

琉球大学学術リポジトリ

[症例報告]腹水中に出現した皮膚原発悪性黒色腫一症例の細胞学的検討：特に細胞像を中心に

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2010-07-02 キーワード (Ja): キーワード (En): malignant melanoma, cytology, immunocytochemical stain, electron microscopy 作成者: 豊田, 善成, 仲宗根, 克, 大城, 朝光, 喜友名, 正也, Sadi, AlMuktafi, Hye, MdAbdul, 鏡平名, 光三, 戸田, 隆義, 山根, 誠久, 砂川, 涼子, Toyoda, Zensei, Nakasone, Katsu, Oshiro, Choko, Kiyuna, Masaya, Sadi, AlMuktafi, Hye, MdAbdul, Yohena, Kozou, Toda, Takayoshi, Yamane, Nobuhisa, Sunagawa, Ryoko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016001

腹水中に出現した皮膚原発悪性黒色腫一症例の細胞学的検討 —特に細胞像を中心に—

豊田善成、仲宗根克、大城朝光、喜友名正也、Al Muktafi Sadi
Md Abdul Hye、饒平名光三、戸田隆義、山根誠久、砂川涼子*

琉球大学医学部附属病院検査部

*琉球大学医学部皮膚科学講座

(1996年8月6日受付、1996年11月18日受理)

Malignant melanoma diagnosed by ascitic fluid cytology : A case report

Zensei Toyoda, Katsu Nakasone, Choko Oshiro, Masaya Kiyuna,
Al Muktafi Sadi, Md Abdul Hye, Kozou Yohena, Takayoshi Toda,
Nobuhisa Yamane and Ryoko Sunagawa*

Department of Laboratory Medicine, and

*Department of Dermatology, University of the Ryukyus

ABSTRACT

Cytological examinations of the ascitic fluid taken from the patient of malignant melanoma were reported. A 52-year-old woman had a skin tumor in her right sole. The tumor was diagnosed as malignant melanoma by biopsy at a private hospital in March 1988. In October 1988, the patient transferred to the Department of Dermatology, University of the Ryukyus Hospital, where she was undergone radical excision of right sole followed by chemotherapy (Dacarvazin, Adriamycin and vincristin) and interferon therapy. Histological diagnosis of the tumor was a malignant melanoma acral lentiginous type. In February 1995, ascitic effusion was noted, and yellowish fluid was collected by tapping. Round shaped tumor cells containing irregular nuclei with prominent nucleoli were observed by Papanicolaou-stain and suggested the recurrence of malignant melanoma. The cytoplasm of the cells contained abundant fine granular melanin pigments. Intranuclear vacuolations were also observed in several tumor cells. Immunocytochemically the tumor cells were positive for both S-100 protein and neuron-specific-enolase (NSE) staining. Electron microscopic examination showed irregular shaped nuclei with prominent nucleoli and melanosomes in the cytoplasm. We suggest that immunocytochemical staining and electron microscopic examination of the ascitic fluid may be useful for diagnosis of malignant melanoma cytology. *Ryukyu Med. J.*, 16(3)143~146, 1996

Key words: malignant melanoma, cytology, immunocytochemical stain, electron microscopy

はじめに

胸水、腹水に出現する腫瘍細胞はその多くが腺癌細胞であるが¹⁾、ときに非上皮性悪性細胞や扁平上皮系の腫瘍細胞をみることがある。臓器別にそれら腫瘍細胞の出現率に違いはあるが、なかでも皮膚原発の悪性細胞が漿膜播種をおこし、胸水、腹水中に出現することは比較的稀である。

今回、著者らは腹水中に出現した皮膚原発悪性黒色腫(Malignant melanoma, 以下MMと略す)の一症例を経験したので、Papanicolaou染色に加え、免疫染色、電子顕微鏡、その他の特殊染色を施行し、その細胞診の有用性と細胞像を検討したので文献的考察を加えて報告する。

症 例

患者：52才、女性

主 訴：腹水貯留

家族歴：夫、糖尿病 伯母、子宮癌

既往歴：1987年高血圧、1988年9月子宮筋腫指摘された。

現病歴：1988年、3月右足底部に10mm×7mm大の黒褐色斑の腫瘍を自覚した。近医にて同部の切除を受け、組織診の結果、悪性黒色腫と診断され、同年10月治療の為、当院皮膚科入院となった。同年12月植皮部辺縁より遠位、内側、外側方向4cm、近位部9cm離し、深さは近位部より筋膜直上までの拡大切除術と右鼠径部リンパ節廓清を受け、化学療

