

体腔液細胞診における悪性中皮腫と反応性中皮の細胞鑑別

山口県立総合医療センター 中央検査部⁽¹⁾, 同 病理科⁽²⁾
 渋田秀美⁽¹⁾, 安永佳麻里⁽¹⁾, 山本千奈美⁽¹⁾, 亀井敏昭⁽¹⁾⁽²⁾

【はじめに】

悪性中皮腫はアスベスト関連疾患として知られており、我が国においては 1970 年代より 1990 年代のアスベスト大量使用から約 40 年の潜伏期間を経て、近年、増加傾向にある悪性腫瘍である。胸膜、腹膜、心膜などの中皮細胞に由来して発生し、その約 70%は胸膜由来である。体腔液貯留を初発症状とすることが多く、初回の体腔液細胞診で悪性中皮腫と診断することは早期発見の観点からもその意義は大きい。しかしながら、実際には初回の細胞診で悪性中皮腫と診断される症例は 30%程度とされ、疑陽性判定や反応性中皮との判断で陰性と判定される症例も多い。日常検査では中皮由来の細胞と腺癌細胞との鑑別についても問題となるが、本稿では焦点を絞る意味で中皮由来の細胞、つまり悪性中皮腫と反応性中皮の細胞鑑別について免疫染色による鑑別を中心に、その注意点についても報告する。

【細胞形態による鑑別】(図 1、図 2)

反応性中皮は正常な活動静止状態と比較すると、反応性に増殖した細胞であり、このことが悪性中皮腫との鑑別をより困難にしている。さらに、悪性中皮腫の場合であっても背景には反応性中皮の出現がみられるため、鑑別に苦慮することも考えられる。体腔液中に出現する悪性中皮腫は上皮型、もしくは二相型の上皮様部分がほとんどであるため、この細胞像を悪性中皮腫として反応性中皮との細胞形態による鑑別点を表 1 に示す。特に重要な所見としては、細胞の出現数、集塊の性状、細胞の結合性、出現細胞の均一性、核所見等が挙げられる。

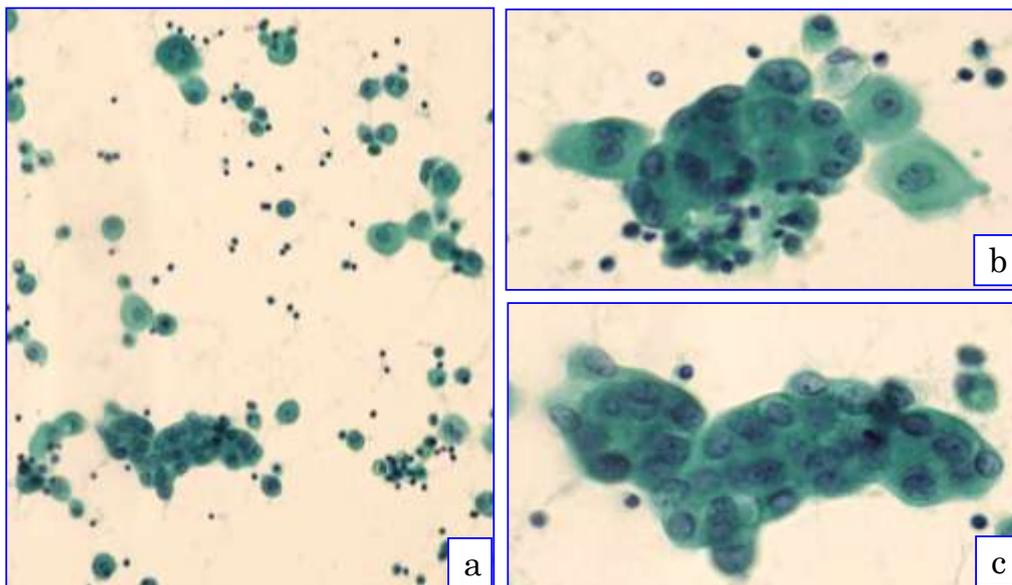


図 1. 55 歳 男性 胸水：反応性中皮
 (a~c: Pap.染色 a: 倍率×20 b, c: 倍率×40)

ライトグリーン好性の厚い細胞質を有する細胞が孤在性、あるいは一部で集塊状に出現している。集塊は比較的平面的であり、細胞の結合性も比較的弱い。2~4 核程度の多核細胞の出現が認められる。

