

Endometrial glandular and stromal breakdown の免疫組織細胞化学

東京慈恵会医科大学附属病院 病院病理部¹⁾,

神戸大学大学院医学部附属病院 病理部・病理診断科²⁾

梅澤 敬¹⁾, 柳田 絵美衣²⁾

I. はじめに

子宮内膜は不整性器出血や多岐に渡る疾患に対して、直接細胞採取を行うことが可能な骨盤内臓器であり、わが国では擦過細胞診が広く用いられている。子宮内膜擦過細胞診は、過大・過小評価、診断精度、採取細胞の回収方法や標本作製法などの問題点が指摘されており¹⁻⁵⁾、診断精度を改善するための工夫や新たな診断基準が提唱されている⁶⁻¹³⁾。

細胞像は月経周期、投薬、様々な疾患に対してドラスティックに変化し、変化の過程にある細胞像を評価するといった診断上の難しさがある。特に **endometrial glandular and stromal breakdown (EGBD)** は、類内膜腺癌 (G1) との鑑別が最も重要であり、日常の細胞診で問題となる。EGBD は高エストロゲン状態による子宮内膜の出血・脱落であり、変性物と共に断片化した間質細胞凝集塊や化生細胞集塊が、3-D 状となって出現するため、細胞形態のみから類内膜腺癌 (G1) との鑑別は容易ではない¹⁴⁻¹⁹⁾。EGBD に対する過大評価は、不必要な内膜生検や過剰管理といった患者の不利益となるため、正確な診断が求められる。

悪性と誤認しやすい EGBD でみられる間質細胞凝集塊に対して、免疫細胞化学 **immunocytochemistry (ICC)** による有用性が報告されている^{6,7,15),20)}。本稿では、EGBD と類内膜腺癌 (G1) の **Liquid Based Cytology (LBC)** 検体を用い、簡便に実施することが可能な ICC を中心に解説する。

II. EGBD の細胞形態

EGBD は、核クロマチンが濃染状を呈する間質細胞凝集塊の出現が特徴であり (図 1, 2, 3)、類内膜腺癌 (G1) との鑑別が問題となる (図 3, 4)。EGBD では正常内膜や増殖症に比べ、様々な化生細胞が高頻度にみられ (図 4, 5)、EGBD を示唆する有意な指標であるとの報告がある¹⁶⁾。したがって EGBD では、間質細胞凝集塊や化生細胞集塊の断片を類内膜腺癌と誤認して、過剰評価とならないようにすることが重要なことである。EGBD における核の形態所見について、間質細胞凝集塊では腎形核、それに対して類内膜腺癌 (G1) では類円形核が特徴であると報告されている¹⁴⁾。現実的に、核クロマチンパターンや核形のみから双方の鑑別は容易ではない。

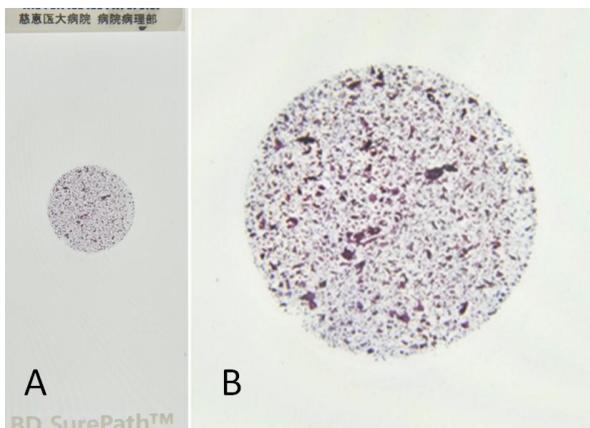


図 1 液状化細胞診標本 (シュアパス法)

