もみられる。アポクリン化生の所見がときどき認められ(図3A)、また、扁平上皮様の化生所見がとくに囊胞腔に接する部分で見られる(図3B)。乳管上皮細胞と線維血管性コアの間には、筋上皮細胞が規則的に配列する(図1)。筋上皮細胞が増生所見を示すこともある。IDPにみられる線維血管性コアは、概して太いことが多い。同部や腫瘍辺縁において、硝子化した間質内に、筋上皮との二相性を有する上皮成分が巻き込まれる像(いわゆる偽浸潤)がときにみられる。また、腫瘍の茎捻転や穿刺吸引細胞診、針生検などによる外傷により、腫瘍組織が梗塞(出血性壊死)を来すことがある。

細胞学的に、背景には、囊胞状病変であることを示唆する泡沫細胞が多数認められ、ヘモジデリン色素顆粒の貪食像もしばしばみられる。乳管上皮細胞は、典型的にはシート状の集塊で出現するが、並存する上皮過形成の所見に伴って、核の重積性や重畳性を示す細胞集塊が移行的にみられる(図4-6)。上皮細胞の結合性は概して強く、孤立散在細胞は一般的に少ない。上皮細胞集塊の辺縁において羽毛状構造がしばしば観察され、結合性の強さを反映する所見とみなされる。なお、低乳頭状のパターンを示す細胞集塊が出現することもある(微小乳頭過形成)。

線維血管性コアを有する乳頭状細胞集塊がときにみられ、コアの周囲に筋上皮細胞が並ぶ(図4)。IDPを象徴する同集塊は、組織に比し、細胞診では目立たないことが多い。これは、線維血管性コアが概して太く強固であり、採取されにくいと推察される。

上皮細胞は、多角形〜ときどき紡錘形を示し、核形の不整、多様性、細胞極性の乱れといったいわゆる“異型性”を有しうる(図6)。アポクリン化生細胞の集団がときどきみられる(図7A)。扁平上皮様細胞は、IDPにおける特徴的所見の一つであり、細胞質はライトグリーン好性で重厚となり、空胞所見がしばしば観察される(図7B)⁵⁾。

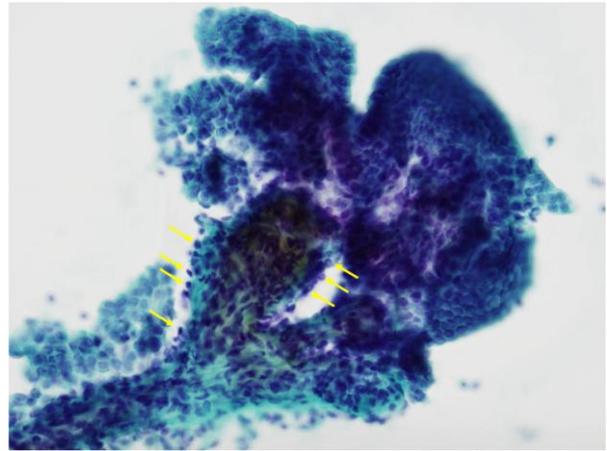


図4 乳管内乳頭腫の細胞像

線維血管性コア(写真左下)を有する乳頭状細胞集塊。コアの周囲に筋上皮細胞の lining がみられる(矢印)。

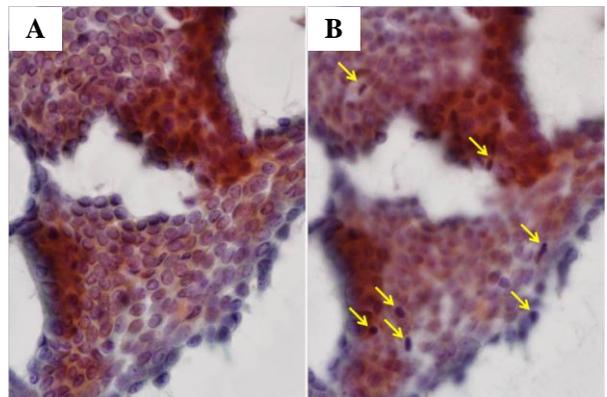


図5 乳管内乳頭腫の細胞像

A) 上皮細胞のシート状集塊 B) フォーカスを動かすと筋上皮細胞が散見される(矢印)。

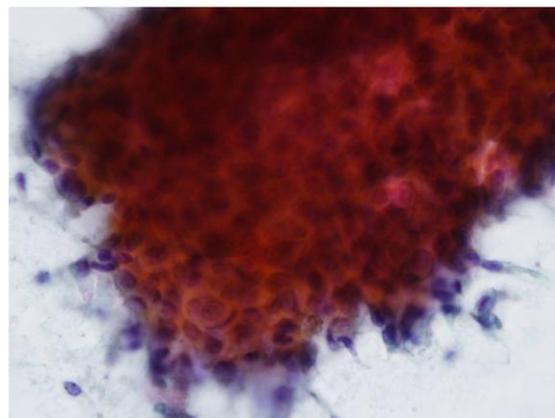


図6 乳頭腫内にみられる上皮過形成の細胞像

重積性のある細胞集塊で出現し、核形の不整や核間距離の不均等がみられる。上皮細胞の結合性は強い。

梗塞を伴う IDP では、背景に壊死性物質が多量にみられ、面疱癌に類似した細胞像を呈することがある。しかしながら、出現細胞には面疱癌でみられるほどの細胞異型性はみられない。

文献

- 1) MacGrogan G, Moinfar F, Raju H. Intraductal papillary neoplasms. In Tavassoli FA, Devilee P eds. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: IARC Press, 2003; 76-80.
- 2) 日本乳癌学会編: *臨床・病理 乳癌取扱い規約 (第16版)*. 東京: 金原出版, 2008; 18-59.
- 3) Ohuchi N, Abe R, Kasai M. Possible cancerous change of intraductal papillomas of the breast. A 3-D reconstruction study of 25 cases. *Cancer*. 1984; 54; 605-611.
- 4) Yamaguchi R, Horii R, Maki K *et al.* Carcinoma in a solitary intraductal papilloma of the breast. *Pathol Int*. 2009; 59: 185-187.
- 5) 北村隆司. 乳管内乳頭腫. 土屋眞一, 編集. *カラーアトラス 乳腺細胞診*. 東京: 医療科学社, 2000; 106-109.

2. 非浸潤性乳管癌 (Ductal carcinoma *in situ*, DCIS)

非浸潤性乳管癌 (ductal carcinoma *in situ*, DCIS) は、乳管上皮由来の乳癌で、癌細胞が管内に増殖し、周囲間質に浸潤していないものをいう^{1,2)}。近年、乳癌検診の普及や画像診断の発達に伴い、DCIS の過半数が検診で (とくにマンモグラフィ検診で異常石灰化として) 発見されるようになっている^{1,3)}。臨床症状としては、腫瘤や血性乳頭分泌などが知られている^{1,3)}。

DCIS は、その組織構築により、面疱型 (29%)、篩状型 (28%)、充実型 (20%)、乳頭型 (9%)、平坦型 (8%)、微小乳頭型 (6%) に伝統的に亜分類されている (図 8)^{1,2)}。カッコ内は自験例における各サブタイプの頻度を示しているが³⁾、実際には様々な組織形態が混在することが多い (図 9)。特殊亜型として、紡錘形細胞、アポクリン細胞、印環細胞、神経内分泌細胞、扁平上皮細胞、淡明細胞からなる DCIS が存在する¹⁾。また、小葉

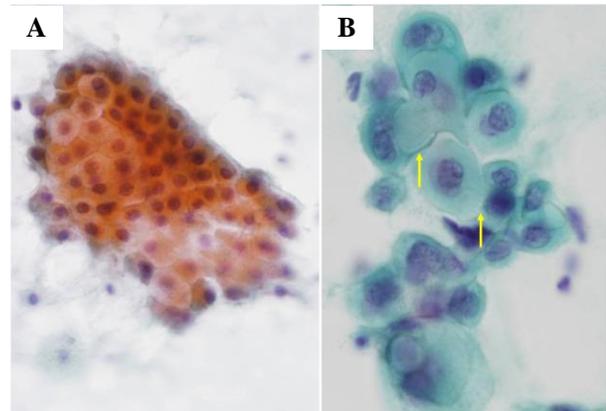


図 7 乳管内乳頭腫の細胞像

A) アポクリン化生細胞。B) 扁平上皮化生細胞: 胞体は豊かでライトグリーン好性を示し、細胞間橋が部分的にみられる (矢印)。また、空胞変性を一部に認める。

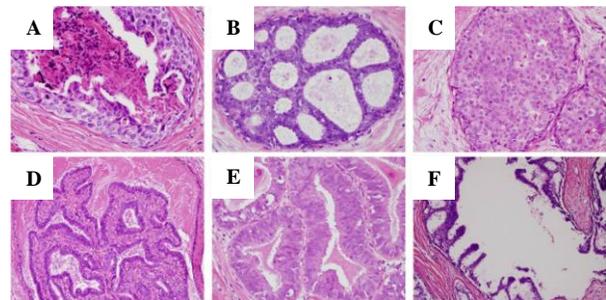


図 8 非浸潤性乳管癌の組織構築

- A) 面疱型 B) 篩状型 C) 充実型
D) 乳頭型 E) 平坦型 F) 微小乳頭型

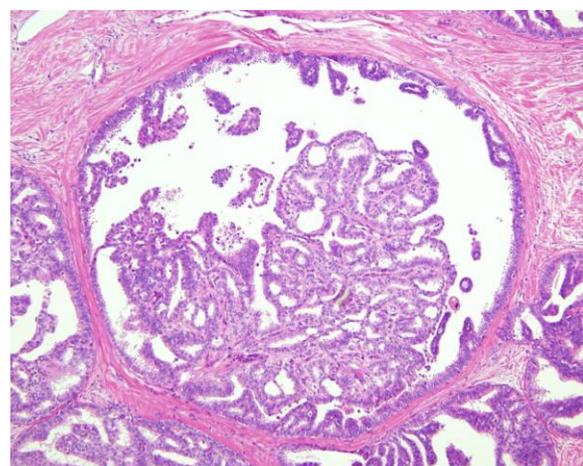


図 9 非浸潤性乳管癌 (低グレード) の組織像

癌細胞が線維血管性コアを有しながら乳頭状に増殖する像を主体とするが、篩状、微小乳頭状、平坦状と様々な増殖パターンが混在している。

癌細胞への分化を伴うこともある。

癌巣の周囲には、筋上皮細胞が大部分の病変において確認され、筋上皮マーカー（平滑筋アクチン、p63、CD10、カルポニンなど）の免疫染色が *in situ* 病変であることの証明に役立つ^{4,6)}。乳頭型の DCIS では、典型的には線維血管性コアの部分に筋上皮細胞の介在がみられないが、実際にはみられる症例も少なからず存在する^{5,7)}。DCISにおける予後因子ないし乳房温存術後の再発の指標として、核グレード分類⁸⁾や DCIS グレード分類^{1,9)}が近年では用いられている。DCIS グレードに関してはいくつかの分類が提唱されているが、高核グレードとcomedo壊死の有無により評価される Van Nuys の DCIS 分類が簡便で再現性が高く、最もよく使われている⁹⁾。

細胞学的には、組織像を反映して、篩状、充実性、乳頭状、微小乳頭状、シート状と多彩な構築を呈する細胞集塊が出現し、それらが移行的にみられることを特徴とする（図 10）。面泡様壊死を有する症例は、その程度に相応した壊死性背景を呈する。明瞭な細胞質を有する散在性細胞の存在は、悪性を示唆する有用な所見の一つである¹⁰⁾。

低グレード DCIS では、均一な小型の癌細胞が比較的均等に分布することが多い（図 11A, B）。良性乳管内増殖性病変と形態比較した場合、核形の不整、核配列の乱れ、核間距離の不均等といった病理総論的な“異型性”の概念はしばしば逆転する（図 11C, D）。ただし、神経内分泌型の DCIS は、乳管内乳頭腫（IDP）や乳管過形成と類似の細胞形態を示しうるので注意が必要である（図 11E, F）^{3, 11-13)}。高グレード DCIS では、明瞭な核異型性により癌の診断は比較的容易であるが、アポクリン病変（乳管腺腫やアポクリン腺症）は良性でも目立つ異型性を有することがあるので留意すべきである¹⁴⁾。

篩状型の DCIS では、重積性を有する癌細胞集塊として出現し、フォーカスを動かすと明瞭な腺腔構造が多数観察される（図 12）。円柱状ないし立方状の癌細胞が腺腔面に対して垂直に配列し、核は基底側に並ぶ（図 12）¹⁰⁾。鑑別として、IDPや乳管過形成でみられる腺腔様（偽篩状）構造があるが、この場合、腔に向かっての細胞極性および核の極性は認められない。ただし、乳腺症型の線維腺腫にみられる異型的な上皮過形

