

肺癌の診断・治療における細胞診の有用性

宝来 威¹

要旨 —— 肺は組織診が困難な臓器で、細胞診が最終診断となる場合が多い。細胞診では治療方針を決定するための組織型の推定も可能である。呼吸器細胞診には喀痰細胞診と、気管支鏡下や X 線透視下での病巣の擦過法あるいは穿刺法があり、これらの細胞採取手技を病巣の局在にあわせて適切に選択する。細胞診の診断成績は、検体採取法、組織型、病巣の局在や進行度により異なるが、陽性率は約 90% で、組織型との一致率も高い。胸部 X 線写真無所見の中心型早期癌では喀痰細胞診が発見手段である。肺癌細胞の形態と手術予後や抗癌剤の効果との関連も研究され、あるいは分子生物学的検査の材料として細胞診検体の利用も可能であり、細胞診の臨床へのフィードバックも期待される。(肺癌. 2008;48:5-10)

索引用語 —— 肺癌, 細胞診, 中心型早期癌, 細胞判定基準, 細胞の悪性度

Effectiveness of Clinical Cytology in the Diagnosis and Treatment of Lung Cancer

Takeshi Horai¹

ABSTRACT —— Pulmonary cytology is mostly employed as the final diagnosis for lung lesions when there are technical limitations of pulmonary biopsy. Cytology makes it possible to predict the histologic type necessary for the treatment decision. Pulmonary cytology is classified into sputum cytology, brushing cytology and needle aspiration cytology of lesions by bronchoscopy or fluoroscopy. Therefore, it is important to choose the most appropriate technique according to the location of lesions. Although the accuracy of diagnosis by cytology depends on biopsy, histology, location or progression of lesions, the positive rate by cytology exceeds 90% and closely corresponds with histology. In particular, sputum cytology is effectively applied to radiologically occult early central-type cancers. The correlation of the morphology of lung cancer cells with post-operative outcome or the effects of chemotherapy has been extensively studied, and progress has been made with examinations of lung cancer cells at the molecular level. Practical feedback on the clinical applications of cytological studies is anticipated. (*JJLC*. 2008;48:5-10)

KEY WORDS —— Lung cancer, Pulmonary cytology, Early central-type cancer, Cytological criteria, Cellular finding in clinical malignancy

1. はじめに

肺癌の診断は画像診断や内視鏡機器の進歩により著しく向上したが、治療方針の決定には細胞、組織学的な診断が必要である。肺では組織診が困難なことも多く、細

胞診が最終診断となる場合が多い。^{1,2} 適切な細胞診断の手技を用いて診断成績の向上を図る必要がある。ここでは、肺癌細胞診の知識の理解と、予後の予測や治療方針の決定など臨床応用に関わる細胞診の可能性などについて述べる。

¹癌研究会有明病院呼吸器内科。

別刷請求先：宝来 威，癌研究会有明病院呼吸器内科，〒135-8550 東京都江東区有明 3-10-6。

※第 47 回日本肺癌学会総会教育講演。

¹Department of Thoracic Medical Oncology, Cancer Institute

Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research, Japan.

Reprints: Takeshi Horai, Department of Thoracic Medical Oncology, Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research, 3-10-6 Ariake, Koto-ku, Tokyo 135-8550, Japan.

© 2008 The Japan Lung Cancer Society

Table 1. Positive Rates of Pulmonary Cytology According to Methods and Histologic Types of Lung Cancer

Histology (n)	Squamous cell ca. (783)	Small cell ca. (371)	Adenoca. (1,234)	Large cell ca. (126)
Sputum cytology	81.7%	60.9%	54.5%	43.3%
Brushing under bronchoscopy	92.5%	92.2%	77.9%	78.2%
Brushing under X-ray fluoroscopy	89.6%	93.5%	73.5%	73.3%
Transcutaneous needle aspiration	96.0%	97.9%	91.5%	95.1%
Combined methods	96.7%	96.2%	89.4%	89.7%

2. 呼吸器細胞診の方法と成績

肺癌の細胞診には喀痰細胞診と、気管支鏡下や X 線透視下での病巣擦過あるいは腫瘍穿刺などの直接病巣採取細胞診がある。病巣の局在にあわせて、これらの細胞採取手法を適宜選択する。これらの方法による診断成績は、検体採取法と癌の組織型や病巣の局在や進行度により異なるが、これらの方法を適切に組み合わせることにより約 90% の診断がえられる (Table 1)。³