A: シュアパス法による LBC では、血液を溶血・除去して、内膜細胞を選択的に回収し細胞数を増加させる (Pap stain ルーペ像)。

B: EGBD では崩壊した子宮内膜の断片が、13mm 円内に均一に塗抹されている (Pap stain ルーペ像)。

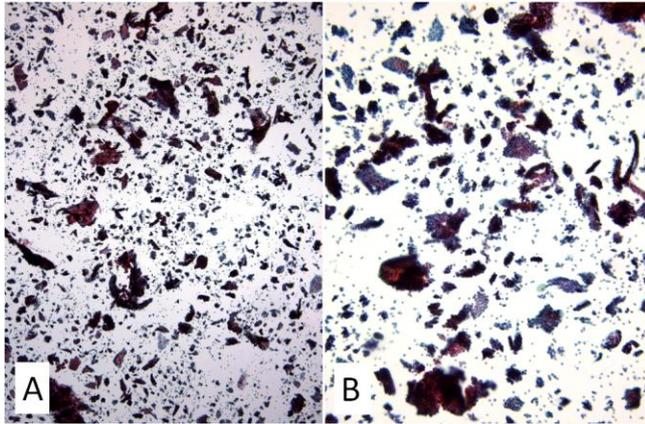


図2 Endometrial glandular and stromal breakdown (シュアパス標本)

A: バラバラとなった子宮内膜細胞成分は、大小の断片となって均一に塗抹されている (Pap stain×4).
 B: 正常の増殖期内膜と異なり、変性した上皮様細胞凝集塊の断片化が目立つ (Pap stain×10).

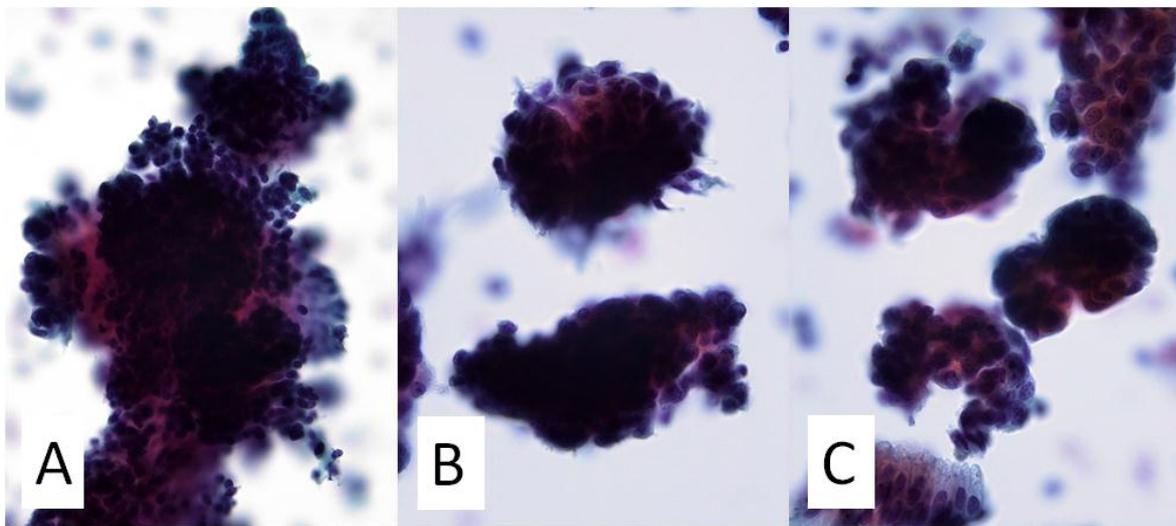


図3 Endometrial glandular and stromal breakdown (シュアパス標本)

A-C: クロマチンが増量した小型細胞が密集合し、3-Dとなった間質細胞凝集塊の断片は (Pap stain×60), 類内膜腺癌 (G1) との鑑別が必要である.