法 (Dacarbazin, Adriamycin, Vincristin) とインターフェロンの免疫療法が施行された。1990年12月、右大腿部内側皮膚に点状の黒褐色斑が出現して、徐々に増大し、直径1mm×3mm大の黒色小丘疹となった。同部位の生検が行われ、組織学的に悪性黒色腫再発と診断され、1991年5月再発部の拡大切除と分層植皮術が行われ、化学療法が追加された。1994年8月、CT検査にて腹部リンパ節の転移がみられ、12月に入り感冒様症状が出現し、嘔吐、腹痛が持続するようになった。1995年2月には腹腔内リンパ節腫脹が多数認められた。この頃より黄色調の胸水、腹水が貯留しはじめ、腹水細胞診検査において、悪性細胞が多数認められ、悪性黒色腫の漿膜播種と診断された。腹腔内にアルファインターフェロンを注入するも著明な効果は得られず、同年5月永眠した。

入院時現症：身長147cm、体重73kg、栄養状態はやや肥満、四肢に軽い浮腫が認められた。表在リンパ節は触知せず、理学的検査において胸腹部に特別な所見は認められなかった。

皮膚病理組織所見

再発部位の右大腿部腫瘍組織は真皮表層から下層にかけて、メラニン顆粒を含む悪性黒色腫細胞が胞巣状をなして増殖していた。個々の細胞は多角型、ないしは紡錘状を呈し、核小体の明らかな細胞が散見された (Fig.1)。

細胞形態学的所見

採取された腹水を1500rpmにて5分間遠心した沈殿物をスライドグラスに塗抹し、95%アルコールによる湿固定を行い、以下の染色を行って、形態学的特徴像を観察した。

I. Papanicolaou 染色

比較的 clear な背景に核小体の著明な異型細胞が孤立散在性に多数認められた (Fig.2)。核型は全体に類円形状で増大しているが、核細胞質比はさほど大きくなく、細胞質は豊富であった。個々の細胞は大小不同が目立ち、胞体はレース状で、2~3個の核をもつ大型の多核細胞も散在性にみとめられた。また、数個の核内には大型の封入体が散見され、胞体内には黄褐色細顆粒状のメラニン顆粒をもつものが観察された (Fig.3)。

II. 鉄染色

組織球が貪食したヘモジデリン顆粒とメラニン顆粒を鑑別

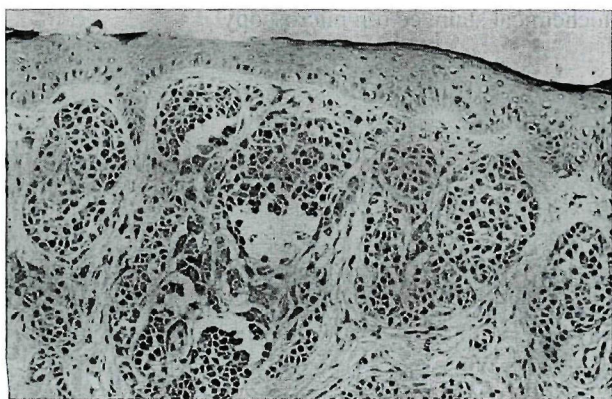


Fig.1 Histological specimen of the right thigh showing nests of melanoma cells in the upper dermis. The malignant cells are polygonal or spindle shaped (HE, ×100).

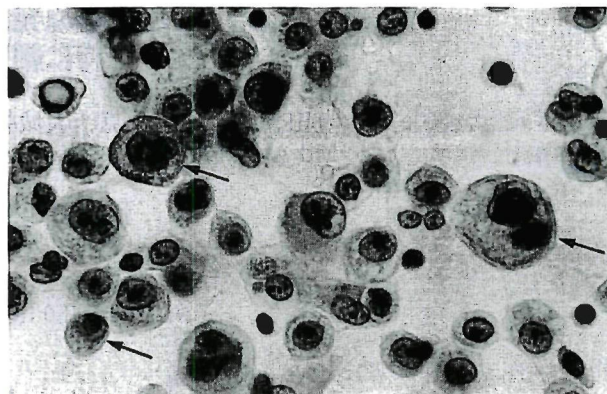


Fig.2 Isolated malignant cells of various sizes are seen in clear background. These cells contain intracellular brown granules (arrow) (Pap stain, ×200).