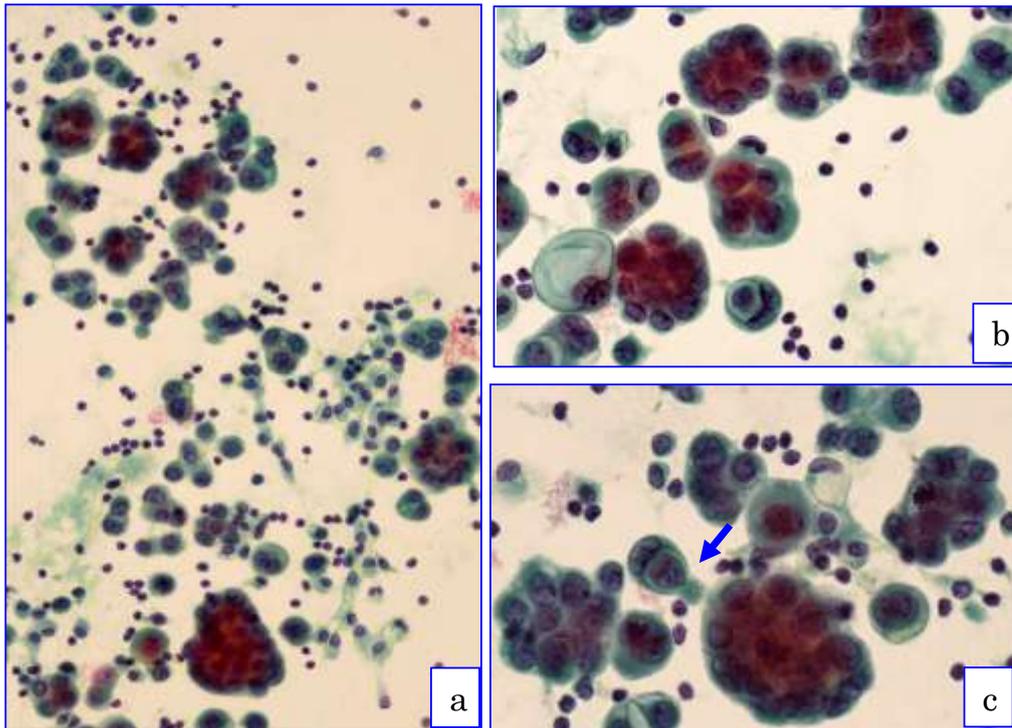


図 2. 72歳 男性 胸水：悪性中皮腫
(a~c: Pap.染色 a: 倍率×20 b, c: 倍率×40)

ライトグリーン好性の厚い細胞質を有する腫瘍細胞が集塊状に出現している。集塊は重積性を有し、細胞の結合性も強い。細胞相互封入像や hump 様細胞突起を有する鑄型細胞（矢印）も認められる。

表 1. 反応性中皮と悪性中皮腫の細胞形態による鑑別点

	反応性中皮	悪性中皮腫
出現細胞数	細胞少数	細胞多数
細胞集塊	比較的平面的	重積性の強い球状、乳頭状
細胞質	辺縁はやや不明瞭 やや重厚感を示す	辺縁は不明瞭 重厚感を有する
結合性	弱い 細胞相接像あり 細胞相互封入像は少数	強い 細胞相接像あり hump 様細胞突起多い
核	中心性 類円形～楕円形 軽度の大小不同性	中心性 類円形～楕円形 均一感がある
ルンゾ G 好性細胞	出現頻度は低く、出現がみられても少数	約半数の症例で出現
II 型 Collagenous stroma	出現頻度は低く、出現がみられても少数	約半数の症例で出現

【免疫染色による鑑別】(図3～図7)

体腔液細胞診において、細胞形態による鑑別が困難である場合や、診断の客観性を示すために免疫染色がしばしば施行される。中皮由来の細胞(反応性中皮、および悪性中皮腫)は抗 Calretinin ウサギポリクローナル抗体、抗 Podoplanin マウスモノクローナル抗体 (D2-40; ニチレイバイオサイエンス)、抗 WT-1 マウスモノクローナル抗体 (WT49) が高率に陽性となる。中皮由来であることが確認された場合でも、良性か悪性かの診断という意味で、反応性であるか腫瘍性であるかの鑑別は非常に重要である。我々の施設では、抗 EMA マウスモノクローナル抗体 (E29)、抗 Desmin マウスモノクローナル抗体 (D33)、抗 GLUT-1 ウサギポリクローナル抗体、抗 CD146 マウスモノクローナル抗体 (N1238) の4つの抗体による鑑別が有用であると考え、良悪性鑑別の指標としている。悪性中皮腫と反応性中皮の一般的な染色結果を表2に示す。判定は中皮由来と考えられる細胞および細胞集塊について行い、その染色強度によりー、±、+の3段階で表記した。