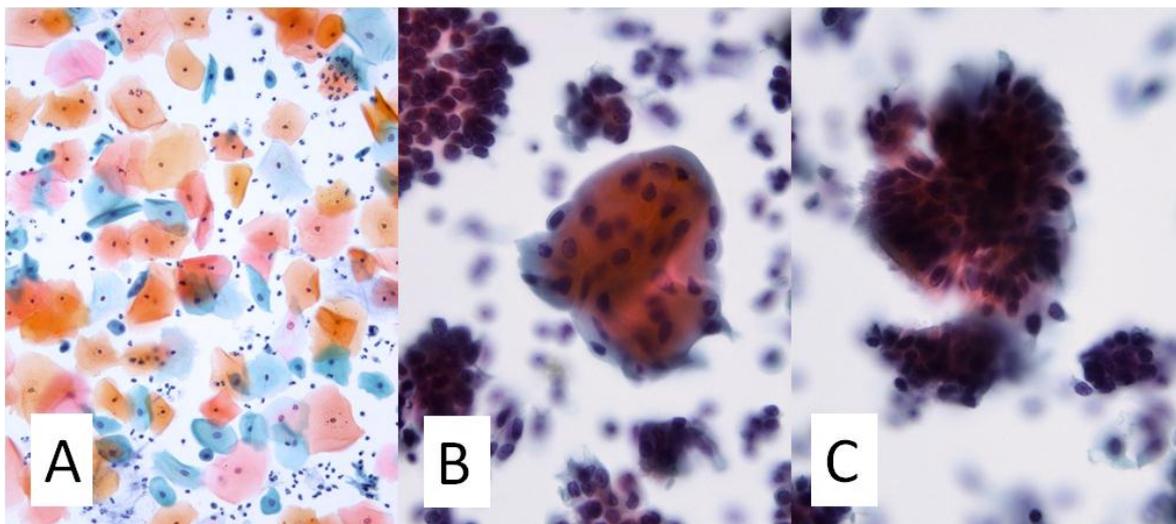


図4 Endometrial glandular and stromal breakdown (シュアパス標本)

A: 閉経後の EGBD における子宮頸部擦過細胞診では、成熟した扁平上皮細胞がみられエストロゲンの持続性が示唆される (Pap stain×20). EGBD と診断した図 4A の内膜擦過細胞診では、扁平上皮化生細胞 (B: Pap stain×60) や線毛化生細胞 (C: Pap stain×60) が混在していた.