中心型肺癌の細胞診断には、喀痰細胞診および気管支鏡下の擦過や穿刺が行われる。喀痰細胞診は検査を反復するほど陽性率が向上するので、最低 3 日間の喀痰細胞診が必要である。^{4,5} 陽性率は肺癌の存在部位や組織型で異なり、中心型扁平上皮癌の陽性率は高い (約 75%)。胸部 X 線写真に異常がない中心型早期肺癌では、喀痰細胞診が早期発見を期待しうる唯一の手段である。一方、末梢に発生することの多い腺癌や大細胞癌では、初期では喀痰細胞診は無効である。

気管支鏡検査で可視範囲内に腫瘍を確認すれば、病巣擦過の細胞診陽性率はほぼ 100% である。粘膜に被覆された腫瘍や気管支壁外から圧排する腫瘍やリンパ節には、経気管支的穿刺吸引細胞診 (TBAC)⁶ が有用である。

末梢型肺癌の診断は、1960 年代にわが国でブラシ⁷や鋭匙⁸などの細胞採取器具が考案、開発され、メトラ氏ゾンデを通して擦過細胞診が行われた。TV ブラッシュ法⁹では原発性肺癌の診断率が 82.7% という高い成績がえられ、当時ほとんど不可能だった末梢型肺癌の術前診断が可能になった。その後、池田¹⁰により開発された flexible bronchoscope の改良開発が行われ、現在肺末梢病変の診断成績も著しく向上している。

経皮的肺穿刺法は、病巣擦過法の陰性例や肋膜直下の病巣が対象となり、特に微小結節やすりガラス陰影 (GGO) には CT ガイド下に穿刺が行われる。陽性率は病巣の大きさと相関し、末梢の 2 cm 以下の肺癌の診断率は 75~90% である。^{6,11} 合併症として気胸や血痰、まれに塞栓がある。また転移や播種などがおこるとの報告も

みられ、太い穿刺針での穿刺や頻回の穿刺は避けなければならない。

組織型の診断は、個々の細胞形態をみる細胞診と組織構築をみる組織診とで若干の違いがある。しかし、細胞型と組織診断の一致率¹¹は、扁平上皮癌 90%、腺癌 82%、小細胞癌 85%、大細胞癌約 35% で、大細胞癌以外は高率である。

3. 細胞診標本の固定と染色

細胞診での正しい診断のためには、良好な標本を作製する必要がある。呼吸器細胞診に用いるパパニコロウ染色は、ヘマトキシリンで核クロマチンを、分子量の異なる 3 種の酸性色素 (オレンジ G, エオジン, ライトグリーン) の競合性により細胞質を染め分ける。透明度が良好で、重積した細胞も観察ができ、核クロマチンの微細な構造がよく保存され、細胞質は角化の程度が 3 種の色素によって染め分けられる。

しかし、標本作製の過程で乾燥させると不良標本となり判定を誤らせる。特に、採取現場での標本作製となる病巣擦過や穿刺でえられた検体は、喀痰と異なり粘液を含まないので乾燥しやすい。採取後、速やかにスライドガラス上に塗抹し、直ちに固定液 (95% エタノール液など) に入れ、30 分以上固定する。

4. 呼吸器細胞診の成績の報告と細胞判定基準¹²

呼吸器細胞診の結果は、癌細胞の有無により陽性 (positive; 悪性腫瘍細胞を認める)、疑陽性 (suspicious; 悪性腫瘍の疑われる異型細胞あるいは良性悪性の境界病変に由来する異型細胞を認める)、陰性 (negative; 悪性腫瘍あるいは良性悪性の境界病変に由来する異型細胞を認めない) の 3 つの区分によって判定し、パパニコロウの class 分類は用いない。また、標本上に組織球が認められない場合は、唾液や鼻汁であり、判定不能材料 (insufficient material) として取り扱う。