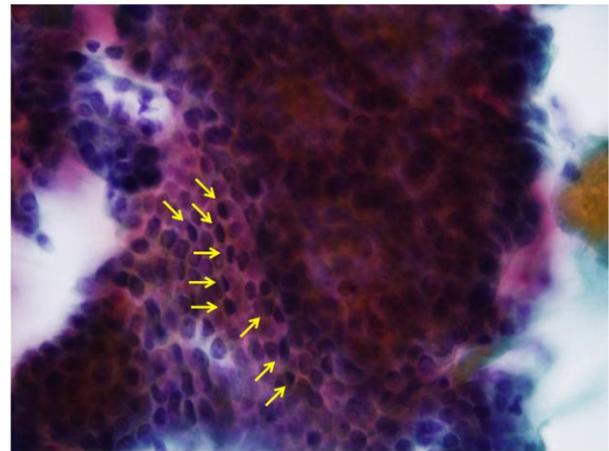


図 10 非浸潤性乳管癌（低グレード）の細胞像
シート状に配列する細胞集塊（写真左下）と篩状に増生する細胞集団（写真右上）が移行的に認められる。シート状集塊に、筋上皮細胞がみられる（矢印）。

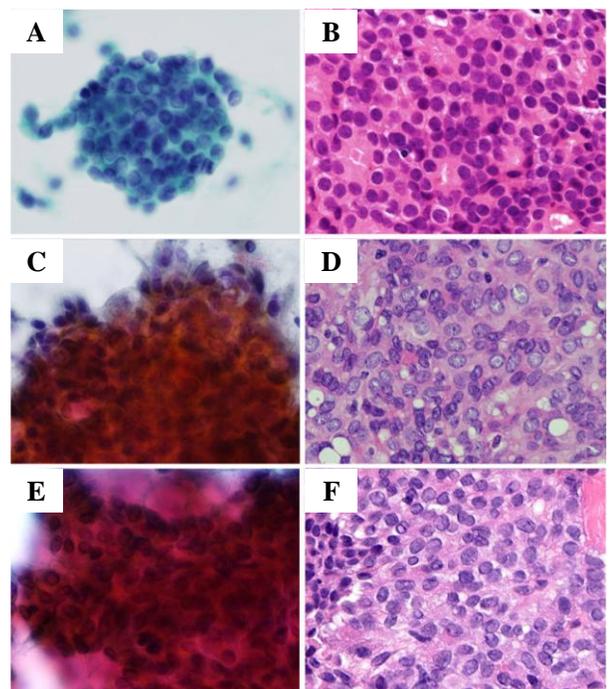


図 11 乳管内増殖性病変の細胞像（A, C, E）と組織像（B, D, F）

- A, B) 低グレード非浸潤性乳管癌（充実型主体）
- C, D) 乳頭腫内にみられる上皮過形成
- E, F) 低グレード非浸潤性乳管癌（神経内分泌型）

成では、癌との鑑別が困難な篩様構造を呈することもあるので注意が必要である。

微小乳頭型の DCIS では、1~2 層のシート状集塊から、血管性コアを有さない低乳頭状の突出像が観察される (図 13)。シート状部分には、筋上皮細胞がときどきみられる。通常、構成する癌細胞の核異型性は軽度であり、シート状部分と低乳頭状部分で差異はみられない (図 13)¹⁰⁾。鑑別として、微小乳頭過形成 (micropapillary hyperplasia) があげられるが、この場合、細胞形態は通常型乳管過形成に類似して均一性に欠き、さらに変性所見を伴うことが多い。

神経内分泌型の DCIS は、大部分の症例が低グレードであり、癌細胞は多角形~紡錘形を呈し、IDP に類似する乳頭状集塊も出現することから (図 14A)、癌の診断に至らないことが多い^{3, 11, 12)}。しかし、癌細胞の採取量は豊富なことが多く、細顆粒状の細胞質と偏在核を有する癌細胞の孤立散在像 (図 14B) や腎糸球体様血管構造など特徴的な細胞所見を示す。本腫瘍は比較的新しい疾患概念であり、その臨床病理像の十分な理解が診断率の向上に繋がると推測される^{3, 11-13)}。

DCIS では、癌細胞集塊の周囲に、筋上皮細胞が明瞭なことから不明瞭なことまでである (図 10)。細胞診で乳管内病変の推定はある程度可能であるが、DCIS の確定診断を行うことは言うまでもなく不可能である。

文献

- 1) Tavassoli FA, Hoefler H, Rosai J *et al.* Intraductal proliferative lesions. In Tavassoli FA, Devilee P eds. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: IARC Press, 2003; 63-73.
- 2) 日本乳癌学会編: *臨床・病理 乳癌取扱い規約 (第16版)*. 東京: 金原出版, 2008; 18-59.
- 3) Kawasaki T, Nakamura S, Sakamoto G *et al.* Neuroendocrine ductal carcinoma *in situ* (NE-DCIS) of the breast - comparative clinicopathological study of 20 NE-DCIS cases and 274 non-NE-DCIS cases. *Histopathology*. 2008; 53: 288-298.

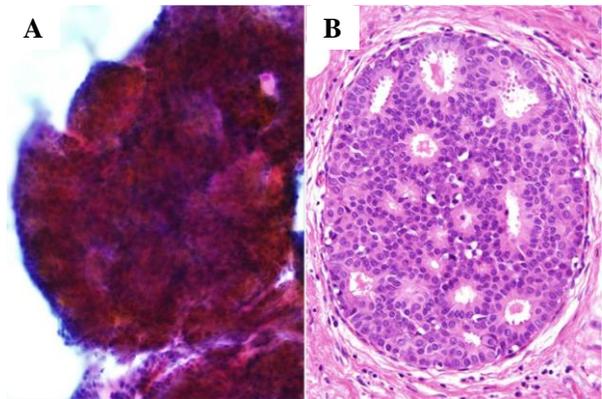


図 12 低グレード非浸潤性乳管癌 (篩状型)

A) 細胞像: 重積性のある細胞集塊で出現し、腺腔構造が散見される。B) 組織像: 癌細胞は極性を有する腺腔を多数形成しながら管内に増殖している。

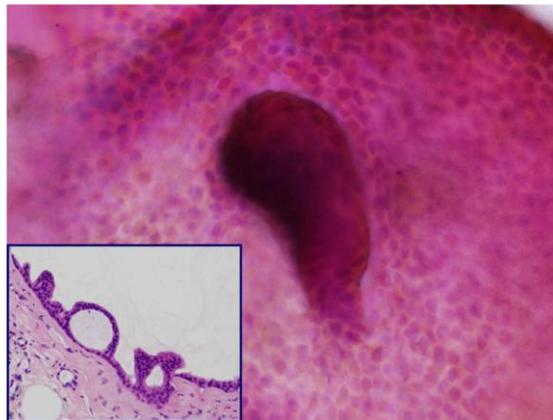


図 13 低グレード非浸潤性乳管癌 (微小乳頭型)

大型のシート状癌細胞集塊から低乳頭状に突出する像を認める。癌細胞の異型性は軽微である。

inset: 癌細胞が管内を微小乳頭状ないし架橋形成を示しながら増殖している。

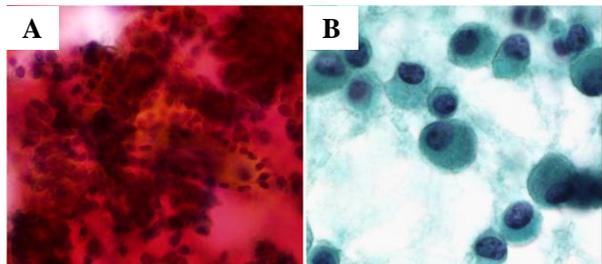


図 14 神経内分泌型非浸潤性乳管癌の細胞像

A) 癌細胞集塊の中に血管間質がみられ、筋上皮細胞がそれを取り囲む像を認める (写真中央)。B) 細顆粒状の豊富な細胞質と細顆粒状の偏在核を有する形質細胞様癌細胞が孤立散在性に出現している。

- 4) Moriya T, Kozuka Y, Kanomata N *et al.* The role of immunohistochemistry in the differential diagnosis of breast lesions. *Pathology*. 2009; 41: 68-76.
- 5) 川崎朋範, 加藤良平. 特集 非浸潤性乳管癌. 非浸潤性乳管癌 (DCIS) に対する免疫組織化学的アプローチ -Neuroendocrine DCIS を含めて-. *乳癌の臨床*. 2008; 23: 479-494.
- 6) Moritani S, Kushima R, Sugihara H *et al.* Availability of CD10 immunohistochemistry as a marker of breast myoepithelial cells on paraffin sections. *Mod Pathol*. 2002; 15: 397-405.
- 7) Moritani S, Ichihara S, Kushima R *et al.* Myoepithelial cells in solid variant of intraductal papillary carcinoma of the breast: a potential immunohistochemical panel in the differential diagnosis with intraductal papilloma with usual ductal hyperplasia. *Virchows Arch*. 2007; 450: 539-547.
- 8) Silverstein MJ, Poller DN, Waisman JR *et al.* Prognostic classification of breast ductal carcinoma-in-situ. *Lancet*. 1995;345:1154-1157.
- 9) Consensus Conference on the classification of ductal carcinoma in situ. The Consensus Conference Committee. *Cancer*. 1997; 80: 1798-1802. Review.
- 10) 伊藤仁. 非浸潤性乳管癌. 土屋眞一, 編集. *カラーアトラス 乳腺細胞診*. 東京: 医療科学社, 2000; 118-123.
- 11) Kawasaki T, Nakamura S, Sakamoto G *et al.* Neuroendocrine ductal carcinoma *in situ* of the breast: cytological features in 32 cases. *Cytopathology*. 2010 (in press).
- 12) 川崎朋範, 坂元吾偉, 加藤良平. 総説: 乳腺の神経内分泌型非浸潤性乳管癌 (NE-DCIS) - 独特な臨床像および病理学的特徴を有する DCIS の特殊亜型-. *診断病理*. 2010; 27: 171-182.
- 13) Kawasaki T, Kondo T, Nakazawa T *et al.* Is CD56 a specific and reliable neuroendocrine marker for discriminating between endocrine/neuroendocrine ductal carcinoma *in situ* and intraductal papilloma of the breast? *Pathol Int*. 2010 (in press).

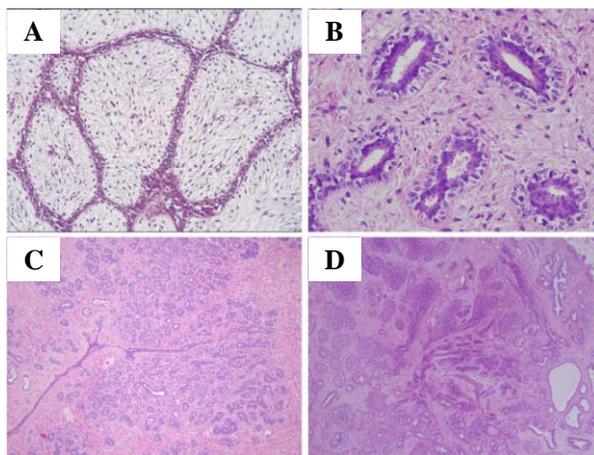


図15 線維腺腫の組織像

A) 管内型 B) 管周囲型 C) 類臓器型 D) 乳腺症型

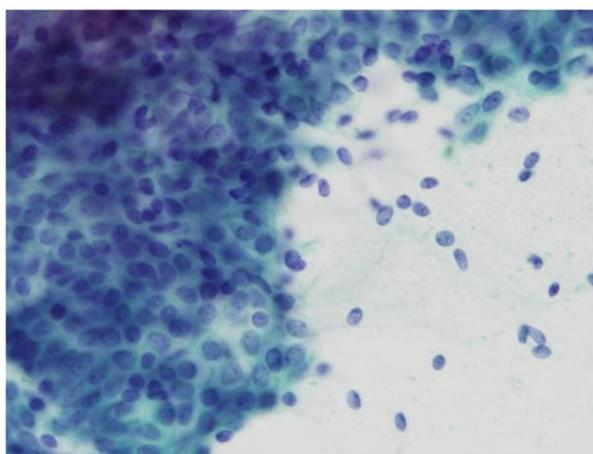


図16 線維腺腫の細胞像 (管内型)

細胞重積性の軽度な上皮性集塊と背景の双極/円形裸核細胞。集塊上にも筋上皮細胞がみられる。

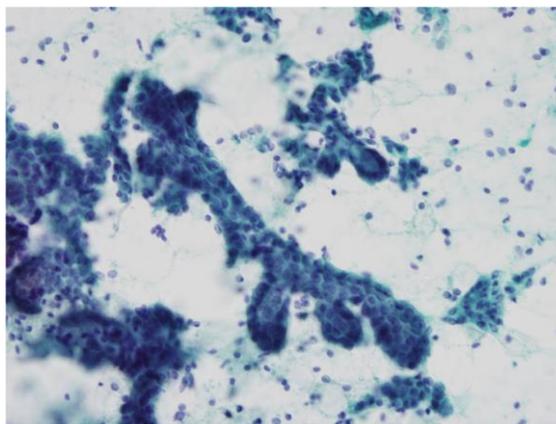


図17 線維腺腫の細胞像 (類臓器型)

上皮細胞集塊は乳腺小葉構造を模倣する形態を示す。背景には裸核細胞が目立つ。

- 14) Bussolati G, Tavassoli FA, Nielsen BB *et al.*
Benign epithelial proliferations. In Tavassoli FA,
Devilee P eds. *Pathology and genetics of
tumours of the breast and female genital organs.*
Lyon: IARC Press, 2003; 63-73.