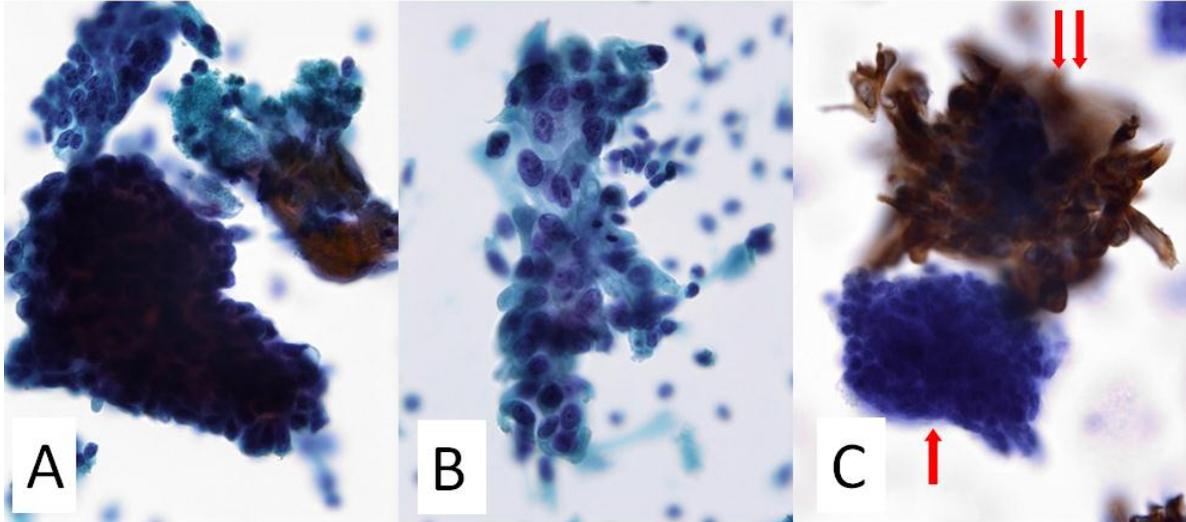


図5 Endometrial glandular and stromal breakdown

- A : バラバラとなって断片化した上皮様細胞凝集塊は、類内膜腺癌との鑑別が難しい (Pap stain×60)。
- B : 扁平上皮化生細胞 (Pap stain×60) が混在する。
- C : 良悪の評価が困難な上皮様細胞凝集塊は cytokeratin 陰性 (↑) (ICC×60) で、間質細胞凝集塊と判断され EGBD と診断される。Cytokeratin 陽性は扁平上皮化生細胞である (↓↓) (C : ICC×60)。

Ⅲ. LBC 標本を用いた免疫細胞化学

LBC を用いた細胞診では、診断に迷った症例に対して、余剰検体から標本の再作製を行い、ICC が可能であるといった利点がある。EGBD でみられる間質細胞凝集塊を類内膜腺癌 (G1) と鑑別するため、病理検査室で広く用いられている anti-cytokeratin (CAM5.2) と CD10 (56C6) を組み合わせることで、由来の認識が明確となるため診断の助けとなる。EGBD でみられる間質細胞凝集塊は cytokeratin 陰性で CD10 陽性 (図 6)、類内膜腺癌 (G1) では cytokeratin 陽性で CD10 陰性である (図 7)。

Cytokeratin と CD10 の双方の抗体とも、ホルマリン固定パラフィン包埋組織標本と同じ希釈倍率で良好な染色結果が得られ、ICC 用の希釈倍率で抗体を準備する手間がない。二次抗体にはポリマー試薬を用いた。

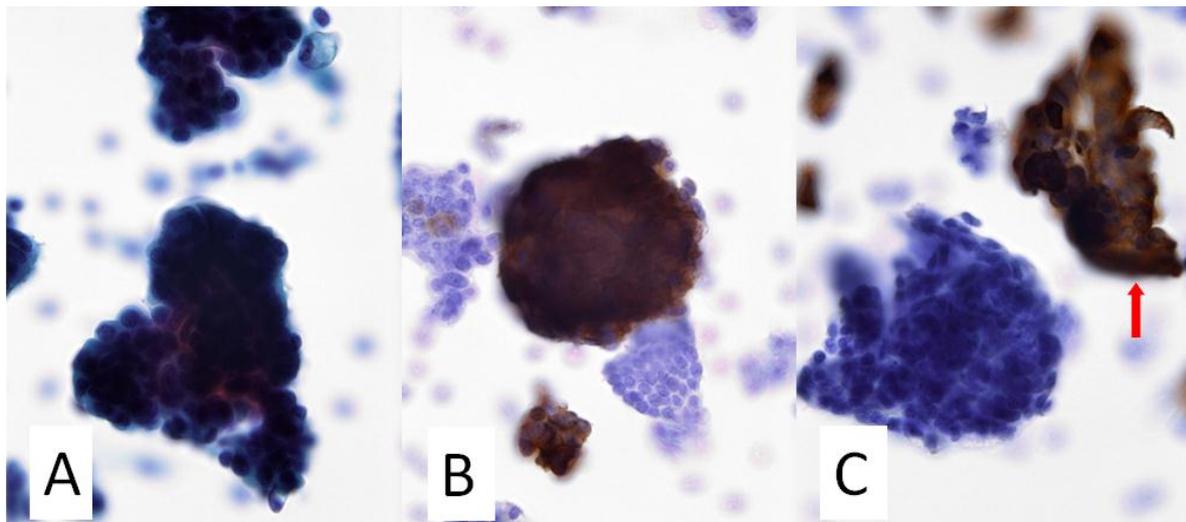


図6 Endometrial glandular and stromal breakdown

EGBD でみられる間質細胞凝集塊は、Papanicolaou 染色では (A : Pap stain×60) 良悪の鑑別が難しいが、CD10 が胞体に陽性を示し (B : ICC×60)、cytokeratin が陰性であり (C : ICC×60, ↑の陽性像は正常内膜腺細胞集塊)、EGBD と診断される。