肺癌集検での喀痰細胞診の判定は、被検者への指示および集計の簡易化を目的として ABCDE 判定区分が作


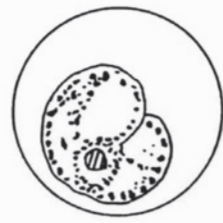
	“malignancy-high cell”	“malignancy-low cell”
Size of nucleus	large; N/C is increased	small; N/C is slightly increased
Shape of nucleus	round and oval; smooth border	irregular; nuclear folding
Chromatin	tightly compact; evenly distributed	sparse granular; unevenly distributed
Nucleolus	several; large in size	solitary round; small in size
		

Figure 1. Cellular findings of adenocarcinoma cells in relation to post-operative prognosis. “Malignancy-high cell”, which appeared more often in the early recurrent group, was characterized by a large nucleus with tightly compact chromatin and large nucleolus. “Malignancy-low cell”, which appeared more often in the long survival group, was characterized by small nucleus with sparse chromatin unevenly distributed.

成された。集団検診における喀痰細胞診のねらいは中心型早期扁平上皮癌の発見であるが、早期癌由来の扁平上皮癌細胞と、非癌呼吸器疾患に由来する異型扁平上皮化生あるいは異形成上皮などの異型細胞との鑑別は、しばしば困難なことがあり、この判定基準では異型扁平上皮細胞の判定区分が重視されている。異型扁平上皮細胞は異型の程度により軽度異型（集検判定区分 B）、中等度異型（集検判定区分 C）、高度（境界）異型（集検判定区分 D）と区分し、それぞれ精検方法の指示が定められている。

中心型早期肺癌では、喀痰細胞診の陽性率は高い⁵が、標本上に出現する癌細胞は進行癌に比して数が少なく、異型性に乏しい⁴ので、検診では習熟した細胞診指導医と細胞検査士が検鏡することが望ましいとされている。

5. 細胞像からみた肺癌の悪性度

肺癌の悪性度については古くから興味を持たれ、病理組織学分野で追究されてきた。しかし、術後や剖検時の組織像ではなく、治療前にえられる細胞診の癌細胞の所見で、臨床予後を推測できれば、治療方針の決定などにも示唆がえられる。

筆者は治療切除ができた早期の高分化腺癌で、手術後と細胞形態学的所見の相関を検討し、早期再発群に多く出現する癌細胞は長期生存の予後良好群の細胞に比

べ、核が大きく、N/Cが高く、円形でクロマチン増量のみられる核、大きな核小体などを認め、これらを悪性度の高い細胞とした（Figure 1）。^{13,14} また、I期肺腺癌切除例においては、細胞診での micropapillary cluster が予後因子となることがわかってきた（Figure 2）。¹⁵

また小細胞癌の細胞形態と化学療法の効果を検討し、クロマチンパターンが化学療法の効果の予測に役立つこと明らかにした（Figure 3）。¹⁶

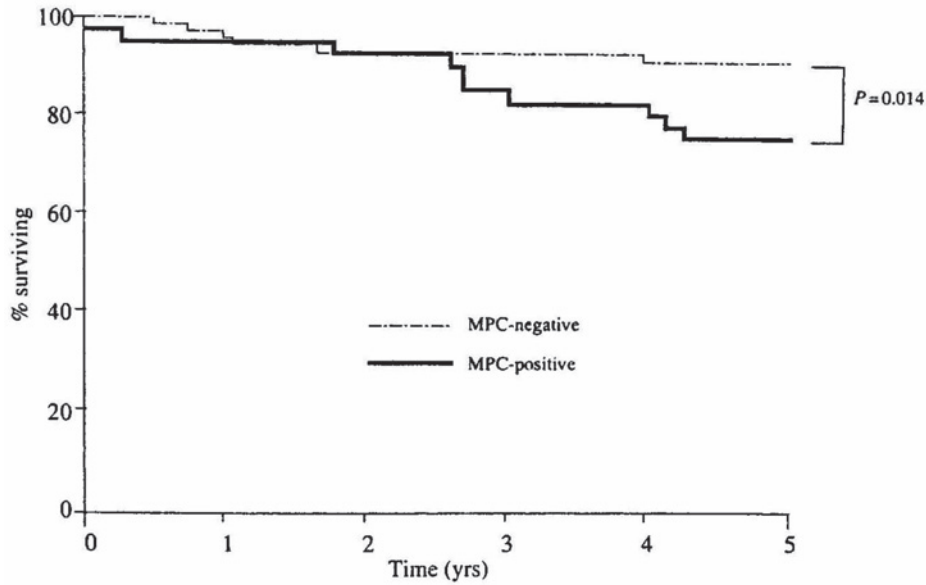
他にも画像処理装置を用いての核の大きさの計測、フローサイトメトリーでの核 DNA 量測定、AgNOR や免疫組織染色による腫瘍マーカーや癌遺伝子などの検索で、細胞の悪性度と治療効果や手術予後との関連についての検討がなされている。