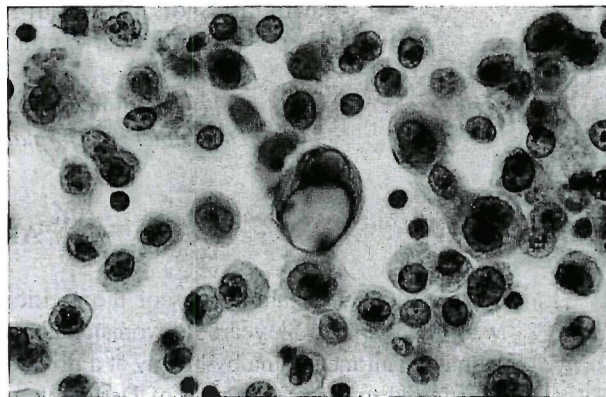


Fig.3 Malignant cells with large vacuolar inclusion in the nucleus. There are multi nucleated malignant cells with enlarged nucleoli and histiocyte-like cells with lacy cytoplasm (Pap stain, ×200).

する目的で鉄染色を施したが陰性であった。

III. 漂白法

Papanicolaou 染色標本を3%過酸化水素溶液に2時間ひたした後、顆粒の脱色の有無を鏡検した。原形質中の瀰漫性に見られた黄褐色調のメラニン顆粒は脱色されており、メラニン顆粒陽性と判定された (Fig.4)。

IV. Fontanamasson 染色

メラニン染色法である Fontanamasson 染色では黒褐色調の陽性顆粒を含む細胞が散在性にみとめられた (Fig.5)。

V. 免疫染色

塗抹標本を95%アルコールで固定した後、S-100蛋白、Neuron-specific-enolase (NSE)、および lysozyme を Labeld Streptavidin-biotin 法にて免疫染色した。S-100蛋白、NSE は陽性 (Fig.5)、lysozyme は陰性であった。

VI. 透過電子顕微鏡 (日本電子: JEM-2000EX II) 所見

腹水を1500rpmにて5分間遠心し、沈殿物をホルマリン固定して作成したセルブロックから電子顕微鏡 (以下電顕と略す) 試料を作成した。すなわちパラフィン包埋されたセルブロックを鋭利な刃物で1mm四方大に切り取り、熔融パラフィン (60℃) に浸漬させて試料片内と周囲のパラフィンを溶かした。つづいてキシロール、アルコールの順に浸水を行い、以下常法の電顕試料操作から観察した。核型は不整で核小体は比較的大型の所見を示し、細胞質辺縁にはメラノゾームが大小の顆粒をなしてみとめられた (Fig.6)。

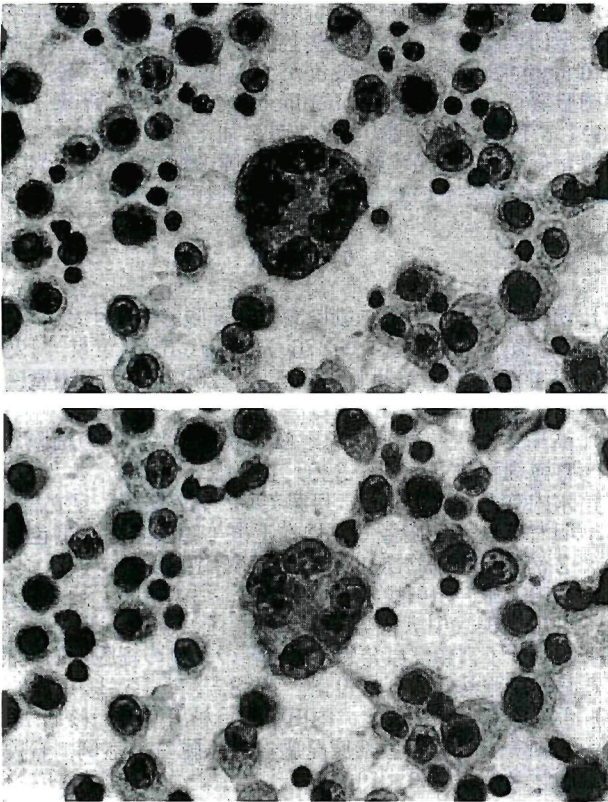


Fig.4 Decoloration by hydrogen peroxidase method. Top: Cells in pre-decoloration specimen containing intracellular brown granules. Bottom: Post-decoloration specimen showing intranuclear brown granules (Pap stain, ×200).