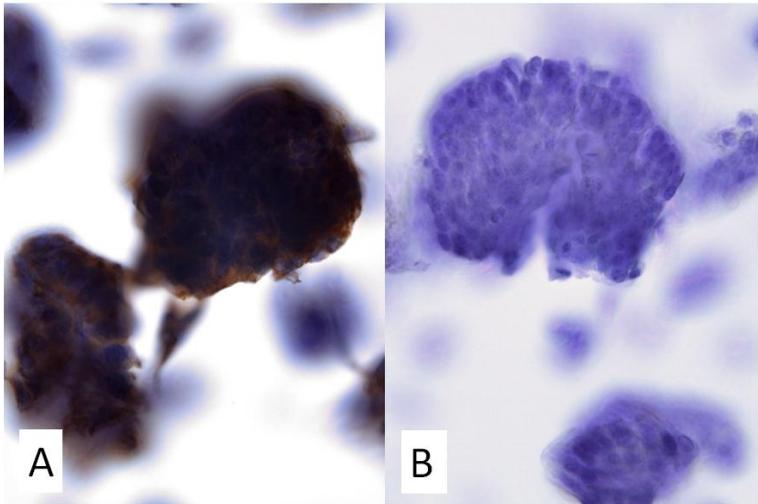


図7 Endometroid adenocarcinoma (G1)

類内膜腺癌 (G1) における上皮様細胞集塊は, cytokeratin が胞体に陽性を示し (A: ICC×60), CD10 は陰性であり (B: ICC×60), EGBD の間質細胞凝集塊と鑑別可能である.

IV. 免疫組織化学

EGBD は組織学的に, 内膜腺と間質の結合性を失って断片化し, 間質細胞が凝集し出血時の像を呈する (図8). パラフィン切片による免疫組織化学 (immunohistochemistry: IHC) では, cytokeratin 陽性の内膜腺と CD10 陽性の間質双方の断片化が明瞭に識別される. 細胞診では変性した間質が 3-D 状となるため良悪の鑑別が困難となる.

Maspin (Mammary serine protease inhibitor) は正常乳腺上皮で確認された遺伝子だが, 抗 Maspin 抗体 (EAW24) を用いた IHC では, 正常腺で陰性, 腺癌で陽性となる. 類内膜腺癌の組織標本を用いた IHC でも同様に, 腫瘍細胞が広範囲に陽性となり, 正常内膜腺は陰性である (図9).