3. 線維腺腫 (Fibroadenoma, FA)

線維腺腫 (fibroadenoma, FA) は、良性の結合
織性および上皮性混合腫瘍であり¹⁾、WHO の乳
腺腫瘍分類 (2003 年) では fibroepithelial tumors
として分類されている²⁾。臨床的には、20~30
歳代の女性に多くみられる。大きさは通常 3cm
以下であるが、まれに 20cm をこえるような巨大
線維腺腫 (giant FA) が思春期にみられることが
ある²⁾。FA における癌化はまれである³⁾。

肉眼的に、腫瘍の断面は充実性、灰白色調で
境界明瞭であり、軽度の分葉化やスリット様空
隙を伴う²⁾。結合織性成分の性状 (粘液性変化や
硝子化) が断面の所見に反映される。組織学的に、
FA はその増殖形態から、管内型、管周囲型、類
臓器型、乳腺症型と分類されているが (図 15)¹⁻⁵⁾、
実際には複数のパターンが混在することが多い。

管内型は、間質成分の増殖によって腺管成分
が圧排を受け変形し、スリット状に伸展する像
を示す (図 15A)⁶⁾。間質成分は粘液性変化をし
しば示すが、この所見が顕著な場合、粘液性線
維腺腫 (myxoid FA) と呼ぶことがある⁷⁾。陳旧
化すると、間質の硝子化、さらには粗大な石灰
化を伴う。管周囲型は、腺管成分の変形が乏し
く、腺管の周りを間質成分が取り巻くように増
殖する像を示す (図 15B)⁶⁾。類臓器型は、正常乳
腺小葉の臓器構築を模倣する像を示す (図 15C)。
乳腺症型は、欧米では **complex type** と表現され、
上皮過形成、嚢胞、アポクリン化生、腺症など
の乳腺症性変化が目立つものである (図 15D)^{3-5, 8)}。
乳腺症型の FA にみられる上皮過形成は、組
織学的に DCIS に酷似することがあり、針生検で
過剰診断されうる。この場合、FA に特有の間質
所見や構築に注目することが重要である。

通常、FA の上皮性成分には、筋上皮細胞との
二層構造が明瞭に認められる。ただし、乳腺症
型の FA では、同所見がやや不明瞭になること
もある。

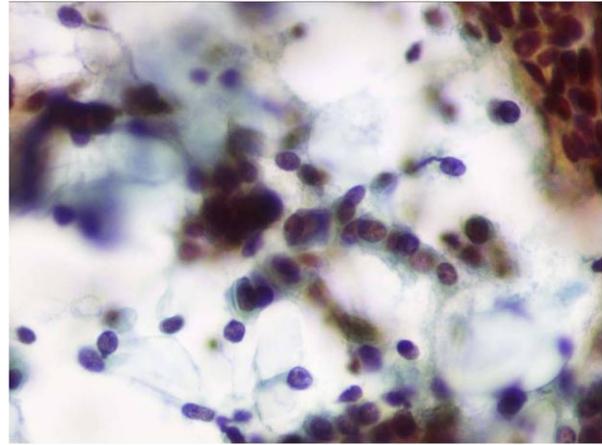


図 18 線維腺腫の細胞像

索状の上皮細胞集塊がみられ、木目込み状の像を伴っ
ている。《硬癌が疑われた》

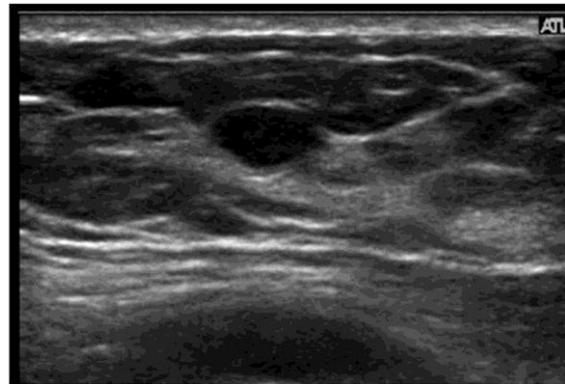


図 19 線維腺腫の超音波画像 (図 18 と同一症例)

境界明瞭な低エコー腫瘍で、後方エコーの増強がみられ
る。前方境界線は保たれている。《硬癌の像ではない》

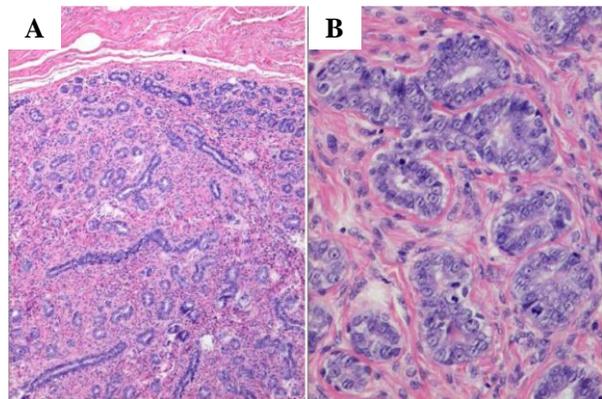


図 20 類臓器型線維腺腫の組織像 (図 18 と同一症例)

A) 腫瘍は、周囲組織との境界が明瞭である。B) 上皮性
成分は小葉への分化を示し、N/C 比が比較的高く、明瞭
な核小体を有し、一部に核分裂像もみられる。

細胞学的には、背景に双極裸核細胞（線維芽細胞および筋上皮細胞に由来）や円形裸核細胞（筋上皮細胞に由来）が目立つ（図 16, 17）。FA に特徴的な間質組織片は、核異型性のない間質細胞からなる集塊内に粘液水腫様の所見を認めるものであり⁹⁾、とくに管内型の FA でみられる。一方、ライトグリーン好性（膠原線維）組織片が FA でしばしば採取されるが、これは硬癌を代表とする浸潤性乳管癌でもみられる所見である⁹⁾。

上皮性集塊は、多彩な増殖形態を反映して様々なパターンを示す。管内型や管周囲型ではシート状あるいは樹枝状集塊（図 16）、類臓器型では腺房状集塊が主体を占める（図 17）⁹⁾。一般に、集塊の周囲には筋上皮細胞が明瞭にみられ、上皮細胞の孤立散在像は乏しい。ときに、上皮細胞の索状構造が目立つことがあり、膠原線維組織片を伴って硬癌と誤認されることがある（図 18）。この場合、画像所見との整合性を確認することが過剰診断を回避するための重要なポイントになる（図 19, 20）。

乳腺症型の FA では、増殖性の上皮細胞集塊、アポクリン化生細胞や、背景に泡沫細胞などの所見がみられる。とくに上皮細胞がかなり均一な増生を示す症例では、篩状集塊や細胞質を有する散在性細胞が目立つことがあり、前者では篩状型 DCIS や乳頭腺管癌、後者では充実腺管癌との鑑別を要する（図 21-23）。誤診を防ぐためには、背景の裸核細胞の存在に注目するとともに、画像所見との対比を行うことが重要である。

粘液性 FA では、豊富な間質粘液が背景に多量に流出し、粘液内に分枝状血管が走行する像もみられるため、粘液癌と過剰診断される可能性がある（図 24, 25）^{7, 10)}。さらに、画像所見も粘液癌に酷似しうるので注意を要する（図 26）。紡錘形細胞を含む粘液腫状の間質集塊、筋上皮細胞を伴う上皮細胞集塊、背景の裸核細胞などの細胞学的所見に注目すれば、粘液性 FA を推定することは可能である^{7, 10)}。

文献

1. 日本乳癌学会編: *臨床・病理 乳癌取扱い規約 (第16版)*. 東京: 金原出版, 2008; 18-59.

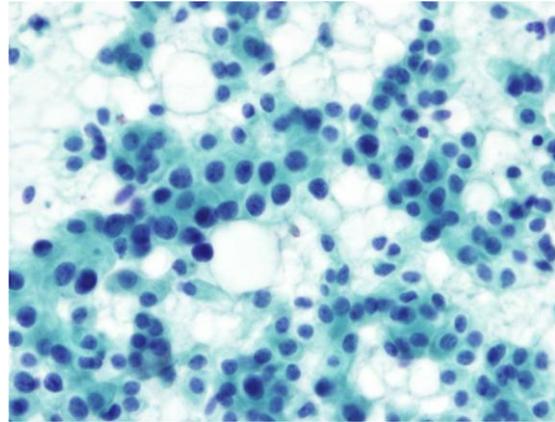


図 21 乳腺症型線維腺腫の細胞像

かなり均一な上皮細胞が、緩い結合性を示しながら多数出現している。細胞質はやや豊かであり、軽度のアポクリン化生を伴う。核は円形～類円形で、クロマチンの増量がみられる。

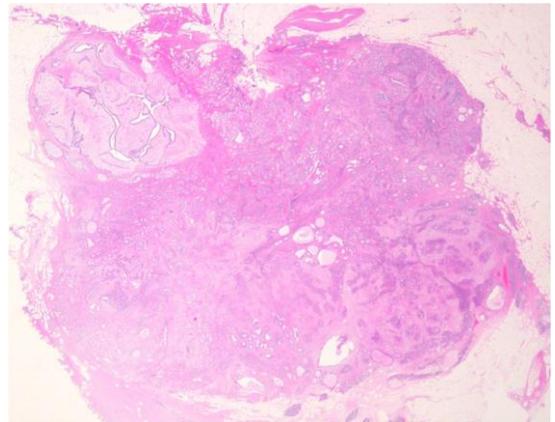


図 22 乳腺症型線維腺腫のルーペ像 (図 21 と同一症例)

ほぼ境界明瞭な軽度分葉状の腫瘤。腫瘤内部は上皮成分の増生が目立つ印象を受けるが、一部に明瞭な管内型のパターンもみられる (写真左上)。

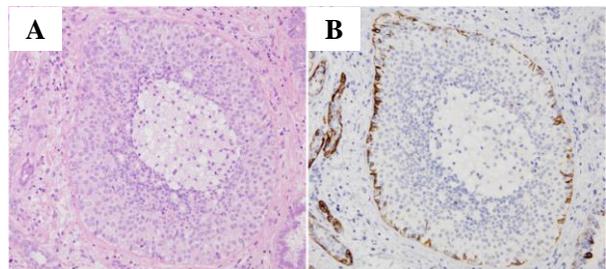


図 23 乳腺症型線維腺腫の組織像 (図 21 と同一症例)

A) 管内に充実性増殖を示す異型的な上皮過形成。B) 高分子ケラチン (サイトケラチン 5/6) は筋上皮細胞に陽性だが、増生する上皮細胞に陰性所見 (すなわち多くの非浸潤性乳管癌と類似の染色パターン) を示す。

2. Bellocq JP, Magro G. Fibroepithelial tumours. In Tavassoli FA, Devilee P eds. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: IARC Press, 2003; 99-103.
3. Umemura S, Tsutsumi Y, Tokuda Y *et al.* Epithelial Proliferative Lesions and Carcinomas in Fibroadenomas of the Breast. *Breast Cancer*. 1994;1:131-137.
4. 坂元吾偉. 乳腺症型線維腺腫. *病理と臨床*. 2001; 19: 395-397.
5. Dupont WD, Page DL, Parl FF *et al.* Long-term risk of breast cancer in women with fibroadenoma. *N Engl J Med*. 1994; 331: 10-15.
6. 市原周. 線維腺腫. 黒住昌史, 森谷卓也, 編集. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 乳癌. 東京: 文光堂, 2010; 125-130.
7. Ventura K, Cangiarella J, Lee I *et al.* Aspiration biopsy of mammary lesions with abundant extracellular mucinous material. Review of 43 cases with surgical follow-up. *Am J Clin Pathol*. 2003; 120: 194-202.
8. 川崎朋範, 加藤良平. 特集 非浸潤性乳管癌. 非浸潤性乳管癌 (DCIS) に対する免疫組織化学的アプローチ -Neuroendocrine DCIS を含めて-. *乳癌の臨床*. 2008; 23: 479-494.
9. 北村隆司. 線維腺腫. 土屋眞一, 編集. *カラーアトラス 乳腺細胞診*. 東京: 医療科学社, 2000; 96-99.
10. 川崎朋範, 加藤良平. 粘液癌. 黒住昌史, 森谷卓也, 編集. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 乳癌. 東京: 文光堂, 2010; 64-69.