6. 肺癌における分子生物学的アプローチ

近年、肺癌の細胞を対象として免疫細胞染色、FISH 法により各種のマーカーや遺伝子異常を検出する分子生物学的アプローチが試みられている。

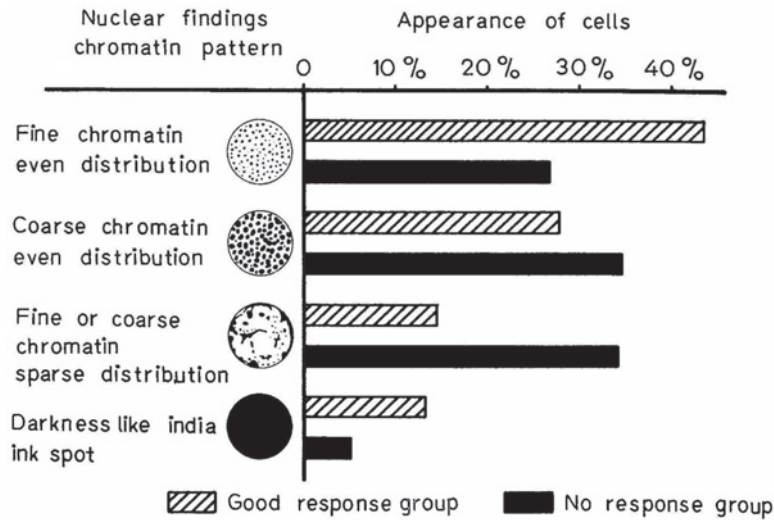
1) 免疫細胞染色

免疫細胞化学は、肺癌の組織型の診断や鑑別診断に、また細胞増殖マーカーを用いての癌の増殖能の判定、癌遺伝子および癌抑制遺伝子産物の発現、浸潤転移に関わる予後推定因子の検索などの生物学的悪性度の検討にも応用されている。¹⁷



(Hoshi R, et al. Cancer. 2004;102:81-86.)

Figure 2. Survival of patients who had pathologic Stage I adenocarcinoma of the lung according to the presence of micropapillary clusters (MPC). Note that patients in the MPC-positive group had a significantly poorer prognosis.