EMAは正常および腫瘍性の上皮細胞の細胞膜や細胞質に陽性となる抗体であり、細胞質の染色性は反応性中皮には陰性～弱陽性、悪性中皮腫では陽性となる。さらに m-EMA と表現される細胞膜に強調される所見を悪性中皮腫診断の指標とすると感度、特異度ともに70%以上の染色特性を有する。

Desminは筋細胞の細胞骨格蛋白に対する抗体として用いられてきたが、反応性中皮で陽性、悪性中皮腫で陰性となることが報告されている。この Desmin 陰性の所見を悪性中皮腫診断の指標とした場合、感度は50%程度、特異度は70%以上の染色特性を有する。

GLUT-1は糖代謝に関連したマーカーで赤血球をはじめとし種々の細胞の膜に陽性となる抗体であり、悪性中皮腫では高率に陽性となり、反応性中皮では陰性のことが多い。GLUT-1陽性を悪性中皮腫診断の指標とすると、感度、特異度ともに80%以上の染色特性を有する。

CD146は細胞接着分子に対する抗体であり細胞膜、および細胞結合部位に一致して陽性像がみられる。悪性中皮腫では高率に陽性となり、反応性中皮で陰性となり、CD146陽性を悪性中皮腫診断の指標とすると、感度、特異度ともに90%以上の染色特性を有する。

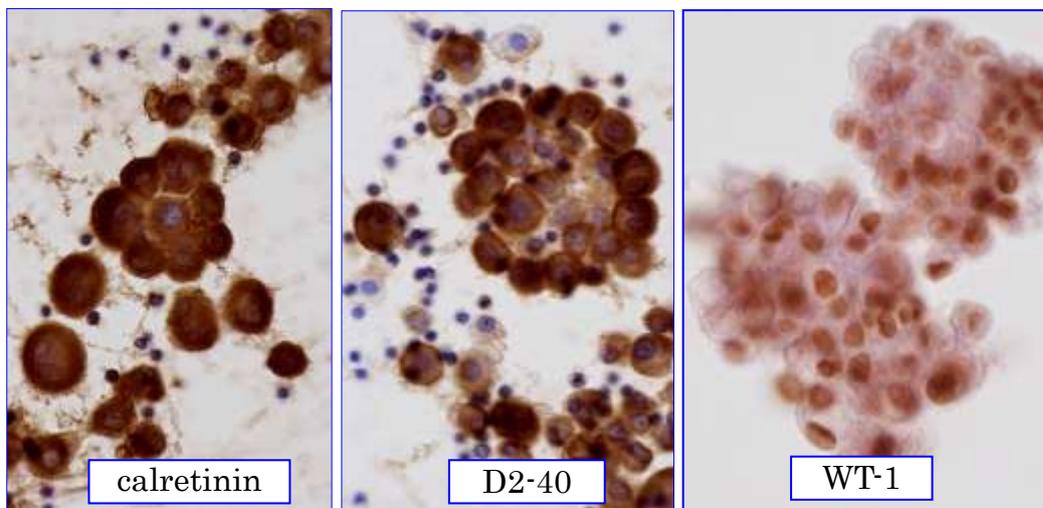


図3. 免疫染色像 使用抗体：図内に掲載 75歳 女性 胸水：悪性中皮腫
リンパ球、組織球とともに上皮様結合を有する細胞集塊が認められる。免疫染色により Calretinin、D2-40、WT-1 いずれにも陽性であり、中皮由来の細胞であることが示唆される。