4. 粘液癌 (Mucinous carcinoma)

粘液癌 (mucinous carcinoma) は、細胞外への粘液産生を特徴とする浸潤癌であり、腫瘍の大部分が粘液状の癌巣で占められているものをいう^{1,2)}。浸潤性乳管癌の一部が粘液産生を示すものはこの組織型に入れない。本腫瘍は、乳癌取扱い規約 (第16版、2008年) において上皮性悪性腫瘍の浸潤癌の特殊型に分類されている¹⁾。WHOの乳腺腫瘍分類 (2003年) においても同様の位置付けであるが、mucinous carcinoma and

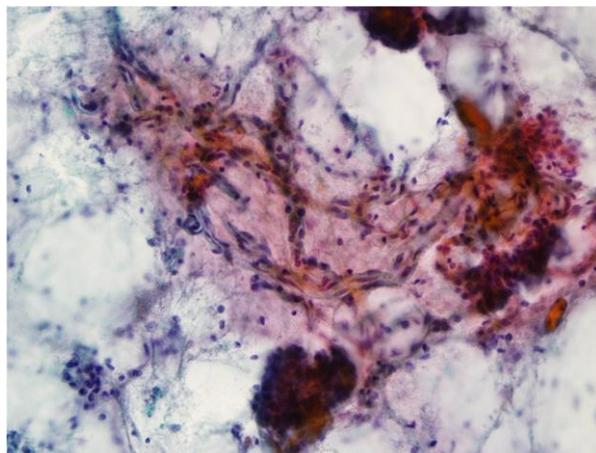


図24 粘液性線維腺腫の細胞像
粘液性物質の中に血管が蛇行する像を認める。

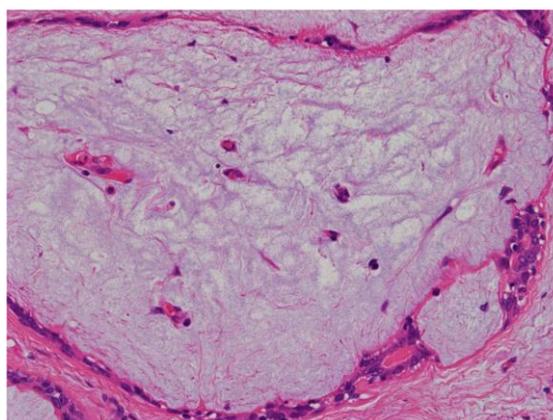


図25 粘液性線維腺腫の組織像 (図24と同一症例)
基本的には管内型の線維腺腫であるが、間質の粘液腫状変化が目立つ。その中に毛細血管の走行がみられる。

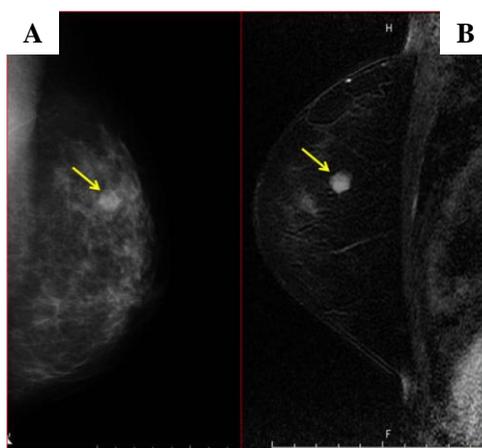


図26 粘液性線維腺腫の画像 (図24と同一症例)
A) マンモグラフィ: 境界明瞭な高濃度腫瘍。B) MRI (T2強調像): 著明な高信号を呈する境界明瞭な腫瘍。

other tumours with abundant mucin (mucin producing carcinomas) の一亜型として記載されている²⁾。

粘液癌は、全乳癌の2-4%を占め^{2,3)}、特殊型の中で発生頻度の高い癌である。発症年齢は、通常型の浸潤性乳癌と同じか³⁾、あるいはやや高齢者に多い^{2,4)}。腫瘍は、たいてい触知可能な腫瘍として存在する²⁾。マンモグラフィでは、一般に境界明瞭な圧排性発育する腫瘍として描出される。超音波では、乳癌としては内部エコーの高い腫瘍として描出され、後方エコーは強く増強する(図27)。MRIでは、腫瘍は豊富な粘液を反映してT2強調画像で高信号を呈し、早期相で染まりが悪いことを特徴とする。

粘液癌は、伝統的に純型(pure variant)と混合型(mixed variant)に亜分類されている^{2,3,5)}。純型は浸潤巣の全体が粘液癌で構成されるもの、混合型は粘液癌以外の組織型が一部に併存するものである⁵⁾。純型粘液癌は一般に良好な予後を示し、10年生存率は90%をこえる^{3,4)}。一方、混合型粘液癌は、純型粘液癌と比較して予後が悪い³⁾。さらに、純型粘液癌は、type A(classical, hypocellular variant)とtype B(hypercellular variant)に細分類するという考え方があり、後者(type B)は神経内分泌分化をしばしば伴う^{6,7)}

肉眼的に、粘液癌は圧排性発育を示す境界明瞭な腫瘍を形成することが多く、光沢のあるゼラチン質の断面像を特徴とする(図28)。組織学的には、細胞外粘液の産生を特徴とし、癌胞巣が粘液の中を浮遊するようにみえる(図29, 30)。癌胞巣の形態は症例により様々で、type Aの粘液癌では管状、篩状、索状、微小乳頭状、乳頭状などの胞巣形態がみられる(図29)。一方、type Bの粘液癌では充実性の胞巣形成を示すことが多い(図30)⁶⁾。細胞質は、type Bの粘液癌においてしばしば細顆粒状を呈する(図30B)。粘液内には、血管が分枝状に走行する像がみられる(図30A)。乳管内癌成分は多くの症例において確認され、広汎な進展をきたすこともある。同成分は様々な組織構築を示し、粘液産生は目立つものから全くみられないものまでである。

細胞診では、背景に粘液が多量にみられ、その中に癌細胞集塊が島状に浮遊する像を特徴とする(図31)。癌細胞の採取量や集塊の形態は、組織所見を反映して様々である。Type Aに相当

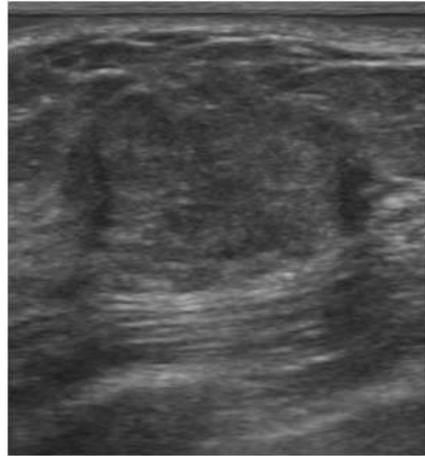


図27 粘液癌の超音波画像

限局型腫瘍で、後方エコーの増強を認める。腫瘍内部は等～高エコーレベルを示し、やや不均一である。

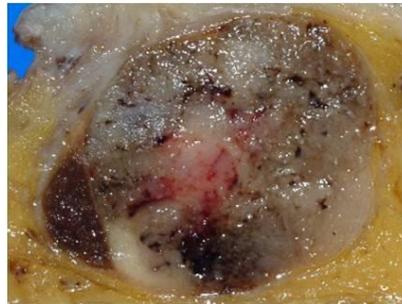


図28 粘液癌の肉眼所見(手術標本)

腫瘍は境界明瞭であり、半透明で光沢のある断面を呈する。部分的に出血を伴っている。

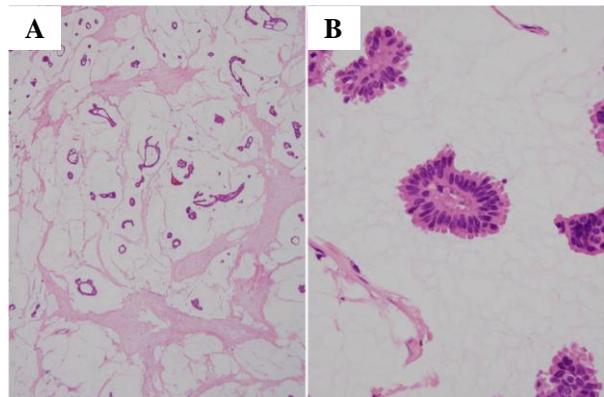


図29 粘液癌(Type A, Hypocellular variant)の組織像

A) 粘液湖の中に、リング状、リボン状、索状、小塊状の形態を示す癌胞巣が浮遊している。膠原線維性の隔壁状構造が癌巣を不規則に分画化する。

B) 粘液内に浮遊する癌胞巣は、分泌極性が反転している。癌細胞は円柱状で、核異型性は軽度である。

する粘液癌では、細胞採取量は比較的少ないことが多く、典型的には濃厚な粘液によって包み込まれたマリモ状の癌細胞集団がみられる (図 31)。癌細胞は、しばしば変性傾向を示す (図 31)。Type B の粘液癌では、細胞採取量が豊富であり、癌細胞は結合性の緩い充実性集団～孤立散在性の出現パターンを示す (図 32)。癌細胞の胞体は、しばしば細顆粒状を呈する。また、一部の症例では細胞内粘液が豊富にみられ、癌細胞が印環型を呈することもある⁹⁾。核異型性は軽度～中等度のことが多く、まれに高度の症例もみられる^{2,4)}。粘液内に、分枝状の血管が走行する所見をときどき認める (図 33)。

鑑別疾患として、第一に粘液瘤様腫瘍／病変 (mucocoele-like tumors / lesions) があげられる。粘液瘤様腫瘍／病変とは、粘液を貯留する複数の嚢胞がみられ、その破綻に伴い粘液が間質に漏出した状態である⁸⁾。細胞診では、細胞採取量が少ないこと、細胞結合性が強いこと、細胞は小型で異型を有さないことなどが粘液癌との鑑別点となる⁵⁾。第二に、粘液産生性の DCIS があげられる。とくに神経内分泌型の DCIS では、粘液性背景をときどき呈し (23%)、粘液癌に酷似する像を示しうるので注意が必要である (図 34)⁹⁻¹¹⁾。しかし、DCIS では、癌細胞集塊が濃厚な粘液に被包される所見は原則的にみられない。また、画像所見は DCIS と粘液癌を鑑別する上で参考になる^{7,9)}。第三に、粘液性線維腺腫があげられるが、この鑑別に関しては線維腺腫の項 (3) に記載した。

文献

1. 日本乳癌学会編: 臨床・病理 乳癌取扱い規約 (第16版). 東京: 金原出版, 2008; 18-59.
2. Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau X *et al.* Invasive breast carcinoma. In Tavassoli FA, Devilee P eds. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: IARC Press, 2003; 13-59.
3. Komaki K, Sakamoto G, Sugano H *et al.* Mucinous carcinoma of the breast in Japan. A prognostic analysis based on morphologic features. *Cancer*. 1988; 61: 989-996.

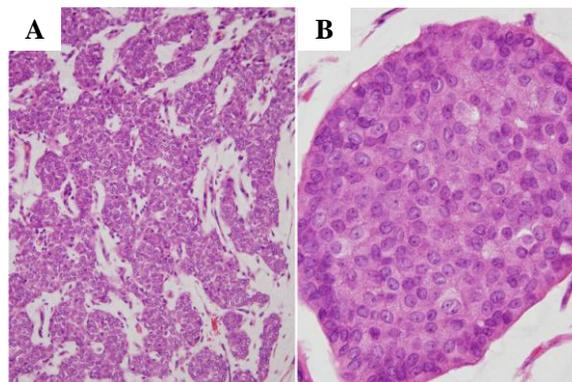


図 30 粘液癌 (Type B, Hypercellular variant) の組織像
A) 粘液の中に、充実性増殖を示す大型の癌細胞集塊が浮遊している。血管の増生所見がみられる。
B) 癌細胞は多角形で、細顆粒状の細胞質を有する。

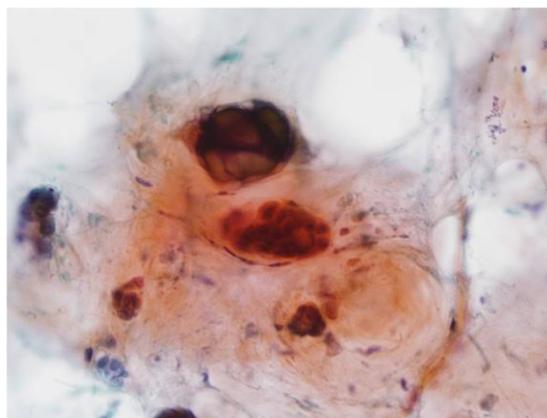


図 31 粘液癌 (Type A, Hypocellular variant) の細胞像
濃厚な粘液の中に、変性を伴う癌細胞の小集塊を認める。上方に、石灰化 (分泌型に相当) がみられる。