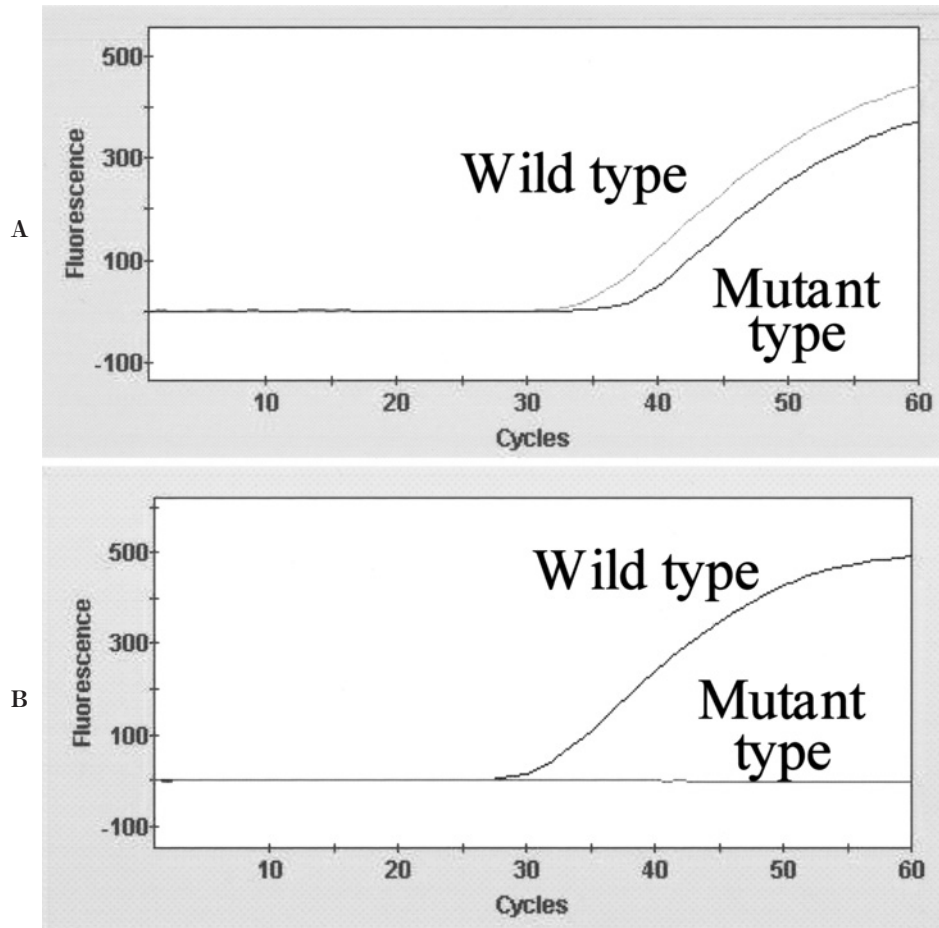


(Horai T, et al. Cancer. 1981;47:22-26.)

Figure 3. Cytomorphological studies on the correlation with better survival of small cell carcinoma patients. Tumor cells in the “good response group” to chemotherapy more frequently showed a finely granular chromatin pattern, and tumor cells in the “no response group” predominantly showed a deeply stained coarse chromatin pattern.

細胞診では連続切片がえられる組織標本と異なり、検体数、特に穿刺材料には制限がある。染色法¹⁸は組織切片と同様であるが、過染になりやすい染色標本の判定にあ

たっては、常に偽陰性、偽陽性を考慮する。また、細胞診では組織診のようなコントロールがなく、目的の細胞が正しく染色されているか否かが判断しにくい。使用し



(Horiike A, et al. Chest. 2007;131:1628-1634.)

Figure 4. Curves for exon 21 using the Scorpion-ARMS method in the DNA from tumor cells of non-small cell lung cancer patients obtained by transbronchial needle aspiration. **A:** Curves for both wild-type and mutant-type with respect to EGFR. **B:** Only one curve indicating the presence of wild-type with respect to EGFR.

たマーカーの特性や、細胞診での染色パターンを認識して正しい評価をする。免疫細胞化学は形態学に客観的な要素を導入したが、その応用や結果の解釈には豊富な免疫細胞化学の知識と経験とが必要である。

2) FISH 法

FISH 法^{19,20}は特異 DNA プローブを用いて染色体を解析する方法で、十分な検出感度を備えた細胞化学的な方法である。FISH 法では、遺伝子の位置の異常(転座など)やコピー数の異常(欠失や増幅)などの遺伝子の変化を細胞ごとに正確に確認できる点で、臨床での悪性腫瘍の診断に有用なものになると思われる。

3) 遺伝子変異の検索

癌細胞の遺伝子と抗癌剤に対する薬剤感受性との関係が報告されている。抗癌化学療法が対象となる手術不能症例では組織診がなく、細胞診が最終診断になることも

多い。細胞診材料で遺伝子を検索し、薬剤感受性を予知することが可能になると、癌化学療法における薬剤の選択、治療方針など臨床において大いに貢献すると考えられる。

分子標的薬剤 EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (gefitinib) ではその感受性を既定する遺伝子異常が明らかにされ、EGFR 遺伝子変異と gefitinib の効果との相関性が示されている。Horiike ら²¹は経気管支鏡下穿刺吸引細胞診検体での遺伝子解析を試み、PCR により EGFR 遺伝子を増幅し、Direct sequence 法、Scorpion-ARMS 法にて行い、EGFR 遺伝子変異の検出を可能にした (Figure 4)。

7. おわりに

本稿は第 47 回日本肺癌学会総会教育講演の概説であり、本学会肺癌細胞判定基準改訂委員会がより多くの呼

吸器科医に細胞診を普及させようと企画したものである。

呼吸器細胞診の基礎的な知識や現状と、臨床への応用の可能性を述べた。細胞診が肺癌の診断分野のみならず治療のモニターとなり、優れた治療成績がえられることを期待するとともに、肺癌診療に携わる多くの方が画像診断と同じように、日常臨床において細胞診にも馴染んでもらいたい。