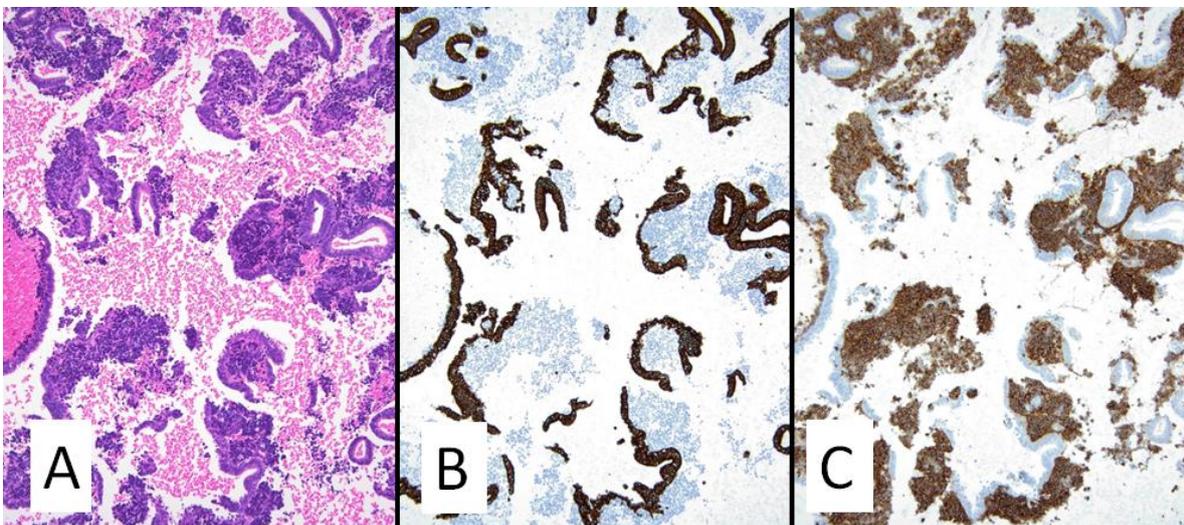


図8 子宮内膜生検 Endometrial glandular and stromal breakdown

組織学的には, 内膜腺と間質の結合性を失いバラバラに断片化し, 間質細胞が凝集し出血時の像を呈している (A: H-E stain×10). 断片化した内膜腺と間質が IHC で明瞭に識別されるが (B: cytokeratin×10, C: CD10×10), 細胞診では良悪の鑑別が問題となる.

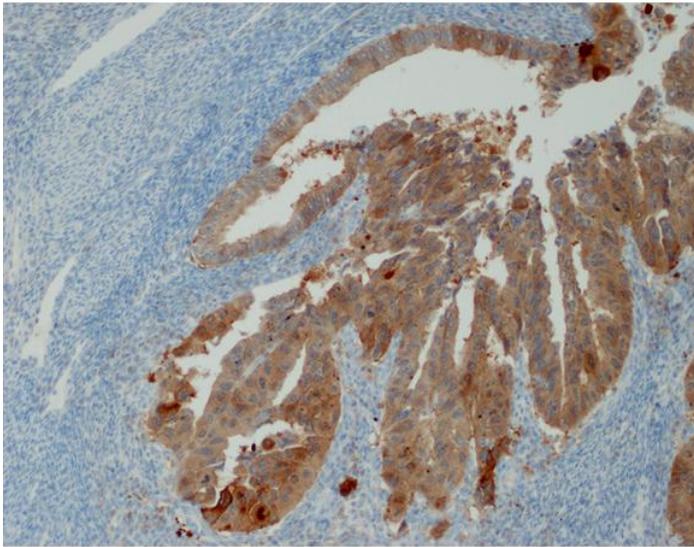


図9 Endometrioid adenocarcinoma

抗 Maspin 抗体を用いた免疫組織化学では、腫瘍細胞が広範囲に陽性となり、正常内膜腺は陰性である (×20)。

V. まとめ

子宮内膜はホルモン環境や子宮筋腫、ポリープ、癌など様々な要因により不整性器出血を起こすが、EGBDは高エストロゲン状態による子宮内膜の出血・脱落であり、その際みられる間質細胞凝集塊と、類内膜腺癌 (G1) との鑑別が日常の細胞診で問題となる。これまでの EGBD の報告をまとめると、間質の変性凝集像や化生変化が異常細胞集塊として認識され、類内膜腺癌と誤認することが指摘されている¹⁴⁻¹⁹⁾。EGBDは組織学的にも、子宮内膜の表層合胞状化生など化生を伴いやすいといった特徴があり、子宮内膜増殖症との鑑別が重要であるとされている。

LBCを用いた細胞診では、EGBDで見られる悪性と誤認しやすい内膜間質細胞集塊や化生性上皮細胞集塊に対して、ICCが実施可能であるといった利点があり、今後、診断の補助として直接塗抹法に変わって普及することが期待される。EGBDの間質細胞凝集塊はCD10陽性、cytokeratin陰性であり、類内膜腺癌 (G1) と鑑別され、残り検体を用いて簡便に実施することが可能である。