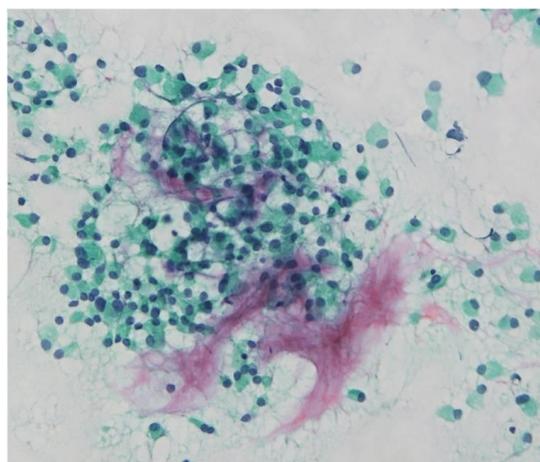


図 32 粘液癌 (Type B, Hypercellular variant) の細胞像
粘液性背景に、核の偏在した形質細胞様の癌細胞が孤立散在性に多数認められる。

4. Di Saverio S, Gutierrez J, Avisar E. A retrospective review with long term follow up of 11,400 cases of pure mucinous breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 2008; 111: 541-547.
5. Rosen PP. *Rosen's Breast Pathology (3rd ed.)*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 515-535.
6. Capella C, Eusebi V, Mann B *et al.* Endocrine differentiation in mucoid carcinoma of the breast. *Histopathology.* 1980; 4: 613-630.
7. 川崎朋範, 加藤良平. 粘液癌. 黒住昌史, 森谷卓也, 編集. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 乳癌. 東京: 文光堂, 2010; 64-69.
8. Rosen PP. Mucocoele-like tumors of the breast. *Am J Surg Pathol.* 1986; 10: 464-469.
9. Kawasaki T, Nakamura S, Sakamoto G *et al.* Neuroendocrine ductal carcinoma *in situ* of the breast: cytological features in 32 cases. *Cytopathology.* 2010 (in press).
10. Kawasaki T, Sakamoto G, Kondo T *et al.* Neuroendocrine Ductal Carcinoma *In Situ* (NE-DCIS) of the Breast: Cytological Features of 32 Cases [Abstract]. In *USCAP Annual Meeting. Mod Pathol* 2010; 23 (Suppl. 1): 96A.
11. Kawasaki T, Sakamoto G, Kondo T *et al.* Neuroendocrine Ductal Carcinoma *In Situ* (NE-DCIS) of the Breast - A Distinct Variant of DCIS [Abstract]. In *USCAP Annual Meeting. Mod Pathol* 2010; 23 (Suppl. 1): 55A.

5. 管状癌 (Tubular carcinoma)

管状癌 (tubular carcinoma) は、超高分化な浸潤癌であり、核異型性の軽微な癌細胞が1層に並んで明瞭な腺腔形成を示す像を特徴とする^{1,2)}。本腫瘍は、WHOの乳腺腫瘍分類(2003年)および乳癌取扱い規約(第16版)(2008年)において、浸潤性乳癌の特殊型として分類されている^{1,2)}。まれな組織型であり、純型(管状癌成分が9割をこえる腫瘍)の頻度は全浸潤性乳癌の2%未満にすぎない¹⁾。年齢は、通常型の浸潤性乳管癌と比較して高い傾向にあり、腫瘍径は小さく(1cm前後)、リンパ節転移が少ない。予後の非常に良

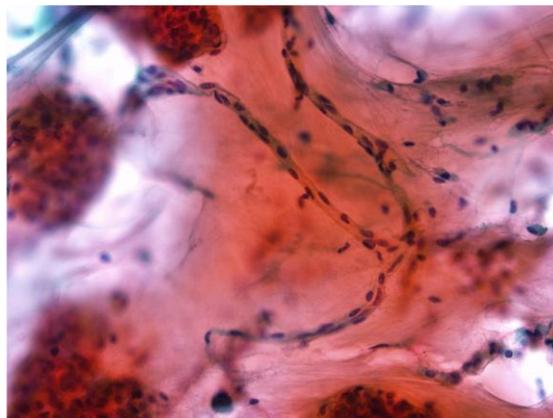


図33 粘液癌 (Type B, Hypercellular variant) の細胞像
粘液の中に、分岐を示す血管が走行する像を認める。

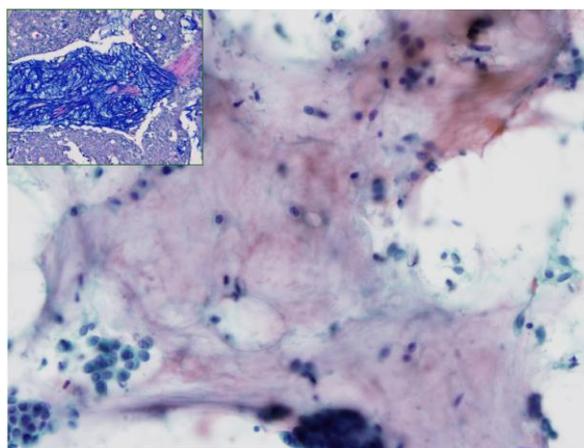


図34 神経内分泌型非浸潤性乳管癌の病理像
粘液性背景が目立つ。
inset (PAS-Alcian blue 染色): 細胞外粘液

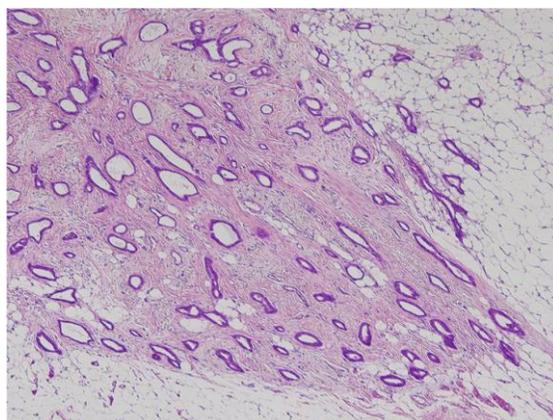


図35 管状癌の組織像 (弱拡大)
明瞭な管腔形成を示す腫瘍腺管が線維性間質を伴いながら浸潤している。脂肪織内への浸潤像も一部にみられる。

好な乳癌である。豊富な線維性間質と随伴するスピクラの形成により、マンモグラフィ検診で発見されることが多い¹⁾。

肉眼所見は、ヒキツレを伴う不整形腫瘍を形成することが多い。組織学的には、内腔の開いた高分化な管状構造からなる浸潤癌で、核異型性の少ない癌細胞が1層に配列する像を特徴とする(図35, 36)。核の多層化や多形性がみられる場合は、たとえ管状構造が優勢であっても管状癌とは診断しない。管腔は一般に卵形～円形で、部分的に角(かど)を有する(図36)。細胞質の頂部突出像(apical snouts)がときどきみられる。癌胞巣周囲に、筋上皮細胞はみられない(図36)。間質は線維形成性(desmoplastic)であり、硬性の浸潤像を一般に示す。大部分の症例において、低グレード相当の乳管内癌成分を伴う。また、近年ではflat epithelial atypia(平坦型上皮異型)とのクローン的関連性も報告されている³⁾。

細胞学的には、clearな背景に、内腔の開いた腺管状ないし土管状集塊で出現し(図37)、細胞重積性や重畳性は軽度である。結合性が強く、散在性細胞はほとんど認められない。癌細胞は小型、均一で、N/C比が高い(図37)。核は円形で緊満感があり、クロマチンは微細顆粒状で密に充満する⁴⁾。核小体は、みられても小型である。さらに、癌細胞の採取量は、硬性浸潤を反映してしばしば少ない。それゆえ、過小診断されやすい浸潤性乳癌である。筋上皮細胞の欠如が、本腫瘍を診断する上で重要な所見である。

文献

- 1) Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau X *et al.* Invasive breast carcinoma. In Tavassoli FA, Devilee P eds. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: IARC Press, 2003; 13-59.
- 2) 日本乳癌学会編: *臨床・病理 乳癌取扱い規約(第16版)*. 東京: 金原出版, 2008; 18-59.
- 3) Aulmann S, Elsayaf Z, Penzel R *et al.* Invasive tubular carcinoma of the breast frequently is clonally related to flat epithelial atypia and low-grade ductal carcinoma in situ. *Am J Surg Pathol.* 2009; 33: 1646-1653.

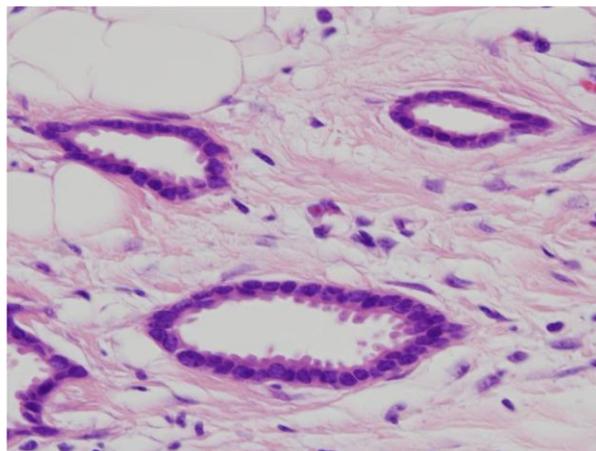


図36 管状癌の組織像(強拡大)

異型性の軽度な腫瘍細胞が1層に配列して腺管を形成し、間質に浸潤している。腺管には、部分的に鋭角の角(かど)がみられる。細胞質に、頂部突出像を認める。

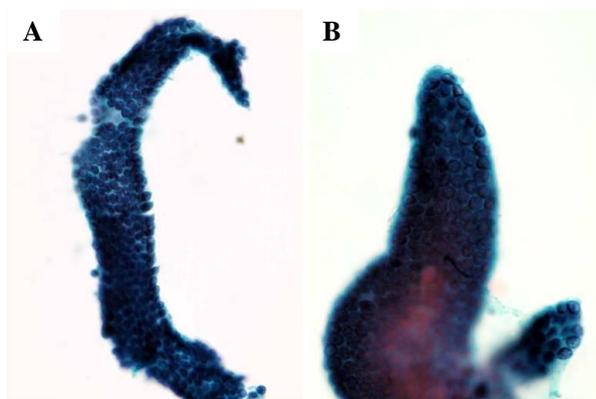


図37 管状癌の細胞像

小型、均一な癌細胞よりなる土管状ないし腺管状集塊。写真Bでは、集塊先端部が鋭角状となる。集塊周囲に、筋上皮細胞は認められない。(埼玉社会保険病院病理部の是松元子氏のご厚意による)

- 4) 伊藤仁. 管状癌. 土屋眞一, 編集. カラーアトラス 乳腺細胞診. 東京: 医療科学社, 2000; 150-151.

おわりに

乳腺は、病理診断における最も難しい分野の一つであり、実際に誤診（過剰診断および過小診断）の最もおこりやすい領域である。正しい乳腺細胞診断を行うためには、各疾患の臨床・病理学的特徴を十分に理解することが不可欠であるとともに、どのような状況で誤診が起こりうるかを認識することが重要である。本稿が日常の細胞病理学的診断の一助となれば幸甚である。

【はじめに】良悪性それぞれの鑑別組織型を考慮しない細胞診判定は、思わぬ誤判定を生じうる。その代表的なものとしてアポクリン病変がある。乳腺上皮細胞のアポクリン分化は、アポクリン嚢胞やアポクリン腺症、乳頭腫などの良性病変から、浸潤癌であるアポクリン癌まで、良悪性関係なく乳腺領域の種々の病変に出現しうる。ここではアポクリン癌と乳管腺腫を中心に取り上げる。悪性腫瘍では、比較的特徴的な細胞所見を示す浸潤性微小乳頭癌と悪性葉状腫瘍を解説する。また組織型推定がしばしば困難である小葉癌を硬癌と対比させて解説する。

1. アポクリン癌(Apocrine carcinoma)

【組織像】アポクリン化生細胞が優位な浸潤癌。WHO 分類ではアポクリン化生成分が 90%以上のものと定義している。非浸潤性乳管癌でアポクリン化生が優位なものは、アポクリン非浸潤性乳管癌と分類されるため、アポクリン癌=浸潤癌である。アポクリン汗腺上皮類似の細胞像が特徴であるが、客観的診断基準が存在しないため、報告により頻度が大きく異なる(0.3-4%)。全国乳がん患者登録調査報告(日本乳癌学会)では、1%前後を推移している。アポクリン・マーカーとして(GCDFP-15, Gross cystic disease fluid protein-15)が汎用されているが、HE 染色で典型的アポクリン癌像を呈しても陰性となる場合がある一方、非アポクリン癌でも約 1/4は陽性となると報告されており、絶対的マーカーではない。豊富な好酸性胞体を有する扁平上皮系への分化を示す癌との鑑別はしばしば困難であるが、HE 標本で典型的アポクリン化生像を示す症例のみをアポクリン癌とすべきである(図 1)。

【細胞診】平面状配列を示し、一部に不規則重積を伴う細胞集塊がみられる。個々の細胞は豊富な細胞質を有するため、N/C 比は比較的低い。細胞質はレース状で厚みに乏しく、ライトグリーンあるいはオレンジGに好染する不均一に分布するアポクリン顆粒を伴う。核は腫大し、大型核小体を認める(図 2)。腫瘍細胞起源と想定されている、組織球類似の豊富な異型泡沫状細胞が混在し、移行像を示すこともある。

