

# 卵巣癌の組織型推定におけるセルブロック併用腹水細胞診の有用性

中川 雄伸<sup>\*1</sup>, 高石 清美<sup>\*1\*2</sup>, 菰原 義弘<sup>\*1</sup>, 清田 恵美<sup>\*1</sup>, 林田 唯<sup>\*1</sup>, 片淵 秀隆<sup>\*2</sup>, 竹屋 元裕<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup>熊本大学大学院医学薬学研究部・細胞病理学分野, <sup>\*2</sup>婦人科学分野

## 1. 背景

卵巣癌は自覚症状に乏しく早期発見が困難な腫瘍で、腹水を伴った進行した状態で発見されることがほとんどである。腹水細胞診は癌細胞のスクリーニングのみならず、病期決定・治療方針決定の際に重要である。上皮性卵巣癌症例の腹水細胞塗抹標本とセルブロック(CB)を併用することで組織型 [漿液性腺癌(SC)、粘液性腺癌(MC)、類内膜腺癌(EC)、明細胞腺癌(CCC)] の正診率を向上させることができると推測され、化学療法に感受性の高い症例の臨床的な治療方針決定にも貢献できると考えられる。腹水細胞塗抹標本の場合とこれに CB を併用した場合の組織型の正診率について比較検討したので報告する。

## 2. 材料と方法

### 1) 検体

インフォームドコンセントを得た上皮性卵巣癌症例の腹水 10 例 [原発巣の組織診で SC 7 例(臨床進行期分類: IIIc 期 4 例、IV 期 3 例)、MC 1 例(I c 期)、SC+EC の混合型 1 例(IIIb 期)、EC+CCC の混合型 1 例(IIIc 期)] を用いた。

### 2) 腹水細胞塗抹標本

スライドグラスに塗抹した腹水細胞を 95%エタノールで 30 分間固定後、パパニコロウ染色を行った標本を鏡検し組織型を推定した。

### 3) 腹水の CB 標本

塗抹した残りの腹水細胞を 10%中性緩衝ホルマリンで 3 時間固定し、アルギン酸ナトリウムを用いて CB を作製した。HE 染色、免疫染色、特殊染色を行った標本を鏡検し組織型を推定した。免疫染色では、Epithelial Antigen (Ber-EP4)、Epithelial-Related Antigen (MOC-31)、Carbohydrate Antigen 125 (CA125)、Wilms' Tumor 1 Protein (WT1)、Hepatocyte Nuclear Factor-1beta (HNF-1beta) について検討した。特殊染色は、ジアスターゼ消化過ヨウ素酸シッフ染色 (D-PAS) を行った。癌細胞の陽性細胞数に対してスコア化を行い、スコア 0: 0%、1: <5%、2: 5-25%、3: 26-50%、4: >50% とした。

### 4) 組織型の正診率の検討

原発巣の組織診に基づいて、腹水細胞塗抹標本の場合とこれに CB を併用した場合の組織型の正診率について比較検討した。混合型の 2 例については、どちらか一方の組織型と一致した場合も正診とした。

## 3. 結果

細胞塗抹標本の場合の正診率は 80%(8/10)で、細胞塗抹標本に CB を併用した場合の正診率は 100%(10/10)であった。細胞塗抹標本で組織型が不一致の 2 例は、癌細胞が組織型特有の細胞学的特徴を示さなかった例が 1 例(SC)、標本中に癌細胞の出現数が少なく組織型の推定が困難な例が 1 例(MC)であった。SC+EC の混合型の細胞塗抹標本では EC の細胞学的特徴を有する癌細胞だけであったが、CB の HE 染色では SC と EC の両方の特徴を有する癌細胞が観察された。EC+CCC の混合型では細胞塗抹標本、CB の HE 染色ともに CCC の細胞学的特徴を有する癌細胞だけが少数観察された。免疫染色で、SC は Ber-EP4 陽性が 7/7 (スコア 1: 1, 4: 6)、MOC-31 が 7/7 (3: 1, 4: 6)、CA125 が 7/7 (4: 7)、WT1 が 7/7 (1: 1, 3: 3, 4: 3)、HNF-1beta が 0/7 (0: 7)であった。MC に関しては Ber-EP4 が 1/1 (スコア 4: 1)、MOC-31 が 1/1 (4: 1)、CA125 が 1/1 (4: 1)、WT1 が 0/1 (0: 1)、HNF-1beta が 0/1 (0: 1)であった。SC+EC の混合型では Ber-EP4 が 1/1 (スコア 4: 1)、MOC-31 が 1/1 (4: 1)、CA125 が 1/1 (4: 1)、WT1 が 1/1 (3: 1)、HNF-1beta が 0/1 (0: 1)であった。EC+CCC の混合型では Ber-EP4 が