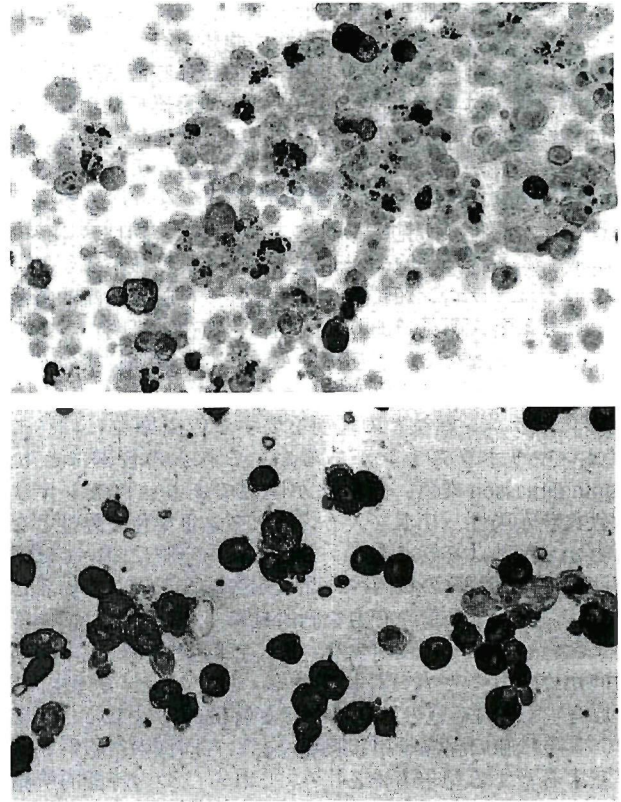


Fig.5 Tumor cells showing positive reaction for Fontanamasson staining (top) and S-100 protein was positive immunocytochemically (bottom) (×200).

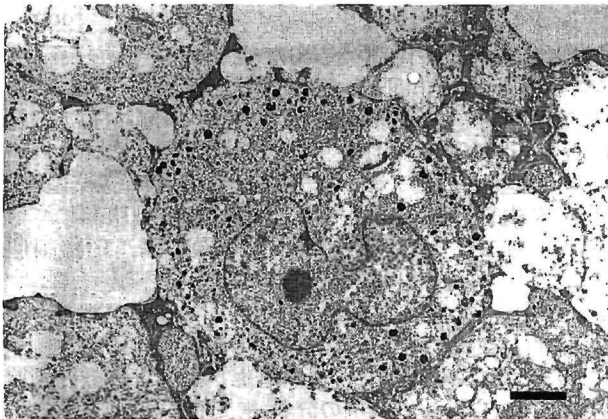


Fig.6 Electron microphotograph of the ascitic tumor cell showing various size of melanosomes in cytoplasm (Bar = 2µm).

考 察

皮膚原発のMMは神経櫛由来のメラノサイトないし母斑細胞が悪性化したものとされており²⁾、臨床的には血行転移を起こしやすく、予後はきわめて不良とされている。この為、MMの診断にあたっては生検、穿刺組織診などでより慎重な取り扱いを要するとされ、組織侵襲の少ない細胞診の利用もすすめられている。体腔液細胞診は生検が不可能な部位でも診断が可能という利点があり、材料採集の容易な細胞診は癌の診断にきわめて重要であるが、一般的に体腔液細胞診の