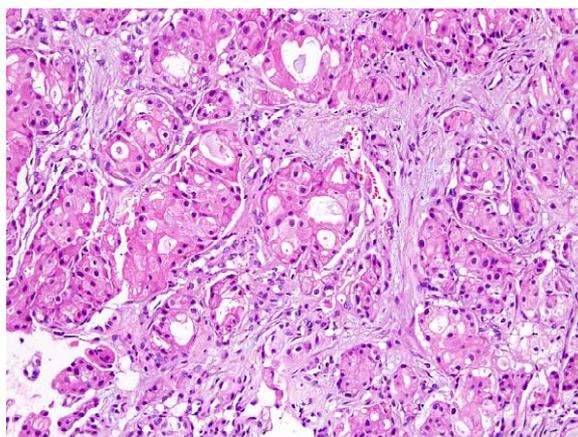


図 1, アポクリン癌

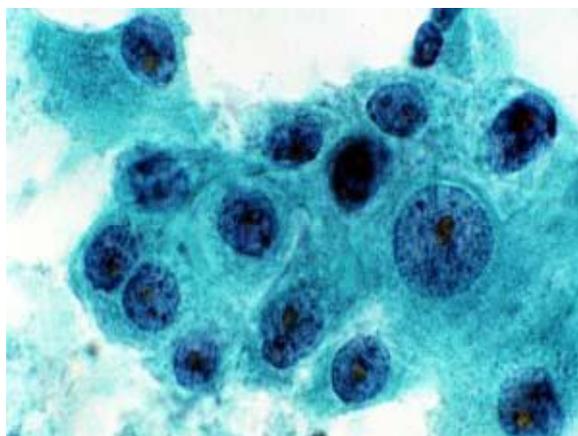


図 2, アポクリン癌細胞像

良性アポクリン化生細胞は、アポクリン癌と比較すると、より平面的である。核腫大や核小体の顕在化がしばしばみられるが、アポクリン腺症や後述する乳管腺腫に伴うアポクリン化生を除けば、核形不整などの多形性には乏しい。顆粒細胞腫も細胞質に好酸性顆粒を認めるが、顆粒が均一に充満しており、背景に大小の顆粒状物質

を伴うことが多く、細胞異型は目立たない。組織診断でしばしば鑑別対象となる扁平上皮分化を伴う浸潤癌は、細胞質にアポクリン顆粒はみられない。

2. 乳管腺腫(Ductal adenoma)

【組織像】1984年にAzzopardiとSalmにより提唱された疾患概念である。2008年9月に改訂された乳癌取り扱い規約第16版に、上皮性良性腫瘍の一つとして新たに提起された。従来、硬化性(乳管内)乳頭腫として診断されてきた病変の多くは、乳管腺腫と同一のものと考えられており、WHO分類(2003)でも両者は同義として扱われている。組織像としては、拡張乳管内で様々な大きさの腺管と線維成分の増生から構成される充実性結節である。乳管腔を充満するように増殖していることが多いが、線維性組織の縁取りにより拡張乳管内の病変であることは推測できる。結節周囲に空隙状の腔が存在することもあり、乳管内乳頭腫の亜型とみなされる所以である。ただし、乳頭腫様の樹枝状構造は明らかでないことが多い。部分像として硬化性腺症や線維腺腫様構築を伴うこともある。増殖腺管は線維性組織で区画され、所々で強い線維化を伴い瘢痕様となる。腺管増殖を伴う線維化が既存の乳管壁を越えて波及すると、偽浸潤像を呈する。腺上皮にはアポクリン化生を認めることが多い。乳管腺腫のアポクリン化生細胞は、アポクリン嚢胞などでみられる明かな良性化生細胞と比較すると、大型核小体が顕在化した腫大・多形性核を伴うことがあり、高度の核異型を示す場合がある。二相性の保持を確認すれば浸潤癌であるアポクリン癌とは鑑別可能であるが、アポクリン型非浸潤性乳管癌との鑑別が問題となる。鑑別点として、乳管腺腫では高度異型を示すアポクリン化生細胞に良性と思われるアポクリン化生細胞が混在しており、両者に移行像がみられること、核分裂像に乏しく異常分裂

像を認めないこと、面疱状壊死がないことなどがある。

【細胞診】乳頭腫の乳管腺腫の細胞像に関しては、本邦ではほとんどが症例報告であり、細胞像をまとめた論文は少数である。欧米では乳頭腫の1亜型として捉えられることが多く、まとまった報告はほとんどみられない。

乳管腺腫は細胞診では悪性や悪性疑い、鑑別困難と診断されることが多く、むしろ良性と診断し得た報告例は少ない(難解症例ゆえに報告されるため、バイアスがかかっている可能性はある)。良性と診断し得た症例は、乳腺症や乳管内乳頭腫と推定されることが多い。

手技に問題がなければ、細胞は十分量採取される。泡沫細胞の出現頻度が高く、アポクリン化生細胞もしばしば観察される(図3)。異型の強いアポクリン化生細胞が孤在性にみられた場合には、鑑別対象としての乳管腺腫を失念すると、アポクリン癌と推定することになる。アポクリン癌(あるいはアポクリン化生を伴った浸潤癌)は、異型の強いアポクリン化生細胞のみから構成されるか、あるいは通常型の癌細胞と混在するはずであるが、乳管腺腫のアポクリン化生細胞はあくまで部分像としての出現であり、隣接して良性病変が存在する。アポクリン癌と断定する前に、高度異型アポクリン化生細胞と良性の範疇内に収まる上皮細胞との混在や移行像の有無を観察することが重要である。

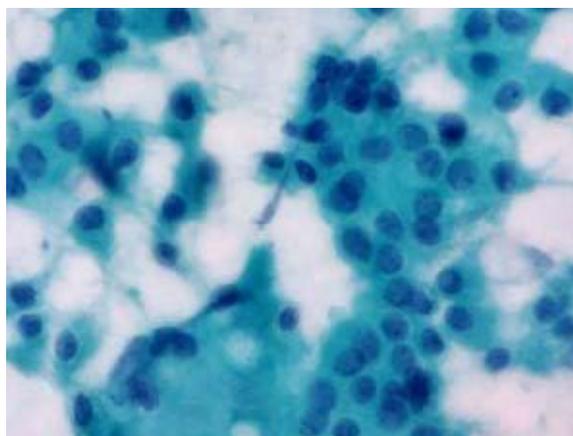


図3 良性アポクリン化生の細胞像

3. 浸潤性微小乳頭癌 (Invasive micropapillary carcinoma, IMPC)

【組織像】間質との裂隙中に血管茎を伴わない偽乳頭状あるいは微小腺管構造を示す癌細胞の集塊から構成される(図 4)。浸潤癌の胞巣は inside-out growth pattern とよばれ、腺腔の分泌面が外向きである。癌集塊と周囲間質の間には空隙がみられるが、この空隙は固定時の癌と間質との収縮率差による人工産物で、粘液は認められない。リンパ管侵襲が目立つことも特徴である。マクロ像は多彩で、乳頭腺管癌や充実腺管癌に類似することもある。純型 (IMPC のみで構成) の場合は少なく、その他の組織型と混在していることが多い。組織学的に IMPC がどの程度の面積を占めた場合、IMPC と診断すべきかは合意が得られていない。IMPC 成分が少量にとどまる場合でも所見に記載することが望ましい。

【細胞診】細胞像は組織像を反映し、結合性のある立方的小細胞集塊として観察される。弱拡大像で小型から中型の球形あるいは不整形細胞集塊が多数みられる(図 5)。背景に散在性細胞を伴うこともある。強拡大像では個々の細胞に、N/C 比の増大、クロマチンの著明な増量、核の大小不同などの細胞異型を認める。細胞異型に加え、細胞集塊の最外層の核極性(外向きの腺腔面)、集塊辺縁部の毛羽立ち状所見の特徴がみられた場合(図 6)、IMPC が推定できる。

低乳頭型非浸潤性乳管癌でも同様の細胞集塊を認めることがある。小細胞集塊に加えて結合性の強いシート状集塊を伴うことが多い症例では、低乳頭型非浸潤性乳管癌を鑑別対象としてあげる必要がある。

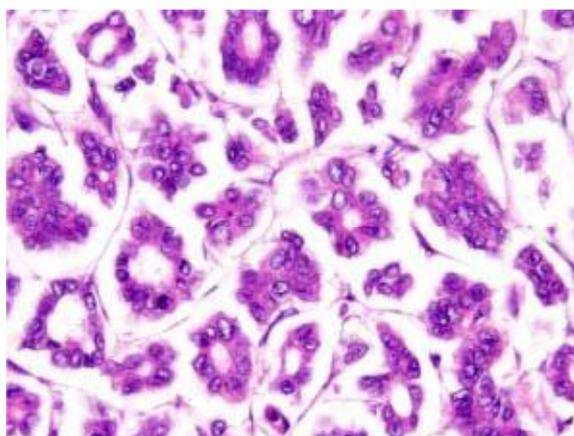


図 4 IMPC 強拡大像

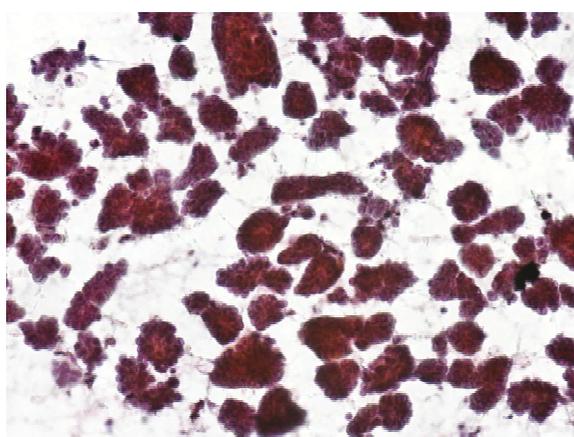


図 5 IMPC 細胞診弱拡大像

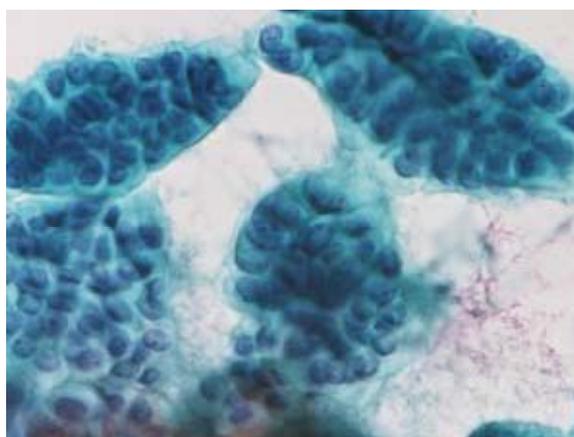


図 6 IMPC 細胞診強拡大像

4. 悪性葉状腫瘍(Malignant phyllodes tumor)

【組織像】腫瘍は上皮と間質の2成分から構成される。管内型線維腺腫に類似の増殖形式を示す場合、間質成分の優勢な増生によって葉状構造を呈すが(図7)、葉状構造が明らかでなくとも間質細胞の一方的増殖を認める症例は葉状腫瘍と診断する。良性・境界・悪性の判定は間質の細胞密度、細胞異型、核分裂像数、周囲への浸潤形態、間質の一方的増殖、異所性成分の有無の各項目を元に総合的に判断する。悪性葉状腫瘍の間質成分は、線維肉腫様形態を示すことが多いが、骨肉腫や軟骨肉腫、脂肪肉腫(図8)、横紋筋肉腫様の分化を示すこともある。

悪性葉状腫瘍の鑑別診断として、紡錘細胞癌や癌肉腫、間質肉腫などが挙げられる。鑑別点は、紡錘細胞癌や癌肉腫の腫瘍成分に含まれる上皮は癌腫であるのに対し、悪性葉状腫瘍の上皮成分は良性変化の範疇にとどまること(悪性葉状腫瘍に癌化した上皮成分を伴う症例は、狭義の癌肉腫と診断される)、間質肉腫は間葉系成分のみから構成され、免疫染色での検索も含めて上皮性格が証明されないことである。

【細胞診】組織学的特徴である、上皮細胞と間質細胞の2相性出現パターンは細胞診でも保持される。葉状構造に伴う拡張した嚢胞性腺腔変化を反映して、背景に泡沫状組織球、赤血球、変性上皮細胞がみられることがある。葉状腫瘍に出現する上皮細胞成分は、線維腺腫の場合と同様、平面的で異型に乏しく、筋上皮細胞を伴う。線維腺腫と比較すると、中型から大型のシート状出現が主体である。長径1mmを越える大型、かつ折れ曲がったfolded patternや、波打つシート状形態wavy patternは葉状腫瘍にかなり特徴的とされる(図9)。ただし、悪性葉状腫瘍の間質の一方的増殖部位が穿刺されると、小型の上皮集塊のみがみられたり、あるいはほとんど上皮成分が認められないこともある。