REFERENCES

1. Travis WD, Linder J, Mackay B. Classification, Histology, Cytology, and Electron Microscopy. In: Pass HI, Michell JB, Johnson DH, et al, eds. *Lung Cancer: Principles and Practice*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2000:453-495.
2. 宝来 威. 細胞診と生検診. 井村裕夫, 他, 編集. 最新内科学体系 63—肺癌, 呼吸器腫瘍. 東京: 中山書店; 1994: 53-63.
3. 宝来 威. 細胞診と生検. 福岡正博, 西條長宏, 編集. 肺癌. 東京: 南江堂; 2003:45-52.
4. 加藤治文, 宝来 威. 発見方法. 早田義博, 監修. 早期肺癌—内視鏡所見を中心に. 東京: 金原出版; 1989:19-31.
5. 宝来 威. 喀痰細胞診—いかに有効に行うか—. *Medical Practice*. 1989;6:155-157.
6. 加藤治文. 肺癌の検査法. 加藤治文, 編集. 肺癌細胞診断—形態とその臨床. 東京: ベクトル・コア; 1989:10-17.
7. Hattori S, Matsuda M, Sugiyama T, Matsuda H. Cytologic diagnosis of early lung cancer: Brushing method under X-ray television fluoroscopy. *Dis Chest*. 1964;45:129-142.
8. Tsuboi E, Ikeda S, Tajima M, Shimosato Y, Ishikawa S. Transbronchial biopsy smear for diagnosis of peripheral pulmonary carcinomas. *Cancer*. 1967;20:687-698.
9. Hattori S, Matsuda M, Nishihara H, Horai T. Early diagnosis of small peripheral lung cancer—Cytologic diagnosis of very fresh cancer cells obtained by the TV-brushing technique. *Acta Cytol*. 1971;15:460-467.
10. 池田茂人. Flexible 気管支ファイバースコープ. 日本気管食道科学会会報. 1968;19:54-63.
11. 宝来 威. 細胞診断. 宝来 威, 土井 修, 松田 実, 監修. 肺癌の診断と治療. 大阪: 医薬ジャーナル社; 1996: 52-59.
12. 3. 細胞診. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌取扱い規約. 改訂第6版. 東京: 金原出版; 2003:47-82.
13. 南雲サチ子, 宝来 威, 松田 実, 建石竜平. 肺腺癌細胞の悪性度—腺癌細胞の細胞形態と手術予後—. 日本臨床細胞学会誌. 1983;22:761-768.
14. 宝来 威. 細胞像からみた肺癌の悪性度. 田嶋基男, 他, 編集. 臨床細胞学. 名古屋: 名古屋大学出版会; 1993:309-311.
15. Hoshi R, Tsuzuku M, Horai T, Ishikawa Y, Satoh Y. Micropapillary clusters in early-stage lung adenocarcinomas: a distinct cytologic sign of significantly poor prognosis. *Cancer*. 2004;102:81-86.
16. Horai T, Sone H, Takenaga A, Ikegami H, Matsuda M, Hattori S. Cytologic characteristics of oat-cell carcinoma of the lung in relation to the effect of chemotherapy. *Cancer*. 1981;47:22-26.
17. 東山聖彦, 土井 修, 宝来 威. 肺癌の悪性度診断—特に肺腺癌の予後因子について. 日本胸部臨床. 1994;53:S112-119.
18. 細胞診と酵素抗体法. 長村義之, 編集. 東京: 武藤化学株式会社; 1997.
19. 臨床 FISH プロトコール—目で見る染色体. 遺伝子診断法. 稲澤譲治, 編集. 阿部達生, 監修. 東京: 秀潤社; 1997.
20. 遠藤雄一, 中川原寛一. FISH 法の技術と臨床応用. 最新医学 (臨床遺伝子学). 1997;52:2233-2240.
21. Horiike A, Kimura H, Nishio K, Ohyanagi F, Satoh Y, Okumura S, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutation in transbronchial needle aspirates of non-small cell lung cancer. *Chest*. 2007;131:1628-1634.