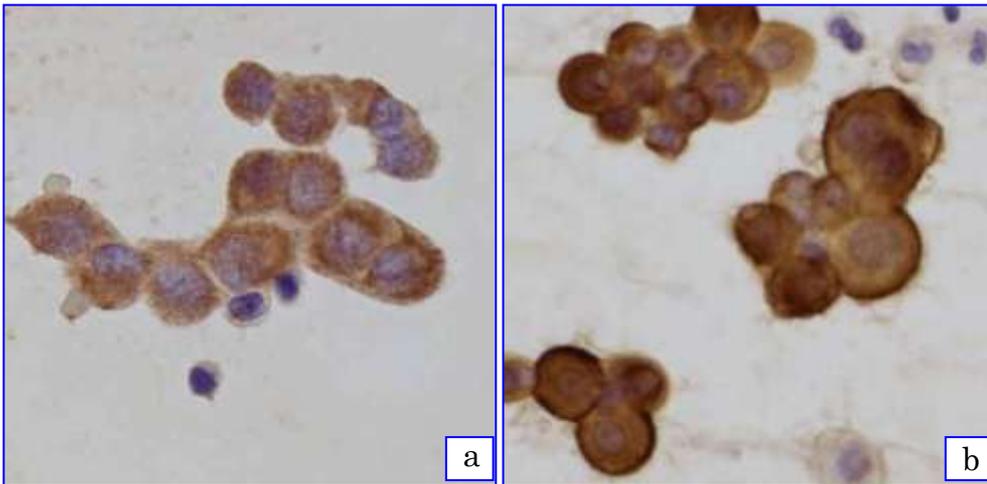


図 4. 免疫染色像 使用抗体 EMA a : 反応性中皮 b : 悪性中皮腫
 反応性中皮では EMA で細胞質に陽性であるが、膜に強調される m-EMA は陰性である。悪性中皮腫例では細胞質内に陽性、さらに膜に強調される m-EMA も陽性である。

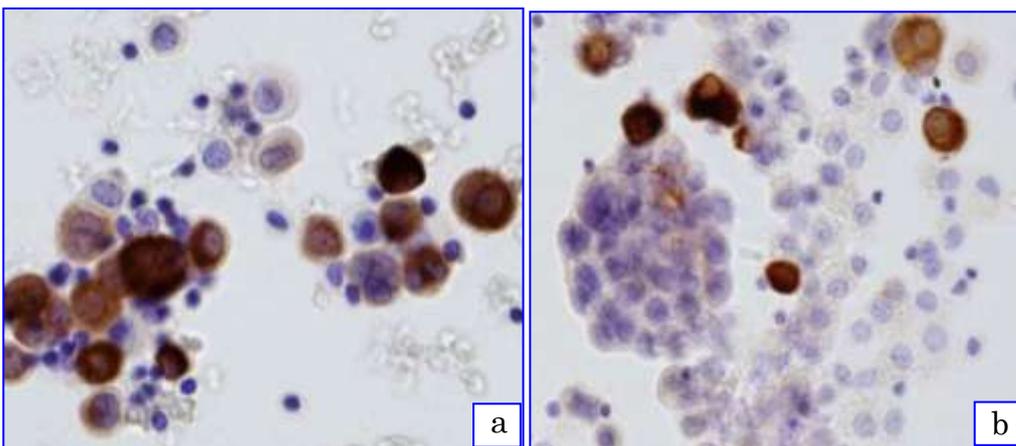


図 5. 免疫染色像 使用抗体 Desmin a : 反応性中皮 b : 悪性中皮腫
 反応性中皮で細胞質に陽性像が認められ、悪性中皮腫例では腫瘍細胞集塊は陰性であり、背景に出現する反応性中皮は陽性である。

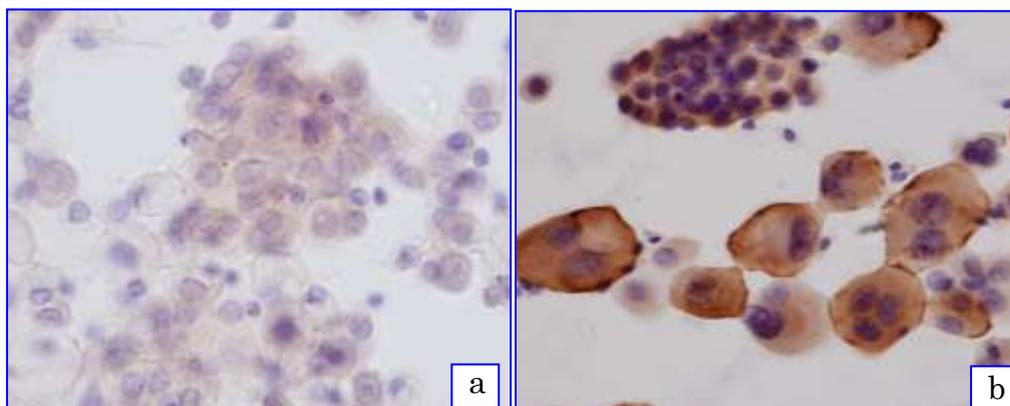


図 6. 免疫染色像 使用抗体 GLUT-1 a : 反応性中皮 b : 悪性中皮腫
 反応性中皮で細胞質、細胞膜ともに陰性、悪性中皮腫例では腫瘍細胞集塊および孤在性細胞ともに細胞質、および細胞膜ともに陽性像を認める。