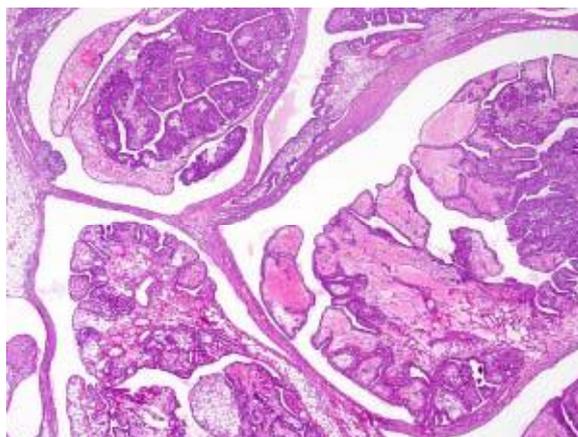


図7 悪性葉状腫瘍弱拡大像

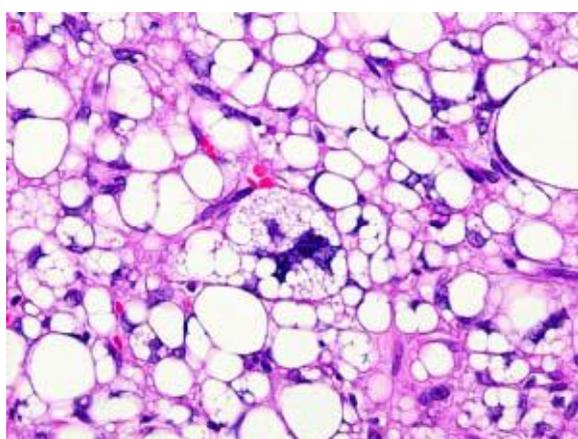


図8 悪性葉状腫瘍強拡大(脂肪肉腫様部位)

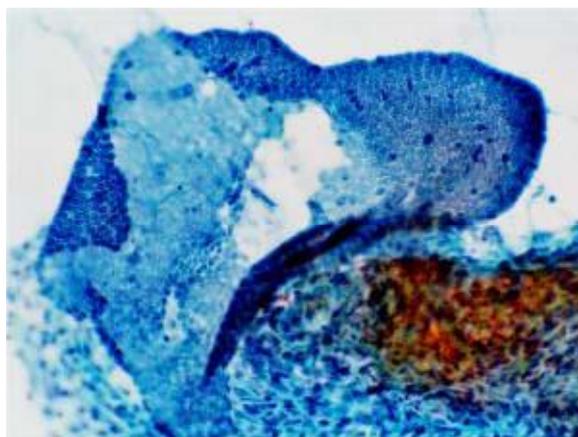


図9 悪性葉状腫瘍細胞像(弱拡大)

扁平上皮化生細胞は線維腺腫よりも葉状腫瘍を示唆する。葉状腫瘍の良悪性の鑑別は、非上皮性成分である間質片の性状によって行い、悪性症例では大型で異型性の目立つ紡錘形間葉細胞が密度の高い状態で束状・塊状で見られる。間質片内の線維芽細胞に核異型や核小体の顕在化、分裂像がみられれば、境界悪性ないし悪性葉状腫瘍の可能性が高い。異型性に加え、多形性も伴う症例では、脂肪肉腫(図 10)や骨肉腫、軟骨肉腫などに類似した細胞像を呈することがある。付随する異所性成分は、悪性葉状腫瘍の推定根拠の一つとなり得る。良性と境界悪性、悪性の鑑別は典型的症例では可能だが、穿刺部位のみの組織像を反映するため、診断には常に sampling error の問題が残る。紡錘細胞癌では、組織所見を反映した上皮性悪性細胞と肉腫様細胞の混在および移行像(中間的細胞)の存在、癌肉腫は上皮性悪性細胞と肉腫様細胞が混在するが移行像を認めない点、間質肉腫は純粋な肉腫形態を示すことなどが、悪性葉状腫瘍との鑑別点であるが、やはり採取部位の問題があり、実際には困難なことがある。

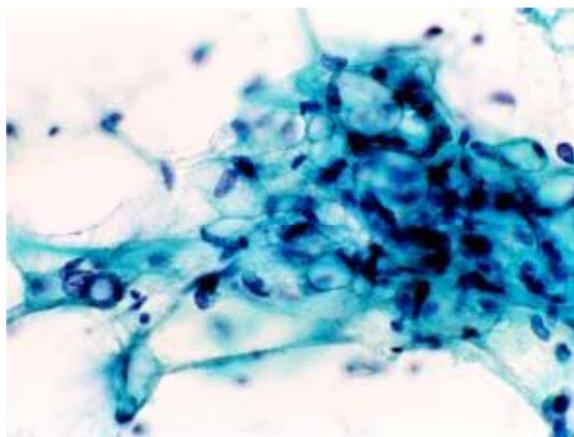


図 10 悪性葉状腫瘍細胞像(脂肪肉腫様部位)

5. 浸潤性小葉癌：浸潤性乳管癌(硬癌)との比較

【組織像】浸潤性小葉癌は、小型均一な腫瘍細胞から構成され、線状形態や個細胞性・散布状に浸潤し、腺管形成がほとんど認められない癌とされてきた(いわゆる古典型(classic type))。古典型浸潤性小葉癌は古くから認識されていたが、その後、構築形態と細胞形態による分類から種々の亜型が提唱されている。本邦規約には古典型と充実型(髄様型)(solid type)が触れられているが、2003年WHO分類にはそれらに加え、胞巣型(alveolar type)、tubulolobular type、多形型(pleomorphic type)、及びそれらの混合型(mixed type)が記載されている。索状型(trabecular type)、印環細胞型(signet-ring type)、アポクリン細胞型(apocrine type)、組織球様細胞型(histiocytoid type)、筋芽細胞様型(myoblastoid type)などを別亜型として扱う教科書もあるが、互いに重なりあう概念が多い。全ての型において、腫瘍細胞には細胞結合性が緩く、免疫組織化学的にE-Cadherinの染色性が陰性・減弱化すること、両側発生が増加することが特徴で、遺伝子profileの検討でも浸潤性乳管癌とは異なる一群を形成している。ただし、一部の亜型を浸潤性小葉癌に含めるかに関しては議論がある。

古典型の浸潤性小葉癌はクロマチンに乏しい繊細な核を有する小～中型の均一な腫瘍細胞から構成され、線状形態状(Indian file)や数珠状(Rosary like)、あるいは個細胞性、散布状に浸潤する。間質反応に乏しいものが多く、背景の乳腺構築は保持される傾向がある。正常乳管を腫瘍細胞が取り囲むように配列する標的様配列(targetoid pattern)や細胞質内小腺腔(intracytoplasmic lumen, ICL)がしばしばみられる。以上の所見は小葉癌に頻度が高いが、乳管癌にも観察されることがあり、小葉癌に特異的所見ではない(図12)。浸潤性小葉癌の鑑別対象

として、規約分類の浸潤性乳管癌では、組織的に腺管形成のほとんど認められない硬癌や充実腺管癌がある。鑑別点として、小葉癌が孤立散在性や接着性の緩い数珠状線状配列を形成する傾向があるのに対し、硬癌は線状よりも多列となる索状浸潤を主体とし、腫瘍胞巣の辺縁は周囲間質に対して直線状となっていることが多いことがある。また小葉癌細胞は、核クロマチンが繊細で淡明な印象を受けるが、硬癌の核クロマチンは粗大顆粒状を呈する傾向がある。

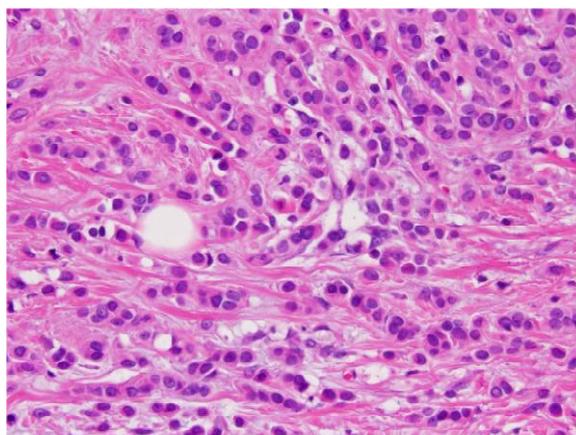


図11 浸潤性小葉癌

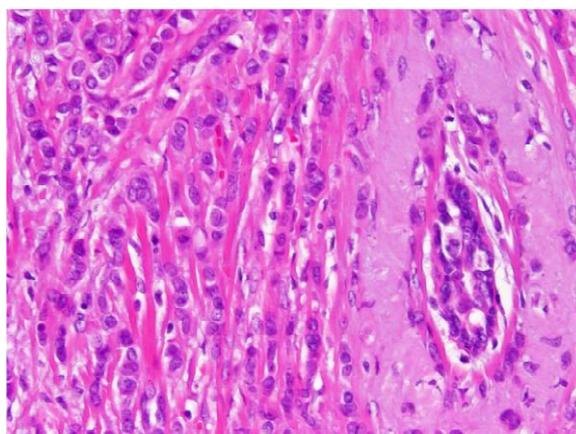


図12 浸潤性乳管癌(硬癌)

標的様配列や細胞質内小腺腔の所見は印象的であるが、いずれの組織型にもみられるため、鑑別点とはならない。線状配列を主体とした硬癌との鑑別はときに困難であるが、E-Cadherin免疫染色(小葉癌は染色性減弱・陰性/硬癌は陽性)が参考になる。本邦では小葉癌の頻度は欧米に

比して少ないとされるが、典型的な小型均一な腫瘍細胞から構成される古典型小葉癌以外は、浸潤性乳管癌に分類されている可能性もある。E-Cadherin 免疫染色を診断に積極的に用いる施設では、これまで浸潤性乳管癌と診断されていた症例の一部が小葉癌と診断されていると考えられる。

【細胞診】

小葉癌と硬癌の共通点として、細胞採取量がしばしば少量にとどまり、小型腫瘍細胞が小集塊や孤立散在性に出現しうることが挙げられる(図 13, 14)。そのため腫瘍細胞が上皮細胞と認識されずにリンパ球と誤認され、検体不適正あるいは良性と診断されたり、量的な問題で鑑別困難とされることも経験する。ただし小葉癌でも十分量の細胞が採取されることも多いため、十分量の細胞がみられることは小葉癌の陰性所見ではない。組織像を反映して、小葉癌・硬癌の両組織型は構造異型、核所見、細胞質所見のそれぞれにある程度の傾向を示すとされる。構造異型に関しては、両者とも核が一行に配列し、細索状・線状パターンを取り得るが、線状辺縁部の形状は小葉癌が丸みを帯びた数珠状、硬癌は直線状を呈するとされる。核所見としては小葉癌細胞が繊細で淡明なクロマチンを有し、核縁も菲薄であるが、硬癌はクロマチンが粗く濃染し、核縁の肥厚を伴うことが多い。小葉癌はライトグリーンに淡染する薄い細胞質を有するが、硬癌はライトグリーンに濃染する厚い細胞質を有する傾向がある。細胞質内小腺腔は小葉癌にやや出現頻度が高いとする報告もあるが、両者ともにしばしば出現しうる共通形質である。これらの鑑別点は古典型浸潤性小葉癌と硬癌の鑑別点として有用である。ただし、組織診においても両者の鑑別に迷うような中間型の組織像や多形型を含む小葉癌の亜型を、E-Cadherin の免疫染色を用いて積極的に小葉癌診断を行う施設では、構造異型や核多形性の鑑別項目の差異はよ

り接近すると想定される。しかしながら亜型を含めても、繊細で淡明なクロマチンという核所見に関しては小葉癌の共通形質であるとする報告がある(図 15)。組織診と細胞診の整合性に関しては、今後の検討課題であろう。