1/1 (スコア 4: 1)、MOC-31 が 1/1 (4: 1)、CA125 が 1/1 (4: 1)、WT1 が 0/1 (0: 1)、HNF-1beta が 0/1 (0: 1)であった。また、D-PAS で MC の細胞質が陽性(スコア 4: 1)を示し、他の組織型は陰性であった。

#### 4. 考察

細胞塗抹標本は CB と比較して迅速に診断できることが利点だが、細胞数が少ない場合や塗抹標本作製時の乾燥などに伴うアーチファクトにより、各組織型の細胞学的特徴を十分に確認することができず、組織型の推定が困難な場合がある。一方、CB はブロック作製時のアーチファクトがほとんどなく、組織のパラフィンブロックと同様に免疫染色、特殊染色などの繰返しの検索が可能な細胞標本であるため、より精度の高い診断が得られ、本研究における正診率は 100%であった。したがって、迅速診断が可能な細胞塗抹標本に精度の高い診断が得られる CB を併用することが組織型の正診率向上につながると考えられた。CB の免疫染色では、上皮性のマーカーである Ber-EP4 と MOC-31、卵巣癌の腫瘍マーカーである CA125 が癌細胞の組織型に関係なく全例で陽性を示した。Ber-EP4 と MOC-31 は中皮細胞が陰性だったため鏡検が容易であり、癌細胞の有無の確認に有用であると考えられたが、CA125 は中皮細胞が陽性を示すため鏡検には注意を要する。WT1 は SC で全例陽性(スコア 3 以上: 6/7, Photo.1)、SC+EC の混合型で陽性(スコア 3)、MC と EC+CCC の混合型は陰性で SC に特異性が高いと考えられた。HNF-1beta は CCC に極めて特異性が高いことが知られているが、本研究での EC+CCC の混合型の 1 例では陰性であった(Photo.2)。細胞塗抹標本(Photo.3)と CB では、細胞形態学的に EC は否定的で CCC の特徴を有していたが、癌細胞が少数であったため原発巣の組織についても HNF-1beta の免疫染色を行った結果、陽性細胞がスコア 1 であったことが CB での陰性の原因と推測された。また、D-PAS では MC のみ陽性を示した(Photo.4)。したがって、本研究において SC は WT1 が陽性で HNF-1beta と D-PAS が陰性、MC は D-PAS が陽性で WT1 と HNF-1beta が陰性を示すと考えられるが、EC と CCC については他の組織型との混合型であったため正確な結果が得られなかった可能性もある。さらに症例を追加し、純粋な EC と CCC についての検索が必要であると考えられた。

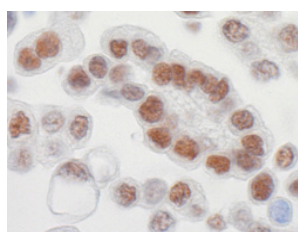


Photo. 1

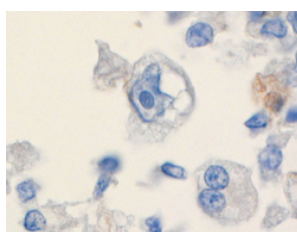


Photo. 2

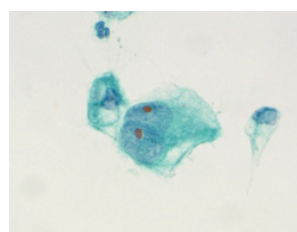


Photo. 3

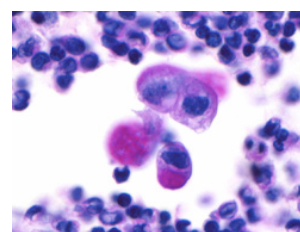


Photo. 4

#### 5. まとめ

- 1) 上皮性卵巣癌症例の腹水における組織型の正診率は、細胞塗抹標本のみの場合には 80%(8/10)、これに CB を併用した場合は 100%(10/10)であった。したがって、細胞塗抹標本と CB を併用することが組織型の正診率向上につながり、化学療法に感受性の高い症例の臨床的な治療方針決定に役立つと考えられた。
- 2) 腹水中の上皮性卵巣癌の組織型の推定には、WT1、D-PAS が有用であると考えられるが、症例数が少ないため、さらに症例を追加して HNF-1beta についても検討を行う必要があると考えられた。

#### 6. 謝辞

本研究は科研費 (21931025) の助成を受けたものである。

#### 7. 参考文献

- 1) Acs G, Pasha T, Zhang PJ. WT1 is differentially expressed in serous, endometrioid, clear cell, and mucinous carcinomas of the peritoneum, fallopian tube, ovary, and endometrium. *Int J Gynecol Pathol* 23: 110-118, 2004.
- 2) Higashiguchi A, Yamada T, Susumu N, Mori T, Suzuki A, Aoki D, Sakamoto M. Specific expression of hepatocyte nuclear factor-1beta in the ovarian clear cell adenocarcinoma and its application to cytological diagnosis. *Cancer Sci* 98: 387-391, 2007.