主目的は悪性細胞の検出であり、体腔液に悪性細胞が認められることは一般に播種を意味する進行癌である。近年、癌性胸膜炎に対する化学療法や免疫療法が普及し、治療後の悪性細胞の細胞変化、細胞の有無など治療効果や予後判定に大いに利用されている。反面、細胞診検査として検体が得られる機会が少なく、その経験も限られているが、最近では再発転移巣部の検体が得られる機会が徐々に増え、尿や脳脊髄液において報告がみられるようになってきた³⁻¹⁰⁾。一般的に体腔液中にみられる悪性腫瘍は大きく原発性腫瘍と転移性腫瘍にわけられるが、その多くは腺癌細胞などの転移性腫瘍である。腹腔内に転移する上皮性悪性腫瘍として最も多いものは胃癌、卵巣癌、大腸癌、膵臓癌、胆嚢癌、子宮癌、肝細胞癌の順とされており¹¹⁾、本症例のように皮膚原発の腫瘍が腹腔内に転移することは比較的稀である。MMは臨床像および予後などの臨床病理型から、本症例のような末梢黒子型 (acral lentiginous melanoma)、表在型 (superficial spreading melanoma)、結節型 (nodular malignant melanoma)、悪性黒子由来型 (lentigo maligna melanoma) の4型に分類されているが、山田ら¹²⁾は組織像から類上皮型 (epithelioid type)、髄様型 (medullary type)、紡錘型 (spindle type) に大別しており、細胞学的には円形細胞型 (round cell type)、多形性細胞型 (pleomorphic cell type)、線維様細胞型 (fibrous cell type) に分類し、さらに円形細胞型は大型と小型に分けている。大型は広い細胞質と偏在核を有し、腺型細胞に類似するが、小型は未分化細網肉腫型である。多形細胞型は大小不同が著明で、巨大細胞、多核細胞、類上皮性配列や細胞相互封入もみられ、この細胞は横紋筋肉腫と類似してい

る。また、線維細胞型は紡錘形を呈し、神経鞘腫と類似している。本症例は大多数が類円形状の胞体を有しており、細胞学的には円形型と考えられた。一般的に体腔液細胞診における細胞の判定はすでに述べられている他臓器で見られるものと同様な基準が用いられているが¹³⁾、液状検体の特殊性からいくぶん変性加わることを考慮した見方が大切である。緒家の報告にはMMの診断基準がいくつかみられるが、一般的に共通する特徴所見は①細胞質内メラニン顆粒、②核内空胞形成、③多核巨細胞、④菲薄核膜、⑤大型核小体があげられている。メラニン顆粒の存在は悪性黒色腫の診断的特徴として最も重要な所見であり、メラニン顆粒の証明が診断の大きなポイントとなる。本症例においても微細顆粒状のメラニンをもつ異型細胞が多数観察され、診断の手掛かりとなった。実際にメラニン顆粒との鑑別を要する色素顆粒にはヘモジデリンやリポフスチンがあるが、これらの色素はともにFontanamasson染色、漂白法が陰性であり、ヘモジデリンは鉄染色が陽性、リポフスチンはズダンⅢ染色で陽性となることから鑑別は容易である。また、核内空胞については電顕的観察から細胞質の核内への陥入が空胞を形成していると報告しており、本腫瘍の有力な副所見になり得るとしている。

また、メラニン顆粒の少ない例に核内空胞の出現率が高い傾向がみられるともいわれている。しかし、一方で水内⁴⁾、竹原⁸⁾は核内空胞の存在はさほど特徴的ではないとしており、実際に肺の腺癌や甲状腺癌などにも同様の空胞形成像が存在するとする報告もある^{14,15)}。これら二つの特徴的所見に加え、多核巨細胞、大型核小体、菲薄核膜といった所見を考慮すればMMの細胞診は多くの場合、比較的容易である。しかし、これら五つの特徴所見が全例で必ずしも認められるとは限らない。特にメラニン顆粒をもたないamelanotic melanomaは確定診断が困難な場合が多い。そのような特徴的所見を示さない腫瘍の診断については、最近では免疫細胞化学染色が利用されるようになってきた。小山⁹⁾、程⁷⁾、中島¹⁶⁾は、MMの診断にはS-100蛋白、NSEの陽性が重要であるとしており、中島によればmelanocyte由来の腫瘍ではS-100蛋白陽性率とメラニン顆粒の出現率とは逆相関があり、S-100蛋白は特異性に乏しいものの反応性が高いこと、またNSEはS-100蛋白と比べ反応性は低いものの特異性が高いと報告している。これらの免疫細胞化学染色はretrospectiveな検索も可能なことからamelanotic melanomaの診断には大きな手掛かりになるものと考えられた。著者らの症例においては胞体がレース状で淡く、一見組織球との鑑別が必要と考えられた。組織球系腫瘍のマーカーとされるlysozymeの免疫染色を試みたが陰性であり、すべてMM由来する悪性細胞と同定された。また本症例でも試みたように、腹水等の液状検体の電顕的応用もメラノゾームを証明するうえで重要であり、免疫細胞化学染色と並んで今後はますます細胞診においてもその必要性が高まるものと期待される。