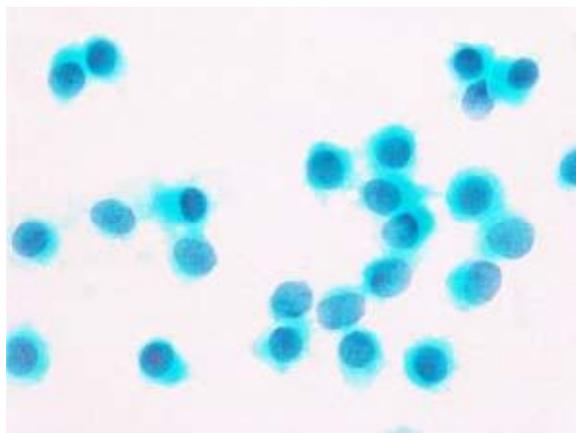


図 13 小葉癌細胞像

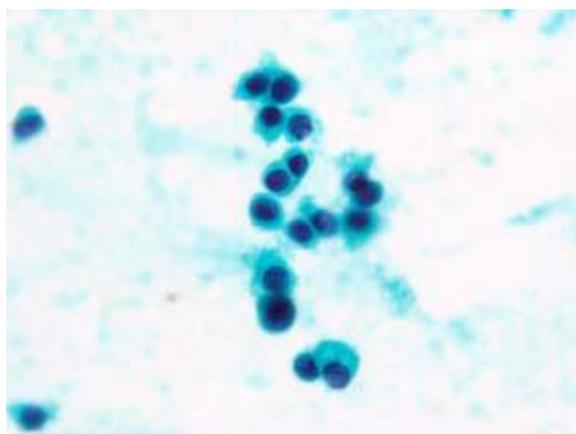


図 14 硬癌細胞像

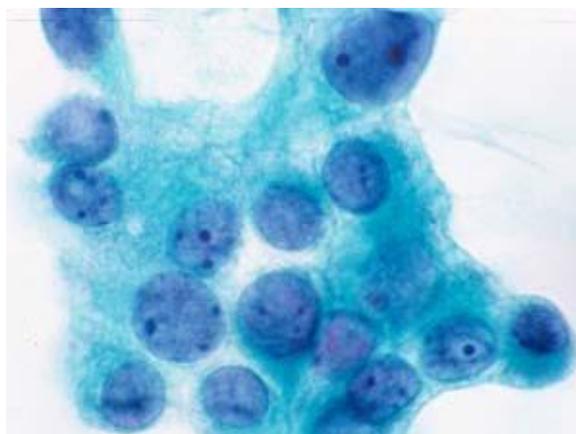


図 15 小葉癌細胞像(強拡大)

【終わりに】

細胞像は組織像を反映するが、特殊型の診断は組織診断でも免疫染色の追加なしには確定できない場合がある。また腫瘍の大部分が特殊型の組織像を示すことが診断の条件であるため、部分像の判定である細胞診での診断には限界がある。しかしながら細胞診診断の鑑別対象に含めることによって、組織診断や臨床に有用な情報を提供可能であると考えられる。

【参考文献】

- ・ 乳腺病理カラーアトラス 土屋 眞一，森谷卓也，秋山 太 編. 文光堂 2008
- ・ 腫瘍病理鑑別診断アトラス 乳癌 黒住昌史，森谷卓也編. 文光堂 2010
- ・ 新版 乳腺細胞診カラーアトラス —乳癌取扱い規約「細胞診報告様式」に準拠— 土屋眞一監修. 医療科学社 新版 2007
- ・ カラーアトラス乳腺細胞診 土屋眞一. 医療科学社 2000
- ・ 乳管腺腫の細胞学的検討，伊藤仁ら，日本臨床細胞学会雑誌 48 5 2009 pp. 257-262

細胞診検体を用いた免疫細胞化学と FISH・CISH 法応用に関する留意点

唐 小燕 (MD)、熊木伸枝 (MD)、伊藤 仁 (CT)、梅村しのぶ (MD)

東海大学医学部 基盤診療学系 病理診断学

免疫細胞化学

1. 95%エタノール固定・パパニコロー (HE) 染色の細胞検体：抗原性が長期にわたり保持されるため、基本的にはホルマリン固定・パラフィン包埋の組織切片と同様なプロトコルで行えるが、いくつかの注意点が必要。

- a) 抗原賦活化：細胞標本は、95%エタノール固定のため、ホルマリン固定の組織切片よりも抗原性が保持され、通常抗原賦活化の必要がない。特に、細胞膜や細胞質にある抗原、例えば CA15-3 などの腫瘍マーカー、EMA, 筋上皮マーカー (actin, calretinin, p63, CD10 他)などは、必要がない。逆に、酵素処理など行くと、細胞が傷んでしまうおそれがある。しかし、細胞骨格のサイトケラチンおよび細胞核にある抗原蛋白の検出には、抗原賦活化が必要となる。例えば、サイトケラチンはトリプシンによる酵素処理が必要で、ホルモン受容体 (ER, PgR)や、Ki67(MIB-1)、p53などは加熱処理が必要。具体的には、0.01M のクエン酸緩衝液(pH6.0)の中で、ウォーターバス 98℃、40 分；オートクレーブなら 121℃、15 分間加熱する必要がある。
- b) 一次抗体の濃度：強染されるのをおそれ、一次抗体の濃度が 2~3 倍薄くし、発色時間も調節する施設もあるが、当施設の経験では一次抗体の濃度をホルマリン固定・パラフィン包埋の組織切片と同様にしても、問題はない。
- c) HER2 蛋白過剰発現については、95%エタノール固定による細胞診検体は不適當とされる。
- d) 脱色処理について：パパニコロー染色された標本では、脱色処理は基本的に不要である。加熱処理が必要な抗体はまず脱色になる、PBS で洗う時も色はほとんど落ちてしまう。
- e) 一次抗体のかけ方について：細胞診の標本では、細胞転写を行った検体以外、大体スライドガラスの全体に分布しているため、かける抗体の量が多くする必要がある。特に、スメアの標本では、細胞が最後の部分に集中する傾向があるために、抗体(試薬)のかけ方に注意を払う必要がある。

2. 液状細胞診検体 Liquid-based cytology (LBC)

LBC 検体は基本的に、95%エタノール固定・パパニコロー (HE) 染色の細胞検体と同様な処理を行える。また、HER2 蛋白過剰発現については、液状細胞診検体(LBC)固定液の性状が明らかにされていないが、不適當であるとする証左は得られていない。

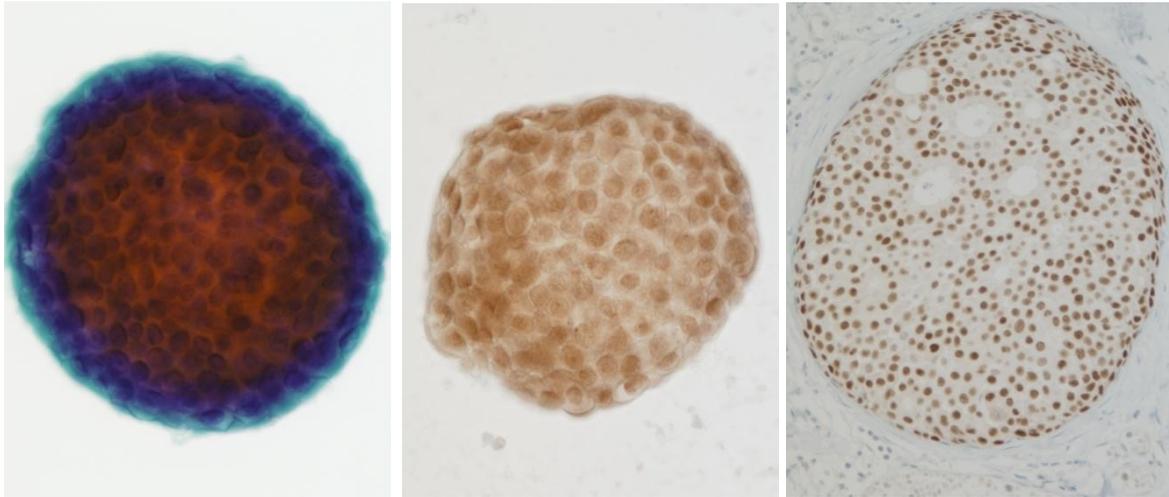


図1. ERの免疫細胞化学：a. パパニコロー染色, b. 免疫細胞化学、c. 免疫組織化学

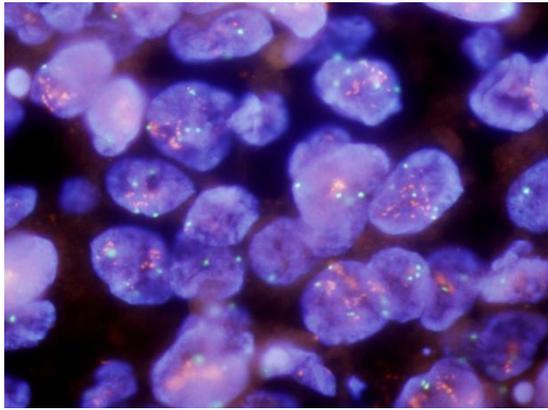
HER2の遺伝子変化を検索する方法—FISH/CISH法施行に際しての留意点：

HER2の遺伝子検査、FISH/CISH法施行細胞材料として想定されるのは、エタノール固定捺印標本、Liquid-based cytology (LBC)標本およびエタノール固定捺印Pap済（長期保存）標本がある。前2者の場合、前処理が必要とする以外、ホルマリン固定パラフィン包埋組織材料と同様なプロトコールが使用可能。われわれの経験では、アルコール固定標本>LBC≧既Pap標本である。特にPap染色後、時間が経った長い標本は困難である。

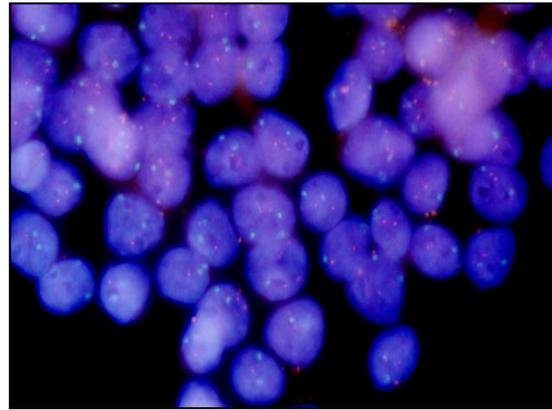
通常の光学顕微鏡で観察できる二色HER2検出システムが現在使われ始めでいる。今回は、主にDakoのDuoCISH™ (Dako Denmark A/S)使用上の注意点を紹介する。

前処理は、エタノール固定捺印標本およびLBC標本をさらに10%ホルマリンで1~2時間の再固定が必要である。Pretreatment試薬の処理は同様だが、タンパク分解酵素処理は組織標本より短くする必要がある（常温、30）。その後、10%中性緩衝ホルマリンに浸漬する。Denaturation & Hybridizationは通常に行う（Hybridizer：90℃/5分、45℃/16時間）。DuoCISH法は、FISH法を行ったあとに、免疫染色を追加で行うとして理解する。

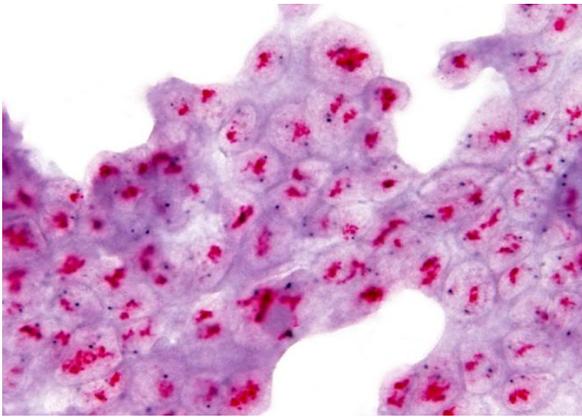
細胞標本におけるDuoCISHの留意点：組織標本の場合、細胞核が薄切の関係上完全の核が得られない可能性があり、真のシグナル数が得られない問題があったが、細胞標本の細胞が一層の場合、核が完全であるために真のシグナル数が得られ、また、ポリソミーの判定も可能となる。しかし、集塊形成の材料では、集塊内部の細胞はほとんど反応しない。また、細胞同定が難しいため、細胞数の判定が困難で、シグナルのフォーカスが異なり、カウントしにくい難点がある。さらに、標本の厚さが異なるため、場所により染色性も異なる。



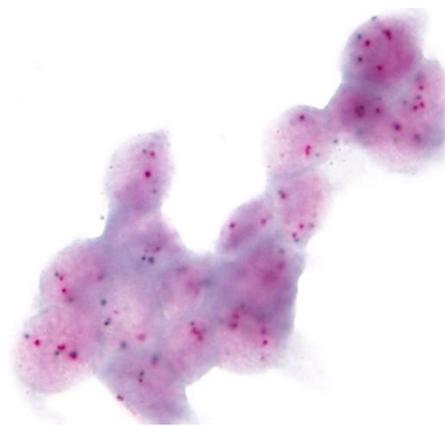
捺印標本、HER2 増幅症例の FISH 像



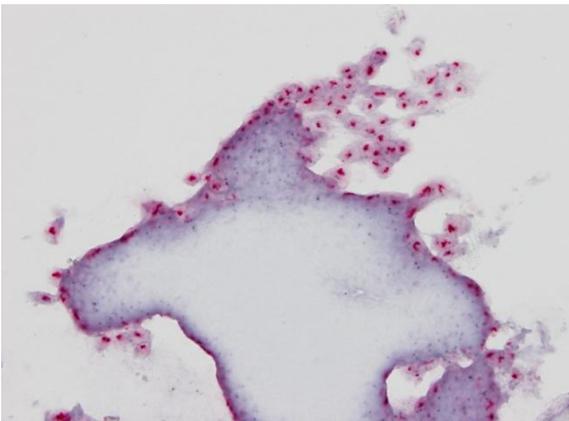
捺印標本、HER2 非増幅症例の FISH 像



捺印標本、HER2 増幅症例の DuoCISH



LBC、HER2 非増幅症例の DuoCISH



捺印標本、HER2 増幅症例の DuoCISH :
集塊内部の細胞はほとんど反応なし