当院で導入したシュアパス法は、採取した子宮内膜を専用の保存液に全量回収し、血液を除去して内膜の断片を荷電により、強固に塗抹するといった特徴がある。塗抹された子宮内膜の断片は、過熱処理や染色過程による細胞剥離が無い²¹⁾ため、ICCに適したLBC標本である。今回ICCに用いたCD10は、加熱処理による抗原の不活化が必須であるが、塗抹細胞は剥離することなく保存され、良好な染色結果が得られた。今後、加熱処理が必要な様々な抗体を組み合わせたICCに利用でき、子宮内膜以外のLBC検体に対しても拡大するであろう。

CD10とcytokeratinの免疫組織化学標本は、EGBDと類内膜腺癌 (G1) の鑑別に利用されている。しかし、cytokeratinは正常の上皮においても胞体が陽性を示すため、CD10とcytokeratinの染色は、上皮成分であるか間質成分であるかの判断にすぎない。そのため、目的としている細胞が“癌”であるか良性上皮であるかの判別には利用出来ないといった欠点がある。EGBDとの鑑別が必要となる場合の上皮成分は悪性像であるが、正常の内膜腺上皮細胞とEGBDの識別で迷うことは多くないのかもしれない。しかし、EGBDと類内膜腺癌との鑑別において、悪性の上皮成分「癌」と良性の間質細胞の識別が可能となればより、診断の補助的手段として有用であろう。

今回用いたmaspinは、類内膜腺癌 (G1) とEGBDにおいて、類内膜腺癌 (G1) では陽性となり、EGBDでは陰性と報告されている^{23),24)}。特異性は非常に高いものの感度においては60~70%とやや低いこともあり^{23),24)}、まだまだ実用化は厳しいが、EGBDと類内膜腺癌 (G1) の鑑別診断の一助として利用可能かもしれない。

現在、様々な一次抗体が開発され、類内膜腺癌 (G1) とEGBDの鑑別についても研究され続けているため、今後、内膜擦過細胞診や組織診断における、良悪の鑑別に有用な免疫細胞組織化学的染色に期待出来る。