結 語

右足底部原発悪性黒色腫が漿膜播種をおこし、腹水貯留をきたした症例の腹水細胞診の有用性を報告した。皮膚原発の悪性腫瘍が漿膜播種をきたし、腹水貯留として細胞診検査の対象となることは比較的少ないが、悪性度の高い黒色腫においては再発の有無や予後を知るうえで重要と考えられる。今回、著者らは組織学的に悪性黒色腫と診断され、腹水貯留を

みた症例から、その病理学的診断に至る諸検査法の手順を細胞診学的に検討した。悪性黒色腫の病理組織診断には通常Fontanamasson染色、鉄染色が行われているが、液状検体の細胞診においてもPapanicolaou染色での診断基準を考慮にいれ、色素顆粒証明の特殊染色に加え、免疫染色、電顕学的検査を有効に利用すれば悪性黒色腫の細胞診も比較的容易で信頼性の高いものとなることが示された。

引用文献

- 1) 西 国広：体腔液の細胞診：新細胞診のすすめ方 一初心者から上級者まで一、76-77、近代出版、東京、1990。
- 2) 小野江為則：電顕腫瘍病理学、263-267、南山堂、東京、1982。
- 3) 高島英世：腔原発と考えられる悪性黒色腫の細胞診、日臨細胞誌 18: 315-320、1979。
- 4) 水内英充、渡辺 亘、伊藤英樹、高階俊光、足立謙蔵、明石英史、工藤隆一、橋本正淑：腔原発悪性黒色腫の2例、日臨細胞誌 20: 559-566、1981。
- 5) 小山敏雄、須田耕一、三俣昌子、弓納持勉、石井喜雄、早川直美、中沢久美子、飯野捷子、谷中 誠：腔原発および子宮頸部原発悪性黒色腫の2例の細胞学的検討、日臨細胞誌 27: 943-948、1988。
- 6) 浜谷次郎、大矢良之、内田勝次、杉田道夫、杉下 匡、天神美夫：子宮頸部原発悪性黒色腫の1症例、日臨細胞誌 29: 59-63、1990。
- 7) 程 修司、紀川純三、皆川幸久、石原 浩、板持広明、寺川直樹：腔原発悪性黒色腫の1例 一細胞診標本による免疫染色の試み一、日臨細胞誌 33: 657-659。
- 8) 竹原正輝、伊東英樹、早川 修、水内英充、佐藤賢一郎、宿田孝弘、工藤隆一、橋本正淑：腔原発悪性黒色腫4例の細胞診、日臨細胞誌 29: 912-918、1990。
- 9) 杉島節夫、横山俊郎、吉田友子、大藪裕司、江藤耕作、自見厚郎、荒川正博、森松 稔：尿中に腫瘍細胞が出現した男子尿道原発悪性黒色腫の1例、日臨細胞誌 30: 552-557、1991。
- 10) 土井正輝、板倉 誠、木下明雄、大場 祥、柴山英一、石川英彦、桑原紀之、田所 衛：髄液細胞診にて診断が困難であった髄膜悪性黒色腫の1例、日臨細胞誌 32: 965-969、1993。
- 11) 社本幹博、金子千之、田島基男：体腔液の細胞診、武藤化学細胞診シリーズ 16: 7-15、東京、1990。
- 12) 山田 喬、本間浩一、高木道生：悪性黒色腫の細胞形態学的特徴 一25症例の分析一、日臨細胞誌 21: 503-509、1982。
- 13) 服部正次、田村 宏、松田 実、野田 定：細胞診断図譜 322-346、医歯出版株式会社、東京、1986。
- 14) Chikao, Torikata. and Koichi, Ishiwata.: Intranuclear tubular structures observed in the cell of an alveolar cell carcinoma of the lung Cancer. 40: 1194-1201, 1977.
- 15) 花輪孝雄、庵原昭一、堀中悦夫：甲状腺疾患における核内封入体の臨床細胞学的検討、日臨細胞誌 18: 302-311、1979。
- 16) 中島 孝：神経組織特異蛋白 (S-100ならびにNSE蛋白) による腫瘍の免疫組織化学的検索とその診断への応用、病理と臨床 1: 115-124、1983。