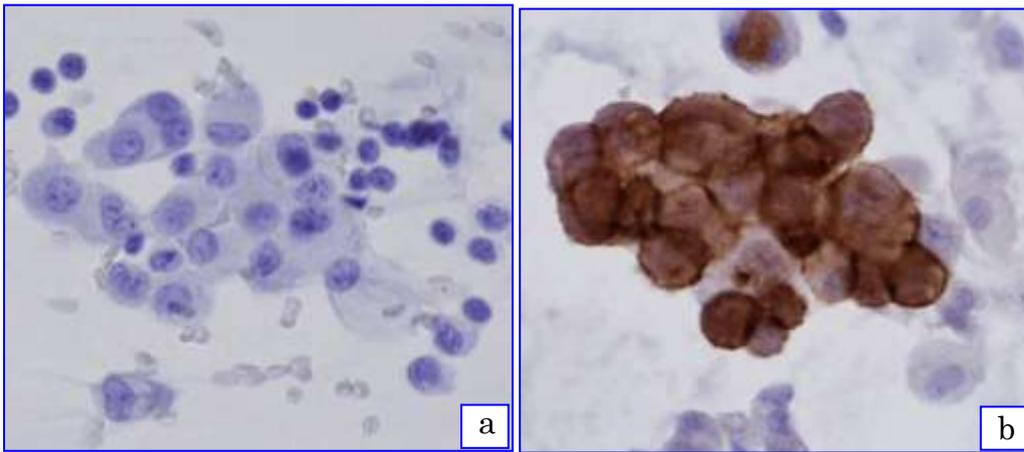


図7 免疫染色像 使用抗体 CD146 a: 反応性中皮 b: 悪性中皮腫

反応性中皮で細胞質、細胞膜ともに陰性、悪性中皮腫例では腫瘍細胞集塊の細胞質、および細胞境界部に陽性像を認める。

表2. 反応性中皮と悪性中皮腫の免疫染色による鑑別点

使用抗体	反応性中皮	悪性中皮腫
m-EMA (EMA)	- (-~±)	+ (+)
Desmin	+	-
GLUT-1	-	+
CD146	-	+

【免疫染色による細胞鑑別における注意点】

本稿は悪性中皮腫と反応性中皮の鑑別に限定したものであり、腺癌をはじめとする上皮性悪性腫瘍が否定され、中皮由来であることを前提としている。両者の鑑別に有用であった抗体には腺癌に高率に陽性となる抗体もあるので注意を要する。また、出現細胞のすべてが同様な染色結果を示すものではなく、症例により由来が同じ細胞でも陽性率が異なる点や、さらに、悪性中皮腫症例において、背景には少なからず反応性中皮が出現していることも念頭において判定することが肝要である。組織構築を加味した組織標本による免疫染色と違い、細胞診標本による免疫染色全般にいえることであるが、問題となる細胞はどのような細胞形態であるかを、パパニコロウ染色で十分に把握した上で判定することが重要である。

【結語】

悪性中皮腫と反応性中皮の細胞鑑別について免疫染色による鑑別を中心に報告した。しかしながら、この両者の鑑別に絶対的な指標となる抗体は存在しないことを念頭に置き、臨床症状はもちろん、細胞像、複数の抗体を用いた検索結果を踏まえ、総合的に判断する事が重要である。また、染色技術の向上についても、日頃より関心を持って取り組み、安定した染色結果を得ることのできる技術が担保されなければ、かえって誤診断の原因となる危険性があることも知っておきたい。

最後に、免疫染色によって裏付けられた細胞由来については、パパニコロウ染色像にフィードバックすることが重要であり、免疫染色結果による最終診断だけで終わってしまえば、細胞診断能力の向上には繋がらないことを念頭に置いておく必要がある。

引用文献

- 1) 亀井敏昭, 岡村 宏, 渋田秀美, 他: 悪性中皮腫の体腔液細胞診. 病理と臨床 2004; 22(7): 693~700
- 2) 亀井敏昭, 岡村 宏, 他: 体腔液細胞診アトラス (海老原善郎, 亀井敏昭監修). 東京, 篠原出版新社, 2007
- 3) 濱川真治, 森 一磨, 他: 悪性中皮腫症例の体腔液に出現した hump 様細胞突起を有する鑄型細胞の検討. 日臨細胞誌 2003; 42: 10~16
- 4) Hasteh F, Lin GY, Weidner N, et al.: The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. Cancer Cytopathol 2010; 118: 90~96
- 5) Kuperman M, Florence RR, Pantanowitz L, et al: Distinguishing benign from malignant mesothelial cells in effusions by GLUT-1, EMA, and Desmin expression: An evidence-based approach. Diagn Cytopathol 2013; 41: 131~140
- 6) Kato Y, Tsuta K, Seki K, et al.: Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. Mod Pathol 2007; 20: 215~217
- 7) Sato A, Torii I, Okamura T, et al.: Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. Mod Pathol 2010; 23: 1458~1466