文献

- 1) 矢納研二, 村田哲也, 上森昭, 中村豊, 山脇孝晴, 北畠修生, 他. 過大・過小評価された子宮内膜細胞診の再評価. 日臨細胞誌 2008;47:311-316.
- 2) 小田瑞枝, 石井保吉, 大村峰夫, 石田禮載, 武田智子, 佐々木寛, 他. 内膜細胞診疑陽性の再検討. 日臨細胞誌 1998;37:670-676.
- 3) 清水恵子, 則松良明, 小椋聖子, 桜井孝規, 森谷卓也, 桜井幹己. 内膜細胞診疑陽性例の検討-構造異型を加味した新判定基準の検討-. 日臨細胞誌 2008;47:249-254.
- 4) 小田瑞枝, 石井保吉, 峰岸千佳子, 中島弘一, 大村峰夫, 佐々木寛, 他. 子宮体癌検診の現状と問題点. 日臨細胞誌 2008;47:317-323.
- 5) 上坊敏子, 佐藤輪也, 金井督之, 今井愛, 蔵本博行, 大野英治. 子宮内膜細胞診診断精度の検討. 日臨細胞誌 2000;39:381-388.
- 6) Norimatsu Y, Yanoh K, Kobayashi TK. The role of liquid-based preparation in the evaluation of endometrial cytology. Acta Cytol. 2013;57:423-435.
- 7) Norimatsu Y, Ohsaki H, Yanoh K, Kawanishi N, Kobayashi TK. Expression of immunoreactivity of nuclear findings by p53 and cyclin a in endometrial cytology: Comparison with endometrial glandular and stromal breakdown and endometrioid adenocarcinoma grade 1. Diagn Cytopathol. 2013;41:303-307.
- 8) Norimatsu Y, Kouda H, Kobayashi TK, Shimizu K, Yanoh K, Tsukayama C, Miyake Y, Ohno E. Utility of liquid-based cytology in endometrial pathology: diagnosis of endometrial carcinoma. Cytopathology. 2009 ;20:395-402.
- 9) 吉田志緒子, 楠奈々子, 石山功二, 杉山田隆男, 則松良明, 清水恵子, 他. 子宮内膜細胞診判定基準の検討. 日臨細胞誌 2008;47:227-235.
- 10) 坂本 寛文, 竹中麻紀代, 牛丸一樹, 田中卓二. 液状処理細胞診による子宮内膜の細胞像について. 日臨細胞誌 2013;52(1):8-11.
- 11) 黒川哲司, 吉田好雄, 八木原亮, 福田美佳, 河原和美, 森正樹, 他. 子宮内膜細胞診に保存液を使用した液状検体処理導入の試み. 日臨細胞誌 2005;44:1-10.
- 12) 片山楊誠, 熊谷幸江, 奥沢悦子, 須藤安史, 板橋智映子, 矢嶋信久, 他. 生食洗浄法を用いた子宮内膜細胞診の成績. 日臨細胞誌 2014 ; 53 : 1-6.
- 13) Norimatsu Y, Shigematsu Y, Sakamoto S, Ohsaki H, Yanoh K, Kawanishi N, Kobayashi TK. Nuclear characteristics of the endometrial cytology: liquid-based versus conventional preparation. Diagn Cytopathol. 2013;41:120-125.
- 14) Norimatsu Y, Shigematsu Y, Sakamoto S, Ohsaki H, Yanoh K, Kawanishi N, Kobayashi TK. Nuclear features in endometrial cytology: comparison of endometrial glandular and stromal breakdown and endometrioid adenocarcinoma grade 1. Diagn Cytopathol. 2012;40:1077-1082.
- 15) 則松良明. 無排卵周期に伴う endometrial glandular and stromal breakdown の細胞像-従来法と LBC 法の比較-. 日臨細胞誌 2013;52:77-86.
- 16) 則松良明, 清水恵子, 香田浩美, 原田美香, 梶谷博則, 森谷卓也, 他. Endometrial glandular and stromal breakdown の検討-化生の細胞学的検討-. 日臨細胞誌 2008;47:243-248.
- 17) 則松良明. 無排卵周期に伴う機能性出血の細胞像-特に endometrial glandular and stromal breakdown の細胞像について-. 日臨細胞誌 2012;51:93-104.
- 18) Shimizu K, Norimatsu Y, Kobayashi TK, Ogura S, Miyake Y, Ohno E, Sakurai T, Moriya T, Sakurai M. Endometrial glandular and stromal breakdown, part 1: cytomorphological appearance. Diagn Cytopathol. 2006 ;34:609-13.
- 19) Norimatsu Y, Kawai M, Kamimori, A, Yuminamochi, T, Ohsaki, H, Yanoh, K, et al. Endometrial Glandular and Stromal Breakdown, Part 4: Cytomorphology of "Condensed Cluster of Stromal Cells Including a Light Green Body" Diagn. Cytopathol. 2012;40:204-209.
- 20) Norimatsu Y, Yuminamochi T, Shigematsu Y, Yanoh K, Ikemoto R, Masuno H, Murakami M, Kobayashi TK. Endometrial glandular and stromal breakdown, part 3: cytomorphology of "condensed cluster of stromal cells". Diagn Cytopathol. 2009 ;37:891-896.
- 21) Norimatsu Y, Sakamoto S, Ohsaki H, Ozaki S, Yokoyama T, Shimizu K, et al. Cytologic features of the endometrial adenocarcinoma: Comparison of ThinPrep and BD surepath preparations. Diagn Cytopathol. 2013;41:673-681.
- 22) 則松良明, 坂本真吾, 大崎博之, 尾崎聡, 横山俊朗, 清水恵子. 子宮体癌での液状化検体細胞診の3方法における細胞像の比較. 医学検査 2013;62:383-390.
- 23) HANG WUN RAYMOND LI et al. Expression of maspin in endometrioid adenocarcinoma of endometrium. ONCOLOGY REPORTS 2007;17:393-398.
- 24) Shinya Murai et al. Aberrant maspin expression in human endometrial cancer. Cancer Sci. 2006;97:883-888.